

T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

80918

**SIÇANDA NUCLEUS NERVI OCULOMOTORII İÇERİSİNDEKİ
NEURON GRUPLARININ ORGANİZASYONUNUN
İNCELENMESİ**

Dr. Mustafa AKTEKİN

Hacettepe Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliği'nin
Anatomi Programı İçin Öngördüğü
DOKTORA TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

80918

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. RUHGÜN BAŞAR


TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. BEDİA SANCAK
DOÇ. DR. RUHGÜN BAŞAR


Ankara
1999


Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Anatomi Programında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı: 
Prof. Dr. Bedia Sancak
Hacettepe Üniversitesi

Üye : 
Prof. Dr. Meserret Cumhur
Hacettepe Üniversitesi

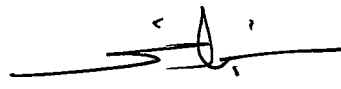
Üye : 
Prof. Dr. Doğan Akşit
Hacettepe Üniversitesi

Üye : 
Prof. Dr. Sezgin İlgi
Hacettepe Üniversitesi

Üye : 
Prof. Dr. Hasan Basri Turgut
Gazi Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun kararıyla kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Sezgin İlgi
Enstitü Müdürü

ÖZET

Nucleus nervi oculomotorii'nin organizasyonu ile ilgili detaylı bilgi bulunmasına rağmen bu konudaki çalışmaların sonuçlarında hala bazı çelişkiler bulunmaktadır. Bu çalışma sırasında nucleus nervi oculomotorii'nin organizasyonunu tekrar değerlendirmek amacıyla planlandı. Ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen her iki cinse ait yirmi adet erişkin Sprague-Dawley türü sıçan üzerinde çalışıldı. Hayvanlara intraperitoneal olarak Ketamin (60 mg/kg) ve Rompun (10 mg/kg) ile anestezisi verildi. Bir mikropipet ile kas içine 1-2 μ l 30 % horseradish peroxidase (HRP Sigma type VI) enjekte edildi. Kası tamamen infiltrate etmek amacıyla aynı kasa çok sayıda enjeksiyon uygulandı. Kas daha sonra parafilm ile kaplanarak HRP'nin çevre dokulara bulaşması ve hatalı sonuçlar vermesi önlendi.

Nucleus'un rostral ucu RM ve RI subgruplarına ait neuron grupları ile başlamaktadır. Ancak caudal uçta neuron'lar, giderek azalan sayıda, geniş bir alanda dağılmış olarak bulunmakta idi. RM'i inerve eden neuron'lar nucleus'un ventral ve ventrolateral kısımlarında nucleus'un rostrocaudal uzunluğu boyunca yerleştiği gözlemlendi. RI'a ait neuron'lar median raphe ile RM ile ilgili subgrupun medial ucu arasındaki bölgede yerleşmişti. OI'a ait neuron'lar RM ve RI'a ait subgrupların hafifçe dorsal tarafında bir hücre kitlesi oluşturmakta idi. RS'a ait neuron'lar nucleus'un caudal 2/3'lük kısmında yerleşmişti. OI subgrupunun ventromedialinde, RI subgrupunun dorsolateralinde bulunan bu subgrupun lateral ucu RM subgrupunun dorsomedial kısmında lokalize idi. Nucleus'un daha caudal bölümlerinde bu subgrup OI subgrupunun önünde, RM ve RI subgruplarının arkasında yer alıyordu.

Anahtar Kelimeler: Nucleus nervi oculomotorii, rat, HRP, organizasyon

ABSTRACT

Although there is detailed knowledge on the organisation of motor neurons supplying the extraocular muscles, there are still some discrepancies concerning the results of different studies. This study is planned to reexamine the distribution of the motor neurons in the oculomotor nucleus of the rat. Twenty adult Sprague-Dawley rats (body weights 200-250 gr) of both sexes were anaesthetized with intraperitoneal injections of Ketamin (60 mg/kg) and Rompun (10 mg/kg). 1-2 μ l of 30 % horseradish peroxidase (HRP Sigma type VI) was injected into the muscle with a microsyringe. Multiple injections were made to fully infiltrate the muscle. The muscle was then enveloped by parafilm coated with surgical cement in order to prevent the escape of tracer substance and the eyelids were sutured. The localisation of the labelled neurons were examined under light microscope.

