

45082

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**BAZI OMURGALI HAYVANLARDA PEKTORAL KAS (*M. PECTORALIS*)'IN MORFOLOJİK ve HİSTOKİMYASAL
YÖNLERDEN İNCELENMESİ**

Fatime GEYİKOĞLU

Yönetici: Doç.Dr. Abdullah ÖZKARAL

Doktora Tezi

ÖZET

Bu araştırmada, vücut hacmi ve hareketleri farklı olan beş ayrı omurgalı hayvan türünden (tavşan, serçe, kertenkele, kurbağa ve alabalık) pektoral kas alınarak kas liflerinin morfolojik ve histokimyasal yönlerden farklılıkları incelendi.

Bu amaçla hayvanlardan alınan taze doku örneklerinin bir yarısı -20°C'de dondurulduktan sonra dondurma mikrotomunda Miyozin-Adenozintrifosfataz, Suksinik dehidrogenaz ve Sudan siyahı B boyama yöntemleri uygulandı. Doku örneklerinin diğer parçalarının rutin histolojik yöntem ile parafin blokları hazırlandı. Bu parafin bloklardan elde edilen 5 µm kalınlığındaki kesitlere genel histolojik yapıyı belirlemek amacıyla Hematoksilen-Eozin ve kas liflerinin glikojen içeriğini saptamak amacıyla da Periyodik asit-Schiff boyama yöntemleri uygulandı.

İncelenen türlerde kas dokusunun histolojik yapısı benzerlik gösterdi. Ancak kas liflerinde nukleusun yerleşimi yönünden farklılıklar izlendi. Tavşan, serçe ve alabalıkta nukleuslar çoğunlukla liflerin kenarında, sarkolemanın hemen altında görölmesine karşın, kurbağa ve kertenkelede nukleuslar liflerin çoğunlukla iç kısmında yerleşmişti.

Histokimyasal incelemelerimiz sonucu, türler arasında ve hatta aynı türe ait kas demetlerini oluşturan liflerde gerek çap yönünden gerekse boyanma yoğunluğu yönünden bir farklılığın mevcut olduğu saptandı.

Buna göre beş ayrı hayvan türünün pektoral kasında genel olarak kırmızı, beyaz ve ara olmak üzere üç lif tipi ayırdedildi. Ancak türler arasında bu liflerin birbirine oranının farklı olduğu saptandı. Bununla beraber, kertenkele pektoral kasında belirgin bir bölmeli yapı gözlenmiş ve aynı zamanda tonik olarak niteleyebileceğimiz lif tipi de ayırdedilmiştir.

SUMMARY

In this study, morphological and histochemical properties of pectoral muscle fibers of five different species (rabbit, sparrow, lizard, frog, trout) were investigated. For this purpose, the pectoral muscles were taken from these animals.

For this purpose, a half the fresh tissue samples taken from the animals were frozen at -20°C , cross-sections were cut on cryostat and the dye methods of Myosin-Adenosinetriphosphatase, Succinic dehydrogenase and Sudan black B were applied. The other half of the tissue samples were prepared in shaped paraffin blocks for ordinary histologic method. To the sections with $5\text{ }\mu\text{m}$ thickness of this paraffin blocks were applied Heamatoxylin-Eosin dye method to determine the general histological structure and Periodic acid-Schiff dye method to determine the glycogen contents of muscle fibers.

The histological structures of muscle tissue were similar between the examined species. But, there were some differences in the localization of the nuclei of muscle fibers. That is, nuclei were localized either at the peripheral of fibers, under the sarcolemma (rabbit, sparrow and trout) or at the internal of fibers (frog and lizard).

As a result of the histochemical investigations it was found that there was a heterogeneity in both the diameter and stain density of muscle fascicles between the species, even in the same species.

We may determine three type of fibers as red, white and intermediate, in the pectoral muscles of these five different animals. However, the ratio of these fibers between the species were different. Moreover, an obvious compartmentalized structure has been observed in pectoral muscle of lizard and also a fiber type which can be qualify as tonic has been isolated.

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın yapılmasında büyük ilgi ve yardımlarını gördüğüm danışman Hocam Doç.Dr. Abdullah ÖZKARAL'a, araştırmanın yürütülmesinde bana her türlü imkân ve kolaylıkları sağlayan Hocam Prof.Dr. Muhlis ÖZKAN'a, ayrıca deneylerim için madde ve malzeme temininde kolaylık gösteren Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji ve Kimya Bölümlerine ve Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Kürsüsüne ve tezin yazım ve dizgisini yapan Tekbil Yazılıma teşekkürü borç bilirim.

Erzurum 1995

Fatime GEYİKOĞLU



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	<i>i</i>
SUMMARY	<i>ii</i>
TEŞEKKÜR	<i>iii</i>
1. GİRİŞ	<i>1</i>
2. MATERYAL ve METOD	<i>5</i>
3. BULGULAR	<i>8</i>
3.1. Hematoksilen - Eozin Boyama Yöntemi.....	<i>8</i>
3.2. Periyodik asit-Schiff (PAS) Boyama Yöntemi.....	<i>12</i>
3.3. Miyozin-Adenozintrifosfataz (M-ATPaz) Yöntemi.....	<i>16</i>
3.4. Suksinik Dehidrogenaz (SDH) Yöntemi.....	<i>20</i>
3.5. Sudan siyahı B Yöntemi.....	<i>30</i>
4. TARTIŞMA	<i>35</i>
EK AÇIKLAMALAR	<i>41</i>
KAYNAKLAR	<i>44</i>

1. GİRİŞ

Pektoral kas; memelilerde, kuşlarda, sürüngenlerde ve kurbağada vücudun karın tarafındaki bağ dokusu şeridinden başlar ve humerusun proksimal kısmına kadar uzanır (Öktay, 1988). Balıkta bu kas, pektoral yüzgeç kaidesiyle korakoid kemiğinin kleitrum kemiğine birleştiği yer arasında bulunur (Çelikkale, 1986).

Pektoral kas hareketle ilgili (lokomotor) bir kas olup, ön üyenin destekleyici bir kasıdır. Bütün iskelet kaslarında olduğu gibi bağ dokusu kılıfı ile sarılı kas lifi demetlerinden yapılmıştır. Her bir kas demetinde ise pek çok kas lifi bir araya gelmiştir. Kas liflerinin uzunlukları ve çapları farklılık göstermektedir (Cireli, 1983; Erkoçak, 1983; Erbengi, 1985; Fawcett, 1986; Tekelioğlu, 1989).

Boyuna kesitlerde çizgili kas lifi boyunca paralel yerleşen nukleuslar uzun, oval, küt biçimde olup memelilerin ve kuşların tüm liflerinde, sürüngen ve kurbağaların sadece yavaş ve uzun süreli kasılan liflerinde (tonik) sarkolemma'nın hemen altında yerleşik oysa sürüngen, kurbağa ve balıkların hızlı kasılan liflerinde (twitch) genel olarak liflerin iç kısmında yerleşmiştir (Sarnat ve ark., 1976; Ramadan ve ark., 1986; Junqeria, 1986; Ogata, 1988a).

Herbir çizgili kas lifi sarkolemma denilen hücre zarıyla sarılmıştır. Sarkoplazma denilen sitoplazmasında kontraksiyon yapan miyofibriller içermektedir. Kas lifi boyunca paralel uzanan bu miyofibriller, kasın enine kesitinde Hematoksilen - Eozin ile boyanmış preparasyonlarda, sarkoplazma içinde granüller şeklinde görülmektedir. Bu granüllerin bazı liflerde sarkoplazma içinde gruplar yaptığı gözlenmektedir (Cireli, 1983; Erkoçak, 1983; Erbengi, 1985; Fawcett, 1986; Tekelioğlu, 1989; Guyton, 1994). Cohnheim alanları, tesbit edilmiş ve boyanmış preparatlarda kırmızı kas liflerinde belirgin olmasına karşın, beyaz kas liflerinde çoğu kez izlenemez. Yani beyaz kas liflerinde miyofibriller gruplaşma yapmayıp sarkoplazmada dağınık olarak bulunurlar (Junqueira, 1986; Kalaycı, 1986).

Çizgili kas liflerinin boyuna kesitinde ışık mikroskopuyla yapılan incelemede belirgin olarak izlenen yapılar, kas lifinde enine tertiplenmiş açık ve koyu bantlardır. Bantlardan açık renkte ve ince olanına izotrop (I bandı), koyu ve kalın olanına ise anizotrop (A bandı) denir. Daha büyük büyültme ile izotrop kısmın ortasında koyu bir Z çizgisi, anizotrop kısmın ortasında ise aydınlık bir H çizgisi görülür. Bir miyofibrilde iki Z çizgisi arasında kalan bölüme sarkomer veya miyomer denir. Uzunluğu 2-3 milimikron olan her bir sarkomer kasın fonksiyonel ünitesidir (Cireli, 1983; Erkoçak, 1983; Erbengi, 1985; Fawcett, 1986; Tekelioğlu, 1989; Guyton, 1994).

İskelet kasını oluşturan kas lifleri morfolojik ve histokimyasal özelliklerine göre kırmızı (red fibers), beyaz (white fibers) ve ara (intermedier fibers) diye üç gruba ayrılmaktadır (Mcintosh ve ark., 1985; Sohal ve Sickles, 1986; Acosta ve Roy., 1987; Talesara ve ark., 1987; Kilarski ve ark., 1992; Chayen ve ark., 1993)

Bugün iskelet kası liflerinin sınıflandırılmasında enzimatik aktiviteye dayanan metodlar kullanılmaktadır. Bunlar oksidatif ve glikolitik metodlardır. Bunlardan en yaygın olarak kullanılanları SDH (Suksinik dehidrogenaz) ve ATPaz (Adenozintrifosfataz)'dır (Ariano ve ark., 1973; Mcconathy ve ark., 1983; Benjamin ve ark., 1992).

Suksinik dehidrogenaz: Saf bir mitokondri enzimi olup kas lifleri arasında oksijen kullanımına bağlı olarak mükemmel bir farklılaştırma yapmaktadır. Bu enzim substrattan (Disodyum suksinat) aldığı hidrojen iyonlarını nitroblue tetrazolium tuzuna transfer etmekte ve böylece indirgenen tuz bir diformazan tortusu bırakmaktadır. Diformazan tortularının görülebilir şekildeki renk yoğunlukları tümüyle bir lif içindeki mitokondri dağılımını temsil etmektedir (Nene ve George, 1966; Throckmorton ve Saubert, 1982; Maier, 1983; Gleeson ve Harrison, 1986; Chayen ve ark., 1987; Ogata, 1988b; Suzuki, 1990; Benjamin ve ark. 1992).

Adenozintrifosfataz: Adenozintrifosfatı hidroliz eden bir enzim olup enerji kullanımına bağlı olarak kas içinde, lif tiplerinin ayırt edilmesini sağlamaktadır. Bu enzim substrattan (ATP) çıkardığı fosfatı kalsiyum iyonlarına aktar-

makta ve böylece kalsiyum fosfat tortusu bırakmaktadır. Bu tortu, sulandırılmış amonyum sülfid ile muamele edildiği zaman kalsiyum sülfid oluşmakta ve bu da enzimin aktif olduğu bölgelerde siyah veya koyu kahverengi çöküntüler olarak görülmektedir. Asit ön inkübasyonu, ara ve beyaz liflerde ATPaz aktivitesi durdurulmakta ve böylece de bunlar kırmızı lif çışidinden kolayca ayırt edilebilmektedir (Pearse, 1968; Bancroft ve Stevens, 1982; Hintz ve ark., 1984; Ogata, 1988b).

Sudan siyahı B: Dokularda lipid içeriğini belirlemek amacıyla kullanılan ve genel yağ boyalarından olan Sudan siyahı B ile iskelet kası liflerinde, lipid (trigliserid) miktarına bağlı olarak kas lifleri farklı yoğunluklarda boyanır. Böylece lipidden zengin kırmızı liflerin sarkoplazması koyu siyah boyanan granüllerle dolu izlenirken, beyaz liflerde boyanma çok daha zayıf oranda görülür. Ara lifler ise kırmızı ve beyaz lifler arası bir değerde görülmektedir (Ogata, 1969; Kilariski ve Kozłowska, 1983; Ogata, 1988b).

Periyodik asit-Schiff (PAS): Bu boyama yöntemiyle kas liflerinin glikojen içeriği saptanır. PAS reaksiyonu; periyodik asit ile polisakkaridler içindeki 1-2 glikol gruplarının oksidasyonu ve böylece aldehidlerin oluşması sonra da bunların Schiff reaktifi ile farklı yoğunluklarda boyanarak ortaya çıkarılmasından ibarettir (Erkoçak, 1983). Bu yöntem ile glikojenden zengin beyaz lifler kuvvetli pozitif (kırmızı-menekşe renkte) boyanırken, glikojenden fakir kırmızı lifler zayıf reaksiyon vermektedir. Ara liflerin ise kırmızı ve beyaz lifler arası bir reaksiyon vermesi beklenir (Galvas ve Gonyea, 1980; Egginton ve Jonston, 1982; Spurway ve Rowleron, 1989; Kilariski ve Sjöström, 1989).

Böylece histokimyasal analizler kasların etrafı bir şekilde sınıflandırılması için faydalı metodlar olarak değerlendirilmektedir (Ariano ve ark., 1973; Maxwell ve ark., 1981; Mcconathy ve ark., 1983; Benjamin ve ark., 1992).

İskelet kası liflerindeki farklılık genelde liflerin sitoplazmik içeriklerine ve fizyolojik özelliklerine bağlıdır. Kırmızı lifler yüksek oranda miyogloblin ve sitokrom içeriğine göre kırmızı görülen, fizyolojik olarak yavaş ve uzun süre kasılabilen liflerdir. Enerjilerini oksidatif fosforilasyonla sağlarlar. Böylece bu lifler çok sayıda mitokondriye sahiptirler.

Beyaz lifler mitokondri ve miyoglobinden fakir, açık renkte görülen hızlı fakat kısa süreli kasılabilen liflerdir. Enerjilerini anaerobik yolla sağlarlar.

Ara lifler ise kırmızı ve beyaz lifler arasında özelliklere sahiptirler.

Genelde omurgalıların iskelet kaslarının bu üç tür lif karışımında olduğu kabul edilir. Ancak bugün liflerin morfolojik, fizyolojik ve histokimyasal kriterlere göre sınıflandırılması oldukça tartışmalıdır. Kasın kasılma özelliklerinin kas içindeki farklı lif tiplerinin oranları ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (Brooke ve Kaiser, 1970; Sickles ve Pinkstaff, 1981; McIntosh ve ark., 1985; Acosta ve Roy, 1987; Fouces ve ark., 1993; Guyton, 1994).

