T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI

SIÇAN ÖN EKSTREMİTESİNE AİT KEMİKLERİN GELİŞİMİ ESNASINDA ORTAYA ÇIKAN KEMİK VE KIKIRDAK ALANLARIN İKİLİ BOYAMA YÖNTEMİ İLE TESPİTİ VE STEREOLOJİK YÖNTEMLE ORANLARININ HESAPLANMASI

Hazırlayan
Mustafa ÖZTÜRK

Danışman
Prof. Dr. Erdoğan UNUR

Yüksek Lisans Tezi

Mart 2014
KAYSERİ

T.C
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI

SIÇAN ÖN EKSTREMİTESİNE AİT KEMİKLERİN GELİŞİMİ ESNASINDA ORTAYA ÇIKAN KEMİK VE KIKIRDAK ALANLARIN İKİLİ BOYAMA YÖNTEMİ İLE TESPİTİ VE STEREOLOJİK YÖNTEMLE ORANLARININ HESAPLANMASI

Hazırlayan
Mustafa ÖZTÜRK

Danışman
Prof. Dr. Erdoğan UNUR

Yüksek Lisans Tezi

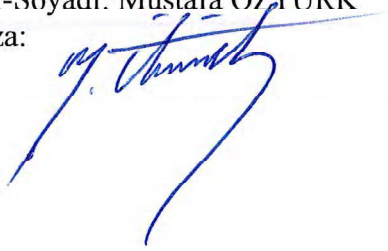
Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSY-11-3723 nolu proje ile desteklenmiştir.

Mart 2014
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Mustafa ÖZTÜRK
İmza:



YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

"Sıçan Ön Ekstremitesine Ait Kemiklerin Gelişimi Esnasında Ortaya Çıkan Kemik ve Kıkırdak Alanların İkili Boyama Yöntemi İle Tespiti Ve Stereolojik Yöntemle Oranlarının Hesaplanması" adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan
Mustafa ÖZTÜRK

Danışman
Prof. Dr. Erdoğan UNUR

ABD Başkanı
Prof. Dr. Harun ÜLGER.

KABUL ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Erdoğan UNUR danışmanlığında Mustafa ÖZTÜRK tarafından hazırlanan "**Sıçan Ön Ekstremitesine Ait Kemiklerin Gelişimi Esnasında Ortaya Çıkan Kemik ve Kıkırdak Alanların İkili Boyama Yöntemi İle Tespiti Ve Stereolojik Yöntemle Oranlarının Hesaplanması**" adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

../3./..3./ 2014

JÜRİ:

Danışman: Prof. Dr. Erdoğan UNUR

Üye : Doç. Dr. Ayhan DÜZLER

Üye : Doç. Dr. Niyazi ACER

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun ..... tarih ve ..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

.../...../.....

Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim süresince engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, tez çalışmam boyunca bilgi ve desteğini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Erdoğan UNUR'a teşekkürlerimi sunarım.

Anatomi Anabilim Dalında geçirdiğim süre boyunca yetişmemde büyük emekleri olan Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Harun ÜLGER ve Anabilim Dalımızın değerli hocaları sayın Prof. Dr. Kenan AYCAN, Doç. Dr. Niyazi ACER, Doç. Dr. Tolga ERTEKİN ve Yrd. Doç. Dr. Mehtap NİSARİ'ye de içtenlikle teşekkür ederim.

Tezimin oluşum aşamasında bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen sayın Doç. Dr. Ayhan DÜZLER ve Yrd. Doç. Dr. Handan SOYSAL'a, kız kardeşim Zühal YILMAZ'a, değerli arkadaşlarım Mesut MEKER, Yahya TAHTA, Şerife ÇINAR'a ve yüksek lisans öğrenimim süresince sıcak bir ortamda birlikte çalıştığımız yüksek lisans ve doktora öğrenimini yapan kıymetli tüm arkadaşlarıma, samimi ilgilerini ve içtenliklerini esirgemeyen anatomi personelleri; Hüseyin ÇELEBİ, Kazım KARABULUT, Ferhat ÇAKMAKKAYA'ya ve deney çalışmalarımda her türlü yardımı esirgemeyen DEKAM (Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi) çalışanları ve personellerine de teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim süresince birlikte çalıştığım ve desteklerini hiç esirgemeyen Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Acil Servis personel ve çalışanlarınada içtenlikle teşekkür ederim.

Bugünlere gelmem için fedakârlıklarını hiçbir zaman esirgemeyen ve üzerimde büyük emekleri olan sevgili annem ve kardeşlerime, yüksek lisans eğitimim süresince anlayış ve desteğini esirgemeyen, her türlü zorluğumda hep yanımda olan eşime ve ailesine de sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

SIÇAN ÖN EKSTREMİTESİNE AİT KEMİKLERİN GELİŞİMİ ESNASINDA ORTAYA ÇIKAN KEMİK VE KIKIRDAK ALANLARIN İKİLİ BOYAMA YÖNTEMİ İLE TESPİTİ VE STEREOLOJİK YÖNTEMLE ORANLARININ HESAPLANMASI

Mustafa ÖZTÜRK
Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anatomi Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi, Mart 2014
Danışman: Prof. Dr. Erdoğan UNUR

ÖZET

Bu çalışmada sıçan fetus ve yenidoğanın ön ekstremitesine ait normal iskelet gelişiminde kemik ve kıkırdak doku oranlarının yüzey alan hesaplaması ile tespit edilmesi hedeflenmiştir.

Çalışmamızda 21 adet gebe sıçandan elde edilen fetus ve yavrulardan 3'ü doğum öncesi döneme (gebeliğin 16., 18., ve 20. günleri) ait, 4'ü ise doğum sonrası döneme (0, 3., 7. ve 12. gün) ait olmak üzere toplam 7 grup oluşturuldu. Oluşturduğumuz bu gruplarda ki fetus ve yavruların öncelikle ağırlıkları ve baş-kıç uzunlukları tespit edildi. Daha sonra fetus ve yavrular, ikili iskelet boyama yöntemi kullanılarak, kemik yapılar alizarin red S ile kırmızıya, kıkırdak yapılar ise alcian blue ile mavi renge boyandı. Boyanmış olan fetus ve yavrulara ait ön ekstremiteler öncelikle steromikroskop altında morfolojik (ön ekstremiteye ait kemiklerin uzunlukları, birincil ve ikincil ossifikasyon merkezlerinin görülme zamanı, kemikleşme seyrinin tespiti, kemikleşme merkezlerinin uzunlukları vb.) incelemeye tabi tutuldu ve elde edilen sonuçlar kayıt altına alındı. Daha sonra ön ekstremiteye ait her bir kemiğin tek tek fotoğrafları çekildi. Çekilen bu fotoğraflar ImageJ programı yardımıyla kemik ve kıkırdak alanların yüzey alan hesaplaması yapıldı. Yüzey hesaplaması ile elde edilen oranlar yüzdelik olarak hesaplanıp şekil ve grafiklerle gösterildi.

Çalışmamızda sıçan ön ekstremitesine ait ilk kemikleşme merkezi; klavikula, skapula ve humerusta gebeliğin 18. gününde, radius ve ulna da 20. gününde, bilek kemiklerinde doğumdan sonra ki 12. günde, el tarağı kemiklerinde gebeliğin 20. gününde görüldü. Parmaklara ait ilk kemikleşme merkezi 0. gün grubunda 2-5. parmakların hem distal hem de proksimal falanklarında ortaya çıktı. İkincil kemikleşme merkezi ise ilk olarak

skapula ve humerusta 0 günlük yavrularında görülürken, radius ve ulnada doğumdan sonraki 7. günde, tarak kemiklerinde ise doğumdan sonra ki 12. günde görüldü.

Çalışmamızda kullanılan 18 günlük fetus grubunda kemik-kıkırdak oranı klavikulada %43, skapulada %20, humerusta %15' e ulaştığı görülürken, radius ve ulnanın halen kıkırdak yapıda olduğu tespit edildi. 0. gün yavru grubunda kemik-kıkırdak oranının klavikulada %87, skapulada %58, humerusta %52, radiusta %62, ulnada %64'e ulaştığı görüldü. 12 günlük yavru grubunda kemik-kıkırdak oranının ise klavikulada %100, skapulada %76, humerusta %69, radiusta %71, ulnada %75, bilek kemiklerinde ise %51' e ulaştığı görüldü.

Ayrıca çalışmamızda, sıçan ön ekstremitesine ait kemik kıkırdak alanların yüzey alanlarının tespiti ile birlikte birçok parametrenin (fetus ağırlıkları, baş-kıç uzunlukları, ossifikasyon merkezinin görülme zamanı, birincil ve ikincil kemikleşme merkezlerinin gelişme zamanı ve ne kadar uzunlukta oldukları)'de ortaya konması, ileride yapılacak gelişimsel ve teratolojik çalışmalara kaynak olacağını düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Sıçan; kemikler; ikili boyama; kemikleşme; ön extremite; stereoloji.

ANTERIOR EXTREMITY OF THE BONES OF RATS DURING DEVELOPMENT OF THE EMERGING AREAS OF BONE AND CARTILAGE STAINING METHOD FOR THE DETERMINATION OF TWO RATIOS, AND STEREOLOGICAL METHODS

Mustafa ÖZTÜRK
Erciyes University Institute of Medical Sciences
Department of Anatomy
Postgradute Thesis March 2014
Thesis Advisor: Prof. Dr. Erdoğan UNUR

ABSTRACT

Our aim is to determine surface areas of bone and cartilage structures appearing in normal skeleton development of newborn and fetus rats of fore limb.

In our study, fetuses and newborns are obtained from 21 pregnant rats. 7 groups are established and 3 of them are prenatal groups (16th,18th and 20th days of pregnancy) and 4 of them are postnatal groups. (birthday, 3rd,7th and 12th days after birth). At first, crown-rump lenghts and weights of these fetuses and newborns in our established groups had been determined. Then, fetuses and newborns are stained using double staining method. Bone structures are stained red using alizarin red S and cartilage structures are stained blue using alcian blue. First, fore limb of stained fetuses and newborns are probed morphologically (lenghts of fore limb bones, times of primer and secondary ossification centers forming, determiantion of ossification progression and lengths of ossification centers etc) under the steromicroscobe and obtained datas are recorded. Then, each of every fore limb bones are photoghraphed. These photos are opened with ImageJ programme and bone and cartilage surface areas are estimated. Percentage rates are obtained from surface estimations and showed in graphics and tables.

In our study, primer ossification center belonging to rat fetuses and newborns are observed in 18th day of pregnancy in clavicula, scapula and humerus, 20th day of pregnancy in radius and ulna, 12th day after birth in wrists and 20th day of pregnancy in ossa metacarpi. In postnatal group, primer ossification centers of fingers appeared at 2nd -5th phalanxes in both proximal and distal phalanxes. Secondary ossification center are observed in scapula and humerus on 0 day after birth. It is observed at 7th day after birth in radius and ulna, 12th day after birth observed in ossa metacarpi.

We observed that ossification rates of 18th days fetuses reaches 43% in clavicula, 20% in scapula, 15% in humerus but radius and ulna stil remains cartilage. 0 day after birth, ossification rates are 87 % in clavicula, 58% in scapula, 52% in humerus, 62 % in radius and 64% in ulna. 12 days after birth ossification rates are 100% in clavicula, 76% in scapula, 69% in humerus, 71% in radius, 75% in ulna and 51% in carpals.

Also in our study, we hope that with many parameters (Fetus weights, crown-rump lengths , determination of ossification progression and lenghts of ossification centers, times of primer and secondary ossification centers forming) revealed with bone and cartilage surfaces estimation of rat fore limb will be a source for future studies.

Keywords: rats, bones, double staining, ossification, fore limb, stereology.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

İÇ KAPAK i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI iii
KABUL VE ONAY SAYFASI iv
TEŞEKKÜR v
ÖZET vi
ABSTRACT viii
İÇİNDEKİLER x
KISALTMALAR xii
TABLO LİSTESİ xiii
ŞEKİL LİSTESİ xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. KIKIRDAK DOKUSU 3
2.1.1. Hyalin Kıkırdak. 3
2.1.2. Elastik Kıkırdak 5
2.1.3. Fibröz Kıkırdak 6
2.1.4. Kıkırdak Dokunun Büyümesi ve Gelişimi 7
2.1.5. Kıkırdakta Görülen Bozukluklar 8
2.1.6. Kıkırdağın Yenilenmesi (Kıkırdak Rejenerasyonu) 9
2.2. KEMİK DOKU 9
2.2.1. Kemik Matriksi 10
2.2.2. Periosteum ve Endosteum 10
2.2.3 Kemik Hücreleri 11
2.2.3.1.Osteoprogenitör Hücreler 11
2.2.3.2.Osteoblastlar 12
2.2.3.3.Osteositler 12
2.2.3.4.Osteoklastlar 13

Sayfa No

2.2.4. Kemik Türleri 14
2.2.4.1. Primer Kemik Dokusu..... 14
2.2.4.2. Sekonder Kemik Dokusu..... 15
2.2.4.2.1. Kompakt Kemik 15
2.2.4.2.2. Süngerimsi (spongioz) Kemik 17
2.2.5. Kemiğin Oluşumu 18
2.2.5.1. İntramemranöz Kemikleşme…..... 19
2.2.5.2. Endokondral Kemikleşme …..... 20
2.2.6. Kemiğin Büyümesi ve Yeniden Şekillenmesi..... 24
2.2.7. Kemik Kırıklarının Onarımı..... 25
2.2.8. Kemiğin Histofizyolojisi..... 26
2.3. SIÇANLARDA İSKELET SİSTEMİ GELİŞİMİ 28
2.3.1. Sıçanların İskelet Sistemi..... 32
2.4. FETAL İSKELET SİSTEMİNİN BOYANMASI..... 36
2.5. STEREOLOJİ. 39
2.6. IMAGE J YAZILIMI 40
3. GEREÇ VE YÖNTEM 42
3.1. Deney Hayvanlarının Seçimi Ve Çiftleştirilmesi..... 42
3.2. Fetusların Eksplantasyonu ve Yavru Sıçan Grubunun Oluşturulması 43
3.3. Fetus ve Yavru Sıçanların Boyanması 46
3.4. Stereolojik Yöntem..... 49
4. BULGULAR 53
4.1. Morfolojik Bulgular..... 53
4.2. Stereolojik Bulgular..... 82
5. TARTIŞMA VE SONUÇ..... 100
6. KAYNAKLAR..... 118
EKLER
ÖZGEÇMİŞ

KISALTMALAR

Art	**:** Articulatio
H-E	**:** Hematoksilen - Eozin Boyama
µm	**:** Mikrometre.
mm	**:** Milimetre
cm	**:** Santimetre
gr	**:** Gram
lig	**:** Ligamentum
proc	**:** Processus
MR	**:** Manyetik Rezonans
BT	**:** Bilgisayarlı Tomografi
SRÖ	**:** Sistematik Rastgele Örnekleme
dk	**:** Dakika
cc	**:** Cubic centimetre
ml	**:** Mililitre
KOH	**:** Potasyum hidroksit
vb	**:** ve benzeri
KK	: Karpal kemik

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1. Sıçan embriyolarında gelişimsel sınıflama 29
Tablo 3.1. İkili İskelet Sistemi Boyama Yöntemi 47
Tablo 4.1. Fetus gruplarına ait boy (baş-kıç uzunluğu) verileri 53
Tablo 4.2. Fetus gruplarına ait ağırlık (gr) verileri……..54
Tablo 4.3. Fetus ve yavru sıçan klavikulası'na ait kemik kıkırdak yüzdeleri 83
Tablo 4.4. Fetus ve yavru sıçan skapulası'na ait kemik kıkırdak yüzdeleri.....84
Tablo 4.5. Fetus ve yavru sıçan humerus'una ait kemik kıkırdak yüzdeleri.....85
Tablo 4.6. Fetus ve yavru sıçan radius'una ait kemik kıkırdak yüzdeleri.....86
Tablo 4.7. Fetus ve yavru sıçan ulna'sına ait kemik kıkırdak yüzdeleri.....87
Tablo 4.8. 12 günlük yavru grubuna ait carpal kemiklerin yüzdesel gelişim oranları.....88
Tablo 4.9. Fetus ve yavru sıçanın 1. metacarp'ına ait kemik kıkırdak yüzdeleri 89
Tablo 4.10. Fetus ve yavru sıçanın 2. metacarp'ına ait kemik kıkırdak yüzdeleri 90
Tablo 4.11. Fetus ve yavru sıçanın 3. metacarp'ına ait kemik kıkırdak yüzdeleri 91
Tablo 4.12. Fetus ve yavru sıçanın 4. metacarp'ına ait kemik kıkırdak yüzdeleri 92
Tablo 4.13. Fetus ve yavru sıçanın 5. metacarp'ına ait kemik kıkırdak yüzdeleri 93
Tablo 4.14. Fetus ve yavru sıçanın ikinci parmağının proksimal falanksına ait kemik kıkırdak yüzdeleri 95
Tablo 4.15. Fetus ve yavru sıçanın üçüncü parmağının proksimal falanksına ait kemik kıkırdak yüzdeleri.....96
Tablo 4.16. Fetus ve yavru sıçanın dördüncü parmağının proksimal falanksına ait kemik kıkırdak yüzdeleri 97
Tablo 4.17. Fetus ve yavru sıçanın beşinci parmağının proksimal falanksına ait kemik kıkırdak yüzdeleri 98
Tablo 4.18. Ön ekstremiteye ait bazı kemiklerin primer kemikleşme merkezi Uzunlukları.....99

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Hyalin kıkırdak. 4
Şekil 2.2. Perikondriyum ve hyalin kıkırdak arasındaki geçişin şeması 5
Şekil 2.3. Elastik kıkırdak matriksinin ışık mikroskobu fotoğrafı 6
Şekil 2.4. Fibröz kıkırdak. 7
Şekil 2.5. Hyalin kıkırdağın gelişimi …… 8
Şekil 2.6. Kompakt kemiğin yapısını gösteren şematik çizim …….. 11
Şekil 2.7. Osteositlerin görünümü…… 13
Şekil 2.8. Osteoklastların görünümü 14
Şekil 2.9. Primer kemik dokusunun gelişimi 15
Şekil 2.10. Kompakt kemik (Longitudinal kesit). Düşük derecede büyütme 17
Şekil 2.11. Kompakt kemik (Transvers kesit). Düşük derecede büyütme 17
Şekil 2.12. Süngerimsi kemik (transvers kesit), hematoxylin eosin boyama 18
Şekil 2.13. İntramemranöz kemileşmenin başlangıcı. 20
Şekil 2.14. Kıkırdak model üzerine endokondral kemikleşmenin oluşumu… 22
Şekil 2.15. Epifiz plağının 5 kuşağını, kıkırdak içinde gerçekleşen değişiklikleri ve kemiğin oluşumunu gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı....23
Şekil 2.16. Kıkırdak model üzerine endokondral kemikleşme ile ikincil kemikleşme merkezinin oluşumu 24
Şekil 2.17. Kırılmış bir kemiğin periosteal ve endosteal hücre proliferasyonu ile onarımı....26
Şekil 2.18. Afrika dev sıçanına ait klavikula ve skapulanın lateral görünüm 34
Şekil 2.19. Rat iskelet sistemi görünümü....36
Şekil 3.1. Bir erkek ve bir dişi sıçanın aynı kafeste tutulması....43
Şekil 3.2. Anne sıçanlara sezeryan uygulama aşamaları....45
Şekil 3.3 16 günlük fetusların yakından görünümü. 46
Şekil 3.4. 12 günlük yavru sıçanın görünümü 46

Sayfa No

Şekil 3.5. Asetonda 3 gün bekletildikten sonra batını boşaltılan, derisi soyulan ve gözleri çıkarılan 0. gün yavru grubuna ait sıçanın görünümü 47
Şekil 3.6. Boyama işlemi tamamlanmış olan 16 (A) ve 18 (B) günlük fetusa ait görünüm 49
Şekil 3.7. Steromikroskopta elde edilen ve JPEG formatında kayıt altına alınan görüntülerin ImageJ programıyla açılması 50
Şekil 3.8. ImageJ programında açılan görüntünün yakınlaştırılması 50
Şekil 3.9 ImageJ programı ile açılan görüntü üzerinde, kemik kıkırdak oranını hesaplayacağımız kemiğin sınırlarının mouse ile çizilmesi ve yüzey alanının hesaplanması 51
Şekil 3.10. ImageJ programı ile açılan görüntü üzerinde, kemik kıkırdak oranını hesaplayacağımız kemiğin kemikleşen kısmının manuel olarak sınırlarının çizilmesi ve yüzey alanı hesaplanması.....51
Şekil 4.1. Fotoğraf çekimlerinde klavuz çetvelin kullanımı ve boyama işlemi tamamlanmış olan ön ekstremitenin görünümü 55
Şekil 4.2. 16 günlük fetusa ait klavikula'nın görünümü 56
Şekil 4.3. 16 günlük fetusa ait skapula'nın görünümü… 56
Şekil 4.4. 16 günlük fetusa ait humerus'un görünümü….....57
Şekil 4.5. 16 günlük fetusa ait radius ve ulna'nın görünümü 58
Şekil 4.6. 18 günlük fetusun klavikula'sında gelişen primer kemikleşme merkezinin görünümü.....59
Şekil 4.7. 18 günlük fetusa ait skapula'nın görünümü 60
Şekil 4.8. 18 günlük fetusa ait humerus'un görünümü.....60
Şekil 4.9. 18 günlük fetusa ait radius ve ulna'nın görünümü 61
Şekil 4.10. 18 günlük fetusa ait carpal, metacarpal ve phalanks'lara ait görünüm.....62
Şekil 4.11. 20 günlük fetusa ait klavikula'nın görünümü 63
Şekil 4.12. 20 günlüğe ait skapula'nın görünümü 64
Şekil 4.13. 20 günlük fetus grubuna ait humerusun görünümü 64
Şekil 4.14. 20 günlük fetusa ait radius ve ulna'nın görünümü 65
Şekil 4.15. 20 günlük fetusa ait el iskeletinin görünümü… 66
Şekil 4.16. 0 günlük yavru sıçan grubu klavikula'sına ait görünüm.....67
Şekil 4.17. 0 günlük yavru sıçan grubu skapula'sına ait görünüm 68
Şekil 4.18. 0 günlük yavru sıçan grubu humerus'una ait görünüm 68
Şekil 4.19. 0 günlük yavru sıçan grubuna ait görüntü.....69
Şekil 4.20. 0 günlük yavru sıçan grubuna ait radius ve ulna'nın görünümü 69

Sayfa No

Şekil 4.21. 0 günlük yavru sıçan grubu el iskeletine ait kemiklerin görünümü.....70
Şekil 4.22. 3 günlük yavru grubu klavikula'sına ait görünüm.....71
Şekil 4.23. 3 günlük yavru grubu skapulası'na ait görünüm.....71
Şekil 4.24. 3 günlük yavru sıçan grubu humerus'una ait görünüm 72
Şekil 4.25. 3 günlük yavru sıçan grubu ön ekstremitesine ait bazı kemiklerin görünümü… 73
Şekil 4.26. 7 günlük yavru sıçan grubu klaviculasına ait görünüm…….....74
Şekil 4.27. 7 günlük yavru sıçan grubu skapula'sına ait görünüm…….....75
Şekil 4.28. 7 günlük yavru sıçan grubu humerus'una ait görünüm….....75
Şekil 4.29. 7 günlük yavru sıçan grubu radius ve ulna'sında görülen ikincil kemikleşme merkezinin görünümü 76
Şekil 4.30. 7 günlük yavru sıçan grubu el iskeletine ait kemiklerin görünümü.....77
Şekil 4.31. 12 günlük yavru sıçan grubu klavikulasına ait görünüm… 78
Şekil 4.32. 12 günlük yavru sıçan grubu skapulasına ait görünüm……. 78
Şekil 4.33. 12 günlük yavru sıçan grubu humerus'una ait görünüm….....79
Şekil 4.34. 12 günlük yavru sıçan grubu radius ve ulna'sına ait görünüm….....80
Şekil 4.35. 12 günlük yavru sıçan grubu el bileği kemiklerine ait görünüm… 81
Şekil 4.36. 12 günlük yavru sıçan grubu tarak kemiklerine ait görünüm….....81
Şekil 4.37. 12 günlük yavru sıçan grubu el iskeletine ait görüntü 82
Şekil 4.38. Fetus ve yavru sıçan klavikulasına ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği 83
Şekil 4.39. Fetus ve yavru sıçan skapulası'na ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği .84
Şekil 4.40. Fetus ve yavru sıçan humerus'una ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği 85
Şekil 4.41. Fetus ve yavru sıçan radius'una ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği 86
Şekil 4.42. Fetus ve yavru sıçan radius'una ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği. ...87
Şekil 4.43. 12 günlük yavru grubu bilek kemiklerine ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği 88
Şekil 4.44. Fetus ve yavru sıçanın 1. metacarp'a ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği 89
Şekil 4.45. Fetus ve yavru sıçanın 2. metacarp'a ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği 90
Şekil 4.46. Fetus ve yavru sıçanın 3. metacarp'ına ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği 91
Şekil. 4.47. Fetus ve yavru sıçanın 2. metacarp'ına ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği 92

Sayfa No

Şekil 4.48. Fetus ve yavru sıçanın 5. metacarp'ına ait kemik kıkırdak yüzdelerinin oranı 93

Şekil 4 .49. Fetus ve yavru sıçanın ikinci parmağının proksimal falanksına ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği 95

Şekil 4.50. Fetus ve yavru sıçanın üçüncü parmağının proksimal falanksına ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği 96

Şekil 4.51. Fetus ve yavru sıçanın dördüncü parmağının proksimal falanksına ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği 97

Şekil 4.52. Fetus ve yavru sıçanın beşinci parmağının proksimal falanksına ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği 98

Şekil 4.53. Fetus ve yavru sıçanların ön ekstremitesine ait 5 kemiğin kemikleşme oranı yüzdelik grafiği..... ...99

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Fetusta iskelet sistemi gelişim halinde olduğu için kıkırdak ve kemik odakları halindedir. Kıkırdak ve kemik dokunun gelişeceği alanlar başlangıçta bağ dokusu şeklindedir. Mevcut bağ dokusunun kemik dokuyu şekillendirmesi iki farklı kemikleşme modeliyle ortaya çıkar (1,2).

İntramembranöz Kemikleşme: Genellikle yassı kemiklerde bu tip kemikleşme görülür. İntramembranöz kemikleşmenin oluşacağı bölgelerde, mezenşim yoğunlaşır ve damarlanmaya başlar. İlk oluşan kemiğin düzenli yapısı yoktur. Zamanla organize olan kemik, lameller bir yapı kazanır. Kan damarları çevresinde oluşan lameller yapı, Havers sistemlerini oluştururken gelişen kemik yapıların çevresindeki osteoblastlar kompakt kemik tabakalarını oluşturur (1-4)**.**

Endokondral Kemikleşme: Bu tip kemikleşmede kemiğin oluşacağı alanda öncelikle bir kıkırdak model oluşur. Daha sonra bu kıkırdak model ortadan kaldırılarak yerine kemik doku şekillenir. Bu tip kemikleşme ile uzun ve kısa kemikler oluşur.

Her iki tip kemikleşmede de, ilk ortaya çıkan kemik dokusu, primer veya olgunlaşmamış kemik dokusudur. Primer kemik dokusu bir süre sonra yerini sekonder kemik dokusuna bırakır (1-4)**.**

Sıçanlarda embriyonal hayatın 9. günü somit gelişimi başlar ve 16. günün sonunda ise 65 somit ortaya çıkar. Somit oluşumunu takiben (16. günden itibaren) ilk kemikleşme merkezleri ortaya çıkmaya başlar. İlk kemikleşme merkezleri klavikula, kaburgalar ve kafatasının bazı kemiklerinde görülür. 17. günde kemikleşme ekstremite tomurcuklarına ve kafatasının diğer kemiklerine yayılırken el bileği ve ayak bileği eklemlerine ait boşluklar belirginleşir. 18. günde kafa hızla büyür ve damak taslakları kaynaşır. 19. ve

20. günlerde ön ve arka ekstremitelerin parmak eklemlerine ait boşluklar ortaya çıkar. Sıçanlarda 22. günde doğum gerçekleşir**.** Yeni doğan bir sıçanda uzun kemiklerin gövde ve diyafizleri büyük oranda kemikleşmiştir, fakat epifizleri hala kıkırdak yapıdadır. Sekonder kemikleşme merkezlerinin çoğu doğumdan sonraki günlerde de varlığını devam ettirir (5,6).

İskeleti oluşturan kemik ve kıkırdakların farklı boyalar ile farklı renklerde ya da aynı rengin farklı tonlarında boyanması işlemine ikili iskelet boyaması denir. İkili iskelet boyamaları teratojenik çalışmalarda ve gelişimsel çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Teratojenik çalışmalarda; çeşitli kimyasal maddelerin veya fiziksel etkenlerin iskelet sistemi üzerindeki etkileri incelenirken, gelişimsel çalışmalarda normal gelişim aşamaları incelenmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalardan elde edilen bilgiler; gelişim bozukluklarının tanısında, hastalıkların takibinde, sağlıklı büyüme periyodunun belirlenmesinde kullanılmaktadır (7-9).

Günümüzde teknolojinin hızlı gelişimine pararalel olarak, yapılan bilimsel çalışmalarda inceleme süresini kısaltmak için çeşitli bilgisayar yazılımlarından destek alınmaktadır. Bu yazılımlardan biriside ImageJ programıdır. Bu program herkesin kullanımına açık Java tabanlı bir görüntü işleme yazılımıdır. Yazılımın bir çok işletim sistemine ait uygulamaları mevcut olup, Java 1.1 veya üzeri Java Sanal Makinesi bulunan bilgisayarda çalıştırılabilir. Yazılım kullanıcı tanımlı, alan ve piksel değerleri istatistiklerini hesaplayabilir; uzaklıkları ve açıları ölçebilir (10,11).

Çalışmamızda sıçan ön ekstremitesine ait kemiklerin gelişimi esnasında ortaya çıkan kemik ve kıkırdak alanların ikili boyama yöntemi ile tespiti ve stereolojik yöntemle kemik ve kıkırdak oranlarının ImageJ programı yardımıyla hesaplanması amaçlanmaktadır. Elde edeceğimiz bulguların bundan sonra yapılacak iskelet sistemine ait gelişimsel ve teratolojik çalışmalara kaynak olacağını ümit ediyoruz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KIKIRDAK DOKUSU

Hareket sisteminin pasif unsurlarından birisi olan kıkırdak dokusu iskelet sisteminin gelişim aşamasında yoğun olarak görülen bağ dokusunun özelleşmiş bir şeklidir. Embriyonal dönemde fetusun iskelet yapısını oluşturarak, desteklik ve koruma görevini yerine getirirken, gelişimle birlikte bu görevi zamanla kemiğe bırakır.

Kıkırdak dokusu diğer bağ dokularına göre daha sert olmasına rağmen belirli derecede esneme kabiliyetine sahiptir ve bu sayede vücudun değişik bölgelerinde farklı görevler üstlenmektedir. Eklemlerde bulunan kıkırdak yapılar, ağırlığa karşı darbe emici ve kayganlık sağlayarak eklem hareketlerini kolaylaştırırken, solunum yollarında, kulakta ve kaburgalarda bulunan kıkırdak yapılar hem bu bölgelere şekil verir hem de bu bölgelerin esnekliğine katkı sağlar. Kıkırdak dokusu aynı zamanda doğum öncesi ve sonrası dönemlerde uzun kemiklerin büyüme ve gelişmelerinde büyük rol oynar.

Kıkırdak dokusu kan damarları içermez, ayrıca lenfatik damarları ve sinirleri yoktur. Kıkırdağın beslenmesi çevre bağ dokusu içinde yer alan kan damarlarından veya eklemlerde sinoviyal sıvıdan difüzyonla olur. Bundan dolayı, diğer damarsız dokularda olduğu gibi kıkırdak hücreleri düşük metabolik aktivite gösterirler (1,2).

İnsan vücudunda yapısal ve işlevsel olarak farklılıklar arz eden 3 ayrı tipte kıkırdak bulunmaktadır.

2.1.1.Hyalin Kıkırdak: Vücutta en çok bulunan kıkırdak tipidir. Taze halde iken yarı saydam mavimsi-beyaz renktedir. Hyalin kıkırdak, fetusta geçici iskelet olarak görev yapar. Bu yapı daha sonra ortaya çıkacak kemik dokunun ilk taslağı olup endokondral

kemikleşmeyle kemik dokusuna dönüşür. Endokondral kemikleşme sırasında epifiz plağı olarak görev yapar ve kemiğin uzunlamasına büyümesinde fonksiyonel olarak rol alır. Erişkinlerde, uzun kemiklerin eklem yüzeyini eklem kıkırdağı olarak örter. Ayrıca erişkinde, kıkırdak kaburgalar, burun kıkırdakları, larinks kıkırdakları, trakea ve bronş kıkırdakları hyalin kıkırdak özelliğindedir.

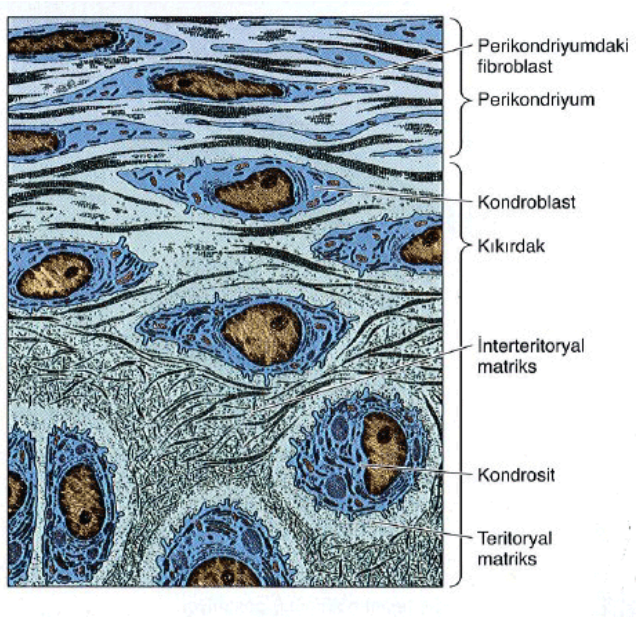
Hyalin kıkırdağın yaklaşık olarak %60-80'ini sudan oluşur. Ancak bu suyun büyük bir kısmı kıkırdak dokusunu oluşturan diğer elemanlara bağlıdır. Kıkırdak dokusundaki su miktarı kıkırdağın esnekliğiyle doğru orantılıdır. Yaşlanmaya bağlı olarak kıkırdak dokusundaki su miktarında azalmalar ortaya çıkar. Suyun kalan kısmı da küçük eriyik maddelerin difüzyonunu sağlayacak şekilde zayıf olarak bağlanmıştır. Genel olarak, su miktarı kıkırdağın fonksiyonel durumuna göre değişir. Eklem kıkırdaklarında basınç arttığında, yüksek derecede hidrasyon ve su hareketi ile basınca ve ağırlığa karşı cevap verilmesi sağlanır (Şekil 2.1) (2,3).



Şekil 2.1. Hyalin kıkırdak, perikondrium (p), izogen grup (*), bronş. Mallory-azan. X20 (4).

Perikondrium: Hyalin kıkırdak, perikondrium adı verilen yoğun bağ dokusu ile yoğun bir şekilde sarılmıştır. Ancak eklem kıkırdaklarında perikondrium bulunmaz ve kıkırdak direkt olarak kemik ile bağlantılıdır. Perikondrium, kıkırdağı tamamen sararak onu korur, çevre dokular ile bağlantısını sağlar, taşıdığı kan damarları ile besler ve

gerektiğinde rejenerasyonunu gerçekleştirir (Şekil 2.2). Kıkırdağın gelişimi sırasında enine büyüme perikondrium sayesinde olur (2).



Şekil 2.2. Perikondriyum ve hyalin kıkırdak arasındaki geçişin şeması. Perikondriyumun hücreleri kondrosit haline gelirken, düzensiz yüzeyleri ile yuvarlak şekil kazanır. Kıkırdak matriksi (interteritoryal alan), kıkırdak hücrelerinin dış sınır çizgisi etrafında kalan matriksin haricinde, pek çok ince kollajen lifçiği içerir. Kondrositlerin sınır çizgisi etrafında kalan matrikslerinin büyük bölümünü glikozaminoglikanlar oluşturur. Bu bölgeye teritoryal alan veya kapsül matriksi denir (12).

2.1.2. Elastik Kıkırdak: Elastik kıkırdak, genel olarak hyalin kıkırdağa benzemesine rağmen, tip II kollajen fibrillerin yanı sıra ara madde içinde çok miktarda elastik fibril içermesiyle farklılık gösterir. Taze haldeyken elastik fibrillerde ki elastinin varlığından dolayı opak ve sarımsı renkte görülür. Elastik kıkırdak hyalin kıkırdakla aynı yapıda olan perikondriuma sahiptir (Şekil 2.3). Hyalin kıkırdağın diğer bir farkı da hücrelerinin yerleşimidir. Lakünalardaki hücreler daha az sayıdadır; bir laküna içinde genellikle bir bazen ikili-üçlü gruplar halinde bulunurlar.

Elastik kıkırdak hyalin kıkırdak kadar dirençli değildir ancak daha esnektir ve kolayca eğilip bükülebilir. Elastik kıkırdak matriksi hiçbir zaman kalsifiye olmaz.

Elastik kıkırdak organizmada, kulak kepçesi, dış kulak yolu ve östaki borusunda, burun kanatlarında, larinksin bazı bölgelerinde (epiglottis ve plica vocalis'in tutunduğu kısım) bulunur (2,3).



Şekil 2.3. Elastik kıkırdak matriksinin ışık mikroskobu fotoğrafı. Hücreler boyanmamıştır. Bu esnek kıkırdak, kulak kepçesi, epiglot gibi bölümlerde bulunur. Rezorsin boyası. Orta büyütme (12).

2.1.3. Fibröz Kıkırdak: Fibröz kıkırdak, yapısında çok yoğun oranda kollajen lifler bulunduran, sıkı bağ dokusundan gelişmiş, etrafında perikondriumu bulunmayan ve taze haldeyken grimsi beyaz renkte görünmesinden dolayı beyaz kıkırdak olarak da anılan kıkırdak çeşididir.

Fibröz kıkırdak, ya tek başına ya da izogen gruplar halinde dizilmiş, genellikle de birbirlerinden tip I kollajen lifler ile ayrılmış, kıkırdak hücreleri içerir. Fibröz kıkırdağın matriksi tip I kollajenden zengin olup, hematoksilen-eozin boyası ile asidofilik olarak boyanır.

Fibröz kıkırdakta bulunan kollegen liflerin çoğu, kıkırdak hücre grupları arasında düzensiz demetler meydana getirirler. Bu sayede kollajen demetler, etki altında bırakıldıklarında bu etkinin doğrultusunda konum alarak maruz kaldıkları bu güçlere karşı koyarlar (Şekil 2.4).

Fibröz kıkırdak, vücutta art. intervertebralis'lerde discus intervertebralis olarak, art. sternoclavicularis, symphisis pubis, art. radiocarpalis, ve art. temporomandibularis'te discus articularis olarak bulunur. Ayrıca art. genus'da bulunan meniscus'lar ve tendonların kemiğe tutunma bölgeleri fibröz kıkırdak özelliğindedir (1,2,13).



Şekil 2.4. Fibröz kıkırdak. İntervertebral disk, hematokxylin-eosin boyama, yüksek derecede büyütme (14).

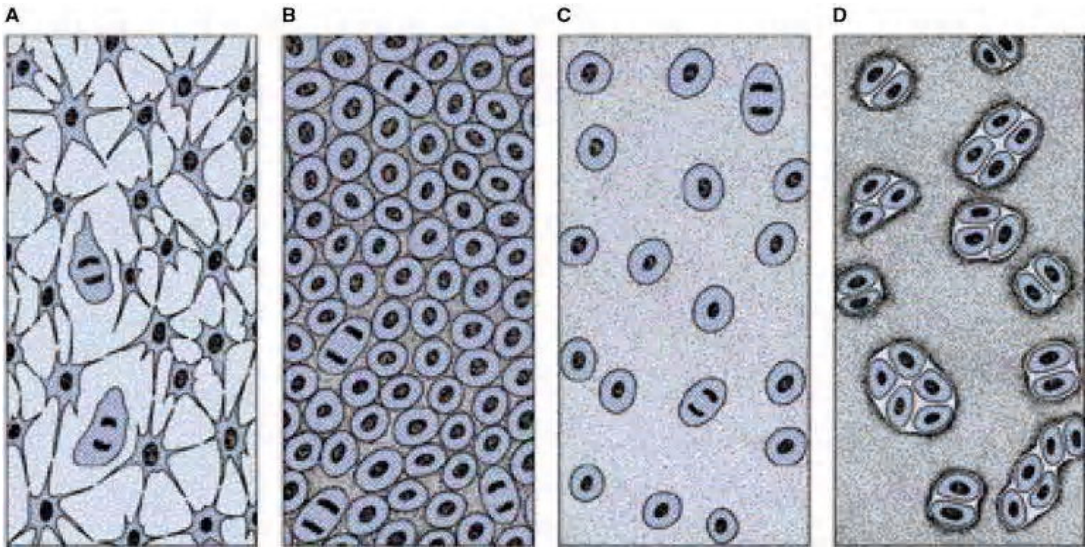
2.1.4. Kıkırdak Dokunun Büyümesi ve Gelişimi

Kıkırdak taslağının gelişeceği bölgelerde bağ dokusuna ait mezenşimal hücreler, uzantılarını kaybederek yuvarlak şekil alırlar. Uzantıları kaybolan hücreler bir araya gelerek yoğunlaşır. Böylece yoğun hücrelerden meydana gelen bir kondrifikasyon (kıkırdaklaşma) merkezi ortaya çıkar. Bu hücreler daha sonra kondroblastlara farklılaşırlar. Farklılaşan kondroblastlar kendi çevrelerinde bir matriks sentezlemeye başlarlar. Bu süreç ilerledikçe kondroblastlar kendilerine ait küçük odacıklar şeklinde lakünalar oluştururlar ve bu lakünalar içersine hapsolurlar. Bu aşamadan sonra kondroblastlar artık kondrosit olarak isimlendirilirler. Bu hücrelerin bölünme süreci devam etmektedir ve bölünerek bir laküna içinde 2-8 adet hücreden oluşan hücre grubu ortaya çıkar. Bu grup izogen grup olarak tanımlanır ve bir tek ana hücrenin 1-2 kez veya daha fazla bölünmesi ile oluşmuştur. İzogen gruplar matriks ürettikçe lakünalar da birbirlerinden uzaklaşır, kıkırdak içerden büyümeye başlar ve bu büyümeye içsel (interstisyal) tipte büyüme denir (Şekil 2.5).

Gelişmekte olan kıkırdağın periferindeki mezenşimal hücreler ise ilk olarak fibroblastlara farklılaşır. Fibroblastlar sıkı kollajenöz bir bağ dokusu olan perikondriyumu şekillendirir. Perikondriyum iki tabakalıdır. Dıştaki tabaka fibröz özelliktedir. Tip I kollajenden zengin olup fibroblast ve kan damarlarından oluşur. İç tabaka ise çoğunlukla kondrojenik hücrelerden oluşur. Kondrojenik hücreler bölünerek

kondroblastlara farklılaşır. Bu hücreler matriks sentezleyerek kıkırdağın periferine ilaveler yaparlar. Bu büyüme tipi ise apozisyonal büyüme olarak tanımlanır.

İnterstisyal büyüme yalnızca hyalin kıkırdağın oluşumu sırasında, perikondriyumu olmayan eklem kıkırdağı ve epifizial plaklarda (kemiğin boyuna büyümesi) meydana gelir. Bunlar dışındaki vücut bölgelerinde büyüme çoğunlukla appozisyonal olarak gerçekleşir. Kıkırdak büyümesi, kontrollü bir süreç olup kıkırdağın yaşamı boyunca devam eder (2,15,16).



Şekil 2.5. Hyalin kıkırdağın gelişimi. A: Kıkırdağın başlangıç dokusu mezenkimdir. B: Mezenkim hücrelerinin çoğalmaları sonucu hücrelerden zengin bir doku oluşur. C: Çok miktarda matriks oluşumuyla kondroblastlar birbirinden uzaklaşır. D: Kıkırdak hücrelerinin bölünmesi ile birlikte izogen gruplar meydana gelir. Her birinin etrafı teritoryal matriks (kapsül matriksi) yoğunlaşması ile kuşatılır (12).

2.1.5. Kıkırdakta Görülen Bozukluklar

Kıkırdak dokusunda görülen en yaygın dejenerasyon yaşlanmayla beraber görülen matriksin kalsifikasyonudur. Kalsifikasyonda kıkırdak hücrelerinin önce boy ve hacimleri artarak yapısal ve fonksiyonel değişime uğrarlar, daha sonra da hücreler bozularak ölür. Bu olay aslında uzun kemiklerin gelişiminde normal olarak ortaya çıkmaktadır. Ancak özellikle yaşlanma ve diğer bazı patolojik olaylar sonunda kıkırdakta kalsifikasyonunun meydana geldiği çok sık görülmektedir.

Kıkırdak dokusunda görülen diğer dejenerasyon ise, asbestos transformasyonudur. Bu olayda, kıkırdağın iç bölgelerindeki hücrelerde sayıca azalma görülmeye başlar, kollajen fibrillerde kalınlaşma ve anormal artış görülür ve kıkırdak yumuşar. İpliğimsi görünümündeki bu liflere asbestos lifleri, olayada asbestos transformasyonu denir (1,2).

