

55357

**FARKLI YAŞTAKİ SIÇANLARIN TİMUS VE
BAZAL LAMİNASINDA FİBRONEKTİN LOKALİZASYONUNUN
İMMUNOHİSTOKİMYASAL ÇALIŞILMASI**

**IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDIES OF
THE LOCALIZATION OF FIBRONECTIN IN THYMUS AND ITS BASAL
LAMINA OF DIFFERENT AGED RATS**

EVİRİM ARZU ELCÜMAN

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliği'nin

Biyoloji Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

BİLİM UZMANLIĞI TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

DOĞRUKANLIĞI
1996

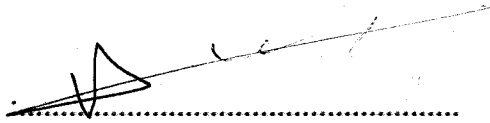
1996

55357

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

Bu çalışma jürimiz tarafından BİYOLOJİ ANABİLİM DALI'nda
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan


Prof. Dr. Ali DEMİRSOY

Üye

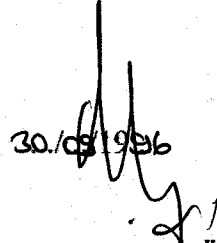

Prof. Dr. Dürdane KOLANKAYA

Üye


Doç. Dr. M. Turan AKAY

ONAY

Bu tez .../.../19.. tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca Belirlenen yukarıdaki jüri
üyeleri tarafından kabul edilmiştir.


30.08.1996

Prof. Dr. Gültekin GÜNAY
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ



Sevgili Aileme

ÖZET

Bu çalışmada, Swiss albino sıçanlarda (*Rattus rattus*) timusun histolojik yapısı, timusda fibronektin immunolokalizasyonu ve hematolojik parametrelerdeki yaşa bağlı değişiklikler incelenmiştir.

Deneylerde 1, 6 ve 12 aylık Swiss albino sıçanlar (*Rattus rattus*) kullanılmıştır. Çalışmanın sonunda sıçanların timusları çıkartılarak, fikse edilmiş ve parafine gömülmüştür. Timusun parafin kesitleri histolojik yapının incelenmesi için Hematoksilen & Eosin, fibronektin immunolokalizasyonunu belirlemek için ise PAP ile boyanmıştır.

Aynı yaştaki dişi ve erkek sıçanlar arasında yaşa bağlı olarak, timusun histolojik yapısı ve fibronektin immunolokalizasyonunda önemli bir fark belirlenmemiştir.

Dişi ve erkek sıçanların timusunda, yaşa bağlı olarak lobüllerarası bağ dokusunda, timus kapsülünün kalınlığında ve Hassall cisimciklerinin miktarında artış belirlenmiştir. Ayrıca timus lobüllerinin korteks ve medulla düzenlenmesinde değişiklikler olmuştur.

Sıçanların timusunda fibronektin immunolokalizasyonu incelendiğinde yaşlanmayla, timus kapsülü, lobüllerarası bağ dokusu, kan damarı bazal laminası, korteks ve medullada fibronektin miktarında artış olduğu gözlenmiştir.

Hematolojik sonuçlara gelince, yaşlanmayla birlikte WBC, MCV, MCH, RDW ve lenfosit % değerleri azalmış, RBC, HGB, HCT, MCHC, PLT, MPV ve nötrofil % değerleri artmıştır.

ABSTRACT

In this study, age-dependent variations of the histological structure of thymus, fibronectin immunolocalization in thymus and hematological parameters were investigated in Swiss albino rats (*Rattus rattus*).

One, six and twelve months old aged Swiss albino rats (*Rattus rattus*) were used in experiments. The thymus of rats was excised at the end of the study, fixed and embedded in paraffin. The paraffin sections of thymus were stained with hematoxylin and eosin for examination of histological structure and with PAP for fibronectin immunolocalization.

There were no significant differences in age-dependent variations in histological structure of thymus and its fibronectin immunolocalization between the same aged male and female rats.

Increases in the amount of connective tissue between lobules, fat cells, thickness of thymic capsule and Hassall's corpuscles were determined in thymus of both sex rats depending on age. In addition, there were changes in cortex and medullar composition of thymic lobules.

When fibronectin immunolocalization in the thymus of rats was investigated, it was observed that there were increases in the amount of fibronectin in thymic capsule, connective tissue between lobules, basal lamina of blood vessel, cortex and medulla of thymus with aging.

As for the hematological results, WBC, MCV, MCH, RDW and % lymphocyte values decreased but RBC, HGB, HCT, MCHC, PLT, MPV and % neutrophil values increased with aging.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanması ve yürütülmesi sırasında her konuda yardımını ve desteğini gördüğüm tez yöneticim, hocam Sayın Doç. Dr. M. Turan AKAY'a teşekkür ederim.

Tezin gerçekleşmesinde maddi katkısı olan H.Ü. Araştırma Fonu'na, katkılarından dolayı hocam Sayın Prof. Dr. Dürdane KOLANKAYA'ya, immunohistokimyasal boyamalarım sırasında yardımlarını gördüğüm Biyolog Yasemin SEZGİN ve Araştırma Görevlisi Sibel HAYRETDAG'a, kan analizlerinin yapılmasını sağlayan H.Ü. Çocuk Hastanesi C.B.C. Laboratuvar çalışanlarından Sayın Dursun YILMAZ'a, çalışmalarım sırasında yardımlarını gördüğüm Araştırma Görevlisi Güldeniz ÖZMEN'e teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmamın her aşamasında yardım ve desteklerini esirgemeyen nişanlım Mustafa KOÇKAYA'ya, aileme ve Tülay-Çetin AYERDEN ailesine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ ve ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	1
1.1. Giriş	1
1.2. Önceki Çalışmalar	3
1.2.1. Fibronektinin (FN) Yapısı ve Görevleri	3
1.2.2. Timusun Yapısı ve Görevleri	10
2. GEREÇ ve YÖNTEM	20
2.1. Gereç	20
2.1.1. Sıçanlar	20
2.1.2. İmmunokimyasallar	20
2.2. Yöntem	20
2.2.1. Ortam Koşulları	20
2.2.2. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması	21
2.2.3. Kan Analizleri	21
2.2.4. Histolojik İncelemeler	21
2.2.5. İmmunohistokimyasal İncelemeler	22
2.2.6. İstatistiksel Değerlendirmeler	23
3. SONUÇLAR	24
3.1. Timus Ağırlık Sonuçlarının Değerlendirilmesi	24
3.1.1. Bir Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları	24

İÇİNDEKİLER DİZİNİ (Devam ediyor)

3.1.2. Altı Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları.....	24
3.1.3. Oniki Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları.....	25
3.2. Timus Boy ve En Uzunluklarının Değerlendirilmesi	29
3.2.1. Bir Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları.....	29
3.2.2. Altı Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları.....	29
3.2.3. Oniki Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları.....	30
3.3. Timus Kapsül Kalınlıklarının Değerlendirilmesi.....	30
3.3.1. Bir Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları.....	30
3.3.2. Altı Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları.....	34
3.3.3. Oniki Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları.....	34
3.4. Hematolojik Sonuçların Değerlendirilmesi	36
3.4.1. Bir Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları.....	36
3.4.2. Altı Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları.....	36
3.4.3. Oniki Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları.....	37
3.5. Histolojik İncelemeler.....	44
3.5.1. Bir Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları.....	44
3.5.2. Altı Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları.....	44
3.5.3. Oniki Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları.....	49
3.6. İmmunohistokimyasal İncelemeler	52
3.6.1. Bir Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları	52
3.6.2. Altı Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları.....	55
3.6.3. Oniki Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları.....	57
4. TARTIŞMA.....	59
5. KAYNAKLAR	65
6. ÖZGEÇMİŞ.....	75

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

α	Alfa
β	Beta
CD	Cluster differentiation
cm	Santimetre
CoA	Concavalin A
FN	Fibronektin
g	Gram
HCT	Hematokrit
HGB	Hemoglobin
kb	Kilobaz
MCH	Ortalama hemoglobin konsantrasyonu
MCHC	Ortalama hücresel hemoglobin konsantrasyonu
MCV	Ortalama hücre hacmi
μm	Mikrometre
MPV	Ortalama trombosit hacmi
nm	Nanometre
PLT	Trombosit sayısı
RBC	Kırmızı kan hücre sayısı
RDW	Eritrosit dağılım genişliği
RGD	Arjinin-glisin-aspartik asit dizisi
WBC	Toplam beyaz kan hücresi sayısı

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Hücre yaşlanmasını etkileyen faktörler.....	1
1.2. Fibronektinin yapısı.....	4
1.3. RGD dizisinin yapısı.....	4
1.4. Timus bezinin yapısı.....	11
2.1. Peroksidaz-anti-peroksidaz immunoışaretleme metodu.....	22
3.1. 1 aylık sıçan timusunda tam olarak oluşmamış lobül, küçük medulla ve geniş korteks.....	45
3.2. 1 aylık sıçan timusunda çok ince kapsül ve lobüllerarası bağ dokusu.....	45
3.3. 1 aylık sıçan timusunda geniş ve lenfosit ile dolu korteks, küçük medulla ve az miktarda yağ hücreleri.....	46
3.4. 1 aylık sıçan timusunun medulla bölgesindeki epitelial retiküler hücreler.....	46
3.5. 6 aylık sıçan timusunda kalınlaşmış timus kapsülü.....	47
3.6. 6 aylık sıçan timusunda kalınlaşmış lobüllerarası bağ dokusu.....	47
3.7. 6 aylık sıçan timusunda yağ hücreleri tarafından işgal edilmiş korteks.....	48
3.8. 6 aylık sıçan timusunun medulla bölgesinde artmış epitelial retiküler hücreler.....	48
3.9. 12 aylık sıçan timusunun genel görünüşü.....	49
3.10. 12 aylık sıçan timusunda oldukça kalınlaşmış timus kapsülü ve kapsülde artmış yağ hücreleri.....	50
3.11. 12 aylık sıçan timusunda kalınlaşmış lobüllerarası bağ dokusu.....	50
3.12. 12 aylık sıçan timusunda artmış bağ dokusu.....	51
3.13. 12 aylık sıçan timusunun lobüllerarası bağ dokusunda artmış yağ hücreleri.....	51
3.14. 12 aylık sıçan timusunun medulla bölgesinde artmış epitelial retiküler hücreler.....	52

3.15.	1 aylık sıçan timusunda FN pozitif boyanmış timus kapsülü	53
3.16.	1 aylık sıçan timusunda FN pozitif boyanmış lobüllerarası bağ dokusu	53
3.17.	1 aylık sıçan timusunda FN pozitif boyanmış damar etrafı	54
3.18.	1 aylık sıçan timusu medullasında FN pozitif boyanmış bölgeler	54
3.19.	6 aylık sıçan timusunda FN pozitif boyanmış kapsül ve lobüllerarası	
	bağ dokusu	55
3.20.	6 aylık sıçan timusunun medullasında yoğun olarak FN pozitif boyanmış	
	bölgeler.....	56
3.21.	6 aylık sıçan timusunda FN pozitif boyanmış damar etrafı	56
3.22.	12 aylık sıçan timusunda FN pozitif boyanmış kapsül ve	
	lobüllerarası bağ dokusu.....	57
3.23.	12 aylık sıçan timusunda oldukça yoğun FN pozitif boyanmış medulla	
	ve Hassall cisimciği	58
3.24.	12 aylık sıçan timusunda yoğun olarak FN pozitif boyanmış	
	damar endoteli etrafı	58

ÇİZELGELER DİZİNİ

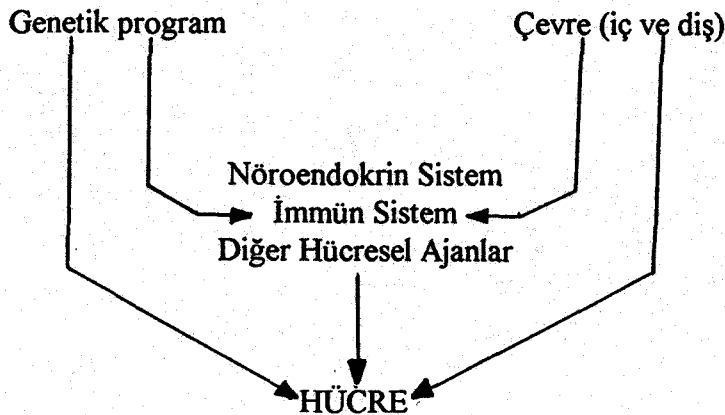
<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Deney Planı	21
3.1. 1,6 ve 12 aylık dişi sıçanların timus ve vücut ağırlıkları.....	26
3.2. 1,6 ve 12 aylık erkek sıçanların timus ve vücut ağırlıkları	27
3.3. 1,6 ve 12 aylık dişi ve erkek sıçanlara ait..... timus/vücut ağırlığı oranları	28
3.4. 1,6 ve 12 aylık dişi sıçanların timus ve boy uzunlukları	31
3.5. 1, 6 ve 12 aylık erkek sıçanların timus ve boy uzunlukları.....	32
3.6. 1, 6 ve 12 aylık dişi ve erkek sıçanlara ait timus boy..... ve en uzunlukları.....	33
3.7. 1,6 ve 12 aylık dişi ve erkek sıçanların timus kapsül kalınlıkları	35
3.8. 1, 6 ve 12 aylık dişi sıçanlara ait hematolojik sonuçlar	39
3.9. 1, 6 ve 12 aylık erkek sıçanlara ait hematolojik sonuçlar	40
3.10. 1 aylık dişi ve erkek sıçanlara ait hematolojik sonuçlar	41
3.11. 6 aylık dişi ve erkek sıçanlara ait hematolojik sonuçlar	42
3.12. 12 aylık dişi ve erkek sıçanlara ait hematolojik sonuçlar	43

1. GİRİŞ ve ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

1. 1. Giriş

Organizmalar, tüm yaşamları boyunca birçok iç ve dış faktörlerle karşı karşıya kalır ve bu faktörlere bünyelerinde bulundurdıkları bazı sistemlerle karşılık verirler. Bu sistemlerin başında bağışıklık (immün) ve nöroendokrin sistem gelmektedir. Beyin, hipotalamus, hipofiz, tiroid, adrenal ve gonadlar gibi organlardan oluşan nöroendokrin sistem, vücuttaki tüm fonksiyonlara çeşitli seviyelerde etki eder. Nöroendokrin sistem, bağışıklık sistemiyle de çok sıkı ilişki içinde bulunarak, onun görevini tam olarak yerine getirmesini sağlar.

Yüksek organizasyonlu hayvanlarda hücresel fonksiyonların düzenli olarak yerine getirilmesi ve hayatta kalmaları tamamen bu sistemlerin düzenli çalışması ve aynı zamanda hücrelerin birbirleriyle haberleşmelerine bağlıdır. Yaşamın çok erken dönemlerinde nispeten az gelişmiş olan bu sistemler, erginlikle birlikte gelişmelerini zirveye ulaştırırlar. Ancak yaşlanmayla birlikte tüm vücut fonksiyonlarında gözlenen değişiklikler, bu sistemlerde de görülür. Yaşlanma, hem genoma hem de çevreye bağlı karmaşık bir olaydır (Şekil 1.1.). Protozoa ve basit metazoada, hemen hemen tüm hücrelerde genel bir yaşlanma gözlenirken, daha kompleks organizmalarda yaşlanma, özellikle vücudun homeostazını sağlayan hücrelerde oldukça belirgin bir şekilde gözlenmektedir ki bu hücreler bağışıklık sistemi ve nöroendokrin sistemin hücreleridir (Meites et al., 1987).



Şekil 1.1. Hücre yaşlanmasını etkileyen faktörler

Erginlikte, herhangi bir nöroendokrin sistem hastalığının bağışıklık sistemini etkilediği gibi, yaşlanmada da aynı mekanizmalar bağışıklık sistemini etkiler. Yapılan çalışmalar, insan ve farelerde normal immün fonksiyonların yaşlanmayla birlikte azaldığı ve bu azalmaya bağlı olarak çeşitli enfeksiyon ve kanserlerin bazı tiplerinde artış olduğunu göstermiştir (Hirokawa and Makinoda, 1975). Bağışıklık sistemi yaşlanmasındaki kilit organ, timustur. Timus, hem endokrin hem de immün fonksiyonlara katılan bir organdır ve özellikle T-hücre bağımlı immün fonksiyonlarda etkilidir. Ergenlik ile zirveye ulaşan immünolojik fonksiyonlar, ilerleyen yaşla birlikte azalma gösterir. İmmünolojik cevaptaki azalma, timusun fonksiyonlarındaki azalmaya bağlı olarak, özellikle T-hücre bağımlı immün sistemde meydana gelir (Hirokawa et al., 1994). Yaşlanmayla birlikte T hücre sayısında azalma, timusta daha çok olmakla birlikte antikör üretiminde azalma, otoimmün hastalıklarda artış (Hayflick, 1985), polimorfik hücrelerin ürünleri olan oksidasyon proteinlerinde artış gözlenmiştir (Aronson, 1993). Aynı zamanda vücutta otoantikörlerin üretimi artarken bağışıklık cevabı da azalmaktadır (Aronson, 1993).

Yaşlanmayla birlikte immün ve endokrin sistemde meydana gelen değişikliklerle birlikte, bazı dokularda ve bazı maddelerin konsantrasyonunda da değişiklikler olur. Yaşlanmayla birlikte değişikliğe uğrayan diğer bir doku da kan dokusudur. Memelilerde kan dokusunu oluşturan hücrelerin miktarında ve onların fonksiyonlarında yaşa bağlı olarak değişiklikler saptanmıştır (Lipschitz et al., 1984; Turton et al., 1989).

Yaşlanmayla konsantrasyonunda değişiklik meydana gelen maddelerin en önemlileri, embriyonik gelişimdeki çok önemli görevlerinin yanında ergin dönemde de birçok görevleri üstlenen glikoprotein ve proteoglikanlardır. Bu maddelerin konsantrasyonları ve/veya yapılarının normal ya da bozuk olması, doku rejenerasyonu, yaraların iyileşmesi ve hücreler arası haberleşme gibi çok önemli olaylarda büyük öneme sahiptir. Bir glikoprotein olan fibronektin (FN), hemen hemen her dokuda ve hücre dışı matrikste (ekstraselüler matriks) oldukça yüksek konsantrasyonda bulunur. Özellikle, timusun başlıca fonksiyonu olan T lenfositlerin üretiminde önemli bir rolü olması bakımından,

timustaki dağılımı oldukça önemlidir. Çünkü, timus yaşlanmayla birlikte yapısal ve fonksiyonel bazı değişikliklere uğrayan bir organdır.

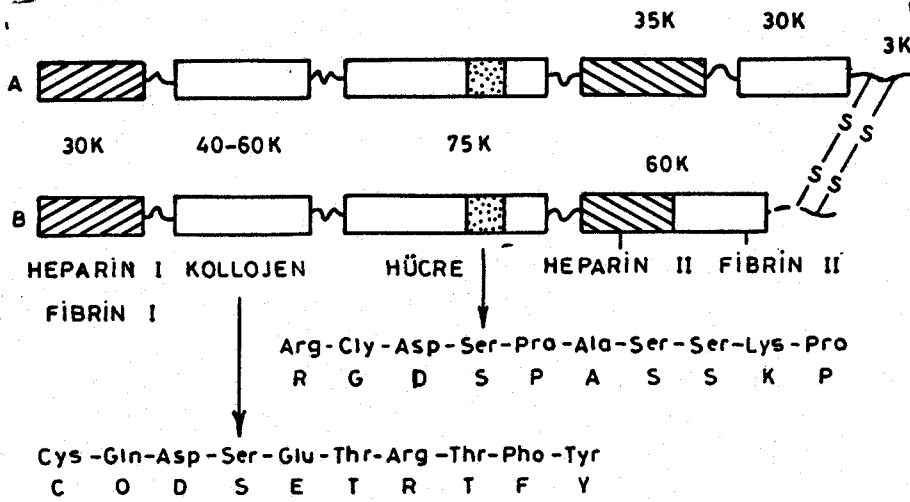
Yaşlanmayla meydana gelen bu değişiklikler temelde birbirine benzemekle birlikte, memelilerde bazı farklılıklara sahiptir. Örneğin, bir tür memelide bazı maddelerin konsantrasyonu yaşlanmayla azalırken, aynı sınıfa ait başka bir türde artabilmektedir. Bu yüzden, bu çalışmada Swiss albino sıçan türü olan *Rattus rattus* timusunun yaşlanmaya bağlı olarak histolojik yapısı ve fibronektin dağılımındaki ve kan dokusu hücrelerindeki değişimler incelenmiştir.

1.2. Önceki Çalışmalar

1.2.1. Fibronektinin (FN) Yapısı ve Görevleri

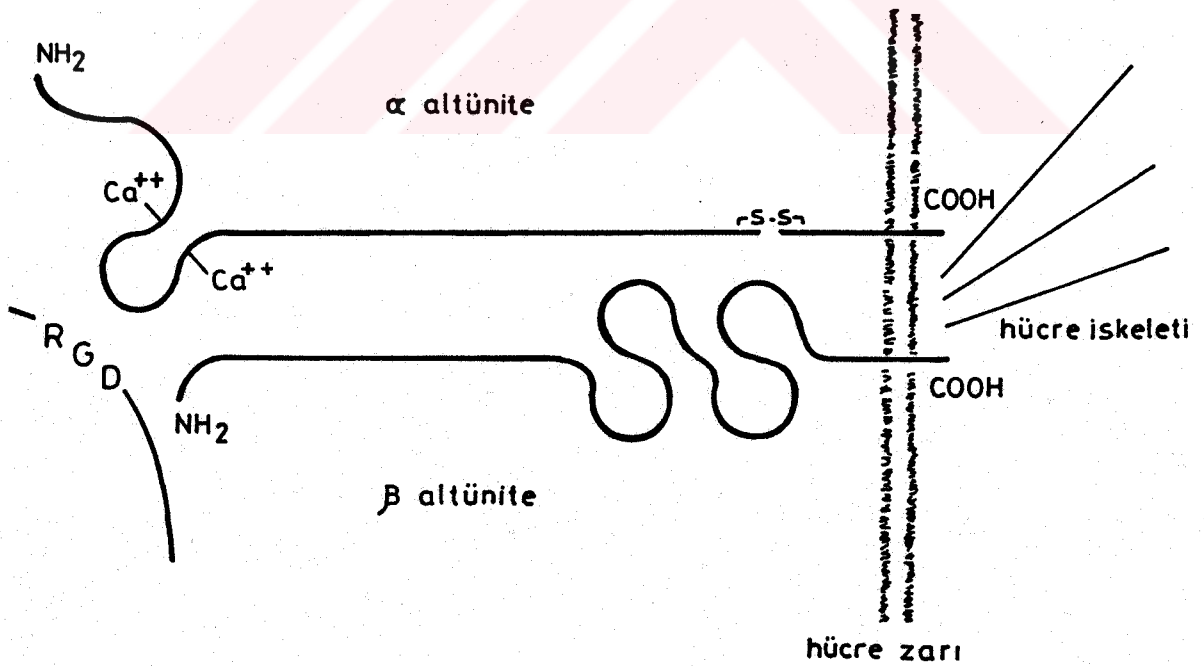
FN, çeşitli epitel hücreleri, endotel hücreleri, miyoblastlar ve makrofajlar tarafından sentezlenen, kan, lenf ve doku sıvılarında, çoğu hücrelerin hücre dışı matrikslerinde (ekstraselüler matriks), bağ doku matriksinde, bazal membranlarında bulunan yüksek moleküler ağırlıklı, dimerik yapılı bir glikoproteindir (Scott, 1983; Oka, 1985).