The rostral end of the nucleus begins with a compact neuron group belonging to medial and inferior rectus subgroups. However at the caudal end the neurons were scattered in a wider area gradually decreasing in number. Neurons innervating the medial rectus muscle were located within the ventral and ventrolateral portions of the nucleus extending throughout its rostrocaudal length. Motoneurons belonging to the inferior rectus subgroup were observed within the gap between the median raphe and medial end of the medial rectus subgroup. Motoneurons of the inferior oblique subgroup formed an ovoid cell mass slightly dorsal to the medial rectus and inferior rectus subgroups. Neurons of the superior rectus subgroup were localized within the caudal two thirds of the nucleus. Lateral end of this subgroup was located in the dorsal and medial part of medial rectus subgroup whereas the rest of this subgroup was located ventromedial to inferior oblique and dorso-lateral to medial rectus subgroups. Within the more lower sections this subgroup was found to be located anterior to the inferior oblique subgroup and posterior to the medial and inferior rectus subgroups.

Key words: Nucleus of oculomotor nerve, rat, HRP, organisation

TEŞEKKÜR

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Bedia Sancak ve Anabilim Dalı Başkanlığı'nın diğer öğretim üyeleri çalışma için gerekli ortamı sağlamışlardır. Başta Anabilim Dalı Başkanımız olmak üzere, tüm öğretim üyelerine hem tez çalışmalarına, hem de doktora dönemi boyunca eğitimime olan katkıları nedeniyle teşekkür ederim.

Doktora dönemi boyunca, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı eski başkanı Sayın Prof. Dr. Doğan Taner'in öğrencisi olmak ayrıcalığı yaşadım. Eğitimime olan katkılarından dolayı kendilerine teşekkür ederim.

Tez danışmanlığını üstlenen Sayın Prof. Dr. Bedia Sancak ve Sayın Doç. Dr. Ruhgün Başar'a teşekkür ederim.

Tezin tüm aşamalarında hem akademik hem de moral desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Alper Atasever, Sayın Doç. Dr. Barbaros Durgun ve Sayın Doç. Dr. Hamdi Çelik'e teşekkür ederim.

Şekillerin bilgisayarda düzenlenmesini gerçekleştiren Dr. M. Mustafa Aldur'a teşekkür ederim.

Tez dönemi boyunca moral desteğini daima yanımda hissettiğim eşim Nafiye Çiğdem Aktekin'e teşekkür ederim.

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
1.1. Nucleus Nervii Oculomotorii'nin Embryolojisi	2
1.2. Nucleus Nervii Oculomotorii'nin Anatomisi	4
1.3. Trase İzleme Yöntemleri Hakkında Genel Bilgiler	6
1.4. Horseradish Peroxidase (HRP)	8
2. GEREÇ VE YÖNTEM	10
3. BULGULAR	14
4. TARTIŞMA	20
5. SONUÇLAR	27
6. KAYNAKLAR	28
7. ÖZGEÇMİŞ	33

SİMGELER VE KISALTMALAR

HRP	Horseradish Peroxidase
RS	Musculus Rectus Superior
RI	Musculus Rectus Inferior
RM	Musculus Rectus Medialis
OI	Musculus Obliquus Inferior
LPS	Musculus Levator Palpebrae Superioris
MLF	Fasciculus Longitudinalis Medialis



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Musculus rectus medialis'i (RM) inerve eden subgrupun nucleus nervi oculomotorii içerisindeki lokalizasyonunu gösteren fotoğraf. Bu subgrupun anterolateral kısımda fasciculus longitudinalis medialis'e (MLF) ait alan izlenmektedir.

Şekil 2. Musculus rectus superior'u (RS) inerve eden subgrupun nucleus nervi oculomotorii içerisindeki lokalizasyonunu gösteren fotoğraf.