Ayrıca, enine kesitlerde beyaz liflerin kırmızı liflere göre daha büyük çaplı olduğu görülür. Ara lifler ise bu iki lif tipi arasında bir çapa sahiptir. Böylece iskelet kasında, kas liflerinin çaplarının da liflerin sınıflandırılmasında geçerli olabileceği bildirilmektedir (Watanabe ve ark., 1978a,b; Kilarski ve Kozłowska, 1985; Ogata, 1988a; Kilarski, 1990; Carry ve ark., 1993). Bu nedenle çalışmamızda kas liflerinin morfolojisine dayalı gözlemler yanında kas liflerinin çapları ve birbirine oranları da çalışılan hayvanlarda kıyaslanmıştır.

Mevcut literatüre göre, memeli kasları oldukça fazla çalışılmıştır. Yine de bir memelinin tüm kaslarının lif kompozisyonu sistematik bir şekilde incelenmemiştir. Kuşlarda pektoral kasın yapısı ve bu kasın kasılma özellikleri hakkında çok şey bilinmemektedir (Armstrong ve ark., 1982; Gleeson, 1983; Lalatta ve ark., 1992). Kertenkele ve kurbağada mevcut kas liflerinin tipleri üzerinde çok daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulmaktadır (Smith ve Ovalle, 1973). Balıkta ise kas liflerinin yüzme sırasındaki fonksiyonları ve bu liflerin metabolizmaları hakkında az şey bilinmektedir (Kilarski ve Kozłowska, 1983). Bu nedenlerle bu çalışmanın amacı, beş ayrı omurgalı hayvanın pektoral kasında histolojik ve histokimyasal teknikler kullanarak, lif tipleri üzerinde ilave, geçerli bilgi sağlamak ve aynı zamanda kuşlarda iri yapılı ve çok gelişmiş olduğu bildirilen bu kası (Rosser ve George, 1985), diğer omurgalı gruplarına ait hayvanlarla karşılaştırarak yapısının daha iyi bir şekilde anlaşılmasına yardımcı olmaktır.

2. MATERYAL ve METOD

Bu çalışmada; memeli, kuş, sürüngen, kurbağa ve balık sınıfına ait hayvanlar (tavşan, serçe, kertenkele, kurbağa ve alabalık) kullanıldı.

Her bir gruba ait dörder adet hayvandan Nikon marka diseksiyon mikroskobu yardımıyla alınan pektoral kas örneklerinin yarısı, histolojik yapıyı belirleyebilmek amacıyla %10'luk formaldehid ile tespit edildikten sonra parafine gömüldü; diğer yarısına ise enzim histokimyası için dondurma yöntemi uygulandı.

Reichert marka çarklı mikrotom ile parafin bloklardan elde edilen 5µm kalınlığındaki kesitlere;

1. *Genel histolojik yapıyı belirlemek amacıyla Harris'in Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi (Harris'in hematoksilen solusyonu, 1900), Bancroft ve Stevens'dan (1982) uygulandı.*
 - a. *Parafin kesitler; ksilol ve alkol serilerinden geçirilerek suya indirilir,*
 - b. *Hematoksilen boyaması 30 dakika (Ek Açıklamalar-A),*
 - c. *Çeşme suyunda boyanın fazlası akıtılır,*
 - d. *Asit-alkolde farklılaştırma yapılır,*
 - e. *Çeşme suyunda yıkanır,*
 - f. *Eozin boyamasında 1-2 dakika (Ek Açıklamalar-B),*
 - g. *Saf suda yıkanır,*
 - h. *Alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek kanada balzamu ile kapatılır.*
2. *Kas liflerindeki glikojen içeriğini saptayabilmek amacıyla Periodic acid-Schiff yöntemi (Mc Manus'un PAS yöntemi, 1946), Bancroft ve Stevens'dan (1982) uygulandı.*
 - a. *Parafin kesitler; ksilol ve alkol serilerinden geçirilerek suya indirilir,*
 - b. *Periodik asitte 5 dakika tutulur (Ek Açıklamalar-C),*
 - c. *Saf suda yıkanır,*
 - d. *Schiff reaktifinde 15 dakika boyanır (Ek Açıklamalar-D),*
 - e. *Çeşme suyunda yıkanır,*

- f. Hematoksilen'de 1 dakika boyanır,*
- g. Çeşme suyunda yıkanır,*
- h. Saf sudan geçirilir,*
- ı. Alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek kanada balzamu ile kapatılır.*

Hayvanlardan diseksiyonla alınan taze kas örnekleri, bekletilmeksizin -20°C'de dondurularak, Damon marka dondurma mikrotomu ile 12-15 µm kalınlığında kesitler alındı;

- 1. Bu kesitlere; lif tiplerini belirlemek amacıyla asit ile ön inkübasyondan sonra (pH 4,3), Miyozin-ATPaz yöntemi (Padykula ve Herman, 1955), Pearse'dan (1968) uygulandı.*
 - a. Taze doku kesitleri; pH 4,3'de, ön inkübasyon solusyonunda 5 dakika yüzdürülür (Ek Açıklamalar-E),*
 - b. 37°C'de inkübasyon ortamında 45 dakika bırakılır (Ek Açıklamalar-F),*
 - c. %1'lik CaCl₂'de üç kere yıkanır (üç ayrı kap içinde),*
 - d. %2'lik CoCl₂'de 3 dakika tutulur,*
 - e. Saf suda 1 dakika yıkanır,*
 - f. %1'lik sulandırılmış sarı Amonyum sülfid içinde geliştirilir,*
 - g. Çeşme suyunda yıkanır,*
 - h. Alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek kanada balzamu ile kapatılır.*
- 2. Kas lifleri içindeki mitokondri dağılımını izleyebilmek amacı ile Suksinik dehidrogenaz (SDH) yöntemi (Bancroft ve Stevens, 1982);*
 - a. Taze doku kesitleri, 37°C'de 30 dakika inkübasyon ortamında tutulur (Ek Açıklamalar-G),*
 - b. %15'lik Formal tuzunda, 15 dakika tutulur (Ek Açıklamalar-H),*
 - c. Saf suda yıkanır,*
 - d. Alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek kanada balzamu ile kapatılır.*
- 3. Liflerin lipid içeriklerini gözleyebilmek amacı ile de Sudan siyahı B yöntemi (Ogata, 1958) uygulandı.*
 - a. Taze doku kesitleri %70'lik alkolden geçirilir,*
 - b. %70'lik alkol içinde doygün Sudan siyahı B ile 20 dakika boyanır,*
 - c. %50'lik alkolde yıkanır,*

- d. Çeşme suyunda yıkanır,*
- e. Gliserinle kapatılır.*

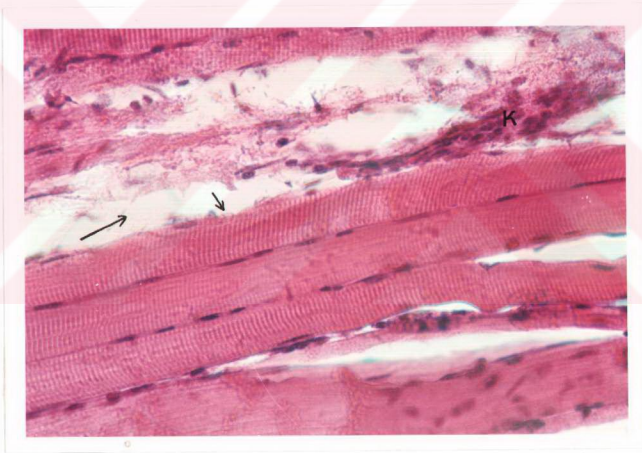
Ayrıca türlere ait kas örneklerinin SDH reaksiyonu ile boyanmış enine kesitlerinde lif çaplarının ölçümleri, Armstrong ve arkadaşlarının (1982) kullandığı yöntemle göre seçilmiş bölgelerdeki liflerden oküler mikrometrik diskle, 400 büyültmede yapıldı. Lif tipleri, her preparat için 101,736 mikrometrekarelik altı bölgede, 400 büyültme ile sayıldı ve ortalamaları alındı. Böylece lif çapları ve yüzdeleri tablolar halinde sunuldu.



3. BULGULAR

3.1. Hematoksilen - Eozin Boyama Yöntemi

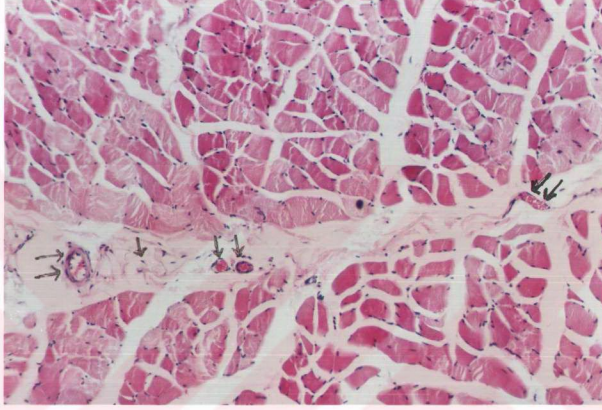
Hematoksilen-Eozin boyama yöntemiyle, boyuna kesitlerde kas lifleri uzun, silindirik yapılar şeklinde görüldü. Kas liflerinin nükleusları genelde periferik görünümde sarkolemmmanın hemen altında yerleşmişti. Nükleuslar oval, uzun uçları küt biçimdeydi. Kas liflerinin çoğunda izotrop (I) ve anizotrop (A) bandlar, enine çizgilenme şeklinde görülüyordu. Kas lifleri genelde sıkı tertiplenmiş, hatta intersellüler aralıklarda ince bağ dokusu çoğu kez seçilemiyordu. Ancak yine de bazı lifler arasındaki bağ dokusu içinde kılcal kan damarları ve bağ dokusu hücreleri izleniyordu (Şekil 3.1.1).



Şekil 3.1.1. Tavşan pektoral kası liflerinin boyuna kesitinde kas lifleri (kısa ok), bağ dokusu aralığı (uzun ok). K: Kılcal kan damarları izlenmekte. Hem.-Eo., x 500.

Enine kesitlerde küçük büyültmelerde kasın, bağ dokusu ile sarılı kas demetlerinden yapılmış olduğu görülüyordu. Kas demetleri çap yönünden farklı olduğu gibi, demetleri oluşturan kas liflerinin de çapları farklıydı. Yani;

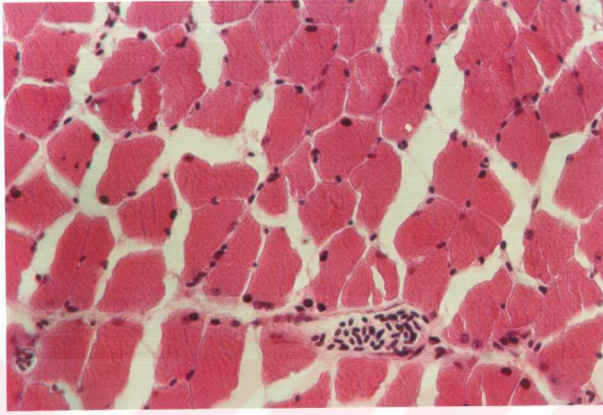
kas demeti içinde geniş çaplı lifler yanında daha küçük lifler de yer alıyordu. Demetler arasındaki bağ dokusu gevşek bağ dokusu yapısındaydı. Böylece bu bağ dokusu bölmelerde, mekik biçimi ve yuvarlak, çeşitli bağ dokusu hücreleri yanında kası besleyen kan damarları da izleniyordu (Şekil 3.1.2).



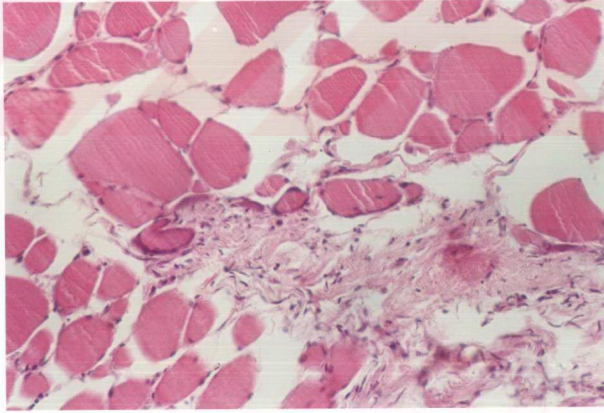
Şekil 3.1.2. Tavşan iskelet kası enine kesitinde, geniş bağ dokusu ile sarılı kas demetleri ve demetleri oluşturan kas lifleri. Bağ dokusu bölmelerde kan damarları (çift ok) ve bağ dokusu hücreleri (tek ok) izlenmekte, Hem.-Eo., x 100.

Enine kesitlerde kas demetleri sıkı bir şekilde paketlenmiş poligonal kas liflerinden yapılmıştı. Tavşan, serçe ve alabalıkta kas lifleri içinde nukleuslar, lifin genellikle sarkolemması altında yer almasına karşın (Şekil 3.1.3 ve 3.1.4), kurbağa ve kertenkelede, liflerin iç kısmında (internal) bulunuyordu (Şekil 3.1.5).

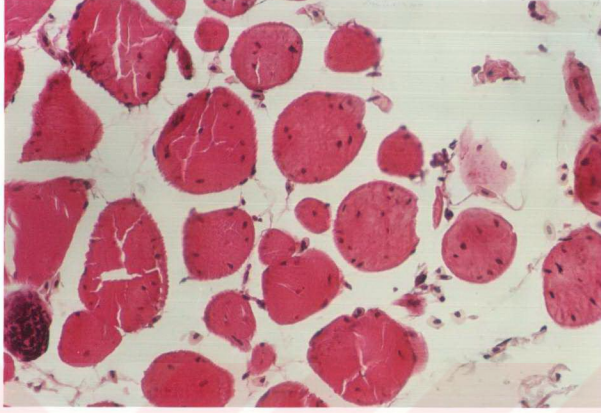
Demetlerdeki bu kas lifleri eozinle (eozinofil) boyanmıştı. Eozinofil sitoplazma genelde büyük büyültmelerde ince granüllü görülüyordu. Bu granüller kas sitoplazmasındaki miyofibrillerin enine kesitlerine uymaktadır. Ancak tavşanda kas liflerinin çoğu yukarıda belirtilen yapıda görülmesine karşın bazı liflerin sitoplazması eozinle daha açık boyanıyordu. Böyle liflerin sitoplazmasında çoğu kere Cohnheim alanları seçilebiliyordu. Böyle açık renk liflerin çapıda genelde demet içindeki liflere oranla daha küçüktü (Şekil 3.1.6).



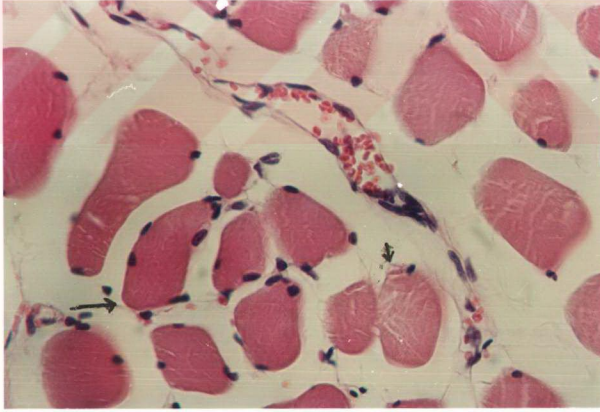
Şekil 3.1.3. Tavşan pektoral kası enine kesiti. Poligonol biçimli kas liflerinin sitoplazması eozinofil boyanmış ve granüllü yapı belirgin. Liflerin nükleusları periferik yerleşimli, Hem.-Eo., x 250.