FN, birbirine çok benzeyen, herbiri 60 nm uzunluğunda (Abrahamson, 1986; Timpl and Dziadek, 1986) 2 monomer ya da 220 000 moleküler ağırlıklı iki polipeptid zincirinin karboksi terminal ucuna yakın bir bölgede disülfid bağı aracılığıyla bağlanmasından oluşmuş V şeklindeki bir glikoproteindir ve % 5 oranında karbohidrat içerir (Scott, 1983). Bu karbohidratlar FN'i proteolize karşı korur. Embriyonal ve tümör kaynaklı FN'lerde karbohidrat miktarı daha çoktur (Ruoslahti, 1988). 60 nm uzunluğundaki herbir kol, hücre yüzeyine bağlanmak için en az 1, kollajene bağlanmak için 2 ve heparine bağlanmak için 2 tane bağlanma bölgesi taşır (Şekil 1.2.) (Hynes, 1987; Dufour et al., 1988; Ruoslahti, 1988; Pagani et al., 1991). Hem hücre içinde hem de hücre dışında bulunan FN, yapısında bulundurduğu bölgeler sayesinde hücre dışı matrikste bulunan diğer moleküllerle etkileşim içindedir ve bu bağlantılarla meydana gelen yapıların sağlamlığını sağlar. Bunların yanında FN üzerindeki diğer önemli bölge arjinin-glisin-aspartik asitten oluşan RGD dizisidir. Bu dizi hücrelerin birbirleriyle yapışmalarını sağlayan bağlantı bölgesidir. Memeli FN reseptörleri ve



Şekil 1.2. Fibronektinin yapısı

RGD reseptörleri tipik olarak α ve β altünitelerinin heterodimeridir (Pytela et al., 1986; Ruoslahti and Pierschbacher, 1986; Cardarelli and Pierschbacher, 1987; Ruoslahti, 1988) (Şekil 1.3.).



Şekil 1.3. RGD dizisinin yapısı

FN'in iki şekli bulunmaktadır. Birincisi, ilk kez 1948 yılında Morrison ve arkadaşları tarafından tanımlanan, hepatositlerce sentezlenen çözünebilir dimerik şeklidir. Bu kandaki plazma fibronektinidir (Mosher, 1984). Çözünebilir FN kandan başka, 1976 yılında Chen'in belirttiği gibi amniyotik sıvıda, 1980 yılında Vuento ve arkadaşları tarafından bildirildiği gibi seminal sıvıda, 1981 yılında Gressner ve Wollroff tarafından belirtildiği gibi serebrospinal sıvıda da bulunur (Mosher, 1984). İkincisi ise, fibroblast ve epitel hücrelerince salgılanan çapraz bağlı multimerik yapıda ve hücre dışı matrikste çözünmez halde biriken doku fibronektinidir (Mosher, 1984; Dufour et al., 1988). Doku fibronektini ilk kez 1970'lerin başında kültürdeki fibroblastlar dışında 200-250 000 moleküler ağırlıklı bir glikoprotein olarak saptanmıştır ve bu proteine 1973'de Ruoslahti ve arkadaşları tarafından "fibroblast yüzey antijeni", Gamberg ve Hakomori tarafından "galaktoprotein A" ve 1974 yılında Yamada ve Weston tarafından "hücre yüzey proteini" gibi değişik isimler konulmuştur (Mosher, 1984). Bu iki tip FN molekülü yapılarında bulundurdıkları tip I, II ve III diye adlandırılan 3 farklı tekrar eden dizilerden ayrılabilirler (Ruoslahti, 1988; Dufour et al., 1988; Pagani et al., 1991).

FN'in farklı şekillerinin bulunmasına rağmen, insan ve sıçan genomlarında, FN geninin sadece tek bir kopyası vardır. FN'i kopyalayan bu gen yaklaşık 75 kb uzunluğundadır ve 50 civarında ekson içermektedir (Dufour et al., 1988). Peterson (1985)'a göre çeşitli türlerin FN'leri arasında yüksek derecede dizi homolojisi vardır. Farklı kaynaklardan oluşan FN'ler, FN mRNA'sının alternatif splicingleriyle (RNA splicing: ökaryot mRNA'sında translasyondan önce intron bölgelerinin çıkartılarak eksonların birleştirilmesi) meydana gelir ve bu farklı kaynaklı FN'ler karşılaştırıldığında moleküler ağırlıklarında küçük farklılıklar görülür. Alternatif splicinglerin biyolojik önemi tam olarak bilinmemekle beraber FN'in fonksiyonlarını etkileyebileceği belirtilmektedir (Ruoslahti, 1988).

FN, organizmalarda çok önemli biyolojik olaylarda görevler üstlendiğinden, birçok araştırmacı tarafından çalışma konusu olarak seçilmiştir. FN'in bu önemli fonksiyonları üzerinde durmadan önce FN'in çok yoğun olarak bulunduğu hücre dışı matriks ve daha

az bulunduğu bazal laminanın yapısı ve fonksiyonları hakkında bilgi vermek faydalı olacaktır. Çünkü hücre dışı matriks ve bazal laminada bulunan FN'in fonksiyonları, bu yapıların fonksiyonlarıyla yakından ilişkilidir.

Hücre dışı matriks, hücrelerce salınan glikoproteinler, glikozaminoglikanlar ve proteoglikanlar gibi yapısal makromoleküllerin bir ağından oluşmuştur. Dokuların hücre dışı boşluklarını ve kondrosit, fibroblast, yağ hücreleri gibi hücrelerin çevresini kaplar (Watt, 1986; Eleftheriou et al., 1991). Hücre dışı matriksin biyokimyasal kompozisyonu dokudan dokuya farklı olmakla birlikte başlıca, FN, kollajen, laminin, elastin ve entaktinden oluşmuştur (Watt, 1986). Bileşenlerinin miktarı değişik olsa da hücre dışı matriksin genel fonksiyonları şunlardır;

- 1- Hücre dışı matriksin en önemli biyolojik rolü, tüm organizmada, organlardaki dokuların, dokulardaki hücrelerin birleşmesini ve koordinasyonunu sağlamasıdır.
- 2- İntegrinler de denem transmembran reseptörleri aracılığıyla hücre iskeletinin bileşenleri arasındaki bağlantıları sağlayarak, hücre davranışını etkiler. Kondrosit, fibroblast, bazı epitel hücreleri, yağ hücrelerini içeren birçok hücre tipinin yayılmalarını yönlendirir (Labat-Robert and Robert, 1988; Watt, 1986).
- 3- Hücre dışı matriks embriyonik gelişim sırasında hücre büyümesi, hücre yapışması, hücre farklılaşması, hücre göçü ve büyüme faktörlerinin dağılmasında çok önemlidir (Eleftheriou et al., 1991; Wagner et al., 1993).

Hücre dışı matriksin, bu genel fonksiyonları yanında birçok organ ve biyolojik yapıların oluşmasında da çok özel role sahiptir. Fare meme bezlerinin gelişiminde, distal büyüme ve dallanma morfogenezinde (Silberstein and Daniel, 1984), nöronlar arasında sinaptik ilişkilerin kurulmasında, nöronların dışı doğru büyümesinde (Letourneau et al., 1994; Fillit and Leveugle, 1995), göz merceği hücrelerinin büyümesi ve yapışmasında (Parmigiani and McAvoy, 1984, 1991), parazitlerin yayılmaları ve konakçının karşı koymasında da görev yapar (Lannes-Vieira et al., 1991).

Daha önce de belirtildiği gibi FN'in bulunduğu diğer bir yapı da hücre dışı matriksin özelleşmiş bir şekli olan bazal lamina ya da bazal membrandır. Epitel ve endotel hücrelerin bazal yüzünde, yağ hücreleri, kas hücreleri, Schwann hücreleri gibi hücrelerin çevresinde bulunan bazal lamina, lamina lucida (lamina rara) ve lamina densa denen iki tabakadan oluşmuştur. Bazal lamina FN, laminin, tip IV kollajen, entaktin, nidojen ve proteoglikanlardan meydana gelir (Sanders, 1983; Abrahamson, 1986; Bosman et al., 1989; Paulsson, 1992; Kleinman and Schnager, 1993).

Bazal lamina, altında bulunduğu hücreleri bağ dokudan ayırır, çevrelediği dokulara destek sağlar, hücrelerin farklılaşmasını ve göçlerini etkiler, böbrekte glomerulusta ve akciğer alveollerinde seçici filtre görevi yapar, hücre iskeletiyle etkileşerek hücre davranışını etkiler. Ayrıca yara iyileşmesi, doku rejenerasyonu ve tamirinde, epitelin polarize olmasında da görevlidir (Abrahamson, 1986; Bosman et al., 1989; Paulsson, 1992).

FN'in bulunduğu yapılar ve bunların görevlerini inceledikten sonra FN'in özel olarak görev aldığı olayları incelediğimizde sağlıklı bir organizmanın gelişebilmesi ve hayatını sürdürebilmesi için çok önemli olduğunu görürüz.

FN, Cardarelli ve Pierschbacher (1987)'e göre hücrelerin yapışmasını yönlendiren hücre dışı matriks proteinlerinin prototipidir. Hücrelerin yapışmasında (Terranova et al., 1986), yayılmasında, hücre iskeletinin organizasyonunda (George et al., 1993) ve hücrelerin şeklinin ve yapısının kurulmasında (Laurie et al., 1983; Oka, 1985), yaraların iyileşmesinde, hücre-matriks bağlantısının sağlanmasında (Mosher, 1984; Abrahamson, 1986) görevlidir. Fibroblastlar, endotel hücreleri, endomisyum ve perimisyumdaki bağ doku hücreleri (Erzen and Maravic, 1993), kulaktaki baziler zar altındaki mezotel hücreler (Keithley et al., 1993; van der Schaft et al., 1994) ve diğer birçok hücrelerin yüzeyinden meydana gelen FN, epitel ve kondrosit gibi hücrelerin yapışması için özel bir yapışma proteinidir (Scott, 1983). FN, aynı zamanda Remold ve arkadaşlarının 1981'de belirttiği gibi optimal makrofaj hareketliliğini, Martin ve

arkadaşlarının 1983 yılında belirttiği gibi monosit ve makrofajlar tarafından bir tür hücre büyüme faktörünün üretilmesini sağlar (Martin et al., 1983; Mosher, 1984).

FN'in embriyonik gelişimdeki görevleri üzerine yapılan çalışmalardan şu sonuçlar elde edilmiştir. Önceleri FN'in omurgasızlarda bulunmadığına inanılıyordu. Ancak daha sonraki çalışmalar göstermiştir ki FN omurgalıların embriyonik gelişimlerinde olduğu kadar, omurgasızların gelişiminde de görevlidir. Örneğin, *Drosophila* embriyolarında, gastrulasyon sırasında FN'in önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Naidet et al., 1987; Dufour et al., 1988).

Gelişen fare embriyolarında FN, ilk kez 1978 yılında Zettev ve Martin tarafından blastosistlerde (George et al., 1993) gösterildikten sonra, bütün omurgalılarda gastrulasyon sırasında mezodermal hücrelerin göçünü yönlendirmek için ektodermin altında, embriyonik bazal membranlarda (Timpl and Dziadek, 1986), kurbağalarda gastrulasyon sırasında blastosöl çatısında (Darribere et al., 1984; Thiery, 1984) saptanmıştır.

FN'in, Wylie ve Heasman (1982) tarafından kurbağa, Critchley ve arkadaşları (1979) tarafından kuş ve Sternberg ve Kimber (1986) tarafından memeli embriyolarında nöral krest hücrelerinin göçlerini, lenfosit öncüllerinin timusa (Dufour et al., 1988) ve Thiery (1984) tarafından primordial germ hücrelerinin gonadlara göçünü yönlendirdiği gösterilmiştir.

Rosenkrans ve arkadaşları (1983) sıçanlarda akciğer, Quaroni ve arkadaşları (1978) ince bağırsak, Lesot ve arkadaşları (1981) diş, Laurie ve arkadaşları (1983) düz ve çizgili kaslar, Linask ve Lash (1986) testis, tiroid, kalp gelişiminde (George et al., 1993) ve Parmigiani ve McAvoy (1991) sıçanlarda göz merceği ve retinanın gelişiminde FN'in rol aldığını göstermişlerdir.

FN'in yoğun olarak bulunduğu timus hücre dışı matriksi, timusun normal fonksiyonunu etkiler ve bu hücre dışı matriks timus mikroçevresinin önemli bir bileşenidir (Berrih et

al., 1985). İnsanlarda T hücrelerinin olgunlaşmasında, kuşlarda T hücreleri öncüllerinin kolonizasyonunda FN ile etkileşim çok önemlidir (Watt et al., 1992). Kan dolaşımında bulunan lenfositler FN'e bağlanmak için FN reseptörlerine sahip değilken, timustan izole edilen lenfositlerde FN reseptörleri belirlenmiştir (Ruoslahti, 1988). FN için bağlanma bölgeleri olgunlaşmamış lenfosit alt gruplarında da belirlenmiştir (Cardarelli et al., 1988; Lannes-Vieira et al., 1991).

FN insan timusunda kapsül, korteks ve loblararası ekstratimik fibröz bağ dokuda, kan damarı endoteli ve Hassall cisimciklerinin etrafında bulunur (Watt et al., 1992). Genç normal farelerin timusunda FN, bazal membranlarda da belirlenebilir ayrıca FN-içeren fibrillerde timus lobüllerinin medullasında görülür. Embriyonal gelişimin 19. gününden önce timus hücreleri tarafından FN salınması, lenfoid hücre göçleri için bir yol gösterici olabilir. Yaşlı farelerde ise FN, laminin ve tip IV kollajenle birlikte kortikal bir ağ oluşturur (Lannes-Vieira et al., 1991).

Yaşlanmayla ilgili yapılan çalışmalar FN'in de birçok madde gibi yaşlanmayla beraber değişikliklere uğradığını göstermiştir. Örneğin, genç hayvanların kulağında baziler zar boyunca yoğun FN gözlenirken, yaşlılardaki baziler zarın bazal kısmında normal miktarda, apikal kısmında ya çok az ya da hiç FN tespit edilememiştir (Keithley et al., 1993).

Yaşlanma hastalığı olarak bilinen Alzheimer hastalığında, Alzheimer depositlerinde çok miktarda gözlenen amyloid proteininin yanında FN de bol miktarda gözlenmiştir. Bu FN, amyloid öncül proteinlerine maksimum bağlanma ilgisi gösterir (Narindrasorasak et al., 1995).

Yaşlanmayla insan dermisinde kollajenler arasında bulunan FN azalırken, kan damarları ve sinirlerin çevresinde herhangi bir değişikliğin olmadığı saptanmıştır (Vitellero-Zuccarello et al., 1992). Oka (1985) insanlarda plazmadaki FN'in ve Silberberg ve arkadaşları da (1989) disklerarası dokudaki FN'in yaşlanmayla arttığını saptamışlardır.

Kültüre edilen fare eksplant hücrelerinde (vücuttan alınıp sun'i ortamda yetiştirilen hücreler) 2. aydan 22. aya kadar FN sentezinde artış gözlenmiştir (Boyer et al., 1991). Edick ve Millis (1984)'in fibroblast kültürüyle yaptıkları çalışmalarda, genç hücrelerdeki FN fibril örneklerinin, hücrelerin uzun eksenine paralel dağıldığını, yaşlı hücrelerde ise yoğun ve rastgele düzenlendiklerini tespit etmiştir (Shevitz et al., 1986). Kültüre edilmiş fibroblastlarda, yaşlandıkça FN mRNA'sının genç olanlardan daha fazla sentezlendiği ve bu nedenle daha fazla FN salgılandığı gözlenmiştir (Shevitz et al., 1986; Nuell et al., 1989; Martin et al., 1990). Ancak yaşlı hücrelerden salınan fazla FN molekülleri, hücre yapışması, yayılması ve bölgesel bağlantı kurulmasında genç hücrelerden salınan FN moleküllerinden daha az yetenekli olduğu gözlenmiştir (Eleftheriou et al., 1991). Ayrıca artan FN yanında FN'in yüksek bir ilgiyle bağlandığı hiyaluronik asit, heparan sülfat ve tip III kollajende de artış görülmektedir (Eleftheriou et al., 1991).

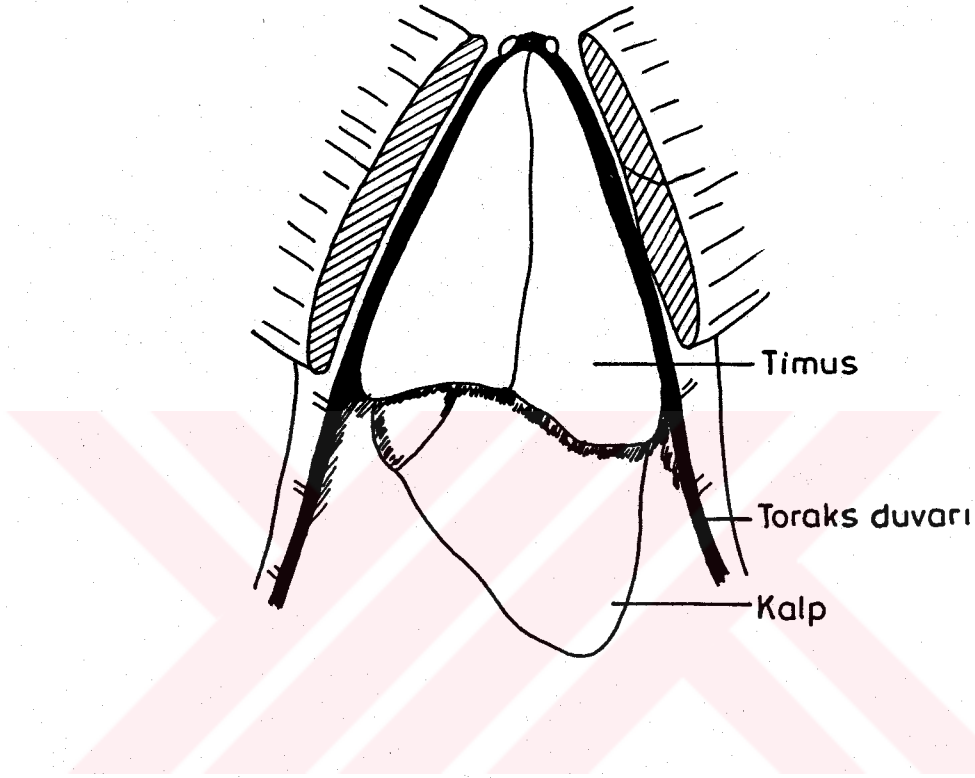
1.2.2. Timusun Yapısı ve Görevleri

İmmünolojik reaksiyonlara katılabilme yeteneği olan T lenfositlerin yapım yeri olan timus, insan, sıçan, fare ve diğer birçok memelide piramid şekilli lenfoid bir organdır (van de Winngaert et al., 1984; Kay, 1984; Raviola, 1986; Utsuyama and Hirokawa, 1987, 1989; Galli et al, 1994) (Şekil 1.4.). İki lobtan oluşan timus, bazı açılardan diğer lenfoid organlardan farklıdır. Bu farklılıklar;

- 1- Doğumdan önce gelişir ve fetal kalp ya da akciğer kadar büyüktür. Diğer lenfoid organlar olan, dalak, lenf nodülleri, kemik iliği ve ilişkili lenfatik dokunun gelişimi doğumdan sonra da devam eder.
- 2- Timus, yaşlanmayla ya da kazasal olarak histolojik yapısında gerilemeler (atrofiye) gösterir.
- 3- Büyük miktarda epitel karakterdeki hücrelerden oluşmuşken, diğer lenfoid organlar baskın olarak mezenşimal karakterdeki hücrelerden oluşmuşlardır.
- 4- Gelişmek için dalak ve lenf nodları gibi antijenik uyarılmaya ihtiyaç duymazlar.

Embriyonik gelişim sırasında 3. ve/veya 4. branşiyal kesenin olduğu bölgede orta hattın her iki tarafında ayrı ayrı geliştikten sonra, bağ dokuyla sıkıca birleşir. Bu

gelişim sırasında, üç germ tabakasından da uyarılara ihtiyaç duyar. Özellikle nöral krest hücrelerinden köken alan, mezenşimal hücrelerin bir tabakasının timus primordiumunu sarması, timusun doğru gelişimi için çok önemlidir (Boyd et al.,1993).