Şekil 3. Musculus rectus medialis (RM) ve musculus rectus inferior'u (RI) inerve eden subgrupların nucleus nervi oculomotorii içerisindeki lokalizasyonunu gösteren fotoğraf.

Şekil 4. Musculus rectus inferior (RI) ve musculus obliquus inferior'u (OI) inerve eden subgrupların nucleus nervi oculomotorii içerisindeki lokalizasyonunu gösteren fotoğraf.

Şekil 5. Musculus rectus medialis (RM), musculus rectus inferior (RI) ve musculus obliquus inferior'u (OI) inerve eden subgrupların nucleus nervi oculomotorii içerisindeki lokalizasyonunu gösteren fotoğraf. Kontrilateral musculus rectus superior'u (RS) inerve eden subgrupun lokalizasyonu bu üç subgrupun arasında yer alan ters V şeklindeki bölgedir.

Şekil 6. Musculus rectus medialis (RM), musculus rectus inferior (RI), musculus rectus superior (RS) ve musculus obliquus inferior'u (OI) inerve eden subgrupların tümünü birarada gösteren fotoğraf.

Şekil 7. Nucleus nervi oculomotorii içerisindeki subgrupların lokalizasyonunun rostralden caudale doğru şematik görünümü.

1. GİRİŞ

Ekstraoküler kasların inervasyonunu sağlayan motor sinirlerin merkezi sinir sistemi içerisindeki organizasyonunu açıklamaya yönelik çalışmalar bu yüzyılın başından itibaren ağırlık kazanmıştır. Bu amaçla klinik, nöroanatomik ve elektrofizyolojik olarak çok sayıda çalışma yapılmıştır. Ancak bu çalışmalar, genellikle uygulanan tekniklerin yetersiz kalması sonucu tatmin edici olmamıştır. Daha sonraki dönemlerde özellikle trase izleme tekniklerinin kullanımıyla bu alanda anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Bu teknik, uygulanan kimyasal maddenin akson'lar ve dendrit'ler içerisinde taşınması esasına dayanan ve aktif madde olarak çok çeşitli maddeleri kullanan bir tekniktir. Horseradish Peroxidase (HRP), trase izleme tekniği içerisinde kullanılan maddelerden biridir.

HRP kullanımı ile çeşitli cinste hayvanlar üzerinde ekstraoküler kasların inervasyonunu sağlayan sinirlerin merkezi bağlantıları ve organizasyonu belirlenmeye çalışılmaktadır. Ancak bu aşamada ortaya çıkan problem, farklı araştırmacıların aynı cins hayvanda farklı sonuçlar elde etmiş olmalarıdır. Buna yol açabilecek olası nedenler ise çalışılan ekstraoküler kasa yetersiz miktarda aktif madde uygulanması, çevredeki diğer kaslara aktif maddenin bulaşması ile yanlış sonuç elde edilmesi ve kesit alınması sırasında ortaya çıkan yanlışlıklar olarak sayılabilir.

Araştırmaların ortaya koyduğu bir diğer sonuç ise nucleus nervi oculomotorii'nin organizasyonunun çalışılan hayvan cinslerine göre farklılık göstermesidir.

Bu nedenle çalışmamız, sıçanlarda nucleus nervi oculomotorii'nin organizasyonunun yeniden ve yukarıda sayılan özellikleri de göz önüne alarak tespit edilmesini amaçlamaktadır.

1. 1. Nucleus Nervi Oculomotorii'nin Embryolojisi

Organogenezis sırasında gelişen beyin sakı, kranial sinirlerin çıktığı rhombomer olarak bilinen bölgelere bölünür (1). Oküler motor sinirlerin her biri rhombomer'lerdeki somatik efferent hücre kolonlarında bulunan neuroblast'lardan gelişir. N. oculomotorius rhombomer 1, n. trochlearis rhombomer 2 ve n. abducens rhombomer 5'ten gelişir. Kranial ve spinal neuron'ların değişik genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle gelişmelerine rağmen, somatik efferent hücre kolonu, medulla spinalis'in columna anterior'unda bulunan spinal sinirlerin başladığı hücrelerle devamlıdır.