Şekil 3.1.4. Alabalık pektoral kası enine kesitinde kas liflerinin görünümü. Liflerin nükleusları periferik yerleşimli, Hem.-Eo., x 250.

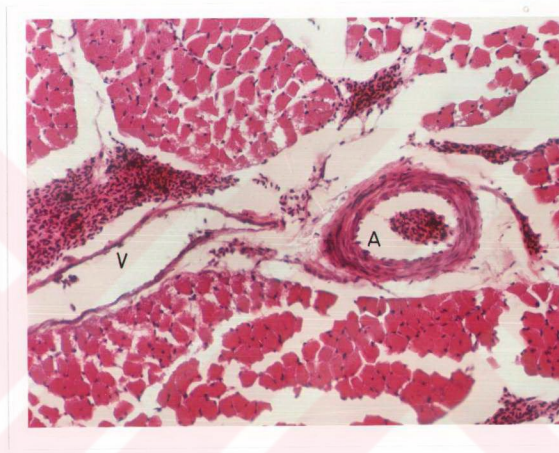


Şekil 3.1.5. Kurbağa pektoral kası enine kesitinde kas liflerinin görünümü. Lifler yuvarlak biçimde. Nukleuslar liflerin ortasında yerleşimli, Hem.-Eo., x 250.



Şekil 3.1.6. Tavşan pektoral kası enine kesitinde bazı liflerde Cohnheim alanları belirgin olarak izlenmekte (kısa ok), bazılarında belirgin değil (uzun ok), Hem.-Eo., x 500.

Enine kesitlerde kas lifi demetleri arasındaki genişçe bağ dokusu bölmeleri içinde kan damarları yer alıyordu. Böylece arterlerin muskular yapıdaki orta tabakası (*tunika media*) ve bağ dokusundan yapılmış dış tabakası (*tunika adventitia*) belirgin izlendi. Venler ise yakınındaki arterlere benzer bir çapta ve daha ince duvarlıydı. Bu genişçe bağ dokusu bölmelerinde lif demetleri içinde daha ince damar dalları olan arteriol, venül ve kapillerler yer alıyordu (Şekil 3.1.7).

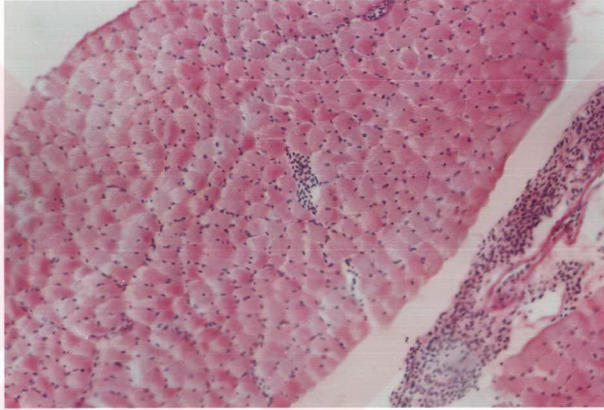


Şekil 3.1.7. Serçe pektoral kası enine kesitinde bağ dokusu bölmelerde kan damarları izlenmekte. A: Arter, V: Ven, Hem.-Eo., x 250.

3.2. Periyodik asid - Schiff (PAS) Boyama Yöntemi

PAS yöntemiyle serçe pektoral kasında genel olarak lifler zayıf boyandı (Şekil 3.2.8). Diğer türlerde ise pektoral kası oluşturan liflerin boyanma yoğunluğu farklılık gösterdi. Böylece tavşan pektoral kasında kuvvetli boyanan beyaz lifler yanında boyanın spesifik renginden daha açık boyanan kırmızı lifler ile az yoğun boyanan ara lifler izlendi (Şekil 3.2.9). Kertenkelede bu boyama yöntemiyle liflerin hepsi zayıf reaksiyon verdi. Liflerin çevresinde yoğun PAS

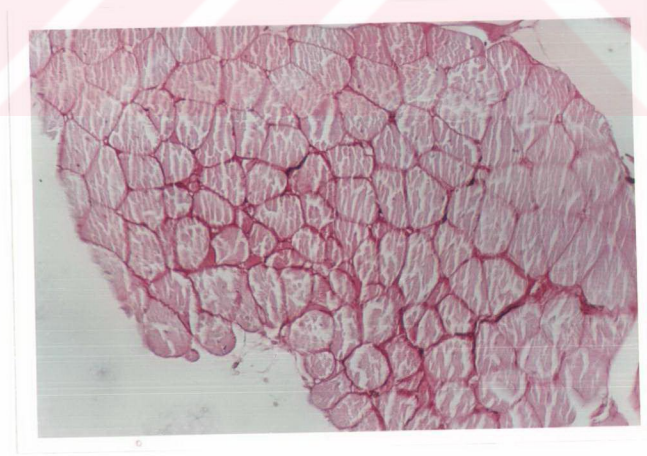
pozitif boyanmanın nedeni, lifleri çevreleyen bağ dokusu kılıfıdır (Şekil 3.2.10). Kurbağanın pektoral kasında kuvvetli pozitif boyanan küçük çaplı lifler yanında daha zayıf boyanan büyük ve küçük çaplı lifler izlendi. Bu liflerin bazılarında periferik bölgelerde boyanma daha kuvvetliydi (Şekil 3.2.11). Alabalık pektoral kasında en küçük çaplı lifler kuvvetli PAS pozitif boyanırken, en büyük çaplı lifler ise daha zayıf pozitif boyandı. Bazı liflerde boyanma şiddeti ikisi arası bir özellik gösterdi (Şekil 3.2.12).



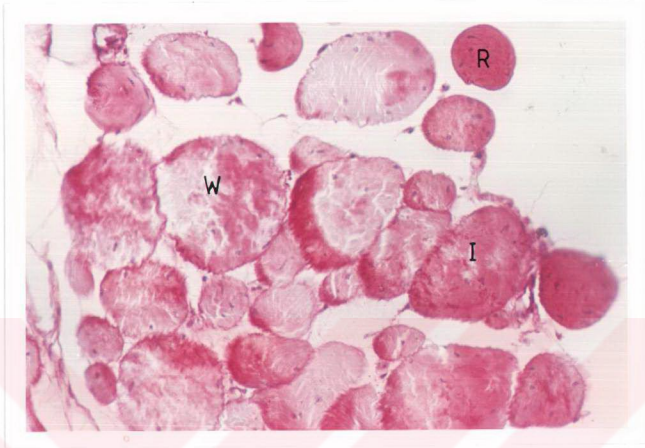
Şekil 3.2.8. Serçe pektoral kası enine kesiti; kırmızı lifler, PAS, x 250.



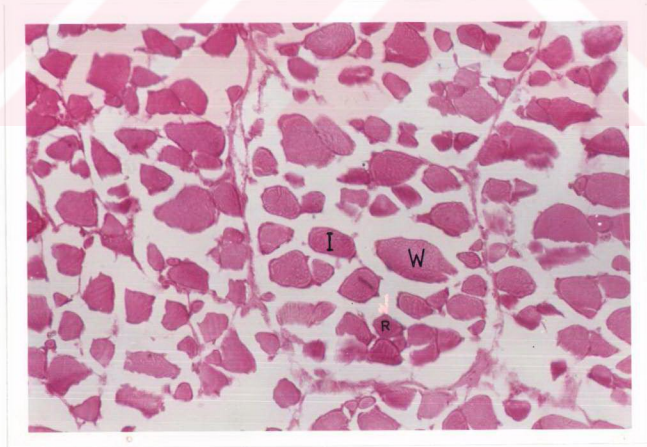
Şekil 3.2.9. Tavşan pektoral kası enine kesiti: kırmızı (R), beyaz (W) ve ara (I) lifler, PAS, x 250.



Şekil 3.2.10. Kertenkele pektoral kası enine kesiti, PAS, x 250.



Şekil 3.2.11. Kurbağa pectoral kası enine kesiti; kırmızı (R), beyaz (W) ve ara (I) lifler, PAS, x 250.



Şekil 3.2.12. Alabalık pectoral kası enine kesiti; kırmızı (R), beyaz (W) ve ara (I) lifler, PAS, x 250.

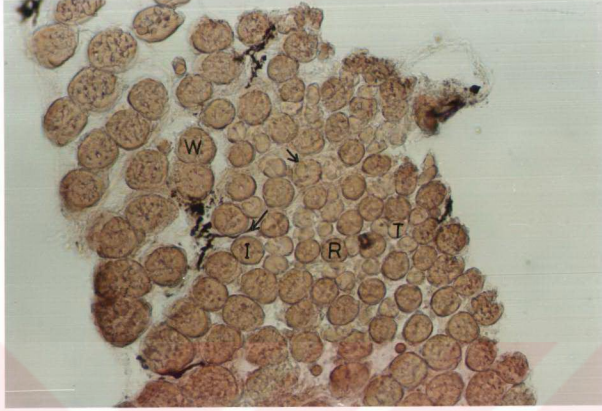
3.3. Miyozin-Adenozintrifosfataz (M-ATPaz) Yöntemi

Asit ön muamelesinden sonra M-ATPaz uyguladığımız preparasyonlarımızda, kas liflerinin boyanma şiddetinin incelenen gruplarda farklı olduğu görüldü. Böylece tavşan (Şekil 3.3.13), kertenkele (Şekil 3.3.14), kurbağa (Şekil 3.3.15) ve alabalık (Şekil 3.3.16) pektoral kasında kırmızı, beyaz ve ara olmak üzere üç lif tipi ayırtedilebildi. Oysa, serçe pektoral kasının hemen tümüyle koyu boyanan kırmızı liflerden oluştuğu gözlemlendi (Şekil 3.3.17).

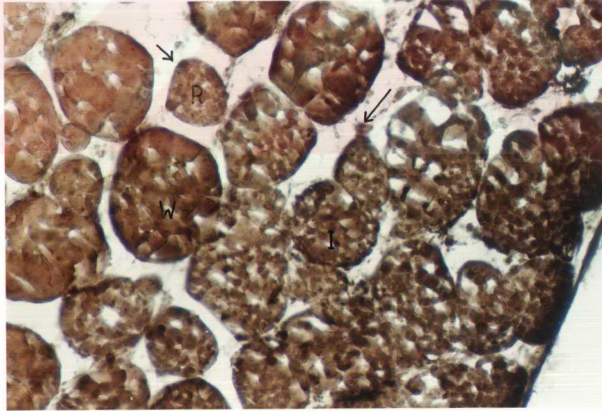
Kırmızı lifler; tavşan (Şekil 3.3.13), alabalık (Şekil 3.3.16) ve serçede (Şekil 3.3.17) diğer lif tiplerinden daha koyu boyanmıştı. Böyle lifler, tavşan ve alabalıkta kolay bir şekilde ayırtedilebiliyordu (Şekil 3.3.13 ve 3.3.16). Kertenkelede ise bu lif tipi genel olarak biraz daha koyu veya bazanda ara liflere benzer tarzda boyanmıştı (Şekil 3.3.14). Oysa kurbağada kırmızı lifler, diğer grupların kırmızı liflerinden daha büyük çaplı olması (Şekil 3.3.15) ve çevresindeki diğer lif tiplerinden daha açık boyanması ile farklı özellik gösteriyordu (Şekil 3.3.15).



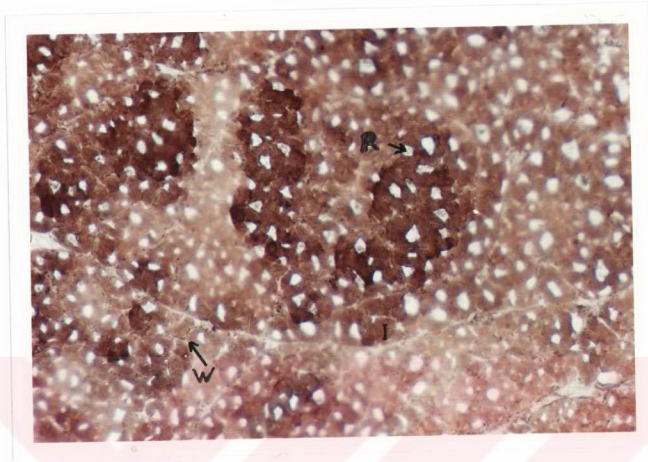
Şekil 3.3.13. Tavşan pektoral kası enine kesiti; kırmızı (R), beyaz (W) ve ara (I) lifler. M-ATPaz, x 100.



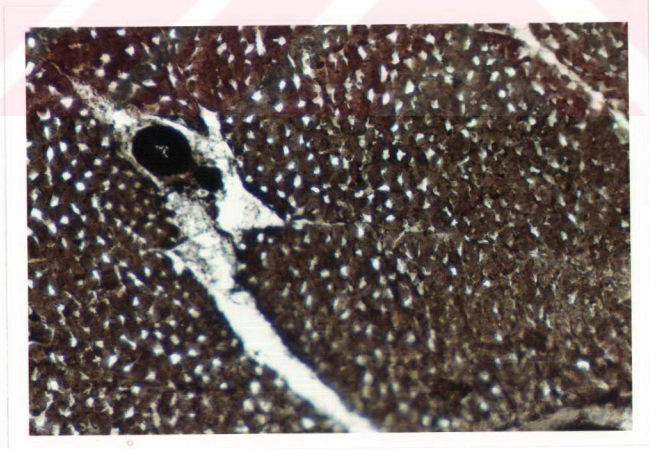
Şekil 3.3.14. Kertenkele pektoral kası enine kesiti; kırmızı (R), beyaz (W) ve ara (I) lifler. Ara lifler, kırmızı liflerden biraz daha açık (kısa ok) veya bazıları kırmızı liflere benzer yoğunlukta boyandı (uzun ok), M-ATPaz, x 100.



Şekil 3.3.15. Kurbağa pektoral kası enine kesiti; kırmızı (R), ara (I) ve beyaz (W) lifler. Kırmızı lif tipi diğer türlerdekine kıyasla daha büyük çaplı. Bu lifler, ara liflerden açık (kısa ok) veya bazen de ara liflere benzer bir şekilde koyu boyandı (uzun ok). Büyük çaplı beyaz lifler diğer lif tiplerine kıyasla daha koyu boyandı. M-ATPaz, x 100.



Şekil 3.3.16. Alabalık pectoral kası enine kesiti; kırmızı (R), ara (I) ve beyaz (W) lifler, M-ATPaz, x 100.