Şekil 1.4. Timus bezinin yapısı

İnsan, kuş ve bazı kemiricilerde boyun bölgesine doğru büyüyen timus, balıklarda solungaçlarla yanyana gelişir ve farinkste kalır. Embriyonik dönemin başlangıcında önce sadece epitel dokudan oluşan timus, daha sonra farede onuncu gün, insanda yedinci hafta ve tavukta E5 evresinde T hücresi olarak farklılaşacak öncül hücrelerle dolar ve bu hücreler epitel hücreleri arasına yayılır. Bu yayılma sırasında epitel hücreleri uzantılarla birbirlerine tutunurlar ve bu halde dalak ve lenf nodlarındaki retiküler hücrelere benzediğinden bunlara "epitelial retiküler hücreler" denir. Daha sonra bu epitel hücreleri, bazal lamina üzerine oturarak kapsülün hemen altındaki kısma yerleşir (Weiss, 1972; Raviola, 1986; Kendall, 1991; Boyd et al., 1993; Ritter and Boyd, 1993).

Histolojik birimi lobül olan timusun herbir lobülü, korteks ve medulla denen iki farklı bölgeden oluşmuştur. Lobüller oldukça dinamik bir yapıya sahiptir, kortekste sürekli üretilen lenfositlerden ölenler ve makrofajlar tarafından yok edilenlerden kalanlar medullaya göç eder ve kan akımına girer. Memeli türleri arasında korteks ve medullanın yapısı hemen hemen aynı olmakla birlikte, farelerin timusları, daha az kompleks olması, daha az lobül içermesi bakımından, sıçanlar ise timuslarında insan ve diğer memelilerden daha az Hassall cisimciği bulundurması bakımından bazı farklılıklar gösterirler.

Timus, bağ dokudan oluşmuş bir kapsülle çevrilidir. Kan damarları ve sinirleri de taşıyan bağ doku, organın içlerine girerek timusu lobüllere ayırır (Raviola, 1986; Novotny et al., 1990; Boyd et al., 1993). Lobüllerarası bağ dokuda, makrofajlar, fibroblastlar, yağ hücreleri, plazma hücreleri ve eozinofiller vardır. Bu bağ dokusu doğumdan 7-10 gün sonrasına kadar, bütün bu hücreleri içermez yani tam olarak gelişmemiştir. Surh ve arkadaşları (1992) bu durumun, yeni doğan timusunda hücre göçünün daha kolay olmasını sağladığını belirtmişlerdir (George et al., 1993). Lobüllerarası bağ dokuda bulunan sinirler kan damarlarıyla birlikte korteks ve medullaya ulaşır ve sonra bağ dokuya geri döner. Lenfatikler korteks ve medullanın birleşme bölgesinde bulunur ve bağ dokudaki kan damarlarına yakın bölgede yer alır (Kendall, 1991). Timus damarları, beyindeki damarlar gibi lenfositlerin doğrudan ilişkide bulunduğu 250 A° kalınlığında iyi gelişmiş bir bazal lamina ve tam bir endotele sahiptir. Bu bağ dokuda bulunan kan damarlarından, timus parankimasına makromoleküllerin geçişi kapiller duvarı aracılığıyla olur. Bu bölgede, damar endoteli, kapsül ve perivasküler boşlukların bağ dokusu ve bu bölgeleri çevreleyen bazal lamina ve bununla ilişkili bağ dokudan oluşan kan-timus bariyeri vardır yani timusa girecek bir maddenin bu bariyerleri geçmesi gerekmektedir (van de Wijngaert et al., 1984; Raviola, 1986; Godfrey et al., 1990). Ancak, bazı maddeler, örneğin transferrin, özel reseptörler aracılığıyla damar endotelini kolaylıkla geçmektedirler (Robert and Sandra, 1994).

Timusun hücresel düzenlenmesi ve hücre içeriği timopoiez (timusta timosit adı verilen T lenfositlerin yapımı) için uygun bir mikroçevre meydana getirir (Boyd et al., 1993). Timusta, büyük, küçük ve orta boy lenfositler, makrofajlar, epitel hücreleri, fibroblastlar, eozinofiller, retiküler hücreler gibi çok çeşitli hücreler vardır (van Haelst, 1967; van de Winngaert et al., 1984; Raviola, 1986; Godfrey et al., 1990; Boyd et al., 1993) ve bu hücrelerin korteks ve medulladaki dağılımları değişiktir. Kortekste, bol miktarda sıkı paketlenmiş lenfosit bulunur. Bunlar medulladakilerden daha az hareketlidir. Büyük lenfositler, özellikle korteks çevresinde birikir ve bu lenfositler hem çok bölünür hem de çabuk dejenere olurlar. Daha küçük lenfositler lobülün merkezinde daha boldur (Raviola, 1986). Kortekste retiküler hücreler medulladakilerden daha az asidofil sitoplazmaya sahiptirler ama medulladakilerin daha çok uzantıları vardır. Timusun retiküler hücreleri endodermal kökenlidir ve daha çok epitel özellik göstermenin yanında birbirlerine de desmozomlarla bağlıdır. Bu hücreler konsentrik düzenlenmeyle, "Hassall cisimcikleri" denen keratinize olmuş epitel hücre yığınlarını oluştururlar. Kortikal bölgedeki epitel hücreleri medulladakilerden daha dallıdır ama medullanın bu hücreleri daha çok epitelial karakterdedirler. Hassall cisimcikleri sıçan ve fare timusunda insan timusundan daha az miktardadır (Lobach et al., 1985, 1987; Raviola, 1986). İçinde yoğun miktarda makrofaj ve piknotik lenfositlerin bulunduğu Hassall cisimciklerinin görevi ölü ya da bozuk hücrelerin yıkımı ve yok edilmesidir (De Maagd et al., 1985; Izon and Boyd, 1990).

Timustaki makrofajlar poligonal şekilli ve düzensiz sınırlıdır ve birçoğu korteks ve medullanın birleşim bölgelerinde bulunur, ancak korteks, medulla ve bağ dokuda da dağılmışlardır. Bağ doku makrofajları daha olgun ve nispeten büyüktür. Kortikal makrofajlar fagosite edilmiş lenfositlerle doludur, kortikomedullar bölge makrofajları morfolojik olarak farklıdır ve fagosite edilmiş materyalden yoksundur. Medullar makrofajlar çok fazla değildir ve nadiren fagositiktir (Kendall, 1991; Boyd et al., 1993).

Timusun plazma hücreleri ve eozinofilleri kan damarları etrafında ve timus yüzeyinde bulunurken, medullada yoktur. Mast hücreleri, kapsül ve lobüllerarası bağ dokuda bulunur. Timus zarar gördüğünde, eozinofil ve makrofajların sayısı artar. Plazma hücrelerinin sayısı ise yaşlanmayla artar (Smith, 1961; Raviola, 1986; Boyd et al., 1993).

Bağışıklık sisteminin gelişmesi ve devamı, bağışıklık hücrelerin özelleşmiş popülasyonlarının yani T lenfositlerin kök hücrelerinden farklılaşması ve/veya olgunlaşması ve timusun görevini tam ve düzenli yapabilmesi için timus tarafından bazı hormonlar salgılır (Fabris and Machegiani, 1985; Godfrey et al., 1990; Lannes-Vieira et al., 1991; Ritter and Boyd 1993; Galli et al., 1994). Bu hormonların çoğu epitel hücreleri tarafından, az bir kısmı da makrofajlar ve fibroblastlar tarafından salgılır. Hormonlar etkilerini, ya Hynes ve arkadaşları (1984)'nın belirttiği gibi doğrudan timik epitel hücre-timosit kontağı aracılığıyla (Godfrey et al., 1990) ya da çözünabilir moleküller aracılığıyla timositleri aktive ederek gösterirler ve timusun farklı bölgelerinde farklı uyarılar meydana getirirler (Kay, 1984; Boyd et al., 1993; Ritter and Boyd, 1993). Hücreler ve onların mikroçevreleri arasındaki bu haberleşmeler embriyonik gelişim ve tüm hayat boyunca çok önemlidir. Fakat, bu etkileşimler farklı zamanlarda farklı niteliktedirler (Ritter and Boyd, 1993). Timik peptidler de denen bu hormonlar, Goldstein ve arkadaşları (1977) tarafından bildirilen timozin α_1 , Schlesinger ve Goldstein (1975) tarafından bildirilen timopoietin (Kendall, 1991) ve çinko-bağı aktif formu timulin diye adlandırılan "Factor Timique Serique (FTS)" ve timik humoral faktördür (Bach ve Beaurain 1979; Berrih et al., 1985; Micic et al., 1994). Timozin α_1 , kapsülün hemen altındaki tek tek ya da gruplar halindeki epitel hücreler ya da Hassall cisimciklerinin etrafındaki hücrelerde üretilir (Dalakas et al., 1981). Protimozin α_1 , timus dışında dalak, akciğer, böbrek ve beyinden de izole edilmiştir (Haritos et al., 1984). Bu hormon, lenfositleri uyarır ve makrofaj göç inhibitör faktörünün üretimiyle de ilişkilidir (Kendall, 1991). Timopoietin, timusun epitel hücrelerince üretilir ve hem erken T hücre farklılaşmasını uyarır hem de T hücrelerinin fonksiyonunu düzenler (Kendall, 1991). Timulin, kapsülün hemen altındaki ve medulladaki hücrelerce üretilir, kanda dolaşır ve biyolojik aktivitesini

gösterebilmesi için çinkoya ihtiyacı vardır. Görevi, olgunlaşmamış kemik iliği hücreleri üzerindeki T hücre işaretleyicilerini uyarmaktır. Olgun T hücrelerinde ise CD8 alt gruplarını etkiler. Timik humoral faktör, Trainin (1988)'in belirttiğine göre T hücre alt gruplarının farklılaşma ve olgunlaşması için esastır (Kendall, 1991).

Embriyonik gelişim sırasında T hücre öncülleri, immünokompetentliğini yani immünolojik olaylara katılabilme yeteneğini kazanabilmek için timusa göç ederler (van Vliet et al., 1985) ve sonuçta T lenfositlerin, hücre yüzey molekülleri CD4 (Cluster Differentiation 4) ve CD8 (Cluster Differentiation 8) olan 2 alt grubu meydana gelir (Scollay and Shortman, 1985; van Vliet et al., 1985). Bu hücrelerin immünolojik hareketleri timustan ayrıldıktan sonra meydana gelirken, T hücrelerinin programlanmış ölümü, farklılaşması ve proliferasyonu timus içinde meydana gelir (Weiss, 1972; Gozdzicka-Sozeffiak et al., 1992). Bu olaylarda yukarıda sözü edilen hormonların çok önemli fonksiyonları vardır. Champion ve arkadaşları (1986) tarafından, kuş hematopoietik öncül hücrelerin timik epitelial hücrelerce salınan kemotaktik peptidler aracılığıyla timusta toplandığı gösterilmiştir (Savagner et al., 1986). Timusa girecek öncül hücreler timus etrafındaki bazal laminayı geçerek timus epitelinde toplanırlar ve epitel hücrelerden oluşan timusun destekleyici ağı içinde gelişimlerini sürdürürler (De Maagd et al., 1985; Savagner et al., 1986).

T hücrelerinin gelişiminde timik hormonların yanında timustaki hücrelerce üretilen bazı molekülleri içeren lokal mikroçevre de çok önemlidir (Lobach et al., 1985; Takacs et al., 1987; Savino and Dardenne, 1988; Ferric et al., 1990; Watt et al., 1992).

Timusta T hücrelerine farklılaşacak özel hücreler, yüzey molekülleri sentezlendikten sonra pozitif ya da negatif seçime uğrar ve pozitif seçilenler periferiye yayılır. Farklılaşmış timositler korteksten medullaya göç ederler. Bu göçte, timositlere temel mikroçevresel hücreler, timositlerce sentezlenen ko-reseptörler ve zar reseptörleri aracılık eder. Burada 2 yol vardır. Bunlardan birincisi, mikroçevresel hücrelerin sitoplazmik uzantılarıyla timositlerin taşınmasına izin veren doğrudan hücre kontağı; ikincisi, mikroçevresel hücre zarı reseptörleri ve timositler arasında bağlantılar kuran

hücre dışı matriks elementlerinin köprüleri (Ferrick et al., 1990; Kendall, 1991; Savino et al., 1993).

Hücre dışı matriks, timus mikroçevresinin önemli bir bileşenidir (Savino et al., 1993). Timus hücre dışı matriksinden başka, timus mikroçevresinde hareketsiz epitel hücreleri, hareketli makrofajlar ve fibroblastlar da vardır (Kendall, 1991). FN, laminin, kollajen ve retiküler fibrilleri içeren hücre dışı matriks (Berrih et al., 1985; Lannes-Vieria et al., 1991), timusta timosit ve epitel hücre büyümesini ve fonksiyonlarını yerine getirmesine yardımcı olur; hücre-hücre etkileşimi ve hücre göçünü sağlar (Cardarelli and Pierschbacher, 1987; Boyd et al., 1993). FN, insan timusunda kapsül, septalar ve damar çevresi boşluklarda, Hassall cisimciklerinde, timus lobüllerinin medullasında bol miktarda, kortekste ise daha az miktarda bulunmuş, bu da timus epitel hücrelerinin hücre dışı matriks elementlerinin sentezine katıldığını göstermiştir (Berrih et al., 1985; Watt, 1992). Timus içine göç eden hemapoietik öncül hücrelerde de FN saptanmıştır ve bu öncül hücrelerin dağılımı FN reseptörleri ve diğer bileşenler arasındaki doğrudan etkileşimlere bağlıdır (Savagner et al., 1986). Cardarelli ve Pierschbacher, timositlerin sadece FN'e özel olarak bağlandığını ve bu bağlantı sayesinde timositlerin olgunlaşmaya kadar timusta tutulduğunu belirlemişlerdir (Cardarelli and Pierschbacher, 1987). Timositlerle FN arasındaki bu etkileşimler, monositler, makrofajlar ve trombositlerde bulunan, arginin-glisin-aspartik asitten oluşan RGD dizileri aracılığıyla olur (Ruoslahti and Pierschbacher, 1987; Hynes 1987). Bu matriks proteiniyle etkileşimin, olgunlaşmamış hücrelerin diğer mitojenik sinyallere cevap vermesinde etkili olabileceği Cardarelli ve arkadaşları (1988) tarafından ileri sürülmüştür.

İmmün cevabı hipotalamus, hipofiz ve gonadlar tarafından önemli derecede etkilenen timus, embriyonik gelişimin erken safhalarından itibaren üstlendiği çok önemli immünolojik rolüne rağmen insanlarda, laboratuvar kemirgenlerinde ve diğer memelilerde ergenlik döneminde maksimum büyüklüğüne ulaştıktan sonra, diğer lenfoid organlara paralel olmayan, birçok intrinsik (timus epitel dokusu değişimi gibi) ve ekstrinsik (hormonlar, beslenme, stres gibi) faktörlerin etkili olduğu (Kay, 1984;

Aronson, 1991) yapısal ve fonksiyonel gerilemeye uğrar (Moore et al., 1983; Steinmann et al., 1985; Kuper et al., 1986; Meites et al., 1987; Hirokawa et al., 1990; Aronson, 1991; Galli et al., 1994). Yaşlanmayla meydana gelen involüsyonun yanı sıra, timus "kazasal involüsyon" denen, bazı toksik bileşikler, beslenme yetersizliği, radyasyonla uyarılma, adrenokortikotropik hormon, gonadal steroidler, bazı hastalıklar ve bakteri endotoksinlerinin neden olduğu bir involüsyona da uğrar (Konno et al., 1993). Kazasal involüsyon çok ilerlemediği sürece geriye dönüşümlü olarak meydana gelir. Aronson (1991) tarafından, stres arttığında kortikosteroidlerin miktarında artış olduğu ve olgunlaşmamış timositlerin buna duyarlılığından dolayı öldüğü, böylece yoğun doku yıkımının meydana geldiği gösterilmiştir.

Timusta meydana gelen bu gerileme yani timusun involüsyonu, bağışıklık sistemi fonksiyonundaki azalmanın en önemli sebebi sayılmaktadır (Hirokawa et al., 1990). Yaşlanmayla birlikte timusta meydana gelen değişiklikler şöyle sıralanabilir;

1- Timus involüsyonuyla birlikte, T hücre olgunlaşmasında düzensiz yollar baskın hale gelir ve ancak düşük immünolojik cevaplar verebilen T hücreleri üretilir (Kay, 1984; McCarron et al., 1987; Aronson, 1991, 1993). T hücrelerinin sayısında ve T lenfosit alt gruplarının kompozisyonunda da değişiklikler olur (Murray et al., 1964; Ebersole et al., 1988; Westermann et al., 1990; Goya et al., 1991; Hirokawa et al., 1994). Yaşlı hayvanlarda, gençlerden daha az CD4 ve CD8 antijenlerine sahip T hücreleri vardır (Kendall et al., 1990). Fare ve insanlarda CD8⁺ hücrelerde azalma CD4⁺ hücrelerindeki kadar daha fazladır, böylece CD4⁺/CD8⁺ oranında artış gözlenir (Hirokawa, 1994). Aslında lenfosit çeşitlerindeki bu azalmalar B lenfositlerde de gözlenir, fakat T lenfositlerdeki kadar fazla değildir (Chavez et al., 1992). Yaşlanmayla T hücrelerinde meydana gelen diğer değişiklikler ise, Brown Norway sıçanlarda ileri yaşlarda gözlenen CoA'ya karşı cevapta azalma (Goonewardene and Murasko, 1993), yaşlı sıçanların T lenfositlerinde gözlenen, hücre iskeleti ve zar kompozisyonundaki değişimlerdir (Gilman et al., 1981). Ancak bu durum bazı araştırmacılar tarafından, yaşlanmaya bağlı olarak kendi bileşenlerinde meydana gelen değişimlere karşı koruyucu bir durum olarak kabul edilmiştir (Aronson, 1991).

2- Yaşlanmayla birlikte, epitelin endokrin aktivitesi azalır ve timus hormonlarından "Facteur Thymique Serique (FTS)" düzeyi, yaşlanmayla endokrin sistemde meydana gelen değişikliklere bağlı olarak azalır (Fabris and Macchegiani, 1985). Bu azalmaya bağlı olarak da T hücrelerinin olgunlaşmaları ve bazı fonksiyonlarını yerine getirebilmeleri mümkün olmaz (Bach and Baurain, 1979; Micic et al., 1994).

3- Timusun involüsyonu sırasında, antioksidan savunmaları azalır ya da sadece normal miktarlarda cevap verebilir. Fakat artan oksidan maddelerle başa çıkamaz ve sonuçta hücre yaşamı için esas moleküllerin oksidasyonu meydana gelir. Aynı zamanda lipid peroksidasyonu ve sülfidril gruplarının oksidasyonu da yaşlanmayla artar (Galli et al., 1994).

4- Yaşlanmayla birlikte, timusta ağırlık kaybı görülür (Hirokawa and Makinodan, 1975; Kuper et al., 1986; Utsuyama and Hirokawa, 1989; Kendall et al., 1990).

5- Yaşlanmayla timusun histolojik yapısında, kapsül kalınlığında artış, korteks ve medulla genişliğinin değişmesi, timus parankimasının yağ dokusuyla yer değiştirmesi gibi gerilemeler gözlenir (Moore et al., 1983; Steinmann et al., 1985; Kendall et al., 1990; Micic et al., 1994).

Bütün bu genel değişiklikler birçok memeli ve insanda gözlenmesine rağmen bazı memeli türlerinde yaşlanmayla birlikte bu tür gerilemeler gözlenmez. Örneğin, Buffalo/Mna sıçanlarında yaşlanmayla timus involüsyonu görülmez, bunun aksine yaş ile birlikte bir büyüme ve 24 aylıkken bu büyümeye bağlı olarak solunum bozukluğundan dolayı ölüm görülür. Bu sıçanlarda timusun, ömür boyunca immünolojik olarak aktif olduğu ve sürekli T lenfosit ürettiği belirlenmiştir (Hirokawa et al., 1990). Timusta bazı durumlarda örneğin, bazı hastalıklar sonucunda yaşlanmayla beklenen gerilemeler gözlenmeyebilir. Örneğin, spontan hipersensitive sıçan (SHR)'larda yaşlanmayla meydana gelmesi beklenen "medullar hacim artışı" gözlenmemiştir. Bunlarda yaşamın her döneminde timusun vücut ağırlığına oranında da herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Olgunlaşmayla, medullar ve kortikal bölge arasındaki dengesizlik timositlerin olgunlaşmasında bir değişimin meydana geldiği gözlenmiştir (Purcell et al., 1993). İnsülin üreten β hücrelerinin otoimmün olarak

yıkıldığı NOD farelerinin timusunda bol miktarda hücre dışı matriks, lenfositler ve dev damar çevresi boşluklar saptanmıştır (Savino et al., 1993).

Timusun yapısı üzerine, bu tür hastalıkların yanında gonadlardan, böbreküstü bezinden ve hipofizden salınan hormonlar da etkilidir (Hirokawa et al., 1990). Aynı zamanda timusun doğumdan hemen sonra alınması yani timektomi yapılması, immünolojik fonksiyonlarda hasarlara, lenfosit popülasyonunda azalmalara (Miller, 1961; Weiss, 1972; Raviola, 1986), dalak ve lenf nodlarının kortekslerinde gelişim bozukluklarına, T hücrelerinin fonksiyonlarında anormalliklere, farelerde ömür uzunluğunda kısalmalara ve hipofizde yapısal bozukluklara yol açtığı gösterilmiştir (Kay, 1984).



2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Sıçanlar

Yaşlanmaya bağlı olarak, sıçan timus bezindeki histolojik değişiklikleri ve fibronectin dağılımını belirlemek için yapılan bu çalışmada, deney hayvanı olarak *Rattus rattus* türü Swiss albino sıçanlar kullanılmıştır. Deneyde kullanılan sıçanlar Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Deney Hayvanları Laboratuvarları'nda üretilmiş ve 1, 6 ve 12 aylık albino sıçanlardan oluşan deney grupları oluşturulmuştur.

Deney süresince sıçanlar, Özhen Yem Sanayii'nden alınan sıçan pelet yemi ve çeşme suyu ile beslenmişlerdir.