2.1.6. Kıkırdağın Yenilenmesi (Kıkırdak Rejenerasyonu)

Kıkırdak dokunun yenilenmesi sınırlıdır. Hasar gören alanın büyüklüğüne veya küçüklüğüne göre iki farklı yenilenme görülür.

Herhangi bir nedenle hasarlanan veya bozulan bölgenin alanı küçükse, ilk olarak hasarlı kıkırdak dokusunun perikondriyumundaki kondroblastlar tarafından (kondrojenik aktivite) yeni kıkırdak dokusu oluşturulur ve hasarlı bölge bu yeni dokuyla kaplanır.

Şayet hasar gören alan büyükse, kıkırdağın perikondriyumundan yeni bir kıkırdak dokusu oluşturulmaz yerine hasarlı bölge bağ dokusundan oluşmuş bir skar dokusu ile doldurularak hasar gören alanın onarımı sağlanır (1,2).

2.2. KEMİK DOKU

Yetişkin iskeletinin ana yapısını oluşturan kemik dokusu, bağ dokusunun özelleşmiş bir şeklidir. Yapısındaki kalsiyumdan dolayı vücudu oluşturan dokular arasında dişten sonraki en sert yapı olup organizmada gerçek anlamda destek görevi yapar. Kıkırdak dokudan sonra darbelere en çok dayanaklı olan dokudur. Kemik dokunun sert olması onun vücutta hayati önem taşıyan organların korunmasını da üstlenmesine neden olmuştur. Örneğin, merkezi sinir sistemi, akciğer, kemik iliği gibi yumuşak doku ve organlar kemik dokusunun oluşturduğu kemikler tarafından desteklenir ve korunur. Ayrıca kasların tutunmasıyla birlikte vücut hareketinin sağlanmasına katkı sağlamaktadır.

Bunlar dışında kan hücrelerinin yapıldığı kemik iliğini içermesi ve metabolik önemi olan kalsiyum ve fosfat gibi iyonların konsantrasyonlarının normal olarak sürdürülmesi için depolama ve salgılama yaparak hemostazda önemli rol oynadığı düşünüldüğünde, kemiğin destek dokusu olma dışında da önemli rolleri olduğu ortaya çıkar (1,2).

2.2.1.Kemik Matriksi

Kemik matriksi, organik ve inorganik maddelerden oluşmaktadır.

Organik madde: Tip I kollajen ve proteoglikan agregasyonları (bir araya gelme) ile birkaç özel yapısal glikoproteini içeren temel maddeden oluşmaktadır. Gelişmiş bir kemik dokusunda kollajen lifler birbirlerine paralel ve aralarında gözenekler oluşacak şekilde yerleşmiş olup, bu aralıklara hidroksiapatit kristalleri yerleşmiştir. Hidroksiapatit ile kollajen lifler arasındaki bu ilişki kemiğin sert ve dayanıklı olmasını sağlar.

Kollajen miktarının fazla olması sebebiyle dekalsifiye edilmiş kemik matriksi, kollajen boyaları ile koyu olarak boyanır. Histolojik ortamda dekalsifiye edilmiş kemik şeklini korur ancak tendon kadar esnek hale gelir. Kollajenden oluşan matriks kısmın organik kısımları çıkarıldığında ise, kemik yine şeklini korumasına rağmen kırılgan hale gelir ve dokunulduğunda kırılır (1,13,17).

İnorganik madde: Kemiğin kuru ağırlığının yarısını oluşturmaktadır. İçerisinde en fazla bulunan maddeler kalsiyum ve fosfattır. Ayrıca içerisinde bikarbonat, potasyum, sodyum, magnezyum ve sitrat da yer almaktadır. Kalsiyum ve fosfatın birleşmesiyle hidroksiapatit kristalleri oluşmaktadır. Bu oluşan kristaller amorf madde ve kollajen liflerle sarılıp, etrafı su ve iyonlarla kaplanarak hidratasyon kabuğu adı verilen bir tabaka oluşur. Oluşan bu tabaka sayesinde kristaller ile vücut sıvıları arasında iyon alışverişi sağlanır (1,2,3,17).

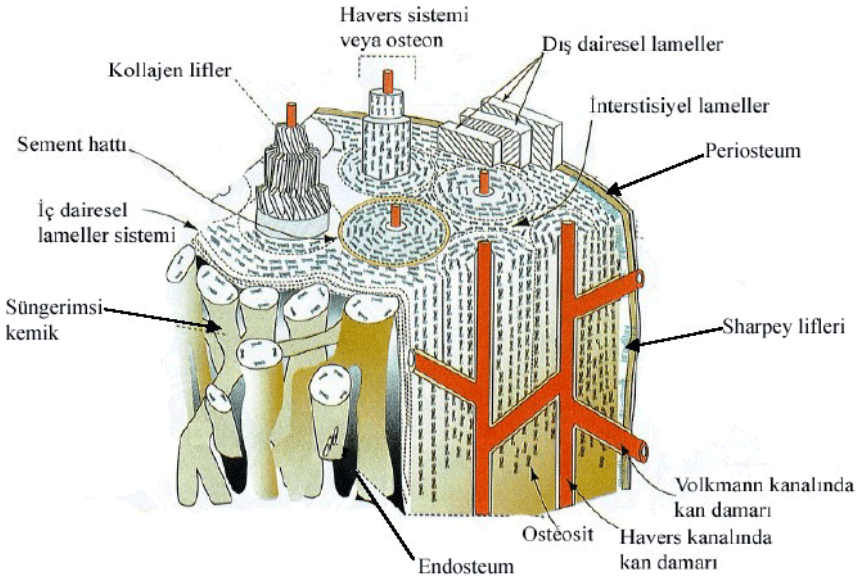
2.2.2. Periosteum ve Endosteum

Kemiğin dış ve iç yüzeyleri, kemiği oluşturan hücrelerden ve bağ dokusundan oluşan zarlarla örtülüdür. Bu zarlardan dıştakine periosteum, içtekine de endosteum adı verilir. Periosteumun ve endosteumun görevi, kemik dokusunun beslenmesini, büyümesini ve tamiri için gerekli hücreleri sağlamaktır (Şekil 2.6).

Periosteum; Kemik dokusunu dıştan saran bağ dokusuna periosteum adı verilir. Bağ dokusundan yapılı olan bu tabaka eklem yüzeyleri hariç tüm kemiği dıştan çevreler. Periosteum dış ve iç olmak üzere iki tabakadan oluşmaktadır. Dış tabaka fibröz tabaka olup kollajen lifler ve fibroblastlardan oluşur. Periosteumun bu dış tabakasında ki kollajen lif demetlerinini birleşmesiyle oluşan Sharpey lifleri, matriks içine doğru girerek periosteumu kemiğe bağlamaktadır. İç tabaka ise osteojenik tabaka olarak

isimlendirilir ve buradaki hücrelerin çoğunu osteoprogenitör hücreleri oluşturur. Osteoprogenitör hücreler özellikle kemik yaralanmalarında osteoblast haline dönüşerek yeni kemik dokuyu yapar ve o bölgeyi onarır (3,13).

Endosteum; Kemik dokusunu içten saran bağ dokusuna endosteum adı verilir. Kemiğin içindeki bütün boşlukları örter ve tek katlı yassı osteoprogenitör hücreleri ile çok az miktarda bağ dokusundan oluşur. Periosteuma göre oldukça ince olan bu tabakanın hem kemik doku hem de hemopoetik hücreleri yapabilme özelliği vardır (2,3,13).



Şekil 2.6. Kompakt kemiğin yapısını gösteren şematik çizim (15).

2.2.3. Kemik Hücreleri

2.2.3.1. Osteoprogenitör Hücreler: Kemik iliğindeki mezenkimal hücrelerden köken alan bu hücreler, çoğalma, farklılaşma gibi kök hücrelerinin özelliklerine sahiptir. Bu hücreler periosteum ile endosteumun iç tabakasında bulunur. Yoğun bölünme ve çoğalma özellikleriyle osteoblastlara dönüşür. Periosteumun iç yüzeyinde yer alan osteoprogenitör hücrelere periosteal hücreler denir. Kemik iliğinin, Havers ve Volkmann kanallarının iç yüzünü döşeyen osteoprogenitör hücrelere endosteal hücreler adı verilir. Uzun, oval şekilli nükleusları bulunan, soluk asidofil veya hafif bazofil sitoplazmalı yassı, mekik şekilli hücrelerdir. Sitoplazmaları organelden zengindir. İyi gelişmiş endoplazmik retikulumu, bol serbest ribozom, belirgin Golgi kompleksi

içerirler. Kemiğin büyüme döneminde ve kırık iyileşmesi döneminde mezenkimal hücrelerden köken alan osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşerek kemik matriksini salgılar (3,13).

2.2.3.2. Osteoblastlar: Osteoblastlar, Tip 1 kollojen, proteoglikan ve glikoprotein sentezi yaparak kemik matriksinin organik kısımlarının üretiminden sorumlu hücrelerdir. Kemik matriksinin inorganik kısımlarının çökelebilmesi de osteoblastların varlığına bağlıdır. Osteoblastlar 15-20 mikron çapında olup büyük bir çekirdek ve oldukça büyük bir çekirdekçiği olan hücrelerdir.

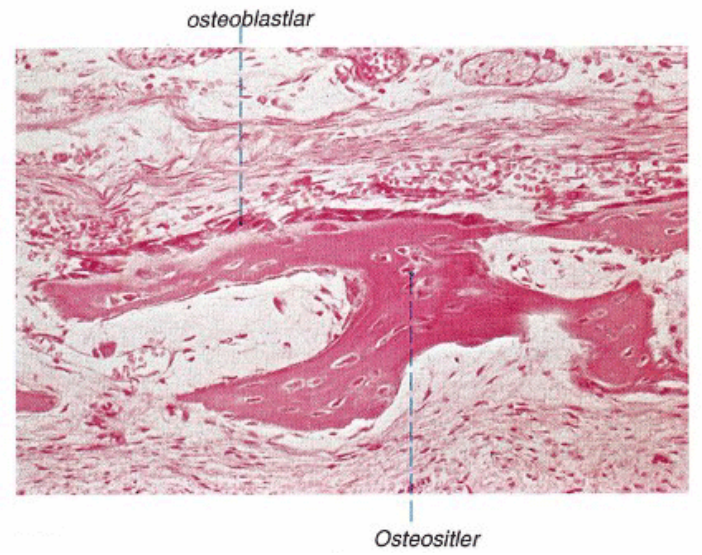
Osteoblastlar büyümekte olan kemik dokusunun dış yüzeyinde tek katlı epitelyum hücrelerini andıran bir biçimde yan yana dizilmiş şekilde yer alırlar. Matriks sentezi yapmaya başladıkları dönemde şekilleri pirizmatik, kübik ve basık şekilli olabilirler. Üretim işlevleri azalmaya başladığında ise, yassılaşırlar ve stoplazmadaki bazofilik özellik azalmaya başlar. Osteoblastlar, stoplazmalarında içerdikleri yaygın granüler endoplazmik retikulum ve ribozomlar nedeniyle bazofil boyanır.

Osteoblastların komşu osteoblastlarla temasını sağlayan sitoplazmik uzantıları vardır. Bu uzantılar, hücre kendi etrafını matriks ile sarmaya başladığı zaman daha belirgin hale gelir. Osteoblastlar yeni sentezi yapılmış matriks ile sarıldıklarında osteosit adını alırlar. Hücrenin ve sitoplazmik uzantıların etrafında matriksin oluşması ile lakuna ve kanalcıklar belirgin hale gelir. Matriks sentezi esnasında osteoblastlar yapısal olarak aktif protein sentezi yapan ve salgılayan hücrelere benzerler. Matriksin salgılanması, daha önce yapılmış kemik matriksi ile temas halinde olan osteoblastların yüzeyinden olur. Böylece yeni fakat henüz kalsifiye olmamış matriks, osteoblastlar ile daha önce meydana gelmiş kemik matriksi arasında yer alır. Bu olaya "kemik apozisyonu" denir ve zamanla Ca^{+2} tuzlarının çökelmesi ile kalsifikasyon tamamlanır (1,15,18).

2.2.3.3. Osteositler: Osteositler, osteoblastların farklılaşmasıyla oluşan, bölünebilme yeteneği olmayan, sınırlı olarak kemik matriksini sentezleme ve reabsorbe etme yeteneği olan hücrelerdir. Osteositler osteoblastlara göre yassı, elips şekilli, uzamış sitoplazmalı, belirgin nukleuslu hücrelerdir. Endoplazmik retikulumları ve Golgi kompleksleri küçülmüştür. Nükleer kromatinleri daha yoğundur. Bu hücreler kemik matriksinin devamlılığı ile aktif olarak ilgilidir. Kan kalsiyumunun normal sınırlar içinde sürdürülmesinde rolleri vardır. Travma veya yaşlanmaya bağlı olarak osteosit

ölümü gerçekleştiğinde kemik dokusu osteoklastların aktivitesi ile rezorbe edilir ve yerine osteoblastların aktivitesi ile yeni kemik dokusu şekillenir.

Osteositler matriks lamelleri arasında bulunan lakunalar içine yerleşmiştir. Her lakunada sadece bir osteosit yer alır (Şekil 2.7). Osteositlerin sitoplazmik uzantıları ince silindirik kanalcıklarla sarılmıştır. Komşu osteositlerin sitoplazmik uzantıları arasında oluşan bağlantılar ile besin maddeleri, bir hücreden diğer hücreye geçer. Osteositler ile kan damarları arasında ki moleküler alışveriş, osteositler ile kemik matriksi arasında bulunan çok az miktardaki ekstrasellüler madde vasıtasıyla olur (2,13).



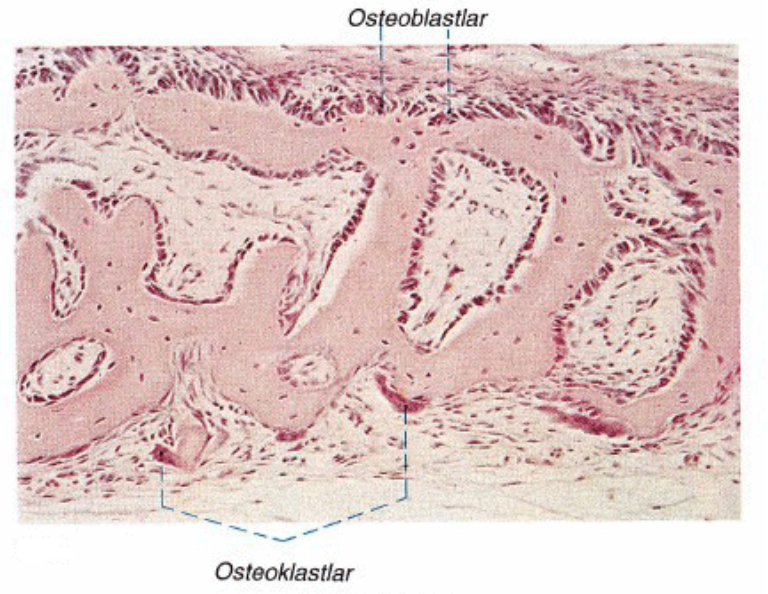
Şekil 2.7. Osteoblastların kemik trabeküllerinin çevresine yapışık görünümünde sıralandıkları dikkati çekiyor. Osteositler oluşan bu trabeküllerin iç bölgelerine kaymış bulunmaktadır. H-E boyası. Büyütme x 150 (19).

2.2.3.4 Osteoklastlar: Kemik yıkımını veya rezorbsiyonunu gerçekleştiren, 20-100µm çapında çok büyük hücreler olup 2'den 50'ye kadar değişen sayılarda nukleusları bulunur. Fonksiyonlarından dolayı makrofaj türü hücre olarak da kabul edilirler. Osteoklastlar içerdikleri kollajenaz ve diğer proteolitik enzimlerle kemiği rezorbe etmektedir. Eritici enzimler sayesinde temel maddeyi serbestleştirirler ve rezorbsiyon sırasında açığa çıkan artıkları ortadan kaldırırlar (Şekil 2.8).

Çok nukleuslu Osteoklast'lar, uzun kemiklerde, epifizlerde kemik trabeküllerinin başlangıç bölgelerindeki Howship boşluklarında kolayca görmek mümkündür. Kemik dokusunda rezorpsiyon bölgelerinde rastlanılan osteoklastlar kemiğin modelleşmesinde

önemli rol oynar. Osteoklastın rezorbe edeceği kemik dokusuna doğru fırçamsı kenar oluşturduğu ve bu kenarda bulunan mikrovilluslar ile kemik resorpsiyonunu gerçekleştirdiği dikkati çeker. Böylece osteoklast ve osteoblast arasında oluşan uyumlu fonksiyon sayesinde kemiklerde şekillenmeler ortaya çıkar ve her kemiğin belirli bir biçim alması sağlanır.

Osteoklast aktivitesi hormonal denetim altındadır. Paratiroid hormonu (parathormon) osteoklastların sayı ve etkinliklerini arttırır ve kemik resorpsiyonunu sağlarken, buna karşılık tiroid bezinden salgılanan kalsitonin adlı hormon ise osteoblastların sayı ve etkinliklerini arttırarak kemik yapımını sağlar (1,2,18).



Şekil 2.8. Köpek fetusünden elde edilen çene kemiği örneğinde trabeküllerin düzeni gözleniyor. Deri dokusuna bakan kemikleşme yüzeyleri boyunca dizilmiş osteoblastların osteoid birikimini sağladıkları belirgindir. Trabeküllerin ağız boşluğuna komşu yüzeyleri boyunca, kemiğin enzimlerle eritilerek ortadan kaldırılmasından sorumlu çok çekirdekli dev hücreleri olan osteoklastların yerleştikleri gözlenmektedir. H-E boyası. Büyütme x 95 (19).

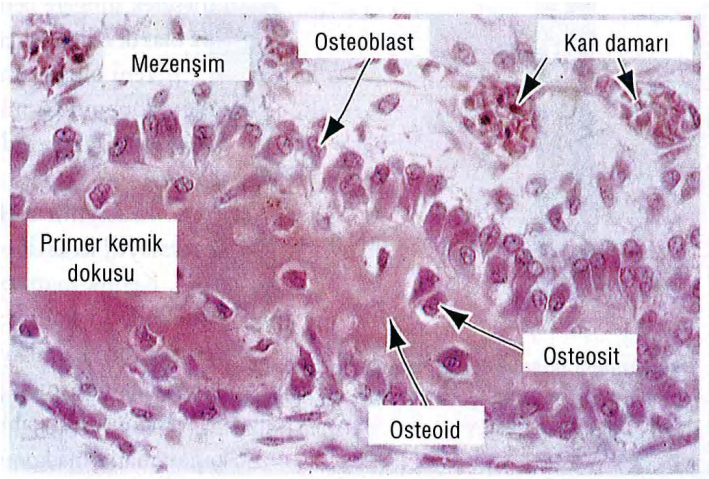
2.2.4. Kemik Türleri

Kemik dokusu, mikroskop altında incelendiğinde primer (olgunlaşmamış, lamelsiz) ve sekonder (olgunlaşmış, lamelli) kemik dokusu olmak üzere ikiye ayrılır.

2.2.4.1. Primer Kemik Dokusu: Primer kemik dokusu, ilk ortaya çıkan kemik dokusudur. Embriyolojik gelişim sırasında veya kırıkların onarımı sırasında görülür.

Yetişkin vücudunda, kafatasında bulunan yassı kemiklerin eklem yerlerinde, diş alveollerinde ve tendonların kemiğe yapıştığı yerlerde bulunur.

Primer kemik dokusu, sekonder kemik dokusu gibi lamelli bir yapı göstermez ve kollajen lifler rastgele dizilmişlerdir. Ayrıca primer kemik dokusu, sekonder kemik dokusundan daha az mineral içerir (röntgen ışınlarının daha kolay geçişini sağlar) ve sekonder kemik dokusundan daha fazla osteosit hücresine sahiptir. Sekonder kemik eozinle boyanmasına rağmen primer kemik dokusu hematoksilenle yoğun olarak boyanır (Şekil 2.9) (1,2,18).



Şekil 2.9. Primer kemik dokusunun gelişimi (15).

2.2.4.2. Sekonder Kemik Dokusu: Sekonder kemik dokusu genellikle yetişkinlerde bulunan olgunlaşmış kemik dokusudur. Kompakt kemik ve süngerimsi (spongioz) kemik adı verilen iki tipi bulunmaktadır.

2.2.4.2.1. Kompakt Kemik: Osteon veya Havers sistemi olarak isimlendirilen silindirik birimlerden oluşmuş homojen bir yapıya sahip kemik dokusudur. Kompakt kemiğin yapısında, hücreler az yer kaplamasına karşın matriks kısmı daha geniş yer kaplar. Kompakt kemikte kemik lamelleri 3-7 mikron kalınlığında olup yapısal özelliklere göre; Havers lamelleri, interstisyel lameller, iç dairesel lameller ve dış dairesel lameller olmak üzere dört gruba ayrılırlar.

Kompakt kemik dokuda kan damarlarını taşıyan kanallar iki ayrı yönde seyir gösterir. Kemiğin uzun eksenine paralel uzanan kanallara Havers kanalları, kemiğin uzun eksenine dik olarak seyreden kanallara ise Volkmann kanalları denir (Şekil 2.10).

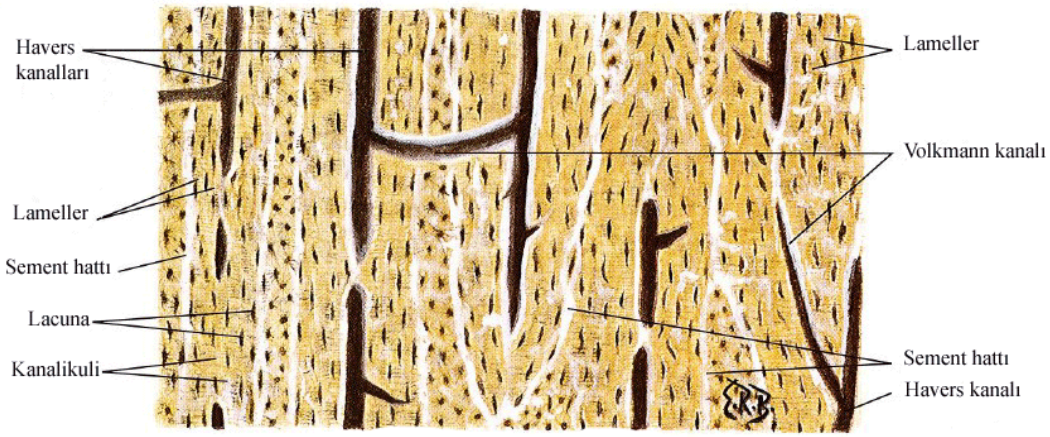
Havers kanalları içerisinde küçük bir arteriol veya bir venül, bazen de tek bir kapiller damar bulunur. Matriksi sertleşmiş olan kompakt kemik dokusu bu kanallardaki kan damarlarından çıkan besleyici maddelerin osteositler aracılığıyla diffüzyonu ile beslenir.

Havers kanalları etrafında, dairesel tarzda dizilmiş, sayıları bazen 4-20 arasında değişen lamellere Havers lamelleri denilir. Havers lamellerinin oluşturmuş olduğu sisteme ise Havers sistemi veya osteon adı verilir (Şekil 2.11).

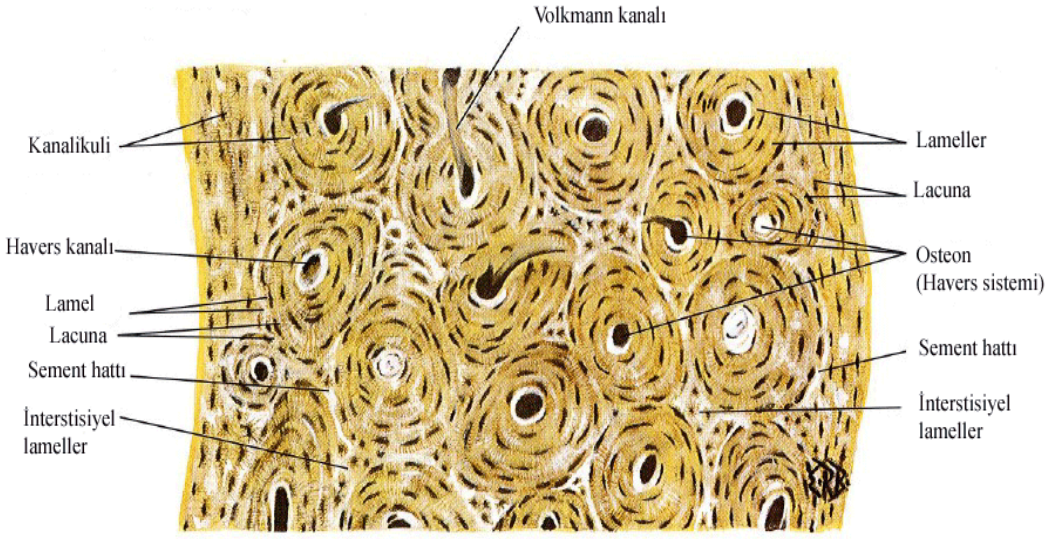
Havers kanallarının çapları oldukça farklılık gösterir. Her sistemin lamelleri dıştan içe doğru birbiri ardına oluşur ve genç sistemlerin kanalları daha büyüktür. Gelişmiş Havers sistemlerinde merkezi kanala en yakın olan lamel en yeni lameldir. Büyüme sırasında ve hatta yetişkin kemikte Havers sistemleri sürekli yıkılıp yeniden yapıldığı için, çoğu zaman oldukça büyük bir merkezi kanal ve bir iki lamelden ibaret sistemlerde görülebilir.

Periosteumun hemen altında dairesel olarak ve birbirine paralel uzanan birkaç tabakalı lamellere dış dairesel lameller denilir. Endosteumu çevreleyen lamellere ise iç dairesel lameller denilir. İç dairesel lamellerin sayıları dış dairesel lamellerin sayısından fazladır.

Her iki dairesel sistem arasında çok sayıda Havers sistemi vardır. Havers sistemleri arasında, üçgen veya düzensiz gruplar halinde, birbirlerine paralel lamelden oluşan lamellere intertisyal (veya intermediate) lameller denilir (Şekil 2.11). Bunlar büyüme ve yeniden şekillenme sırasında yıkılan eski Havers sistemlerinden arta kalan lamellerdir (1,2,13).



Şekil 2.10 Kompakt kemik (Longitudinal kesit). Düşük derecede büyütme (14).



Şekil 2.11 Kompakt kemik (Transvers kesit). Düşük derecede büyütme (14).

2.2.4.2.2. Süngerimsi (spongioz) Kemik: Yapı olarak kompakt kemik dokusuna benzemesine rağmen, kemik iliğini içeren, birbiri ile bağlantılı, labirent şeklinde boşluklar ile ayrılmış kemik trabeküllerinden oluşur (Şekil 2.12). Bu trabeküller düzensiz lamel sistemi içeren ince kemiksi oluşumlardır. Bu yapılar kalın trabeküller haricinde genellikle Havers sistemi içermez. Trabeküller içinde, osteositler ve kemik kanalikülleri bulunur. Trabekülleri saran endosteum, osteoprogenitör hücreleri, osteoblastları ve osteoklastları içerir (13).

Uzun kemiklerin uç kısımları epifiz olarak adlandırılır ve esas olarak süngerimsi kemikten oluşmuştur ve bunların üst yüzeyleri ince bir kompakt kemik tabakasıyla örtülmüştür. Kemiğin orta silindirik kısmına ise diafiz denilir ve bu bölgenin kemik iliğine bakan kısmı az miktarda süngerimsi kemikten yapılmasına rağmen esas olarak kompakt kemikten yapılmıştır. Kısa kemikler, genellikle etrafı kompakt kemikle çevrelenmiş süngerimsi kemik özelliğine sahiptirler. Kafatasında bulunan yassı kemiklerin iç ve dış yüzleri, lamina adı verilen kompakt kemik tarafından oluşturulurken, bunlar (laminalar) arasında bulunan ve diploe adı verilen kısmı süngerimsi kemik tarafından oluşturulur (1).



Şekil 2.12. Süngerimsi kemik (transvers kesit), hematoxylin eosin boyama (14).

2.2.5. Kemiğin Oluşumu

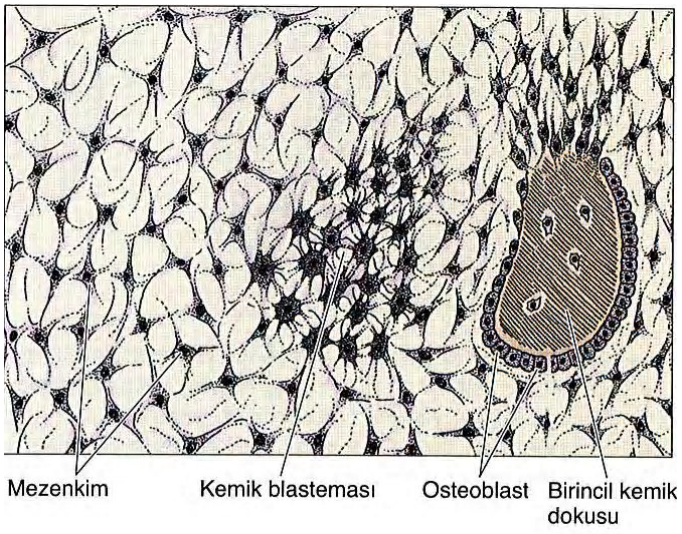
Kemik doku, osteoblastların salgıladıkları matriksin doğrudan doğruya mineralizasyonu ile (intramembranöz kemikleşme) veya daha önce var olan kıkırdak matriks üzerine kemik matriksinin çöküşü ile (enkondral kemikleşme) şekillenir. Bu her iki çeşit kemikleşme şeklinde de, ilk olarak ortaya çıkan kemik dokusu, primer veya olgunlaşmamış kemik dokusudur. Primer kemik dokusu geçicidir ve kısa bir süre sonra sekonder kemik dokusu (lamelli kemik) ile yer değiştirir. Mandibula, klavikula ve kafatasının yassı kemikleri intramembranöz yolla, ekstremite gibi yük altında kalan

vücut bölümlerinin kemikleri endokondral yolla oluşur. Uzun kemiklerin büyümesi hem endokondral hem de intramembranöz yolla gerçekleşir (1,18).

2.2.5.1. İntramemranöz Kemikleşme: İntramembranöz kemik gelişimi gebeliğin yaklaşık 8. haftasında başlar. Mezenkim hücrelerinin belirli alanlarda bir araya gelerek gruplar oluşturması ve bu alanların membrana benzemesinden dolayı bu tür kemikleşmeye intramembranöz kemikleşme denilmiştir. İntramembranöz kemik gelişimi, gevşek mezenkim doku içindeki soluk boyanan mezenşimal hücrelerinin belirli bölgelerde bir araya gelerek gruplar oluşturmasıyla başlar. Kemikleşmenin olacağı bölgelerde bol miktarda damar bulunur ve buradaki mezenkimal hücreler iri ve yuvarlak şekillidir. Mezenkimal hücre stoplazması da eozinofilikten bazofiliğe değişir. Bu sitolojik değişiklikle birlikte mezenkimal hücreler osteoblastlara farklılaşır. Osteoblastlarda kemik matriksini üretmeye başlarlar. Kemikleşmenin başladığı bu ilk bölgeye primer kemikleşme merkezi denir (Şekil 2.13). Yeni kemik matriksinin oluşmasını, kalsifikasyon takip eder, bunun sonucunda bazı osteoblastların etrafı sarılır ve daha sonra bu hücreler, osteosit haline gelirler. Gelişmekte olan bu kemik adacıklarına histolojik kesintilerdeki görüntülerinden dolayı spikül (iğnecik) adı verilir. Spiküllerin arasında kan kapilleri, kemik iliği hücreleri, farklılaşmamış hücreler bulunur. Osteoblastların osteositlere dönüşmesiyle birlikte, membran içindeki primitif hücrelerde osteoprogenitör hücrelere, bunlarda ilk şekillenen spiküllerin üzerine tutunup osteoblastlara dönüşürler. Böylece spiküller üzerine yeni matriks eklenir. Bu apozisyonel mekanizmayla spiküller genişler ve ortaya çıkan diğer spiküllerle birleşerek ilerde kemiğin şeklini vermek üzere süngerimsi bir ağ yapısı oluştururlar. Kemik spikülleri arasındaki bağ dokusuna, kan damarları ve kemik iliği hücrelerini oluşturacak olan fazla sayıda farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin girmesiyle kemik iliği hücreleri de meydana gelir.

Frontal ve parietal kemiklerin tamamı ile oksipital ve temporal kemikler, mandibula ve maksilla'nın bazı kısımları intramembranöz kemikleşme ile meydana gelir. İlk kemikleşme klavikulada ortaya çıkar. İntramembranöz kemikleşmenin hem kısa kemiklerin büyümesinde ve hem de uzun kemiklerin kalınlaşmasında rolü vardır. Özellikle doğumdan sonra, kafatasının yassı kemiklerinin iç ve dış yüzeylerinde intramembranöz kemik yapımı yıkımından daha fazladır. Böylece dışta iki tabaka kompakt kemik gelişirken ortadaki süngerimsi kemik yapısını korur.

Mezenkimal doku yoğunlaşması içindeki hücreler bölünerek, kemikleşme merkezinin devamlı olarak büyümesinden sorumlu olan, daha fazla sayıda osteoblastı meydana getirir. Birkaç kemikleşme merkezi büyüyüp birleşerek, başlangıçtaki orijinal bağ dokusunun yerini alır. Bebeklerdeki bıngıldak (fontanel) buna örnektir. Bunlar bağ dokusundan oluşan, kafatasının henüz kemikleşmemiş yumuşak bölgelerine karşılık gelmektedir. Bağ dokusunun kemikleşmeye katılmayan bölümleri ise, intramembranöz kemiğin endosteumu ve periosteumunu meydana getirir (1,2,13).



Şekil 2.13. İntramemranöz kemileşmenin başlangıcı. Mezenkim hücreleri yuvarlak hale gelerek, birincil kemiği yapacak osteoblastların farklılaştığı blastemayı oluşturur (12).

2.2.5.2. Endokondral Kemikleşme: Bu tip kemik gelişimi, yoğunlaşmış mezenşim hücrelerinin oluşturduğu primitif kemik modellerinin önce kıkırdak dokuya değişimleri, ardından da bu kıkırdak dokunun yerini kemik dokuya bırakması ile oluşur.

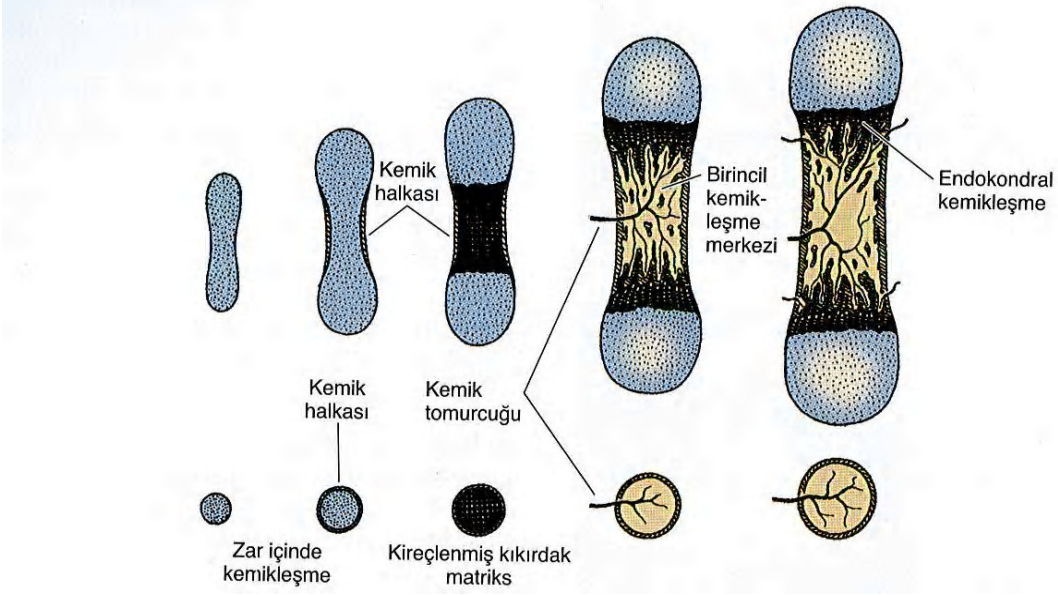
Endokondral kemikleşme iki aşamada gerçekleşir. İlk aşamada öncelikle kıkırdaktaki kondrositler hipertrofi uğrayarak dejenere olurlar ve bunun sonucunda kıkırdak matriksi içinde genişlemiş boşluklar ortaya çıkar. İkinci aşamada ise, osteoprogenitör hücreler ve kan kapillerinin oluşturduğu osteojenik tomurcuk kıkırdak matriksinin boşluklarına girer. Osteoprogenitör hücreler kıkırdak matriksi parçaları üzerine tutunup osteoblastlara dönüşerek kemikleşmeyi başlatır.

Endokondral kemikleşme ilk olarak kıkırdağın diafizini saran perikondriumun içinde gerçekleşen intramembranöz kemikleşme yoluyla başlar. Başlangıçta kıkırdağı saran

perikondriumun iç kısmında periosteal kemik halkası adı verilen silindirik bir kemik yapısı oluşur. Kıkırdağı çevreleyen perikondrium periosteal kemik halkasını çepeçevre sardığı için artık periosteum adını alır. Bu aşamada diafizden bir kesit alınıp incelendiğinde periosteumun hemen altında kemik halkası onun da altında ise hyalin kıkırdak görülür.

Periosteal kemik halkasının oluşması ile kıkırdağın difüzyonla beslenmesi engellenir ve kemik halkası arasında ki kondrositler dejenere olarak kıkırdak matriksinin devamlılığını sağlama yetenekleri ortadan kalkar, kalsiyum çökmeye başlar ve kıkırdak matriksi kalsifiye olur. Kondrositlerin ölmesiyle birlikte matriksin büyük bir kısmı yıkılır ve lakünalar, kaviteler oluşturarak birleşirler. Bu aşamada birkaç kan damarı ve osteoprogenitör hücreler, osteoklastlar tarafından kemik halkada açılan deliklerden kalsifiye olmuş kıkırdak matriksi içine girer ve çoğalarak osteoblastları oluşturur.

Yeni oluşan osteoblastlar kalsifiye olmuş kıkırdak matriksi üzerinde, bir tabaka oluşturarak kemik matriksini sentezlemeye başlarlar. Böylece kalsifiye kıkırdağın üzerinde primer kemik sentezi başlar. Bununla birlikte osteojenik tomurcuk aracılığıyla kan dolaşımındaki kemik iliğinin kök hücreleri de yeni oluşan kemiğin içine getirilir. Bu aşamada histolojik kesitlerde kalsifiye olmuş kıkırdak bazofilik olarak, üzerine çökmüş kemik dokusu ise asidofilik olarak birbirinden ayırt edilir. Kemik matriksi geliştikçe, kalsifiye kıkırdak artıkları osteoklastlara benzeyen çok çekirdekli hücreler tarafından ortadan kaldırılır. Bu şekilde diyafizde ortaya çıkan kemikleşme merkezine primer kemikleşme merkezi denir. Uzunlamasına büyüme diyafizin tamamen kemikleşmesiyle sona erer (Şekil 2.14).



Şekil 2.14. Kıkırdak model üzerine endokondral kemikleşmenin oluşumu (12).

Primer kemikleşme merkezi oluşumundan itibaren osteoklastlar aktif haldedir ve rezorpsiyonla hem kemik iliği kavitesinin hem de kemiğin şekillenmesini sağlar. Bu mekanizma fetustaki kemikleşmenin erken safhalarını yansıtır. Kemiklerin son şeklini alması için iç büyümeyi devam ettiren kıkırdak dokusuna ihtiyaç vardır. Uzun kemiklerin epifizleri hala hyalin kıkırdak yapısındadır. Zamanla, diafizyal kemik kıkırdağın yerini alırken, kemiğin her iki ucundaki kıkırdakta farklı tabakalaşmalar ortaya çıkar. Epifizyal kıkırdak adı verilen bu kıkırdak 5 farklı bölgeye (kuşağa) ayrılır (Şekil 2.15).

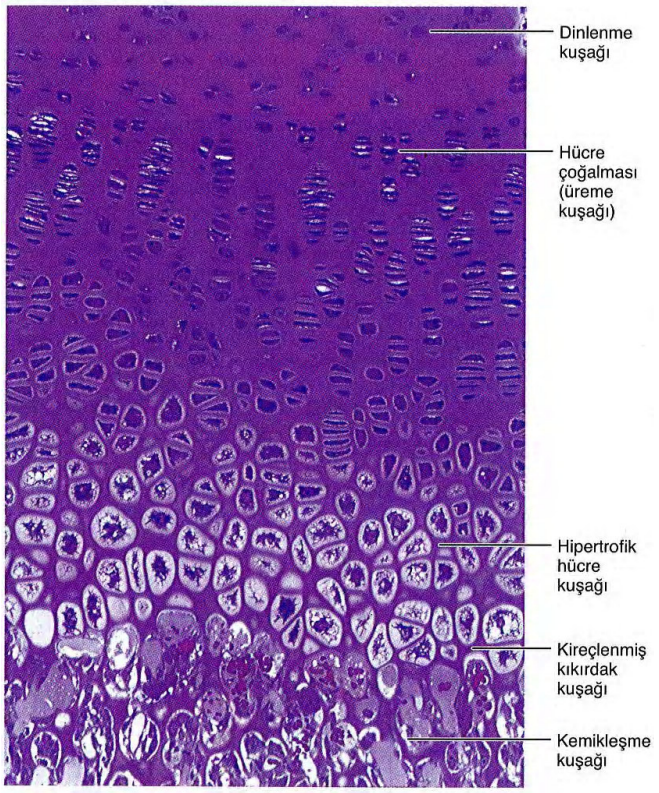
1. Dinlenme Bölgesi: Küçük kondrosit gruplarından oluşan, hücrelerinde morfolojik değişiklikler görülmeyen hyalin kıkırdaktan oluşmuş bölgedir. Diafizyal kemikleşmeye en uzak, eklem bölgesine yakın olan kıkırdak bölgesidir. Buradaki hücrelerde proliferasyon veya matriks üretimi yoktur.

2. Proliferasyon (çoğalma) Bölgesi: Dinlenme bölgesinin diafize yakın olan kıkırdak bölgesidir. Buradaki kıkırdak hücreleri (kondrositler) hızla bölünerek kemiğin uzun eksenine paralel, üst üste dizilmiş sütunlar şeklinde izogen grupları oluştururlar. Aynı zamanda aktif bir şekilde matriks üretilir. Bu işlem kıkırdak taslağının uzunlamasına büyümesini sağlar.

3. Hipertrofi (büyüme) Bölgesi: Stoplazmalarında glikojen birikmiş büyük kıkırdak hücrelerinden oluşur. Hücre bölünmesi azalmıştır. Kıkırdak matriksi hipertrofiye olmuş kondrosit dizileri arasına sıkışmıştır.

4. Kalsifikasyon Bölgesi: Kıkırdak hücrelerinin dejenere olarak öldüğü görülen bu bölgede, matrikste kalsifikasyon gerçekleşir. Gelişen kalsifikasyon kemik gelişimini hızlandırır.

5. Kemikleşme Bölgesi: Kalsifiye kıkırdak matriksi yüzeyinde osteoprogenitör hücreler osteoblastlara dönüşerek kemik matriksini oluştururlar.



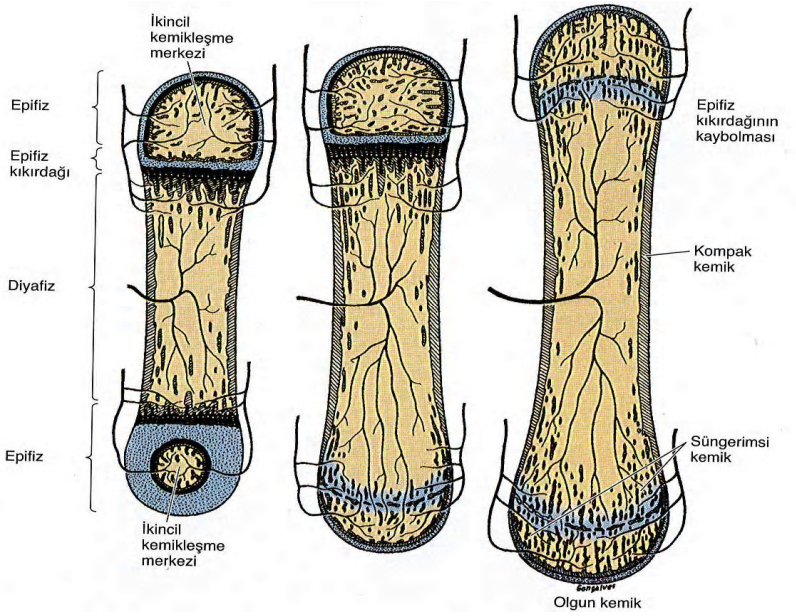
Şekil 2.15. Epifiz plağının 5 kuşağını, kıkırdak içinde gerçekleşen değişiklikleri ve kemiğin oluşumunu gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Küçük büyütme (2).

Yeni oluşan osteoblastlar kemik matriksini oluşturduktan sonra osteositlere dönüşler. Yeni bir osteoblastik hücre grubu bunların üzerine tutunarak spiküllerin büyümesini sağlarlar.

Kemikleşme sadece diafiz bölgesinde değil, ilerleyen dönemlerde epifizlerin orta kısımlarında da görülür. Epifizlerin orta kısımlarında görülen bu kemikleşmeye

sekonder kemikleşme merkezi denir. Bu merkezlerin fonksiyonları primer kemikleşme merkezlerininkine benzemesine rağmen, büyüme yönleri uzunlamasına değil ışınsaldır ve eklem kıkırdağında perikondrium bulunmadığı için hiçbir zaman kemik halka oluşmaz.