Şekil 3.3.17. Serçe pectoral kası enine kesiti; kırmızı lifler, M-ATPaz, x 100.

Ara lif tipi, kurbağa pektoral kasında, daha koyu veya kertenkele kasında olduğu gibi, daha açık veya bazen de kırmızı liflere benzer tarzda boyandı (Şekil 3.3.14 ve 3.3.15). Fakat bu liflerin çapı, kırmızı liflerden daha büyük, beyaz liflerden ise daha küçüktü. Böyle lifler, tavşan ve alabalıkta orta şiddette boyanarak kırmızı ve beyaz lif tipinden kolay bir şekilde ayırtedilebildi (Şekil 3.3.13 ve 3.3.16).

Beyaz lifler tavşan ve alabalıkta zayıf boyandı (Şekil 3.3.13 ve 3.3.16). Kertenkelede ise bu lif çeşidi kırmızı liflerden daha zayıf fakat çok belirgin olmayan bir boyanma gösterdi, ancak diğer lif tiplerinden daha büyük çaplı olduğu için kolayca ayırtedilebildi (Şekil 3.3.14). Oysa kurbağadaki büyük çaplı beyaz lifler daha koyu boyandı (Şekil 3.3.15).

Aynı zamanda kertenkele pektoral kasında, tonik lif olarak tanımlayabileceğimiz az sayıda, küçük çaplı ve çok açık boyanmış lif tipi de izlenmiştir (Şekil 3.3.15).

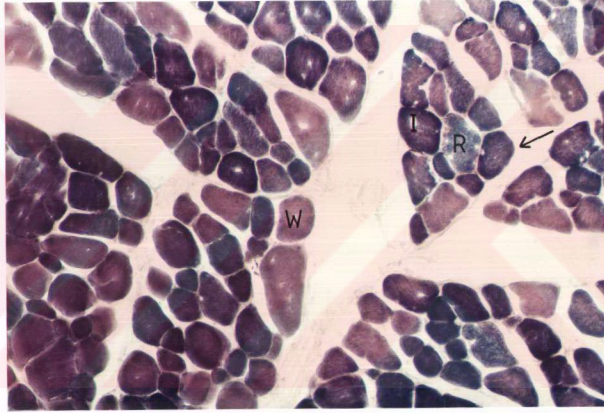
Lif tiplerinin M-ATPaz aktivitesi Tablo 3.3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.3.1. Lif tiplerinin M-ATPaz aktivitesi. ++: Koyu, +: Orta, ve -: Zayıf.

<i>Lif Tipi</i>	<i>Tavşan</i>	<i>Serçe</i>	<i>Kertenkele</i>	<i>Kurbağa</i>	<i>Alabalık</i>
<i>Kırmızı</i>	++	++	++/+	-	++
<i>Ara</i>	+	Yok	+	+	+
<i>Beyaz</i>	-	Yok	-/+	++	-

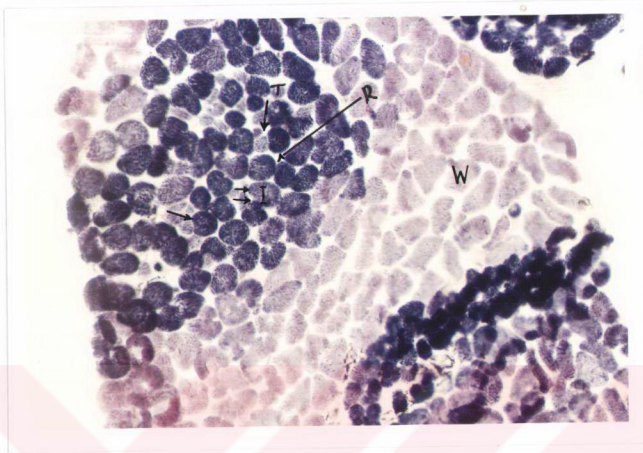
3.4. Suksinik Dehidrogenaz (SDH) Yöntemi

İskelet kası liflerinin ayırteedilmesinde mükemmel sonuç veren bu yöntem ile; tavşan (Şekil 3.4.18), kertenkele (Şekil 3.4.19), kurbağa (Şekil 3.4.20) ve alabalık (Şekil 3.4.21) pektoral kasında kırmızı, beyaz ve ara olmak üzere üç lif tipi ayırteedilebildi. Oysa, serçe pektoral kasının hemen tümüyle koyu boyanan kırmızı liflerden oluştuğu gözleendi (Şekil 3.4.22).



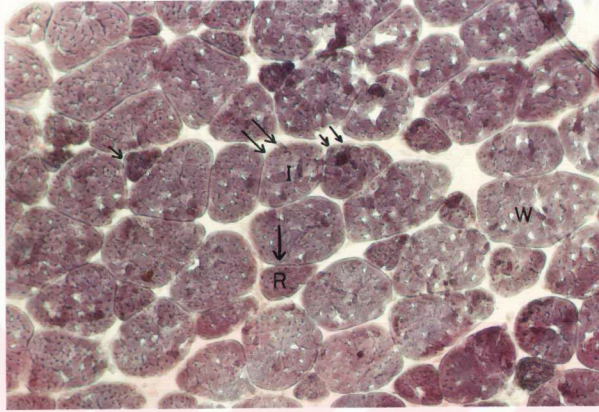
Şekil 3.4.18. Tavşan pektoral kası enine kesiti; kırmızı (R), ara (I) ve beyaz (W) lifler. Koyu boyanmış ara liflerde küçük granüller, daha çok sarkolemmmanın altında toplanmış (uzun ok). Zayıf boyanmış beyaz liflerde granüller, sarkoplazma boyunca seyrek, SDH, x 100.

Serçe pektoral kasını oluşturan kırmızı lifler, incelenen diğer grupların pektoral kasındaki kırmızı liflerden daha küçük çaplıydı. Fakat liflerin çapı tümüyle aynı değildi (Şekil 3.4.22). Genel olarak liflerin enine kesitinde, sarkoplazmada mitokondrilerin yoğun olduğu bölgeleri ifade eden granüller, daha çok sarkolemmmanın hemen altında olmak üzere tüm sarkoplazmada izleniyordu.



Şekil 3.4.19. Kertenkele pectoral kası enine kesiti; kırmızı (R), ara (I), beyaz (W) ve tonik (T) lifler. İri granüller, kırmızı liflerin sarkoplazmasında homojen dağılmış olarak izlenmekte (kısa ok). Ara liflerin periferinde yoğun, orta kısmında seyrek granüller görülmekte (kısa çift ok). Zayıf boyanmış beyaz liflerde granüller daha çok sarkolemmanın hemen altında olmak üzere, tüm sarkoplazmada daha seyrektir. Tonik liflerin sarkoplazmasında koyu boyanmış, homojen dağılımlı, açık mavi renkli iri granüller izlenmekte, SDH, x 100.

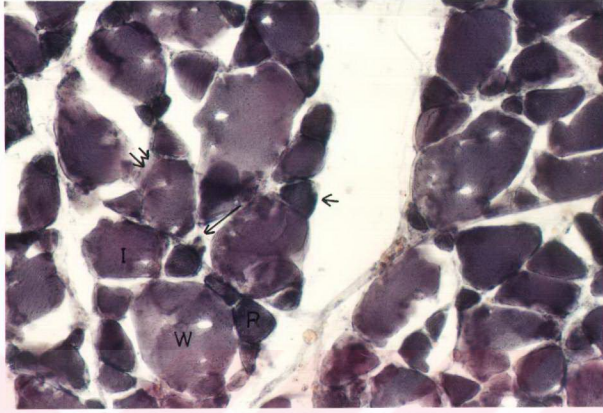
Tavşanda, kırmızı lifler az sayıydı. Bu liflerin sarkoplazmasında, iri granüller homojen dağılımlıydı (Şekil 3.4.18). Kertenkelede ise kırmızı lifler, beyaz liflerden sonra en fazla sayıydı. Bu lifler, ara liflerden daha küçük çaplıydı. Yuvarlak ve poligonal şekilli olan böyle liflerin sarkoplazmasında, çok koyu boyanmış granüllerin lifin her tarafına düzenli bir şekilde dağıldığı izleniyordu (Şekil 3.4.19). Oysa kurbağada, kırmızı liflerin sayısı beyaz liflerden çok azdı. Bu lifler, köşeleri keskin olmayan üçgen biçiminde olup büyüklükleri farklıydı. En küçük lifler, en koyu boyananlardı ve sitoplazmalarında granüller izlenmiyordu. Öte yandan daha büyük çaplı kırmızı liflerin sitoplazmasında, granüller tüm sitoplazmada homojen dağılmış olarak izlendi (Şekil 3.4.20). Alabalıkta, sayıca çok olan kırmızı lifler büyüklük ve şekil yönünden farklılık gösterdi ve diğer liflere kıyasla daha kuvvetli boyandı. Bazı lifler çok koyu boyandığından sitoplazmada granüller seçilemezken, diğer bir kısmında granüller izlenebiliyordu. Böyle liflerde granüllerin tüm sarkoplazmada düzenli bir şekilde dağıldığı görüldü (Şekil 3.4.21).



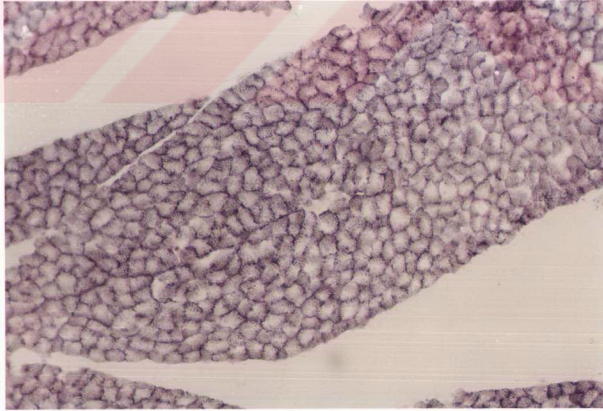
Şekil 3.4.20. Kurbağa pektoral kası enine kesiti; kırmızı (R), ara (I) ve beyaz (W) lifler. Küçük kırmızı lifler, koyu boyandı ve bu nedenle sitoplazmalarındaki granüller belirgin değildi (kısa ok). Oysa büyük çaplı kırmızı liflerin sarkoplazmasında, granüllerin homojen dağılmış olduğu gözlemlendi (uzun ok). Ara lifler, kırmızı liflere benzer bir şekilde koyu (kısa çift ok) veya daha açık boyanmış (uzun çift ok). Sarkoplazmadaki granüller iri ve seyrek. Beyaz liflerde ince çok seyrek homojen dağılımlı granüller görülmekte, SDH, x 100.

İncelenen grupların pektoral kasında, ara liflerin boyanma yoğunluğu ve çapı kırmızı ve beyaz lifler arasında bir özellik gösterdi.

Şekil ve büyüklük yönünden farklılık gösteren ara lifler, tavşanda en fazla sayıdaydı (%51,3) ve diğer gruplardakinden çok daha koyu bir şekilde boyanmıştı. Bu liflerin orta kısmı daha az granüllü olduğundan daha açık görülmüyordu; ancak granüller daha çok sarkolemanın altında toplanmıştı. Bu granüller, kırmızı liflerdeki granüllere kıyasla daha küçüktü (Şekil 3.4.18). Kertenkelede bu lif tipi, kırmızı liflerden büyük, beyaz liflerden ise daha küçük çaplıydı (41,9 μ m) ve genelde yuvarlağımsı görünümdeydi. Sarkoplazmadaki granülleri genellikle kenarda yoğun, orta kısımlarda daha seyrek idi (Şekil 3.4.19). Kurbağada ise ara lifler, şekil ve büyüklük yönünden farklıydı. Bu lifler köşeleri keskin olmayan üçgen veya yuvarlak biçimliydi. Bu lif tipi,



Şekil 3.4.21. Alabalık pektoral kası enine kesiti; kırmızı (R), ara (I) ve beyaz (W) lifler. Koyu boyanmış kırmızı liflerin sarkoplazmasında granüller seçilemezken (kısa ok) açık boyanmış kırmızı liflerin sarkoplazmasında granüller tüm sarkoplazmada düzenli olarak dağılmıştı (uzun ok). Ara liflerin sarkoplazmasında seyrek ve homojen dağılımlı granüller izlenmekte (çift ok). Zayıf boyanmış beyaz liflerde seçilemeyecek derecede seyrek ve ince granüller görülmekte, SDH, x 250.



Şekil 3.4.22. Serçe pektoral kası enine kesiti; kırmızı lifler, SDH, x 250.

kırmızı liflere benzer bir şekilde veya daha açık tonda boyanmıştı. Her iki tipte de granüller tüm sitoplazmada homojen olarak dağılmıştı. Granüller, kırmızı liflerdeki granüllerden daha iri ve daha seyrek (Şekil 3.4.20).

Alabalıkta, orta büyüklükteki ara liflerin şekilleri genellikle poligonal olup orta yoğunlukta boyanmıştı. Sarkoplazmadaki granülleri kırmızı liflere göre daha az olup homojen dağılımlıydı (Şekil 3.4.21).

Kırmızı liflerden daha az sayıda olan beyaz lifler, tavşan pektoral kasında oval ve uzuncaydı. Bu lifler şekil ve büyüklük yönünden farklılık gösteriyordu. Genel olarak, liflerin periferi daha koyu, orta kısmı biraz daha açık boyanmıştı. Bu liflerin sarkoplazmasındaki granüller daha inceydi (Şekil 3.4.18). Kertenkelede sayıca çok olan beyaz lifler, uzunca ve poligonal şekilli idi. Granüller seyrek, ince ve sarkoplazmadan merkeze doğru homojen olarak dağılmıştı (Şekil 3.4.19). Beyaz lifler, kasın belirli bölgesinde kümelenme gösteriyordu. Oysa, kurbağada liflerin büyük bir kısmını oluşturan büyük beyaz lifler, diğer lif tiplerine kıyasla biraz daha açık boyanmıştı ve sarkoplazmada çok az, seyrek, ince ve homojen dağılımlı granüller vardı (Şekil 3.4.20). Açık boyanmış büyük beyaz lifler, alabalıkta en az sayıdaydı ve seçilemeyecek derecede seyrek ve ince granüllüydü (Şekil 3.4.21).

Aynı zamanda kertenkele pektoral kasında, diğer liflere kıyasla çok daha küçük çaplı olan ($24,9 \pm 0,84$) ve kasın belirli bir bölgesinde kümelenme gösteren az sayıda (%11) tonik lifte ayırtedilmiştir. Bu liflerin sarkoplazmasında koyu boyanmış, homojen dağılımlı, açık mavi renkli iri granüller izlenmiştir (Şekil 3.4.19).