İnsanda oküler motor sistemde ilk gelişen neural yapı, embryolojik 5. haftada görünür hale gelen nucleus nervi oculomotorii'dir. Yaklaşık olarak aynı dönemde nucleus nervi trochlearis, metencephalon ve mesencephalon arasındaki dar bağlantının (isthmus) lateral duvarındaki tubus neuralis'in periferinde uzanan küçük bir grup hücre olarak tanınabilir (2, 3). Nucleus nervi abducentis ise embryo 10 mm uzunluğa ulaştığında pons'un posterior kısmında somatik efferent kolonda gözlenir. Embryolojik 6. haftada (15 mm evresi) n. oculomotorius, mesencephalon'un ventral yüzünde uzanır ve hemen ardından da n. trochlearis ve n. abducens görülür.

Ekstraoküler göz kasları oluşurken nucleus nervi oculomotorii, nucleus nervi trochlearis ve nucleus nervi abducentis'teki motoneuron'ların büyük çoğunluğu postmitotiktir. 9. haftada, embryo 40 mm boya ulaştığında, tüm sinirler ilgili oldukları kaslara ulaşmıştır (4). Sevel'e (5) göre oküler motor sinirler 7. haftada (20 mm evresi) ekstraoküler kaslara girmeye başlar. Bu sinirler kaslara arka 1/3 ve ön 2/3 kısımlarının kesişme noktasından girer. Penetrasyon bölgesinde her sinirin biri öne, kasın insertio noktasına doğru, diğeri de arkaya, kasın origo noktasına doğru giden, T şeklinde ayrılması söz konusudur. Sinir dalları proksimale ve distale doğru gittikçe küçülür. Günümüzdeki nörobiyolojik çalışmalar, myoblastların n. oculomotorius ile

bağlantılarının kasın göçünden önce olduğunu ve kasın inervasyonunu gelişen göze kendisiyle birlikte taşıdığını göstermektedir (6).

Sevel (5) intramüsküler sinir gelişiminde üç evre tanımlar:

1. "Rete" formasyonu (8-10. hafta, 38-54 mm evresi): sinirlerin myoblastlar etrafında ağ şeklinde bulunduğu dönem.
2. Diferansiyel dejenerasyon (10-11. hafta, 54-61 mm evresi): intramüsküler sinirlerin non-spesifik dejenerasyonu.
3. Özelleşme (11. haftadan sonra, 68 mmden term'e kadar): özelleşmiş sinir sonlanmalarının gözlemlendiği devre.

Martinez et al. (7) intramüsküler akson'ların yaklaşık 4. aya kadar (120 mm evresi) miyelinsiz olduğunu, ayrıca bazı ekstraoküler kas hücrelerinin birden fazla akson tarafından inerve edildiğini bildirir. Buna karşın Gamble et al. (8) 5. aya kadar (175 mm evresi) miyelinli intramüsküler akson gözlemediklerini ve Sevel de term örneklerde bile nadiren miyelinizasyon gözlediklerini bildirmektedir. Aynı çalışmada Gamble et al. polineuronal inervasyonun erken, geçici bir fenomen olduğu ve sonuçta mononeuronal inervasyona dönüştüğünü söylemektedir. Oküler motor sistemde de, diğer kas motor sistemlerinde olduğu gibi, motoneuronların aşırı üretimi ve sinaps bölgesi için yarış söz konusudur. Sonuçta programlanmış hücre ölümü ile organdaki motoneuron sayısı ayarlanır (9, 10).