Sekonder kemikleşme merkezlerinin gelişmesiyle birlikte bu bölgede iki ayrı kıkırdak görülür. Bunlardan biri epifizeal veya diafizeal kaviteleri birbirinden ayırır ve epifizeal kıkırdak veya epifizeal plak adını alır. Bu plak kemiğin büyümesinin devamını sağlar ve bu plağın uzaması durduğunda da kemiğin büyümesi durur. Diğer kıkırdak ise hayat boyu kalıcı olan eklem kıkırdağı olup kemik yapımına katılmaz (Şekil 2.16) (1,2,13,18).



Şekil 2.16. Kıkırdak model üzerine endokondral kemikleşme ile ikincil kemikleşme merkezinin oluşumu (12).

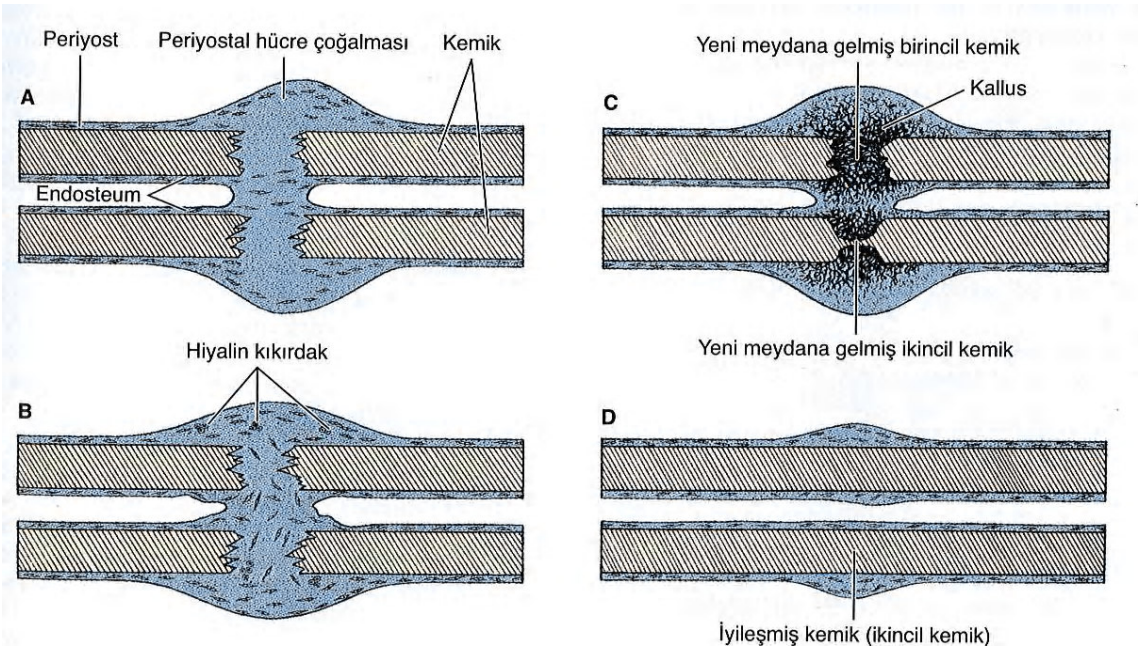
2.2.6. Kemiğin Büyümesi ve Yeniden Şekillenmesi

Kemiğin büyümesi genel olarak önceki kemik dokusunun yıkılırken yeni kemik dokusunun eş zamanlı olarak tekrar yapılmasıyla gerçekleşir. Bu sayede kemik yıkımı gerçekleşirken aynı zamanda şeklinin korunması sağlanır. En fazla kemik yapımı çocuklarda görülür ve çocuklarda ki kemik yapımı, kemik yıkımından daha fazla ve hızlıdır. Kemiğin şekillenmesi; kas kasılması ve vücut hareketlerinin oluşturduğu çekilme ve gerilme kuvveti, hormonal etki, gebelik gibi etkenlere bağlıdır.

Uzun kemiklerin gelişimi, epifiz plağının faaliyetleriyle uzunlamasına, periostal apozisyonla da enine büyüme ile sağlanır. Epifiz kıkırdağın büyümesi sonucunda da kemikleşmeye bağlı olarak kıkırdağın yerini kemik dokusu alır. Epifizin kapanması her kemiğe göre değişik zamanlarda gerçekleşir ve 20 yaşına doğru tamamlanır. Epifiz kapandığında kemiğin enine büyümesi gerçekleşebilmesine karşın, uzunlamasına büyüme gerçekleşmez (1,3,13).

2.2.7. Kemik Kırıklarının Onarımı

Kırık geliştiğinde ilk görülen bulgu kanama ve doku hasarıdır. Kırık geliştiği andan itibaren bu bölgeye ilk olarak ulaşan hücreler nötrofillerdir. Daha sonra kırık alanına makrofajlarda gelerek bu ortamı temizlemeye başlar. Fibroblastlar ve kapillerin çoğalarak bölgeye ulaşmasıyla birlikte fibroblastik aktive ile yeni bir bağ dokusu geliştirilirken bazı yerlerde de kıkırdak dokusu oluşmaya başlar. Kırık bölgesinde oluşan bu bağ dokusu ve kıkırdak dokusundan oluşan bu yeni dokuya kallus denilir. Kallus öncelikle, kırık parçalarının arasında ve etrafında köprü oluşturarak kırılan bu parçaların birleşmesini sağlar. Kallus oluşurken kırığın geliştiği bölgede ki periosteumun osteoprogenitör hücreleri osteoblastlara dönüşürler. Yeni gelişen osteoblastlar kırık bölgesinin uzağında yeni bir kemik dokusu geliştirir ve kallusu işgal edecek şekilde genişlemeye başlar. Kallus daha sonra büyük ölçüde kemik dokusu tarafından işgal edildiğinde endokondral kemikleşme ile kemiğe dönüşür. Başlangıçta oluşan kemik süngerimsi kemik olup zamanla yerini kompakt kemiğe bırakır. Kompakt kemik oluştuğunda kallus osteoklastik aktivite ile yıkılır. Kemik yeniden şekillenir ve eski görünümünü kazanır ve bu süreç erişkinde 6 -12 hafta sürer (Şekil 2.17) (3,13).



Şekil 2.17. Kırılmış bir kemiğin periosteal ce endosteal hücre proliferasyonu ile onarımı (12).

2.2.8. Kemiğin Histofizyolojisi

Destek ve Koruma: Kemikler, yetişkin iskeletinin ana yapısını oluşturur. İskelet kasları, tendonları aracılığıyla kemiklere tutunarak vücut hareketlerine katılır. Kemik dokunun sert olması onun vücutta hayati önem taşıyan organların korunmasını da üstlenmesine neden olmuştur. Örneğin, merkezi sinir sistemi, akciğer, kemik iliği gibi yumuşak doku ve organlar kemik dokusunun oluşturduğu kemikler tarafından desteklenir ve korunur (1,2,17).

Şekillenebilme Özelliği: Kemik doku içyapısını yeniden şekillendirebilme özelliğine sahip olduğu için, karşılaştığı kuvvetlerin etkisiyle yeniden şekillenebilir. Örneğin ortodontik tedavi ile dişler ve çene kemiğine uygulanan kuvvetler sonucunda çene kemiği yeniden şekillenerek bozuk yerleşimli dişler düzeltilebilmektedir. Kemiğe uygulanan çekim kuvveti ile yeni kemik yapımının gerçekleşmesi sağlanırken, itme kuvveti ile rezorbsiyon sağlanır. Bu şekillenebilme özelliği tüm kemikler için geçerlidir (1,2,17).

Kalsiyum Deposu: Vücut kalsiyumunun %99'u iskelet sisteminde depo edilir. Kan ve kemik arasında sürekli bir kalsiyum alışverişi vardır. Besinlerden emilen kalsiyum kemiklerde depo edilir. Depo fazlası kalsiyum ise dışkı ve idrar yoluyla atılarak kan

kalsiyum seviyesinin yükselmesine engel olunur. Kandaki kalsiyum seviyesi azaldığında ise kemiklerdeki kalsiyum serbest hale geçerek kan kalsiyum seviyesi normale döndürülür. Kalsiyumun serbest hale dönmesi paratroid hormonunun etkisiyle olur. Paratroid hormonu osteoklastları aktive ederek kemik rezorbsiyonunu artırır ve kandaki kalsiyum oranının artmasına neden olur. Troid bezinden salgılanan kalsitonin ise matriks rezorbsiyonunu inhibe eder (1,2,17).

Beslenme: Kemiğin şekillenmesi ve gelişimi beslenme ile yakından ilişkilidir. Kalsiyum eksikliğinde ya da kalsiyumun ince bağırsaklardan emilimi için gerekli olan D vitaminin eksikliğinde kemik matriksinde eksik kalsifikasyon görülür. Çocuklarda gelişen kalsiyum eksikliği raşitizme neden olur. Raşitizmde, kemik matriksinin normal bir şekilde kalsifiye olamaması nedeniyle kemikler vücut ağırlığına ve kas hareketlerine karşı direnci düşer ve kemiklerde bükülme görülür. Yetişkinlerde kalsiyum yetersizliği sonucunda kemiğin kısmi dekalsifikasyonu ile tanınan osteomalacia gelişir. Daha çok hareket edemeyen hastalarda veya menopoz sonrası bayanlarda görülen osteoporoz da ise rezorbsiyon artar ya da kemik yapımının azalmasına bağlı olarak kemik kitlesi azalır.

Kemiğin gelişimini direkt etkileyen vitaminlerden biride C vitaminidir. C vitamini kollajen sentezi için gereklidir. Eksikliğinde kollajen yapımı bozulacağı için kemik büyümesi ve onarımı yetersiz olur (1,2,17).

Hormonal Faktörler: Paratroid hormonu ve kalsitonin hormonunun dışında birkaç hormon daha kemiğin gelişimini etkiler. Hipofiz bezinin ön lobundan salgılanan büyüme hormonu epifiz kıkırdaklarını uyararak kemiğin uzamasını sağlar. Büyüme çağında bu hormonun eksikliği hipofizer cüceliğe neden olur. Büyüme hormonunun fazla salgılanması ise gigantizm (devlik) adı verilen aşırı büyümeye neden olur. Yetişkinlerde büyüme hormonunun fazla salgılanması durumunda ise epifiz kıkırdağın olmayışı sebebiyle kemikler uzunlamasına değil genişlemesine büyüyerek agromegali olarak isimlendirilen kemiklerin kalınlaşmasına neden olur.

Erkek ve dişi cinsiyet hormonları da kemiğin gelişimine etki etmektedir. Genel olarak bu hormonlar, kemik yapımını uyararak, kemikleşme merkezinin ortaya çıkmasını sağlar ve epifizin kapanmasını hızlandırır (1,2,17).

2.3. SIÇANLARDA İSKELET SİSTEMİ GELİŞİMİ

Sıçanların gebelik süreleri 21-22 gündür. Doğumdan önceki 9. ve 10. günlerde organlar gelişmeye başlar. Sıçanlarda 9. gün bitiminde ve 10. günde somit oluşumu başlayarak 16. günde tamamlanır. Bu süre içerisinde yaklaşık 65 somit gelişir. Bu somitlerden 4'ü oksipital, 8'i servikal, 13'ü torakal, 6'sı lumbal, 4'ü sakral ve 30'u kaudal bölgede bulunur.

10,5 günlük sıçan embriyosunda, kas-iskelet sistemi, nöral krest, kalp, ön bağırsak ve karaciğer tomurcukları ile somitler (7-9 arasında) belirginleşmiştir. Sıçan embriyosu 12,5 günlükken bütün organlar belirgin hale gelmiştir. Sıçan embriyosunun bu dönemi insan embriyosunda 8. haftaya denk gelir.

Doğumdan önceki somit oluşumunun bittiği 16. günde ilk kemikleşme merkezleri görülmeye başlar. İlk kemikleşme merkezleri, klavikula, kaburgalar ve kafatasının bazı kemiklerinde görülür. 16. günde omuz, kalça, diz ve dirsek eklemlerine ait boşluklar belirginleşmeye başlar. 17. günden itibaren ekstremite tomurcukları ve kafatasında kemikleşme görülmeye başlarken, el bileği ve ayak bileği eklemlerine ait boşluklar da belirginleşir. 18. günde kafa hızla büyür ve damak taslakları kaynaşır. 19. ve 20. günlerde ön ve arka ekstremitelerin parmak eklemlerine ait boşluklar ortaya çıkar.

Sıçanların embriyolojik gelişimleri Witschi evrelendirmesine göre Tablo 2.1'de özetlenmiştir (7,20,21).

Tablo 2.1. Sıçan embriyolarında gelişimsel sınıflama (7,21).

Standart evreler (Witschi)	**Yaş (gün)**	**Boyut (en x boy) (mm)**	**Evrelerin özellikleri**
Yarıklanma ve Blastula			
1	1	0.07	Ovidukt (tuba uterina) içinde tek hücreli evre
2	2	(0.08 X 0.06)	Ovidukt içindeki 2 hücreli evre
3	3	(0.08 X 0.05)	Ovidukt içinde 4 hücreli evre
4	3.5		Ovidukt içinde 8-12 hücreli evre
5	3.25	(0.08 X 0.04)	Uterus içinde morula
6	4	(0.08 X 0.03)	Uterus içinde erken blastosist dönemi
7	5	(0.08 X 0.05)	Uterus içinde serbest blastosist dönemi
Gastrula			
8	6	(0.28 X 0.07)	Blastosist, embriyonal kutup ve iç hücre kitlesiyle implante olmaya ve endoderm (hipoblast) gelişmeye başlar.
9	6.75		İki sıralı trofoblastlar, iç hücre kitlesini ve endodermi çevrelemeye başlar.
10	7.25	0.3 X 0.1	İmplantasyon bitimine yakın dönemde iç hücre kitlesi embriyo ve ekstraembriyonik oluşumlara farklılaşmaya başlar.
11	7.25	0.5 X 0.1	İmplantasyon tamamlanır. Embriyonal kutupta primer amniyotik kese ortaya çıkar.
Primitif çizgi			
12	8.5	(1.04 X 0.26)	Bağlantı sapı ve amniyon boşluğu şekillenir. Ayrıca primitif çizgi, üçüncü germ yaprağı, kalp ve perikard taslakları şekillenmeye başlar.
Nörula			
13	9	1.0	Presomit nörulasyon; amniyokoryonik katlantıların birleşmesi, nöral plak, embriyo kıvrımları ve allantois kesesinin tomurcuğu şekillenir.
14	9.5	1.5	1-4 oksipital somitler şekillenir. Amnion boşluğu, eksosölom ve ektokoryonik kese ihtiva eden bir embriyo şekillenir. Ektokoryonik kese kollapse olur, allantois sapı ekzosölom boşluğuna doğru uzanır ve embriyonun dorsal kıvrımı artar.
15	10	2	5-12 servikal somitler, 1. visseral arkus şekillenir. Ektokoryonik kese, ektoplesenta ve allantoik sap ile kaynaşır. Vitellus kesesinin alt bölümü ve trofoektoderm geriler. Reichart membranı ve eondoderm içinde primordial germ hücreleri görülür.

Tablo 2.1. Sıçan embriyolarında gelişimsel sınıflama (7,21). (**Devamı)**

16	10.5	2.4	13-20 no'lu üst torakal somitler, 2. visseral arkus, kol ve bacak tomurcukları görülür. Embriyonun ventrale doğru katlanması artar.
17	11	3.3	21-25 no'lu alt torakal somitler şekillenir. Vitellus kesesi 15 no'lu somite yaklaşır. Mezenterium içindeki primordiyal germ hücreleri şekillenir. Primitif çizgi kaybolur. Kuyruk tomurcuğu şekillenir, kol ve bacak tomurcukları belirginleşir.
Embriyonun arka bölgesi			
18	11.5	3.8	26-28 no'lu üst lumbal somitler, 3. visseral arkus ile kol tomurcukları iyice belirginleşir.
19	11.75	4.2	29-31 no'lu alt lumbal somitler, I-IV visseral arkuslar, servikal kıvrımlar görülür.
20	11.875	5	32-33 somitli evre olup ilk kez sakral somitler ortaya çıkar.
21	12	5.1	34-35 somitli evre olup alt sakral somitler ve derin servikal sinüsler ortaya çıkar.
22	12.125	5.2	36 somit sayısına ulaşılır. Birinci kaudal somit ile burun çukurları görülür.
23	12.25	5.6	37-38 somitli evre olup göbek fıtığı başlangıcı görülebilir.
24	12.375	6	39. ve 40. somitler gelişir.
Embriyo gelişiminin tamamlanması			
25	12.5	6	41 ve 42. kaudal somitler şekillenir, oksipital somitler kaybolur ve 4 tane visseral arkus ile derin servikal sinüsler gelişimine devam eder. 8-14. somitler seviyesinde kol tomurcukları uzayıp belirginleşir. Ayak tomurcukları ise 28-31. somitler seviyesinde gelişir fakat daha küçüktürler. Embriyo gövdesi 1.5 turluk bir dönüş yaparak sol yüz ve gövde, vitellus kesesine bakar, sağ taraf ise plasentaya doğru yönelir. Kuyruk ve allontoik sap plasentaya doğru uzar.
Embriyonun metamorfozu			
26	12.75	7	43-45 somitli evre. Bu evrede kaudal somitler; mandibula, maksilla ve frontonazal kemikler uzar, servikal sinüsler kapanmaya başlar. Meme taslakları, el plaklarınının farklılaşması hızlanır. El tomurcukları damarlanır ve brakiyal sinirleri alır. Göbek fıtığı başlar.
27	13	8	46-48 somitli evre. Yüzdeki çıkıntılar ve yarıklar, burun uzantısı şekillenir ve servikal sinüsler kapanır. Primer meme bezleri, el ve ayak plaklarının yuvarlaklaşması görülür. Göbek fıtığı belirginleşir.

Tablo 2.1. Sıçan embriyolarında gelişimsel sınıflama (7,21). (Devamı)

28	13.5	8.5	49-51 somitli evre olup kaudal somitler şekillenir. 1 visseral yarık dış kulak yoluna dönüşür ve el plaklarında kıkırdak taslakları yoğunlaşır.
29	14	9.5	52-55somitli evredir. Kaudal somitler şekillenir. I. ve II. visseral arkuslarda kulak kepçesinin çıkıntıları görülür.
30	14.5	10.5	56-60 somitli evre. Kaudal somitler şekillenir. Mandibula'da kıkırdak taslaklar görülür. Dış kulak yolunun açıklığı, hemen hemen yuvarlaklaşmıştır. Pleura-periton arasında dar bir kanal şekillenir.
31	15	12	61-63 somitli evre. Kaudal somitler şekillenir. Yüz yarıkları, pleura-periton kanalı kapanır ve dıyafragma oluşur.
32	15.5	14.2	64. kaudal somit şekillenir. Kulak kepçesi çıkıntısı belirginleşir. Göbek fıtığı maksimum büyüklüğüne ulaşır.
33	16	15.5	En son kaudal somit olan 65. somit şekillenir. Metamorfozun son evresidir.
Fetus			
34	17-18	16-20	Fetusun 1. evresi: göz kapakları hızla gelişir (18. günün sonunda gözler tamamen kapanır). Damak şekillenir, auricula dış kulak yolunu çevreler ve göbek fıtığı ortadan kalkar.
35 Doğum öncesi	19-22	20-40	Fetusun 2. evresi: Göz kapakları birbirine tam yaklaşır. Fötal membranlar ve plasentanın gelişimi maksimum seviyededir, kuyruk uzunluğu 10mm'ye kadar ulaşır. Doğum oluşur (sıçanlar 22. ve fareler 19. günde doğar).
35 Doğum sonrası	1-16 Doğum sonrası	40-100[1]	Doğumdan sonra fetus solumaya başlar. 1. ile 16. günler arasında göz kapakları ve dış kulak yolu halen kapalıdır.
36 Doğum sonrası	17+ Doğum sonrası	100+[1]	Dış kulak yolu kapalıdır, göz kapakları ise açılır. 17. günden sonraki 3 gün içinde aktif olarak beslenmeye başlar ve 1 hafta sonrada sütten kesilir.

2.3.1. Sıçanların İskelet Sistemi

Sıçan iskelet sistemi skeleton axiale ve skeleton appendiculare olmak üzere iki kısımda incelenir (Şekil 2.18) (5).

1- Skeleton axiale (aksiyal iskelet): Kafatası, omurga ve göğüs kafesi kemikleri olmak üzere üç ayrı kısımdan oluşur.

Kafatası kemikleri: Sıçan kafatası 28 kemikten meydana gelmiş olup bunların bir kısmı tek, bir kısmı da çift kemiktir.

Tek olanlar; Os ethmoidale, os occipitale, os hyoideum, os interparietale, vomer ve os palatinum'dur.

Çift olanlar; Os parietale, os sphenoidale, os temporale, os lacrimale, os incisivum, os nasale, os zygomaticum, os pterygoideum, os frontale, maxilla ve mandibula'dır. Kulak kemikçikleri 4 çifttir. Bunlar; stapes, incus, os lenticulare ve malleus'tur.

Omurga: Sıçan omurgası 57-61 vertebradan oluşmuştur. Bunların 7'si servikal, 13'ü torakal, 6'sı lumbal, 4'ü sakral ve 27-31'i kaudal bölgede bulunur. Servikal vertebralar arasında en büyük olanları atlas ve axis'tir. Axis'in spinal çıkıntısı kısadır. Vertebral kanalın en geniş olduğu seviye servikal 4. vertebra seviyesi olup yaklaşık 5 mm'dir. Torakal vertebradan kuyruk kısmına kadar vertebraların boyu 2 mm'den 7 mm'ye kadar doğrusal olarak artar. Vertebral kanalın çapı torakal bölgede servikal bölgeye oranla daha dar olup kanalın çapı burada yaklaşık olarak 3.3 mm kadardır. Torakal vertebraların gövdelerinde kaburgalarla eklem yapmaya yarayan eklem yüzleri bulunmaktadır. Bununla birlikte ön torakal vertebraların transvers çıkıntıları üzerinde de kaburgalarla eklem yapmaya yarayan eklem yüzleri vardır. Lumbal vertebraların, büyük gövdeleri, geniş ve belirgin çıkıntıları vardır. Sakral vertebraların transvers çıkıntıları ve eklem çıkıntıları oldukça belirgindir. Transvers çıkıntıları pelvik kemer yapısının oluşumuna katılır. Sakrumun toplam uzunluğu 20-23 mm'dir. Kaudal bölgede bulunan omurların sadece ilk ikisinde arkus vertebralis tam olarak gelişir. Daha sonraki omurların arkus vertebralis'i tam olarak kapanmaz ve arka kısımları U şeklinde açık kalır. Bu kısım özellikle kuyruğun sonuna doğru yassılaşarak uzamıştır (5,22).

Göğüs kafesi kemikleri: Sıçan göğüs kafesinde 13 çift kaburga ve 1 adet sternum olmak üzere toplam 27 adet kemik bulunmaktadır. Kaburgalar her iki tarafta dorsalde göğüs omurları ile ventralde de sternum ile eklem yaparlar. 13 çift kaburganın ilk 7

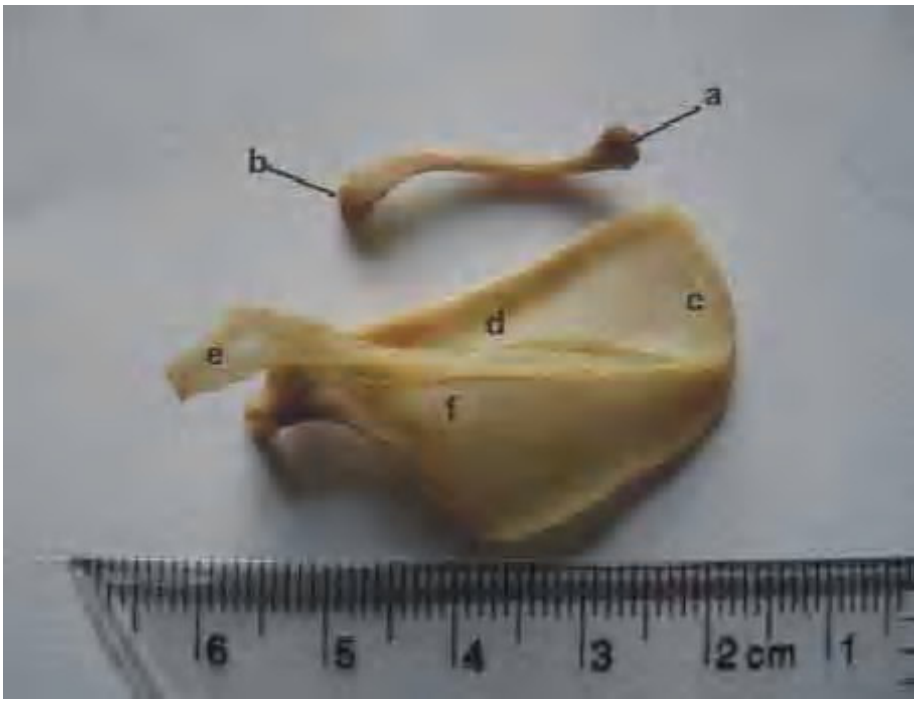
çiftti sternum ile direkt olarak eklem yaparlar (costae verae), 6 çifti sternum ile direkt eklem yapmaz (costae spuriae). Son 6 çift kaburganın ilk 3 çifti 7. kaburgaya tutunarak sternumla bağlantı kurar, son 3 çifti (costae fluctuantes) ise serbest olarak sonlanır. Sternum göğüs kafesinin önünde ve orta hatta bulunan bir kemiktir.

2- Skeleton appendiculare (appendiküler iskelet): ön ve arka taraf kemiklerinden oluşur.

1- Ön ekstremite kemikleri: Ön taraf kemikleri, klavikula, skapula, humerus, radius ve ulna ile ön ayak kemikleri olmak üzere sağ ve sol tarafta toplam 64 adettir (5,7,23).

Klavikula: Klavikula'nın sternum ile eklem yapan proksimal kısmı distal kısmından daha kalın olup kaşık şeklindedir. Klavikula'nın distal kısmı ise yassı olup omuz ekleminin kranial tarafı ile eklem yapar (Şekil 2.19). Sıçanlar insanda olduğu gibi iyi gelişmiş klavikular desteğe ve benzer bir mekanizma gösteren ligamentlere (lig. acromioclaviculare, lig. coracoclaviculare, lig. sternoclaviculare) sahiptir.

Skapula: Üçgen şeklinde yassı bir kemiktir. Thoraxın dış yüzünün ön tarafında yerleşmiştir. Üç kenarı üç köşesi ve iki yüzü bulunur. Skapula'nın kenarları margo dorsalis, margo cranialis ve margo caudalis olarak isimlendirilir. Skapulanın dorsal kenarı kavislidir ve kranial kenara yakın kısmında geniş bir açı oluşturur. Spina scapulae orta hatta doğru gittikçe kalınlaşır. Spina scapulae'nın ucu acromion olarak adlandırılır ve burası yassılaşmıştır. Golf sopası şeklindeki processus hamate (Şekil 2.19), cranioventral yönde uzanır ve omuz eklemini lateralden kuşatır. Skapulanın humerusla eklem yapan ucunun kranial tarafından doğan ve mediale doğru uzanan çıkıntıya processus coracoideus denir. Cavitas glenoidalis'nin cranial tarafında büyüyen proc. corocoideus'un üzerinde bulunan eklem cavitas glenoidalis'in bir parçası gibidir ve omuz ekleminin yapısına katılır. Skapula ile coracoid kemiğinin kaynaşması 4. ya da 5. ayda meydana gelir (23).



Şekil 2.18. Afrika dev sıçanına ait klavikula ve skapulanın lateral yüzey görünümü. a: extramitas proximalis, b:extramitas distalis, c,d: fossa infraspinosus, e: processus hamate, f: fossa supraspinosus (24).

Humerus: Kol kemiği skapula'dan sonra gelen uzun bir kemik olup distal ucu önkol kemikleri ile eklem yapar. İki ucu bir gövdesi bulunur. Proksimal uçta caput humeri, tuberculum majus ve tuberculum minus bulunur. Tuberasitas deltoidea güçlü bir yapı olarak şekillenmiştir. Ayrıca yaşlı ratlarda tuberasitas teres adında bir kabarıklık daha bulunur. Humerus'un distal kısmında iki ayrı epikondil bulunur. Her iki epikondil iyi gelişmiştir. Humerus'un proksimalindeki epifiz plağı 2. yılın sonuna kadar kaybolmaz ve varlığını sürdürür.

Radius ve Ulna: Radius ve ulna benzer çaplardadır. Olecranon'un gelişiminin daha iyi olmasından dolayı ulna, radius'tan 1/6 oranında daha uzundur. Kemikler arasında dar bir aralık bulunur. Radius ve ulna'nın distal epifizyal kıkırdakları 2 yıl sonra kemikleşmeye başlar.

Ön ayak iskeleti 27 adet kemikten oluşur. Bunlar; ossa carpi (8 adet), ossa metacarpi (5 adet) ve ossa digitorum manus (14 adet) olarak dizilirler.

Karpal kemikler: Ön ayak bileği (el bileği) kemikleri iki sıra halinde organize olmuştur. Proksimal sırada üç adet kemik bulunur. Bunlar; intermediolateral

(sacpholunatum: bu kemik radial ve intermediolateral kemiklerin kaynaşmasıyla oluşmuştur.) ulnar (triquetrum) ve aksesuar (psiforme) kemikler olarak adlandırılır.

Distal sırada 1'den 4'e kadar isimlendirilen (os carpale primum, secundum, tertinum ve quartum) 4 adet karpal kemik ile ikinci ve üçüncü karpal kemikler arasına giren merkezi bir kemik (os centralis) bulunur. Bunların dışında kanca şeklinde sesamoid kemiklerde bulunur. Bunlar os falciforme (os marginale) ve phalanx postminimi olarak isimlendirilir. Os falciforme medialde, phalanx postminimi ise lateralde bulunur (25).

Metakarpal kemikler: ossa metacarpalia**;** Beş adet metacarpal kemik bulunur. Bunlar en küçükten en büyüğe (kısadan uzuna) doğru dizildiklerinde 1.5.2,4,3 şeklinde sıralanır.

Parmak kemikleri (Ossa digitorum phalangis): İlk (baş) parmak iki falankstan diğer parmaklar üç falankstan oluşur. Her bir parmağın distal phalanksı koni şeklindedir. Her bir metacarpophalangeal eklemin palmar tarafında iki adet sesamoid kemik bulunmaktadır. Tüm parmakların birinci ve ikinci falanksları arasında oluşan eklemlerde (art. interphalangealis proximalis) iki adet sesamoid kemik bulunur. Buna karşılık 2.–4. parmakların ikinci ve üçüncü falanksları arasında oluşan eklemlerin (artt. interphalangeales distales 2-4) palmar tarafında ise 1 adet sesamoid kemik bulunmaktadır.

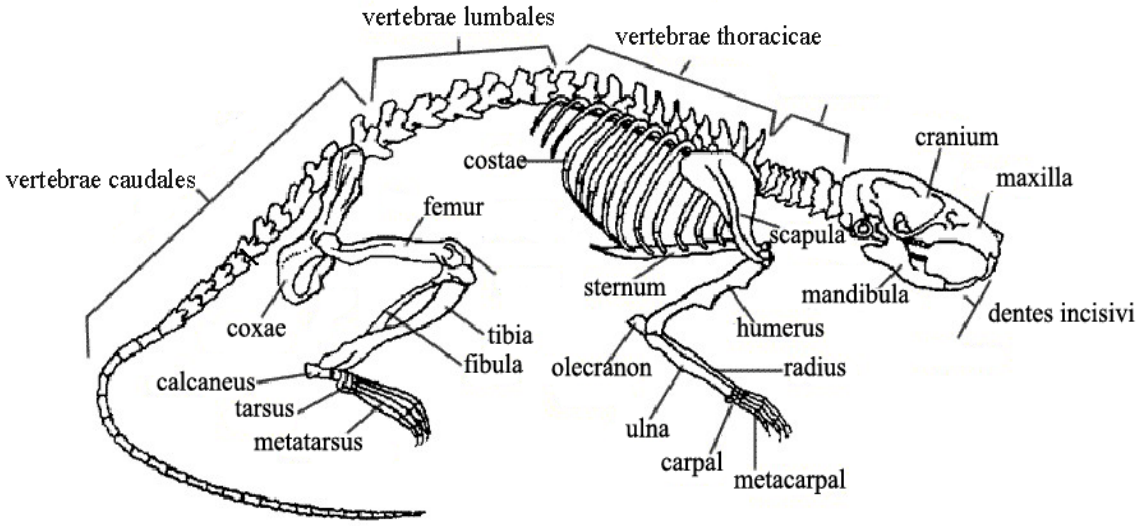
2-Arka taraf kemikleri: Os coxae, femur, tibia, fibula, patella ve arka ayak kemikleri olmak üzere sağ ve sol tarafta toplam 64 adettir. Arka ayak iskeleti 27 adet kemikten oluşur. Bunlar; ossa tarsi (8 adet), ossa metatarsi (5 adet) ve ossa digitorum pedis (14 adet) olarak dizilirler.

Ossa tarsi: 8 adet kemikten oluşur. Bu kemikler iki sıra halinde dizilmişlerdir. Proksimal sırada talus, calacaneus ve os tibiale mediale tarsi bulunur. Talus ile distal sıra arasında os naviculare (os tarsi centrale) bulunur. Distal sırada ise medialden laterale doğru os cuneiforme mediale, intermedium laterale ve cuboideum (os tarsale I, os tarsale II, os tarsale III, os tarsale IV) bulunur. Os cuboideum (os tarsale IV) distal sıra kemiklerinin en büyüğüdür (5,6,22,25).

Ossa metatarsi: 5 adet metatarsal kemik vardır. En kısası metatarsal I, en uzunu ise metatarsal III'tür.

Ossa digitorum pedis: birinci parmakta 2, diğer 4 parmakta 3'er tane olmak üzere toplam 14 adet falanks vardır (Şekil 2.6) (7).

Sıçanda tibia ve fibula kemiklerinin anatomik yapısı insandakinden biraz farklıdır. Aslında anatomik olarak tibia ve fibulayı sıçanda tek bir kemik olarak ele almak da mümkündür. Çünkü tibia ve fibula distalde ve proksimalde birleşen tek bir kemik halindedir. Çok genç hayvanlarda bile en azından kısmi bir kemikleşme ile olan bu birleşme yaş ilerledikçe tam bir kemikleşme ile tek bir yapıya dönüşür ancak dikkatle incelenirse iki kemik arasındaki demarkasyon çizgisi yaşlı hayvanlarda bile görülebilir. Birleşme kranyalde fibröz eklemleşme biçimindeyken kaudalde tam füzyon mevcuttur. Sıçan fibulası 400-500 gr'lık hayvanlarda 27-30 mm uzunluğundadır (5,7,23).



Şekil 2.19. Rat iskelet sistemi görünümü (26).

2.4. FETAL İSKELET SİSTEMİNİN BOYANMASI

Fetus ve yeni doğanlarda ortaya çıkan iskelet malformasyonları, gözlemleme, diseksiyon ve boyama teknikleri gibi yöntemler kullanılarak ortaya konulabilmektir. Bu yöntemlerden en basit olanı gözlem yapma yoluyla olup, bu yöntemde sadece major malformasyonlar belirlenebilmektedir. Bir diğer yöntem yumuşak dokuların diseksiyon tekniği ile uzaklaştırıldıktan sonra incelenmesidir. Ancak bu yöntemle kemik kıkırdak

alanların birleşim sınırlarının net olarak ayırt edilememekte ve diseksiyon esnasında kemik ve kıkırdak dokuya zarar verilebileceği için kemiğin gelişiminin takibi oldukça zorlaşmaktadır. Bu nedenle bu sorunu çözebilmek için araştırmacılar iskelet boyama yöntemleri geliştirilmesine çaba harcamışlardır.

İskeleti oluşturan kemik ve kıkırdakların farklı boyalar ile farklı renklerde ya da aynı rengin farklı tonlarında boyanması işlemine ikili iskelet boyaması denir. İkili iskelet boyamalarının kullanılmış olduğu çalışmalar teratojenik çalışmalar ve gelişimsel çalışmalar olmak üzere iki grupta toplanır.

Teratojenik çalışmalarda; genellikle deney hayvanlarının fetusları çeşitli kimyasal maddelere veya fiziksel etkenlere maruz bırakılarak iskelet sistemi üzerinde oluşabilecek etkileri, gelişimlerinin farklı aşamalarında ikili iskelet boyamaları yapılarak ortaya konur.

Gelişimsel çalışmalarda ise, ya abortus sonucu elde edilen insan embriyosu ve fetuslarına, ya da deney hayvanlarının gelişimlerinin farklı aşamalarında ikili iskelet boyaması yapılarak kemik ve kıkırdak alanların gelişim süreçleri ortaya çıkarılabilmekte, kemikleşme süreçleri belirlenebilmekte veya fetusun yaşı tespit edilebilmektedir (7,25).

Sunay'a (8) göre kemik dokunun boyanmasına yönelik çalışmalar 1735-36 yılına kadar geri gitmektedir. Bu yıllarda İngiliz araştırmacı olan Belchier, bir bitkinin köklerini toz haline getirdikten sonra hayvanlara yedirdiğinde kemiklerinin boyandığını tespit etmiştir. Daha sonra bu metot başka araştırmacılar tarafından da kullanılmıştır. Kemiğin boyanmasındaki en önemli gelişme ise parlak kömür katranından alizarinin elde edilmesiyle olmuştur. Kemiğin boyanmasında kullanılmaya başlanan alizarin zamanla birçok araştırmacı tarafından çalışmalarda kullanılmış ve bu çalışmalardan başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

Yapılan bu çalışmalar arasında en kabul göreni ve en güvenilir sonuçların elde edildiği ilk çalışmalar 1926 yılında Dawson tarafından yapılmıştır. Dawson'un metodunda kullandığı boyama solüsyonunun son derece dilüe (seyrek) olması onun daha başarılı sonuçlar almasını sağlamıştır. Dawson'un kullandığı bu teknik günümüzde de kemikleşmiş alanların boyanmasında kullanılmaktadır. Daha sonraki zamanlarda Staples ve Schell (1964)' de Dawson'un kullandığı teknik üzerinde bazı değişiklikler yaparak bu yöntemi geliştirmişlerdir (8,9,27).

Teratolojik ve gelişimsel çalışmalarda kullanılan deney hayvanlarına ait fetusların iskeletinin sadece kemikten oluşmadığı aynı zamanda iskeletteki kıkırdak alanlarında çok fazla yer kaplaması nedeniyle sadece kemiğin boyanmasıyla elde edilen sonuçlar güvenilir olamaz. Bu yüzden iskeletin kemik kısmını boyamaya yönelik çalışmalar yapılırken aynı zamanda iskeletin kıkırdak alanlarının da boyanmasını sağlamaya yönelik çalışmalar başlatılmıştır.

Sunay'a (8) göre Wijhe isimli araştırmacı ilk kez 1902 yılında methylen blue solüsyonunu kullanarak iskeletin kıkırdak kısımlarını boyamıştır. Lundvall isimli araştırmacı ise Wijhe'nin metodunda methylen blue yerine toluidin blue ve methyl green kullanarak iki ayrı metot tanımlamıştır.

İskeleti boyamaya yönelik çalışmalar sonucunda elde edilen numunelerde bir dizi karşılaştırılabilir gözlemler yapılabilmesi için, çalışma metodu, hassas, tekrarlanabilir ve kalıcı olmalıdır. Bu nedenle iskeletin kemik ve kıkırdak alanlarının ayrı ayrı boyanması hem yapılan çalışmaların güvenirliğini azaltması hem de kullanılan denek sayısını artırması nedeniyle, kıkırdak boyaması ve kemik boyamasının birlikte yapıldığı çalışmalara ağırlık verilmesine neden olmuştur. Bu çalışmalardan Williams (1941)'de %10'luk formalinde fikse ettiği örneklerin iskeletinin kıkırdak kısmını toluidine blue ile boyamıştır. Kemik kısmını ise alizarin red S ile boyamıştır (7,9). Burdi ise (1965)'de aynı yöntemi kullanarak boyamayı gerçekleştirmiş ve daha sonra potasyum hidroksit ile yumuşak dokuları temizlemiştir. Yumuşak doku temizlenmesinin gerçekleştirildiği bu yöntemde bazı kıkırdak ve kemiklerde bir miktar boya kaybı oluştuğu gözlenmiştir (7,28). Yapılan çalışmalarda gözlenen bu aksaklıklar sonrasında kıkırdak alanların boyanmasında alcian blue kullanılmaya başlanmıştır. Sunay'a göre Ojeda ve arkadaşları kıkırdak alanların boyanmasında ilk defa alcian blue'nun kullanıldığı bir metot tanımlamışlardır. Alcian blue'nun kıkırdak alanların boyanmasında kullanılmasıyla başarılı sonuçlar elde edilmiş ve alcian blue kabul gören bir boyama ajanı haline gelmiştir.

Hem kemik alanların alizarin red S ile hem de kıkırdak alanların alcian blue ile boyanmasına yönelik başarılı yöntemlerin bulunması ve kullanılmasıyla birlikte bu iki boyama ajanının birlikte kullanıldığı ilk ikili iskelet boyaması metodu 1971 yılında Simons ve Van Horn yayınlamıştır.

Daha sonra ki zamanlarda ikili iskelet boyamalarına yönelik çalışmalar devam etmiş ve 1976 yılında Inouye tek aşamalı bir boyama metodu geliştirmiştir. Inouye'nin kullandığı bu metot ta iskeletin hem kıkırdak hem de kemik alanları, içerisinde alcian blue ve alizarin red S'in bulunduğu tek boyama solüsyonunda boyanmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Inouye'nin kullandığı bu metotta, tek bir boyama solüsyonu kullanılarak iskeletin hem kemik hem de kıkırdak alanlarının aynı anda boyanması, pratikliği ve başarılı sonuçlar elde etmesi açısından sürekli tercih edilen bir metot haline gelmiştir ve günümüzde sıklıkla Inouye metodu adı altında sıklıkla kullanılmaktadır.

Inouye'nin tanımladığı bu metot zaman içerisinde birçok araştırmacı tarafından kullanılmış ve üzerinde bazı değişiklikler yapılarak ikili iskelet boyamalarında yeni metotlar geliştirilmeye çalışılmıştır. Bu çalışmalarda ikili iskelet boyamalarında kaliteyi daha da artırmak, işlemin süresini kısaltmak, erişkin deney hayvanlarında da kullanılabilir bir yöntem geliştirmek vb. gibi amaçlara yönelik birçok çalışmalar yapılmıştır (7,28-34).

2.5. STEREOLOJİ

Stereoloji, üç boyutlu örneklerin iki boyutlu kesitlerinden elde edilen verilere dayanarak, onların gerçekteki üç boyutlu özellikleri ile ilgili yorumlar yapılmasını sağlayan bilim dalıdır (35,36).

Stereolojik yöntemler kullanılarak, makroskobik ve mikroskobik yapıların sayı, hacim, yüzey alanı, uzunluk, yoğunluk gibi geometrik parametreleri hakkında tahmin ve yorum yapılabilmektedir (37).

Stereolojik metodlar tarafsız ve güvenilir metotlardır. İki boyutlu görüntülerde sayısal verilerin elde edilmesini sağladığı gibi, kullandığı metot ve yöntemlerde pahalı yazılım ve donanım gerektirmez. MR ve BT görüntüleri üzerinde hesaplanması istenen hacim, yüzey alanı vs kolayca hesaplanmasını, mikroskobik kesitler üzerinde hücre sayısının tarafsız hızlı ve doğru bir şekilde tahmin edilmesini sağlıdığı için günümüzde bu metotlar sıklıkla tercih edilmektedir (36,37).

Stereolojik metotlarda kullanılan yöntem ve prensiplerin büyük bir kısmı, gerçek değerden sistematik sapma göstermeyen, tekrarlandıkça gerçek değere daha çok yaklaşan tarafsız bir yöntem olması sebebiyle günümüzde güvenle kullanılmaya başlanmıştır. Stereolojik yöntemlerin bu derece güvenilirliğini sağlayan faktörlerin en

başında, kullandığı yöntemlerde "Sistematik Rastgele Örnekleme" (SRÖ) biçimini kullanıyor olmasıdır. Bu sayede çalışılacak olan yapıdan örnekler alındığında, yapının her noktasının eşit örneklenme şansına sahip olmasını sağlamaktadır (35,36,37).

Planimetrik Yöntemler: İzdüşümlerin sınırlarının bilgisayar yardımıyla belirlenmesi ve yine bu belirlenen alanlar içinde ölçümler yapılmasını içeren yöntemlerdir. Bu yöntemde ImageJ, Dicomworks, Osiris, Analyze gibi programlar kullanılır. Bunun için BT, MR veya yapılan çalışmalarda çekilen fotoğraflar JPEG formatında bilgisayara aktarılır. Bu JPEG dosyaları bu programlardan biri ile çalıştırılarak açılır. Açılan şekiller üzerinde kalibrasyon yapıldıktan sonra program altında ölçümler yapılır.

Planimerik ölçümlerde elde edilen kesitlerin toplam alanı hesaplanacaksa, kesitlerin kenarları bir bilgisayar programı yardımıyla (ImageJ gibi) çizilerek her kesitin yüzey alanı hesaplanır ve sonuçta tüm kesit yüzey alanları toplanarak kesit kalınlığı ile çarpılır ve hacim elde edilir. Bunun için aşağıdaki formül kullanılır.