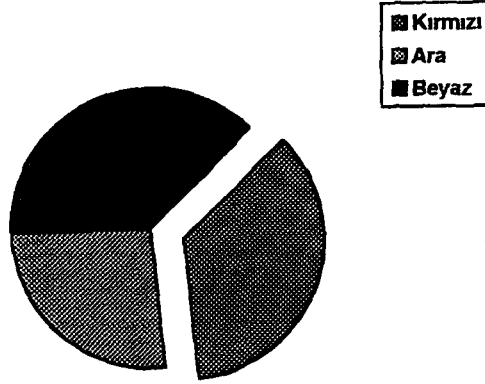
Mitokondrilerin kas lifleri içindeki dağılımı Tablo 3.4.2'de gösterilmiştir. SDH aktivitesine göre, lif tiplerinin çapları, Tablo 3.4.3 ve Şekil 3.4.3.1 (a, b, c, d, e)'de; lif tipi oranları ise, Tablo 3.4.4 ve Şekil 3.4.4.1 (a, b, c, d, e)'de gösterilmiştir.

Tablo 3.4.2. Kas lifleri içinde mitokondri dağılımı.

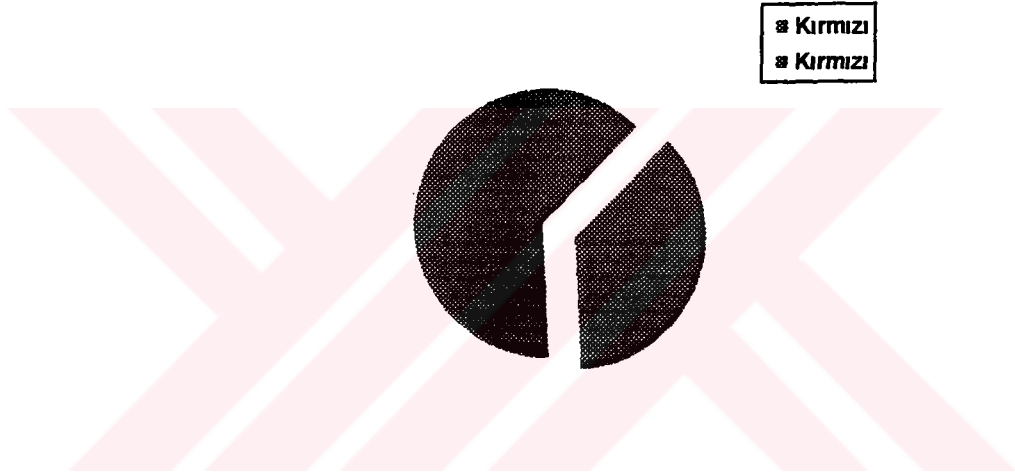
<i>Lif tipi</i>	<i>Tavşan</i>	<i>Serçe</i>	<i>Kertenkele</i>	<i>Kurbağa</i>	<i>Alabalık</i>
Kırmızı	Sarkoplazmada düzenli dağılmış.	Daha çok sarkolemmanın altında olmak üzere tüm sarkoplazmada düzenli dağılmış.	Sarkoplazmada düzenli dağılmış..	Sarkoplazmada düzenli veya bazan da belirgin olmayan bir dağılım.	Sarkoplazmada düzenli veya bazan da belirgin olmayan bir dağılım.
Ara	Daha çok sarkolemmanın altında olmak üzere tüm sarkoplazmada seyrek ve düzenli.	Yok	Daha çok sarkolemmanın altında toplanmış.	Sarkoplazmada seyrek ve düzenli.	Sarkoplazmada seyrek ve düzenli.
Beyaz	Sarkoplazma boyunca seyrek	Yok	Daha çok sarkolemmanın altında olmak üzere sarkoplazma boyunca seyrek dağılmış	Sarkoplazma boyunca düzenli ve çok seyrek dağılmış.	Sarkoplazma boyunca çok seyrek.

Tablo 3.4.3. SDH aktivitesine göre, lif çapı. *n*: 20'dir (n: Ölçülen lif sayısı).

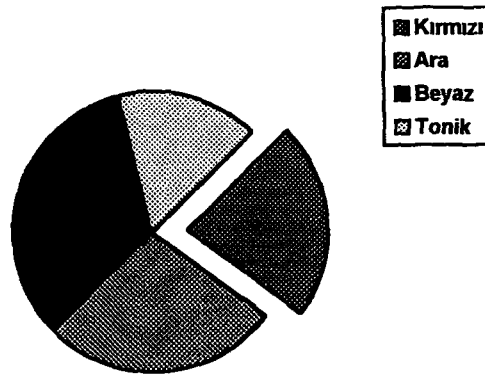
<i>Lif Çapı (μm)</i>					
<i>Lif tipi</i>	<i>Tavşan</i>	<i>Serçe</i>	<i>Kertenkele</i>	<i>Kurbağa</i>	<i>Alabalık</i>
Kırmızı	58,5 ± 1,93	<i>Küçük</i>	35,1 ± 0,66	54,2 ± 0,69	43,3 ± 1,95
		<i>Büyük</i>			
Ara	42,0 ± 1,49		41,9 ± 0,79	84,3 ± 0,58	99,1 ± 0,80
Beyaz	61,7 ± 19,4		51 ± 0,69	157,9 ± 0,99	130,6 ± 0,60



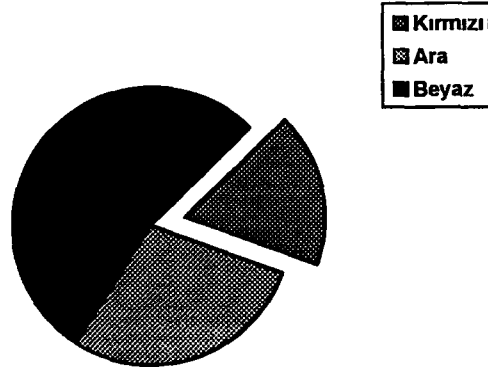
Şekil 3.4.3.1.a.: Tavşanda SDH ile boyanmasına göre lif tiplerinin çapları.



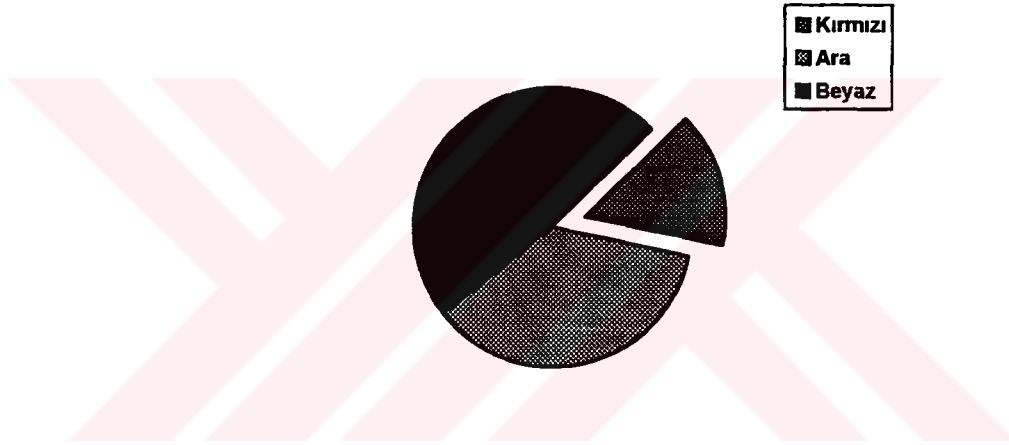
Şekil 3.4.3.1.b.: Serçede SDH ile boyanmasına göre lif tiplerinin çapları.



Şekil 3.4.3.1.c.: Kertenkelede SDH ile boyanmasına göre lif tiplerinin çapları.



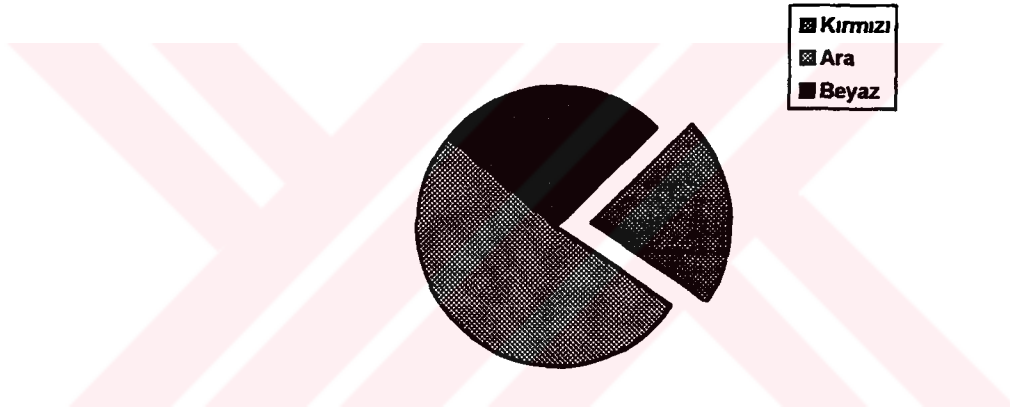
Şekil 3.4.3.1.d.: Kurbağada SDH ile boyanmasına göre lif tiplerinin çapları.



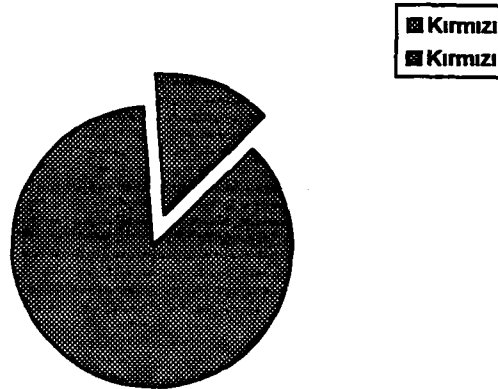
Şekil 3.4.3.1.e.: Alabalıkta SDH ile boyanmasına göre lif tiplerinin çapları.

Tablo 3.4.4. SDH aktivitesine göre lif tiplerinin oranları:

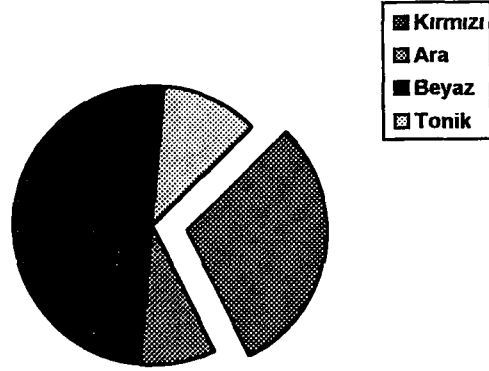
<i>Lif Tipi (%)</i>						
<i>Çalışılmış Hayvan</i>	<i>Kırmızı</i>		<i>Ara</i>		<i>Beyaz</i>	
	<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
<i>Tavşan</i>	40	22	93	51,3	48	26,5
<i>Serçe</i>	<i>Küçük</i> 64,4	<i>Çaplı</i> 86,5	-	-	-	-
	<i>Büyük</i> 100	<i>Çaplı</i> 13,4	-	-	-	-
<i>Kertenkele</i>	55	30,5	15	8,33	90	50
<i>Kurbağa</i>	8	28,5	4	14,2	16	57,1
<i>Alabalık</i>	27	47,3	21	36,8	9	15,7



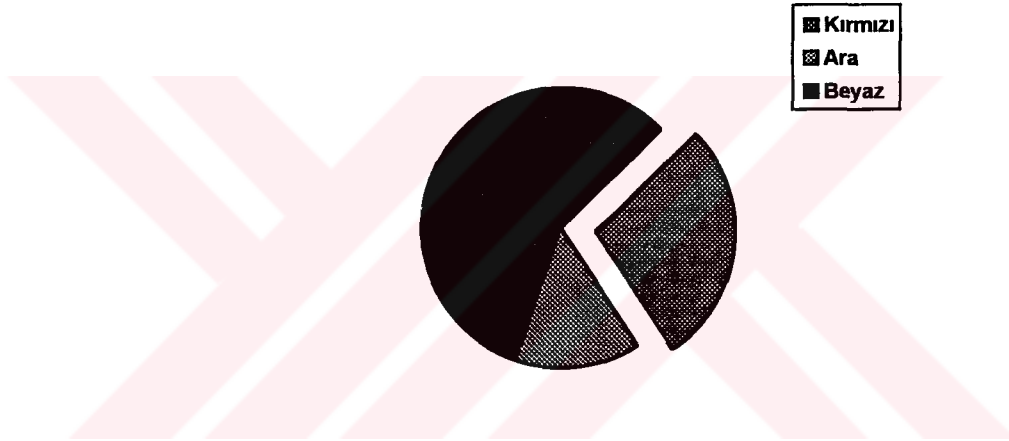
Şekil 3.4.4.1.a.: Tavşanda SDH ile boyanmasına göre lif tiplerinin oranları.



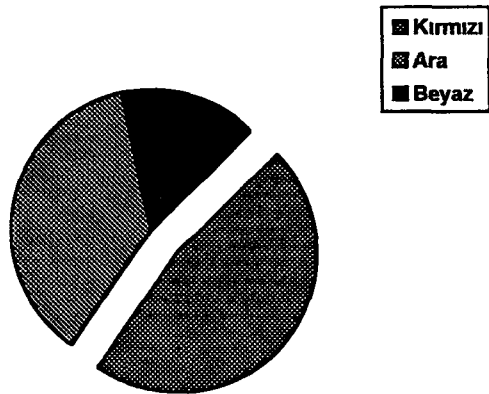
Şekil 3.4.4.1.b.: Serçede SDH ile boyanmasına göre lif tiplerinin oranları.



Şekil 3.4.4.1.c.: Kertenkelede SDH ile boyanmasına göre lif tiplerinin oranları.



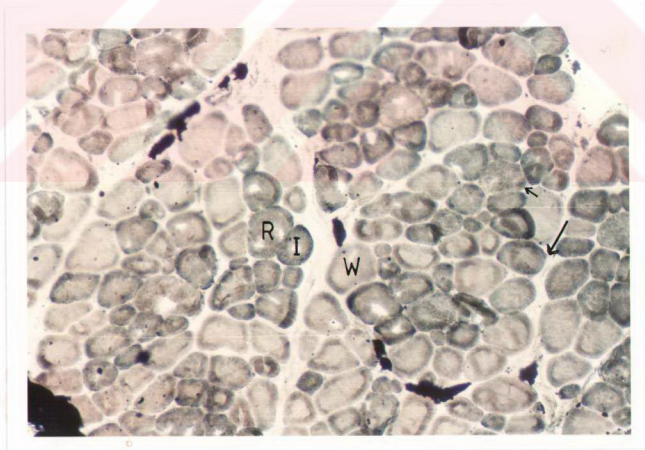
Şekil 3.4.4.1.d.: Kurbağada SDH ile boyanmasına göre lif tiplerinin oranları.