1. 2. Nucleus Nervi Oculomotorii'nin Anatomisi

Ekstraoküler kaslardan m. rectus lateralis ve m. obliquus superior dışındakileri inerve eden n.oculomotorius, mesencephalon'da nucleus nervi oculomotorii adı verilen bir nucleus kompleksinden çıkar. Bu kompleks, mesencephalon'da colliculus superior seviyesinde, orta hatta, aqueductus cerebri'nin ventralinde, fasciculus longitudinalis medialis'e yakın olarak bulunur. Rostral uzantısı commissura posterior'a, caudal uzantısı ise pons ile mesencephalon'un birleşim yerinde nucleus nervi trochlearis'e kadardır (11).

Nucleus nervi oculomotorii, lateral somatik hücre kolonu, central caudal nucleus grubu ve medial hücre kolonu (orta hat ve dorsal visceral nucleus) isimli nucleus gruplarından oluşur. Lateral somatik hücre kolonu bilateral olarak bulunur ve ekstraoküler kaslardan m. rectus inferior (RI), m. obliquus inferior (OI) ile m. rectus medialis'i (RM) inerve eder. Central caudal nucleus grubu m. levator palpebrae superioris'i (LPS), medial hücre kolonu ise m. rectus superior'u (RS) inerve eder (12).

Bu kompleks içinde motor neuron olmayan ancak oküler motor fonksiyonla ilişkili neuron grupları bulunur. "Internuclear neuron" olarak adlandırılan bu grup neuron'lar özellikle nucleus nervi abducentis ile bağlantıyı sağlar (13, 14, 15, 16).

Ayrıca bu kompleks içinde, iki grup halinde visceral nucleus'lar da vardır. Bunlardan biri nucleus oculomotorius accessorius (Edinger-Westphal nucleus'u), diğeri ise anterior median nucleus'tur. Bu nucleus'lardan preganglionik parasempatik lifler çıkar ve ganglion ciliare'ye gider. Yine bu kompleks içinde "Perlia'nın central nucleus'u" denilen ve konverjans ile ilgili olduğu düşünülen bir nucleus da vardır. Ancak bu insan ile maymunda gösterilmesi zor olan ve fonksiyonu tartışmalı bir nucleus'tur (17, 18).

Nucleus nervi oculomotorii'nin somatik komponentini büyük multipolar neuron'lardan oluşan bilateral nucleus subgrupları ile orta hatta ve dorsalde yer alan caudal central nucleus oluşturur. Visceral komponentini ise nucleus oculomotorius accessorius (Edinger-Westphal nucleus'u) adını alan ve kompleksin 3/5 rostral kısmında yer alan nispeten küçük hücreler oluşturur.

Somatik hücre grupları bilateral kolonlar halinde dizilmiştir.

Dorsal nucleus	m. rectus inferior		
Ventrolat. nucleus	m. obliquus inferior	}	IPSILATERAL
Ventral nucleus	m. rectus medialis		
Ventromedial nucleus	m. rectus superior		CONTRALATERAL
Caudal central nucleus	m. levator palpebrae superioris		BILATERAL

Visceral hücre grubu central caudal nucleus'un rostralinde ve bilateral hücre kolonlarının dorsalinde iki küçük hücre kolonu şeklinde başlar. Bunlar kompleksin rostralinde orta hatta birleşir.

Kompleksin somatik komponentini oluşturan hücrelerin hepsi motor neuron değildir. Bunların arasında çok sayıda interneuron'ların bulunduğu gözlenmiştir.

18).

1.3. Trase İzleme Yöntemleri Hakkında Genel Bilgiler

Bazı biyolojik boyaları (tracer) sinir sistemi içerisine doğrudan uygulayarak neuron'ları işaretleme, son zamanlarda yaygın olarak kullanılan bir yöntem haline gelmiştir. Günümüzde elektrofizyolojik olarak bilgi sahibi olduğumuz belli bir neuron'u trase izleme tekniği kullanarak görüntüleyebilmek mümkündür. Kaldı ki elektrofizyolojik yöntem, trase izlemek için eski ve trase izleyici tekniklerle kıyaslandığında daha az güvenilir bir yöntemdir.