2.1.2. İmmunokimyasallar

Swiss albino sıçanların (*Rattus rattus*) timus bezinde yaşlanmaya bağlı olarak fibronectin dağılımını incelemeye kullanılan immunohistokimyasal boyama metodu için gerekli insan fibronectinine karşı fibronectin (anti-human fibronectin), keçi serumu (goat serum), tavşan immunoglobulin G'sine karşı keçide hazırlanmış immunoglobulin G (Goat anti-rabbit Ig G), peroksidaz-anti-peroksidaz (PAP) kompleksi, TRIS tamponu (TRIS buffered saline) ve 3-3'-diamino benzidin (3-3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride) maddeleri, Tokra firması aracılığıyla SİGMA'dan temin edilmiştir.

2.2. Yöntem

2.2.1. Ortam Koşulları

Deney süresince deney hayvanları laboratuvarının sıcaklığı ortalama $19\pm0.34^{\circ}\text{C}$, nispi nemi ortalama $\% 61\pm0.6$ olarak ayarlanmıştır. Deney gruplarındaki dişi ve erkek sıçanlar her kafeste ikişer tane olacak şekilde ayrı ayrı yerleştirilmiştir.

2.2.2. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması

Damızlık olarak yetiştirilen 2 erkek 2 dişi albino sıçandan üretilen erkek ve dişi sıçanlar, 1, 6 ve 12 aylık grupları oluşturmak üzere 5 erkek 5 dişi olacak şekilde ayrılmışlardır (Çizelge 2.1.).

Çizelge 2.1. Deney Planı

<u>Gruplar</u>	<u>Kafesteki dişi sıçan sayısı</u>	<u>Kafesteki erkek sıçan sayısı</u>	<u>Toplam</u>
1 Ay	5	5	10
6 Ay	5	5	10
12 Ay	5	5	10

2.2.3. Kan Analizleri

Deney sürelerinin sonunda deney gruplarındaki sıçanlar önce eterle bayıltılmış daha sonra da boyunları kırılarak (cervical dislocation) öldürüldükten sonra kalplerinden alınan kanın yaklaşık 1 mL'si, pıhtılaşmasını engellemek amacıyla, içinde EDTA (Ethylenediamine tetraacetic acid, sodium salt) bulunan tüplere konulmuştur. Aynı gün, Hacettepe Üniversitesi Çocuk Hastanesi C.B.C. Laboratuvarları'nda Coulter STKS Counter Model S Plus aletiyle kan analizleri yapılarak, kan tablosu elde edilmiştir.

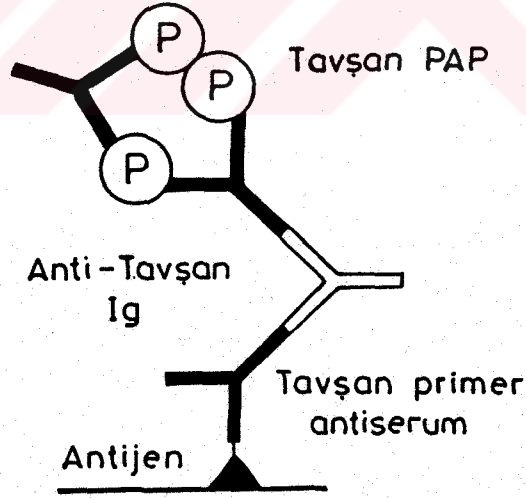
2.2.4. Histolojik İncelemeler

Her deney grubundaki sıçanlar, boyunları kırılarak öldürüldükten sonra, göğüs bölgelerinden açılarak timus bezleri çıkartılmış ve ağırlıkları, boy ve en uzunlukları kaydedilerek tespit edilmek üzere Bouin solüsyonuna atılmıştır. Daha sonra parafine gömülerek hazırlanmış bloklar 6 µm kalınlığında kesilmiştir. Hazırlanan preparatlar, *Rattus rattus* türü Swiss albino sıçanların timus bezinde, yaşlanmayla histolojik olarak bir değişikliğin meydana gelip gelmediğini belirlemek için Hematoksilen & Eosin boyası ile boyanmıştır. Ayrıca, yaşlanmaya bağlı olarak timus bezi kapsül kalınlığının değişip değişmediğini belirlemek için doku PAS (Periodic Acid Schiff) boyasıyla

boyanmıştır. Kapsül kalınlığı ışık mikroskobu oküler mikrocetveli aracılığıyla ölçülüp, saptanmıştır.

2.2.5. İmmunohistokimyasal İncelemeler

İmmunohistokimya, işaretlenmiş antikorlar kullanılarak doku antijenlerinin bulundukları yerde gösterilmelerini sağlayan bir yöntemdir. Oldukça hassas sonuçlar vermesi bakımından güvenilir olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. İmmunohistokimyasal boyamalarda genel olarak dolaylı ve dolaysız olarak iki metod vardır. Bundan başka "Avidin-Biotin", "Immunogold" metodları ve "İşaretlenmemiş Antikor Metodları" denen metodlar vardır. Bu çalışmada kullanılan Peroksidaz-anti-peroksidad (PAP) tekniği işaretlenmemiş antikor metodlarına dahildir. Bu metotta üç aşamalı bir bağlanma kullanılmaktadır (Şekil 2.1.). Birincisi primer antikor, ikincisi bağlantıyı sağlayan sekonder antikor ve sonuncusu da enzim-anti-enzim immun kompleksidir.



Şekil 2.1. Peroksidaz-anti-peroksidad immunoışaretleme metodu

Bu çalışmada, yaşlanmayla birlikte *Rattus rattus* türü albino sıçanların timus bezinde, fibronectin dağılımının değişip değişmediğini belirleyebilmek için 4 µm kalınlığında hazırlanmış parafin kesitlere Heine (1987)'nin metodundan değiştirilerek peroksidaz-anti-peroksidaz (PAP) immunoışaretleme tekniği uygulanmıştır. İmmunohistokimyasal boyama yapılırken aşağıdaki basamaklar takip edilmiştir.

1. 4 µm kalınlığında hazırlanmış parafin kesitler, ksilen, alkol ve su serilerinden geçirilir.
2. Tris tamponuyla (pH = 7.2-7.6) yıkanır.
3. Metanolde hazırlanmış %5' lik H_2O_2 'de 30 dakika tutulur.
4. Tris tamponuyla (pH = 7.2-7.6) yıkanır.
5. %10' luk keçi serumu (Goat serum)'nda 45 dakika tutulur.
6. Tris tamponuyla (pH = 7.2-7.6) yıkanır.
7. 1/400'lük anti-fibronectin solüsyonunda 1 saat tutulur.
8. Tris tamponuyla (pH = 7.2-7.6) yıkanır.
9. 1/300' lük tavşan immunoglobulin G'sine karşı keçide hazırlanmış immunoglobulin solüsyonunda 1 saat tutulur.
10. Tris tamponuyla (pH = 7.2-7.6) yıkanır.
11. 1/400'lük PAP solüsyonunda 1 saat tutulur.
12. Tris tamponuyla (pH = 7.2-7.6) yıkanır.
13. Diaminobenzidin solüsyonunda 2-5 dakika tutulur.
14. Distile suda yıkanır.
15. Alkol serileri ve ksilenden geçirilerek, preparatlar entellan ile yapıştırılır.

Her boyama serisinde, boyama kontrolü olarak anti-fibronectin solüsyonunun damlatılmadığı negatif kontrol preparatları hazırlanmıştır.

2.2.6. İstatistiksel Değerlendirmeler

Çalışma sonunda elde edilen verilere Student's t-testi uygulanarak istatistiksel açıdan önem kontrolleri yapılmıştır (Kutsal ve Muluk, 1972).

3. SONUÇLAR

3.1. Timus Ağırlığı Sonuçlarının Değerlendirilmesi

3.1.1. Bir Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları

Deney grubundaki hayvanlar kesilmeden önce vücut ağırlıklarını tespit etmek amacıyla tartılmışlardır. Deney bitiminde ise timusları çıkarılarak ağırlıkları kaydedilmiştir. 1 aylık dişi grubundaki sıçanların vücut ağırlık ortalamaları 37.750 ± 2.04 g olarak bulunurken, timus ağırlık ortalamaları 0.180 ± 0.03 g olarak bulunmuştur. Timus ağırlıklarının vücut ağırlıklarına oranı hesaplandığında, bu oran 0.0045 ± 0.00002 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.1.).

1 aylık erkek grubundaki sıçanların vücut ve timus ağırlık ortalamalarına bakıldığında, bu grubun vücut ağırlık ortalamaları 34.80 ± 1.92 g, timus ağırlık ortalamaları 0.15 ± 0.01 g ve timus ağırlıklarının vücut ağırlıklarına oranı ise 0.0041 ± 0.00002 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.2.).

1 aylık dişi ve erkek sıçan grupları karşılaştırıldığında, iki gruptaki sıçanların timus/vücut ağırlığı oranları arasında istatistiksel açıdan önemli derecede fark ($p < 0.05$) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.3.).

3.1.2. Altı Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları

Bu grupta bulunan hayvanların da vücut ağırlıkları hayvanlar kesilmeden önce, timus ağırlıkları ise kesildikten sonra tespit edilmiştir. 6 aylık dişi sıçan grubundaki hayvanların vücut ağırlığı ortalamaları 207 ± 1.86 g, timus ağırlık ortalamaları ise 0.246 ± 0.01 g olarak bulunmuştur. Timus ağırlıklarının vücut ağırlıklarına oranı da 0.0010 ± 0.00001 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.1.). Bu sonuçlar bir aylık dişi sıçan grubuyla karşılaştırıldığında, 6 aylık dişi sıçanların ortalama timus/vücut ağırlığı oranının, 1 aylık dişi sıçanlarınkinden istatistiksel açıdan önemli derecede düşük ($p < 0.05$) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.1.).

6 aylık erkek sıçanların vücut ağırlık ortalamaları 276.4 ± 2.01 g, timus ağırlık ortalamaları 0.26 ± 0.01 g, timus ağırlıklarının vücut ağırlıklarına oranı da 0.0008 ± 0.00002 olarak bulunmuştur. Bu gruptaki hayvanların ortalama timus/vücut ağırlığı oranları 1 aylık erkek sıçanların ortalama timus/vücut ağırlığı ile karşılaştırıldığında 6 aylık erkek sıçanların sonuçlarının, 1 aylık erkek sıçanların sonuçlarından istatistiksel olarak önemli derecede düşük ($p < 0.05$) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.2.).

6 aylık dişi ve erkek sıçanların ortalama timus/vücut ağırlığı oranları karşılaştırıldığında ise aralarında istatistiksel açıdan önemli derecede fark ($p < 0.05$) bulunmuştur (Çizelge 3.3.).

3.1.3. Oniki Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları

12 aylık dişi sıçanların vücut ağırlık ortalamaları Çizelge 3.1.'de görüldüğü gibi 276.85 ± 3.45 g, timus ağırlık ortalamaları 0.180 ± 0.06 g, timus ağırlıklarının vücut ağırlıklarına oranı ise 0.005 ± 0.00001 olarak belirlenmiştir. 12 aylık dişi sıçan grubu sonuçları, 1 ve 6 aylık dişi sıçan gruplarıyla karşılaştırıldığında, timus/vücut ağırlığı oranı 1 ve 6 aylık sıçanlarınkinden istatistiksel açıdan önemli derecede düşük olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.1.).

12 aylık erkek sıçanların vücut ağırlık ortalamaları 318.8 ± 2.39 g, timus ağırlık ortalamaları 0.20 ± 0.01 g ve timus/vücut ağırlık oranları ise 0.0003 ± 0.00001 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar 1 ve 6 aylık erkek sıçan gruplarının sonuçlarıyla karşılaştırıldığında, bu gruptaki sıçanların timus/vücut ağırlık oranı 1 ve 6 aylık erkek sıçan grubunun sonuçlarından istatistiksel olarak önemli derecede düşük ($p < 0.05$) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.2.).

12 aylık dişi ve erkek sıçan grupları arasında herhangi bir farkın olup olmadığını belirlemek için yapılan incelemelerde, 12 aylık erkek sıçan grubu sonuçlarının 12 aylık dişi sıçan grubundan daha düşük olduğu ve bu düşüşün istatistiksel açıdan önemli olduğu ($p < 0.05$) belirlenmiştir (Çizelge 3.3.).

Çizelge 3.1. 1, 6 ve 12 aylık dişi sıçanların timus ve vücut ağırlıkları

GRUP	TİMUS AĞIRLIĞI (g)	VÜCUT AĞIRLIĞI (g)	TİMUS / VÜCUT AĞIRLIĞI ORANI
1 Aylık Dişi	0.180±0.03	37.750±2.04	0.0045±0.00002
6 Aylık Dişi	0.246±0.01	207.42±1.86	0.0010±0.00001 ^a
12 Aylık Dişi	0.180±0.06	276.85±3.45	0.0005±0.00001 ^{a,b}

Her grupta 5 hayvan kullanılmıştır.

a: 1 aylık dişilerden $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel açıdan önemli

b: 6 aylık dişilerden $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel açıdan önemli

Çizelge 3.2. 1, 6 ve 12 aylık erkek sıçanların timus ve vücut ağırlıkları

GRUP	TİMUS AĞIRLIĞI (g)	VÜCUT AĞIRLIĞI (g)	TİMUS / VÜCUT AĞIRLIĞI ORANI
1 Aylık Erkek	0.15±0.01	34.80±1.92	0.0041±0.00002
6 Aylık Erkek	0.26±0.01	276.4±2.01	0.0008±0.00002 ^a
12 Aylık Erkek	0.20±0.01	318.8±2.39	0.0003±0.00001 ^{a,b}

Her grupta 5 hayvan kullanılmıştır.

a: 1 aylık erkeklerden p<0.05 seviyesinde istatistiksel açıdan önemli

b: 6 aylık erkeklerden p<0.05 seviyesinde istatistiksel açıdan önemli

Çizelge 3.3. 1, 6 ve 12 aylık dişi ve erkek sıçanlara ait timus/vücut ağırlığı oranları

GRUP	TİMUS / VÜCUT AĞIRLIĞI ORANI
1 Aylık Dişi	0.0045±0.00002
1 Aylık Erkek	0.0041±0.00002 ^a
6 Aylık Dişi	0.0010±0.00001
6 Aylık Erkek	0.0008±0.00002 ^b
12 Aylık Dişi	0.0005±0.00001
12 Aylık Erkek	0.0003±0.00001 ^c

Her grupta 5 hayvan kullanılmıştır.

a: 1 aylık dişilerden $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel açıdan önemli

b: 6 aylık dişilerden $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel açıdan önemli

c: 12 aylık dişilerden $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel açıdan önemli

3.2. Timus Boy ve En Uzunluklarının Değerlendirilmesi

3.2.1. Bir Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları

Gruplardaki sıçanlar kesilip timusları çıkarıldıktan sonra, timus boy ve en uzunlukları ölçülmüştür. 1 aylık dişi sıçanların ortalama timus boy uzunluğu 1.28 ± 0.06 cm, en uzunluğu 1.24 ± 0.05 cm olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.4.).

1 aylık erkek sıçanların ortalama timus boy uzunluğu 1.13 ± 0.10 cm, en uzunluğu ise 0.96 ± 0.04 cm olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.5.).

1 aylık dişi ve erkek sıçan gruplarının sonuçları karşılaştırıldığında, erkeklerin timus en uzunluğunun, dişilerin en uzunluğundan istatistiksel açıdan önemli derecede farklı olduğu ($p < 0.05$) belirlenmiştir (Çizelge 3.6.).

3.2.2. Altı Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları

Yapılan ölçümler sonunda 6 aylık dişi sıçanların ortalama timus boy uzunluğu 1.29 ± 0.08 cm, timus en uzunluğu ise 1.37 ± 0.06 cm olarak tespit edilmiştir. Bu değerler, 1 aylık dişi sıçan grubunun sonuçlarıyla karşılaştırıldığında, timusun hem en hem de boy uzunluğunda istatistiksel açıdan önemli olmayan miktarda bir artış belirlenmiştir (Çizelge 3.4.).

6 aylık erkek sıçanların timus boy uzunluğu ortalaması 1.22 ± 0.07 cm, en uzunluğu ise 1.55 ± 0.08 cm olarak tespit edilmiştir. 1 aylık erkek sıçan grubunun sonuçlarıyla karşılaştırıldığında, 6 aylık erkek sıçan grubunun timus boy uzunluğunda istatistiksel açıdan önemli olmayan, en uzunluğunda ise istatistiksel açıdan önemli ($p < 0.05$) bir artış tespit edilmiştir (Çizelge 3.5.).

6 aylık erkek ve dişi sıçan grupları karşılaştırıldığında, sadece timus en uzunluğunda istatistiksel açıdan önemli bir farklılık ($p < 0.05$) gözlenmiştir (Çizelge 3.6.).

3.2.3. Oniki Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları

12 aylık erkek ve dişi sıçan gruplarında da 1 ve 6 aylık sıçan gruplarındaki gibi timus boy ve en uzunlukları tespit edilmiştir. 12 aylık dişi grubunun ortalama timus boy uzunluğu 1.24 ± 0.09 cm, en uzunluğu ise 1.22 ± 0.06 cm olarak tespit edilmiştir. Bu değerler 1 ve 6 aylık dişi sıçan gruplarının sonuçlarıyla karşılaştırıldığında, aralarında istatistiksel açıdan önemli herhangi bir fark gözlenmemiştir (Çizelge 3.4.).

12 aylık erkek sıçan grubunda ise ortalama timus boy uzunluğu 1.21 ± 0.04 cm, en uzunluğu 1.30 ± 0.13 cm olarak bulunmuştur. Bu grubun değerleri 1 aylık erkeklerle karşılaştırıldığında, timus boy uzunluğunda istatistiksel açıdan önemli olmayan, en uzunluğunda ise istatistiksel açıdan önemli ($p < 0.05$) bir artış tespit edilmiştir. 6 aylık erkeklerle karşılaştırıldığında ise boy ve en uzunluğunda istatistiksel açıdan önemli olmayan bir azalma gözlenmiştir (Çizelge 3.5.).

12 aylık erkek ve dişi sıçanların timus boy ve en uzunlukları karşılaştırıldığında, aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı gözlenmiştir (Çizelge 3.6.).

3.3. Timus Kapsül Kalınlıklarının Değerlendirilmesi

3.3.1. Bir Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları

Kesilen sıçanların timusları çıkartıldıktan sonra, hazırlanan parafin kesitlerde timus kapsül kalınlıkları ışık mikroskobu seviyesinde mikrocetvel ile ölçülmüştür. Kalınlıklar, herbir grup için hazırlanan 10 preparattan toplam 50 doku parçası incelenerek belirlenmiştir. Bu ölçümlere göre tespit edilen timus kapsül kalınlıkları Çizelge 3.7.'de gösterilmiştir. 1 aylık dişi sıçanların ortalama timus kapsül kalınlığı 26.25 ± 1.47 μ m, 1 aylık erkek sıçanların ise 26.50 ± 1.00 μ m olarak saptanmıştır.

1 aylık erkek ve dişi sıçan gruplarına ait sonuçlar karşılaştırıldığında, istatistiksel açıdan önemli bir fark belirlenmemiştir (Çizelge 3.7.).

Çizelge 3.4. 1,6 ve 12 aylık dişi sıçanların timus boy ve en uzunlukları

GRUP	TİMUS BOY UZUNLUĞU (cm)	TİMUS EN UZUNLUĞU (cm)
1 Aylık Dişi	1.28±0.06	1.24±0.05
6 Aylık Dişi	1.29±0.08	1.37±0.06
12 Aylık Dişi	1.24±0.09	1.22±0.06

Her grupta 5 hayvan kullanılmıştır.

Çizelge 3.5. 1,6 ve 12 aylık erkek sıçanların timus boy ve en uzunlukları

GRUP	TİMUS BOY UZUNLUĞU (cm)	TİMUS EN UZUNLUĞU (cm)
1 Aylık Erkek	1.13±0.10	0.96±0.04
6 Aylık Erkek	1.22±0.07	1.55±0.08 ^a
12 Aylık Erkek	1.21±0.04	1.30±0.13 ^a

Her grupta 5 hayvan kullanılmıştır.

a: 1 aylık erkeklerden $p<0.05$ seviyesinde istatistiksel açıdan önemli.

Çizelge 3.6. 1,6 ve 12 aylık dişi ve erkek sıçanların timus boy ve en uzunlukları

GRUP	TİMUS BOY UZUNLUĞU (cm)	TİMUS EN UZUNLUĞU (cm)
1 Aylık Dişi	1.28±0.06	1.24±0.05
1 Aylık Erkek	1.13±0.10	0.96±0.04 ^a
6 Aylık Dişi	1.29±0.08	1.37±0.06
6 Aylık Erkek	1.22±0.07	1.55±0.08 ^b
12 Aylık Dişi	1.24±0.09	1.22±0.06
12 Aylık Erkek	1.21±0.04	1.30±0.13

Her grupta 5 hayvan kullanılmıştır.

a: 1 aylık dişilerden $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel açıdan önemli

b: 6 aylık dişilerden $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel açıdan önemli

3.3.2. Altı Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları

1 aylık dişi ve erkek sıçan gruplarıyla aynı şekilde ölçüm yapılan 6 aylık dişi hayvanlarda ortalama kapsül kalınlığı $57.0 \pm 2.18 \mu\text{m}$, 6 aylık erkek hayvanlarda ise ortalama $54.8 \pm 2.94 \mu\text{m}$ olarak tespit edilmiştir. 6 aylık dişi sıçan grubu sonuçları 1 aylık dişi sıçan grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan önemli bir artış ($p < 0.05$) tespit edilmiştir (Çizelge 3.7.).

6 aylık dişi ve erkek gruplarına ait ortalama timus kapsül kalınlıkları karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel açıdan herhangi bir fark olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 3.7.).

3.3.3. Oniki Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları

12 aylık dişi sıçanların ortalama timus kapsül kalınlığı $101.39 \pm 2.54 \mu\text{m}$, erkek sıçanların ise $109.11 \pm 1.73 \mu\text{m}$ olarak tespit edilmiştir. 12 aylık dişilerle, 1 ve 6 aylık dişilerin sonuçları karşılaştırıldığında 12 aylık dişilerin kapsül kalınlığında hem 1 hem de 6 aylık dişilerinkinden istatistiksel açıdan önemli olan bir artış ($p < 0.05$) belirlenmiştir (Çizelge 3.7.).