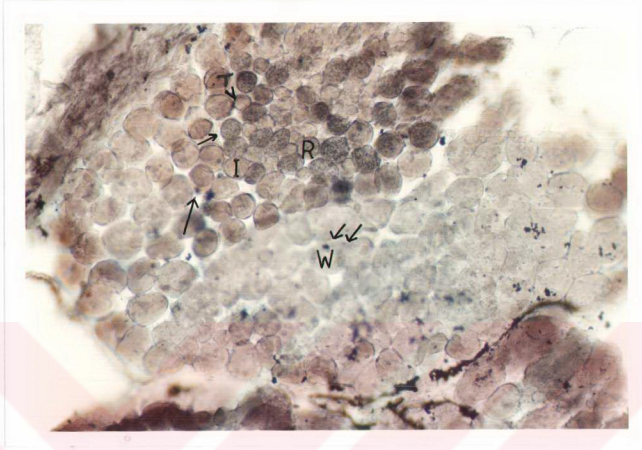
Şekil 3.4.4.1.e.: Alabalıkta SDH ile boyanmasına göre lif tiplerinin oranları.

3.5. Sudan siyahı B Yöntemi

Genel olarak suksinik dehidrogenaz ile benzer boyanma reaksiyonu veren ve lipid boyası olan Sudan siyahı B boyası ile boyama sonucu; tavşanda kırmızı liflerin sarkoplazması, açık yeşil boyanmış homojen dağılımlı ince lipid granülleri ile doluydu (Şekil 3.5.23). Kertenkelede ise bu liflerin sarkoplazmasında, koyu yeşil renkli homojen dağılımlı ince granüller vardı (Şekil 3.5.24). Oysa, kurbağada küçük kırmızı liflerin sarkoplazması çok koyu boyandığından granüller organizasyon seçilemiyordu. Biraz daha açık boyanmış büyük kırmızı liflerin sitoplazmasında ise iri ve çok sayıda, daha çok sarkolemma'nın altında toplanmış heterojen dağılımlı granüller izleniyordu (Şekil 3.5.25). Alabalıkta, böyle lifler koyu boyanmıştı. Liflerin sarkoplazmasındaki iri ve ince lipid granülleri siyah boyanmıştı ve homojen dağılım gösteriyordu (Şekil 3.5.26). Oysa, serçe pectoral kasındaki kırmızı lifler, tümüyle koyu boyanmış lipid granülleri ile doluydu (Şekil 3.5.27).

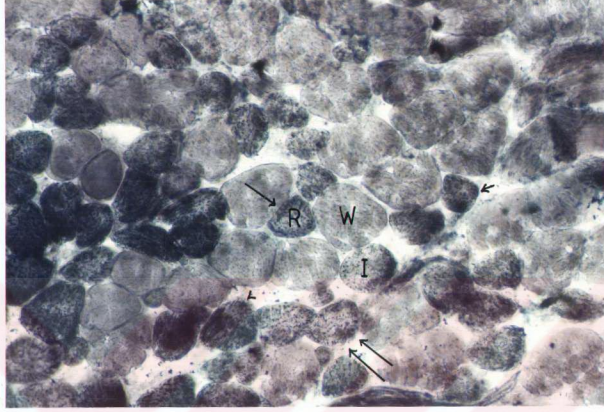


Şekil 3.5.23. Tavşan pectoral kası enine kesiti; kırmızı (R), ara (I) ve beyaz (W) lifler. Kırmızı liflerin sarkoplazması homojen dağılımlı ince lipid granülleri ile dolu (kısa ok). Koyu boyanmış ara liflerin sarkoplazmasında çok ince granüller izlenmekte (uzun ok). Beyaz liflerde lipid granülleri daha çok sarkolemma'nın altında toplanmış, Sudan siyahı B, x100.



Şekil 3.5.24. Kertenkele pektoral kası enine kesiti; kırmızı (R), ara (I), beyaz (W) ve tonik (T) lifler. Kırmızı liflerin sarkoplazması homojen dağılımlı koyu yeşil renkli ince lipid granülleri ile dolu (kusa ok). Ara liflerin sitoplazmasında belirgin bir granül seçilemiyor (uzun ok). Beyaz liflerin sarkoplazmasında granüller belirgin değil (çift ok). Tonik liflerin sitoplazması homojen dağılımlı çok ince lipid granülleri ile dolu, Sudan siyahı B, x 100.

İncelenen grupların pektoral kasında, ara liflerin boyanma yoğunluğu kırmızı ve beyaz lifler arasında bir özellik gösterdi. Tavşan ara liflerinin sitoplazmasında, kırmızı liflere kıyasla daha koyu boyanmış çok ince granüller vardı (Şekil 3.5.23). Kertenkelede ise ara liflerin sitoplazmasında, belirgin bir granül yapısı seçilemiyordu (Şekil 3.5.24). Oysa, kurbağada ara lifler, ya sarkoplazmadaki granüllerin belirgin olmadığı tarzda koyu ya da bu granüllerin daha çok sarkolemmanın altında toplandığı tarzda daha da açık boyanmıştı (Şekil 3.5.25). Öte yandan ara lifler, alabalıkta biraz daha açık boyanmış olup biraz daha ince granüller sarkoplazmada homojen olarak dağılmıştı (Şekil 3.5.26).



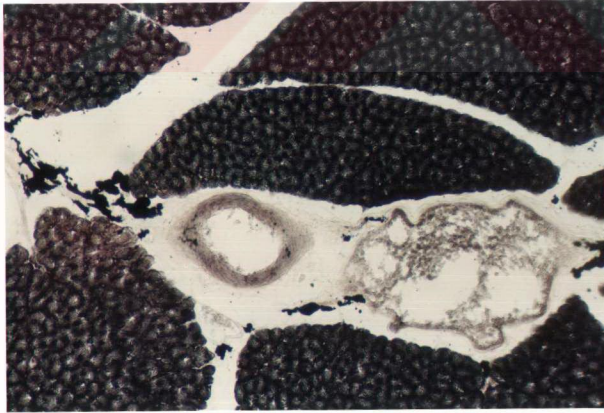
Şekil 3.5.25. Kurbağa pektoral kası enine kesiti; kırmızı (R), ara (I) ve beyaz (W) lifler. Küçük kırmızı lifler koyu boyandı ve bu nedenle sitoplazmalarındaki lipid granülleri belirgin değildi (kısa ok). Büyük kırmızı liflerde, lipid granülleri daha çok sarkolemmmanın altında toplanmıştır (uzun ok). Ara lifler ya sarkoplazmadaki granüllerin belirgin olmadığı tarzda koyu (ok başı) ya da bu granüllerin daha çok sarkolemmmanın altında toplandığı tarzda daha da açık boyanmış (çift ok). Beyaz liflerin sarkoplazmasında homojen dağılımlı, ince ve seyrek granüller görülüyor, Sudan siyahı B, x 100.

Tavşanda, beyaz liflerin yeşil granülleri daha çok sarkolemmmanın altında toplanmıştı (Şekil 3.5.23). Kertenkelede ise açık yeşil renkte boyanmış beyaz liflerin sarkoplazmasında, belirgin bir granül yapısı gözlenmiyordu (Şekil 3.5.24). Oysa, kurbağada, bu liflerin sitoplazmasında daha az ince, seyrek ve homojen dağılımlı granüller vardı (Şekil 3.5.25). Beyaz lifler, alabalıkta seçilemeyecek derecede seyrek ve ince granüllüydü (Şekil 3.5.26).

Aynı zamanda kertenkele tonik liflerinin sitoplazmasında, homojen dağılımlı çok ince lipid granülleri görülmüyordu (Şekil 3.5.24). Kas lifleri içinde lipid dağılımı, Tablo 3.5.5'de gösterilmiştir.



Şekil 3.5.26. Alabalık pektoral kası enine kesiti; kırmızı (R), ara (I) ve Beyaz (W) lifler. Kırmızı liflerin sarkoplazmasındaki iri ve ince lipid granülleri siyah boyanmış ve homojen dağılım gösteriyor (kısa ok), bazan da koyu boyanmış (çift ok). Ara liflerin sarkoplazmasında ince granüller homojen olarak dağılmış (uzun ok). Beyaz lifler seçilemeyecek derecede seyrek ve ince granüllü, Sudan siyahı B, x 250.



Şekil 3.5.27. Serçe pektoral kası enine kesitinde, kırmızı lifler tümüyle koyu boyanmış lipid granülleri ile dolu, Sudan siyahı B, x 100.

Tablo 3.5.5. Kas lifleri içinde lipid dağılımı:

<i>Lif tipi</i>	<i>Tavşan</i>	<i>Serçe</i>	<i>Kertenkele</i>	<i>Kurbağa</i>	<i>Alabalık</i>
<i>Kırmızı</i>	Sarkoplazma boyunca düzenli dağılmış.	Daha çok sarkolemmanın altında olmak üzere tüm sarkoplazmada düzenli dağılmış.	Sarkoplazma boyunca düzenli dağılmış.	Daha çok sarkolemmanın altında veya bazan da sarkoplazmada yoğun bir dağılım.	Sarkoplazma boyunca düzenli dağılmış.
<i>Ara</i>	Daha çok sarkolemmanın altında olmak üzere tüm sarkoplazmada düzenli dağılmış.	Yok	Belirgin olmayan dağılım.	Daha çok sarkolemmanın altında veya bazan da sarkoplazmada yoğun bir dağılım.	Sarkoplazma boyunca düzenli dağılmış.
<i>Beyaz</i>	Daha çok sarkolemmanın altında olmak üzere sarkoplazma boyunca seyrek dağılmış.	Yok	Belirgin olmayan dağılım.	Sarkoplazma boyunca düzenli ve seyrek dağılmış.	Sarkoplazma-da seyrek ve düzenli dağılmış.

4. TARTIŞMA

Pektoral kas, omurgalıların hareketle ilgili kaslarından. Bütün iskelet kaslarında olduğu gibi kas demetleri ve bu demetleri oluşturan kas liflerinden ibarettir (Egginton ve Johnston, 1982; Cireli, 1983; Erkoçak, 1983; Erbeni, 1985; Tekelioğlu, 1989; Guyton, 1994).

Genel histolojik yapıyı belirlemek amacıyla uyguladığımız Hematoksilen-Eozin boyama yöntemiyle incelenen omurgalı hayvanların pektoral kasında klasik bilgilerimizle ve literatür bilgileriyle benzer histolojik yapı gözlenmiştir (Kilarski ve ark., 1982; Gleeson ve ark., 1984; Rosser ve George, 1985; Fawcett, 1986; Fouces ve ark., 1993). Böylece bu kas, enine kesitlerde bağ dokusu bölmeleriyle bölünmüş değişik çapta kas demetleri ve bu demetleri oluşturan çapları ve boyanma yoğunluğu farklı kas liflerinden oluşmuştur.

Kasın boyuna geçen kesitlerinde kas liflerinin histolojik yapısı incelenen bütün türlerde benzer yapıda görülmüştür (Şekil 3.1.1). Böylece boyuna kesitlerde kas lifleri, uzun silindirik yapılar şeklinde olup lifleri ince bağ dokusu ile kuşatılmış olarak izlenmiştir. Her bir kas lifinde nukleuslar çok sayıda olup genellikle liflerin kenarında yerleşmiştir. Ancak kurbağa ve kertenkele kasında nukleuslar çoğunlukla liflerin iç kısmında, miyofibriller arasında gözlenmiştir. Nitekim bazı araştırmacıların bildirdiğine göre kurbağa ve kertenkele kaslarında nukleuslar genellikle liflerin iç kısmında, memeli ve diğer bazı omurgalıların kaslarında ise liflerin kenarlarında yerleşmiştir ve böyle liflerde kasılma hızı da farklılık gösterebilmektedir (Nag, 1972; Sarnat ve ark., 1976; Ramadan ve ark., 1986; Ogata, 1988b).

Hematoksilen-Eozin boyama yöntemiyle enine kesitlerde kas liflerinin sitoplazmasında eozin ile kırmızı boyanan granüller izlenmiştir. Bu granüllerin miyofibrillerin enine kesitlerine uyduğu klasik bilgilerimiz dahilindedir (Kalaycı, 1986; Guyton, 1994). Ancak bu granüllerin beyaz liflerde daha sık ve kaba, kırmızı liflerde seyrek ve ince dağılımlı olduğu ve bunlara Chonheim alanları denildiği bildirilmektedir (Junqueira, 1986; Kalaycı, 1986). Nitekim

bizim incelediğimiz türlerden tavşan pektoral kasında bu granüler yapı belirgin olarak izlenmiştir.

Lif tiplerini belirlemek amacıyla uyguladığımız Miyozin-Adenozintrifosfataz ile tavşan, serçe, kertenkele ve alabalık pektoral kasında kırmızı liflerin koyu boyandığı görülmüş, bulgularımız bu yönüyle literatür bilgileriyle benzerlik göstermiştir (Mcconathy ve ark., 1983; Eddinger ve ark., 1985; Lalatta ve ark., 1987; Ogata, 1988b; Kilarski, 1990; Patten ve Ovalle, 1992). Ancak Sarnat ve arkadaşları (1976), bu yöntem ile kurbağa pektoral kasında kırmızı liflerin zayıf reaksiyon verdiğini bildirmişlerdir. Bizim preparasyonlarımızda da kurbağa pektoral kasında kırmızı lifler zayıf reaksiyon göstermiştir.

Ara liflerin kırmızı ve beyaz lifler arasında yapı ve fonksiyonel özellikler gösterdiği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Rosser ve George, 1985; Ogata, 1988b; Patten ve Ovalle, 1992). Bizim incelediğimiz türlerin pektoral kasında da ara lifler M-ATPaz ile tavşan ve kertenkelede kırmızı liflerden daha zayıf, alabalıkta beyaz liflerden daha koyu ve kurbağa da bildirildiği gibi (Ogata, 1958; Sarnat ve ark., 1976; Ogata, 1988b), kırmızı ve beyaz lifler arasında orta şiddette boyanarak reaksiyon vermiştir.

İncelediğimiz preparasyonlarda alabalık, kertenkele ve tavşan pektoral kasında literatürde bildirildiği gibi zayıf boyanan beyaz liflerin ayırımı yapılabilmektedir (Watanabe ve ark., 1978a; Maxwell ve ark., 1981; Kilarski ve Kozłowska, 1983; Acosta ve Roy, 1987). Nitekim Ogata (1988b), omurgalıların vücut kaslarında yaptığı incelemede pH 4,3 ve daha düşük ön inkübasyonlarda beyaz liflerdeki M-ATPaz aktivitesinin zayıf olduğunu bildirmiştir. Kurbağada ise bu lif tipinin koyu boyandığı kaydedilmiştir (Sarnat ve ark., 1976). Bu yönüyle bizim bulgularımız literatür verileriyle benzerlik göstermiştir.

Bu yöntem ile serçe pektoral kasında zayıf boyanan lifler gözlenmemiştir. Böylece Rosser ve George'nin (1985) bildirdikleri gibi serçenin pektoral kasının tümüyle kırmızı liflerden oluştuğu bizim gözlemlerimizle de teyid edilmiştir.