Hacim = kesit yüzeyleri toplamı (cm^2) x kesit kalınlığı (cm).

$$V(PL) = T \times \sum A$$

sonra program altında ölçümler yapılır.

Planimetrik ölçümlerde yüzey alanı hesaplanacak tek bir kesit veya görüntü var ise yine bu kesit ve görüntünün hesaplanmak istenen kenarları bir bilgisayar programı yardımıyla (ImageJ gibi) çizilerek yüzey alanı hesaplaması yapılır (10,35,38,39).

2.6. IMAGEJ YAZILIMI

ImageJ, Macintosh için NIH Image tarafından geliştirilmiş herkesin kullanımına açık Java tabanlı görüntü işleme yazılımıdır. Yazılım, üzerinde Java 1.1 veya üzeri Java Sanal Makinesi bulunduran herhangi bir bilgisayarda bir applet veya bir uygulama olarak çalıştırılabilir. Uygulama dağıtımları Windows, Mac OS, Mac OS X ve Linux işletim sistemleri için mevcuttur.

Yazılım 8, 16 ve 32 bitlik imajları görüntüleme, analiz, düzenleme, işleme, kayıt etme ve yazdırma işlemlerini yapabilir. TIFF, GIF, JPEG, BMP, DICOM, FITS ve ham şekil formatlarını okuyabilir. Tek bir pencerede birçok görüntüyü barındıran yığın imajları destekler. Eş zamanlı çalışmayı destekler, bu sayede görüntü okuma gibi yoğun zaman harcanan işlemler paralel olarak yürütülebilir.

Yazılım kullanıcı tanımlı, alan ve piksel değerleri istatistiklerini hesaplayabilir; uzaklıkları ve açıları ölçebilir. Yoğunluk histogramları ve çizgi profil planları yaratabilir. Günümüzde standart olarak kullanılan kontrast, keskinlik, yumuşatma, kenar belirleme ve medyan filtreleme fonksiyonlarını destekler.

Ölçeklendirme, döndürme gibi geometrik dönüşümleri yapabilir. Görüntüler 32:1'e 1:32'e kadar yakınlaştırılabilir. Herhangi bir büyütme faktöründe tüm analiz ve işleme fonksiyonları kullanılabilir. Yazılım kullanılan hafıza ile limitli olarak sınırsız sayıda görüntüyü eşzamanlı olarak destekler (10,11).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, ilgili projeye Erciyes Üniversitesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi (DEKAM), Yerel Etik Kurulunun 10/08/2011 tarih ve 11/86 nolu kararı ile onay alındıktan sonra başlatılmış ve çalışma süresince yapılan tüm işlemler etik kurul yönergesinde belirtilen kurallara uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSY-11-3723 nolu proje ile desteklenmiştir.

3.1. Deney Hayvanlarının Seçimi ve Çiftleştirilmesi

Çalışmamız DEKAM laboratuarlarında gerçekleştirildi. Bu çalışmada daha önce herhangi bir çalışmada kullanılmamış 170-250 gr ağırlığında 21 adet erişkin 4 aylık dişi Wistar-albino türü sıçan kullanıldı.

Çalışmada kullanılacak dişi sıçanlar 20 gün süreyle erkek sıçanlardan ayrı kafeslerde tutuldular. 20 günlük sürenin bitimi itibariyle gebe olmadıkları kesin olarak anlaşılan dişi sıçanlar gebe kalmaları için erkek sıçanlarla çiftleştirildi. Çiftleşmenin gerçekleşmesi için bir dişiye bir erkek damızlık düşecek şekilde akşam saat 17'de sıçanlar özel kafeslere alınarak, ertesi sabah saat 08'e kadar aynı kafeste tutuldular (Şekil 3.1). Bu sürenin bitiminde dişi sıçanlardan vaginal smear alınarak mikroskop altında incelendi ve smearda spermium görülen dişiler 0 günlük gebe kabul edilerek ayrı kafeslere konuldu. Sıçanlar DEKAM'da 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamın sağlandığı ve aspiratörle sürekli havalandırılan 25±2C^{o}'lik odada tutularak, her biri ayrı kafeslerde olmak üzere, rutin olarak standart sıçan besi yemi (ad-libitum %21 ham

protein içeren granüle pelip) ile beslendiler. Sıçanların su gereksinimleri günlük olarak değiştirilen ve kontrol edilen musluk suyundan sağlanmıştır.

Gebe oldukları belirlenen sıçanlardan deneyin 16. gününde rastgele 3 tanesi alındı. Bu sıçanların eter anestezisi altında karın ön duvarları açılarak fetusları explante edildi. Aynı işlem deneyin 18. ve 20. gününde de tekrarlandı. Karınları açılan hayvanlardan elde edilen fetusların explantasyon işlemi sırasında hasar görenler çalışmaya dahil edilmedi. Her bir grupta en az 10 fetus olacak şekilde 16., 18., ve 20. güne ait çalışma grubu oluşturuldu. Geriye kalan gebe sıçanlar ise her biri ayrı kafeslerde olmak üzere doğuma kadar beslenmeye devam edildi. Sıçanlar doğum yaptıktan sonra her kafese doğum yaptıkları tarihler not edilerek, doğumun ilk günü, doğumdan sonraki 3., 7. ve 12. günü yenidoğan yavrular yoğun eter anestezisi altında cam kavanozlarda 5 dakika bekletildikten sonra sakrifiye edildi ve her grupta en az 10 adet yavru sıçan olacak şekilde 7 ayrı grup oluşturuldu.



Şekil 3.1. Bir erkek ve bir dişi sıçanın aynı kafeste tutulması.

3.2. Fetusların Eksplantasyonu ve Yavru Sıçan Grubunun Oluşturulması

16 Günlük Fetus Grubu: Gebeliğin 16. gününde fetusları alınmak üzere ayrılan 3 gebe sıçandan bir tanesi rastgele seçildikten sonra eter inhalasyonu uygulanarak anestezi yapıldı (Şekil 3.2A). Anestezi sonrası sıçanın karın ön duvarı alkol ile temizlendikten (Şekil 3.2B) sonra transvers kesi ile açılarak batına girildi (Şekil 3.2C). Uterus ve içindeki fetuslar çıkarılarak (Şekil 3.2D) plesantaları ile birlikte tek tek disekte edildi (Şekil 3.2E). Elde edilen fetuslardan iki adedi dışındaki diğer fetuslar tam olarak gelişmediği için çalışmaya dahil edilmedi (Şekil 3.2F). Çalışmamızda her grupta en az 10 adet fetus olması gerektiği için ikinci gebe sıçan yukarıda anlatıldığı gibi eksplante

edildi ancak bu gebeden elde edilen fetuslardan sadece 1 tanesi dışındaki diğer fetuslar tam olarak gelişmediği için çalışmaya dahil edilmeyerek üçüncü gebe sıçan yukarıda anlatıldığı gibi eksplante edilerek elde edilen fetuslarla (7 adet) birlikte grupta kullanılacak yeterli sayıda fetusa ulaşıldı. Her anne sıçandan elde edilen fetuslar plesanta keseleri içinden çıkarılarak boy (baş-kıç uzunluğu) ve ağırlıkları ölçüldü. İşlem bitiminde anne sıçanlar, göğüs boşluğuna girilip kalbe kesi atılarak sakrifiye edildi. Fetuslar makroskopik olarak incelendikten sonra önceden hazırlanmış anestezik eter içeren cam kavonozlarda 5dk kadar bekletilerek sakrifiye edildi (Şekil 3.2). Geriye kalan gebe 18 sıçan beslenmeye devam edildi.

18 Günlük Fetus Grubu: Gebeliğin 18. gününde fetusları alınmak üzere ayrılan 3 gebe sıçandan rastgele seçilen ilk 2 sıçanda çalışma grubu için gerekli olan yavru sayısına (13adet) erişildiği için geriye kalan 16 sıçan beslenmeye devam edildi.

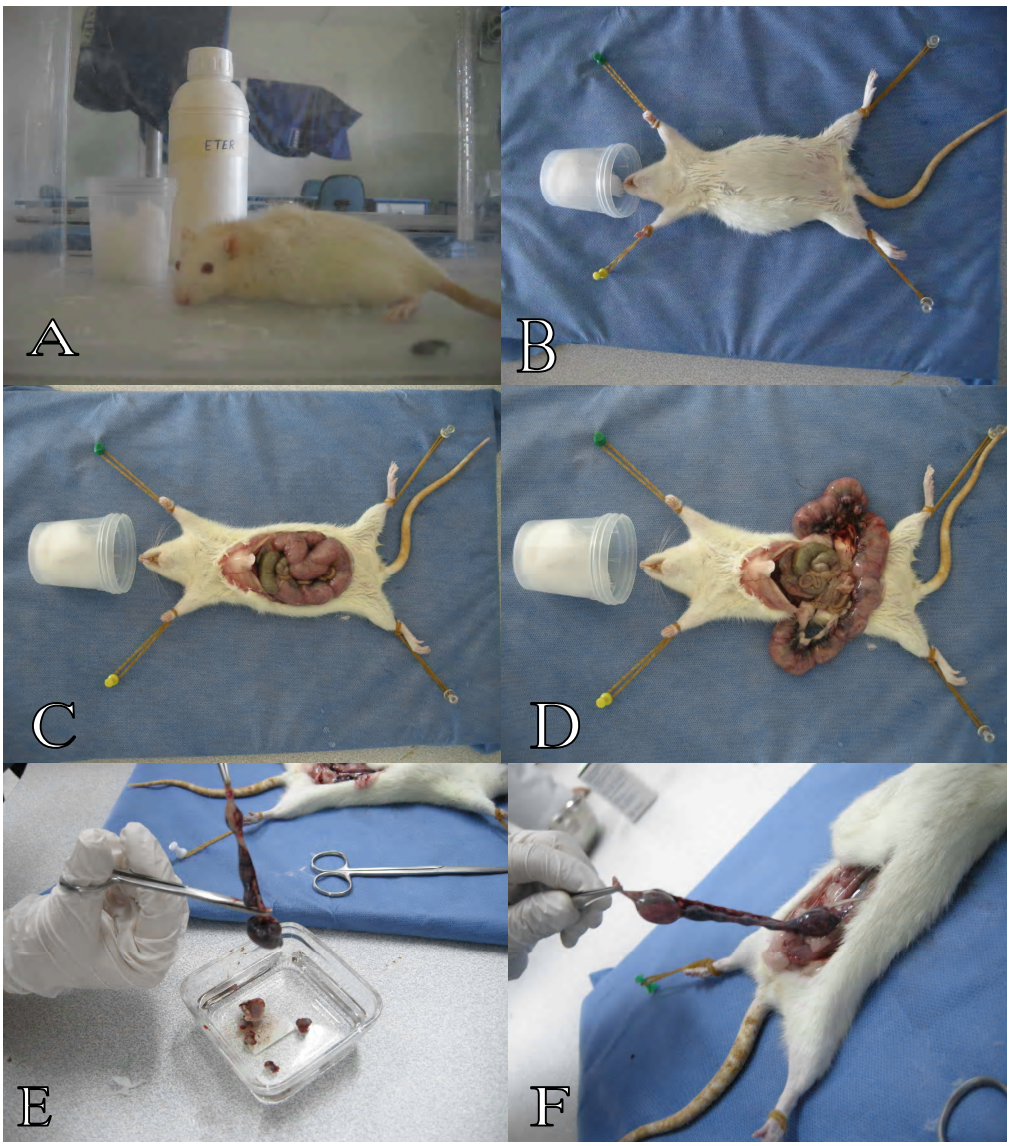
20 Günlük Fetus Grubu: Gebeliğin 20. gününde yukarıdaki işlemler tekrar edildi. 2 adet gebe sıçan çalışma grubu için yeterli fetus (13 adet) sağlandığı için kalan 14 gebe sıçan beslenmeye devam edildi.

0 Günlük (Doğumun İlk Günü) Yavru Sıçan Grubu: Her biri ayrı kafeslerde bulunan 14 adet gebe sıçanın doğum yapması beklendi ve her bir gebe sıçanın doğum yaptıkları tarihleri kafeslerine not edildi. Doğumun gerçekleştiği ilk gün ayrı kafeslerde bulunan iki ayrı anneye ait 11 adet yavru sıçan alınarak makroskopik olarak incelendi ve önceden hazırlanmış anestezik eter içeren cam kavonozlarda 5dk kadar bekletilerek sakrifiye edildi. Elde edilen yavruların boy ve ağırlıkları ölçüldü ve kayıt altına alındı. 0. gün (doğumun ilk günü) yavruları alınan 2 adet anne sıçan hiçbir deneysel uygulamaya maruz bırakılmadıkları için DEKAM'da kullanılmak üzere çalışmadan çıkartıldı. Doğum yapmış 12 adet anne sıçan yavruları ile birlikte beslenmeye devam edildi.

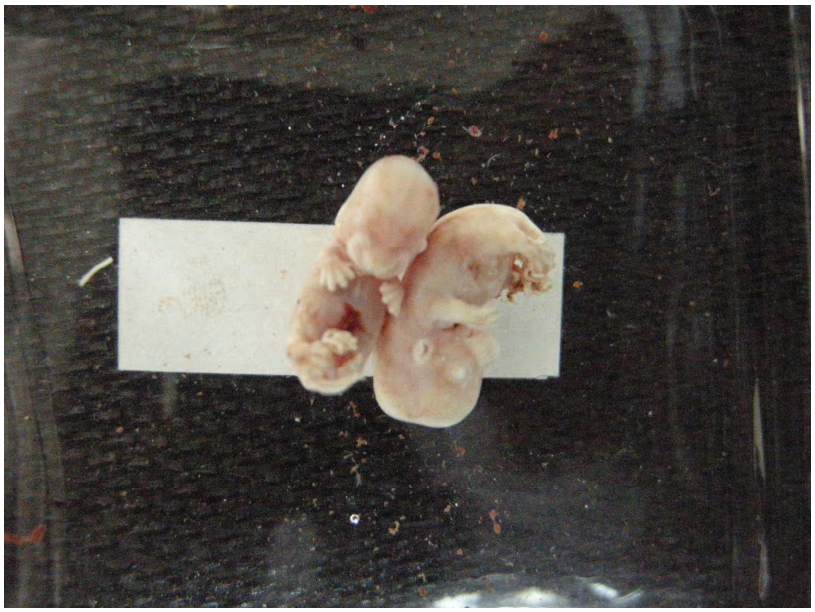
3 Günlük Yavru Sıçan Grubu: Doğum yapmış 12 adet anne sıçandan ve doğum yaptıkları tarihlerinin 3. günü 11 adet yavrusu bulunan 1 anne sıçanın tüm yavruları alınarak çalışma grubu oluşturuldu. Bu dönemde bir anne tüm yavrularını yediği için çalışma dışı bırakıldı. Geriye kalan 10 sıçan yavruları ile birlikte beslenmeye devam edildi.

7 Günlük Yavru Sıçan Grubu: Geriye kalan doğum yapmış 10 adet anne sıçandan 2 tanesinin yavruları alınarak (12 adet) çalışma grubu oluşturuldu. Geriye kalan 8 sıçan yavruları ile birlikte beslenmeye devam edildi.

12 Günlük Yavru Sıçan Grubu: Geriye kalan doğum yapmış 8 adet anne sıçandan 2 tanesinin yavruları (12 adet) alınarak makroskopik olarak incelendi (Şekil 3.3) ve çalışma grubu oluşturuldu. Geriye kalan 6 sıçan yavruları ile birlikte DEKAM'a kullanılmak üzere çalışmadan çıkartıldı.



Şekil 3.2. Anne sıçanlara sezeryan uygulama aşamaları. A.Anne sıçana eter uygulaması, B. Karın ön duvarının alkol ile temizlenmesi, C. Açılmış karın ön duvarının görünümü, D. Uterus ve içindeki fetusların görünümü, E. Fetusların plesanta ile birlikte tek tek disekte edilmesi, F. Tam olarak gelişim göstermemiş fetusların görünümü.



Şekil 3.3. 16 günlük fetusların yakından görünümü.

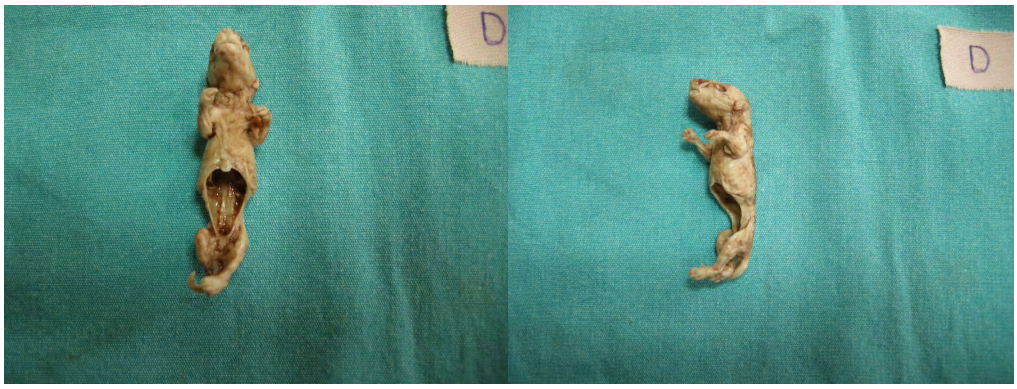


Şekil 3.4. 12 günlük yavru sıçanın görünümü.

3.3. Fetus ve Yavru Sıçanların Boyanması

Ağırlıkları ve boyları ölçülen, fetusların ve yavru sıçanların iskelet sistemini ikili iskelet boyama yöntemiyle boyayabilmek amacıyla; tüm fetuslar ve yavru ratlar, %70'lik etil alkol içinde 7 gün bekletilerek içerdiği suyun çekilmesi sağlandı. Bu işlemi takiben saf asetonda 3 gün süreyle bekletilerek yağlarından arınmaları sağlandı. Daha sonra derisi soyularak, iç organları ve gözleri çıkarıldı (Şekil 3.5). Bütün bu işlemler sırasında bazı

fetusların ve yavruların ekstremite kopmaları ve kemik doku zedelenmeleri olma ihtimaline karşı, denek sayısı 10+3 olarak fazla tutuldu ve hasar gören denekler boyamaya alınmadı. Derisi soyularak, iç organları ve gözleri çıkarılan denekler boyama için ağzı kapalı cam saklama kapları içerisine ayrı ayrı konularak kayıt altına alındı. Fetus ve yavru ratların iskeletinin boyama işlemi aşağıda belirtilen protokol çerçevesinde gerçekleştirildi (7,8,26,40).



Şekil 3.5. Asetonda 3 gün bekletildikten sonra batını boşaltılan, derisi soyulan ve gözleri çıkarılan 0. gün yavru grubuna ait sıçanın görünümü.

Tablo 3.1. İkili İskelet Sistemi Boyama Yöntemi

Teknik Aşamalar	***Solüsyonlar***	***Süre***
Tespit	% 70'lik etil alkol	4-7 gün
Yağdan arındırma	saf aseton	1-3 gün
Boyama	**<u>Boyanın hazırlanışı</u>** **1. solüsyon:** 300mg Alcian Blue + 100ml %70'lik etil alkol **2. solüsyon:** 100mg Alizarin Red S + 100ml %95'lik etil alkol **3. solüsyon:** 1. solüsyon + 2. Solüsyon + 100ml Glacial asetik asit **4. solüsyon:** Hazırlanan ilk üç solüsyonun içerisine 1700 ml %70'lik etil alkol ilave edilerek hazırlanır.	7 gün süreyle 38-40 C° de etüvde bekletildi
Şeffaflan-dırma	**1)** %1'lik KOH **2)** %1'lik KOH (80 ml)+%20'lik gliserin (20 ml) **3)** %1'lik KOH (50 ml)+%50'lik gliserin (50 ml) **4)** %1'lik KOH (20 ml)+%80'lik gliserin (80 ml)	1-3 gün 5-7 gün 5-7 gün 5-7 gün
Saklama	%100'lük gliserin	

Boya solüsyonunun hazırlanması: Boya solüsyonu ayrı ayrı hazırlanan solüsyonların belirli yöntemlerle birleştirilmesi ile elde edilir.

Bu solüsyonların hazırlanması:

1. solüsyon: 300 mg Alcian Blue'nun 100 ml %70'lik etil alkol içerisinde sürekli karıştırılarak eritilmesi ile elde edilir.

2. solüsyon: 100 mg Alizarin Red–S'in 100 ml %95'lik etil alkol içerisinde sürekli karıştırılarak eritilmesi ile elde edilir.

3. solüsyon: daha önce hazırlanmış olan birinci solüsyonun içine azar azar ikinci solüsyonun katılması ile elde edilir. Bu iki solüsyonun tamamen karıştırılmasından sonra bu karışımın içine 100 ml Glacial Asetik Asit ilave edildi.

4. solüsyon: Hazırlanan üçüncü solüsyonun içerisine 1700 ml %70'lik etil alkol ilave edilerek hazırlandı.

Boyama süreci: Fetuslar ve yavru sıçanlar yukarıda açıklanmış olan yönteme göre hazırlanan boya solüsyonu içinde, etüvde 38-40 C°'de 7 gün süreyle bekletilerek dokuların boyanması sağlandı. Bu sürenin bitiminden sonra, fetuslar akan musluk suyu altında 2 saat süre ile yıkanarak su ile tepkimeye girmesi sağlandı. Sonrasında şeffaflaştırma aşamasına geçildi.

Şeffaflaştırma aşaması: Toplam 4 aşamadan oluşmaktadır.

1. aşama: Boyanmış olan fetuslar 1 gün süreyle %1'lik KOH içerisinde bekletilir.

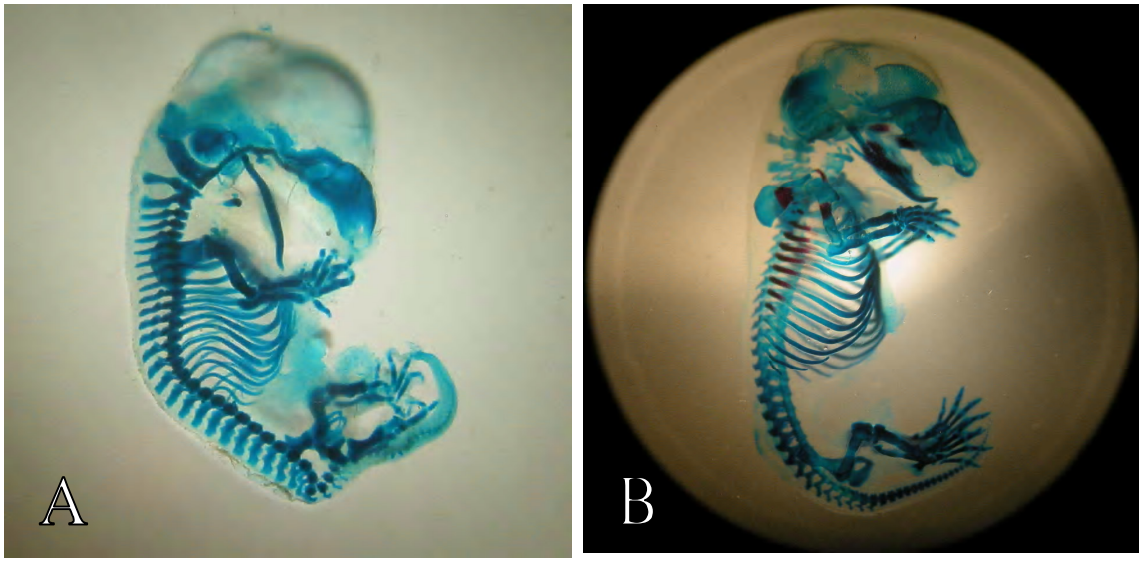
2. aşama: 5 gün süreyle 80 ml %1'lik KOH ve 20 ml %20'lik gliserinden oluşan karışım içinde bekletilir.

3. aşama: 5 gün süreyle 50 ml %1'lik KOH ve 50 ml %50'lik gliserinden oluşan karışımda bekletilir.

4.aşama: 20cc %1'lik KOH ve 80 ml %80'lik gliserinden oluşan solüsyon içinde 5-7 gün süreyle bekletilir.

Yaklaşık 16 gün süre ile yukarıda yöntemi açıklanmış olan şeffaflaştırma aşamasından sonra iskelet sistemi tamamen görünür hale gelen fetus ve yavru sıçanların sağ ve sol ön ekstremite kemikleri stereomikroskopta incelenerek şekilleri çekilerek tek tek kayıt altına alındı (Şekil 3.6). Fetus ve yavru sıçanların şekilleri, Nikon E5700 marka fotoğraf

makinesi ile 2560X1920 boyutunda, 2560 pixel genişliğinde, 1920 pixel yüksekliğinde, 300dpi yatay ve dikey çözünürlükte, 24 Bit derinliğinde, ISO 400 hızında, 35 mm odak uzunluğunda çekildi. Daha sonra boyanmış olan fetus ve yavru sıçanların uzun süreli saklanabilmesi için ayrı kaplarda saf gliserin içerisinde muhafazası sağlandı.



Şekil 3.6. Boyama işlemi tamamlanmış olan, 16 (A) ve 18 (B) günlük fetusa ait görünüm.

3.4. Stereolojik Yöntem

Elde edilen fotoğraf görüntüleri JPEG formatında bilgisayara kaydedilerek stereolojik yöntemlerden biri olan planimetrik yöntem ile değerlendirildi.

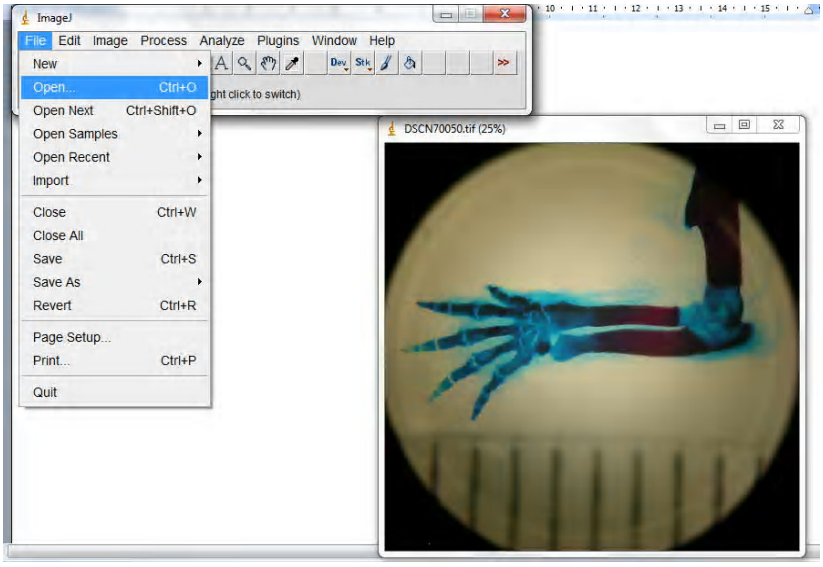
Kemik Kıkırdak Oranlarının Planimetrik Yöntemle Hesaplanması: Elde edilen fotoğraf görüntüleri JPEG formatında bilgisayara kaydedildi. Kayıt edilen görüntüler, ImageJ programı çalıştırılarak, programın üzerindeki menü seçeneklerinden "File" sekmesi içerisindeki "open" sekmesi seçilerek açıldı (Şekil 3.7). ImageJ programı çalıştırılarak açılan bazı görüntüler üzerinde daha net görünüm sağlamak amacıyla araç çubuğundan mercek seçilerek görüntüler biraz daha büyütüldü (Şekil 3.8). Sonrasında ImageJ programında çizim şekillerinden düzensiz şekil seçilerek görüntülerin yüzeyel alanlarını elde etmek için mouse yardımıyla yapıların sınırları belirlenerek (Şekil 3.9) klavyede Ctrl-M yapılarak (measure) kemik ve kıkırdak yüzey alanı ölçümleri yapıldı (Şekil 3.10). Kemik ve kıkırdak yüzey alanları piksel cinsinden kayıt edildi. Sonuçta

kemik ile kıkırdağın ekstremitede ne kadarlık bir yer kapladığı oran yüzdesel olarak hesaplandı. Bunun için aşağıdaki formül kullanıldı.

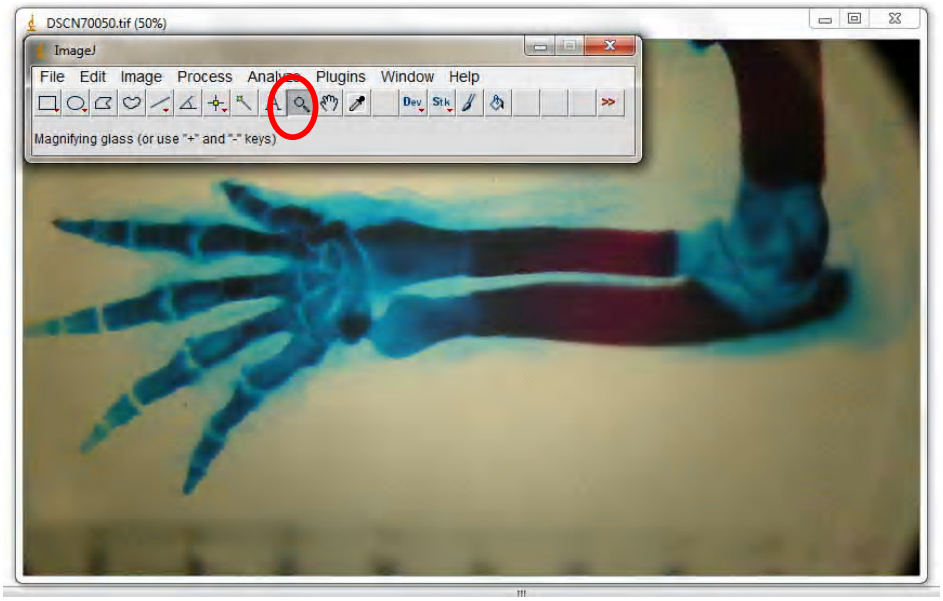
$$V_v(\text{kıkırdak, kemik}) = \frac{\sum PKikirdak}{\sum PKemik}$$

ΣPkıkırdak= kıkırdağın yüzey alanı

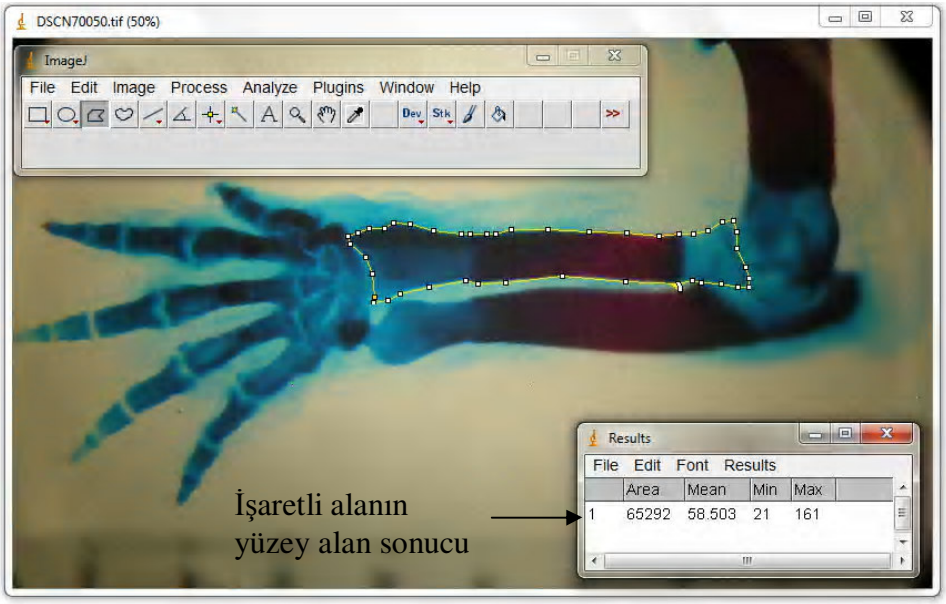
ΣPkemik= kesitte kemik yüzey alanı



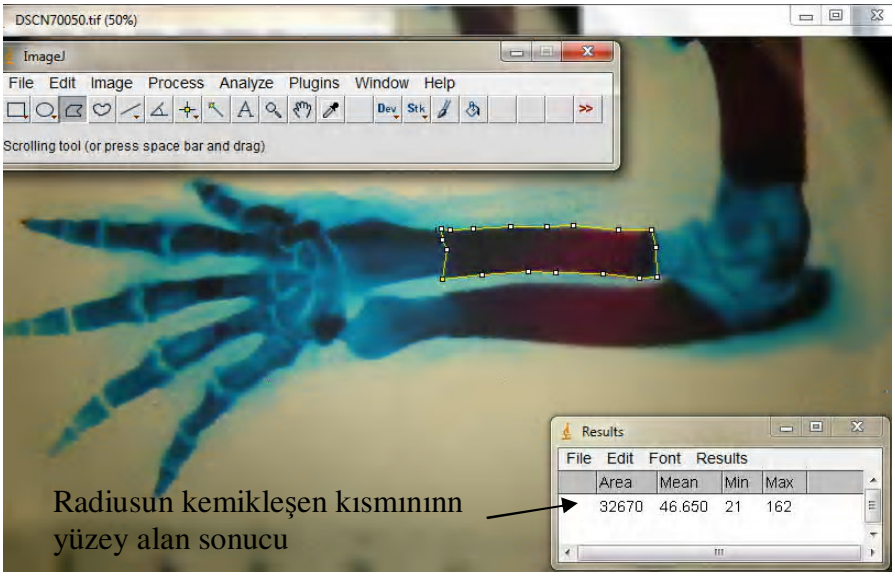
Şekil 3.7. Steromikroskopta elde edilen ve JPEG formatında kayıt altına alınan görüntülerin ImageJ programıyla açılması.



Şekil 3.8. ImageJ programında açılan görüntünün yakınlaştırılması.



Şekil 3.9. ImageJ programı ile açılan görüntü üzerinde, kemik kıkırdak oranını hesaplayacağımız kemiğin sınırlarının mouse ile çizilmesi ve yüzey alanının hesaplanması.



Şekil 3.10. ImageJ programı ile açılan görüntü üzerinde, kemik kıkırdak oranını hesaplayacağımız kemiğin kemikleşen kısmının mouse yardımıyla sınırlarının çizilmesi ve yüzey alanı hesaplanması.

Görüntülerde Kemik Uzunluklarının Ölçümü

Elde edilen fotoğraf görüntüleri JPEG formatında bilgisayara kaydedildi. Kayıt edilen görüntüler, çalıştırılarak, programın üzerindeki menü seçeneklerinden "File" sekmesi içerisindeki "open" sekmesi seçilerek açıldı. ImageJ programı çalıştırılarak açılan bazı görüntüler üzerinde daha net görünüm sağlamak amacıyla araç çubuğundan mercek seçilerek görüntüler biraz daha büyütüldü. Sonrasında ImageJ programında çizim şekillerinden "straight" seçeneği seçilerek fotoğraf çekimi esnasında scala oluşturması amacıyla koyduğumuz çetvel üzerinden 1mm'lik uzunluk seçildi. ImageJ programından "Analyze" sekmesinden "set scala" seçilerek 1 mm'lik scala oluşturulduktan sonra, ImageJ programıyla açtığımız fotoğraflar üzerinden hesaplamasını yapacağımız iki uzunluk arasını seçtikten sonra Cntrl+M yaparak uzunluk hesaplamalarımız yapıldı.

4.BULGULAR

4.1.MORFOLOJİK BULGULAR

Çalışmamızda toplam 7 grup oluşturduk. Bu gruplardan 3'ü doğum öncesi döneme (gebeliğin 16., 18., ve 20. günleri) ait, 4'ü ise doğum sonrası döneme (0., 3., 7. ve 12. gün) aittir.

Tüm gruplarda boyama işlemine başlamadan önce fetusların ve yavruların boy uzunlukları ve ağırlıkları tespit edildi. Tüm gruplardan elde edilen boy (Baş-Kıç uzunlukları) verileri Tablo 4.1'de, ağırlık verileri ise Tablo 4.2'de gösterilmiştir.

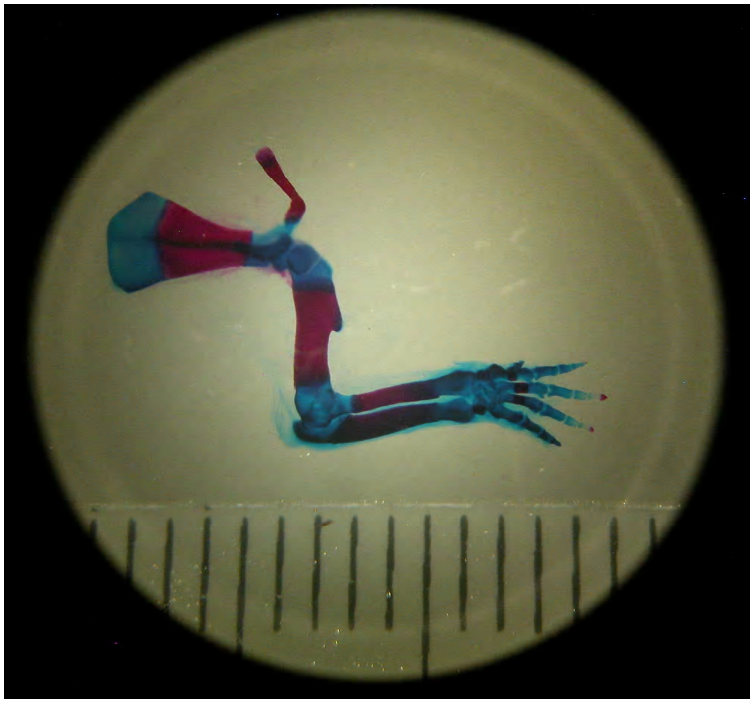
Tablo 4.1. Fetus gruplarına ait boy (baş-kıç uzunluğu) verileri.

Fetus ve yavru sıçan no	**BOY (mm)**						
	16 günlük fetus	**18 günlük fetus**	**20 günlük fetus**	**0. gün yavru**	**3 günlük yavru**	**7 günlük yavru**	**12 günlük yavru**
1	11	17.4	31.1	41	45	57	61.2
2	10.3	19.1	29.5	41.5	47.5	46.6	63.8
3	13.3	20.1	32.9	43.0	48.3	52.2	61
4	11.1	19.2	31.1	41.1	48.5	49.5	61
5	11.2	19.5	30	41.5	46.1	48	73.0
6	10.6	18.8	31.8	43	46.1	54.2	62.1
7	10.4	18.4	30.5	40	43.5	52.2	53.2
8	10.6	19	31.4	43.4	51	52.3	69.7
9	11	17.9	31.7	40	44.2	43.2	56.5
10	11	18	30.5	43.4	49.2	52.2	50
11		18.7	32.4	39.8	45	51.5	54.2
12		18	29.8			39.2	64.5
13		19.2	33.7				
ORT±SS	11.05±0.84	18.71±0.75	31.26±1.24	41.6±1.39	46.76±2.32	49.84±4.92	60.85±6.66

Tablo 4.2. Fetus gruplarına ait ağırlık (gr) verileri

Fetus ve yavru sıçan no	**AĞIRLIK (gr)**						
	16 günlük fetus	**18 günlük fetus**	**20 günlük fetus**	**0. gün yavru**	**3 günlük yavru**	**7 günlük yavru**	**12 günlük yavru**
1	0.24	1.98	3.5	5.11	7.46	10.67	14.53
2	0.22	1.85	3.25	5.6	7.22	8.72	18.22
3	0.24	2	3.07	4.94	6.11	10.84	11.4
4	0.22	1.96	3.83	5	5.13	7.36	11.08
5	0.23	2.4	3.39	4.82	6.6	7.56	15.59
6	0.23	1.98	2.87	5.35	6.55	5.93	12.56
7	0.24	1.74	3.36	5.59	7.36	10.08	20.34
8	0.23	1.9	3.2	5.44	8	7.13	17.17
9	0.22	2.1	3.03	5.21	7.88	10.37	10.68
10	0.21	1.97	3.19	5.16	7.53	6.86	9.13
11		1.98	3.2	5.59	7.29	10.65	18.31
12		1.86	2.8			11.12	13.72
13		1.80	2.9				
ORT±SS	0.22±0.10	1.96±0.16	3.19±0.28	5.25±0.27	7±0.84	8.94±1.87	14.39±3.56

Boy ve ağırlıkları tespit edilen fetuslar ve yavrular boyama prosedürüne tabi tutuldu. Ortalama 30-40 günlük bir boyama sürecinden sonra öncelikle fetusların stereomikroskop altında ön extremitelerinin fotoğrafları alındı. İnceleyeceğimiz ön extremiteye ait kemiklerin boylarını tespit edebilmek için fotoğraf çekimi esnasında milimetrelik cetvel, klavuz olarak kullanıldı (Şekil 4.1). Aynı fetusların ve yavruların birde cetvelsiz fotoğrafları alındı. Cetvelsiz alınan fotoğraflar kemik kıkırdak oranının tespitinde kullanıldı. Fotoğraflar JPEG formatında bilgisayara kaydedildi. Bilgisayarda ImageJ programı yardımıyla bu fotoğraflar açılarak öncelikle her bir kemiğin (klavikula, skapula, humerus, radius ve ulna) boyları ölçüldü. Aynı program yardımıyla her kemiğin kıkırdak ve kemikleşmiş kısımların oranlarını belirleyebilmek için kemiklerin yüzey alanı pixel olarak tespit edildi. Daha sonra kırmızıya boyanan alanların (kemikleşmiş alanların) yüzey alanları piksel cinsinden tespit edildi. Bu işlemin sonunda kemik ve kıkırdak alanların işgal ettiği oranlar tespit edildi. Bu işlemleri takiben her kemik mikroskop altında tek tek incelenerek morfolojik bulgular ortaya kondu.



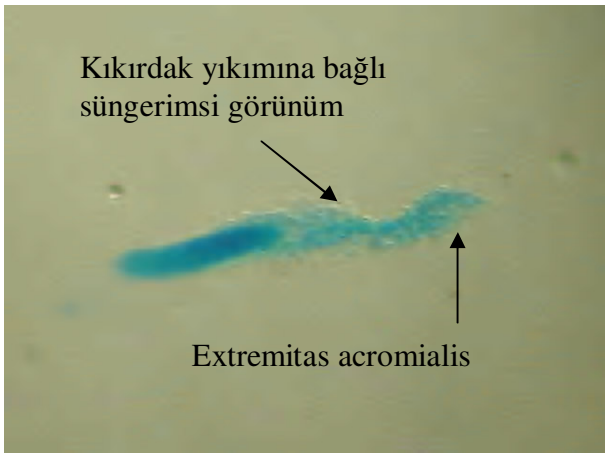
Şekil 4.1. Fotoğraf çekimlerinde klavuz çetvelin kullanımı ve boyama işlemi tamamlanmış olan ön ekstremitenin görünümü.

16 günlük fetus grubu: 16 günlük fetus grubunda toplam 10 adet fetus ile çalışmaya başlanmıştır. Bu fetusların boyları 10.3 mm ile 13.3 mm arasında olup ortalama 11.05±0.89 mm'dir. Ağırlıklarıda 0.21 gr ile 0.24 gr arasında değişmekte olup ortalama 0.23±0.10 gr'dır. Fetusları boyama aşamasında, bu gruba ait fetusların çok küçük olması ve çok çabuk zarar görmesi nedeniyle ancak 7 adet fetus boyanabilmiştir.

16 günlük fetus grubu klavikula'larına ait morfolojik bulgular: Bu grupta boyanmış olan 7 adet fetusun ön extremitelerinin izolasyonu aşamasındada 6 adet klavikula'da kırıklar oluştuğundan dolayı toplam 8 klavikula üzerinde çalışma tamamlanmıştır. Bu klavikula'ların uzunlukları en küçük 1.04 mm, en büyük 1.48 mm arasında değişmekle birlikte, ortalama 1.3±0.2 mm uzunlukta olduğu tespit edilmiştir.

Bu gruba ait klavikula'lar incelendiğinde, kemikleşmenin olmadığı ve tamamen kıkırdak yapının hakim olduğu ve bu yüzden mavi renkte boyandığı görülmektedir. Ancak klavikula'ların gövdesinin ortasından itibaren extremitas acromialis'e kadar olan kısımların da (extremitas acromialis dahil), kıkırdak yapının süngerimsi ve pürtüklü bir yapıda olduğu dikkaki çekmektedir. Süngerimsi yapıda olan bu kısımlar kemikleşme odağının başlayacağı alanlar olup daha sonraki dönemde kırmızı renkli kemikleşmenin

başlayacağı alanları göstermektedir. Bu alanlarda kıkırdak yıkımının başlamasından dolayı süngerimsi yapı oluşmaktadır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. 16 günlük fetusa ait klavikula'nın görünümü.

16 günlük fetus grubu skapula'larına ait morfolojik bulgular: Bu grupta boyanmış olan 7 adet fetusun ön extremitelerinin ayrılması aşamasında 2 adet skapula'da hasar oluştuğu için çalışma dışında bırakırıldı ve 12 skapula üzerinde inceleme ve ölçüm yapıldı. Skapula'ların uzunlukları en küçük 1.48 mm en büyük 1.75 mm arasında değişmekle birlikte ortalama 1.6±0.09 mm uzunlukta olduğu tespit edilmiştir. Bu gruba ait skapula'lar incelendiğinde kemiklerin tamamen mavi renkte olduğu ve kıkırdak yapının hakim olduğu görülmektedir. Ancak spina scapulae'nin ve acromion'un olduğu bölgelerde daha koyu renkte bir görünüm açık olarak izlenmektedir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. 16 günlük fetusa ait skapula'nın görünümü.