12 aylık erkeklerin sonuçları 12 aylık dişilerle karşılaştırıldığında, aralarında istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmezken, 1 ve 6 aylık erkeklerle karşılaştırıldığında timus kapsül kalınlığının bu grupta istatistiksel olarak önemli derecede arttığı ($p < 0.05$) belirlenmiştir (Çizelge 3.7.).

Çizelge 3.7. 1, 6 ve 12 aylık dişi ve erkek sıçanların timus kapsül kalınlıkları

GRUPLAR	TİMUS KAPSÜL KALINLIĞI (μm)
1 Aylık Dişi	26.25±1.47
1 Aylık Erkek	26.50±1.00
6 Aylık Dişi	57.0±2.18 ^a
6 Aylık Erkek	54.8±2.94 ^c
12 Aylık Dişi	101.39±2.54 ^{a,b}
12 Aylık Erkek	109.11±1.73 ^{c,d}

Her grupta 5 hayvan kullanılmıştır.

a: 1 aylık dişilerden $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel açıdan önemli.

b: 6 aylık dişilerden $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel açıdan önemli.

c: 1 aylık erkeklerden $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel açıdan önemli.

d: 6 aylık erkeklerden $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel açıdan önemli.

3.4. Hematolojik Sonuçların Değerlendirilmesi

3.4.1. Bir Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları

Kesilen hayvanların kalplerinden alınan kan örneklerinin analiz sonuçlarının 1 aylık dişilere ait olanları Çizelge 3.8.'de, 1 aylık erkek grubuna ait olanları ise Çizelge 3.9.'da gösterilmiştir.

1 aylık dişi ve erkek sıçanlara ait hematolojik veriler karşılaştırıldığında, 1 aylık erkek sıçanlarda, sadece eritrosit dağılım genişliği (RDW) ve trombosit sayısında (PLT) istatistiksel açıdan önemli bir artış ($p<0.05$) gözlenmiştir (Çizelge 3.10.).

3.4.2. Altı Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları

6 aylık dişi sıçanların hematolojik sonuçları Çizelge 3.8.'de gösterilmiştir. 6 aylık dişi sıçanların hematolojik sonuçları 1 aylık dişilerle karşılaştırıldığında: 6 aylık dişilerin, toplam beyaz kan hücre sayısı (WBC), lenfosit %'si, ortalama hücre hacmi (MCV), ortalama hemoglobin konsantrasyonu (MCH) ve eritrosit dağılım genişliği (RDW) değerlerinde istatistiksel açıdan önemli bir azalma ($p<0.05$), nötrofil %'si, kırmızı kan hücre sayısı (RBC), hematokrit değeri (HCT), ortalama hücresel hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), trombosit (PLT) ve ortalama trombosit hacmi değerlerinde (MPV) ise istatistiksel açıdan önemli bir artış ($p<0.05$) belirlenmiştir (Çizelge 3.8.).

Çizelge 3.9.'da, 6 aylık erkek sıçanlara ait hematolojik veriler gösterilmiştir. 6 aylık erkek sıçanlara ait hematolojik sonuçlar 1 aylık erkek sıçanların sonuçlarıyla karşılaştırıldığında şu veriler elde edilmiştir. 6 aylık erkek sıçan grubunda, toplam beyaz kan hücre sayısı (WBC), lenfosit ve monosit %'leri, ortalama hücre hacmi (MCV), ortalama hemoglobin konsantrasyonu (MCH) ve eritrosit dağılım genişliği (RDW) değerlerinde 1 aylık erkek sıçan grubundan istatistiksel açıdan önemli olan bir azalma ($p<0.05$), nötrofil %'si, kırmızı kan hücre sayısı (RBC), hemoglobin (HGB), hematokrit (HCT) değerlerinde, ortalama hücresel hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), trombosit (PLT) ve ortalama trombosit hacminde (MPV) ise istatistiksel açıdan önemli bir artış ($p<0.05$) gözlenmiştir (Çizelge 3.9.).

6 aylık dişi ve erkek sıçanlara ait hematolojik veriler Çizelge 3.11.'de gösterilmiştir. 6 aylık erkek sıçanların toplam beyaz kan hücre sayısı (WBC), nötrofil %'si , kırmızı kan hücre sayısı (RBC) ve hematokrit değerlerinde 6 aylık dişilerden istatistiksel olarak önemli derecede bir artış, lenfosit %' sinde ise bir düşüş ($p<0.05$) gözlenmiştir (Çizelge 3.11.).

3.4.3. Oniki Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları

12 aylık dişi sıçanlara ait hematolojik veriler Çizelge 3.8.'de gösterilmiştir. 12 aylık dişi sıçan grubunun toplam beyaz kan hücre sayısı (WBC), nötrofil, lenfosit, monosit %'leri, kırmızı kan hücre sayısı (RBC), hemoglobin (HGB), hematokrit değeri (HCT), ortalama hücre hacmi (MCV), ortalama hemoglobin konsantrasyonu (MCH), ortalama hücresel hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), trombosit (PLT) ve ortalama trombosit hacmi (MPV) değerlerinde 1 aylık dişi sıçan grubunun değerlerinden istatistiksel açıdan önemli bir farklılığa ($p<0.05$) sahip olduğu belirlenmiştir. Bu farklılık nötrofil %'si, kırmızı kan hücre sayısı (RBC), hemoglobin (HGB), hematokrit değeri (HCT), ortalama hücresel hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), trombosit (PLT) ve ortalama trombosit hacminde (MPV) artış şeklinde, lenfosit %'si, ortalama hücre hacmi (MCV), ortalama hemoglobin konsantrasyonu (HGB) ve eritrosit dağılım genişliğinde (RDW) ise azalma şeklinde gözlenmiştir (Çizelge 3.8.). 12 aylık dişi sıçan grubuna ait hematolojik veriler 6 aylık dişi sıçan grubunun sonuçlarıyla karşılaştırıldığında ise toplam beyaz kan hücre sayısında (WBC) istatistiksel açıdan önemli bir azalma ($p<0.05$), monosit ve eozinofil %'leri ve ortalama hücresel hemoglobin konsantrasyonunda (MCHC) ise bir artış belirlenmiştir (Çizelge 3.8.).

12 aylık erkek sıçanlara ait hematolojik sonuçlar Çizelge 3.9.'da gösterilmiştir. 12 aylık erkek sıçan grubu 1 aylık erkek sıçan grubundan, toplam beyaz kan hücre sayısında (WBC), lenfosit ve monosit %'leri, ortalama hücre hacminde (MCV), ortalama hemoglobin konsantrasyonu (MCH) değerleri açısından istatistiksel olarak önemli bir azalma ($p<0.05$), nötrofil %'si, kırmızı kan hücre sayısı (RBC), hemoglobin

Çizelge 3.8. 1, 6 ve 12 aylık dişi sıçanlara ait hematolojik sonuçlar

Parametreler	GRUPLAR			
	1 Aylık Dişi	6 Aylık Dişi	12 Aylık Dişi	
WBC($\times 10^9/L$)	5.00 $\pm$ 0.76	2.22 $\pm$ 0.20 ^a	1.55 $\pm$ 0.02 ^{a,b}	-
Nötrofil (%)	1.55 $\pm$ 0.13	12.8 $\pm$ 0.97 ^a	16.6 $\pm$ 1.75 ^a	+
Lenfosit (%)	95.7 $\pm$ 1.69	85.6 $\pm$ 1.56 ^a	81.0 $\pm$ 1.62 ^a	-
Monosit (%)	1.02 $\pm$ 0.04	0.76 $\pm$ 0.44	1.06 $\pm$ 0.14 ^b	+
Eozinofil (%)	-	0.31 $\pm$ 0.19	1.05 $\pm$ 0.27 ^b	+
Bazofil (%)	-	0.18 $\pm$ 0.12	-	-
RBC ($\times 10^{12}/L$)	5.57 $\pm$ 0.06	7.30 $\pm$ 0.16 ^a	7.38 $\pm$ 0.15 ^a	+
HGB (g/dL)	11.6 $\pm$ 0.09	13.2 $\pm$ 0.20 ^a	13.9 $\pm$ 0.25 ^a	+
HCT (%)	35.9 $\pm$ 0.23	38.2 $\pm$ 0.70 ^a	39.1 $\pm$ 0.68 ^a	+
MCV (fL)	64.5 $\pm$ 1.09	52.3 $\pm$ 0.34 ^a	52.9 $\pm$ 0.54 ^a	-
MCH (pg)	20.8 $\pm$ 0.41	18.1 $\pm$ 0.16 ^a	18.8 $\pm$ 0.25 ^a	-
MCHC (g/dL)	32.3 $\pm$ 0.14	34.6 $\pm$ 0.35 ^a	35.5 $\pm$ 0.13 ^{a,b}	+
RDW (%)	19.4 $\pm$ 0.12	13.7 $\pm$ 0.10 ^a	13.4 $\pm$ 0.47 ^a	-
PLT ($\times 10^9/L$)	538 $\pm$ 4.00	818 $\pm$ 5.06 ^a	854 $\pm$ 4.38 ^a	+
MPV (fL)	5.2 $\pm$ 0.06	5.7 $\pm$ 0.07 ^a	5.56 $\pm$ 0.06 ^a	+

Her grupta 5 hayvan kullanılmıştır.

a: 1 aylık gruptan $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel açıdan önemli

b: 6 aylık gruptan $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel açıdan önemli.

Çizelge 3.9. 1, 6 ve 12 aylık erkek sıçanlara ait hematolojik sonuçlar

Parametreler	GRUPLAR			
	1 Aylık Erkek	6 Aylık Erkek	12 Aylık Erkek	
WBC($\times 10^9/L$)	5.06 $\pm$ 0.17	3.30 $\pm$ 0.12 ^a	2.82 $\pm$ 0.62 ^a	-
Nötrofil (%)	1.90 $\pm$ 0.20	17.1 $\pm$ 1.32 ^a	19.1 $\pm$ 0.95 ^a	+
Lenfosit (%)	96.1 $\pm$ 1.01	80.6 $\pm$ 1.51 ^a	79.1 $\pm$ 1.16 ^a	-
Monosit (%)	1.15 $\pm$ 0.04	0.36 $\pm$ 0.26 ^a	0.63 $\pm$ 0.17 ^a	-
Eozinofil (%)	-	0.82 $\pm$ 0.41	0.60 $\pm$ 0.25	
Bazofil (%)	-	0.01 $\pm$ 0.01	-	
RBC ($\times 10^{12}/L$)	5.53 $\pm$ 0.07	7.96 $\pm$ 0.14 ^a	7.79 $\pm$ 0.33 ^a	+
HGB (g/dL)	11.0 $\pm$ 0.26	14.9 $\pm$ 0.98 ^a	14.5 $\pm$ 0.30 ^a	+
HCT (%)	34.0 $\pm$ 0.79	41.1 $\pm$ 0.66 ^a	41.3 $\pm$ 1.15 ^a	+
MCV (fL)	61.9 $\pm$ 1.06	53.4 $\pm$ 1.28 ^a	53.1 $\pm$ 1.23 ^a	-
MCH (pg)	20.1 $\pm$ 0.34	17.6 $\pm$ 0.11 ^a	18.7 $\pm$ 0.43 ^{a,b}	-
MCHC (g/dL)	32.4 $\pm$ 0.12	33.8 $\pm$ 0.14 ^a	35.2 $\pm$ 0.53 ^{a,b}	+
RDW (%)	30.7 $\pm$ 1.07	14.5 $\pm$ 0.17 ^a	23.0 $\pm$ 5.43	-
PLT ($\times 10^9/L$)	616 $\pm$ 10.2	855 $\pm$ 23.7 ^a	887 $\pm$ 19.7 ^a	+
MPV (fL)	5.06 $\pm$ 0.06	5.50 $\pm$ 0.07 ^a	5.58 $\pm$ 0.11 ^a	+

Her grupta 5 hayvan kullanılmıştır.

a: 1 aylık gruptan $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel açıdan önemli

b: 6 aylık gruptan $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel açıdan önemli.

Çizelge 3.10. 1 aylık dişi ve erkek sıçanlara ait hematolojik sonuçlar

Parametreler	GRUPLAR	
	1 Aylık Dişi	1 Aylık Erkek
WBC($\times 10^9/L$)	5.00 $\pm$ 0.76	5.06 $\pm$ 0.17
Nötrofil (%)	1.55 $\pm$ 0.13	1.90 $\pm$ 0.20
Lenfosit (%)	95.7 $\pm$ 1.69	96.1 $\pm$ 1.01
Monosit (%)	1.02 $\pm$ 0.04	1.15 $\pm$ 0.04
Eozinofil (%)	-	-
Bazofil (%)	-	-
RBC ($\times 10^{12}/L$)	5.57 $\pm$ 0.06	5.53 $\pm$ 0.07
HGB (g/dL)	11.6 $\pm$ 0.09	11.0 $\pm$ 0.26
HCT (%)	35.9 $\pm$ 0.23	34.0 $\pm$ 0.79
MCV (fL)	64.5 $\pm$ 1.09	61.9 $\pm$ 1.06
MCH (pg)	20.8 $\pm$ 0.41	20.1 $\pm$ 0.34
MCHC (g/dL)	32.3 $\pm$ 0.14	32.4 $\pm$ 0.12
RDW (%)	19.4 $\pm$ 0.12	30.7 $\pm$ 1.07 ^c +
PLT ($\times 10^9/L$)	538 $\pm$ 4.00	616 $\pm$ 10.2 ^c +
MPV (fL)	5.2 $\pm$ 0.06	5.06 $\pm$ 0.06

Her grupta 5 hayvan kullanılmıştır.

c: 1 aylık dişilerden $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel açıdan önemli.

Çizelge 3.11. 6 aylık dişi ve erkek sıçanlara ait hematolojik sonuçlar

Parametreler	GRUPLAR	
	6 Aylık Dişi	6 Aylık Erkek
WBC($\times 10^9/L$)	2.22 $\pm$ 0.20	3.30 $\pm$ 0.12 ^d +
Nötrofil (%)	12.8 $\pm$ 0.97	17.1 $\pm$ 1.32 ^d +
Lenfosit (%)	85.6 $\pm$ 1.56	80.6 $\pm$ 1.51 ^d -
Monosit (%)	0.76 $\pm$ 0.44	0.36 $\pm$ 0.26
Eozinofil (%)	0.31 $\pm$ 0.19	0.82 $\pm$ 0.41
Bazofil (%)	0.18 $\pm$ 0.12	0.01 $\pm$ 0.01
RBC ($\times 10^{12}/L$)	7.30 $\pm$ 0.16	7.96 $\pm$ 0.14 ^d +
HGB (g/dL)	13.2 $\pm$ 0.20	14.9 $\pm$ 0.98
HCT (%)	38.2 $\pm$ 0.70	41.1 $\pm$ 0.66 ^d +
MCV (fL)	52.3 $\pm$ 0.34	53.4 $\pm$ 1.28
MCH (pg)	18.1 $\pm$ 0.16	17.6 $\pm$ 0.11
MCHC (g/dL)	34.6 $\pm$ 0.35	33.8 $\pm$ 0.14
RDW (%)	13.7 $\pm$ 0.10	14.5 $\pm$ 0.17
PLT ($\times 10^9/L$)	818 $\pm$ 5.06	855 $\pm$ 23.7
MPV (fL)	5.7 $\pm$ 0.07	5.50 $\pm$ 0.07

Her grupta 5 hayvan kullanılmıştır.

d: 6 aylık dişilerden $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel açıdan önemli.

Çizelge 3.12. 12 aylık dişi ve erkek sıçanlara ait hematolojik sonuçlar

Parametreler	GRUPLAR	
	12 Aylık Dişi	12 Aylık Erkek
WBC($\times 10^9/L$)	1.55 $\pm$ 0.02	2.82 $\pm$ 0.62 ^e +
Nötrofil (%)	16.6 $\pm$ 1.75	19.1 $\pm$ 0.95
Lenfosit (%)	81.0 $\pm$ 1.62	79.1 $\pm$ 1.16
Monosit (%)	1.06 $\pm$ 0.14	0.63 $\pm$ 0.17
Eozinofil (%)	1.05 $\pm$ 0.27	0.60 $\pm$ 0.25
Bazofil (%)	-	-
RBC ($\times 10^{12}/L$)	7.38 $\pm$ 0.15	7.79 $\pm$ 0.33
HGB (g/dL)	13.9 $\pm$ 0.25	14.5 $\pm$ 0.30
HCT (%)	39.1 $\pm$ 0.68	41.3 $\pm$ 1.15
MCV (fL)	52.9 $\pm$ 0.54	53.1 $\pm$ 1.23
MCH (pg)	18.8 $\pm$ 0.25	18.7 $\pm$ 0.43
MCHC (g/dL)	35.5 $\pm$ 0.13	35.2 $\pm$ 0.53
RDW (%)	13.4 $\pm$ 0.47	23.0 $\pm$ 5.43
PLT ($\times 10^9/L$)	854 $\pm$ 4.38	887 $\pm$ 19.7
MPV (fL)	5.56 $\pm$ 0.06	5.58 $\pm$ 0.11

Her grupta 5 hayvan kullanılmıştır.

e: 12 aylık dişilerden $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel açıdan önemli.

3.5. Histolojik İnceleme

3.5.1. Bir Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları

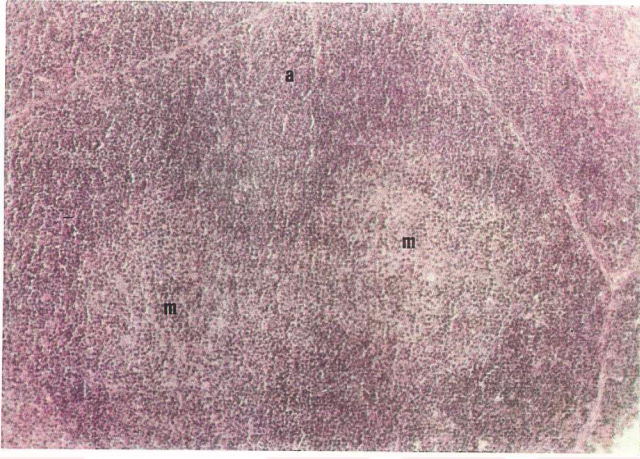
Histolojik incelemeleri ışık mikroskopuyla yapılan 1 aylık dişi ve erkek sıçanlara ait timus kesitleri arasında herhangi bir fark görülmemiştir. 1 aylık dişi ve erkek sıçanların timuslarında genel olarak şu özellikler gözlenmiştir;

- 1- Timus lobülleri henüz tam olarak birbirlerinden ayrılmamıştır ve medullar bölge küçük görülmektedir (Şekil 3.1.).
- 2- Timusu çevreleyen kapsül oldukça incedir. Ayrıca timusu lobüllere ayıran septalara ait bağ dokular da oldukça incedir ve birkaç tane yağ hücresi bulunmaktadır (Şekil 3.2.).
- 3- Korteks çok yoğun lenfositlerle doludur. Korteks timus lobülünün büyük bir kısmını kaplamaktadır (Şekil 3.3.).
- 4- Medulla, korteksten daha az hücre içermektedir. Bu hücrelerin az bir kısmı lenfositler, çoğunluğu ise epitelial retiküler hücrelerdir. Epitelial retiküler hücreler her lobülde birkaç tane Hassall cisimciği oluşturmuştur (Şekil 3.4.).

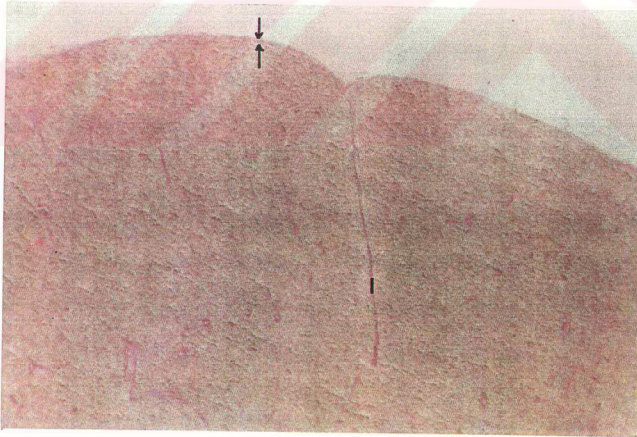
3.5.2. Altı Aylık Dişi ve Erkek Grupları

6 aylık dişi ve erkek gruplarındaki sıçanların timusları histolojik olarak incelendiğinde aralarında bir fark olmadığı görülmüştür. 6 aylık dişi ve erkek sıçanlara ait timusların histolojik inceleme sonuçları aşağıdaki gibi belirlenmiştir.

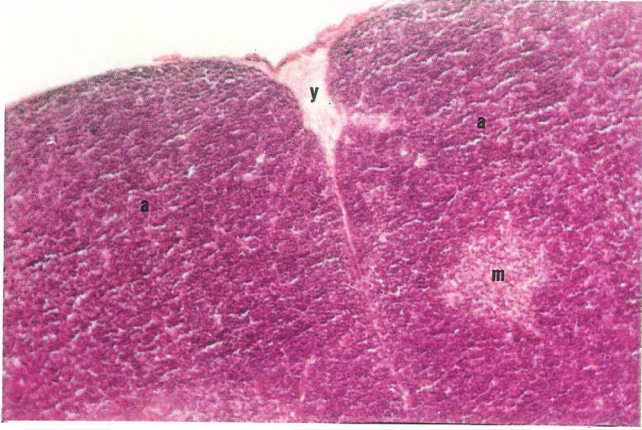
- 1- 1 aylık sıçanlarda henüz tam olarak oluşmamış olan timus lobülleri, artık tam olarak oluşmuştur.
- 2- Timusu çevreleyen kapsül (Şekil 3.5.) ve lobüllerarası bağ dokusu (Şekil 3.6.) 1 aylık sıçanlardan belirgin şekilde daha kalın hale gelmiştir.
- 3- Korteks 6 aylık sıçanlarda 1 aylık sıçanlardaki gibi lenfositlerle doludur. Ancak korteks etrafındaki bağ dokudaki yağ hücrelerinde artış gözlenmiştir ve bu yağ hücreleri kortekste hücrelerle yer değiştirmeye başlamıştır (Şekil 3.7.).
- 4- Medulladaki epitelial retiküler hücrelerin miktarında artış gözlenmiştir. Bu artışa bağlı olarak Hassall cisimciklerinin miktarında da artış belirlenmiştir (Şekil 3.8.).