Kas liflerinde mitokondri ve lipid içeriğini tespit etmek için uyguladığımız Suksinik dehidrogenaz ve Sudan siyahı B yöntemleriyle incelenen türlerin pektoral kasında serçe dışında hepsinde her üç lif tipi ayırtedilmiştir. Bizim bulgularımıza uygun olarak kırmızı liflerin bu iki ayrı boyama yöntemiyle de yüksek aktivite göstererek kuvvetli boyandığı pekçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Chandra-Bose, 1968; Rosser ve George, 1985; Ogata, 1988b; Carry ve ark., 1993). Böylece kırmızı lifler mitokondri ve lipid yönünden zengin olduğundan bu yöntemlerle kuvvetli reaksiyon vermeleri beklediğimiz bir neticedir ve bu lif tipi bu özellikleriyle yorgunluğa dayanıklı bir lif çeşididir.

SDH ile kırmızı liflerin enine kesitlerinde mitokondrilerin dağılımını gösteren diformazan granülleri, tavşan, kurbağa, alabalık ve kertenkele pektoral kasında belirgin ve düzenli olarak dağılmıştır. Buna karşılık serçede bu granüller çoğunlukla sarkolemmmanın altında toplanmıştır. Nitekim önceki çalışmalarda bildirildiğine göre diformazan granüllerinin kırmızı liflerde daha iri ve belirgin olduğu oysa beyaz liflerde bu granüllerin daha ince ve seyrek olduğu ifade edilmektedir (Mazher ve ark., 1955; Gottschall ve ark., 1980; Armstrong ve ark., 1984).

İncelemelerimizde ara liflerin SDH ve Sudan siyahı ile orta düzeyde boyandığı gözlenmiş ve bu özellik bu liflerin orta şiddette oksidatif ve lipolitik olduğu düşüncesini bizde kuvvetlendirmiştir. Nitekim Edgerton ve Simpson (1969) memelilerde, Putnam ve Bennet (1983) kurbağa kaslarında, Kilarski ve Kozłowska (1985) balık kaslarında, Rosser ve George (1985) kuşlarda, Gleeson ve Harrison (1986) sürüngenlerde ve Ogata (1988b) memeli ve omurgalıların kaslarında yaptıkları çalışmalarda, ara liflerin SDH ile orta şiddette boyandığını bildirmişlerdir. Bu araştırmacılara göre de ara lifler orta düzeyde oksidatif olup lipid bakımından zengindir.

Suksinik dehidrogenaz ve Sudan siyahı B boyama yöntemleriyle incelediğimiz türlerin hepsinin pektoral kasında beyaz lifler zayıf reaksiyon göstermiştir. Kilarski ve Kozłowska (1985) balıklarda, Rosser ve George (1985) kuş türlerinde ve Ogata (1988b) memelilerin ve bazı omurgalıların kaslarında yaptıkları histokimyasal incelemelerde bu boyama yöntemleriyle bizim bulgularımıza benzer şekilde beyaz liflerin zayıf reaksiyon verdiğini bildirmişlerdir. Netice

itibariyle iskelet kası beyaz liflerinin oksidatif kapasitesinin düşük olması nedeniyle mitokondri ve lipid içeriklerinin az olmasına bağlı olarak SDH ve lipid boyaları ile zayıf boyanması beklenen bir bulgudur (Gleeson ve Harrison, 1986; Chayen ve ark., 1987; Suzuki, 1990; Benjamin ve ark., 1992; Smith ve Ovalle, 1992).

Kertenkele (*Lacerta viridis*) pektoral kasında gözlemlediğimiz kırmızı, beyaz ve ara liflerden başka, bazı araştırmacıların bildirdiği gibi asit pH'da zayıf boyanan tonik liflerin mevcudiyeti saptanmıştır (Gleeson, 1983; Gleeson ve ark., 1984). Bu araştırmacılara göre, kertenkeledeki bu tonik lifler, orta düzeyde oksidatif ve bu nedenle metabolik olarak hareket sırasında fonksiyon yapma yeteneğindedir. Yine Throckmorton ve Saubert (1982), kertenkele çene kaslarında bu lif tiplerinin mevcut olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar, bu liflerin memelilerdeki oksidatif lifler gibi vücut duruşunu destekleyip, eklem dengesinde de fonksiyonel olabileceğini ifade etmektedirler.

Liflerin glikojen içeriğini belirlemek amacıyla uyguladığımız Periyodik asit - Schiff boyama yöntemiyle serçenin pektoral kasında liflerin genel olarak aynı oranda ve zayıf boyanması, bu türün pektoral kasının lif içeriğinin homojen olduğunu yani tek tip (kırmızı) lif içerdiğini gösterir. Oysa, diğer türlerden tavşan, kurbağa ve alabalıkta bu boyama yöntemiyle farklı yoğunlukta boyanan üç lif tipi değişen oranda izlenmiştir. Ancak kertenkelede bu boyama ile farklı boyanan lifler saptanamamıştır. Bazı araştırmacılar çeşitli omurgalı hayvanların iskelet kasları üzerinde yaptıkları histokimyasal incelemelerde, bu boyama yöntemiyle liflerin boyanma şiddetinin farklılık gösterdiğini ancak kas tipine göre liflerden birinin diğerine baskın olduğunu ifade ederek, glikojen içeriği ve oksidatif enzim aktivitesi arasında bir ilişkinin mevcut olabileceğini ve yüksek oksidatif enzim aktivitesine sahip liflerin en az glikojen içeren lifler olduğunu bildirmişlerdir (Galvas ve Gonyea, 1980; Mcconathy ve ark., 1982; Kilarski ve Kozłowska, 1985; Kilarski ve Sjöström, 1989; Spurway ve Rowler-son, 1989). Nitekim bizim incelemelerimiz sonucu oksidatif ve glikolitik metabolizma arasındaki bu genel ilişki tavşan ve serçe pektoral kasında da görülmüştür. Oysa alabalık, kurbağa ve kertenkelede daha önce de kaydedildiği gibi (Spurway ve Rowler-son, 1989) bu tip bir ilişki gözlenememiştir.

Böyle bir durum bize, yüksek omurgalılara doğru gidildikçe bir kası oluşturan lif tiplerinde bir özelleşmenin olabileceğini düşündürmüştür.

İskelet kaslarında lif çapının liflerin sınıflandırılmasında geçerli olabileceği daha önce pekçok araştırmacı tarafından öne sürülmüştür (Chinoy ve George, 1965; Watanabe ve ark., 1980; Kilarski ve Kozłowska, 1985; Torella ve ark., 1993). Bu araştırmacılara göre genelde kırmızı lifler küçük çaplı, beyaz lifler en büyük çaplı, ara lifler ise orta büyüklüktedir. Bizim incelediğimiz beş omurgalı hayvanın pektoral kasında, uyguladığımız histokimyasal boyama yöntemleriyle gözlediğimiz kadarıyla yoğun boyanan kırmızı lifler küçük çapta, zayıf boyanan beyaz lifler en büyük çaptadır. Nitekim Guyton (1994), beyaz liflerin hızlı ve kuvvetli kasılmalarına bağlı olarak daha büyük çaplı olduğunu bildirmiştir. Ara lifler hem boyanma özelliği hem de çapı itibarıyla bu iki lif tipi arasında bir değerdedir. Kertenkelede gözlediğimiz tonik lifler ise literatürde kaydedildiği gibi oldukça küçük çaplıdır (Gleeson ve ark., 1984). Bizim ölçümlerimizde, tavşan pektoral kasında; küçük lifler 58,5 μm , ara lifler 42 μm ve büyük lifler 61,7 μm çapındadır. Serçe pektoral kasında; küçük lifler 22,7 μm çapında, kertenkele pektoral kasında; küçük lifler 35,1 μm , ara lifler 41,9 μm , büyük lifler 51 μm ve tonik lifler 24,9 μm çapındadır. Kurbağa pektoral kasında da bu liflerin çapı sırasıyla; 54,2, 84,3 ve 157,9 μm ve alabalıkta ise 43,3, 99,1 ve 130,6 μm olarak ölçülmüştür. Nitekim çalışmamızda, çeşitli hayvanların pektoral kasını oluşturan liflerin birbirlerine oranını hesaplarken hem boyanma yoğunluklarına göre hem de çaplarına göre bir değerlendirme yaptık. Böylece incelediğimiz türlerin pektoral kaslarında lif populasyonunun farklı olduğunu saptadık. Buna göre tavşan pektoral kasında ara liflerin (%51,3), beyaz liflerin kertenkelede (%50) ve kurbağada (%57,1), kırmızı liflerin ise serçe (%86,5) ve alabalık pektoral kasında (%47,3) fazla sayıda olduğunu gözledik. Serçede tümüyle kırmızı liflerden oluşan bu kasın diğer kuş türlerinde (güvercin ve bıldırcın) karışık olduğu ancak daha fazla kırmızı lif içerdiği bildirilmiştir (Ogata, 1958; Boesiger, 1969; Rosser ve George, 1985; Ogata, 1988b). Nitekim Rosser ve George (1985), kırmızı lif sayısının fazla olmasının yüksek oksidatif kapasiteyi yansıtacağını, bu nedenle bu kasın yorgunluğa daha dayanıklı olduğunu ifade etmişlerdir. Bundan dolayı da kuş pektoral kasının uçuş sırasında kanadın aşağıya inmesi için kuvvet

sağladığı ve uçan türlerde diğer üye kasları ile ilişkili olarak daha iri yapılı olduğu kaydedilmektedir (Rosser ve George, 1985; Öktay, 1988).

Kaslarda ara lif sayısının fazlalığı çeşitli araştırmacılar tarafından oksidatif kapasiteye dayandırılmıştır (Sickles ve Pinkstaff, 1981; Armstrong, 1982). Beyaz lif sayısının fazlalığı da, hızlı fakat çabuk yorulan bir kas aktivitesi için glikolitik kapasite yüksekliği olarak yorumlanmıştır (Putnam ve Bennet, 1983). Buna göre tavşan pektoral kası, kurbağa ve kertenkele pektoral kasına göre daha fazla oksidatif olup, yorgunluğa daha da dayanıklı olmalıdır. Nitekim sürüngenlerin ve kurbağaların kuş ve memelilere göre sınırlı aerobik kapasiteye sahip oldukları birçok araştırmacı tarafından kaydedilmiştir (Engel ve Irwin, 1967; Gleeson ve ark., 1984; Gleeson ve Harrison, 1986; Gleeson ve Jonston, 1987). Bazı araştırmacılar, balıkların yavaş ve uzun süreli fonksiyon yapan kaslarında kırmızı lif tipinin hakim olduğunu bildirmişlerdir (Kilarski ve Kozłowska, 1985). Nitekim pektoral kas, pektoral yüzgeçlerin devamlı hareketine ve böylece de balıkların dengede kalmasına ve aynı zamanda balığın su içinde yüzeye çıkması ve derinlere inmesine yardımcı olmak suretiyle fonksiyon yapmaktadır. Böylece Ogata'nın (1988b) da bildirdiği gibi bu kas liflerinin belirli tipleri her bir türde bir kasın fonksiyonel ihtiyaçlarını karşılamak için seçilmiş olmalıdır. Nitekim kuşlarda çok gelişmiş olduğu bildirilen pektoral kasın lif içeriğinin homojen olması, incelenen diğer gruplardan farklı bir özellik göstermiştir.

Putnam ve Bennet (1983), histolojik ve histokimyasal bilgilerin kas yapısı ve fonksiyonu hakkında kalitatif olduğunu, bu nedenle de kas özelliklerini karşılaştırmak ve tanımlamak için biyokimyasal ve fonksiyonel çalışmaların yapılması gerektiğini kaydetmektedirler. Böylece üzerinde çalışma yaptığımız bu hayvan türlerinin pektoral kası, birçok yeni çalışma ile de desteklenmeli ve bu kasın yapısı ile fonksiyonu çok daha iyi bir şekilde anlaşılmalıdır.

EK AÇIKLAMALAR

Ek Açıklamalar - A

Harris Hematoksilen Solusyonu'nun Hazırlanışı:

Hematoksilen (Kristal)	5 gr.
Saf Alkol	50 ml.
Potasyum şapı	100 gr.
Saf su	2,5 gr.

Hematoksilen alkolde eritilir. Şap su içinde, ateş üzerinde eritilir. Eritilmiş hematoksilen şap eriyiği üzerine dökülür. Karışım kaynatılır. Ateşten indirildikten sonra üzerine yavaş yavaş Civa oksit ilave edilir. Koyu menekşe renk oluşur oluşmaz süratle soğutulur. Boya hemen kullanılabilir. Boya içine %4'lük Asetik asit katılırsa çekirdek daha iyi boyanır.

Ek Açıklamalar - B

Eozin Solusyonu'nun Hazırlanışı:

Eozin Y, %3 sudaki solusyonu	100 ml.
%95'lik Alkol	125 ml.
Saf su	375 ml.

Yukarıdaki maddeler birbirlerine ilave edilir, boyanın rengi bir-iki damla Asetik asit ilavesi ile istenen duruma getirilebilir.

Ek Açıklamalar - C

Periyodik asit Solusyonu'nun Hazırlanışı:

Periyodik asit (kristal)	0,5 gr.
Saf su	100 ml.
Periyodik asit saf su içinde eritilir.	

Ek Açıklamalar - D

Schiff Reaktifi'nin Hazırlanışı:

Bazik fuksin	0,5 gr.
Saf su	100 ml.
Potasyum bisülfid	0,5 gr.
HCl	1 ml.

Su kaynatılır ve üzerine Bazik fuksin ilave edilir. Çözelti 50°C'ye kadar soğutulur ve üzerine 0,5 gr. Potasyum bisülfid ilave edilir. Karışım tamamen soğutulur ve oda sıcaklığında 1 ml. konsantre HCl ilavesi yapılır. Renkli şişelerde ve buzdolabında saklanır. Solusyon saman rengindedir.

Ek Açıklamalar - E

30 mM-Sodyum barbiturat
50 mM-Sodyum asetat

İki madde karıştırılıp, 0,1 mHCl ile pH 4,3'e ayarlanır ve saf su ile toplam hacim 50 ml.'ye tamamlanır (Kilarski ve Sjöström, 1989).

Ek Açıklamalar - F

İnkübasyon Ortamının Hazırlanışı:

0,1 M-Sodyum barbiturat (2,062 gr./100 ml.)	20 ml.
0,18 M CaCl ₂ (1,998 gr./100 ml.)	10 ml.
Saf su	30 ml.
Adenozintrifosfat (disodyum tuzu)	152 mg.

ATP çözülür çözülmez solusyon 0,1 M-NaOH ile pH=9,4'e ayarlanır ve 100 ml. saf su ilave edilir. Çözelti bulanıksa süzülmalıdır. Bu solusyon mutlaka taze olarak hazırlanıp, kullanılmalıdır.

Ek Açıklamalar - G

İnkübasyon Ortamının Hazırlanışı:

a) Substrat solusyonu;

Disodyum suksinat (0,84375 gr./2,5 ml.) 0,2 ml.

b) Tetrazolium solusyonu;

Nitroblue tetrazolium (0,002 gr./0,5 ml.) 0,5 ml.