16 Günlük fetus grubunun humerus'larına ait morfolojik bulgular: Bu grupta boyanmış olan 7 adet fetusun ön extremitelerinin ayrılması aşamasında 2 adet humerus kırığı oluştu ve geriye 12 adet sağlam humerus kaldı, incelemeler bu 12 kemik üzerinde gerçekleştirildi. Humerus'un uzunlukları en küçük 1.64 mm en büyük 2.06 mm arasında değişmekle birlikte ortalama 1.8±0.14 mm uzunlukta olduğu tespit edildi.

Gruba ait humerus'larda kemikleşme belirtilerinin daha henüz ortaya çıkmadığı ve kıkırdak yapının tamamen hakim olduğu görülmektedir. Ancak kemiklerin proksimal ve distal uçlarında daha koyu maviliğin olduğu görülmektedir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. 16 günlük fetusa ait humerus'un görünümü.

16 Günlük fetus grubunun radius'larına ait morfolojik bulgular: Bu grupta boyanmış olan 7 adet fetusun ön extremitelerinin ayrılması aşamasında 2 adet radius kırıldığı için 12 adet radius çalışmaya dahil edildi. Radius'un uzunluğu en küçük 0.95 mm en büyük 1.18 mm arasında değişmekte olup, ortalama 1.1±0.1 mm olarak edildi. Bu gruba ait radiuslar incelendiğinde kemiklerin mavi renkte olduğu ve kıkırdak yapının hakim olduğu görülmüştür. Ancak extremitas proximalis ve distalisin daha koyu mavi renkte olduğu görülmektedir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. 16 günlük fetusa ait radius ve ulna'nın görünümü.

16 Günlük fetus grubunun ulna'larına ait morfolojik bulgular: Bu grupta boyanmış olan 7 adet fetusun ön extremitelerinin ayrılması aşamasında 2 adet ulna kırığı oluştu ve geriye 12 adet sağlam ulna kaldı, inceleme ve ölçümler bu 12 kemik üzerinde gerçekleştirildi. Ulna'ların uzunlukları en küçük 1.45 mm en büyük 1.56 mm arasında değişmekle birlikte ortalama 1.5±0.04 mm uzunlukta olduğu tespit edildi.

Bu gruba ait ulna'lar tamamen mavi renkte olup kıkırdak özelliğini korumaktadır. Henüz kemikleşme belirtisi görülmemektedir (Şekil 4.5).

16 Günlük fetus grubunun bilek kemiklerine (ossa carpi) ait morfolojik bulgular: Bu gruba ait carpal kemikler incelendiğinde kemiklerin tamamen mavi renkte olduğu ve kıkırdak yapının hakim olduğu görülmektedir (Şekil 4.6).

16 Günlük fetus grubunun tarak kemiklerine (ossa metacarpi) ait morfolojik bulgular: Bu gruba ait metacarpal kemikler incelendiğinde, kemikleşmenin olmadığı, kıkırdak yapının hakim olduğu ve mavi renge boyandıkları görülmektedir. Metacarp'ların gövdelerinin uçlarına göre daha koyu renkte boyandıkları görülmektedir (Şekil 4.5).

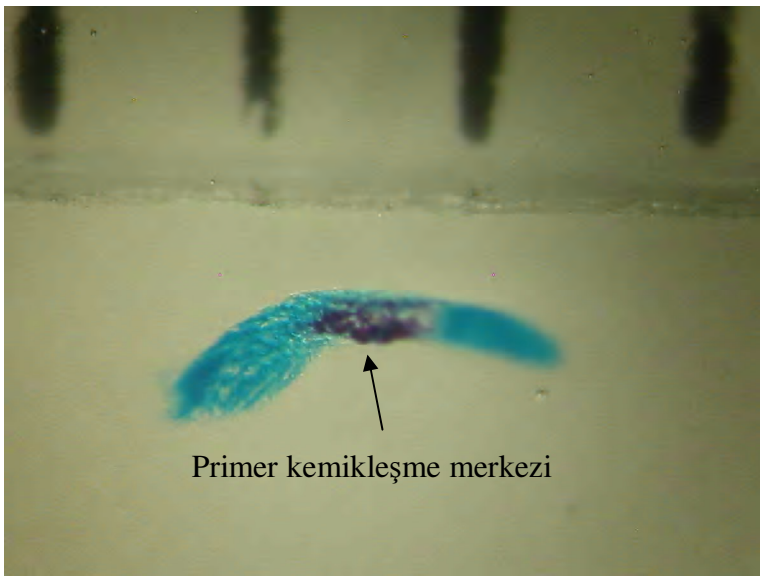
16 Günlük fetus grubunun parmak kemiklerine (ossa digitorum phalanges) ait morfolojik bulgular: Bu gruba ait el parmak kemiklerinde tamamen kıkırdak yapı hakimdir ve bu yüzden mavi olarak görülmektedir (Şekil 4.5).

18 günlük fetus grubu: 18 günlük fetus grubunda toplam 13 adet fetus ile çalışmaya başlandı. Bu gruptaki fetusların boyları 17.4 mm ile 20.1 mm arasında değişmekte olup

ortalama 18.71±0.75 mm dir. Ağırlıklarıda 1.74 gr ile 2.4 gr arasında değişmekte olup ortalama 1.96±0.16 gr'dır. Bu gruba ait fetusların tamamı zarar görmeden boyanabildi.

18 günlük fetus grubu klavikula'larına ait morfolojik bulgular bulgular: Bu grubta boyanmış olan 13 adet fetusun ön extremitelerinin izolasyonu aşamasındada 4 adet klavikula'da kırıklar oluştuğundan dolayı toplam 22 klavikula üzerinde çalışma tamamlandı. Bu klavikula'ların uzunlukları en küçük 2.06 mm en büyük 2.54 mm arasında değişmekle birlikte, ortalama 2.3±0.14 mm uzunlukta olduğu tespit edildi.

Bu gruba ait klavikula'ların korpuslarının ortasında ilk (primer) kemikleşme merkezi kırmızı olarak açıkça gözükmektedir. Diğer kısımlar kıkırdak özelliğini korumakta ve mavi olarak görülmektedir (Şekil 4.6).

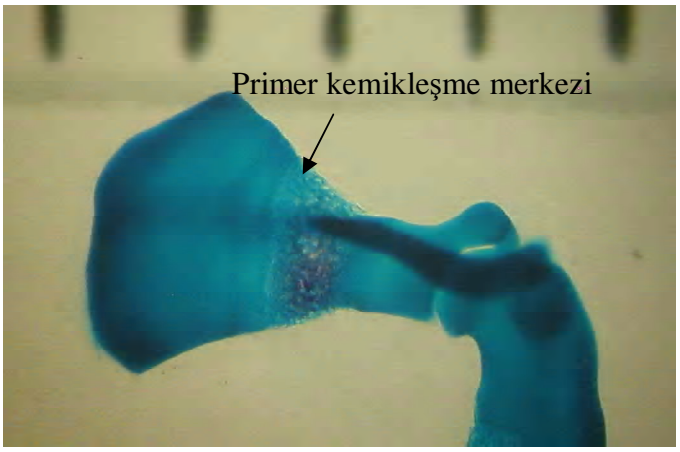


Şekil 4.6. 18 günlük fetusun klavikula'sında gelişen primer kemikleşme merkezinin görünümü.

18 günlük fetus grubu skapula'larına ait morfolojik bulgular bulgular: Bu grubta 24 adet skapula bulunmaktadır. Bu kemiklerin uzunlukları en küçük 2.67 mm ile 3.13 mm arasında değişmekte olup ortalama 2.9±0.14 mm kadardır.

18 günlük skapula'larda primer kemikleşme merkezi spina scapulae'nın başlangıç kısmında (gövde ile birleştiği kısım) açık olarak görülmektedir. Ancak spina skapulae'nın, processus hamate olarak adlandırılan ve acromiona kadar uzanan kısmı mavi rengini muhafaza etmektedir (Şekil 4.7). Ayrıca margo dorsalis ve cavitas

glenoidalis bölümlerinin kıkırdak yapıda olduğu ve mavi renkle boyandığı açık olarak görülmektedir.



Şekil 4.7. 18 günlük fetusa ait skapula'nın görünümü.

18 günlük fetus grubu humerus'larına ait morfolojik bulgular: Bu grupta 24 adet kemik bulunmaktadır. Bu kemiklerin boyları en küçük 3 mm en büyük 3.45 mm arasında değişmekle birlikte, ortalama 3.2±0.15 mm olarak ölçüldü.

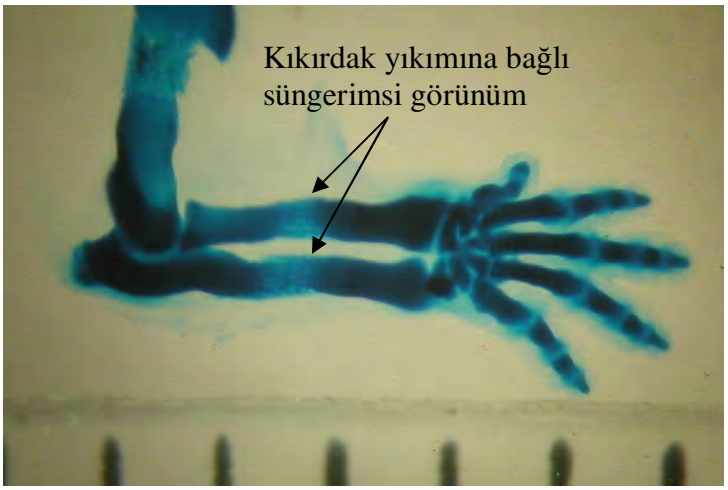
Humerus'ların stereomikroskop altında incelenmesi sonucunda, corpus humeri'nin orta kısmında primer kemikleşme merkezinin oluştuğu açıkca görülmektedir. Bu alan tuberositas deltoidea'nın hemen altında bulunmaktadır. Kemikleşmenin başladığı bu alanda kırmızı renk hakim iken proksimal ve distal uçlarda mavi renk hakimdir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. 18 günlük fetusa ait humerus'un görünümü.

18 günlük fetus grubu radius'larına ait morfolojik bulgular bulgular: Bu grubta 26 adet radius üzerinde ölçüm ve inceleme yapıldı. Bu radius'ların boyları 2.19 mm ile 2.44 mm arasında değişmekte olup, ortalama 2.3±0.07 mm'dir.

Bu gruba ait radius'larda, kemikleşmenin oluşmadığı kıkırdak yapının halen devam ettiği ve mavi rengin hakim olduğu görülmektedir. Ancak corpus radii'nin ortasında mavi rengin açıldığı ve süngerimsi bir görünüm kazandığı dikkati çekmektedir. Süngerimsi yapıda olan bu kısımda daha sonraki dönemde ilk kemik odakları ortaya çıkacaktır. Bu alanlarda kıkırdak yıkımının başlamasından dolayı süngerimsi yapı oluşmaktadır (Şekil 4.9).



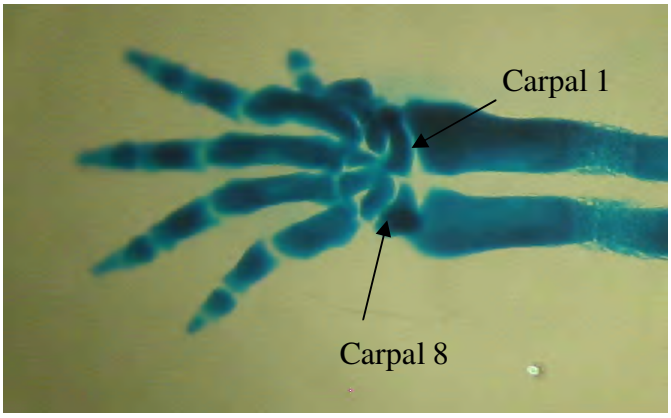
Şekil 4.9. 18 günlük fetusa ait radius ve ulna'nın görünümü.

18 günlük fetus grubu ulna'larına ait morfolojik bulgular: Bu grupta 26 adet ulna ile çalışmaya başlandı. Ancak inceleme esnasında ulna'larda oluşan hasar sonucu 24 adet sağlam ulna ile çalışamaya devam edildi. Bu ulna'ların boyları en küçük 2.88 mm en büyük 3.25 mm arasında değişim göstermekle birlikte, ortalama 3±0.12 mm olarak ölçüldü.

İncelemelerde ulna'ların halen kıkırdak yapıda oldukları ve mavi renge boyandıkları görüldü. Corpus ulnae'de kemikleşmenin başlangıcı olarak saydığımız, kıkırdak yapının yıkımı sonucu oluşan süngerimsi yapının burada da oluştuğu ve kıkırdağın burada daha açık mavi renge boyandığı görülmektedir (Şekil 4.9).

18 Günlük fetus grubunun bilek kemiklerine (ossa carpi) ait morfolojik bulgular: İncelemeye alınan bütün el bileği kemiklerinin kıkırdak yapıda oldukları ve mavi renge

boyandıkları görüldü. Carpal 1 ve carpal 8 kemiklerinin daha koyu mavi renge boyandıkları dikkati çekmektedir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. 18 günlük fetusa ait carpal, metacarpal ve phalanks'lara ait görünüm.

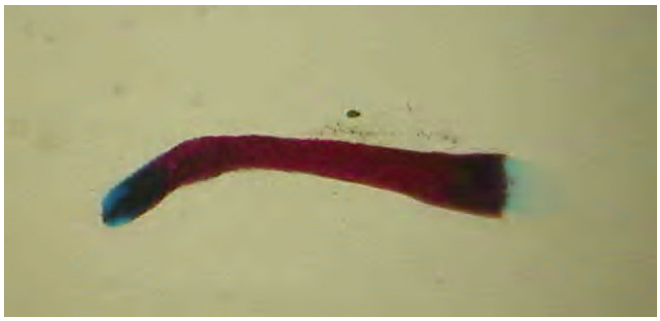
18 Günlük fetus grubunun tarak kemiklerine (ossa metacarpi) kemiklerine ait morfolojik bulgular: İnceleme ve hesaplamaya alınan metacarpal kemiklerin kıkırdak yapıda oldukları ve mavi renge boyandıkları görülürken, kemiklerin gövdelerinin daha açık mavi oldukları görüldü (Şekil 4.10).

18 Günlük fetus grubunun parmak kemiklerine (ossa digitorum phalanges) ait morfolojik bulgular: Bu gruba ait el parmak kemiklerinde tamamen kıkırdak yapı hakim olması nedeniyle mavi olarak boyandığı görülmekle birlikte, phalanx'ların proksimal uçlarının daha koyu mavi renge boyandıkları dikkati çekmektedir (Şekil 4.10).

20 Günlük fetus grubu: 20 günlük fetus grubunda toplam 13 adet fetus ile çalışmaya başlanmıştır. Bu fetusların boyları 29.5 mm ile 33.7 mm arasında olup ortalama 31.26 ±1.24 mm dir. Ağırlıklarıda 2.8 gr ile 3.87 gr arasında değişmekte olup ortalama 3.20±0.28 gr'dır. Bu gruba ait fetusların tamamı zarar görmeden boyanabilmiştir.

20 günlük fetus grubu klavikula'larına ait morfolojik bulgular: Çalışmaya sağlam olan toplam 24 klavikula dahil edildi. Klavikula'ların uzunlukları en küçük 2.06 mm, en büyük 4.68 mm arasında değişmekle olup ortalama 3.5±0.78 mm olarak hesaplandı. Bu grupta bulunan klavikula'lar incelendiğinde çoğunlukla kemikleşmenin geniş bir alana yayıldığı görüldü. Gövdenin ortasında başlayan kemikleşme alanı kemiğin her iki ucuna kadar ulaşmış olup sadece eklem yapan uç kısımların mavi renkte olduğu

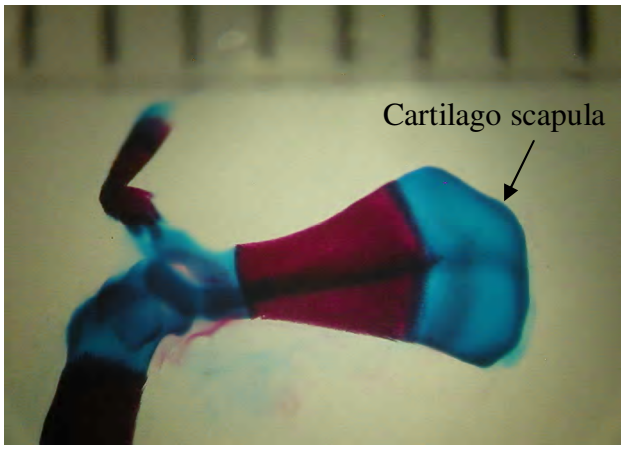
görülmektedir. Klavikula'nın sternumla yapmış olduğu ekleme ait capsula articularis ve ligamentlerin (lig. sternoclaviculare anterius ve posterius) kemiğe yapıştıkları bölgeden tamamen ayırmak istediğimizde kemik hasar görmektedir. Bu yüzden bu yapılara ait bazı kalıntılar kemik üzerinde kalmaktadır. Bu yapılarda mavi olarak boyanmaktadır. Bu gruba ait klavikula'lar, 16 ve 18 günlük fetus gruplarına ait klavikula'lara göre daha düzenli bir yapı göstermekte ve erişkin kemiklerine benzer bir durum almaktadır. Süngerimsi ve pürtüklü görünümün kaybolduğu açık olarak görülmektedir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. 20 günlük fetusa ait klavikula'nın görünümü.

20 günlük fetus grubu skapula'larına ait morfolojik bulgular: Bu grupta toplam 24 adet skapula üzerinde inceleme yapıldı. Skapulaların uzunluğu 4.49-5.37 mm arasında değişmekte olup ortalama 4.9±0.27 mm olarak tespit edildi.

Skapulalar incelendiğinde, spina scapulae'nın başlangıç kısmından başlayan kemikleşmenin cavitas glenoidalis'e doğru genişleme gösterdiği ve bu alanların kırmızı renge boyandığı görüldü. Margo dorsaliste cartilago skapula kıkırdak yapıda olup mavi renktedir. Spina scapulae'nın, processus hamate (acromion)' ye kadar olan kısımları kemikleşerek kırmızı renge boyanmış olduğu görüldü. Processus hamate ve cavitas glenoidalis kıkırdak yapısını koruduğundan maviye boyandı (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. 20 günlüğe ait skapula'nın görünümü.

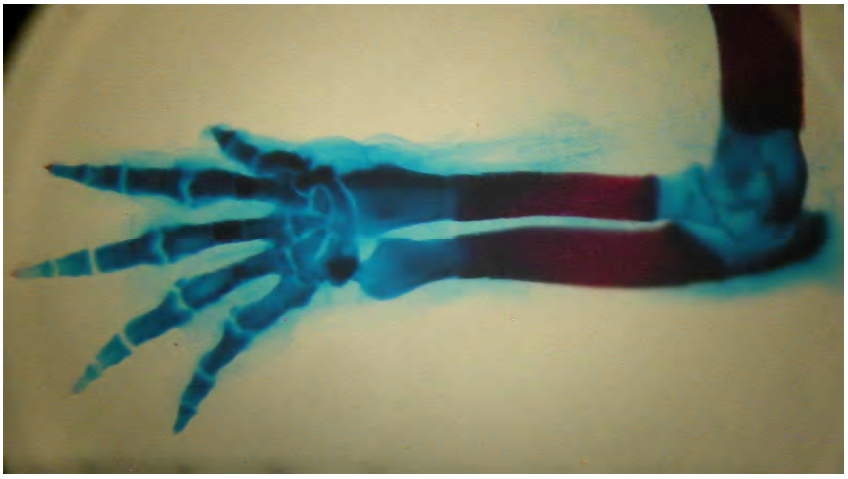
20 Günlük fetus grubu humerus'larına ait morfolojik bulgular: Bu grupta boyanan 13 fetus üzerinde yapılan inceleme ve hesaplamalar sonucunda, humerus'ların uzunlukları en küçük 5.06 mm en büyük 5.64 mm arasında olmak üzere, ortalama 5.4±0.16 mm olarak tespit edildi.

Bu gruba ait humerus'lar stereomikroskop altında incelendiğinde, kemiğin gövdesinden başlayan kemikleşme merkezinin proksimal ve distal uçlara doğru yayıldığı ve proksimalde tuberositas deltoidea'yı da içine alacak şekilde genişlediği görülmektedir. Tuberositas deltoidea'nın kanca şeklindeki uç kısmı ile distal ve proksimal uçların mavi renge boyandığı ve kıkırdak yapıda olduğu görüldü (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. 20 günlük fetus grubuna ait humerusun görünümü.

20 Günlük fetus grubu radius'larına ait morfolojik bulgular: Bu grupta çalışma toplam 24 adet radius üzerinde yapıldı. Radius'ların boyları 3.54-4.22 mm arasında değişmekte olup ortalama 4±0.16 mm'dir. Radius'ların gövde kısımlarında yoğun bir şekilde kemikleşmenin başladığı ancak proksimal ve distal uçlara kadar ulaşmadığı görülmektedir. Distal uçtaki kıkırdak alan miktarı proksimal uçtaki kıkırdak alan miktarının yaklaşık iki katı kadardır (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. 20 günlük fetusa ait radius ve ulna'nın görünümü.

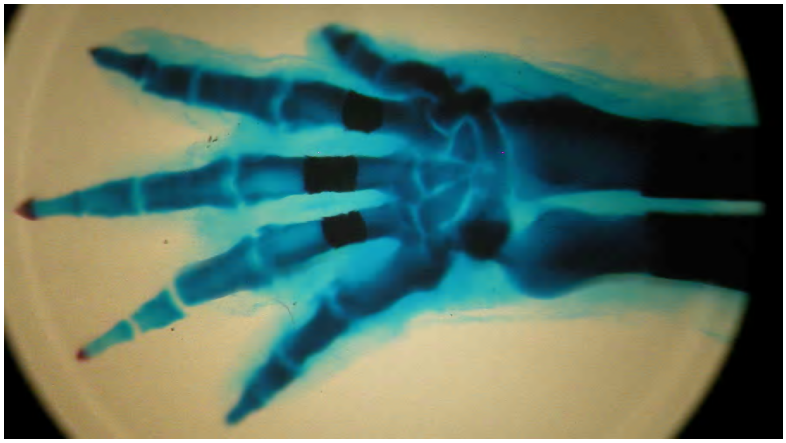
20 Günlük fetus grubu ulna'larına ait morfolojik bulgular: Bu grupta toplam 26 adet ulna üzerinde inceleme ve hesaplama yapıldı. Yapılan ölçümlerde ulna'ların uzunluğu en küçük 4.72 mm, en büyük 5.60 mm olmak üzere ortalama 5.2±0.26 mm olarak ölçüldü.

Bu grupta ki ulna'ların gövdesinin büyük kısmının kemikleştiği ancak extremitas proximalis'deki olecranon, processus coronoideus ve incissura trochlearis'in kıkırdak özelliğini koruduğu görülmektedir. Extremitas distalis'te de extremitas proximalis'teki kadar bir alanın kıkırdak özelliğini koruduğu görtülmektedir (Şekil 4.14).

20 Günlük fetus grubu bilek kemiklerine (ossa carpi) ait morfolojik bulgular: İncelenen tüm fetuslarda karpal kemiklerin kıkırdak yapılarını korudukları ve mavi renge boyandıkları görüldü. 18 günlük fetus gruplarında görülen 1. ve 8. karpal kemikteki daha koyu mavi renk bu gruptada görüldü (Şekil 4.14).

20 Günlük fetus grubu tarak kemiklerine (ossa metacarpi) kemiklerine ait morfolojik bulgular: 20 günlük fetus grubunda 1. ve 5. metakarplar kıkırdak yapılarını korumakta olup tamamen mavi renge boyandıkları tespit edildi. 2.-4. metakarpların gövdesinde primer kemikleşme merkezi oluşarak kemikleşmenin başladığı görüldü. Kemikleşmenin başladığı bu merkezler kırmızı renge, proksimal ve distal uçlar ise mavi renge boyandı (Şekil 4.15).

20 Günlük fetus grubu parmak kemiklerine (ossa digitorum phalanges) ait morfolojik bulgular: 20 günlük fetus gruplarına ait parmaklarda ilk kemikleşmeler görülmeye başlandı. İlk kemikleşme belirtileri 2.-4. parmağın distal phalanxlarında ortaya çıktı. Ancak burada ortaya çıkan kırmızı alanlar phalanx'ın kendisinde değilde phalanx'ın ucunda bulunan tırnakların geliştiği bölgelerde ortaya çıktı (Şekil 4.15).



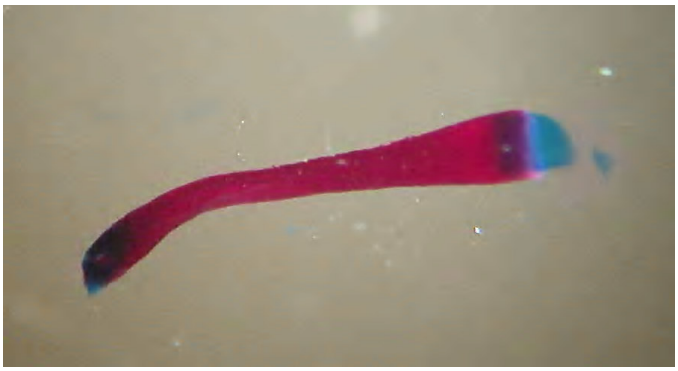
Şekil 4.15. 20 günlük fetusa ait el iskeletinin görünümü.

0. gün yavru sıçan grubu: 0. gün grubunda toplam 11 adet yavru sıçan ile çalışmaya başlandı. Bu yavruların boyları 39.8 mm ile 43.4 mm arasında değişmekte olup ortalama 41.60±1.39 mm'dir. Ağırlıkları 4.82-5.6 gr arasında değişmekte olup ortalama 5.25±0.27 gr'dır. Bu gruba ait yavruları tamamı zarar görmeden boyandı.

0. gün yavru sıçan grubu klavikula'larına ait morfolojik bulgular: Bu grupta boyanan, 11 adet yavruya ait toplam 22 klavikula incelendi. Bu klavikula'ların uzunluğu 3.24-5.86 mm (ortalama 4.8±0.68 mm) olarak bulunudu.

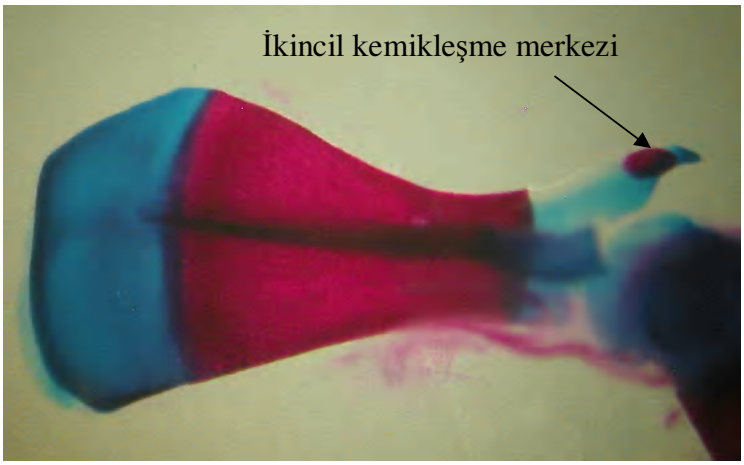
Bu gruptaki klavikula'larda kemikleşmenin büyük ölçüde tamamlandığı tespit edildi. Klavikulaların omuz ekleminin yapısına katılan extremitas acromialis üzerinde bulunan

eklem yüzeyi ile extremitas sternalis'inde eklem katılan ve eklem kıkırdağıyla kaplı olan alan ile eklem kapsülü ve ligamentlere ait kalıntıların mavi renge boyandığı, diğer alanların kırımızı oldukları görüldü. (Şekil 4.16).



Şekil 4.16. 0. gün yavru sıçan grubu klavikula'sına ait görünüm.

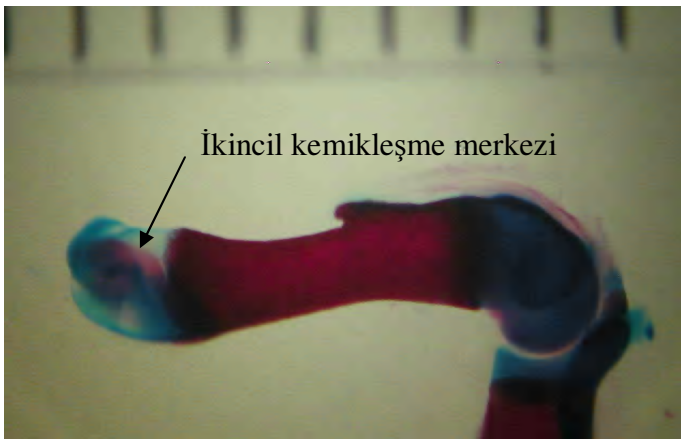
0. gün yavru sıçan grubu skapula'larına ait morfolojik bulgular: Skapula'ların boyları en küçük 5.65 mm en büyük 8.82 mm (ortalama 6.5±0.84 mm) olarak ölçüldü. Bu gruba ait skapula'larda, spina scapulae'nın başlangıç kısmından cavitas glenoidalis'e doğru olan kemikleşmenin, collum scapulae'yı da içine alacak şekilde genişlediği görüldü. Spina scapulae'nın gövde ile birleşme yerinden margo dorsalis'e doğru epifizyal plağın (büyüme plağı) genişleyerek kemikleşmenin bu bölgede arttığı ancak 20 günlük fetusların skapula'ları ile kıyaslandığında; farkın az olduğu görüldü. Spina scapulae'nın, processus hamate (acramion)'ye kadar olan bölümlerinin kırmızı renge boyandığı görülürken processus hamate'nin mavi renge boyandığı görüldü. Bu grupdaki skapula'lar da processus coracoideus'un uç kısmına yakın bölümlerinde kıkırdak alan içerisinde ikinci kemikleşme merkezinin oluştuğu ve kırmızı renkle boyandığı görüldü (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. 0. gün yavru sıçan grubu skapula'sına ait görünüm.

0. gün yavru sıçan grubunun humerus'una ait morfolojik bulgular: Humerus'ların boyları en küçük 6.27 mm en büyük 9.96 mm arasında olmak üzere, ortalama 7±1.1 mm olarak ölçüldü.

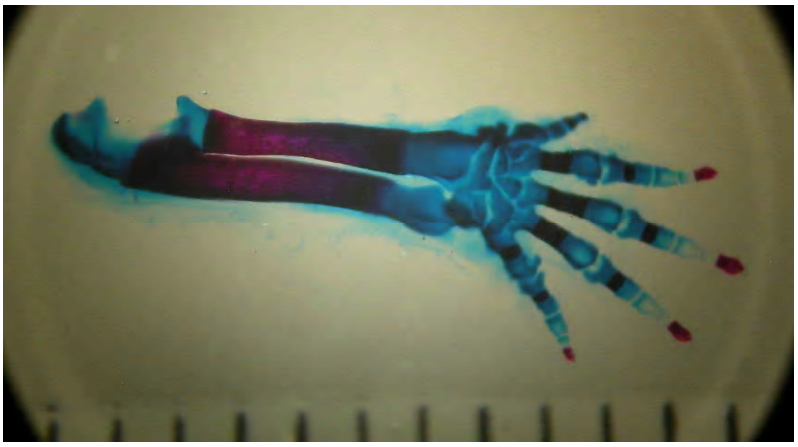
Bu gruba ait humerus'lar stereomikroskop altında incelendiğinde, kemiğin proksimal ve distal uçlara kadar olan gövde kısmının tamamen kemikleştiği ve kırmızı renge boyandığı görüldü. Kemiğin proksimal ve distal uçlarında halen kıkırdak özelliklere sahip mavi renkli alanın merkezi kısmında ikinci bir kemikleşme merkezinin gelişmeye başladığı ve bu alanda kırmızı boya tutulumunun olduğu görüldü (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. 0. gün yavru sıçan grubu humerus'una ait görünüm.

0. gün yavru sıçan grubunun radius'larına ait morfolojik bulgular: Bu grupta bulunan 22 adet radius'un boyu en küçük 4.92 mm en büyük 8.44 mm (ortalama 5.6±0.99 mm) olarak tespit edildi.

Bu gruptaki raidus'ların gövdelerinin tamamen kemikleştiği ve Alizarin Red S ile boyandıkları görüldü. Proksimal ve distal uçların ise halen kıkırdak özelliğinde ve mavi renkte oldukları görülmektedir (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. 0. gün yavru sıçan grubuna ait görüntü.

0. gün yavru sıçan grubunun ulna'sına ait morfolojik bulgular

Ulna'ların boyları en küçük 6.29 mm en büyük 7.38 mm arasında değişmekle birlikte, ortalama 6.8±0.36 mm uzunlukta olduğu tespit edildi.

Bu grupa ait ulna'ların gövdelerinin tamamen kemikleştiği ve olecranon'a kadar kemikleşmenin genişlediği görüldü. Kemiklerin distal ucu ile proksimal uçundaki yapıların (processus coronoideus, incisura trochlearis ve olecranon) kıkırdak yapıda oldukları tespit edildi (Şekil 4.20).



Şekil 4.20. 0. gün grubuna ait radius ve ulna'nın görünümü.

0. gün yavru grubuna ait bilek kemiklerine (ossa carpi) ait morfolojik bulgular: Karpal kemiklerin kıkırdak yapıda oldukları, 1. ve 8. karpal kemiklerin daha koyu mavi renge boyandıkları bu gruptaki kemiklerde de görüldü (Şekil 4.21).



Şekil 4.21. 0. gün yavru sıçan grubu el iskeletine ait kemiklerin görünümü.

0. gün grubunun tarak kemiklerine (ossa metacarpi) ait morfolojik bulgular: Birinci metakarpın kıkırdak özelliğini koruduğu, 2.-4. metakarpların ise gövdelerinde başlayan kemikleşmenin uçlara (caput ve basis metacarpi) doğru genişlediği tespit edildi. Beşinci metakarpın gövdesinde ise primer kemikleşme merkezinin ortaya çıktığı görüldü (Şekil 4.21).

0. gün grubunun parmak kemiklerine (ossa digitorum phalanges) ait morfolojik bulgular: 0. gün grubunda 2-5. parmakların hem distal ve hemde proksimal falankslarında kemikleşme merkezlerinin ortaya çıktığı görüldü. Ancak birinci parmağa ait hiçbir falanksta kemikleşme belirtisi görülmedi (Şekil 4.21).

3 günlük yavru sıçan grubu: Bu grupta toplam 11 adet yavru sıçan ile çalışmaya başlandı ve yavru sıçanların tamamı zarar görmeden boyandı. Yavru sıçanların boyları; 43.5 mm ile 51 mm arasında (ortalama 46.76±2.32 mm) değişmektedir. Ağırlıklarıda 6.11 gr ile 7.88 gr arasında (ortalama: 7.01±0.84 gr) arasında değişmektedir.

3 günlük yavru sıçan grubu klavikulalarına ait morfolojik bulgular: Bu grupta bulunan toplam 22 adet klaviculaya ait uzunluklar 4.34 mm ile 6.70 mm arasında (ortalama 5.2±0.76 mm) değişmektedir.

Bu gruba ait klaviculalarda kemikleşmenin tamamlandığı tespit edildi. Kemiklerin sadece ekleme katılan kısımlarında ve ekleme ait bağlarda mavi rengin hakim olduğu görülmektedir (Şekil 4.22).



Şekil 4.22. 3 günlük yavru grubu klavikula'sına ait görünüm.

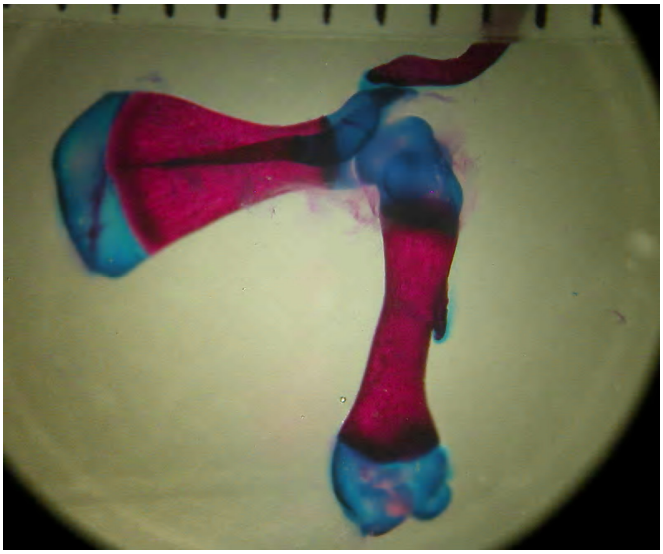
3 günlük yavru grubunun skapulalarına ait morfolojik bulgular: Bu grupta bulunan toplam 22 adet skapulanın boylarının, 6.21 mm ile 7.36 mm (ortalama 6.7 ±0.56 mm) arasında olduğu tespit edildi.

Bu grupta ki skapulalar incelendiğinde, 0. gün gruplarına ait skapulaların kemikleşmesine benzer durumun varlığı tespit edildi. Sadece spina scapulae'ya ait kemikleşme merkezinin proc. hamate'ye ve margo dorsaliste cartilago scapulae'ye doğru biraz daha genişlediği görüldü. Proc. coracoideus'un uç kısmına yakın oluşan ikincil kemikleşme merkezinde kemikleşmenin fazla genişlemediği görüldü (Şekil 4.23).



Şekil 4.23. 3 günlük yavru grubu skapulası'na ait görünüm.

3 günlük yavru grubunda humerus'lara ait morfolojik bulgular: Bu grupta toplam 22 adet humerus bulunmaktadır. Bu humerus'ların uzunlukları en küçük 6.04 mm en büyük 8.40 mm arasında değişmekle birlikte, ortalama 7.6±0.54 mm uzunlukta olduğu tespit edildi. Humerus'ların gövdelerinde kemikleşmenin büyük ölçüde tamamlandığı tespit edildi. Ancak proksimal ve distal uçlardaki kıkırdak varlığın devam ettiği görüldü. Tuberositas deltoidea'da kemikleşmenin tamamlandığı görülürken, bu yapının etrafında var olan mavi rengin yapıya tutunan kas dokularına ait olduğu tespit edildi. İlk defa 0. gün grubunda tespit edilen humerus'ların proksimal ve distal uçlarında ortaya çıkan ikincil kemikleşme merkezlerinde fazla bir değişiklik görülmedi (Şekil 4.24).



Şekil 4.24. 3 günlük yavru sıçan grubu humerus'una ait görünüm.

3 günlük yavru grubunun radius'una ait morfolojik bulgular: Bu grupta bulunan toplam 22 adet radius'un uzunluğu; en küçük 5.54 mm en büyük 6.76 mm arasında değişmekle birlikte, ortalama 6.1±0.33 mm uzunlukta olduğu tespit edildi.

Bu gruba ait radius'ların proksimal ve distal uçlarında kıkırdak yapının varlığını koruduğu, ancak distal uçtaki kıkırdak yapının proksimal uca göre daha fazla olduğu, gövdenin ise tamamen kemikleştiği görüldü (Şekil 4.25).



Şekil 4.25. 3 günlük yavru sıçan grubu ön ekstremitesine ait bazı kemiklerin görünümü.

3 günlük yavru grubunun ulna'larına ait morfolojik bulgular: Bu grupta bulunan toplam 22 adet ulna'ın uzunlukları en küçük 6.47 mm en büyük 8.39 mm arasında değişmekle birlikte, ortalama 7.7±0.56 mm uzunlukta olduğu tespit edildi. Ulna'ların gövdelerinde kemikleşmenin tamamlandığı, proksimal uçtaki processus coronoideus ve incissura trochlearis'de kemikleşmenin başladığı fakat henüz tamamlanmadığı görülürken olecranon'da ise kemikleşme belirtisinin olmadığı belirlendi. Distal uçtaki caput ulnae'da ise kıkırdak yapının hakim olduğu görüldü (Şekil 4.25).

3 günlük yavru grubunun bilek kemiklerine (ossa carpi) ait morfolojik bulgular: Bu grupta bulunan karpal kemiklerin kıkırdak yapıda olduğu ve mavi renge boyandıkları görüldü (Şekil 4.25).

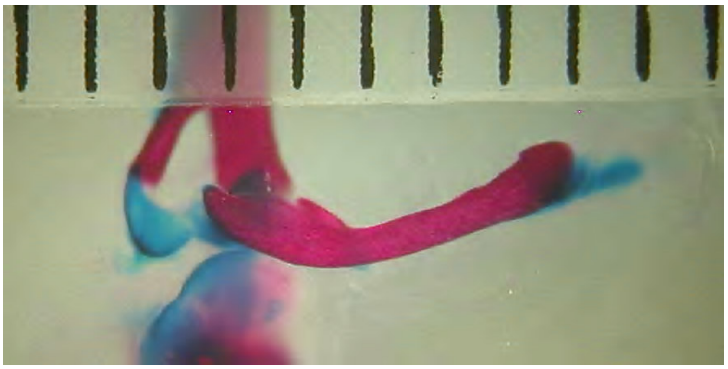
3 günlük yavru sıçan grubunun tarak kemiklerine (ossa metacarpi) ait morfolojik bulgular: Bu gruptaki 5 metakarpın birincisinde henüz kemikleşmenin ortaya çıkmadığı fakat daha önce kemikleşmenin başladığı 2.-4. metacarplarda kemikleşmenin arttığı ve bu artışın daha çok proksimal uca (basis ossis metacarpi) doğru olduğu görüldü. Beşinci metakarpta ise daha önce başlamış olan kemikleşmede çok az bir büyümenin olduğu ve kemiğin büyük kısmının halen kıkırdak yapıda olduğu görüldü (Şekil 4.25).

3 günlük yavru sıçan grubunun parmak kemiklerine (ossa digitorum phalanges) ait morfolojik bulgular: Doğumdan sonraki 3 günlük yavru grubunda 2-5. parmaklara

ait tüm falankslarda kemikleşme merkezleri görülürken, birinci parmağın distal falanksında ilk kemikleşme merkezi ortaya çıktı (Şekil 4.25).

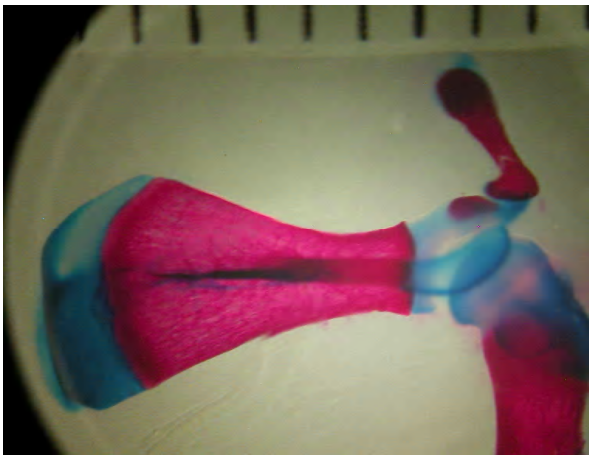
7 günlük yavru sıçan grubu: Bu grubta toplam 12 adet fetus bulunmaktadır. Bu fetusların boyları 39.2 mm ile 57 mm arasında değişmekte olup ortalama 49.84±4.92 mm'dir. Ağırlıkları ise 5.93 gr ile 11.12 gr arasında değişmekte olup ortalama 8.94±1.87 gr'dır.

7 günlük yavru grubuna ait klavikulaların morfolojik bulguları: Bu grupta bulunan 24 adet klavikulanın uzunluğu en küçük 4.59 mm en büyük 5.98 mm arasında değişmekle birlikte, ortalama 5.3±0.53 mm uzunlukta olduğu tespit edildi. Klavikulalarda kemikleşmenin tamamlandığı görüldü. Sadece ekleme katılan kısımlarda ki eklem kıkırdakları mavi olarak görülmekteydi (Şekil 4.26).



Şekil 4.26. 7 günlük yavru sıçan grubu klaviculasına ait görünüm.

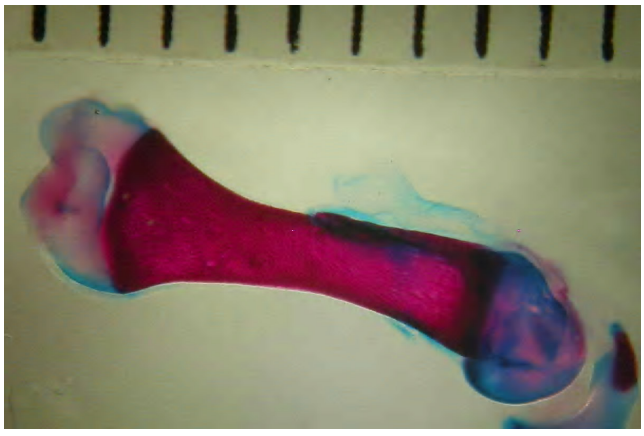
7 günlük yavru grubuna ait skapulaların morfolojik bulguları: Bu grupta 24 adet skapula bulunmaktadır. Yapılan ölçümlerde skapulaların uzunluğunun 6.97 mm ile 9.21 mm arasında değiştiği ve ortalama 8.2±0.68 mm olduğu tespit edildi. Bu gruba ait skapulalar incelendiğinde, 3 günlük yavru sıçan grubuna ait skapulaların kemikleşmesine yakın bir gelişim gösterdikleri gözlendi. Proc. coracoideus'un uç kısmında oluşan kemikleşme merkezinin biraz daha genişleme gösterdiği tespit edildi. Margo dorsalis'deki kemikleşmenin cartilago scapulae'ya doğru genişleyerek devam ettiği görüldü (Şekil 4.27).



Şekil 4.27. 7 günlük yavru sıçan grubu skapula'sına ait görünüm.