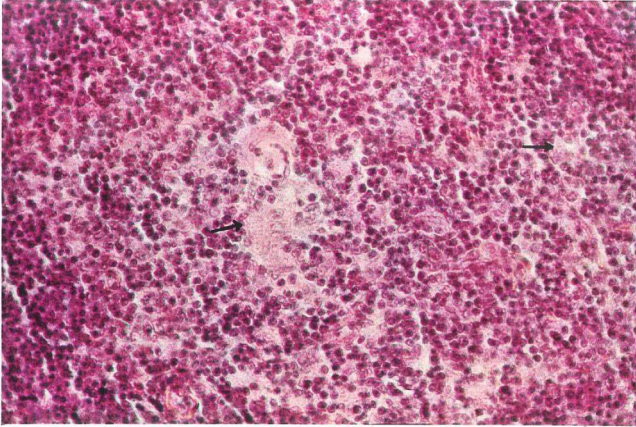
Şekil 3.1. 1 aylık sıçan timusunda tam olarak oluşmamış lobül, küçük medulla (m) ve geniş korteks (a) Büyütme: x 180



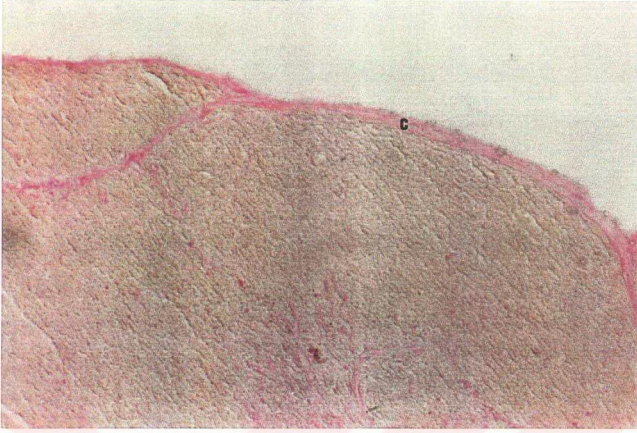
Şekil 3.2. 1 aylık sıçan timusunda çok ince kapsül (↑↓) ve lobüllerarası bağ dokusu (l) Büyütme: x 180



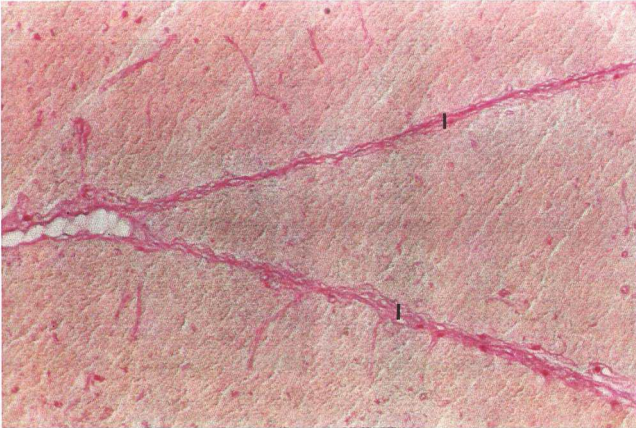
Şekil 3.3. 1 aylık sıçan timusunda geniş ve lenfosit ile dolu korteks (a), küçük medulla (m) ve az miktarda yağ hücreleri (y)
Büyütme: $\times 180$



Şekil 3.4. 1 aylık sıçan timusunun medulla bölgesindeki epitelial retiküler hücreler (↙↘) Büyütme: $\times 450$



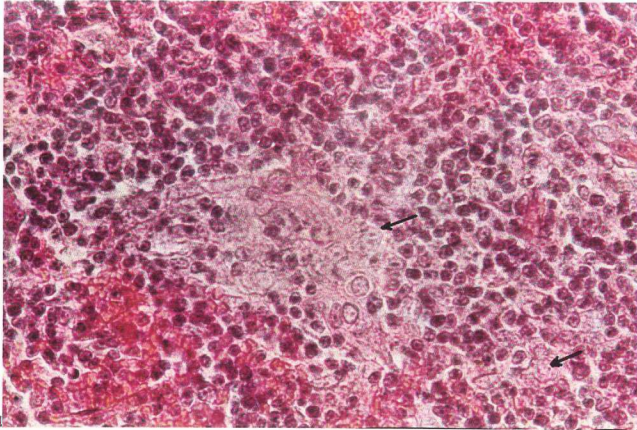
Şekil 3.5. 6 aylık sıçan timusunda kalınlaşmış timus kapsülü (c)
Büyütme: x180



Şekil 3.6. 6 aylık sıçan timusunda kalınlaşmış lobüllerarası bağ dokusu (l)
Büyütme: x180



Şekil 3.7. 6 aylık sıçan timusunda yağ hücreleri (y) tarafından işgal edilmiş korteks (a) Büyütme: x180

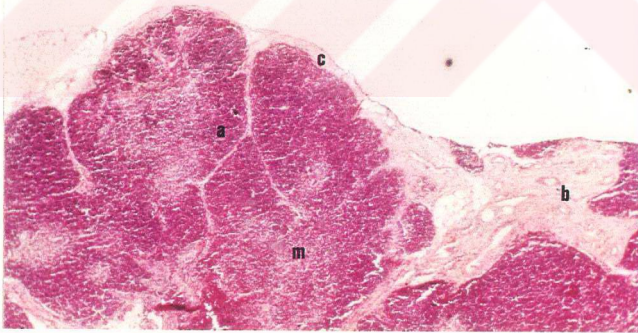


Şekil 3.8. 6 aylık sıçan timusunun medulla bölgesinde artmış epitelial retiküler hücreler (↗) Büyütme: x720

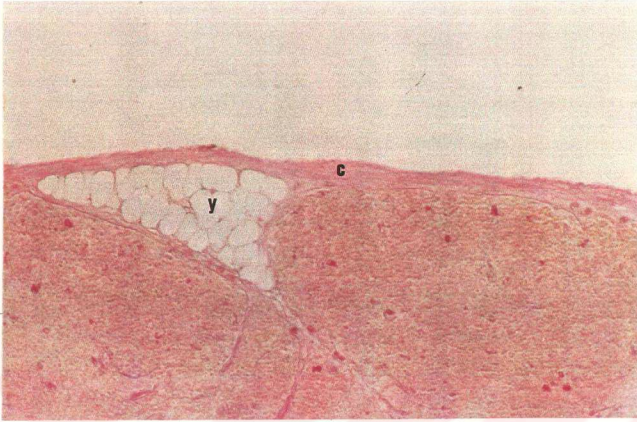
3.5.3. Oniki Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları

12 aylık dişi ve erkek sıçanların timusları arasında da histolojik olarak bir fark gözlenmezken 1 ve 6 aylık gruplardan aşağıdaki farklılıkları göstermiştir.

- 1- 12 aylık gruplara ait timuslardaki lobüller 1 ve 6 aylık gruplara ait timus lobüllerinden farklı görülmektedir. Korteks ve medulla genişliklerinde değişimler gözlenmiştir (Şekil 3.9.).
- 2- Timusu çevreleyen kapsül (Şekil 3.10.) ve lobüllerarası bağ doku kalınlığı (Şekil 3.11.) 1 ve 6 aylık sıçanlarınkinden daha kalın görülmüştür.
- 3- Korteksin, bağ dokusunda artan yağ hücrelerince işgali artmıştır. Timus içine giren bağ dokusu timus lobülünün büyük bir bölümünü kaplamıştır (Şekil 3.12). Bu bağ dokusuyla birlikte yağ hücreleri de timus lobüllerinin arasına yayılmıştır (Şekil 3.13.).
- 4- Medulladaki epitel özellikteki hücreler ve Hassall cisimcikleri, 1 ve 6 aylık sıçanlarda görülenlerden çok daha fazla gözlenmiştir (Şekil 3.14.).



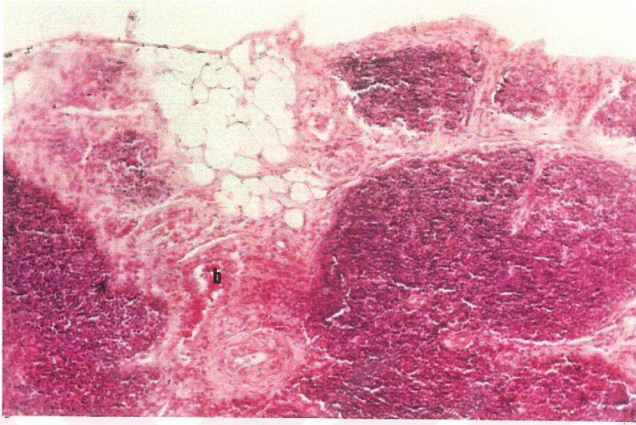
Şekil 3.9. 12 aylık sıçan timusunun genel görünüşü, korteks (a), medulla (m), kapsül (c) ve bağ dokusu (b)
Büyütme: x80



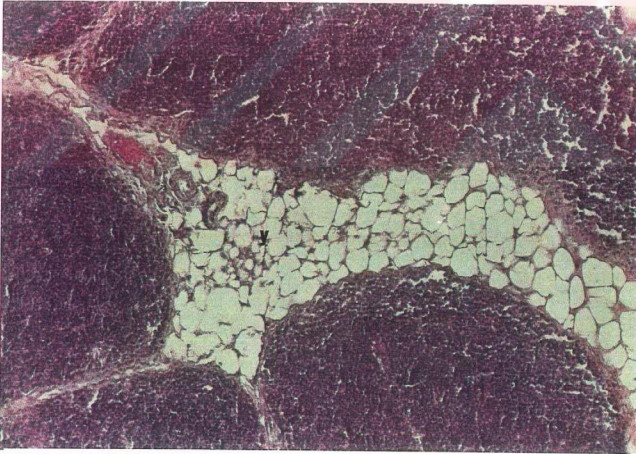
Şekil 3.10. 12 aylık sıçan timusunda oldukça kalınlaşmış timus kapsülü (c) ve kapsülde artmış yağ hücreleri (y) Büyütme: x180



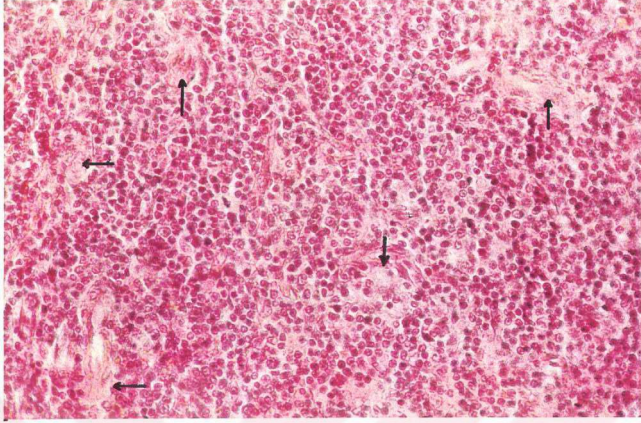
Şekil 3.11. 12 aylık sıçan timusunda kalınlaşmış lobüllerarası bağ dokusu (l) Büyütme: x180



Şekil 3.12. 12 aylık sıçan timusunda artmış bağ dokusu (b) Büyütme: x180



Şekil 3.13. 12 aylık sıçan timusunun lobüllerarası bağ dokusunda artmış yağ hücreleri (y) Büyütme: x180



Şekil 3.14. 12 aylık sıçan timusunun medulla bölgesinde artmış epitelial retiküler hücreler (↖ ↗) Büyütme: x450

3.6. İmmünohistokimyasal İnceleme

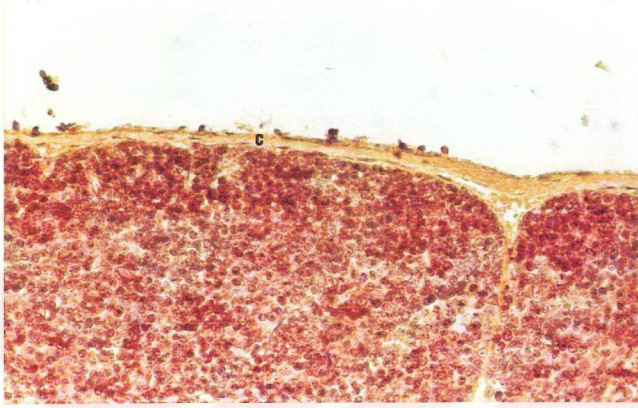
Deney gruplarındaki sıçanlara ait timus preparatları, peroksidaz-anti-peroksidaz metoduyla immunohistokimyasal olarak boyandıktan sonra ışık mikroskopuyla FN dağılımını araştırmak için incelenmiştir. İncelemeler yapılırken timus kapsülü, lobüllerarası bağ dokusu, damar endoteli çevresi, timus korteksi ve medullası dikkate alınmıştır.

Deney gruplarını oluşturan dişi ve erkek sıçanların timusları arasında FN dağılımı bakımından mikroskobik olarak herhangi bir fark tespit edilmemiştir. Bundan dolayı tespit edilen FN dağılımı bir gruba ait dişi ve erkek sıçanlar için ortak sonuç şeklinde verilmiştir.

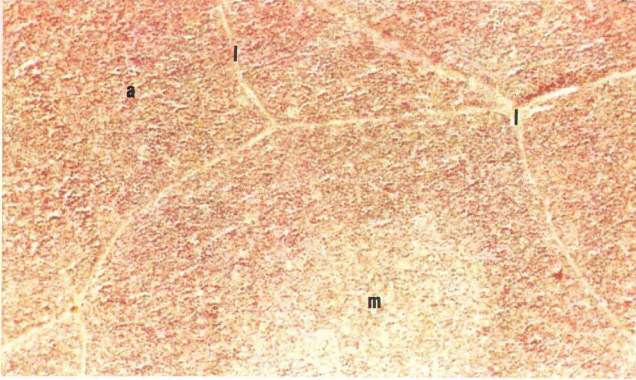
3.6.1. Bir Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları

1 aylık sıçanların timuslarında FN için pozitif bölgeler az miktarda tespit edilmiştir. 1 aylık grupta çok ince olan timus kapsülü (Şekil 3.15.), lobüllerarası bağ dokusu (Şekil

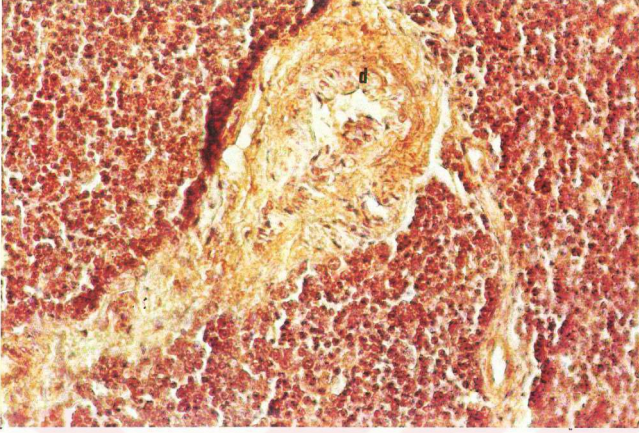
3.16.), bol miktarda lenfosit ile dolu olan timus korteksi, zayıf bir şekilde FN pozitif olarak boyanmıştır. Damar endoteli altındaki bazal lamina ve damarın etrafı pozitif FN boyanması göstermiştir (Şekil 3.17.). Timus medullası ise korteksten daha kuvvetli bir FN boyanması göstermiştir. Özellikle epitelial retiküler hücreleri çevresinin yoğun olarak boyandığı tespit edilmiştir (Şekil 3.18.).



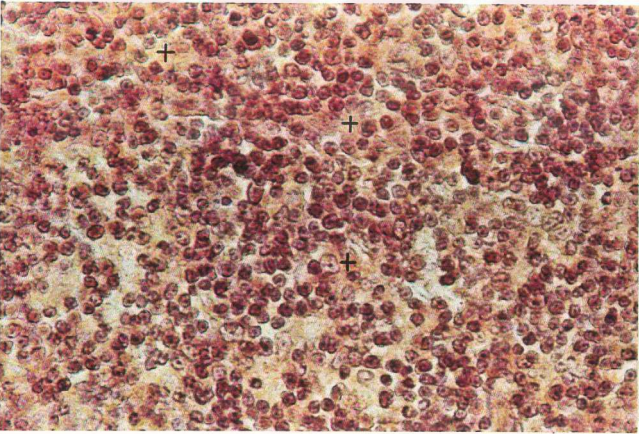
Şekil 3.15. 1 aylık sıçan timusunda FN pozitif boyanmış timus kapsülü (c)
Büyütme: x450



Şekil 3.16. 1 aylık sıçan timusunda FN pozitif boyanmış lobüllerarası
bağ dokusu (l), korteks (a) ve medulla (m) Büyütme: x180



Şekil 3.17. 1 aylık sıçan timusunda FN pozitif boyanmış damar etrafı (d)
Büyütme: x450

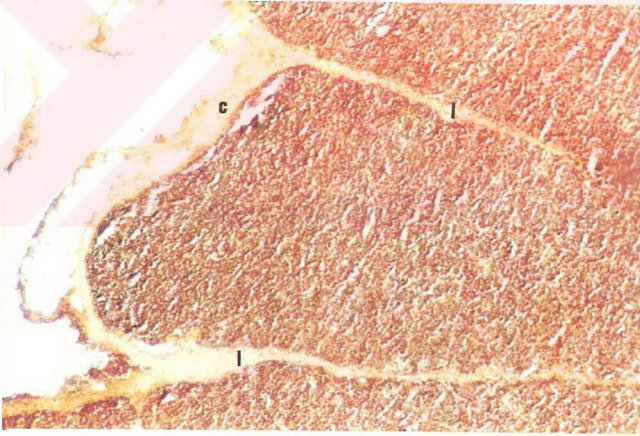


Şekil 3.18. 1 aylık sıçan timusu medullasında FN pozitif boyanmış
bölgeler (+) Büyütme: x720

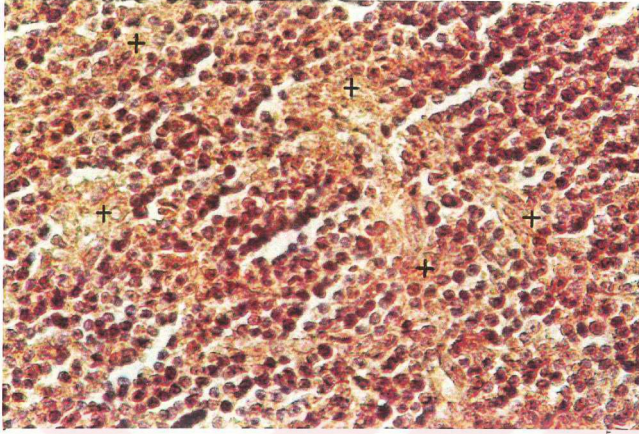
3.6.2. Altı Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları

6 aylık grupları oluşturan sıçanların immunohistokimyasal olarak incelenen timusları, 1 aylık sıçanların timusları ile karşılaştırıldığında daha yoğun FN pozitif boyanma gösterdiği tespit edilmiştir.

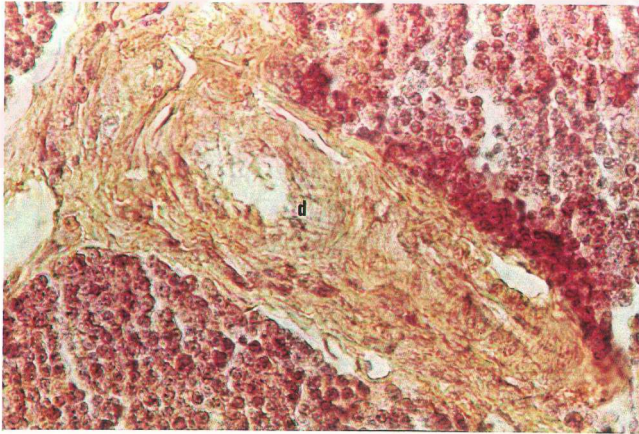
6 aylık gruplara ait timus örneklerinde, kapsül ve lobüllerarası bağ dokusunun yoğun bir şekilde FN pozitif olarak boyandığı görülmüştür (Şekil 3.19.). Timus korteksinde, 1 aylık sıçanlarınkine benzer bir boyama yoğunluğu gözlenirken; timus medullası 1 aylık sıçanlardan daha yoğun olarak boyanmıştır. Medullada epitelial retiküler hücrelerinin gösterdiği boyanma 1 aylık sıçanlarınkinden daha yoğun olarak tespit edilmiştir (Şekil 3.20.). 6 aylık sıçanlarda da damar endoteli etrafındaki bazal lamina da FN pozitif bölgeler tespit edilmiştir (Şekil 3.21.).