0,2M Tris/HCl tamponu 0,5 ml.

Mağnezyum klorid (0,12156 gr./100 ml.) 0,2 ml.

Saf su 0,6 ml.

Substrat solusyonu ve Tetrazolium solusyonu karıştırılarak toplam hacim 2 ml.'ye tamamlanır.

Ek Açıklamalar - H

%15'lik Formal Tuzu'nun Hazırlanışı;

%40'luk formaldehid 12,5 ml.

Sodyum klorid 1,125 gr.

Çeşme suyu 112,5 ml.

Bu çözeltiliden %15'lik Formal tuzu hazırlanır.

KAYNAKLAR

- Acosta, L. and Roy, R. R., 1987, Fiber-type composition of selected hindlimb muscles of primate (*Cynomolgus monkey*), *Anat. Rec.*, 218, 136-141.
- Ariano, M. A., Armstrong, R. B. and Edgerton, V. R., 1973, Hindlimb muscle fiber populations of five mammals. *J. Histochem. Cytochem.*, 21 (1), 51-55.
- Armstrong, R. B., Saubert IV, C. W. Secherman, H. J. and Taylor, C. R., 1982, Distribution of fiber types in locomotory muscles of dogs. *Am. J. Anat.*, 163, 87-98.
- Armstrong, R. B. and Phelps, R. O., 1984, Muscle fiber type composition of the rat hindlimb. *Am. J. Anat.*, 171, 259-272.
- Bancroft, J. D. and Stevens, A., 1982, Theory and practice of histological techniques. Churchill Livingstone, Edinburg (2 nd ed.) p 662.
- Benjamin, W. C. R., Beverly, J. N. and Patti, M. N., 1992, Metabolic capacity of individual muscle fibers from different anatomic locations. *J. Histochem. Cytochem.*, 40 (6), 819-825.
- Boesiger, B., 1969, Morphological, biometric and histochemical comparison of muscular fibers and their motor nerve endings in different muscles of the Japanese quail, *Coturnix coturnix Japonica*. *Acta Anat.*, 71 (2): 274-310.
- Brooke, M. H. and Kaiser, K. K., 1970, Three myosin ATPase systems: The nature of their pH lability and sulfhydryl dependence. *J. Histochem. Cytochem.*, 18: 670-673.

- Carry, M. R., Horan, S. E., Reed, S. M. and Farrel, R. V., 1993, Structure, innervation and age-associated changes of mouse forearm muscles. *Anat. Rec.*, 237, 345-357.
- Chandra-Bose, D. A., 1968, Cellular organization and distribution of fat and succinic dehydrogenase in the gastrocnemius muscles of a few birds. *Pavo Indian J Ornithol.*, 5 (1/2), 13-18.
- Chayen, N., Freundlich, A. and Squire, J. M., 1987, Comparative and histochemistry of a flatfish fin muscle and of other vertebrate muscles used for ultrastructural studies. *J. Muscle Research Cell Mot.*, 8, 358-371.
- Chayen, N. E., Rowlerson, A. M. and Squire, J. M., 1993, Fish muscle structure: fibre types in flatfish and mullet fin muscles using histochemistry and antimyosin antibody labelling. *J. Muscle Research and Cell Mot.*, 14, 533-542.
- Chinoy, By N. J. and George, J. C., 1965, Cholinesterase in the pectoral muscle of some vertebrates. *J. Physiol.*, 177, 346-354.
- Cireli, E., 1983, Genel Histoloji, Hücre ve Dokular. E.Ü. Matbaası, Bornova-İzmir, s., 320.
- Çelikkale, M. S., 1986, Balık Biyolojisi. Karadeniz Ü. Sürmene Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Yüksek Okulu Yayını, No.101, Trabzon, s.,378.
- Eddinger, T. J., Moss, R. L. and Cassens, R. G., 1985, Fiber number and type composition in extensor digitorum longus, soleus and diaphragm muscles with aging in fisher 344 rats. *J. Histochem. Cytochem.*, 33 (10), 1033-1041.
- Edgerton, V. R. and Simpson, D. R., 1969, The intermediate muscle fiber of rats and guinea pigs. *J. Histochem. Cytochem.*, 17 (12), 828-838.

- Egginton, S. and Johnston, I. A., 1982, Muscle fibre differentiation and vascularisation in the Juvenile European eel (*Anguilla anguilla* L.). Cell Tissue Res., 222, 563-577.
- Engel, W.K. and Irwin, R. L., 1967, A histochemical-physiological correlation of frog skeletal muscle fibers. Am. J. Physiol., 213 (2), 511-518.
- Erbengi, T., 1985, Histoloji - 2. Birinci baskı. Beta Basım Yayım Dağıtım A.Ş., İstanbul, s., 343.
- Erkoçak, A., 1983, Genel Histoloji. Kan Dağıtımcılık Yayıncılık Ltd. Ş. İstanbul (dördüncü baskı), s., 317.
- Fawcett, D. W., 1986, A textbook of histology. Saunders Company Philadelphia - London (11 nd ed.) p 1015.
- Fouces, V., Torrella, J.R., Polomeque, J. and Viscor, G., 1993, A histochemical ATPase method for the demonstration of the muscle capillary network. J. Histochem. Cytochem., 41 (2), 283-289.
- Galvas, P. E. and Gonyea, W. J., 1980, Motor-end-plate and nerve distribution in a histochemically compartmentalized pennate muscle in the cat. Am. J. Anat., 159, 147-156.
- Gleeson, T. T., 1983, A histochemical and enzymatic study of the muscle fiber types in the water monitor, *Varanus salvator*. J. Exp. Zool., 227, 191-201.
- Gleeson, T. T., Nicol, C. J. M. and Johnston, I. A., 1984, Capillarization, mitochondrial densities, oxygen diffusion distances and innervation of red and white muscle of the lizard *Dipsosaurus dorsalis*. Cell Tissue Res., 237, 253-258.
- Gleeson, T. T. and Harrison, J. M., 1986, Reptilian skeletal muscle: Fiber-type composition and enzymatic profile in the lizard, *Iguana iguana*. Copeia, 2, 324-332.

- Gleeson, T. T. and Jonston, I. A., 1987, Reptilian skeletal muscle: Contractile properties of identified, single fast-twitch and slow fibers from the lizard *Dipsosaurus dorsalis*. J. Exp. Zool., 242, 283-290.
- Gottschall, J., Zenker, W., Neuhuber, W., Mysicka, A. and Müntener, M., 1980, The sternomastoid muscle of the rat and its innervation. Muscle fiber composition, perikarya and axons of efferent and afferent neurons. Anat. Embryol., 160, 285-300.
- Guyton, A. C., 1994, Textbook of medical physiology. W.B. Saunders Company, Philadelphia (8nd ed.) p 1057.
- Hintz, C. S., Coyle, E. F., Kaiser, K. K., Chi, M. M. Y. and Lowry, O. H., 1984, Comparison of muscle fiber typing by quantitative enzyme assays and by myosin ATPase staining. J. Histochem. Cytochem., 32 (6), 655-660.
- Junqueira, L. C., Carnerio, V., Long, J. A., 1986, Basic histology. Librairie du Liban, Beirut (5 nd ed.) p 529.
- Kalaycı, Ş., 1986, Histoloji. U.Ü. Basımevi, Bursa, s., 564.
- Kilarski, W., Similowska, E. and Freidhuber, A., 1982, Hystological analysis of fibers in myotomes of Antartic fish. II. Morphometry of muscle fibers and cappillaries. Z. Mikrosk.-anat. Forsch., 96 (5), 791-801.
- Kilarski, W. and Kozłowska, M., 1983, Ultrastructural charteristic of the Teleostean muscle fibers and their nerve endings. The stickleblack (*Gasterosteus aculeatus* L.). Z. mikrosk.-anat. Forsch., 6, 1022-1036.
- Kilarski, W. and Kozłowska, M., 1985, Histochemical and electronmicroscopical analysis of muscle fiber in myotomes of teleost fish (*Noemacheilus barbatulus* L.). Gegenbaurs Morph., 131 (1), 55-72.

- Kilarski, W. and Sjöström, M., 1989, Systematic distribution of muscle fibre types in the rat and rabbit diaphragm: a morphometric and ultrastructural analysis. *J. Anat.* 168, 13-30.
- Kilarski, W., 1990, Histochemical characterization of myotomal muscle in the roach, *Rutilus rutilus* (L.). *J. Fish Biol.*, 36, 353-362.
- Kilarski, W.M., Kozłowska, M. and Martynova, M.G., 1992, The ultrastructure of myotomal muscles of the golomianka, *Comephorus baikalensis* Pallas. *J. Fish Biol.*, 40, 489-495.
- Lalatta, G., Barazzoni, A. M., Clavenzani, P., Petrosino, G., Callegari, E. and Bortolami, R., 1992, High incidence of multiple-bag fiber muscle spindles in the articularis humeri muscle of the horse. *Anat. Rec.*, 232, 378-384.
- Maier, A., 1983, Differences in muscle spindle structure between pigeon muscles used in aerial and terrestrial locomotion. *Am. J. Anat.*, 168, 27-36.
- Maxwell, L. C., Carlson, D. S., Mcnamara, J. A. and Faulkner, J. A., 1981, Adaptation of the masseter and temporalis muscles following alteration in length, with or without surgical detachment. *Anat. Rec.*, 200, 127-137.
- Mazher Jaweed, M., Herbison, J. and Ditunno, J. F., 1955, Denervation and reinnervation of fast and slow muscles a histochemical study in rats. *J. Histochem cytochem.*, 23 (11), 808-827.
- Mcconathy, D., Giddings, C. J. and Gonyea, W. J., 1983, Structure-function relationships of the flexor carpi radialis muscle compared among four species of mammals. *J. Morph.* 175, 279-292.
- Mcintosh, J. S., Rinquist, M. and Schmidt, M., 1985, Fiber type composition of monkey forearm muscle. *Anat. Rec.*, 211, 403-409.

- Nag, A. C., 1972, Ultrastructure and adenosine triphosphatase activity of red and white muscle fibers of the caudal region of a fish, *Salmo gairdneri*. J. Cell Biol., 55, 42-57.
- Nene, R. V. and George, J. C., 1966, A histophysiological study of some muscles of the avian pectoral appendage. Pavo Indian J. Ornithol., 3 (1), 35-46.
- Ogata, T., 1958, A histochemical study of the red and white muscle fibers. Part 1 activity of the succinoxidase system in muscle fibers. Acta Med. Okayama, 12 (3), 216-227.
- Ogata, T. and Murata, F., 1969, Cytological features of three fiber types in human striated muscle. Tohoku J. Exp. Med., 99, 225-245.
- Ogata, T., 1988a, Morphological and cytochemical features of fiber types in vertebrate skeletal muscle. CRC Critical Reviews Anat. Cell Biol., 1 (3), 229-275.
- Ogata, T., 1988b, Structure of motor endplates in the different fiber types of vertebrate skeletal muscles. Arch. Histol. Cytol., 51 (5), 385-424.
- Öktay, M., 1988, Omurgalı Hayvanların Karşılaştırılmalı Anatomisi. İ.Ü. Fen Fak. Basımevi, İstanbul, s., 384.
- Patten, R.M. and Ovalle, W.K., 1992, Morphometry and histoenzymology of the *Mesocricetus auratus* and its muscle spindles. Anat. Rec., 232, 499-511.
- Pearse, A. G. E., 1968, Histochemistry, theoretical and applied. William and Wilkins Company, Baltimore (3 nd ed.) p 476.
- Putnam, R. W. and Bennet, A. F., 1983, Histochemical, enzymatic and contractile properties of skeletal muscles of three anuran amphibians. Am. J. Physiol., 558-567.

- Ramadan, A. A., Abdel-Megiud, N., İsmail, A. A. and Yossef, W. B., 1986, A comparative study of two reptile muscles: IV. A cytochemical study of striated and cardiac muscles. *Folia Morphol (Prague)*, 33 (4), 391-397.
- Rosser, B. W. C. and George, J. C., 1985, The avian pectoralis histochemical characterization and distribution of muscle fiber types. *Can. J. Zool.*, 64, 1174-1185.
- Sarnat, H. B., Portnay, J. M. and Chi, D. Y. K., 1976, Effects of denervation and tenotomy on the gastrocnemius muscle in the Frog: A histologic and histochemical study. *Anat. Rec.*, 187, 335-346.
- Sickles, D. W. and Pinkstaff, C. A., 1981, Comparative histochemical study of Prosomian primate hindlimb muscles. I. Muscle fiber types. *Am. J. Anat.*, 160, 175-186.
- Smith, R. S. and Ovalle, W. K., J. R., 1973, Varieties of fast and slow extra-fusal muscle fibres in amphibian hindlimb muscles. *J. Anat.*, 116 (1), 1-24.
- Sohal, G. S. and Sickles, D. W., 1986, Embryonic differentiation of fiber types in normal, paralysed and aneural avian superior oblique muscle. *J. Embryol. exp. Morph.*, 96, 79-97.
- Spurway, N. C. and Rowleson, A. M., 1989, Quantitative analysis of histochemical and immunohistochemical reactions in skeletal muscle fibres of *Rana* and *Xenopus*. *J. Histochem.*, 21, 461-474.
- Suzuki, A., 1990, Composition of myofiber types in limb muscles of the house shrew (*Suncus murinus*): Lack of type I myofibers. *Anat. Rec.*, 228, 23-30.

- Talesara, C. L., Kiran, S. and Jasra, P. K., 1987, Characterization of fish myotomal muscle types based on SDH, myofibrillar ATPase and myosin light chain studies. Proc. Indian Natl. Sci. Acad. Part B Biol. Sci., 53 (2), 129-134.
- Tekelioğlu, M., 1989, Genel tıp histolojisi. Beta Basım Yayım Dağıtım A.Ş. İstanbul (birinci baskı) s., 227.
- Throckmorton, G. S. and Saubert IV, C. W., 1982, Histochemical properties of some jaw muscles of the lizard *Tupinambis nigropunctatus* (Teiidae). Anat. Rec., 203, 345-352.
- Torrella, S. R., Fouces, V., Palomeque, J. and Viscor, G., 1993, Innervation distribution pattern, nerve ending structure, and fiber types in pigeon skeletal muscle. Anat. Rec., 237, 178-186.
- Watanabe, K., Sasaki, F. and Khan, M. A., 1978a, Light and electron microscopic study of adenosine triphosphatase activity of tadpole musculature. Histochem., 55, 293-305.
- Watanabe, K., Khan, M. A., Sasaki, F. and Iseki, H., 1978b, Light and electron microscopic investigation of ATPase activity in musculature during Anuran tail resorption. Histochem., 58, 13-22.
- Watanabe, K., Sasaki, F., Takahama, H. and Iseki, H., 1980, Histogenesis and distribution of red and white muscle fibres of urodelan larvae. J. Anat., 130, 83-96.