7 günlük yavru sıçan grubunun humerus'una ait morfolojik bulgular: Bu grupta incelemeler toplam 24 humerus üzerinde yapıldı. Humerus'ların uzunluğu en küçük 7.4 mm, en büyük 9.8 mm arasında değişmekle birlikte, ortalama 9±0.72 mm olarak tespit edildi.

Bu gruba ait humerus'larda, corpus humeri'nin tamamen kemikleşerek distalde epicondillere kadar olan kısımların, proksimalde ise caput humeriye kadar olan tüm alanların kırmızı renge boyandığı görüldü. Proksimal ve distal uçlarda bulunan ikincil kemikleşme merkezlerinde kemikleşmenin daha geniş alanlara yayıldığı ancak gövdeyele kıyaslandığında daha soluk kırmızıya boyandığı görüldü (Şekil 4.28).



Şekil 4.28. 7 günlük yavru sıçan grubu humerus'una ait görünüm.

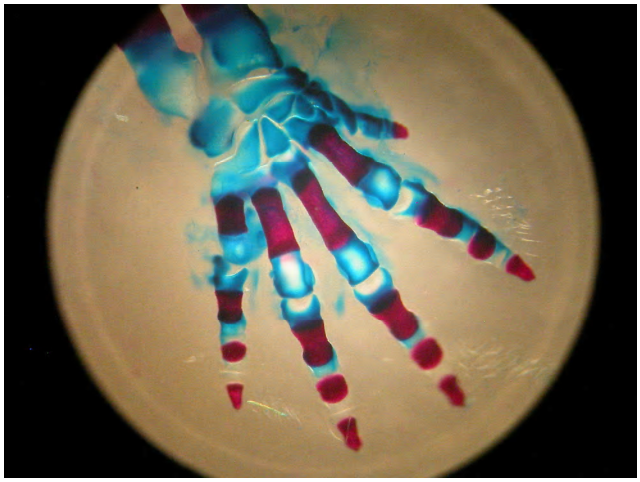
7 günlük yavru grubuna ait radius'ların morfolojik bulguları: Bu grupta bulunan 24 adet radius'un uzunluğunun 6.8-7.8 mm arasında değiştiği (ortalama 7.5±0.3 mm) tespit edildi. Radius'ların gövdelerinde kemikleşmenin tamamlandığı görüldü. Distal ucun mavi renge boyandığı ve kıkırdak yapıda olduğu görülürken, proksimal uçta mavi alan içerisinde kırmızı boya tutulumunun başladığı ve bu alanda ikincil kemikleşme merkezinin ortaya çıktığı tespit edildi (Şekil 4.29).



Şekil 4.29. 7 günlük yavru sıçan grubu radius ve ulna'sında görülen ikincil kemikleşme merkezinin görünümü.

7 günlük yavru grubuna ait ulna'arın morfolojik bulguları: Bu grupta bulunan 24 ulna'nın boyları 8.8-1 mm arasında değişmekle birlikte, ortalama 9.4±0.44 mm uzunlukta olduğu tespit edildi. Bu gruba ait ulna'larda 3 günlük yavru grubuna benzer özelliklerin olduğu görülürken, proksimal uçta mavi alan içerisinde kırmızı boya tutulumunun başladığı ve bu alanda ikincil kemikleşme merkezinin ortaya çıktığı dikkati çekmektedir (Şekil 4.29).

7 günlük yavru grubuna ait bilek kemiklerine (ossa carpi) ait morfolojik bulgular: Bu grupta bulunan karpal kemiklerin halen kıkırdak yapıda olduğu ve mavi renge boyandıkları görüldü (Şekil 4.30).



Şekil 4.30. 7 günlük yavru sıçan grubu el iskeletine ait kemiklerin görünümü.

7 günlük yavru grubunun tarak kemiklerine (ossa metacarpi) ait morfolojik bulgular: Bu grupta kemiklerden sadece birinci metacarp'ın mavi renkte olduğu ve kıkırdak özelliğini koruduğu görüldü. 2.-5. metacarp'ların gövdelerinde başlayan kemikleşmenin her iki uca kadar ulaştığı ve gövdedeki kemikleşmenin tamamlandığı görüldü. Metacarp'ların sadece caput ve basis'leri kıkırdak özelliğini korumaktadır (Şekil 4.30).

7 günlük yavru grubunun parmak kemiklerine (ossa digitorum phalanges) ait morfolojik bulgular: Doğumdan sonraki 7 günlük yavru grubunda tüm falankslarda kemikleşme görüldü. Daha önce kemikleşme belirtisi ortaya çıkan falankslarda kemikleşme alanlarının büyüdüğü ve en az kemikleşme alanının birinci parmağın proksimal falanksında olduğu görüldü (Şekil 4.30).

12 günlük yavru grubu: 12 günlük grupta toplam 12 adet yavru bulunmaktadır. Yavru sıçanların boyları 50-69.7 mm (ortalama 60.85±6.66 mm), ağırlıkları ise 9.13-20.34 gr (ortalama 14.39±3.56 gr)'dır.

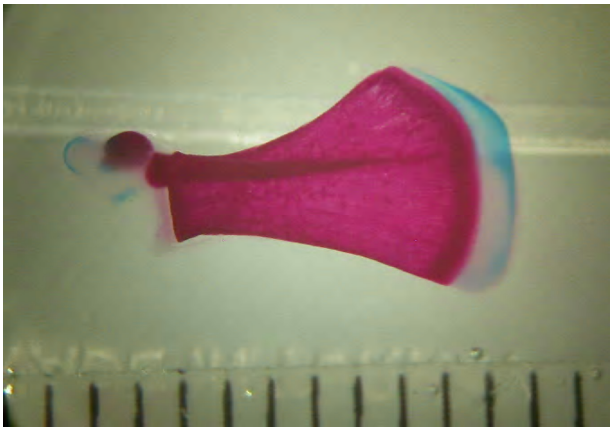
12 günlük yavru grubunun klavikulalarına ait morfolojik bulgular: Bu grupta bulunan 24 adet klavikulanın uzunğu 4.8-6.8 mm arasında değişmekte olup, ortalama 5.9±0.58 mm'dir. Bu gruba ait klavikulaların tamamen kırmızıya boyandığı ve kemikleşmenin tamamlandığı tespit edildi (Şekil 4.31).



Şekil 4.31. 12 günlük yavru sıçan grubu klavikulasına ait görünüm.

12 günlük yavru grubunun skapulalarına ait morfolojik bulguları: Bu grupta bulunan toplam 24 skapulanın uzunluğunun 7.5-10 mm arasında değişmekle birlikte, ortalama 9.2±0.87 mm uzunlukta olduğu tespit edildi.

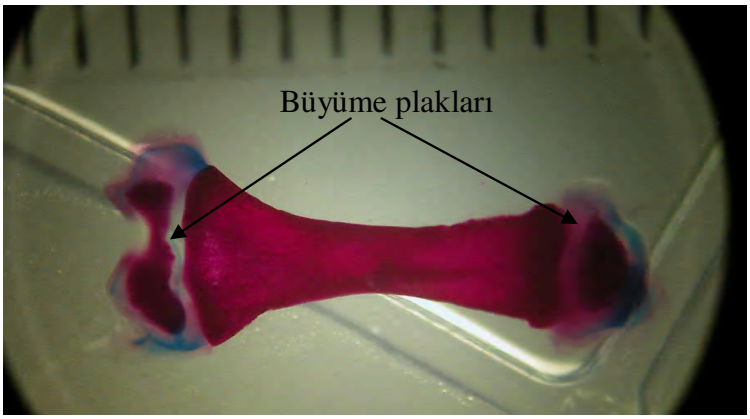
Bu gruba ait skapulalar incelendiğinde, kemiğin gövdesinde başlayan kemikleşmenin, cavitas glenoidalis, proc. hamate'ye ulaştığı ve margo dorsalis'e doğru genişlediği ve cartilago scapulae'nın iyice küçüldüğü görüldü. Proc. coracoideus'un uç kısmındaki ikincil kemikleşme merkezinin biraz daha büyüdüğü görüldü. Cartilago scapulae, proc. hamate, ve cavitas glenoidalis mavi renkle boyanmış olmasına rağmen boyanın akması sebebiyle beyaz renkle görünmekte olup bu alanların halen kıkırdak yapıda olduğu açıkca görülmektedir (Şekil 4.32).



Şekil 4.32. 12 günlük yavru sıçan grubu skapulasına ait görünüm.

12 günlük yavru sıçan grubunun humerus'larına ait morfolojik bulgular: Boyama işlemine tabi tutulan 12 yavruya ait toplam 24 humerus'un boyları 8.9-11.1 mm (ortalama 10.4±0.78 mm) olarak ölçüldü.

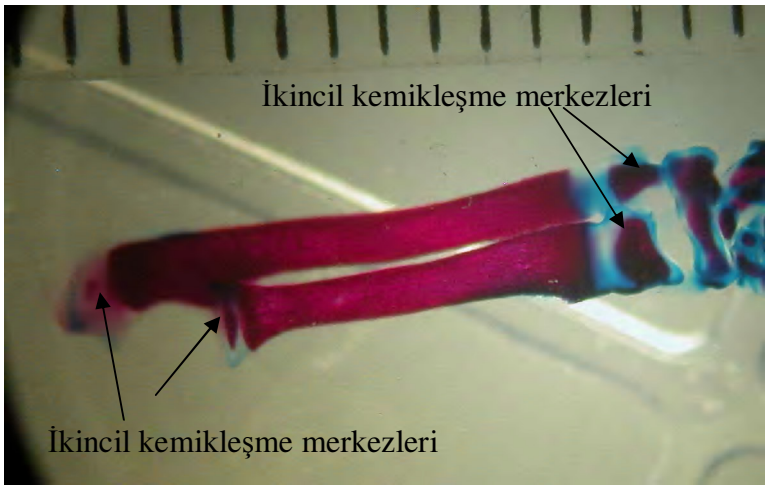
Humeruslarıs gövdelerindeki kemikleşmenin tamamlandığı ve kemiğin uçlarındaki ikincil kemikleşme merkezlerinin ise daha geniş alana yayıldığı ve bu yüzden kemiğin kırmızı renge boyandığı görüldü. Kemiğin metafiz ve epifizleri arasında bulunan metafiz kıkırdaklarının (büyüme plaklarının) varlığını devam ettirdiği net bir şekilde görülmektetir (Şekil 4.33).



Şekil 4.33. 12 günlük yavru sıçan grubu humerus'una ait görünüm.

12 günlük yavru grubunun radius'larına ait morfolojik bulgular: Bu grupta boyanan, 12 adet yavru sıçana ait toplam 24 radius üzerinde inceleme yapıldı. Bu radius'ların uzunlukları en küçük 8 mm ile en büyük 10 mm arasında değiştiği, ortalama 8.9±0.8 mm uzunlukta olduğu tespit edildi.

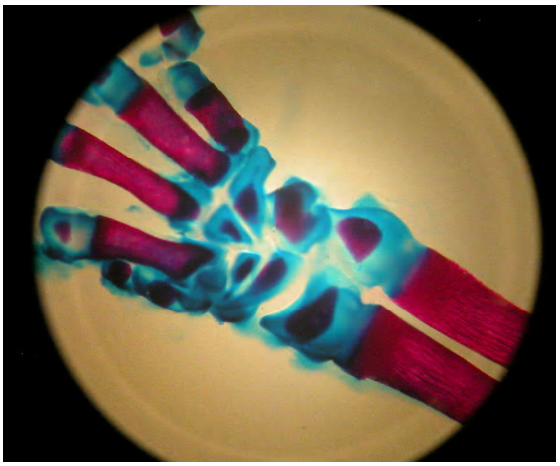
Bu gruba ait radius'larda, kemiğin gövdesinde kemikleşmenin tamamlandığı görüldü. Radiusların proksimal ve distal uçlarında ikincil kemikleşme merkezinin daha geniş alana yayıldığı tespit edildi. İkincil kemikleşme merkezinin dışında kalan alanlar mavi renkle boyanmış olup kıkırdak yapıdadır (Şekil 4.34).



Şekil 4.34. 12 günlük yavru sıçan grubu radius ve ulna'sına ait görünüm.

12 günlük yavru grubunun ulna'larına ait morfolojik bulgular: Bu grupta toplam 24 adet ulna üzerinde inceleme yapıldı. Bu kemiklerin uzunlukları 10.3-13.5 mm arasında (ortalama 12.10±1.2 mm) değişmektedir. 12 günlük ulnaların gövdelerinde kemikleşmenin tamamlandığı görülürken, extremitas proximalis ve distaliste ikincil kemikleşme merkezlerinin genişlediği ve bu alanlarda kırmızı boya tutulumunun başladığı görülmektedir (Şekil 4.34).

12 günlük yavru grubuna ait bilek kemiklerine (ossa carpi) ait morfolojik bulgular: Bu gruptaki bilek kemikleri incelendiğinde hepsinin ortasında kemikleşme merkezinin geliştiği ve kırmızı renge boyandığı görüldü. İncelemelerde kıkırdakla kemik alanların birbirine yakın bir yer işgal ettiği görüldü (Şekil 4.35).



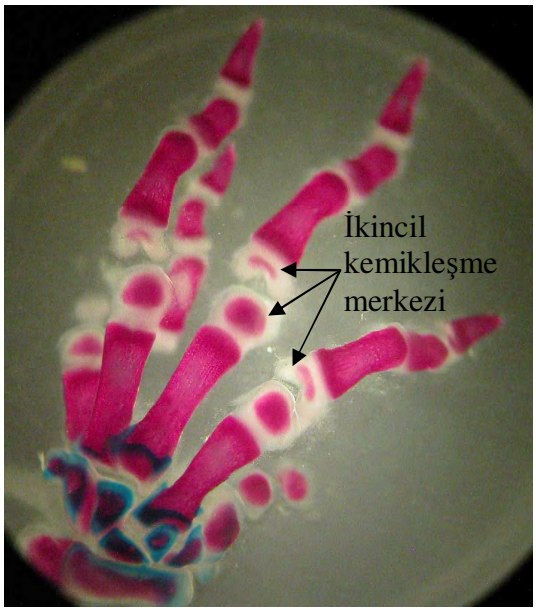
Şekil 4.35. 12 günlük yavru sıçan grubu el bileği kemiklerine ait görünüm.

12 günlük yavru grubunun tarak kemiklerine (ossa metacarpi) ait morfolojik bulgular: Bu grupta ki kemiklerden 1. metacarp'ın gövdesinde kemikleşme merkezinin oluştuğu ve kırmızı renge boyandığı görüldü. 2.-5. metacarp'ların gövdelerinde başlayan kemikleşmenin tamamlandığı ve basis metacarpalisin bir kısmını içine alacak şekilde genişlediği görüldü. Ayrıca bu gruba ait yavruların 2.-4. metacarp'ların distal ucunda (caput metacarpalis) ikincil kemikleşme merkezinin geliştiği görüldü (Şekil 4.36).



Şekil 4.36. 12 günlük yavru sıçan grubu tarak kemiklerine ait görünüm.

12 günlük yavru grubunun parmak kemiklerine (ossa digitorum phalanges) ait morfolojik bulgular: Bu gruba ait phalanx'lar incelendiğinde, 1. parmağa ait pahalanx proximalis'in gövdesinde ki kemikleşmenin daha geniş alana yayıldığı görüldü. 2.-5. parmaklara ait phalanx proximalis'lerin gövdelerinde başlayan kemikleşmenin tamamlandığı ve parmakların basisinde ikincil kemikleşme merkezinin ortaya çıktığı tespit edildi. Bu grupta ki phalanxların sadece ekleme katılan kısımlarında kıkırdak yapının varlığı görülmektedir (Şekil 4.37).



Şekil 4.37. 12 günlük yavru sıçan grubu el iskeletine ait görüntü.

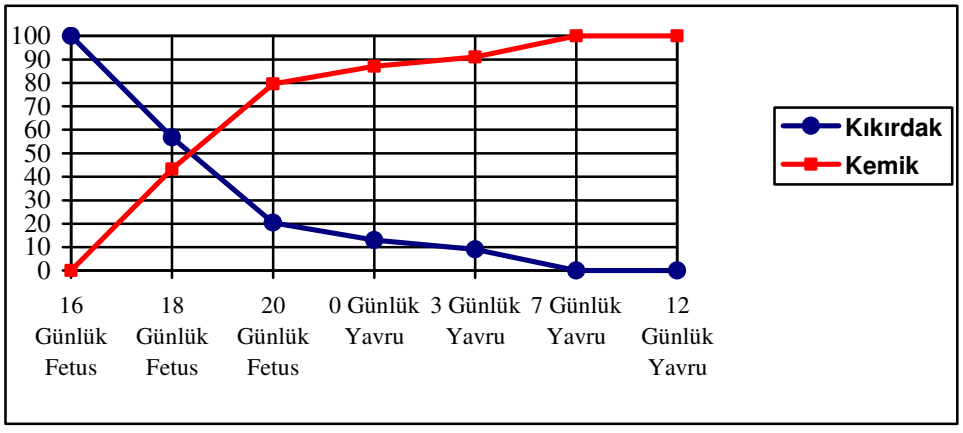
4.2. STEREOLOJİK BULGULAR

Yapmış olduğumuz çalışmada, fetus ve yavru gruplarına ait kemik ve kıkırdak alanlar ikili boyama yöntemi ile boyandıktan sonra fotoğrafları alındı. Elde edilen fotoğraflar, ImageJ programı ile açılarak, kemik ve kıkırdak alanların yüzey alan hesaplaması yapıldı. Hesaplamalar sonucunda elde edilen her bir kemiğe ait, kemik ve kıkırdak alanların gelişim seyirleri ve toplamda ne kadar bir alana sahip oldukları yüzdesel olarak aşağıdaki tablolorda ve grafiklerde gösterilmiştir.

Klavikulaya ait stereolojik bulgular: Yaptığımız incelemede 16 günlük fetus gruplarına ait klavikulalarda herhangi bir kemikleşme belirtisi görülmedi (Şekil 4.2). 18 günlük fetus grubuna ait klavikulalarda kemikleşmenin başlamış olduğu ve %43'lere ulaştığı görüldü. 20 günlük fetusların klavikula'larında ise kemikleşmenin oldukça ilerlediğini ve yaklaşık %80'lik bir düzeye ulaştığı görüldü. 7 ve 12 günlük yavru gruplarına ait klavikulaların %100'ü kemik olarak hesaplandı. Kemikleşmenin seyri tablo Tablo 4.3' de ve Şekil 4.2.1' de görülmektedir.

Tablo 4.3 Fetus ve yavru sıçan klavikulası'na ait kemik kıkırdak yüzdeleri.

Klavikula'ya ait kemik ve kıkırdak yüzdeleri (%)						
	sağ ekstremite		sol ekstremite		ortalama	
	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak
16 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
18 günlük fetus grubu	42.61	57.39	43.99	56.07	43.29	56.71
20 günlük fetus grubu	79.61	20.39	79.59	20.41	79.60	20.40
0. gün yavru grubu	86.32	13.68	87.91	12.09	87.11	12.89
3 günlük yavru grubu	90.25	9.75	91.79	8.21	91.02	8.98
7 günlük yavru grubu	100	0	100	0	100	0
12 günlük yavru grubu	100	0	100	0	100	0



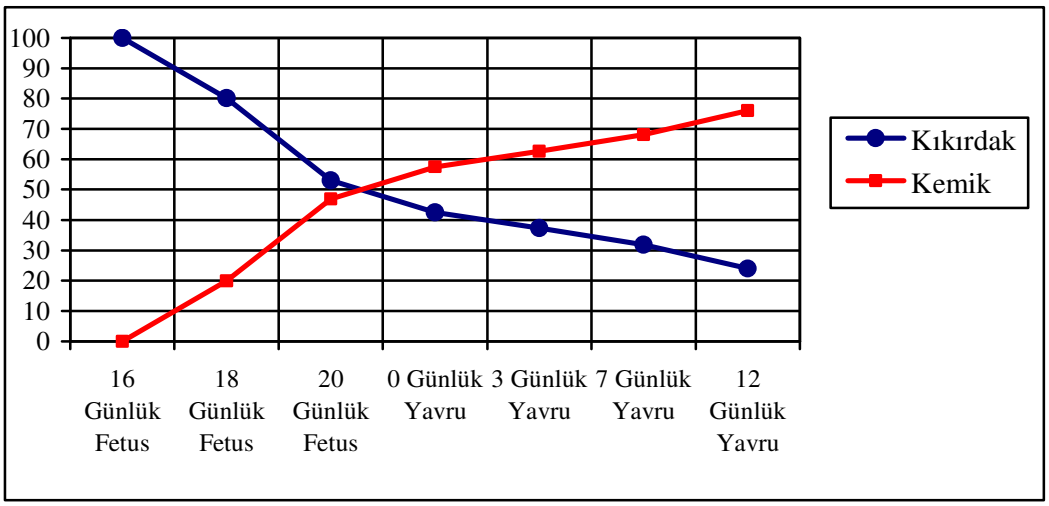
Şekil 4.38. Fetus ve yavru sıçan klavikulasına ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği.

Skapulaya ait istatistiksel bulgular: Çalışmamızda 16 günlük fetus grubuna ait skapula'larda herhangi bir kemikleşme belirtisi görülmedi. 18 günlük fetus grubunda ise spina scapulae'nın başlangıç yerinde primer kemikleşme merkezi ortaya çıktı. İkinci kemikleşme merkezi ise 0. gün yavrularında processus coracoideus'un uç kısmına yakın, kıkırdak alan içerisinde ortaya çıktı. Kemikleşme alanı hızla büyüyerek 12 günlük yavru grubunda %75'e ulaştı.

Skapulaya ait kemikleşme seyri aşağıda ki Tablo 4.4 ve Şekil 4.39'da görülmektedir.

Tablo 4.4. Fetus ve yavru sıçan skapulası'na ait kemik kıkırdak yüzdeleri.

Skapula'ya ait kemik ve kıkırdak yüzdeleri (%)						
	sağ ekstremite		sol ekstremite		ortalama	
	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak
16 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
18 günlük fetus grubu	19.46	80.54	20.38	79.62	19.92	80.08
20 günlük fetus grubu	47.11	52.89	46.80	53.20	46.96	53.05
0. gün yavru grubu	58.07	41.93	57.04	42.96	57.56	42.45
3 günlük yavru grubu	63.33	36.67	62.11	37.89	62.72	37.28
7 günlük yavru grubu	67.85	32.15	68.34	31.66	68.10	31.91
12 günlük yavru grubu	75.47	24.53	76.57	23.43	76.02	23.98



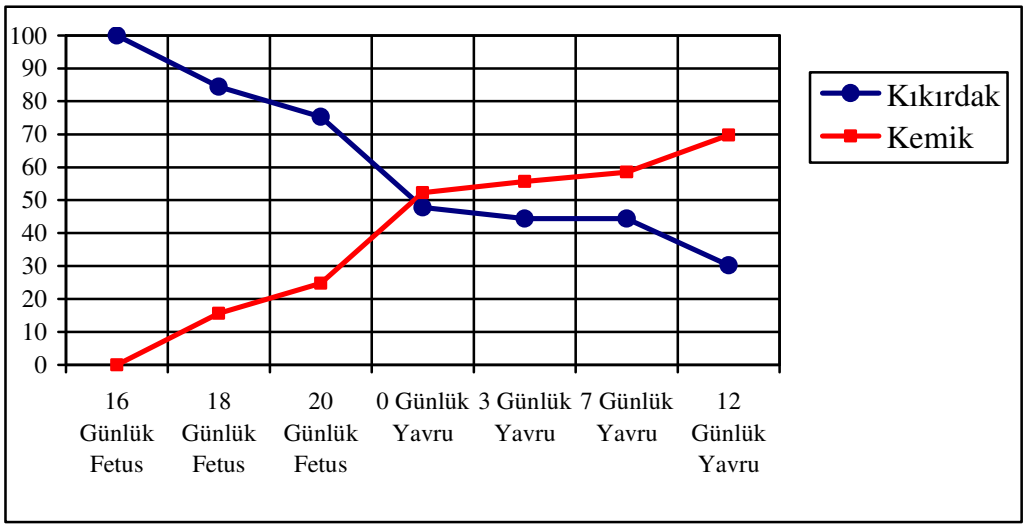
Şekil 4.39. Fetus ve yavru sıçan skapulası'na ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği.

Humerus'a ait istatistiksel bulgular: Çalışmamızda incelediğimiz humerus'larda ilk kemikleşme merkezi 18 günlük fetus grubunda ortaya çıktığı görüldü. İkinci kemikleşme merkezi ise 0. gün yavru gruplarına ait humerusların kıkırdak özellikte olan proksimal ve distal uclarının ortasında görüldü. Humerusta kemikleşme alanı tedrici olarak artmakta ve 12 günlük yavru grubunda %70'e ulaştığı görülmektedir.

Humerusa ait kemikleşme seyri aşağıda ki Tablo 4.5. ve Şekil 4.40'da sırasıyla gösterilmektedir.

Tablo 4.5. Fetus ve yavru sıçan humerus'una ait kemik kıkırdak yüzdeleri

Humerus'a ait kemik ve kıkırdak yüzdeleri (%)						
	sağ ekstremite		sol ekstremite		ortalama	
	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak
16 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
18 günlük fetus grubu	15.28	84.72	15.89	84.11	15.58	84.42
20 günlük fetus grubu	25.15	74.85	24.32	75.68	24.73	75.27
0. gün yavru grubu	52.46	47.54	52.02	47.98	52.24	47.76
3 günlük yavru grubu	54.35	45.65	56.94	43.06	55.64	44.36
7 günlük yavru grubu	58.67	41.33	58.36	41.64	58.51	41.49
12 günlük yavru grubu	70.40	29.60	69.08	30.92	69.74	30.26



Şekil 4.40. Fetus ve yavru sıçan humerus'una ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği.

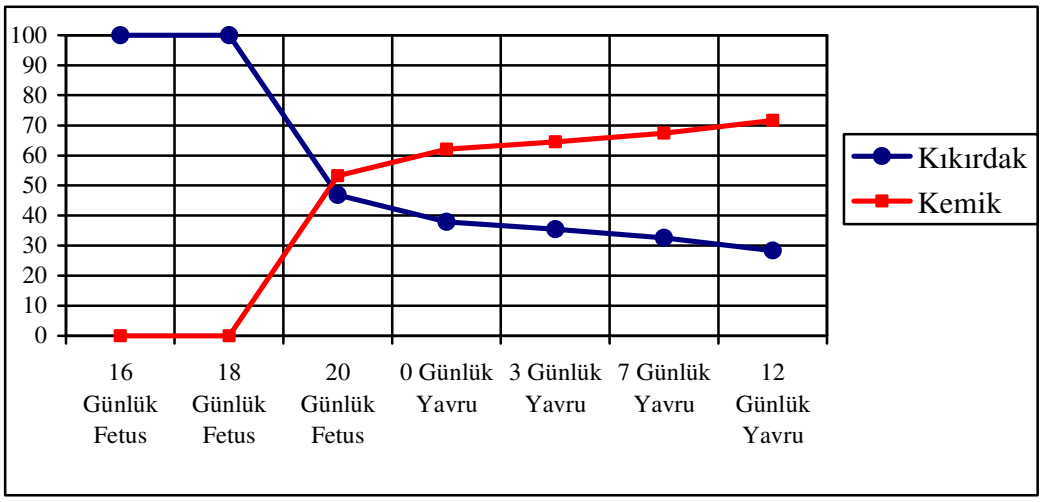
Radius'a ait istatistiksel bulgular

Radius'larda ilk kemikleşme merkezi 20 günlük fetus grubunda, ikincil kemikleşme merkezi ise 7 günlük yavru grubunda ortaya çıktığı görüldü. Kemikleşme alanı 0. gün yavrularında % 62'ye ulaşırken doğumdan sonra ki dönemde çok hızlı bir gelişim göstermemiş olup, kemikleşmenin doğumdan sonraki 12. günde ancak %72'ye kadar ulaştığı görüldü.

Radiusun kemikleşme seyri aşağıda ki tablo ve grafikte sırasıyla görülmektedir.

Tablo 4.6. Fetus ve yavru sıçan radius'una ait kemik kıkırdak yüzdeleri.

Radius'a ait kemik ve kıkırdak yüzdeleri (%)						
	sağ ekstremite		sol ekstremite		ortalama	
	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak
16 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
18 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
20 günlük fetus grubu	53.28	46.72	53.10	46.90	53.19	46.81
0. gün yavru grubu	62.88	37.12	61.28	38.72	62.08	37.92
3 günlük yavru grubu	64.57	35.43	64.47	35.53	64.52	35.48
7 günlük yavru grubu	67.79	32.21	67.07	32.93	67.43	32.57
12 günlük yavru grubu	71.46	28.54	71.89	28.11	71.67	28.33

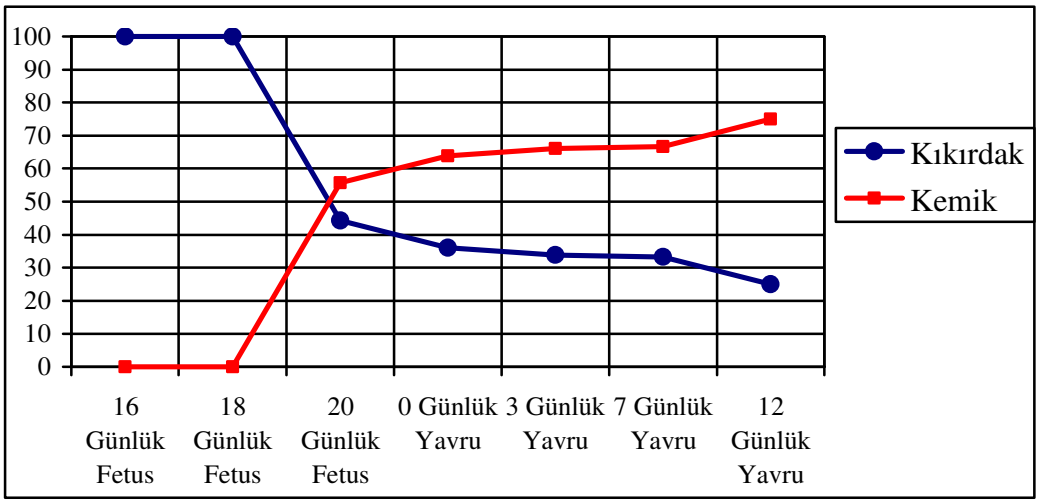


Şekil 4.41. Fetus ve yavru sıçan radius'una ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği.

Ulna'ya ait istatistiksel bulgular: Ulna'larda 16 günlük fetus grubunda kemikleşmenin henüz başlamadığı, 18. günde kemikleşme odaklarının görülmeye başladığı ve 20. günden itibaren ilk kemikleşmenin ortaya çıktığı, 0. gün itibariyle ise kemikleşme alanının %64'e ulaştığı tespit edildi. Bundan sonra kemikleşme hızı yavaşlamakla birlikte, 12 günlük yavru grubunda ki ulnalarda ikincil kemikleşme merkezinin oluştuğu ve kemikleşmenin 12. günde %73'e kadar ulaştığı aşağıda ki tablo ve grafikte sırasıyla görülmektedir.

Tablo 4.7. Fetus ve yavru sıçan ulna'sına ait kemik kıkırdak yüzdeleri.

Ulna'ya ait kemik ve kıkırdak yüzdeleri (%)						
	sağ ekstremite		sol ekstremite		ortalama	
	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak
16 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
18 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
20 günlük fetus grubu	55.01	44.99	56.45	43.55	55.73	44.27
0. gün yavru grubu	64.61	35.39	63.22	36.78	63.91	36.09
3 günlük yavru grubu	65.81	34.19	66.48	33.52	66.14	33.86
7 günlük yavru grubu	66.26	33.74	67.07	32.93	66.66	33.34
12 günlük yavru grubu	75.12	24.88	74.90	25.10	75.01	24.99



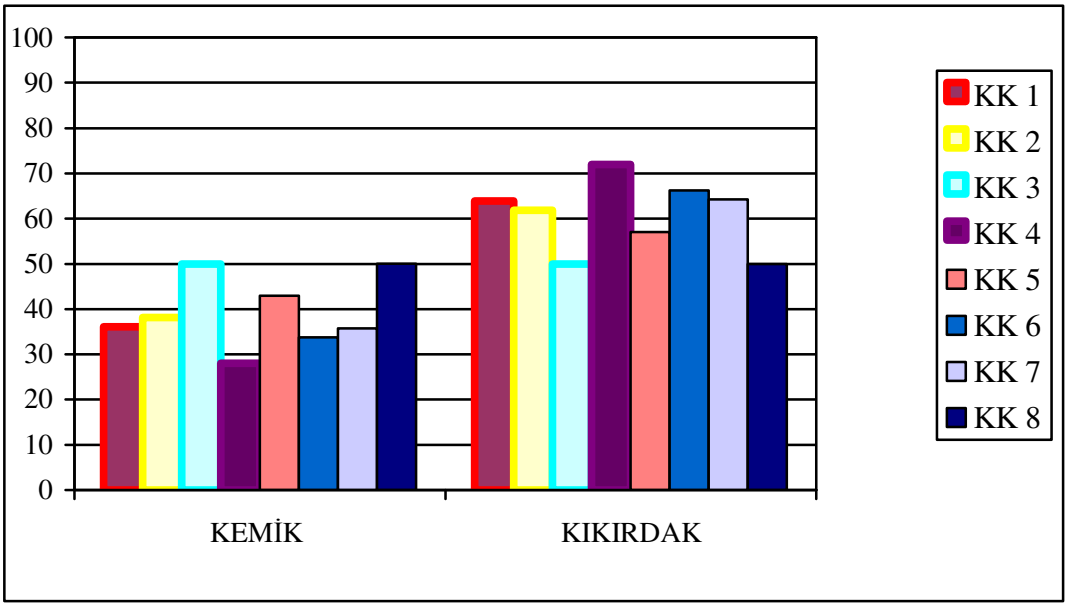
Şekil 4.42. Fetus ve yavru sıçan radius'una ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği.

Bilek kemiklerine ait istatistiki bulgular

Çalışmamızda ön extremite bilek kemiklerinde doğumdan sonraki 7. güne kadar herhangi bir kemikleşme alanının ortya çıkmadığı görüldü. 12. günde yapılan incelemede ise kemikleşmenin bazı kemiklerde %51'e kadar ulaştığı görüldü. 12 günlük yavru grubuna ait karpal kemiklerin gelişim oranları Tablo 5.6'da verilmiştir.

Tablo 4.8. 12 günlük yavru grubuna ait carpal kemiklerin yüzdesel gelişim oranları.

12 günlük yavru grubunun bilek kemiklerine ait kemik ve kıkırdak yüzdeleri						
	sağ ekstremite		sol ekstremite		ortalama	
	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak
Carpal 1	36.50	63.50	35.69	64.31	36.10	63.90
Carpal 2	38.64	61.36	37.61	62.39	38.12	61.88
Carpal 3	56.48	43.52	57.52	42.48	50	50
Carpal 4	28.61	71.39	27.45	72.55	28.03	71.97
Carpal 5	42.51	57.49	43.41	56.59	42.96	57.04
Carpal 6	34.46	65.54	33.04	66.96	33.75	66.25
Carpal 7	35.75	64.25	35.78	64.22	35.76	64.24
Carpal 8	49.84	50.16	50.30	49.70	50.07	49.93



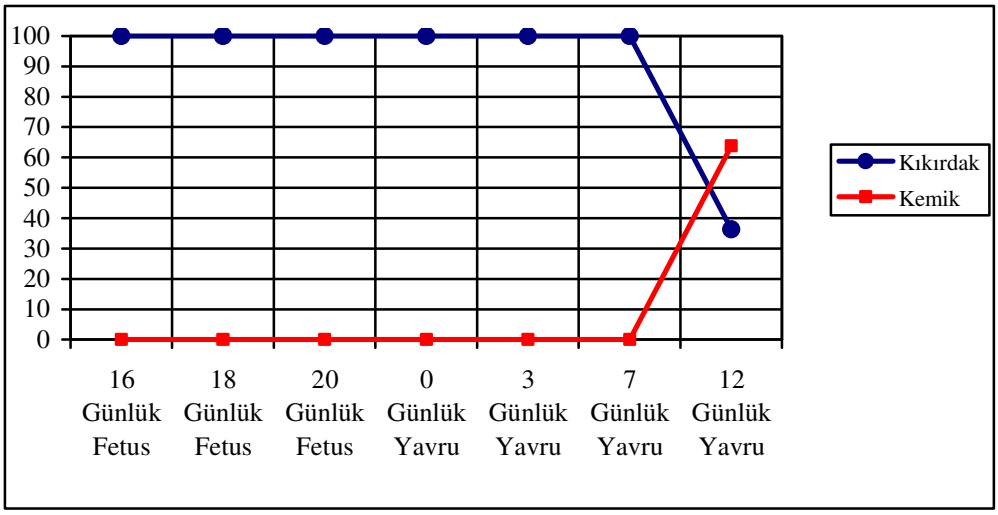
Şekil 4.43.12 günlük yavru grubu bilek kemiklerine (Karpal kemikler (KK)) ait kemik kıkırdak yüzdeliğinin grafiği.

Tarak kemiklerine ait istatiksel bulgular

I. Metacarp: Yaptığımız çalışmada 1. metacarp'larda doğumdan sonraki 7. güne kadar her hangi bir kemikleşme belirtisi ortaya çıkmadı. Ancak 12. günde yaptığımız incelemede ise kemikleşme alanının %38'ya ulaştığı aşağıda ki tablo ve grafikte sırasıyla görülmektedir.

Tablo 4.9. Fetus ve yavru sıçanın 1. metacarp'ına ait kemik kıkırdak yüzdeleri.

1. metacarpa ait kemik ve kıkırdak yüzdeleri (%)						
	sağ ekstremite		sol ekstremite		ortalama	
	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak
16 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
18 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
20 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
0. gün yavru grubu	0	100	0	100	0	100
3 günlük yavru grubu	0	100	0	100	0	100
7 günlük yavru grubu	0	100	0	100	0	100
12 günlük yavru grubu	36.51	63.49	35.94	64.06	36.23	63.78

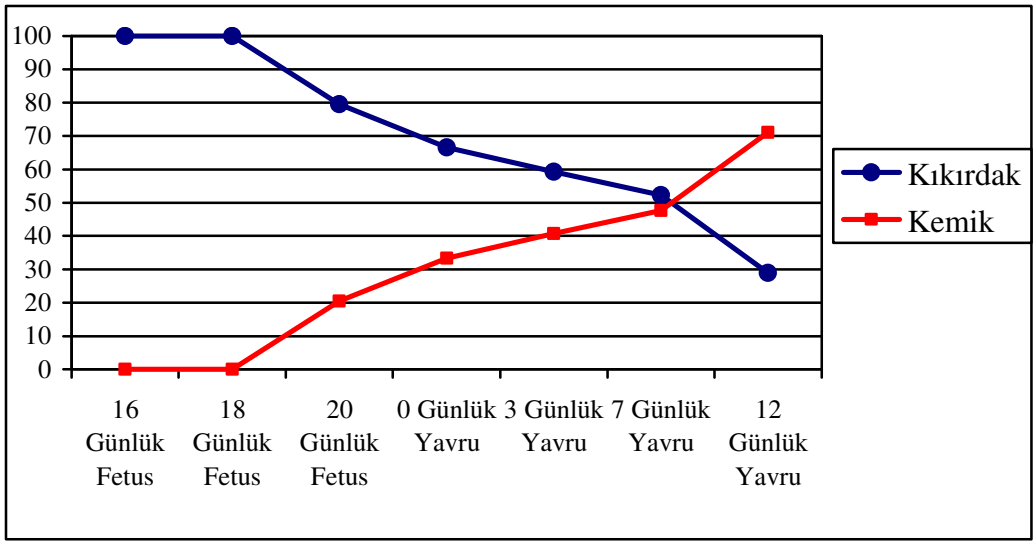


Şekil 4.44. Fetus ve yavru sıçanın 1. metacarp'a ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği.

II. Metacarp: Yaptığımız hesaplama ve inceleme sonucunda 2. tarak kemiğine ait ilk kemikleşme merkezinin 20 günlük fetus grubunda ortaya çıktığı görüldü. İkincil kemikleşme merkezi 12. gün ortaya çıkmış olup, kemikleşme alanı 12 günlük yavru grubunda %71'e kadar ulaştığı ulaştığı tespit edildi. Kemikleşmenin seyri Tablo 4.11 ve Şekil 4.45'de görülmektedir.

Tablo 4.10. Fetus ve yavru sıçanın 2. metacarp'ına ait kemik kıkırdak yüzdeleri.

2. metacarp'a ait kemik ve kıkırdak yüzdeleri (%)						
	sağ ekstremite		sol ekstremite		ortalama	
	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak
16 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
18 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
20 günlük fetus grubu	20.92	79.08	20.08	79.92	20.50	79.50
0. gün yavru grubu	33.16	66.84	33.61	66.39	33.39	66.61
3 günlük yavru grubu	41.64	58.36	39.84	60.16	40.74	59.26
7 günlük yavru grubu	47.74	52.26	47.60	52.40	47.67	52.33
12 günlük yavru grubu	71.12	28.88	70.96	29.04	71.04	28.96

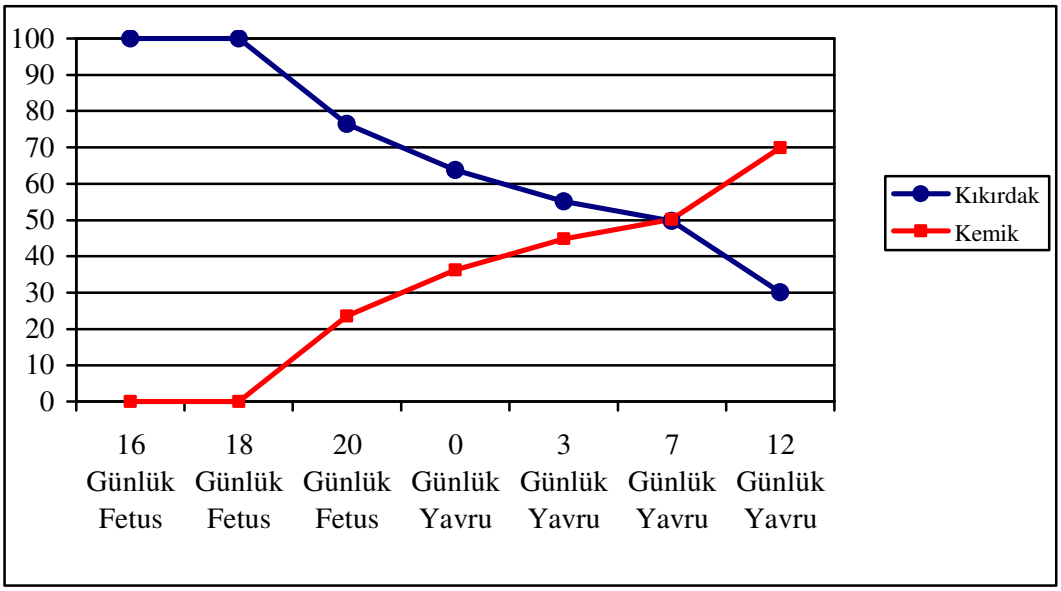


Şekil 4.45. Fetus ve yavru sıçanın 2. metacarp'a ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği.

III. metacarp: Yaptığımız incelemede kemikleşmenin 20 günlük fetus grubunda başladığı ve 7 günlük yavru grubunda %50'lere, 12 günlük yavru grubunda ancak %70'lere ulaştığı tespit edildi. İkincil kemikleşme merkezi 12. gün ortaya çıkmış olup, kemik kıkırdak oranı Tablo 4.11 ve Şekil 4.46'da gösterilmiştir.

Tablo 4.11. Fetus ve yavru sıçanın 3. metacarp'ına ait kemik kıkırdak yüzdeleri.

3.metacarp'a ait kemik ve kıkırdak yüzdeleri (%)						
	sağ ekstremite		sol ekstremite		ortalama	
	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak
16 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
18 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
20 günlük fetus grubu	24.12	75.88	23.11	76.89	23.61	76.39
0. gün yavru grubu	36.04	63.96	36.40	63.60	36.22	63.78
3 günlük yavru grubu	45.04	54.96	44.67	55.33	44.84	55.15
7 günlük yavru grubu	50.97	49.03	49.49	50.51	50.23	49.77
12 günlük yavru grubu	69.27	30.73	70.62	29.38	69.94	30.06

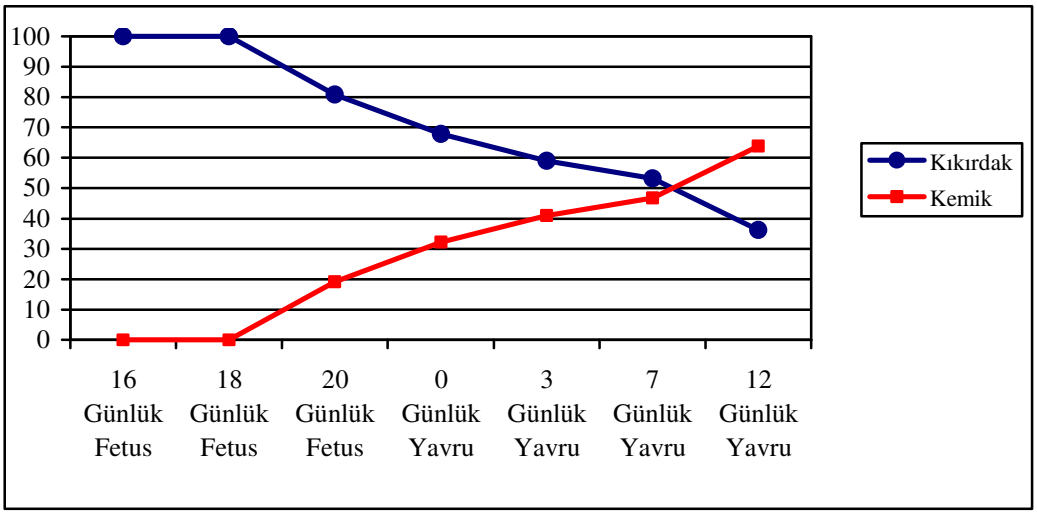


Şekil 4.46. Fetus ve yavru sıçanın 3. metacarp'ına ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği.