Şekil 3.19. 6 aylık sıçan timusunda FN pozitif boyanmış kapsül (c) ve lobüllerarası bağ dokusu (l) Büyütme: x180



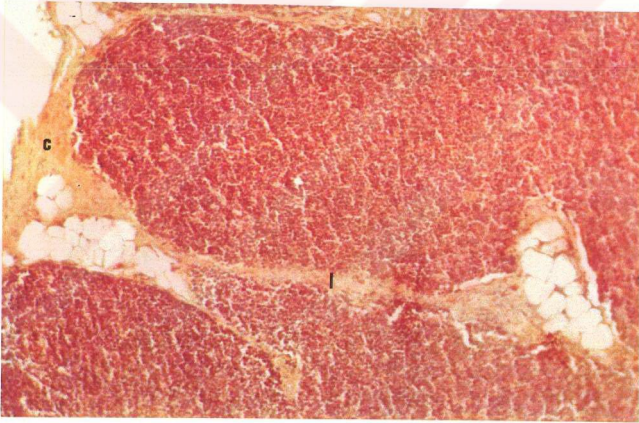
Şekil 3.20. 6 aylık sıçan timusunun medullasında yoğun olarak FN pozitif boyanmış bölgeler (+) Büyütme: x720



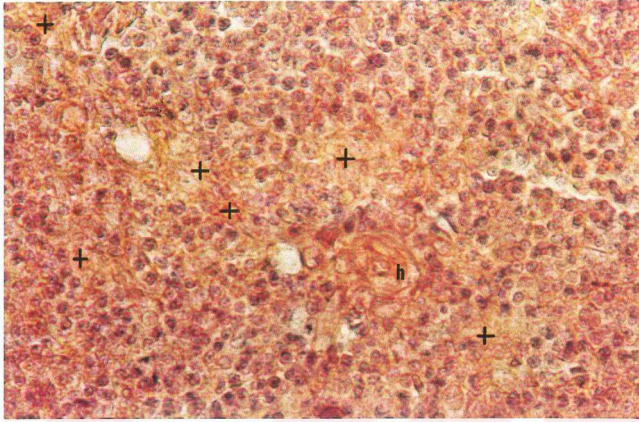
Şekil 3.21. 6 aylık sıçan timusunda FN pozitif boyanmış damar etrafı (d) Büyütme: x720

3.6.3. Oniki Aylık Dişi ve Erkek Sıçan Grupları

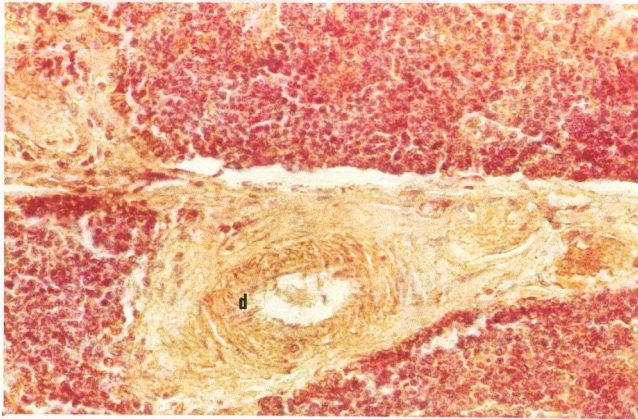
12 aylık gruplara ait sıçanların timus örneklerinde 1 ve 6 aylık örneklerde gözlenen FN pozitif boyamalardan çok daha yoğun bir boyama tespit edilmiştir. Özellikle timus kapsül ve lobüllerarası bağ dokuda yoğun bir FN boyanması gözlenmiştir (Şekil 3.22.). 12 aylık gruba ait sıçan timuslarının medullaları ve medulladaki retiküler epitelial hücreler genel olarak 1 ve 6 aylıklardan daha yoğun bir FN boyanması göstermiştir (Şekil 3.23.). Aynı zamanda damar endoteli etrafındaki bazal laminada da yoğun şekilde FN pozitif bölgeler gözlenmiştir (Şekil 3.24.).



Şekil 3.22. 12 aylık sıçan timusunda FN pozitif boyanmış kapsül (c) ve lobüllerarası bağ dokusu (l) Büyütme: x180



Şekil 3.23. 12 aylık sıçan timusunda oldukça yoğun FN pozitif boyanmış medulla (+) ve Hassall cisimciği (h) Büyütme: x720



Şekil 3.24. 12 aylık sıçan timusunda yoğun olarak FN pozitif boyanmış damar endoteli etrafı (d) Büyütme: x450

4. TARTIŞMA

Yaşlanma, genel olarak hastalık ve ölüm riskini arttıran değişikliklerin birikimi olarak tanımlanabilir. Bu durumda, biriken değişiklikler organizmanın fizyolojik yaşlanmasını belirlerken, birikim hızı da yaşlanmanın oranını belirlemektedir. Yaşlanmadaki en önemli aşama, DNA'da yaşlanmayla meydana gelen değişimlerin sonucu oluşan genetik kararsızlıktır. Memelilerin yaşlanmasında, bağışıklık sistemi de çok önemli rol oynamaktadır. Yaşlanma sırasında bağışıklık sistemindeki en önemli organ, yaşlanmayla yapısında gösterdiği gerilemelere bağlı olarak bağışıklık sisteminin baskılanmasına neden olan timustur (Hartwig, 1994).

Timusun çok önemli fonksiyonları vardır. Bu yüzden yaşlanmayla timusta meydana gelen değişiklikler, tüm organizmayı önemli ölçüde etkiler. Timus involüsyonunda görülen en belirgin değişiklik, Hirokawa ve Makinodan (1975), Kuper ve arkadaşları (1986), Utsuyama ve Hirokawa (1989), Kendall ve arkadaşları (1990) gibi birçok araştırmacı tarafından belirtildiği gibi timus ağırlığı ve timus ağırlığının vücut ağırlığına oranındaki azalmadır. Çalışmamızın sonunda yaşlanmaya bağlı olarak *Rattus rattus* türü albino sıçanlarda da timus ağırlığı ve timus/vücut ağırlığı oranında istatistiksel açıdan önemli olan bir azalma belirlenmiştir. 1 aylık grupta oldukça yüksek olan timus ağırlığının vücut ağırlığına oranı 12 aylık grupta çok düşük olarak belirlenmiştir. 6 aylık sıçanlarda, 1 aylık sıçanlardan daha büyük olarak saptanan timus, 12 aylık sıçanların timus ağırlığı 1 aylık sıçanlara benzerdir. Buradaki 1 ve 12 aylık sıçanların sonuçları, Kuper ve arkadaşları tarafından Wistar ırkı sıçanlarda yaptığı çalışmalara oldukça benzerlik göstermektedir. 6 aylık dişi ve erkek sıçanlarda, 1 aylıklara göre gözlenen ağırlık artışı, 6 aylık gruplarda gözlenen timus boy ve en uzunluklarındaki artışa paraleldir. 12 aylık gruplarda saptanan timus boy ve en uzunluklarındaki azalma, timus ağırlığındaki azalmayla paraleldir. Timusta gözlenen bu ağırlık değişimlerinin en önemli sebebi, timusta yaşlanmayla meydana gelen histolojik değişimlerdir. Çalışmamızda 1 aylık dişi ve erkek sıçanların timusunda, bol miktarda lenfositlerle dolu korteks, çok ince kapsül ve lobüllerarası bağ dokusu ve az miktarda dejenere olmuş epitel hücreleriyle dolu medulla gözlenmiştir. 6 aylık erkek ve dişi gruplarındaki sıçanların timuslarında ise, bağ doku miktarında artış ve tam olarak gelişmiş timus

lobülleri gözlenmiştir. 12 aylık grupları oluşturan sıçanların timuslarında oldukça farklı bir histolojik yapı görülmüştür. Timus lobüllerinin korteks ve medulla bölgeleri oldukça değişikliğe uğramıştır ve artık kortekste 1 aylık sıçanlarda gözlenen kadar yoğun lenfosit gözlenmemektedir. Medullada dejenere olmuş epitel hücrelerinde ve bu epitel hücrelerinin oluşturduğu Hassall cisimciklerinde artış gözlenmiştir. Hassall cisimciklerinin makrofajlarca zengin olduğu düşünülürse, yaşlanmayla birlikte artan yaşlı hücreleri ortadan kaldırmak için bu yapıların çoğalması beklenen bir sonuçtur. Bunların yanında timus lobülleri ve bağ dokusunda yağ hücrelerinin miktarında yaşlanmayla beraber artış gözlenmiştir. Timus parankimasını oluşturan kısımlar yaş ilerledikçe yağ hücreleriyle yer değiştirmişlerdir.

Timusun histolojik yapısında yaşlanmayla gözlediğimiz bütün bu değişiklikler, Hirokawa ve Makinodan (1975)'in BC3F₁ farelerinde, Kuper ve arkadaşlarının (1986) Wistar ırkı sıçanlarda, van Haelst (1967)'in erkek Osborne-Mendel sıçanlarında gözledikleri histolojik değişikliklere benzerlik göstermektedir. Ayrıca sonuçlarımız, Kendall ve arkadaşları (1990), Moore ve arkadaşları (1983), Steinman ve arkadaşları (1986) tarafından yaşlanmayla insan timusunda gösterilen histolojik değişikliklere de benzerlik göstermektedir. Bu çalışmada 1, 6 ve 12 aylık gruplara ait dişi ve erkek sıçanların timuslarında histolojik olarak belirgin bir farklılık gözlenememişken, Kuper ve arkadaşları (1986) tarafından Wistar ırkı sıçanların erkeklerinde dişilerden daha erken yaşlarda timus involüsyonunun görüldüğü belirtilmiştir. Hirokawa ve arkadaşlarının (1990) Buffalo sıçanlarda gözledikleri, yaşlanmayla timus fonksiyonlarının azalmaması durumu da göz önüne alınırsa yaşlanmayla meydana gelen timus involüsyonunda incelenen organizma türünün önemli olabileceği sonucu çıkarılabilir. İşte bu yüzden, hemen hemen tüm çalışmalarda denek olarak kullanılan Swiss albino sıçanlarda yaşlanmaya bağlı olarak timusun histolojisinin değişip değişmediği yapılan bu çalışmayla ortaya çıkarılmak istenmiştir.

Timusta gözlenen bu yapısal gerilemeler, timus lobüllerinin küçülmesi ve timusta yağ dokusunun miktarındaki artış, timusun ağırlığında ve boyutlarında gözlenen azalmanın sebebi olabilir. Bu durum, Hartwig (1994)'in belirttiği gibi timusun bir hücresi içinde

sentezlenen tek bir proteindeki değişiklikten dolayı, sitolitik T hücreleri tarafından timus hücrelerinin yıkımının artmasıyla ilişkili olabilir. Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz diğer bir sonuç ise, yaşlanmayla timus kapsülünde meydana gelen kalınlık artışıdır. 1 aylık gruplarda nispeten ince gözlenen timus kapsülü 12 aylıkta oldukça kalınlaşmıştır. Bu sonuçlar, Kendall ve arkadaşları (1990) tarafından sıçanlarda gözlenen sonuçlara benzerlik göstermektedir. Yaşlanmayla belirlenen bu bağ dokusu artışı, hem kapsülde hem de septada yaşlanmayla bozulan ve ölen timus parankima hücrelerinin yerinin bağ dokusu hücrelerince doldurulmaya çalışılması sonucu meydana gelebilir.

Bu çalışma sonucunda elde ettiğimiz hematolojik veriler incelendiğinde, yaşlanmayla birlikte kan dokusunda da bazı değişikliklerin meydana geldiği gözlenmiştir. Genel olarak dişi ve erkek gruplarında yaşlanmayla birlikte WBC, lenfosit %'si, MCV, MCH ve RDW değerlerinde düşüş, nötrofil %'si, RBC, HGB, HCT, MCHC, PLT ve MPV değerlerinde artış gözlenmiştir. *Rattus rattus* türü sıçanlardan elde edilen bu sonuçlar, Turton ve arkadaşları (1989) tarafından dişi F344 sıçanları üzerine yapılan çalışmaların sonuçlarına büyük bir benzerlik göstermektedir. Ancak Turton ve arkadaşlarının sonuçlarında gözlenen ve onlar tarafından açıklanamayan trombosit miktarındaki nispeten sabit kalan değerler, bizim çalışmamızda yaşlanmayla artış ve buna bağlı olarak ortalama trombosit hacminde de bir artış şeklinde gözlenmiştir. F344 sıçanlarında, lenfosit sayılarında 4. haftada 2. haftaya göre önemli bir artış, daha sonra 66. haftaya kadar bir azalma gözlenmiştir (Turton, 1989). Çalışmamızda, lenfosit miktarında 1 aylık gruplarda gözlenen yüksek değerler 6 ve 12 aylık gruplarda yerini istatistiksel açıdan önemli olan bir düşüşe bırakmıştır. Lenfosit miktarında yaşlanmayla gözlenen bu azalma, F344/Du sıçanları üzerine çalışan Yoshino ve arkadaşları (1992) tarafından da gösterilmiştir. İnsanlarda yapılan bir çalışmada, 30 erkekten elde edilen sonuçlara göre yaşlanmayla birlikte periferik lenfosit miktarında düşüş gözlenmiştir ve bu düşüş öncül hücrelerin çoğalma ve farklılaşma yeteneğindeki azalmaya bağlı olabileceği şeklinde açıklanmıştır (Lipschitz et al., 1984). Lenfosit miktarındaki düşüşe bağlı olarak lenfosit alt gruplarında da değişikliklerin olduğu belirlenmiştir. Gajl-Peczalska ve arkadaşları (1974), Augner ve arkadaşları (1974) tarafından lenfosit

miktarındaki azalmanın büyük miktarda T lenfositlerin sayısındaki azalmaya bağlı olduğu, B lenfositlerin tüm yaşam boyunca hemen hemen sabit kaldığı bildirilmiştir (Westerman et al., 1990). Bu sonuçlar, yani T lenfositlerin miktarının yaşlanmayla azalması, çalışmamız sonunda belirlediğimiz timus involüsyonu ve lenfosit miktarındaki azalmayla paralel bir sonuçtur.

Çalışmamızda yapılan kan analizleri sonucunda, nötrofil sayısında belirgin bir artış olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, Yoshino ve arkadaşları (1992) tarafından erkek F344/Du sıçanlarında yapılan çalışmaların sonuçlarına benzerlik göstermektedir. Nötrofil fonksiyonları üzerine yapılan çalışmalarda, yaşlanmayla birlikte nötrofil hareketlerinde, antijenlere cevapta ve fagositik aktivitesinde bir azalma meydana geldiği tespit edilmiştir (McLaughlin et al., 1986; Yoshino et al., 1992; Mello et al., 1992). Organizmaların nötrofil aktivitesindeki bu azalmaları, yaşlanmayla nötrofil sayısında artış şeklinde dengelediği düşünülmektedir.

Turton ve arkadaşları (1989) tarafından dişi F344 sıçanlarında yaşlanmayla RBC ve HGB miktarında belirlenen artış, MCH miktarındaki düşüş, bizim çalışmamızda belirlediğimiz sonuçlara benzerlik göstermektedir. 6 ve 12 aylıkta, 1 aylıktan istatistiksel açıdan önemli derecedeki farklılığın sebebi Turton ve arkadaşları tarafından, kan yapıcı organların gelişim evrelerindeki değişikliğe bağlanmıştır. Yani, genç evrelerde henüz tam olarak gelişmemiş kan yapıcı organlar, yaş ilerledikçe gelişerek vücut için gerekli oksijen ihtiyacını karşılamak amacıyla daha fazla alyuvar üretmektedir. Öyleki, 1. ayda henüz yetersiz olan alyuvar yapım yerleri daha sonra gelişerek 6. ve 12. ayda organizmanın ihtiyacına cevap verecek ölçüde alyuvar üretmeye başlamışlardır.

Organizmalarda, yaşlanma sırasında meydana gelen önemli metabolik yollardaki enzimlerin sentez ve aktivitelerindeki değişiklikler, normal metabolizmayı etkilemektedir (Stadtman, 1988). Hücre yaşlanmasında hem in vivo hem de in vitro, bazı proteinlerin sentezinde değişiklikler gözlenir. Hücre yaşlanmasıyla ilgili değişiklikler, Macieira-Coelho (1988) tarafından hücreiçi, hücre zarı ve salınan

hücre dışı proteinler için rapor edilmiştir (Eleftheriou et al., 1991). Hücreler ve hücre dışı matriksten oluşmuş yüksek yapılı canlıların vücudunun yaklaşık 1/3'ü ya da daha fazlası hücre dışı matriksle doludur (Labat-Robert and Robert, 1988). Bu yüzden, vücudun büyük bir kısmını kaplayan hücre dışı matrikste yaşlanmayla meydana gelen değişiklikler oldukça önemlidir. Lannes-Vieira ve arkadaşları (1991) tarafından belirtildiği gibi normal yaşlı farelerdeki hücre dışı matriks, gençlerde gözlenenden daha sıkı ve yoğundur. Çalışmamız sonunda *Rattus rattus* türü Swiss albino sıçanların timuslarında yaşlanmaya bağlı olarak hücre dışı matriksin yoğun olarak bulunduğu kapsül ve lobüller arası bağ doku miktarında artış belirlenmiştir. Yaşlanmayla birlikte hücre dışı matriksin özelleşmiş bir şekli olan bazal lamina kalınlığındaki değişiklikler Silberstein ve Daniel (1984) tarafından yaşlanmaya bağlı olarak farelerde meme kanallarında, Nagata ve arkadaşları (1986) tarafından retina kapiller bazal membranlarında ve retinanın pigment epitelinde (Vinnore et al., 1988) ve insanlarda akciğer alveollerinin bazal membranlarında (D'Errico et al., 1989) belirlenmiştir. Bütün bu kalınlaşmaların sebebi olarak bazal laminayı oluşturan moleküllerin yapımında yaşlanmayla meydana gelen bozukluklar gösterilmiştir.

Çalışmamızda deney hayvanı olarak kullandığımız *Rattus rattus* türü Swiss albino sıçanların timusunda FN miktarı, 12 aylık grupta 1 aylık gruptan daha fazla gözlenmiştir. Bu durum, daha önce in vitro ve in vivo olarak çeşitli doku ve hücrelerde yapılan birçok çalışmanın sonucuna benzerlik göstermektedir. Boyer ve arkadaşları (1991) fare derisinde FN biyosentezinin 2 aylıktan 22 aya doğru arttığını göstermişlerdir. Martin ve arkadaşları (1990) ise, kültüre edilmiş fibroblastlarda yaşlanmayla FN miktarının arttığını belirlemişlerdir. Bu araştırmacılar tarafından yaşlanmayla FN miktarında belirlenen artış, FN'i kodlayan genlerin ifade edilmesinin yaşlanmayla artmasına bağlanmıştır. Aynı durum, Nuell ve arkadaşları (1989) ve Martin ve arkadaşları (1990) tarafından yaşlanmayla FN mRNA'sının aşırı sentezlenmesi şeklinde açıklanmıştır.

Shevitz ve arkadaşları (1986) insan fibroblastlarında yaşlanmayla FN miktarının arttığını tespit etmişlerdir. Shevitz ve arkadaşları FN miktarındaki bu artışı,

yaşlanmayla protein sentezinde sebebini açıklayamadıkları bir artışa bağlamışlardır. Protein sentezindeki bu artış yanında, FN yıkımında herhangi bir değişiklik olmadığından dolayı FN miktarında artış olduğunu belirtmişlerdir.

Çalışmamızda kullanılan dişi ve erkek sıçanların timusunda belirlenen FN miktarındaki artış Lannes-Vieira ve arkadaşları (1991) tarafından C57BL/6 farelerinin timuslarında belirlenen artışa paralellik göstermektedir. Ancak, Chandrasekher ve arkadaşları (1983 a, b) tarafından yaşlanmayla miktarı artan bu FN moleküllerinin hücre yapışması, hücre yayılması ve kontak kurulması için, genç hücrelerden salınan FN'den daha az yetenekli olduğu belirtilmiştir (Eleftheriou et al., 1991). Eleftheriou ve arkadaşları (1991) tarafından ise FN miktarındaki artışın, yaşlanan hücrelerin proliferasyonunu daha fazla uyarmak sebebiyle olduğu belirtilmiştir.

Rattus rattus türü Swiss albino sıçanların timuslarında yaşlanmayla FN dağılımını incelediğimiz bu çalışmada, literatürle de benzerlik gösteren FN miktarındaki artış, daha önceki çalışmalarda da belirtildiği gibi yaşlanmayla, yaşlanan hücreleri daha fazla bölünmeye teşvik etmek için, hücrede artan protein sentezi veya artan FN mRNA'sı sebebiyle olabilir. Lannes-Vieira ve arkadaşları (1991) timusta yaşlanmayla yoğun miktarda artan hücre dışı matriks ve bunun bileşenleri ile olgunlaşmamış timositlerin yani T lenfositlerin kontajının, olgun T hücrelerinde programlanmış hücre ölümünü başlatıcı veya indükleyici olabileceğini belirtmişlerdir. Bu açıklamayla birlikte yaşlanmayla miktarı azalan T lenfositlerin sebebi, olgunlaşmamış T hücrelerinin yaşlanmayla birlikte çok yoğun bir hücre dışı matriksle temasta bulunması şeklinde açıklanabilir.

Sonuç olarak çalışmamızda kullanılan dişi ve erkek sıçanların timus morfolojisinde, FN dağılımında ve bazı kan parametreleri hariç kan tablosunda eşeye bağlı önemli bir farklılık görülmemiş ancak 12 aylık bir zaman sürecinde timus morfolojisi, FN dağılımı ve kan tablosu yaşlanmaya bağlı olarak önemli ölçüde değişikliğe uğramıştır. Bunların nedenleri literatür bilgileriyle karşılaştırılıp tartışılmıştır. Ancak bu nedenlerin deneysel olarak ortaya çıkarılması ileri çalışmaların konusunu oluşturmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abrahamson, D.R. (1986): Recent studies on the structure and pathology of basement membranes. *Journal of Pathology*, 149, 257-78.
- Aronson, M. (1991): Hypothesis: Involution of the thymus with aging- programmed and beneficial. *Thymus*, 18, 7-13.
- Aronson, M. (1993): Involution of the thymus revisited: Immunological trade-offs as an adaptation to aging. *Mechanisms of Ageing and Development*, 72, 49-55.
- Bach, M. and Beaurain, G. (1979): Respective influence of extrinsic and intrinsic factors on the age-related decrease of thymic secretion. *The Journal of Immunology*, 122(6), 2505-507.
- Berrih, S., Savino, W. and Cohen, S. (1985): Extracellular matrix of the human thymus: Immunofluorescence studies on frozen sections and cultured epithelial cells. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 33(7), 655-64.
- Bosman, F.T., Cleutjens, C., Beek, C. and Havenith, M. (1989): Basement membrane heterogeneity. *Histochemical Journal*, 21, 629-33.
- Boyd, R.L., Tucek, C.L., Godfrey, D.I., Izon, D.J., Wilson, T.J., Davidson, N.J., Bean, A.G.D., Ladyman, H.M., Ritter, M.A. and Hugo, P. (1993): The thymic microenvironment. *Immunology Today*, 14(9), 445-59.
- Boyer, B., Kern, P., Fourtanier, A. and Labat-Robert, J. (1991): Age-dependent variations of the biosyntheses of fibronectin and fibrous collagens in mouse skin. *Experimental Gerontology*, 26, 375-83.
- Cardarelli, P.M. and Pierschbacher, M.D. (1987): Identification of fibronectin receptors on T lymphocytes. *The Journal of Cell Biology*, 105, 499-506.
- Cardarelli, P.M., Crispe, I.N. and Pierschbacher, M.D. (1988): Preferential expression of fibronectin receptors on immature thymocytes. *The Journal of Cell Biology*, 106, 2183-90.
- Chavez, V., Soares, M.P. and Bazin, H. (1992): CD23 expression in aged rats. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 97, 330-36.
- D'Errico, A., Scarani, P., Colossimo, E., Spina, M., Grigioni, W.F. and Mancini, A.M. (1989): Changes in the alveolar connective tissue of the ageing lung. *Virchows Archiv. A: Pathol. Anat.*, 415, 137-44.