IV. metacarp: Dördüncü metacarp'te ilk kemikleşme 20 günlük yavru grubunda, ikincil kemikleşme merkezi ise 12 günlük yavru grubunda görüldü. Bu kemikte kemikleşme oranı 12 günlük yavru grubunda %65'i bulmaktadır. Kemikleşme seyiri Tablo 4.12 ve Şekil 4.47 'da görülmektedir.

Tablo 4.12. Fetus ve yavru sıçanın 4. metacarp'ına ait kemik kıkırdak yüzdeleri.

4.metacarp'a ait kemik ve kıkırdak yüzdeleri (%)						
	sağ ekstremite		sol ekstremite		ortalama	
	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak
16 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
18 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
20 günlük fetus grubu	19.48	80.52	18.82	81.18	19.15	80.85
0. gün yavru grubu	31.40	68.60	32.99	67.01	32.20	67.80
3 günlük yavru grubu	41.14	58.86	40.95	59.05	41.04	58.96
7 günlük yavru grubu	46.51	53.49	47.12	52.88	46.81	53.19
12 günlük yavru grubu	63.29	36.71	64.32	35.67	63.81	36.19

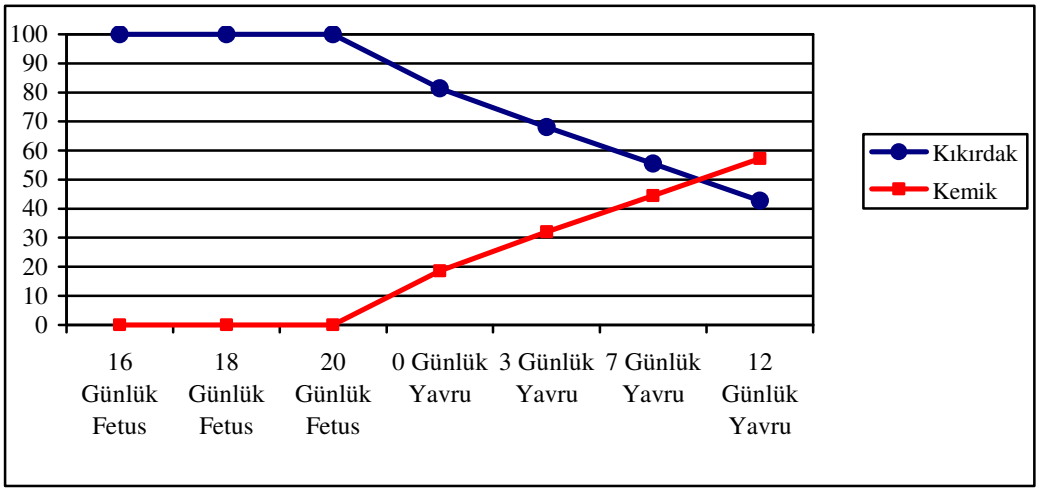


Şekil. 4.47. Fetus ve yavru sıçanın 2. metacarp'ına ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği.

V. metacarp: Yaptığımız çalışmada V. metacarp'a ait ilk kemikleşme alanı 0. günde görülmektedir. Doğum öncesi dönemde herhangi bir kemikleşme belirtisi görülmedi. 0. gün yavrularında kemikleşmenin ortalama %18'lerde olduğu daha sonra ki günlerde kemikleşmenin devam etmesiyle birlikte, 12 günlük yavru grubunda kemikleşme alanının %57'ye kadar ulaştığı aşağıda ki tablo ve grafikte sırasıyla görülmektedir.

Tablo 4.13. Fetus ve yavru sıçanın 5. metacarp'ına ait kemik kıkırdak yüzdeleri.

5. metacarp'a ait kemik ve kıkırdak yüzdeleri (%)						
	sağ ekstremite		sol ekstremite		ortalama	
	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak
16 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
18 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
20 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
0. gün yavru grubu	18.80	81.20	18.30	81.70	18.55	81.45
3 günlük yavru grubu	32.18	67.82	31.80	68.20	31.99	68.01
7 günlük yavru grubu	44.15	55.85	44.92	55.08	44.53	55.47
12 günlük yavru grubu	56.77	43.23	57.82	42.18	57.30	42.70



Şekil 4.48. Fetus ve yavru sıçanın 5. metacarp'ına ait kemik kıkırdak yüzdelerinin oranı.

Parmak kemiklerine ait istatistiksel bulgular: Fetal hayatın 18. gününe kadar geçen süre içerisinde hiçbir falanksta kemikleşme belirtisi görülmedi. İlk kemikleşme görüntüleri fetal hayatın 20. gününde görülmeye başladı. İlk kemikleşme belirtileri 2. ve 3. parmağın phalanx distalis'inde ortaya çıktı. Ancak burada ortaya çıkan kırmızı alanlar falanksın kendisnde değilde falanksın ucunda bulunan tırnakların geliştiği bölgelerde ortaya çıktı. 0. gün grubunda ise 2-5. parmakların hem distal ve hemde proksimal falankslarında kemikleşme merkezlerinin ortaya çıktığı görüldü. Ancak birinci parmağa ait hiçbir falanksta kemikleşme belirtisi görülmedi.

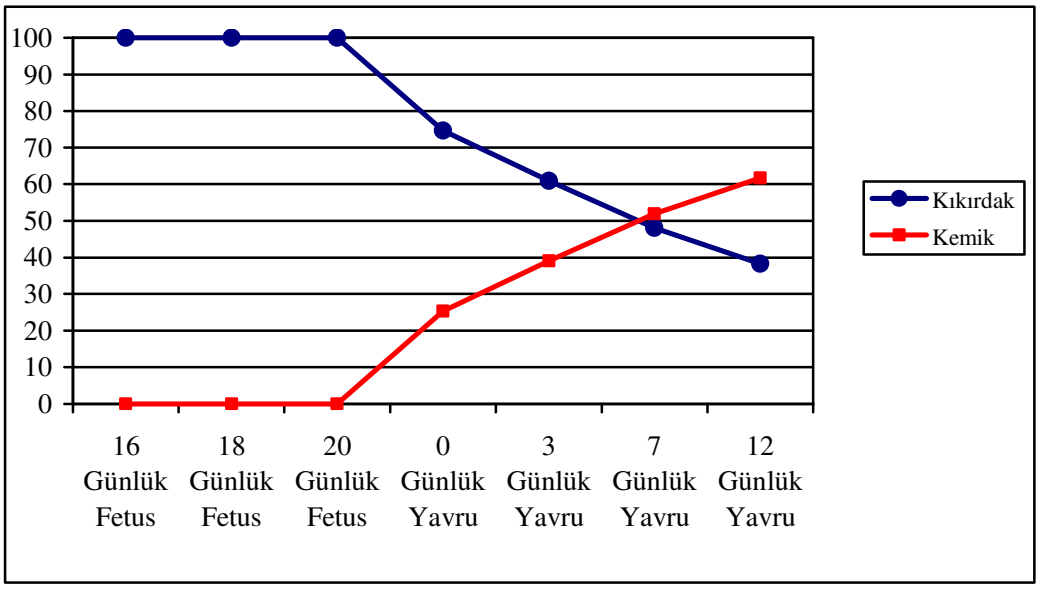
Doğumdan sonraki 3 günlük yavru grubunda 2-5. parmaklara ait tüm falankslarda kemikleşme merkezleri görülürken, birinci parmağın phalanx distalis'inde ilk kemikleşme merkezi ortaya çıktı.

Doğumdan sonraki 7 günlük yavru grubunda tüm parmaklarda, kemikleşme görüldü. Önce kemikleşme belirtisi ortaya çıkan falankslarda kemikleşme alanlarının büyüdüğü ve en az kemikleşme alanının birinci parmağın phalanx proximalis'inde olduğu görüldü. Doğumdan sonraki 12 günlük yavru grubunda, 1. parmağa ait phalanx proximalis'in gövdesinde ki kemikleşmenin daha geniş alana yayıldığı görüldü. 2.-5. parmaklara ait phalanx proximalis'lerin gövdelerinde başlayan kemikleşmenin tamamlandığı ve parmakların bazisinde ikincil kemikleşme merkezinin ortaya çıktığı tespit edildi.

Orta ve distal falankslardaki mavi boya tutulumunun az olması ve çoğu yerde mavi boyanın akması sonucu kırmızı ve mavi alanın ayrımının tam olarak yapılamaması sebebiyle parmaklara ait stereolojik hesaplamalar sadece 2-5. parmağa ait phalanx proximalis'lerde yapıldı. Phalanx proximalis'lere ait veriler aşağıda ki tablo ve grafiklerde sırasıyla görülmektedir.

Tablo 4.14. Fetus ve yavru sıçanın ikinci parmağın proksimal falanksına ait kemik kıkırdak yüzdeleri.

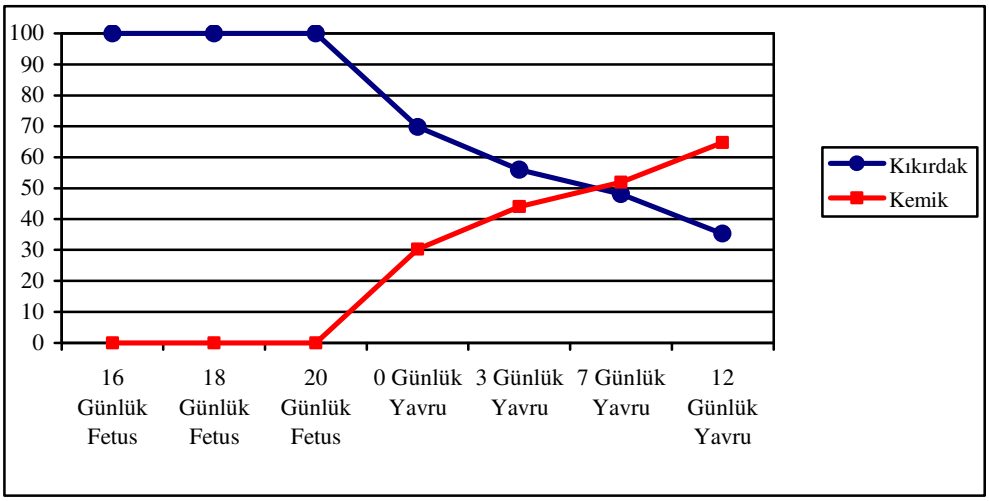
İkinci parmağın proksimal falanksının kemik ve kıkırdak yüzdeleri (%)						
	sağ ekstremite		sol ekstremite		ortalama	
	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak
16 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
18 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
20 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
0. gün yavru grubu	25.37	74.63	25.29	74.71	25.33	74.67
3 günlük yavru grubu	38.81	61.19	39.43	60.57	39.12	60.88
7 günlük yavru grubu	51.38	48.62	52.48	47.52	51.93	48.07
12 günlük yavru grubu	62.35	37.65	61.11	38.89	61.73	38.27



Şekil 4.49. Fetus ve yavru sıçanın ikinci parmağın proksimal falanksına ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği.

Tablo 4.15. Fetus ve yavru sıçanın üçüncü parmağın proksimal falanksına ait kemik kıkırdak yüzdeleri.

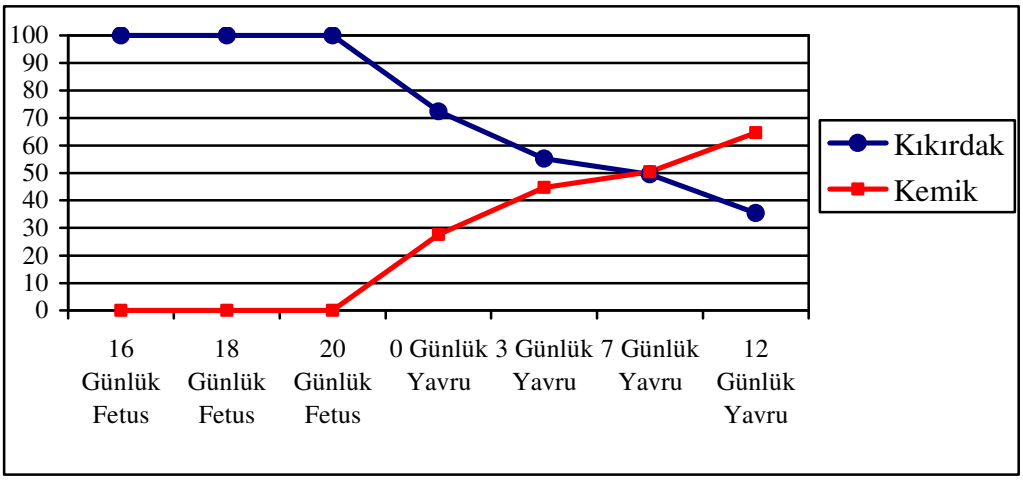
Üçüncü parmağın proksimal falanksının kemik ve kıkırdak yüzdeleri (%)						
	sağ ekstremite		sol ekstremite		ortalama	
	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak
16 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
18 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
20 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
0. gün yavru grubu	30.14	69.86	30.40	69.60	30.27	69.73
3 günlük yavru grubu	44.04	55.96	44.01	55.99	44.02	55.98
7 günlük yavru grubu	51.05	48.95	52.82	47.18	51.93	48.07
12 günlük yavru grubu	64.90	35.10	64.59	35.41	64.74	35.26



Şekil 4.50. Fetus ve yavru sıçanın üçüncü parmağın proksimal falanksına ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği.

Tablo 4.16. Fetus ve yavru sıçanın dördüncü parmağın proksimal falanksına ait kemik kıkırdak yüzdeleri.

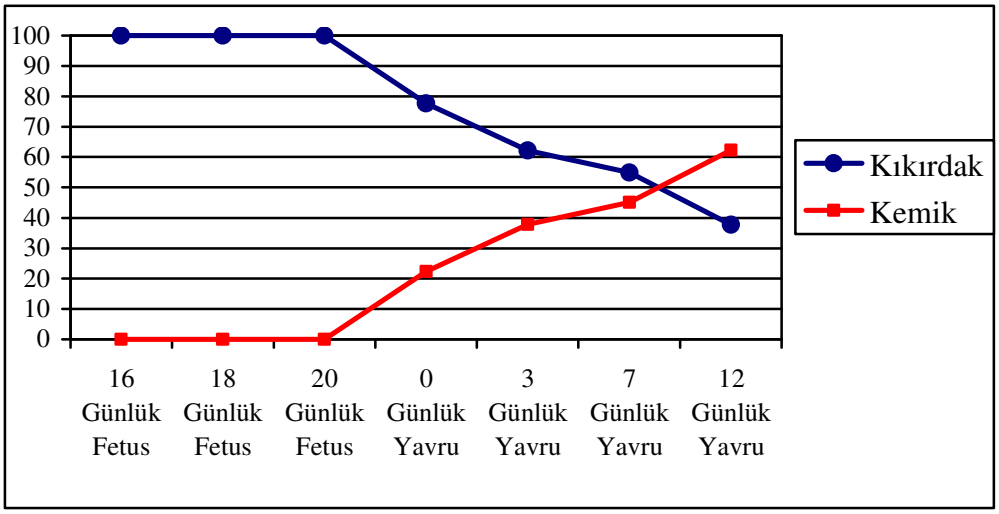
Dördüncü parmağın proksimal falanksının kemik ve kıkırdak yüzdeleri (%)						
	sağ ekstremite		sol ekstremite		ortalama	
	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak
16 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
18 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
20 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
0. gün yavru grubu	27.79	72.21	27.40	72.60	27.60	72.40
3 günlük yavru grubu	44.56	55.44	45.01	54.99	44.79	55.21
7 günlük yavru grubu	48.94	51.06	50.07	49.93	49.50	50.50
12 günlük yavru grubu	65.04	34.96	64.25	35.75	64.64	35.36



Şekil 4.51. Fetus ve yavru sıçanın dördüncü parmağının proksimal falanksına ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği.

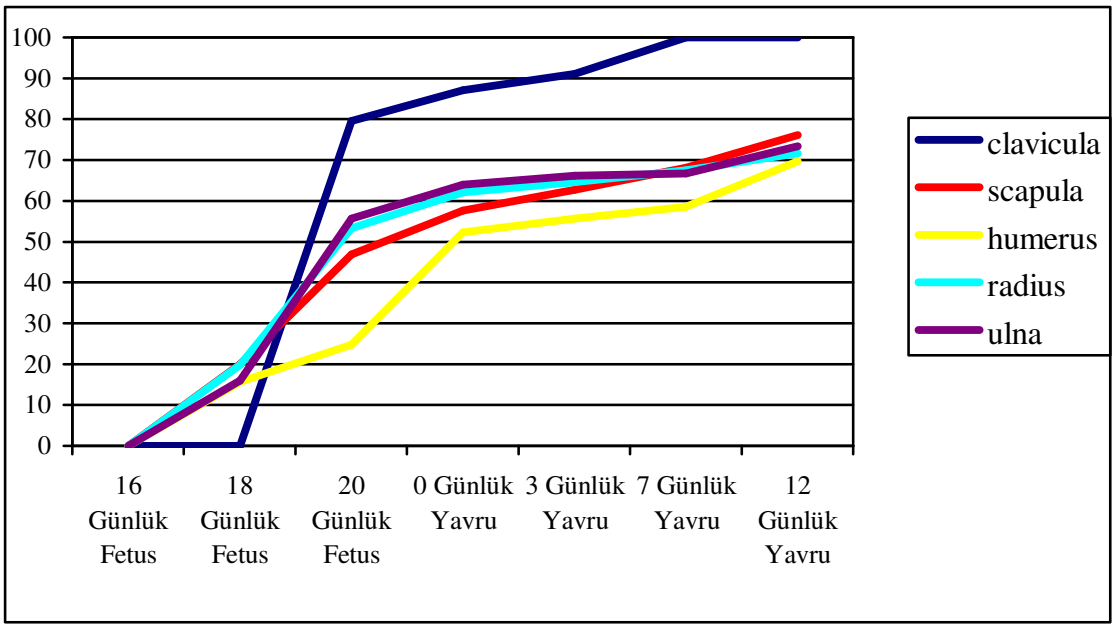
Tablo 4.17. Fetus ve yavru sıçanın beşinci parmağının proksimal falanksına ait kemik kıkırdak yüzdeleri.

Beşinci parmağın proksimal falanksının kemik ve kıkırdak yüzdeleri (%)						
	sağ ekstremite		sol ekstremite		ortalama	
	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak	kemik	kıkırdak
16 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
18 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
20 günlük fetus grubu	0	100	0	100	0	100
0. gün yavru grubu	23.77	76.23	20.88	79.12	22.32	77.68
3 günlük yavru grubu	38.32	61.68	37.46	62.54	37.89	62.11
7 günlük yavru grubu	43.30	56.70	46.86	53.14	45.08	54.92
12 günlük yavru grubu	62.90	37.10	61.70	38.30	62.30	37.70



Şekil 4.52. Fetus ve yavru sıçanın beşinci parmağının proksimal falanksına ait kemik kıkırdak yüzdelerinin grafiği.

Çalışmamız sonunda fetus ve yavru sıçanın ön ekstremitesine ait kemikleşme oranı yüzdelik olarak aşağıda ki grafikte gösterilmiştir.



Şekil 4.53. Fetus ve yavru sıçanların ön ekstremitesine ait 5 kemiğin kemikleşme oranı yüzdelik grafiği.

Çalışmamızda clavicula, scapula, humerus, radius ve ulnaya ait primer kemikleşme merkezlerinin uzunluklarıda ölçülmüş olup bu değerler aşağıda ki tabloda gösterilmiştir**.**

Tablo 4.18. Ön ekstremiteye ait bazı kemiklerin primer kemikleşme merkezi uzunlukları.

Primer Kemikleşme Merkezi Uzunlukları(mm)					
	clavicula	**scapula**	**humerus**	**radius**	**ulna**
16 günlük fetus					
18 günlük fetus	1±0.03	0.6±0.01	0.7±0.018		
20 günlük fetus	2.6±0.02	2.4±0.018	2.7±0.018	2.2±0.006	2.8±0.022
doğum günü yavru grubu	4.1±0.03	3.3±0.025	4±0.038	3.4±0.023	4.2±0.033
3 günlük yavru		4±0.038	4.6±0.05	4.1±0.037	5.2±0.038
7 günlük yavru		5.1±0.03	5.9±0.04	5.6±0.054	6.7±0.04
12 günlük yavru		5.7±0.073	6.8±0.07	6.6±0.065	8.7±0.124

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Fetal iskelet, embriyonik ve fetal gelişim esnasında embriyoyu veya fetusu etkileyen her türlü değişiklikleri yansıtması açısından önem taşımaktadır. Fetal iskelet üzerinde ki değişimler ya embriyonik ve fetal gelişimin sonunda meydana gelen normal gelişime bağlı değişimlerdir ya da herhangi bir dış etkene maruz kalan fetusun iskeletinde meydana gelen değişimlerdir. Gebelik esnasında fetal iskeleti etkileyen birçok neden vardır. Bunlar; genetik yapı, kullanılan ilaçlar, bakteriler, viral hastalıklar, hormonlar, besin maddeleri, radyasyon, vitaminler, vb. nedenlerdir (7,9).

Fetal dönemde teratojenik ajanlara maruz kalınması sonucu doğumdan sonra ortaya çıkan yapısal bozukluklara konjenital malformasyon denir. Konjenital malformasyonun en büyük nedeni de genetik faktörler ve teratolojik ajanlardır. Konjenital malformasyonlar normal hayatı olumsuz yönde etkileyecek sekellere neden olduğu için teratojenik etki oluşturan ajanlar üzerinde çalışmalar yoğunlaştırılmış ve kimyasal ürünlerin gelişimsel toksisiteye neden olma potansiyellerinden dolayı, fetal iskelet gelişiminin değerlendirilmesi, araştırmanın gerekli bir parçası haline gelmiştir (31).

Gelişimsel toksisite çalışmaları, endüstriyel veya ilaç üretimi amacıyla yapılıyorsa, iskelet muayeneleri yapılması zorunludur. Uluslararası Uyum Konferansı (International Conference on Harmonisation: ICH 1994) tıbbi ürünler için fetal iskelet gelişiminin değerlendirilmesinde bazı kurallar geliştirdi. Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (United States Environmental Protection Agency: EPA, 1998) gelişimsel toksisite çalışmalarında fetusların iskelet anomalilerinin tesipiti, kemik ve kıkırdak alanların değerlendirilmesi için bazı kurallar getirmiştir (41).

Fetal gelişim üzerinde bir ilacın toksik etkileri sadece malformasyonlar açısından değil aynı zamanda fetus ağırlığında azalma veya gecikmiş fetal gelişim oluşup oluşmadığı açısından da incelenmelidir (33).

Fetal gelişim esnasında dışarıdan verilen toksik ajanların fetal iskelet üzerinde oluşturduğu etkileri inceleyebilmek için fetal iskeletin normal gelişiminin nasıl olduğunu bilmemiz gerekmektedir. Normal fetal iskelet gelişimi üzerine geçmişten günümüze kadar birçok çalışmalar yapılmış olup yapılan bu çalışmalarda farklı hayvanlar (sıçan, fare, tavşan, bıldırcın, tavuk vb.) kullanılmıştır (32,42-46). Genellikle deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalar; incelenen hayvanın embriyonal (47,48,49), fetal (50), veya postnatal (23,40) gibi değişik gelişim evresine ait dönemi kapsamaktadır. Bu çalışmaların bir kısmında tüm iskelet üzerinde çalışılırken (7,50) bir kısmında iskeletin belirli bir bölgesi incelenmiş (51,25) ya da tek bir kemiğe ait çalışmalar yapılmıştır (52). Fetal ve yavru üzerinde yapılan bu incelemelerde genellikle, fetal veya yavru ağırlığı, baş-kıç uzunluğu, kemiklere ait uzunluklar, ossifikasyon merkezlerinin sayısı, bu merkezlerin nerede ve hangi zaman diliminde kemikleştikleri, ne kadar uzunlukta oldukları, kemiklerin gelişiminde gecikme olup olmadığı, malformasyonların gelişip gelişmediği, vb. gibi parametreler incelenmiş olup bu parametrelerden elde edilen verilerin eşliğinde fetal iskeletin gelişimi hakkında yorumlar yapılmıştır (33,45,53-59).

Normal fetal iskelet gelişiminin bilinmesi; deneysel çalışmalarda oluşturulan bu parametreler ışığında teratolojik ajanların fetal iskeletinde nasıl bir etkiye yol açtığını anlamamızı ve değerlendirmemizi kolaylaştıracaktır.

Teratolojik çalışmaların sonuçlarının yeterli, güvenilir ve objektif olabilmesi için iskelet sistemini olabildiğince iyi bir şekilde gösterecek bir yöntem kullanılması gerekir. Kullanılacak bu yöntemin metodu hassas, tekrarlanabilir ve kalıcı olmalı, ayrıca denek sayısı mümkün olduğunca yüksek tutulmalıdır (28). Bu kriterlere yönelik yapılan çalışmalara bakıldığında iskelet sistemine ait kemik dokunun ilk olarak alizarin red S ile boyandığı görülmektedir (7,8,60,61). Kemik dokunun Alizarin Red S ile boyanması kısa sürede iskelet sistemi boyamalarında sıklıkla kullanılan bir yöntem haline gelmiştir. Ancak, iskelet sistemine yönelik hem gelişimsel hem de toksisite çalışmalarında kullanılan deney hayvanlarının fetuslarının büyük bölümünün kıkırdak yapıda olmasından dolayı, kemiğin tek başına boyanmasının kıkırdakta ki gelişimsel

bozuklukların gözden kaçmasına neden olacağı için kıkırdağında boyandığı yöntemler üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Kıkırdağın boyanmasında öncelikle toluidine blue ve methylen blue kullanılmaya başlanmıştır (7,8). Ancak boyanın akması gibi aksaklıklar nedeniyle kıkırdağın başka bir boya ile boyanması üzerine çalışmalar yapılmış ve kıkırdağın boyanmasında alcian blue kullanılmaya başlanmış ve bu yöntem daha sonraki yıllarda sıklıkla tercih edilir konuma gelmiştir. Ancak kemiğin ve kıkırdağın ayrı ayrı boyanması fetal iskeletin değerlendirilmesinde özellikle gelişimsel bozuklukların gözden kaçmasına neden olmaktadır. Hem kemiğin ve hem de kıkırdağın tek aşamada birlikte boyanmasına yönelik çalışmalara ağırlık verilmiş ve ilk ikili iskelet boyaması 1971 yılında Simons ve Van Horn tarafından yapılmıştır. Zaman içinde birçok değişikliklerle birlikte günümüzde sıklıkla kullandığımız ve Inouye metodu olarak kabul ettiğimiz şeklini almıştır (8,28,31,32,40,41). Bu yöntemde kıkırdağın boyanmasında alcian blue, kemiğin boyanmasında ise alizarin red S tercih edilmektedir. Kıkırdağın matriksi glikokozaminoglikanlar ve glikoproteinlerden oluşmuştur. Matriksteki glikokozaminoglikanlar ve glikoproteinler kıkırdağın Alcian blue gibi bazik boyalarla kuvvetli boyanmasını sağlamaktadır. Kıkırdağın alcian blue ile boyanması boyanın uzun süre rengini koruması özelliğinden dolayı sıklıkla tercih edilmektedir. Canlılarda kemikleşmenin belirlenmesinde kullanılan, özellikle kemiksi yapılardaki kalsiyum fosfata özgü, organik kökenli bir boya maddesi olan alizarin red S kullanılmaktadır. Inouye'nin bu metodu günümüzde teratoloji çalışmalarında fetal iskeletin boyanmasında güvenle kullanılan bir yöntem haline gelmiştir (62,63).

Gelişimsel ve teratolojik çalışmalarda güvenle kullanılan ikili iskelet boyama metodu geçmişte olduğu gibi günümüzde de önemini korumakta olup bu metodun kalitesini daha fazla artırmaya yönelik; yapılan çalışmanın süresini kısaltma, boyama işleminin kalitesini artırma veya daha fazla hayvanı daha kısa zamanda boyama gibi çalışmalar günümüzde devam etmektedir (9,29,30,31,64).

Stereoloji, üç boyutlu örneklerin iki boyutlu kesitlerinden elde edilen verilere dayanarak, onların gerçekteki üç boyutlu özellikleri ile ilgili yorumlar yapılmasını sağlayan bilim dalıdır. Stereolojik metodlar içerisinde en çok kullanılan Cavalieri yöntemine dayalı olan nokta sayımı metodudur. Bu metotda kesit yüzeyine rastgele olarak noktalı alan çetveli atılır ve ilgilenilen yapının üzerine denk gelen noktalar sayılır böylelikle kesit yüzey alanı hesaplanmış olur. Diğer bir yöntem ise planimetrik

yöntemdir. Planimetrik yöntemlerde değişik yazılımlar kullanılmaktadır. Günümüzde temel prensibi cavalieri yöntemi olan çeşitli programlar (Easymeasure, ImageJ Stereoinvestigator) kullanılmaktadır. Bu yazılımlar içerisinde en sık kullanılanı ImageJ yazılımıdır. Çalışmamızda kemik kıkırdak oranlarını belirlemek için ImageJ yazılımı kullanıldı. Bunun için önce steromikroskopta görüntüler elde edildi ve bu elde edilen görüntüler ImageJ ile açılarak hesaplamalar yapıldı. Stereolojinin kullandığı bu metodlar tarafsız ve güvenilir yöntemlerdir. İki boyutlu görüntülerde sayısal verilerin elde edilmesini sağladığı gibi, kullandığı metot ve yöntemlerde pahalı yazılım ve donanım gerektirmez. Stereolojik metotlarda kullanılan yöntem ve prensiplerin büyük bir kısmı, gerçek değerden sistematik sapma göstermeyen, tekrarlandıkça gerçek değere daha çok yaklaşan tarafsız bir yöntem olması sebebiyle günümüzde güvenle kullanılmaktadır. Literatürde ImageJ kullanılarak kemik kıkırdak oranının hesaplandığı araştırmaya rastlanmamıştır.

Effiting ve arkadaşlarının (50), sıçanlar üzerinde yaptıkları deneysel bir çalışmada; gebeliğin 21. günü fetusların ağırlıklarını 5.00 g±0.58 gr olarak bulmuştur. Nakajima ve arkadaşlarının (65), yapmış oldukları teratolojık bir çalışmada ise gebeliğin 21. günü erkek fetusların ağırlıklarını 5.73±0.43 gr, dişi fetüslerin ağırlıklarını 5.48±0.28 gr olarak tespit etmişlerdir. Vlahovic ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada (66), kontrol grubuna ait 134 adet 20 günlük fetusun vücut ağırlıklarını ortalama olarak 3.19±0.03gr olarak tespit etmişlerdir. Badawy ve arkadaşlarının (58), Albino sıçanlarda yapmış olduğu toksisite çalışmasında; oluşturdukları kontrol grubuna ait yeni doğan sıçanların vücut ağırlıklarını 5.67±0.04 gr olarak tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda oluşturduğumuz 20 günlük fetus grubuna ait ağırlıklar ortalama olarak 3.19±0.28 gr, 0. gün yavru grubuna ait yavruların ağırlıklarını ise ortalama olarak 5.25±0.27 gr olarak tespit edildi.

Vlahovic ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada (66), kontrol grubuna ait 134 adet 20 günlük fetusun baş-kıç uzunluklarını 31.3±0.01 mm olarak bildirmektedir. Badawy ve arkadaşlarının (58), yapmış oldukları bir toksisite çalışmasında; oluşturdukları kontrol grubuna ait yeni doğan sıçanların baş-kıç uzunluğunu ise 41.60±1.39 mm olarak ölçmüşlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada 20 günlük fetus grubuna ait baş-kıç uzunlukları ise ortalama 31.26±1.24 mm, 0. gün yavru sıçanların baş-kıç uzunluğu ise, 41.60±1.39 mm olarak tespit edildi.

Wright'in (67) ratlarda normal prenatal iskelet gelişimine yönelik yapmış olduğu çalışmada, doğum öncesi 14. ve 21. gün arasında ki fetuslar üzerinde incelemede bulunmuş ve ön ekstremiteye ait şu sonuçlara ulaşmıştır. Klavikulanın 16. güne kadar kıkırdak yapıda olduğu 16. günden sonra kemikleşme merkezinin görülmeye başladığı ve 19,5. günde kemikleşmenin tamamlandığını belirtmektedir. Menegola (61)'nın 20 günlük fetuslerde yaptığı çalışmada, klavikula'nın kısmen kemikleştiğini belirtmiştir. Aslıng ve arkadaşlarının (54), gebelik sırasında Pteroylglutamıc asit eksikliğinin fetal sıçanlarda oluşturduğu konjenital anomalilerini tespit etmeye yönelik yaptıkları çalışmada deney grubunun klavikulalarında gelişim geriliğinin oluştuğu, %15'inde anormal bükülmeler veya eğrilikler oluştuğunu tespit etmiştir.

Hosseini ve arkadaşlarının (46) civciv embriyolarında yapmış oldukları çalışmada, kuluçkalamanın 11-12. günlerinde klavikulalarda kemikleşme merkezlerinin görüldüğünü belirtmektedir.

Düzler ve arkadaşlarının (32) osteolojik gelişimin ön ekstremitelerde zamana bağlı modellerinin belirlenmesi amacıyla tavşanlar üzerinde yaptığı çalışmada yeni doğan tavşanının klavikula'sında bir adet primer ve bir adette sekonder kemikleşme merkezinin geliştiğini, klavikulanın kemikleşen kısmının uzunluğunun ortalama 5.30 mm, genişliğinin ise 0.30 mm olarak ölçmüştür.

Yaptığımız çalışmada doğum öncesi fetal döneme ait 16,18 ve 20 günlük olmak üzere 3 fetus grubu bulunmaktadır. Bu gruplardan 16 günlük 4 fetusa ait 8 klavikula'nın tamamının kıkırdak yapıda olduğu tespit edildi. 18 günlük fetus klavikula'larında ise kemikleşmenin başlamış olduğu ve %43'e ulaştığı görüldü. Bu durum bize doğum öncesi fetal periotta klavikula'ya ait ilk kemikleşme odağının 16. günden sonra ortaya çıktığı ve 18. günde %43'e ulaştığını göstermektedir. 20. günde ise kemikleşmenin %80'e ulaştığı ve doğumdan sonra ki 7. günde kemikleşmenin tamamlandığı görülmektedir. Ayrıca yaptığımız çalışmada klavikula'ya ait ossifikasyon merkezlerinin uzunluklarını 18 günlük fetus grubunda ortalama 1.0±0.3 mm, 20 günlük fetus grubunda 2.6±0.2 mm, 0. gün yavru grubunda 4.1±0.39 mm olduğu görüldü.

Patton ve arkadaşlarının (45), farelerde doğum öncesi ve doğum sonrası dönemde, ön ve arka ekstremiteye ait çeşitli uzun kemiklerin ossifikasyonu ve kemiklerin büyüme oranını belirlemeye yönelik yaptıkları çalışmada; skapula'larda, genellikle gebeliğin 15. günde birincil kemikleşme merkezinin geliştiği belirtilmiştir. Aynı çalışmada,

doğumdan sonraki 7. günde proc. coracoideus üzerinde ikincil kemikleşme merkezinin ortaya çıktığı ancak doğumdan sonra ki 14. günde halen skapula'nın vertebral kenarının (margo dorsalis), fossa glenoidalis'in ve acromion'un kemikleşmediği belirtilmiştir. Lortlar'ın (68) yaptığı deneysel bir çalışmada; gebeliğin 18. gününde skapula'ların büyük ölçüde kemikleştiği ancak margo dorsalis'inin hala kıkırdak yapıda olduğu belirtilmiştir.

Wrıght (67) ratlar üzerinde yaptığı çalışmada skapulanın, 15.5. günde kıkırdak özellikte olduğu, 16-16,5. günlerde primer kemikleşme merkezinin görüldüğü ve 16,5. gün ile 19,5. günde kemikleşmenin geniş bir alana yayıldığı ve 19,5. günden sonra kemikleşmenin tamamlandığını belirtmektedir.

Badawy ve arkadaşlarının (58), Albino sıçanlarda üç çeşit antiromatizmal ilacın anne ve yenidoğanda yol açtığı toksisite çalışmasında; oluşturdukları kontrol grubuna ait yeni doğan sıçanlara ait skapula'ların kemikleşen kısımlarının uzunluğunu 4.30±0.4 cm olarak ölçmüşlerdir.

Pourlis (44), bıldırcınlarda iskelet gelişimi üzerine yaptığı çalışmada; kuluçka döneminin 7. gününde skapula'nın gövdesinde ilk kemikleşme merkezinin ortaya çıktığını belirtmektedir

İskelet gelişimine yönelik ilaçların etkilerini inceleyen bazı çalışmalarda (54,58,69) çeşitli ilaçların skapula'nın gelişimini olumsuz yönde etkilediği bildirilmektedir.

Çalışmamızda doğum öncesi fetus gruplarına ait skapulaların gelişimine baktığımızda; 16. güne kadar tamamen kıkırdak özelliğini koruduğu ve mavi rengin hakim olduğu tespit edildi. 18 günlük grubumuzda alizarin red S ile kırmızı olarak boyanan kemikleşme merkezinin varlığı tespit edildi. Bu alanın uzunluğu 18. günde 0.6±0.11 mm iken 20. günde 2.4±0.18 mm ve 0. günde ise 3.3±0.25 mm olarak ölçüldü. 0. gün yavru sıçanların skapula'larında processus coracoideus'un uç kısmına yakın bölümlerinde kıkırdak alan içerisinde ikincil kemikleşme merkezinin oluştuğu ve kırmızı renkle boyandığı görülürken doğumdan sonraki 3.,7. ve 12. günlerde de ikincil kemikleşme merkezlerinin genişlemeye devam ettiği görüldü.

Kemikleşen alanların skapula üzerinde kapladığı yüzey, yüzdesel olarak 18 günlük fetuste %19.92, 20 günlük fetuste 46.96, 0. gün yavrusunda 57.56, 3 günlük yavruda 62.72, 7 günlük yavruda 68.10, 12 günlük yavruda 76.02 olarak hesaplandı.

Chang ve arkadaşlarının (70) fareler üzerinde yaptıkları deneysel bir çalışmada; gebeliğin 19. günü fetuslara ait humerus'ların uzunluğunu, sol ekstremitede 4.60±0.027 mm, sağ ekstremitede 4.65±0.034 mm olarak ölçülmüştür. Humerus'un kemikleşen kısmının uzunluğunu ise sol ekstremitede 2.83±0.026 mm, sağ ekstremitede ise 2.81±0.037cm olarak tespit etmişlerdir. Lızana ve arkadaşları (71) ise 0. gün yavru farelere ait humerus'ların uzunluğunu 3 mm olarak bildirmektedir.

Çalışmamızda ise humerus'ların uzunluğu 16 günlük fetuslarde ortalama olarak 1.8±0.14 mm olarak, 18 günlük fetuslarda 3.2± 0.15 mm, 20. günde ise 5.4± 0.16 mm olarak tespit edildi. Humerusların gövdelerinde ki kemikleşmiş kısmın uzunlukları ise, 18 günlük fetusta 0.71±0.18 mm, 20 günlük fetusta 2.75±0.18 mm olarak ölçüldü.

Menegola (27)'nın 20 günlük rat fetuslerinde yaptığı çalışmada, humerusun kısmen kemikleştiğini belirtmiştir. Lortlar (68) 18 günlük fare fetuslarında humerusların epifizyal bölgelerinin kıkırdak, diğer bölgelerin kemikleştiğini belirtmiştir.

Patton ve arkadaşları fareler üzerinde yaptıkları çalışmada (45), gebeliğin 15. gününde humerus'ta belirgin bir şekilde birincil kemikleşme merkezinin geliştiğini ve bu merkezin hızlı bir şekilde büyüyerek gebeliğin 16. gününde tuberositas deltoidea'yı içine alacak şekilde genişlediği beyan etmiştir. Aynı çalışmada doğumdan sonra 7. günde caput humeri ve trochlea humeride ikincil kemikleşme merkezinin görüldüğünü ve tuberositas deltoidea'nın biraz daha büyük olduğunu belirtilmiştir.

Siddiqui ve arkadaşlarının (72) doğum öncesi albino sıçanlarında yaptığı çalışmada humeruslarda gebeliğin 15. gününde primer kemikleşme merkezinin görüldüğü belirtilmiştir. Üstünel (73) sıçan fetuslarında humerus'a ait primer kemikleşme merkezinin gelişimini, histolojik ve histokimyasal olarak incelediği çalışmasında; gebeliğin 16. gününde ilk defa osteoblastik hücre zonu ile diyafiz kondrositleri arasında hücresiz bir zonun oluşmasıyla ilk kemikleşmenin başladığını ve 18. günde kemik trabekülleri arasında ve çevresinde zengin damarlanmanın görüldüğü belirtmektedir. Wright ve arkadaşlarının (67) Long-Evans sıçanlarının prenatal iskelet gelişimi üzerine yaptıkları çalışmada humerus'ta 16-16,5. günlerde ilk kemikleşme merkezi görüldüğü, 17-19. günlerde kemikleşme geniş bir alana yayıldığı ve 19,5. günde ise kemikleşmenin tamamlandığı belirtilmiştir.

Bizim yaptığımız çalışmada, 16 günlük 7 fetusa ait 12 humerusun tamamının kıkırdak yapıda olduğu, ancak corpus humeri'de proksimal ve distal uçlara oranla daha açık

maviye boyanmış alanın mevcut olduğu tespit edildi. Bu gruptaki (18 günlük) humerus'larda ilk kemikleşme merkezinin ortaya çıktığı ve kemikleşmenin %15 oranına ulaştığı görülürken, kemikleşen bu merkezin uzunluğu ise ortalama olarak 0.71±0.18 mm olarak ölçüldü. Ayrıca bu gruba ait humerusların tuberositas deltoidealarının, kemiğin bütününe oranla daha büyük bir görünümde oldukları dikkati çekmektedir.

Bertoni ve arkadaşlarının (74), fare fetüslerinde yapmış olduğu çalışmada doğumdan bir gün sonraki yavru farelerde humerusa ait kemikleşme merkezinin uzunluğunu 4.32±0.05 mm olarak ölçmüştür.

Potu ve arkadaşları (75), sıçanlar üzerinde yapmış oldukları çalışmada, 0. gün yavrularında humerus'un kemikleşen kısmının uzunluğunu 3.97±0.06mm olarak tespit etmişlerdir. Bu uzunluğun humerusun toplam uzunluğuna oranını ise %64.97±1.09 olarak tespit etmişlerdir. Husseın ve arkadaşlarının (76) yaptıkları bir çalışmada, 20. günlük fetusları alizarin red S ile boyayarak incelemişler ve bu fetusların humerus'larında ossifiye olmuş alanlarının uzunluğunu 2.3±0.13mm olarak tespit etmişlerdir. Badawy ve arkadaşları (58), albino sıçanlarda yaptıkları bir çalışmada, yenidoğanlara ait humerus'ların kemikleşen kısımlarının uzunluğunu 0.03±5.45mm olarak ölçmüştür.

Düzler'in (32) tavşanlar üzerindeki çalışmasında yeni doğan tavşan yavrularının humerusların gövdelerinde bir adet primer ossifikasyon merkezi, proksimal ve distal epifizlerde ise ikişer adet sekonder ossifikasyon merkezi olmak üzere toplam 5 adet kemikleşme merkezi bulunduğunu belirtmiştir.

Pourlis (44), bıldırcınlarda göğüs kemeri ve kanat iskeletininin kemik gelişimi üzerine yaptığı çalışmada kuluçkalamanın 6. gününde humerusta ilk kemikleşme merkezinin geliştiğini belirtmiştir.

Morini ve arkadaşlarının (77) sıçanlar üzerinde humerus başında ikincil kemikleşme merkezinin gelişimine yönelik yaptığı çalışmada; doğumdan sonra ki ilk 4 gün humerusun başında herhangi bir değişimin olmadığını rapor etmektedir. Aynı çalışmada 6. günde kıkırdak invazyonun görülmeye başladığı, 7-8. günlerde kanalların erimeye başlamasıyla birlikte kemik iliği boşluğunun geliştiği, 11. gün, sekonder büyüme plağının tam olarak görüldüğü ve kemikleşme merkezinin genişlediği, 5. haftada ise humerus başının büyümesini tamamlamış olduğunu belirtmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada 18 günlük fetuslara ait humerus'ların gövdelerinde ilk kemikleşme merkezinin ortaya çıktığı ve kemikleşmenin %15 oranına ulaştığı görülürken, kemikleşen bu merkezin uzunluğu ise ortalama olarak 0.71±0.18mm olarak ölçüldü. Ayrıca bu gruba ait humerusların tuberositas deltoidea'larının, kemiğin bütününe oranla daha büyük bir görünümde oldukları dikkati çekmektedir. 20. günde ise humerusların kemikleşme merkezinin uzunluğu ise ortalama olarak 2.7±0.18 mm olarak ölçülmüştür. Bu grupta humerusa ait kemikleşmenin %25'e ulaştığı görülmektedir.

0. gün grubumuza ait humerusların birincil kemikleşme merkezinin uzunluğu 4±0.38 mm olarak ölçüldü. Bu gruptaki humeruslarda kemikleşmenin %52'ye ulaştığı görüldü. 0. gün grubunda ikincil kemikleşme merkezinin ilk defa proksimal ve distal uclarda görülmeye başladığı dikkati çekmektedir. Doğumdan sonra ki 3. günde humerusların primer kemikleşme merkezinin uzunluğu ise ortalama 4.6±0.5 mm'ye kemikleşme oranı ise %54'e ulaştı. Doğumdan sonra ki 7. günde humerus, birincil kemikleşme merkezi uzunluğunun 5.9 ±0.4mm'ye ulaştığı ayrca kemikleşme oranının ise %59'lara ulaştığı görüldü. Doğumdan sonraki 12. güne ait humerusların gövdesinde ki kemikleşen kısmın uzunluğu 6.8±0.7 mmye çıkarken gövdenin tamamen kemikleştiği görüldü.

Chang ve arkadaşlarının (70) fareler üzerinde yaptıkları bir çalışmada; 19 günlük fetuslarda ulna'nın uzunluğunu solda 4.72±0.02 mm, sağda 4.73±0.035 mm olarak, kemikleşmiş kısımlarının uzunluğunu ise solda 3.11±0.037 mm sağda ise 3.09±0.034 mm olarak tespit etmişlerdir. Lızana ve arkadaşları (71) oluşturdukları kontrol grubuna ait 0. gün yavru farelere ait ulna'nın uzunluğunun 3,5mm olduğunu belirtmiştir.

Çalışmamızda ise ulna'ların uzunluğu 16 günlük fetuslerde ortalama olarak 1.5±0.04 mm olarak, 18 günlük fetuslarda 3±0.12 mm, 20. günde ise 5.2± 0.26 mm olarak tespit edildi. 0. gün grubumuza ait yavrularında ise ulna'nın uzunluğu ortalama olarak 6.8±0.36 mm, doğumdan sonra ki 3. günde 7.7±0.56 mm, 7. günde 9.4±0.44 mm, 12. günde ise 12.1±1.2 mm olduğu tespit edildi.

Menegola (62)'nın 20 günlük fetuslerde yaptığı çalışmada, gestasyon süresince ulnanın kısmen kemikleştiği belirtilmiştir.

Lortlar (68)'ın fareler üzerinde yapmış olduğu teratolojik çalışmada, 18. gününde ki fetuslara ait ulna'nın epifizyel bölgelerinin kıkırdak diğer bölgelerin kemik yapıda olduğunu belirtilmektedir.

Patton ve arkadaşları fareler üzerinde yaptıkları çalışmada (45), gebeliğin 15. gününde ulna'larda belirgin bir şekilde birincil kemikleşme merkezinin geliştiğini, doğumdan sonra 7. günde ise hem distal hemde proksimal uçlarda ikincil kemikleşme merkezinin geliştiği belirtilmiştir.

Wright (67) ve arkadaşlarının Long-Evans sıçanlarının prenatal iskelet gelişimi üzerine yaptıkları çalışmaya göre ulna, 15.5-16.5 günler arasında kıkırdak özellikte, 16,5. günde ilk kemikleşme merkezi görülmüş, 17-19.5. günlerde kemikleşme geniş bir alana yayılmış ve 19,5. günden sonra ise kemikleşmenin tamamlandığını belirtmişlerdir.

Siddiqui (72) ve arkadaşlarının doğum öncesi albino sıçanlarında doxycycline'nin iskelet değişimleri üzerine yaptıkları çalışmada oluşturdukları kontrol grubunda ulnalarda gebeliğin 15. gününde primer kemikleşme merkezinin görüldüğü belirtilmiştir.

Çalışmamızda 16 günlük fetus grubuna ait ulnalarda kemikleşme belirtisi görülmezken, 18 günlük fetus grubuna ait ulna'ların gövdelerinin kıkırdak yapının yıkıma uğramaya başladığı ve bu yüzden kemikte süngerimsi bir görünüm ortaya çıktığı görülmektedir. 20 günlük fetus grubuna ait ulna'larda süngerimsi yapının kaybolduğu ve bu alanların tamamen kırmızı renge boyandığı görüldü. 20 günlük fetus grubuna ait ulna'ların kemikleşen kısmının uzunluğu 2.8±0.22 mm olarak ölçülmüştür. Bu gruba ait ulna'larda kemikleşme alanı ise %55'e kadar yükselmiştir.

Bertoni ve arkadaşlarının (74) yavru fareler üzerinde yapmış olduğu çalışmada, doğumdan bir gün sonraki kontrol gruplarına ait yavru farelerin ulna'larında primer kemikleşme merkezlerinin uzunluklarını 4.81±0.06 cm olarak ölçmüşlerdir.

Potu ve arkadaşları (75), sıçanlarda yapmış oldukları çalışmada, 0. gün yavrularının kontrol grubunda ulna'da kemikleşmiş alanın uzunluğunu, 4.42±0.03 mm olduğunu ve kemikleşmiş alanın uzunluğunun kemiğin toplam uzunluğuna oranının % 0.61 olarak tespit etmişlerdir.

Hussein ve arkadaşlarının (76), sıçanlar üzerinde yapmış oldukları çalışmada 20 günlük fetuslerde ulna'nın kemikleşmiş kısımların uzunluklarını ulna'da ise 12±0.22 mm olarak ölçmüşlerdir.

Badawy ve arkadaşlarının (58), albino sıçanlar üzerinde ki çalışmalarında yeni doğan yavrularına ait ulna'ların ossifiye olmuş kısımlarının uzunluklarını 4.85±0.04 mm olarak tespit etmişlerdir.

Düzler'in (32) tavşanlar üzerinde yaptığı çalışmada, yeni doğan tavşan yavrularına ait ulna'ların diyafizleri dışında proksimal ve distal uçlarında sekonder kemikleşme merkezinin bulunduğunu belirtilmiştir.

Pourlis (44), bıldırcınlarda yaptığı çalışmada kuluçka döneminin 6. gününde ulna'ların gövdelerinin orta kısımlarında primer kemikleşme merkezinin görülmeye başladığı tespit etmiştir.

Çalışmamızda 20 günlük fetuslerde ilk kemikleşme merkezi görüldü ve bu alanın uzunluğu 2.8±0.22 mm olarak ölçüldü. Bu gruba ait ulnalarda kemikleşme %55'lere kadar yükselmiştir. 0. gün grubuna ait ulna'larda birincil kemikleşme merkezinin uzunluğunun 4.2±0.33 mm'ye, kemikleşme oranının ise % 64'lere ulaştığı tespit edildi. 3 günlük yavrulara ait ulnalarda kemikleşme merkezinin uzunluğu 5.2±0.38 mm olarak ölçülürken, kemikleşme alanının oranı %65'e ulaştığı tespit edildi. 7 günlük yavru grubunda ulna'ların distal uçları kıkırdak özelliğini korumakta olup, proksimal uçta kıkırdak alan içerisinde kırmızı boya tutulumunun başladığı ve bu bölgede ikincil kemikleşme merkezinin geliştiği görüldü. Ulna'nın gövdesinde ki kemikleşen kısmın uzunluğu 6.7±0.4 mm olarak, kemikleşme oranı ise %66 olarak tespit edildi. 12 günlük yavru grubumuza ait ulnaların proksimal uçlarında görülen ikincil kemikleşme merkezinin genişlediği, aynı zamanda distal uçta ki kıkırdak alan içerisinde ikincil kemikleşme merkezinin geliştiği görüldü. Bu gruba ait ulna'ların gövdelerinde ki kemikleşen kısmın uzunluğu 8.7±1.24 mm, kemikleşme oranı %75 olarak hesaplandı.

Menegola (61)'nın 20 günlük fetuslerde yaptığı çalışmada, gestasyon süresince radius'un kısmen kemikleştiğini belirtilmiştir.

Lızana ve arkadaşlarının (71) yaptıkları çalışmada, 0. gün yavru farelere ait radius'un uzunluğunun 2.5-3 mm arasında değiştiğini bildirmektedir.

Lortlar'ın (68) fareler üzerinde yapmış olduğu çalışmada, gebeliğin 18. gününde radius'un eklem yüzlerinin ve epifizyel bölgelerinin kıkırdak diğer bölgelerin ise kemik yapıda olduğunu belirtilmektedir.

Çalışmamızda ise radius'ların uzunluğu 16 günlük fetüslerde ortalama olarak 1.1±0.1 mm, 18 günlük fetuslarda 2.3±0.07 mm, 20 günlük fetuslarda 4±0.16 mm olarak ölçülmüştür. 0. gün grubuna ait radius'ların uzunluğu ortalama olarak 5.6±0.99 mm, 3 günlük yavrularda 6.1±0.33 mm, 7 günlük yavrularda 7.5±0.3 mm, 12 günlük yavrularda 8.9±0.8 mm olarak tespit edildi.

Patton ve arkadaşları fareler üzerinde yaptıkları çalışmada (45), radiuslar'da gebeliğin 15. gününde belirgin bir şekilde birincil kemikleşme merkezinin geliştiğini ve doğumdan sonra 7. günde raidusun distalinde, 14. günde ise radiusun proksimalinde ikincil kemikleşme merkezinin geliştiğini belirtmişlerdir.

Wright ve arkadaşlarının (67) Long-Evans sıçanlarının prenatal iskelet gelişimi üzerine yaptıkları çalışmaya göre radius, 15.5-16.5 günler arasında kıkırdak özellikte, 16,5. günde ilk kemikleşme merkezi görülmüş, 17-19.5. günlerde kemikleşme geniş bir alana yayılmış ve 19,5. günden sonra ise kemikleşmenin tamamlandığını belirtmişlerdir.

Siddiqui ve arkadaşlarının (72) doğum öncesi albino sıçanlarda yaptıkları çalışmada, radius'larda gebeliğin 15. gününde primer kemikleşme merkezinin görüldüğü belirtilmiştir.

Çalışmamızda, 16 günlük fetus grubuna ait radius'ların halen kıkırdak yapıda oldukları ancak radius gövdesinin proksimal ve distal uçlara oranla daha açık boyandıkları görülmüştür. 18 günlük fetuslerde radius'un corpusu daha açık tonda mavi renge boyanmış olup süngerimsi bir görünüm dikkati çekmiştir. 20 günlük fetus grubuna ait radius'larda ilk kemikleşme merkezi görülmüş ve kemikleşme merkezinin uzunluğu ortalama 2.2±0.06 mm olarak ölçülmüştür.

Bertoni ve arkadaşlarının (74) yavru fareler üzerinde yapmış olduğu çalışmada, doğumdan bir gün sonraki yavru farelerin radiuslarında primer kemikleşme merkezlerinin uzunluklarını 3.86±0.05 mm olarak ölçmüşlerdir.

Potu ve arkadaşları (75), sıçanlarda yapmış oldukları çalışmada, 0. gün yavrularının kontrol grubunda kemikleşmiş raidus'ların uzunluğunu, 3.58±0.02 mm olarak, kemikleşen alanının uzunluğunun kemiğin toplam uzunluğuna oranını ise 66.73±%1.09 olarak tespit etmişlerdir.

Hussein ve arkadaşlarının (76) sıçanlar üzerinde yapmış oldukları çalışmada 20. günlük kontrol grubunda radius'ların ossifiye olmuş kısımlarının uzunluklarını 0.15±0.17 mm olarak ölçmüşlerdir.

Badawy ve arkadaşları (58), Albino sıçanlarda yapmış olduğu toksisite çalışmasında yeni doğanlara ait radius'ların ossifiye olmuş kısımlarının uzunluklarını 5.07±0.06 cm olarak tespit etmişlerdir.

Düzler'in (32) tavşanlar üzerinde yaptığı çalışmada yeni doğan tavşan yavrularına ait radius'ların gövdesinde bir primer kemikleşme merkezi, proksimal ve bir distal uçlarda ise birer sekonder kemikleşme merkezi olduğunu belirtmiştir.

Pourlis (44), bıldırcınlar üzerinde yaptığı çalışmada, kuluçka döneminin 6. gününde radius'ların diyafizinin orta kısımlarında ilk kemikleşme merkezinin görülmeye başladığını belirtmiştir.

Çalışmamızda, 20 günlük fetüslerde ilk kemikleşme merkezi görülmüş olup kemikleşen bu kısmın uzunluğu 2.2±0.06 mm olarak tespit edildi. Bu gruba ait radius'larda kemikleşme oranı %53'lere ulaşmaktadır. 0. gün grubuna ait radius'ların birincil kemikleşme merkezlerinin uzunluğu 3.4±0.23 mm olarak ölçüldü. Bu grupta radius'larda kemikleşme oranı %62'lere ulaştı. 3 günlük yavru sıçan grubumuza ait radius'a ait birincil kemikleşme merkezinin uzunluğu 4.1±0.37 mm'ye kemikleşme oranı ise %64'lere ulaştı. 7 günlük yavru grubumuza ait radius'ların distal uçları kıkırdak özelliğini korurken, proksimal uçlarda ikincil kemikleşme merkezinin gelişmeye başladığı görüldü. Bu grupta radius'un gövdesinde ki kemikleşen kısmın uzunluğu 5.6±0.54 mm olarak, kemikleşme oranı ise %67 olarak tespit edildi. 12 günlük yavrularda radius'ların gövdelerinde ki kemikleşen kısmın uzunluğu 6.6±0.65 mm olarak hesaplandı. Bu grupta radius'un distal uçlarında ki ikincil kemikleşme merkezi 7 günlük yavrulara oranla daha geniş alana yayılmış olduğu ayrıca distal uçtaki kıkırdak alan içerisinde de ikincil kemikleşme merkezinin geliştiği görüldü. Bu grupta radius'lardaki yüzeyel kemikleşme oranı %71'e ulaştığı tespit edildi.

Çeşitli deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda bilek (karpal) kemiklerindeki kemikleşme merkezlerinin farklı zamanlarda ortaya çıktığı belirtilmektedir. Chiba ve arkadaşlarının (25), fareler üzerinde yaptıkları bir çalışmada; karpal kemiklerin bazılarının fetal yaşamın 22. gününde, bazılarınınsa 24. gününde kemikleşmeye başladığını bildirmişlerdir. Patton ve arkadaşları ise fareler üzerinde yaptıkları

çalışmada (45), doğumdan sonraki birinci günde karpal kemiklerde kemikleşme belirtisinin görülmediği ancak bir haftalık yavruların karpal kemiklerinin tamamında birincil kemikleşme merkezinin geliştiğini belirtmişlerdir. Katherine ve arkadaşlarının (56) keseli sıçanlar (monodelphis domestica) üzerinde yapmış oldukları çalışmada doğumdan sonraki 16,5 günlük yavrularda karpal kemiklerin kıkırdak özellikte olduğunu belirtmişlerdir. Wright ve arkadaşlarının (67) Long-Evans sıçanlarının prenatal iskelet gelişimi üzerine yaptıkları çalışmada ise, karpal kemiklerin fetal dönemde kıkırdak yapıda olduğunu belirtilmektedir.

Çalışmamızda 16, 18 ve 20 günlük fetus gruplarımızda karpal kemiklerin kıkırdak özellikte olduğu 18. günden itibaren C1 ve C8 de daha koyu bir boya tutulumunun hakim olduğu ve 0. gün, 3 günlük ve 7 günlük yavru gruplarımızda da aynı durumun söz konusu olduğu ve 12 günlük yavru gruplarımızda karpal kemiklerin hepsinde kemikleşme merkezinin geliştiği ve geniş bir yer kapladığı ve kırmızıya boyandığı görüldü.

Tarak kemiklerinde de (ossa metacarpi), bilek kemiklerindekine benzer bir durum görülmektedir.

Lortlar'ın fareler üzerinde yaptığı çalışmada (68) gebeliğin 18. günündeki fetuslara ait metakarpların büyük ölçüde kıkırdak yapıda olduğunu belirtmiştir. Patton ve arkadaşları (45), fareler'in tarak kemiklerinin kemikleşme sürecinin doğumdan önceki 17. günde başladığını, birinci metacarp hariç tüm metakarplarda 19. günde pirimer kemikleşme merkezinin oluştuğunu ve doğumdan sonraki ilk hafta sonunda kemikleşmenin tamamlandığını belirtmiştir. Tarak kemiklerinin kemikleşme sırası ise 3,4,2,5,1 olarak ortaya çıktığını, birinci metakarptaki kemikleşme merkezinin ise doğumdan sonraki birinci haftanın sonunda başladığını tespit etmişlerdir. İkincil kemikleşme merkezlerinin ise ilk defa doğumdan sonraki 7. günde 2,3,4 ve 5. metakarpların distalinde görüldüğü belirtmişlerdir.

Katherine ve arkadaşlarının (56) keseli sıçanlar (monodelphis domestica) üzerinde yapmış oldukları çalışmada; 0. gün yavrularına ait metakarpların kıkırdak yapıda olduğunu bildirmektedir. 6 günlük yavrularda ise 2-4. metakarpların kıkırdak merkezinde hipertrofi görülmeye (kemikleşmenin ilk belirtileri) başladığını, 16,5. günde 2-4. metakarpta ki kemikleşme devam ederken, 1. ve 5. metakarpın merkezindeki

kıkırdakta hipertrofi gelişmeye başladığını bildirmektedir. 8 haftalık yavrulara ait metakarplarda ise ikincil kemikleşme merkezinin görüldüğü belirtilmiştir.

Wright ve arkadaşlarının (67) Long-Evans sıçanlarının prenatal iskelet gelişimi üzerine yaptıkları çalışmada; metacarpal kemiklerin 17,5. güne kadar kıkırdak özellikte olduğu, 17,5.-19. günler arasında ilk kemikleşme merkezinin görüldüğü, 19-21. günlerde kemikleşmenin geniş bir alana yayıldığı, 21. günden itibaren kemikleşmenin tamamlandığı belirtilmiştir.

Singh ve arkadaşlarının (69) 21 günlük sıçan fetus üzerinde yaptığı çalışmaya göre, 2-5. metacarp'ta kemikleşmenin görüldüğü belirtilmiştir.

Chahoud ve arkadaşlarının (55) 21 günlük sıçan fetuslarına ait metakarpların %80'ninde ossifikasyon merkezinin geliştiğini belirtmişleridir.

Aliverti'i ve arkadaşlarının (33) 19, 20, 21 günlük sıçan fetuslerinde yapmış olduğu çalışmada, 19 günlük toplam 84 fetusun el tarağı kemiklerinden, 2 tanesinde hiç ossifikasyon merkezine rastlanmamış, 9 tanesinde 1 adet, 35 tanesinde 2 adet, 38 tanesinde 3 adet ossifikasyon merkezinin olduğunu tespit etmişlerdir. 20 günlük toplam 494 fetusün el tarağı kemiklerinden, 43 tanesinde 3 adet, 451 tanesinde ise 4 adet ossifikasyon merkezinin olduğunu tespit etmişlerdir. 21 günlük toplam 72 fetusun el tarağı kemiklerinden, 1 tanesinde 3 adet, 71 tanesinde 4 adet ossifikasyon merkezinin geliştiğini tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda, 16 ve 18 günlük fetuslara ait metakarpların kıkırdak yapıda oldukları ve mavi renge boyandıkları görüldü. 20 günlük fetuslara ait 2-4. metakarpların gövdelerinde ilk kemikleşme merkezi görülürken beşinci metakarpta primer kemikleşme merkezi 0. günde tespit edildi. Birinci metakarpta ise primer kemikleşme merkezi doğumdan sonra 12 günlük yavrularda görüldü. 12 günlük yavruların 2.-4. metakarplarının distal ucunda ikincil kemikleşme merkezinin ortaya çıktığı görüldü.

Lortlar (68), 18 günlük fare fetuslarında, birinci phalanx'larda kemikleşmenin belirgin olduğunu ve diğer phalanx'larda ise kemikleşme merkezinin pembe renkte olduğunu belirtmiştir.

Patton ve arkadaşları (45), farelerin 2.-4. parmaklarına ait phalanx proximalis'lerde ilk kemikleşme merkezinin gebeliğin 18,5. gününde, beşinci parmağa ait phalanx proximalis'de 19,5. gününde, başparmağa ait phalanx proximalis ise doğumu takip eden

7. günde ortaya çıktığını bildirmektedir. Phalanx media'larda ise ilk kemikleşme merkezi hamileliğin 19,5. gününde ortaya çıktığı belirtilmektedir. Phalanx distalis'lerde ise hamileliğin 18,5 gününde ilk kemikleşme merkezinin görüldüğünü bildirmektedir.

Katherine ve arkadaşlarının (56) keseli sıçanlar (monodelphis domestica) üzerinde yapmış oldukları çalışmada, doğumdan sonraki 2. günde phalanx distalis'lerde kemikleşme merkezleri görülürken, phalanx proximalis ve media'larda kıkırdak yapının hakim olduğunu bildirmektedir. Doğumu takip eden 6. günde ise phalanx proximalis'te kemikleşme merkezinin ortaya çıktığını bildirmektedir. Phalanx distalis'lerin ise doğumdan sonra 16,5. günde kemikleşmeye başladığını bildirmektedir.

Wright ve arkadaşlarının Long-Evans sıçanlarında yaptığı çalışmada (67); phalanx distalis'lerde 19,5. günde, phalanx proximalis'lerde 20. günde ilk kemikleşme merkezinin görüldüğü bildirilirken, phalanx media'larda fetal dönemde kemikleşmenin olmadığı bildirilmektedir.

Singh ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada (69), hamileliği takip eden 21. günde 3. ve 4. parmağa ait phalanx proximalis'lerde, 23. günde (doğumdan sonraki 2. gün) ise 2. ve 5. parmaklara ait phalanx proximalis'lerde kemikleşmenin başladığını bildirmektedir.

Chahoud ve arkadaşlarının 21 günlük sıçan fetusları üzerinde yapmış oldukları çalışmada (55), phalanx proximalis ve media'ların %35'inde, phalanx distalis'lerin %95'inde ossifikasyon merkezinin görüldüğü belirtilmektedir.

Aliverti ve arkadaşlarının 19, 20, 21 günlük sıçan fetuslarında yapmış olduğu çalışmada (33), 19 günlük toplam 84 fetusun parmak kemiklerinden hiçbirinde ossifikasyon merkezinin gelişmediği belirtilmiştir. 20 günlük toplam 494 fetusün parmak kemiklerinden 161 adedinde hiçbir ossifikasyon merkezine rastlanmazken, 24 tanesinde 1 adet, 226 tanesinde 2 adet, 5 tanesinde 3 adet, 78 tanesinde 4 adet ossifikasyon merkezinin geliştiği belirtilmiştir.

Çalışmamızda, 16 ve 18 günlük fetus gruplarına ait falanksların kıkırdak yapıda olduğu görüldü. Falankslarda ilk kemikleşme, 20 günlük fetus grubunda, 2-4. parmağa ait phalanx distalis'lerde phalanx'ın tırnakla birleşme yerinde ve 2-4. parmakların phalanx proximalis'lerinde oluştuğu tespit edildi. 0. gün yavru grubunda ise 4. ve 5. parmağa ait phalanx distal'islerde ve 5. parmağa ait phalax proximal'iste ilk kemikleşme merkezi

görüldü. Başparmağa ait phalanx distalis'de ilk kemikleşme merkezi 3 günlük yavru grubunda ortaya çıktı. Başparmağın phalanx proximal'isinde ise ilk kemikleşme merkezi 7 günlük yavru grubuna ait fetuslarda görüldü. İkincil kemikleşme merkezi ilk olarak 12 günlük yavru gruplarından 2-5. parmaklara ait phalanx proximalis'lerin basis'inde görüldü.

İncelediğimiz kaynaklarda aynı kemiğe ait primer kemikleşme merkezinin ortaya çıkışında farklı günler belirtilmektedir. Ortaya çıkan bu farklılıkların başlıca sebepleri arasında; çalışmaların çok farklı deney hayvanları üzerinde yapılması ve bu hayvanların hamilelik süreçlerinin farklı olması temel nedendir. Ancak aynı deney hayvanı üzerinde yapılan çalışmalarda da primer kemikleşme merkezinin ortaya çıkışında farklılıklar görülmektedir. Bu durumun nedenlerinden birincisi, hayvanların çiftleşme saatinin (gebe kalma saati) tespitinde ortaya çıkan farklılıklardır. Bazı çalışmalarda çiftleşmeyi takip eden günün sabahı 0. gün (78,79,80) kabul edilirken, bazılarında ise 0,5. gün (7,33), bazılarında ise 1. gün (81) olarak kabul edilmektedir. İkinci olarakta kemikleşme merkezinin tespitinde kullanılan metotların farklılığı rol oynamaktadır. Uzun kemiklerde ortaya çıkan endokondral kemikleşmede, önce bağ dokusu kıkırdak dokuya dönüşmekte, takip eden süreçte kıkırdak dokuda yoğunlaşma görülmekte, daha sonra kıkırdak dokuda yıkım başlamaktadır. Kıkırdak dokuda yıkımın başladığı dönemde kemikte süngerimsi bir görünüm ortaya çıkmaktadır. Bu süngerimsi yapının görüldüğü alan primer kemikleşme merkezinin ortaya çıkacağı alandır. Bu alanda mineral maddelerin birikmeye başlamasıyla kemik doku ortaya çıkmaktadır. Bu sürecin tespitinde radyolojik, histolojik boyama (kesit alarak boyama) ya da total iskelet boyaması gibi yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasındaki farklılıklar da primer kemikleşme merkezinin ortaya çıkışında farklılıklara sebep olmaktadır. Bunların dışında aynı deney hayvanı üzerinde, aynı yöntemle yapılan çalışmalarda bile farklılıklar ortaya çıkabilmektedir. Bu da her bir deney hayvanının biyolojik ritminin (bireysel özelliğinin) farklılığından kaynaklanmaktadır.

Deney hayvanları üzerinde yapılan gelişimsel ve teratolojik çalışmalar; incelenen hayvanın embriyonal, fetal, veya postnatal gibi değişik gelişim evresine ait dönemleri kapsamaktadır. İster teratolojik çalışmalar olsun isterse gelişimsel çalışmalar olsun, fetal ve postnatal iskeleti üzerinde yapılan çalışmalarda kullanılan en güvenilir yöntemlerden birisi ise ikili iskelet boyamalarıdır. İkili iskelet boyamaları sonucunda kıkırdak

alanların alcian blue ile mavi renge, kemik alanların ise alizarin red S ile kırmızı renge boyanması hem toksikolojik çalışmalarda fetal iskelette oluşan sekelleri göstermesi açısından hemde normal gelişimin seyrini ortaya koyması açısından son derece güvenilir bir metod haline gelmiştir. Fetal ve yavru üzerinde yapılan bu çalışmalarda genellikle oluşturulmuş bazı parametreler (fetal veya yavru ağırlığı, baş-kıç uzunluğu, kemiklere ait uzunluklar, ossifikasyon merkezlerinin sayısı, bu merkezlerin nerede ve hangi zaman diliminde kemikleştikleri, ne kadar uzunlukta oldukları, kemiklerin gelişiminde gecikme olup olmadığı, malformasyonların gelişip gelişmediği) incelenmektedir. Yapmış olduğumuz literatür çalışmalarında birçok yöntemlerle fetus ve yavrulara ait kemik ve kıkırdak yapılar farklı parametreler kullanılarak bulgular elde edilmiş ve tartışılmıştır. Ancak şimdiye kadar kemik ve kıkırdak oranları yüzey alan hesaplaması yapılarak ortaya konulmadığı görüldü. Çalışmamız sonucunda yüzey alan hesaplamaları yapılan sıçan ön ekstremitesine ait kemik ve kıkırdak oranı sonuçlarının bundan sonraki yapılacak çalışmalara kaynaklık yapacağı düşünülmektedir. Ayrıca çalışmamızda ki fetus ve yavrulara ait elde ettiğimiz bulguların (fetus ağırlıkları, baş-kıç uzunlukları, ossifikasyon merkezinin görülme zamanı, bu merkezlerin nerede ve hangi zaman diliminde kemikleştikleri, ne kadar uzunlukta oldukları) bundan sonra ki çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

6.KAYNAKLAR

1. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Temel Histoloji, Aytekin Y (Editör), Barış Kitapçılık, İstanbul, 1998: 124-150
2. Özdamar S, Yakan B, Kutlubay R. Genel Histoloji, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Kayseri, 2000: 47-74
3. Turek SL. Ortopedi İlkeleri ve Uygulamaları, 1.Cilt, Ege R(Editör), Yargıçoğlu Matbaası, Ankara, 1980: 3-83
4. Koca YB, Genel Histoloji Atlası, 1. baskı, Marmara İletişim Basım Yayın Dağıtım Elektronik Turizm İnşaat Sanayi Tic Ltd Şti, İstanbul, 2003: 159-188
5. Hebel R, Stromberg MW. Anatomy and Embryology of the Laboratory Rat, BioMed Verlag Wörthsee, 1986: 9-21
6. Soysal H. Sıçan fetuslarında fenitoin, folik asit ve vitamin E'nin kemik gelişimi üzerine etkileri. Doktora tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 2010
7. Soysal H, Unur E, Düzler A, ve ark. Effects of intraperitoneal administration of the phenytoin on the skeletal system of rat fetus. Seizure 2011; 20: 187–193
8. Sunay BF. İkili İskelet Boyamaları. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2005; 31: 119-126
9. Whitaker J, Kathleen MD. Double staining technique for rat foetus skeletons in teratological studies. Laboratory Animals 1979; 13: 309–310

10. Edizer E., Sayısal Görüntü İşleme Yöntemi ile Tane Boyut Dağılımı Analizi, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 2006

11. 17.11.2004, Nih Image. http://rsb.info.nih.gov/ij/ (Erişim Tarihi15.01.2014).

12. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Temel Histoloji, Solakoğlu S, Aytekin Y (Editörler), Barış Kitapçılık, İstanbul, 1998: 124-150

13. Eşrefoğlu M. Genel Histoloji, Medipres Matbaacılık Yayıncılık Ltd Şti, Malatya, 2009: 159-187

14. Victor PE. Di Fiore's Atlas of Histology with Functional Correlations, Balado D (Editör), 8. Baskı, Lippincott Williams & Wilkins, 1995: 41-61

15. Kierszenbaum AL. Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş, Demir R (Editör), Palme Yayıncılık, Ankara, 2006: 113-145

16. Moore KL, Persaud TVN. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi, 6. Baskı, Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H (Editörler), Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2002: 407-424

17. Aytekin Y, Erbengi T, Canberk Y, Erdinç F. Histoloji, 1. Baskı, Erbengi T (Editör), İstanbul Matbaası, İstanbul, 1984: 85-113

18. Bloom W, Fawcett DW. A Textbook of Histology, 8. baskı, WB Sounders Company Philadelphia, 1965: 245-285

19. Welsch U, Histoloji Renkli Mikroskopik Anatomi Atlası, 4. Baskı,Tekelioğlu M (Editör), Beta AŞ, İstanbul, 1994: 73-79

20. 07.09.2011, Embryology. http://php.med.unsw.edu.au/embryology/index.php?title=Rat_Development_Stages (Erişim Tarihi 10.01.2014)

21. 05.02.2014, HathiTrust Digital Library. http://babel.hathitrust.org/cgi/pt?id=mdp.39015017864839;seq=294;view=1up;num=304 (Erişim Tarihi 01.01.2014)

22. Sharp PE, Regina MCL. The Laboratory Rat. CRC Pres LLC , Boca Raton, 1988: 10-52

23. Özkan ZE. Macro-Anatomical Investigations on the Forelimb Skeleton of Mole-Rat (Spalax leucodon Nordmann). Veterinarski Arhiv 2002; 72: 91-99

24. Olude MA, Olopade JO, Akinloye AK, et al. Macro-anatomical investigations of the skeletons of the African giant rat (Cricetomys gambianus Waterhouse 1840) II: fore limb. European Journal of Anatomy 2010; 14: 19-23

25. Chiba K, Rahman ME, Ishikawa H, Endo A. The Timing of Appearance of Ossification Centers of Carpal and Tarsal Bones in Mouse Newborns. Congenital Anomalies 1995; 35: 189-197

26. 01.02.2014, The Biology Corner. http://www.biologycorner.com/worksheets/rat_external.html (Erişim Tarihi 10.02.2014).

27. Menegola E, Broccia ML, Renzo FD, Giavini E. Comparative study of sodium valproate-induced skeletal malformations using single or double staining methods. Reproductive Toxicology 2002; 16: 815-23

28. Kelly WL , Bryden MM. A Modified Differential Stain for Cartilage and Bone in Whole Mount Preparations of Mammalian Fetuses and Small Vertebrates. Stain Technol 1983; 58: 131-4

29. Young AD, Phipps DE, Astroff AB. Large-scale double-staining of rat fetal skeletons using alizarin red S and alcian blue. Teratology 2000; 61: 273–276

30. Redfern, BG, Wise LD, Spence S. An alternative Alcian Blue dye variant for the evaluation of fetal cartilage. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol 2007; 80: 171-176

31. Trueman D, Jackson SW, Trueman B. An automated technique for double staining rat and rabbit fetal skeletal specimens to differentiate bone and cartilage. Biotech Histochem 1999; 74: 98–104

32. Düzler A, Çakır A. Yeni Zelanda tavşanında ön ekstremitelerin postnatal osteolojik gelişimi. Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi 2003; 50: 165-172

33. Aliverti V, Bonanomi L, Giavini E, Leone VG, Mariani L. The extent of fetal ossification as an index of delayed development in teratogenic studies on the rat. Teratology 1979; 20: 237–242

34. Inouye M. Differential staining of cartilage and bone in fetal mouse skeleton by Alcian blue and Alizarin red S. Cong Anom 1976; 16: 171–173

35. Özçelik Ö, Acer N. Yenidoğanlarda Beyin yüzey Alanının Stereolojik Olarak Hesaplanması. Erciyes Med J 2013; 35: 136-41

36. Acer N, Şahin B. Comparison of point counting and planimetry methods for the assessment of cerebellar volume in human using magnetic resonance imaging: a stereological study. Surg Radiol Anat 2008; 30: 335-9

37. Acer N, Uğurlu N, Uysal DD, Unur E, Turgut M, Camurdanoğlu M. Comparison of two volumetric techniques for estimating volume of intracerebral ventricles using magnetic resonance imaging: a stereological study. Anat Sci Int 2010; 85: 131-9

38. Acer N, Sahin B, Ucar T, Usanmaz M. Unbiased estimation of the eyeball volume using the Cavalieri principle on computed tomography images. J Craniofac Surg 2009; 20: 233-7

39. Acer N, Sofikerim M, Ertekin T, Unur E, Cay M, Oztürk F. Assessment of in vivo calculation with ultrasonography compared to physical sections in vitro: a stereological study of prostate volumes. Anat Sci Int 2011; 86: 78-85

40. Olude MA, Olopade JO, Akinloye AK, et al. Macro-anatomical investigations of the skeletons of the African giant rat (Cricetomys gambianus Waterhouse): Pelvic limb. European Journal of Anatomy 2009; 13: 127-131

41. Redfern BG, Wise LD. High-throughput staining for the evaluation of fetal skeletal development in rats and rabbits. Birth Defects Res (Part B) Dev Reprod Toxicol 2007; 80: 177-82

42. Russell AP, Joffe DJ. The early development of the quail (Coturnix c. japonica) furcula reconsidered. J ZOOL 2009; 206: 69-81

43. Dingerkus G, Uhler LD. Enzyme clearing of alcian blue stained whole small vertebrates for demonstration of cartilage. Stain Technol 1977; 52: 229-32

44. Pourlis AF, Antonopoulos J. The ossification of the pectoral girdle and wing skeleton of the quail (Coturnix coturnix japonica). Anat Histol Embryol 2011; 40: 219-25

45. Patton JT, Kaufman MH. The timing of ossification of the limb bones, and growth rates of various long bones of the fore and hind limbs of the prenatal and early postnatal laboratory mouse. J Anat 1995; 186: 175-85.

46. Hosseini A, Hogg DA. The effects of paralysis on skeletal development in the chick embryo. I. General effects. J Anat 1991; 177:159-68

47. Ihara T. Comparative study of development progress in the mouse, rat and rabbit in their stages of organogenesis. Cong Anom 1970; 10: 67-81

48. Mishra SR, Sahai A, Srivastava AK, et all. Skeletal anomalies in fetal alcohol syndrome: A study on developing mice embryos. J Anat Soc India 2003; 52: 51-54

49. Ulger H, Karabulut AK, Pratten MK. The growth promoting effects of bFGF, PD-ECGF and VEGF on cultured postimplantation rat embryos deprived of serum fractions. J Anat 2000; 197: 207-19

50. Effiting C, Paula DJ, Junior GPA. A model for the study of skeletal anomalies in rat fetuses. Braz arch Biol Technol 2004; 47: 33-39

51. Igarashi E. Anomalies of Cartilaginous and Ossified Axial Skeleton in Rat Fetuses Treated with Cyclophosphamide: Type, Frequency and Stage Specificity. Congenital Anomalies 1998; 38: 39–55

52. Tomo S, Ogita M, Tomo I. Development of mandibular cartilages in the rat. Anat Rec 1997; 249: 233-9

53. Dodo T, Uchida K, Hirose T, et all. Increases in discontinuous rib cartilage and fused carpal bone in rat fetuses exposed to the teratogens, busulfan, acetazolamide, vitamin A, and ketoconazole. Hum Exp Toxicol 2010; 29: 439-50

54. Asling CW, Nelson MM, Wright HV, Evans HM. Congenital skeletal abnormalities in fetal rats resulting from maternal pteroylglutamic acid deficiency during gestation. Anat Rec 1955; 121: 775–799

55. Chahoud I, Paumgartten FJR. Relationships between fetal body weight of Wistar rats at term and the extent of skeletal ossification. Braz J Med Biol Res 2005; 38: 565-57

56. Katherine E, Martin A, Mackay S. Postnatal development of the fore- and hindlimbs in the grey short-tailed opossum, *Monodelphis domestica.* J Anat 2003; 202: 143–152

57. Hoda HH, Omayma MM. Effects of maternal administration of aluminum chloride on the development of the skeletal system of albino rat fetuses protective role of saffron. Eur J Anat 2013; 17: 63-71

58. Badawy GM, Sayyad HIE, Shahari EEA. Maternal and Neonatal Toxicities induced by three Antirheumatic Drugs in Albino Rats. Journal of American Science 2011; 7: 783-793

59. Souza CAM, Carvalho RR de, Kuriyama SN, et all. Study of the embryofeto-toxicity of Crown-of-Thorns (Euphorbia milii) latex, a natural molluscicide. Braz J Med Biol Res 1997; 30: 1325-1332

60. Green MC. A Rapid Method for Clearing and Staining Specimens for the Demonstration of Bone. Ohio Journal of Science 1952; 52: 31-33

61. Menegola E, Broccia ML, Giavini E. Atlas of rat fetal skeleton double stained for bone and cartilage. Teratology 2001; 64: 125-33

62. 01.08.2010, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi. http://tipedu.cumhuriyet.edu.tr/Donem1/DonemI20052006/2006IV/EmelKoptagel/mikroskobik_teknikler.doc (Erişim Tarihi 10.02.201)

63. 02.01.2014,Yarbis. http://www.yarbis.yildiz.edu.tr/web/userAnnouncementsFiles/dosya0e6c271f3c31576b4355d070780bcebf.pdf (Erişim Tarihi 08.01.2014)

64. Sunay FB, Ersoy S, Kahveci Z. İkili iskelet boyamasında mikrodalga ışınımının kullanılması. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2009; 35: 113-118

65. Nakajima M, Takahashi H, Nakazawa K, Usami M. Fetal cartilage malformation by intravenous administration of indium trichloride to pregnant rats. Reprod Toxicol 2007; 24: 409-13

66. Vlahovic M, Bulic-Jakus F, Juric-Lekic G, Fucic A, Maric S, Serman D. Changes in the placenta and in the rat embryo caused by the demethylating agent 5-azacytidine. Int J Dev Biol 1999; 43: 843-6

67. Wright HV, Asling CW, Dougherty HL, Nelson MM, Evans HM. Prenatal development of the skeleton in long-evans rats. Anat Rec 1958; 130: 659–672

68. Lortlar N, Erdoğan D. Fetüslerde valproik asit ve A vitamininin neden olduğu iskelet sistemi defektleri ve folik asitin koruyucu etkisinin incelenmesi. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi 2003; 5: 5-12

69. Singh S, Sanyal AK. Skeletal malformations of forelimbs of rat fetuses caused by maternal administration of cyclophosphamide during pregnancy. J Anat 1974; 117: 179–189

70. Chang HH, Schwartz Z, Kaufman MH. Limb and other postcranial skeletal defects induced by amniotic sac puncture in the mouse. J Anat 1996; 189: 37-49

71. Lizana P, Henriquez R, Munoz P. Prenatal Stress Caused by Movement Restriction Induces Changes in the Appendicular Osseous Development of CF-1 Mice Progeny. Int J Morphol 2012; 30: 1132-1138

72. Siddiqui MA, Janjua MZ. Effect of prenatal doxycycline administration on skeletal differentiation in long bones of Albino rat. J Pak Med Assoc 2002; 52: 211-4

73. Üstünel İ, Akkoyunlu G, Kocamaz G, Demir R. Sıçan fetüslerinde humerus primer ossifikasyon bölgesi gelişimi: histolojik ve histokimyasal bir çalışma. Türk J Biol 2000; 20: 1-10

74. Bertoni L, Ferretti M, Cavani F, Zavatti M, Resca E, Benelli A, Palumbo C. Leptin increases growth of primary ossification centers in fetal mice. J Anat 2009; 215: 577-83

75. Potu BK, Rao MS, Gopalan KN, et all. Petroleum Ether Extract of *Cissus Quadrangularis* (Linn.) Enhances Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Proliferation and Facilitates Osteoblastogenesis. Clinics (Sao Paulo) 2009; 64: 993–998

76. Hussein HH, Omayma MM. Effects of maternal administration of aluminum chloride on the development of the skeletal system of albino rat fetuses protective role of saffron. Eur J Anat 2013; 17: 63-71

77. Morini S, Continenza MA, Ricciardi G, Gaudio E, Pannarale L. Development of the microcirculation of the secondary ossification center in rat humeral head. Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol 2004; 278: 419-27

78. Wise LD, Xue D, Winkelmann CT. Micro-computed tomographic evaluation of fetal skeletal changes induced by all-*trans*-retinoic acid in rats and rabbits. Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology 2010; 89: 408–417

79. Qi BQ, Beasley SW, Arsic D. Abnormalities of the vertebral column and ribs associated with anorectal malformations. Pediatr Surg Int 2004; 20: 529-533

80. Weiss RE, Alan G, Dux S, Nımnı ME. Influence of High Protein Diets on Cartilage and Bone Formation in Rats. J Nutr l98l ; 111: 804-816

81. Fadel RA, Sequeira RP, Abu-Hijleh MF, Obeidat M, Salem AH. Effect of prenatal administration of therapeutic doses of topiramate on ossification of ribs and vertebrae in rat fetuses. Rom J Morphol Embryol 2012; 53: 321-327

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ
YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
KAYSERİ-TÜRKİYE

ETİK KURULUN ADI : Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

ETİK KURULUN ADRESİ : Erciyes Üniversitesi

Tarih: 10.08.2011 **Toplantı Sayısı:** 07 **Karar No:** 11/86

Etik kurul toplantısı **10.08.2011** tarihinde Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul **Prof.Dr.Harun ÜLGER** Başkanlığı'nda gerçekleştirilmiştir.

Üye Adı/Soyadı	Akademik Ünvanı	Fakültesi	İmza
Harun Ülger	Prof. Dr	Tıp Fakültesi	
Özlem Canöz	Prof. Dr	Tıp Fakültesi	
Hatice Özbilge	Prof. Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Coşkun Tez	Doç. Dr.	Fen Fakültesi	—
Servet Kesim	Yrd. Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	—
M. Betül Aycan	Yrd. Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi(Farmakoloji)	—
Abdullah İnci	Prof.Dr.	Veteriner Fakültesi	—
Füsun Ferdağ Erdoğan	Doç.Dr	Tıp Fakültesi	
Ahmet Öztürk	Öğrt.Gör.Dr		
Serap Altuntaş Eroğlu	Avukat		
Asiye Gökdelen			

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Prof.Dr.Erdoğan UNUR tarafından yapılan " Sıçan Ön Ekstremitesine AitKemiklerin Gelişimi Esnasında Ortaya Çıkan Kemik ve Kıkırdak Alanların İkili Boyama Yöntemi İle Tespiti ve Stereolojik Yöntemle Oranların Hesaplanması" adlı araştırması incelenerek çalışmasının yapılmasının uygun olacağına ve rektörlük makamına sunulmasına oy birliğiyle karar verildi.

ASLININ AYNIDIR
Dekan Sekreteri
Bingül Kaçaman

Tarih : 10.08.2011

Etik Kurul Başkanı İmzası

Etik Kurul Başkanı : Prof.Dr.Harun ÜLGER

ÖZ GEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Mustafa ÖZTÜRK

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 29 Temmuz 1984, Bünyan/KAYSERİ

Medeni Durumu: Evli

Tel: +90 506 359 81 62

email: mustafa2013@gmail.com

Yazışma Adresi: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı - KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	EÜ Tıp Fakültesi Anatomi AD	2014
Lisans	Kafkas Ünv. Artvin Sağlık Yüksekokulu	2007
Lise	Sağlık Meslek Lisesi Bünyan	2002

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2014-Halen	Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Acil Servis	Sağlık Memuru
2007–2010	Sorgun Devlet Hastanesi-Yozgat	Sağlık Memuru
2005-2007	Murgul Devlet Hastanesi-Artvin	Sağlık Memuru

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR

1. Ömerli A, Yılmaz S, Kurtoğlu E, **Öztürk M**, Ülger H. E.Ü. Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalında Tez Çalışmaları. Anatomi Günleri 2013 Konulu Kış Toplantısı,18-20 Ocak 2013, Kayseri, Türkiye.