- Dalakas, M.C., Engel, W.K., McClure, J.E., Goldstein, A.L. and Askanas, V. (1981): Immunocytochemical localization of thymosin $\alpha 1$ in thymic epithelial cells of normal and myasthenia gravis patients and in thymic cultures. *J. Neurol. Sci.*, 50, 239-47.
- Darribere, T., Boucher, D., Lacroix, J. and Boucaut, J. (1984): Fibronectin synthesis during oogenesis and early development of the amphibian *Pleurodeles waltlii*. *Cell Differentiation*, 14, 171-77.
- De Maagd, R.A., Mackenzie, W.A., Schuurman, H.J., Ritter, M.A., Price, K.M., Broekhuizen, R. and Kater, L. (1985): The human thymus microenvironment: Heterogeneity detected by monoclonal anti-epithelial cell antibodies. *Immunology*, 54, 745-54.
- Dufour, S., Duband, J., Kornblihtt, A.R. and Thiery, J.P. (1988): The role of fibronectins in embryonic cell migrations. *TIG*, 4(7), 198-203.
- Ebersole, J.L., Steffen, M.J. and Pappo, J. (1988): Secretory immune responses in ageing rats. *Immunology*, 64, 289-94.
- Eleftheriou, C.S., Trakas, N.B. and Tzartos, S.J. (1991): Cellular ageing related proteins secreted by human fibroblasts. *Mutation Res.*, 256, 127-38.
- Erzen, I. and Maravic, E.V. (1993): Simultaneous histochemical demonstration of capillaries and muscle fibre types. *Histochemistry*, 99, 57-60.
- Fabris, N. and Machegiani, E. (1985): Endocrine control of thymic serum factor production in young-adult and old mice. *Cellular Immunology*, 91, 325-35.
- Ferric, D.A., Chan, A., Rahemtulla, A., Widacki, M.S., Xia, M., Broughton, H., Gajewski, D.A., Ballhausen, W., Allison, J.P., Bluestone, J.A., Bürki, K., Ewijk, W.V. and Mak, W.T. (1990): Expression of a T cell receptor γ -chain (V γ 1.1J γ 4C γ 4) transgene in mice influences T cell receptor ontogeny and thymic architecture during development. *The Journal of Immunology*, 2, 20-27.
- Fillit, H. and Leveugle, B. (1995): Disorders of the extracellular matrix and the pathogenesis of senile dementia of the Alzheimer's type. *Laboratory Investigation*, 72(3), 249-53.
- Galli, M.C., Cabrini, L., Caboni, F., Cipollone, M. and Landi, L. (1994): Peroxidation potential of rat thymus during development and involution. *Comp. Biochem. Physiol.*, 107(3), 435-40.

- George, E.L., Georges-Labouesse, E.N., Patel-King, R.S., Rayburn, H. and Hynes, R.O. (1993): Defects in mesoderm, neural tube and vascular development in mouse embryos lacking fibronectin. *Development*, 119, 1079-91.
- Gilman, S., Woda, B.A. and Feldman, J.D. (1981): T lymphocytes of young and aged rats. *The Journal of Immunology*, 127(2), 149-153.
- Godfrey, D.I., Izon, D.J., Tucek, C.L., Wilson, T.J. and Boyd, R.L. (1990): The phenotypic heterogeneity of mouse thymic stromal cells. *Immunol.*, 70, 66-74.
- Goonewardene, M. and Murasko, D.M. (1993): Age associated changes in mitogen induced proliferation and cytokine production by lymphocytes of the long-lived Brown Norway rat. *Mechanisms of Ageing and Development*, 71, 199-212.
- Goya, R.G., Brooks, K. and Meites, J. (1991): A comparison between hormone levels and T lymphocyte function in young and old rats. *Mechanisms of Ageing and Development*, 61, 275-85.
- Gozdzicka-Jozefiak, A., Warchol, J.B., Zagorski, L., Izycki, D., Stasiak, A., Jaroszewski, J., Augustyniak, J. (1992): Changes in thymocytes undergoing programmed death. *Acta Biochimica Polonica*, 39(1), 75-79.
- Haritos, A.A., Tsolas, O. and Horecker, B.L. (1984): Distribution of protymosin α in rat tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 81, 1391-95.
- Hartwig, M. (1994): Principles of control and selection in mammalian aging. *Gerontology*, 40, 307-13.
- Hayflick, L. (1985): Theories of biological aging. *Exp. Gerontology*, 20, 145-59.
- Heine, U.I., Munoz, E.F., Flanders, K.C., Ellingsworth, L.R., Lam, H.Y.P., Thompson, N.L., Roberts, A.B. and Sporn, M.B. (1987): Role of transforming growth factor- β in the development of the mouse embryo. *The Journal of Cell Biology*, 105(6), 2861-76.
- Hirokawa, K. and Makinodan, T. (1975): Thymic involution: Effect on T cell differentiation. *The Journal of Immunology*, 114(6), 1659-64.
- Hirokawa, K., Utsuyama, M., Kasai, M., Konno, A., Kurashima, C. and Moriizumi, E. (1990): Age-related hyperplasia of the thymus and T cell system in the Buffalo rat. *Virchows Archiv. B: Cell Pathol.*, 59, 38-47.

- Hirokawa, K., Utsuyama, M., Kasai, M., Kurashima, C., Ishijima, S. and Zeng Y. (1994): Understanding the mechanism of the age-change of thymic function to promote T cell differentiation. *Immunology Letters*, 40, 269-277.
- Hynes, R.O. (1987): Integrins: A family of cell surface receptors. *Cell*, 48, 549-54.
- Izon, D.J. and Boyd, R.L. (1990): The cytoarchitecture of the human thymus detected by monoclonal antibodies. *Human Immunology*, 27, 16-32.
- Kay, M.M.B. (1984): Immunological aspects of aging: Early changes in thymic activity. *Mechanisms of Ageing and Development*, 28, 193-218.
- Keithly, E.M., Ryan, A.F. and Woolf, N.K. (1993): Fibronectin-like immunoreactivity of the basilar membrane of young and aged rats. *The Journal of Comparative Neurology*, 327, 612-17.
- Kendall, M.D. (1991): Functional anatomy of the thymic microenvironment. *J. Anat.*, 177, 1-29.
- Kendall, M.D., Fitzpatrick, F.T.A., Greenstein, B.D., Khoylou, F., Safieh, B. and Hamblin, A. (1990): Reversal of ageing changes in the thymus of rats by chemical or surgical castration. *Cell Tissue Res.*, 261, 555-64.
- Kleinman, H.K. and Schnager, H.W. (1993): Basement membrane matrices in tissue development. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 8, 238-39.
- Konno, A., Utsuyama, M., Kurashima, C., Kasai, M., Kimura, S. and Hirokawa, K. (1993): Effects of a protein-free diet or food restriction on the immune system of Wistar and Buffalo rats at different ages. *Mechanisms of Ageing and Development*, 72, 183-97.
- Kuper, C.F., Beems, R.B. and Hollanders, V.M.H. (1986): Spontaneous pathology of the thymus in aging Wistar (Cpb:Wu) rats. *Vet. Pathol.*, 23, 270-77.
- Kutsal, A. ve Muluk, F.Z. (1972): Uygulamalı Temel İstatistik. Hacettepe Üniversitesi Yayınları/A2, Ankara, 160 s.
- Labat-Robert, J. and Robert, L. (1988): Aging of the extracellular matrix and its pathology. *Experimental Gerontology*, 23, 5-18.
- Lannes-Vieira, J., Dardenne, M. and Savino, W. (1991): Extracellular matrix components of the mouse thymus microenvironment: Ontogenetic studies and modulation by glucocorticoid hormones. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 39(11), 1539-46.

- Lannes-Vieira, J., van der Meide, P.H. and Savino, W. (1991): Extracellular matrix components of the mouse thymic microenvironment. *Cell. Immun.*, 137, 329-40.
- Laurie, G.W., Leblond, C.P. and Martin, G.R. (1983): Light microscopic immunolocalization of type IV collagen, laminin, heparan sulfate proteoglycan and fibronectin in the basement membranes of a variety of rat organs. *The American Journal of Anatomy*, 167, 71-82.
- Letourneau, P.C., Candic, M.L., Snow, D.M. (1994): Interactions of developing neurons with the extracellular matrix. *J. Neurosci.*, 14, 915-28.
- Lipschitz, D.A., Udupa, K.B., Milton, K.Y. and Thompson, C.O. (1984): Effect of age on hematopoiesis in man. *Blood*, 63(3), 502-9.
- Lobach, D.F., Scarce, R.M. and Haynes B.F. (1985): The human thymic microenvironment. Phenotypic characterization of Hassall's bodies with the use of monoclonal antibodies. *The Journal of Immunology*, 134(1), 250-57.
- Lobach, D.F., Itoh, T., Singer, K.H. Haynes, B.F. (1987): The thymic microenvironment. Characterization of in vitro differentiation of the IT26R21 rat thymic epithelial cell line. *Differentiation*, 34, 50-59.
- Martin, B.M., Gimbrone, M.A., Majeau, G., Unanue, E.R. and Cotran, R.S. (1983): Stimulation of human monocyte/macrophage-derived growth factor (MDGF) production by plasma fibronectin. *Am. J. Pathol.*, 111, 367-73.
- Martin, M., El Nabout, R., Lafuma, C., Crechet, F. and Remy, J. (1990): Fibronectin and collagen gene expression during in vitro ageing of pig skin fibroblast. *Exp. Cell Res.*, 191, 8-13.
- McCarron, M., Osborne, Y., Story, C.J., Dempsey, J.L., Turner, D.R. and Morley, A.A. (1987): Effect of age on lymphocyte proliferation. *Mechanisms of Ageing and Development*, 41, 211-18.
- McLaughlin, B., O' malley, K. and Cotter, T.G. (1986): Age- related differences in granulocyte chemotaxis and degranulation. *Clinical Science*, 10, 59-63.
- Meites, J., Goya, R. and Takahashi, S. (1987): Why the neuroendocrine system is important in aging processes. *Experimental Gerontology*, 22, 1-15.
- Mello, S.B.V., Farsky, S.H.P., Sannomiya, P. and Garcia-Leme, J. (1992): Inhibition of neutrophil chemotaxis and chemokinesis associated with a plasma protein in aging rats: Selective depression of cell responses mediated by complement-derived chemoattractants. *Journal of Leukocyte Biology*, 51, 46-52.

- Micic, M., Leposavic, G. and Ugresic, N. (1994): Relationships between monoaminergic and cholinergic innervation of the rat thymus during aging. *Journal of Neuroimmunology*, 49, 205-12.
- Miller, J.F.A.P. (1961): Immunological function of the thymus. *The Lancet*, 748-49.
- Moore, A.V., Korobkin, M., Olanow, W., Heaston, D.K., Ran, P.C., Dunnick, N.R. and Silverman, P.M. (1983): Age-related changes in the thymus gland: CT-pathologic correlation. *AJR*, 141, 241-46.
- Mosher, D.F. (1984): Physiology of fibronectin. *Ann. Rev. Med.*, 35, 561-75.
- Murray, R.G., Murray, A. and Pizzo, A. (1964): The fine structure of the thymocytes of young rats. *Anat. Rec.*, 151, 17-40.
- Nagata, M., Katz, M.L. and Robison, W.G. (1986): Age-related thickening of retinal capillary basement membranes. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 27, 437-40.
- Naidet, C., Semeriva, M., Yamada, K.M. and Thiery, J.P. (1987): Peptides cotaining the cell-attachment recognition signal Arg-Gly-Asp prevent gastrulation in *Drosophila* embryos. *Nature*, 325, 348-350.
- Naridrasorasak, S., Altman, R.A., Gonzalez-De Whitt, P., Greenberg, B.D. and Kisilevsky, R. (1995): An interaction between basement membrane and Alzheimer amyloid precursor proteins suggests a role in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Laboratory Investigation*, 72(3), 272-282.
- Novotny, G.E.K., Sommerfeld, H. and Zirbes, T. (1990): Thymic innervation in the rat: A light and electron microscopical study. *The Journal of Comparative Neurology*, 302, 552-56.
- Nuell, M.J., McClung, K., Smith, J.R. and Danner, D.B. (1989): Approach to the isolation of anti proliferative genes. *Experimental Gerontology*, 24, 469-76.
- Oka, H. (1985): Changes in quantity of fibronectin from human skin fibroblasts with cellular aging. *Annals of Plastic Surgery*, 14(3), 248-257.
- Pagani, F., Zagato, L., Vergani, C., Cassari, G., Sidoli, A. and Baralle, F.E. (1991): Tissue-specific splicing pattern of fibronectin messenger RNA precursor during development aging in rat. *The Journal of Cell Biology*, 113(5), 1223-29.
- Parmigiani, C. and McAvoy, J. (1984): Localisation of laminin and fibronectin during rat lens morphogenesis. *Differentiation*, 28, 53-61.

- Parmigiani, C. and McAvoy, J., (1991): The roles of laminin and fibronectin in the development of the lens capsule. *Eye Research*, 10(6), 501-511.
- Paulsson, M. (1992): Basement membrane proteins: Structure, assembly and cellular interactions. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 27(1/2), 93-127.
- Purcell, E.S., Wood, G.W. and Gattone, V.H. (1993): Immune system of the spontaneously hypertensive rat: Morphology and function. *Anat. Rec.*, 237, 236-42.
- Pytela, R., Pierschbacher, M.D., Ginsberg, M.H., Plow, E.F. and Ruoslahti, E. (1986): Platelet membrane glycoprotein IIb/IIIa: Member of a family of Arg-Gly-Asp specific adhesion receptors. *Science*, 231, 1559-62.
- Raviola, E. (1986): Thymus: In Bloom and Fawcett (Eds) *A Textbook of Histology*, Igaku-Shoin/Saunders International Edition, Japan, 436-448 pp.
- Ritter, M.A. and Boyd, R.L. (1993): Development in the thymus: It takes two tango. *Immunology Today*, 14(9), 462-69.
- Robert, R.L. and Sandra, A. (1994): Transport of transferrin across the blood-thymus barrier in young rats. *Tissue and Cell*, 26(5), 757-66.
- Rosenkrans, W.A., Albright, J.T., Hausman, R.E. and Penney, D.P. (1983): Light-microscopic immunocytochemical localization of fibronectin in the developing rat lung. *Cell Tissue Res.*, 233, 113-23.
- Ruoslahti, E. (1988): Fibronectin and its receptors. *Ann. Rev. Biochem.*, 57, 375-413.
- Ruoslahti, E. and Pierschbacher, M.D. (1986): Arg-Gly-Asp: A versatile cell recognition signal. *Cell*, 44, 517-18.
- Ruoslahti, E. and Pierschbacher, M.D. (1987): New perspectives in cell adhesion: RGD and integrins. *Science*, 238, 491-97.
- Sanders, E.J. (1983): Recent progress towards understanding the roles of the basement membrane in development. *Can. J. Biochem. Cell. Biol.*, 61, 949-56.
- Savagner, P., Imhof, B.A., Yamada, K.M. and Thiery, J. (1986): Homing of hemopoietic precursor cells to the embryonic thymus: Characterization of an invase mechanism induced by chemotactic peptides. *The Journal of Cell Biology*, 103(6), 2715-27.

- Savino, W. and Dardenne, M. (1988): Developmental studies on expression of monoclonal antibody-defined cytokeratins by thymic epithelial cells from normal and autoimmune mice. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 36(9), 1123-29.
- Savino, W., Carnaud, C., Luan, J., Bach, J. and Dardenne, M. (1993): Characterization of the extracellular matrix-containing giant perivascular spaces in the NOD mouse thymus. *Diabetes*, 42, 134-40.
- Savino, W., Villa-Verde, D.M.S. and Lannes-Vieira, J. (1993): Extracellular matrix proteins in intrathymic T-cell migration and differentiation. *Immunology Today*, 14(4), 158-61.
- Scolley, R. and Shortman, K. (1985): Identification of early stages of T lymphocyte development in the thymus cortex and medulla. *The Journal of Immunology*, 134(6), 3632-42.
- Scott, P.G. (1983): Macromolecular constituents of basement membranes: A review of current knowledge on their structure and function. *Can. J. Biochem. Cell Biol.*, 61, 942-948.
- Shevitz, J., Jenkins, J.S.P. and Hatcher, V.B. (1986): Fibronectin synthesis and degradation in human fibroblasts with aging. *Mechanisms of Ageing and Development*, 35, 221-32.
- Silberberg, R., Meier-Ruge, W. and Odermatt, B. (1989): Age-related changes in fibronectin in annulus fibrosus of the sand rat (*Psammomys obesus*). *Expl. Cell Biol.*, 57: 233-37.
- Silberstein, G.B. and Daniel, C.W. (1984): Glicosaminoglycans in the basal lamina and extracellular matrix of serially aged mouse mammary ducts. *Mechanisms of Ageing and Development*, 24, 151-62.
- Smith, C. (1961): The microscopic anatomy of the thymus, In *The Thymus in Immunobiology*, (eds) Good, R.A. and Gabrielsen, New York, 71-84 pp.
- Stadtman, E.R. (1988): Biochemical markers of aging. *Exp. Gerontology*, 23, 327-47.
- Steinmann, G.G., Klaus, B. and Müller-Hermelink, H.K. (1985): The involution of the ageing human thymic epithelium is independent of puberty. *Scand. J. Immunol.*, 22, 563-75.
- Tacaks, L., Savino, W., Monostori, E., Ando, I., Bach, J. and Dardenne, M. (1987): Cortical thymocyte differentiation in thymomas: An immunohistologic analysis of the pathologic microenvironment. *The Journal of Immunology*, 138, 687-98.

- Terranova, V.P., Aumailley, M., Sultan, L.H. Martin, G.R. and Kleinman, H.K. (1986): Regulation of cell attachment and cell number by fibronectin and laminin. *Journal of Cellular Physiology*, 127, 473-479.
- Thiery, J.P. (1984): Mechanisms of cell migration in the vertebrate embryo. *Cell Differentiation*, 15,1-15.
- Timpl, R. and Dziadek, M. (1986): Structure, development and molecular pathology of basement membrans. *International Review of Experimental Pathology*, 29, 1-88.
- Turton, J.A., Hawkey, C.M., Hart, M.G., Gwynne, J. and Hicks, R.M. (1989): Age-related changes in the haematology of female F344 rats. *Laboratory Animals*, 23, 295-301.
- Utsuyama, M. and Hirokawa, K. (1987): Age-related changes of splenic T cells in mice-Aflow cytometric analysis. *Mechan. of Ageing and Dev.*, 40, 89-102.
- Utsuyama, M. and Hirokawa, K. (1989): Hypertrophy of the thymus and restoration of immune functions in mice and rats by gonadectomy. *Mechan. of Ageing and Dev.*, 47, 175-85.
- van de Wijngaert, F.P., Kendall, M.D., Schuurman, H., Rademakers, L.H.P.M. and Kater, L. (1984): Heterogeneity of epithelial cells in the human thymus. *Cell. Tissue Res.*, 237, 227-37.
- van der Schaft, T.L., Mooy, C.M., Bruijn, W.C., Bosman, F.T. and Jong, P.T.V.M. (1994): Immunohistochemical light and electron microscopy of basal laminar deposit. *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 232, 40-46.
- van Haelst, U. (1967): Light and electron microscopic study of the normal and pathological thymus of the rat. *Zeitschrift für Zellforschung*, 77, 534-53.
- van Vliet, A., Jenkinson, J., Kingston, A., Owen, J.T. and van Ewijk, B. (1985): Stromal cell types in the developing thymus of the normal and nude mouse embryo. *J. Immunol.*, 15,675-681.
- Vinnos, S.A., Campochiaro, P.A., May, E.E. and Blaydes, S.H.(1988): Progressive ultrastructural damage and thickening of the basement membrane of the retinal pigment epithelium in spontaneously diabetic BB rats. *Exp.Eye Res.*,46, 545-58.
- Vitellaro-Zuccarello, L., Garbelli, R. and Rossi, D.P. (1992): Immunocytochemical localization of collagen types I, III, IV, and fibronectin in the human dermis. *Cell Tissue Res.*, 268, 505-11.

- Wagner, A.P., Reck, G. and Platt, D. (1993): Evidence that V⁺ Fibronectin, GFAP, and S100 β mRNAs are increased in the hippocampus of aged rats. *Experimental Gerontology*, 28,135-43.
- Watt, F. M. (1986): The extracellular matrix and cell shape. *TIBS*, 11, 482-85.
- Watt, S.M., Thomas, J.A., Edwards, A.J., Murdoch, S.J. and Horton, M.A. (1992): Adhesion receptors are differentially expressed on developing thymocytes and epithelium in human thymus. *Exp. Hematol.*, 20, 1101-11.
- Weiss, L. (1972): Thymus, In *The Cells and Tissues of The Immune System*, (eds) Cliffs, N.V., London, 79-99 pp.
- Westermann, J., Schwinzer, R., Jeckker, P. and Pabst, R. (1990): Lymphocyte subsets in the blood. *Scand. J. Immunol.*, 31, 327-34.
- Yoshino, T., Tamura, M., Kawabe, M., Nomura, H., Imai, N. and Ono, M. (1992): Effects of recombinant human granulocyte-stimulating factor on neutrophil functions in aged animals. *British Journal of Haematology*, 82,664-70.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Evrim Arzu ELCÜMAN
Doğum Yeri : Kayseri
Doğum Yılı : 1972
Medeni Hali : Bekar

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise : 1986-1989 Gölbaşı Dr. Şerafettin Tombuloğlu Lisesi
Lisans : 1989-1993 Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü
Yabancı Dil : İngilizce
İş Tecrübesi : 1994-..... Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü,
Araştırma Görevlisi