Hücre işaretleme tekniğinin gelişimi, hücre içi kayıt, iontoforezis yoluyla iyonize molekül uygulanması ve görülebilir tracer kullanılması gibi elektrofizyolojik ve morfolojik bilgi birikiminin birleştirilmesi sonucunda gerçekleşmiştir. Belirli bir neuron veya neuron grubunu lokalize etmeye yönelik ilk denemelerde ferrosiyenid (19) ve bakır (20) gibi çeşitli metal iyonları histokimyasal reaksiyonlarla hücre içinde çöktürülmüştür. Fakat bunların hücre içine uygulanması sadece sinir hücre gövdesi ve dendrit'lerin proksimal kısmında zayıf bir boyanmaya yol açmış ve ancak kabaca bir bölge tesbitini mümkün kılmıştır. Aynı durum anilin mavisi (21), Niagara mavisi (22), metilen mavisinde de (23, 24) geçerlidir.

İlk başarılı morfolojik tanımlamalar 1968 yılında birbirinden bağımsız iki grubun değişik iki yaklaşımıyla elde edilmiştir. Bu gruplardan biri (24) procion sarısı kullanmış ve bunu floresan mikroskopla görüntülemiştir. Diğer grup ise (20) radyoaktif bir amino asit olan ^3H -glisin kullanmış ve ardından otoradyografik görüntüleme yöntemini uygulamışlardır. Her iki yöntemle de sadece sinir hücre gövdesi görüntülenmekle kalmamış, bunun yanısıra dendritik dallanma da, 1-2 μm lik periferik kısmına kadar gözlenebilmiştir. Ayrıca akson'lar da hücre gövdesinden belli bir uzaklığa kadar görüntülenmiştir. Örneğin, bir kedinin spinal motor neuron'una ^3H -glisin uygulanmasından saatler sonra iontoforeziste akson'da birkaç mm'lik

radioaktivite izlenebilmiştir. Radyoaktif amino asitlerin neuron'un tümünde izlenmesi, hücre içi taşıma sistemiyle bağlantılı bir mekanizma şeklinde değerlendirilmiştir (25).

1972'de Pitman et al.(26), üçüncü bir tracer olarak kobaltın amonyum sülfid ile çökmesini görüntülemiştir. Bu metod özellikle omurgasız canlılarda neuron'ların tanımlanmasında tercih edilmiştir.

En son olarak sinir hücrelerinin görüntülenmesinde Horseradish Peroxidase'ın (HRP) iontoforetik uygulanması gündeme gelmiştir (27). Bu teknik otoradyografik metodun aksine hem uygulanması kolay, hem de daha az zaman gerektirmektedir. İşaretli neuron, kesitlerde çevredeki diğer boyasız hücrelerden ışık mikroskopunda kolaylıkla ayrılmaktadır. HRP metodu ile dendritik çıkıntılar gibi yapısal ayrıntıları da tanımlamak mümkündür. Bunun da ötesinde, HRP'ın reaksiyon ürününün elektron-yoğun olması ultrastrüktürel yapıyı etkilemediği için, neuron elektron mikroskopik olarak da incelenebilir.

HRP'ın hücre içi marker olarak kullanımının temeli olan bazı çalışmalar vardır. 1974'te Graybiel ve Devor (28) HRP'ın mikroeletroforez ile uygulama parametrelerini tespit etmiştir. Hücre içi uygulaması 1976'da Snow et al. (29) tarafından yapılmıştır.

1.4. Horseradish Peroxidase (HRP)

Sinir sisteminin organizasyonunun incelenmesinde trase izleme yöntemlerinin kullanılması oldukça yaygındır. Bu amaçla kullanılan maddelerden biri HRP'dir. Bu maddenin kullanılması ile uygulanan teknikte, HRP akson ve dendrit'lerdeki mikrotübüller içerisinde taşınır ve hidrojen peroksit ile işleme tabi tutulduğunda içinde bulunduğu dokularda görünür bir reaksiyon ürünü oluşturur (30).

HRP, hem grubu içeren temel yapıya sahip bir glikoprotein'dir. Molekül ağırlığı 40,000 dalton, molekül yarıçapı ise 3 nm dir (31).

HRP'ın sinir dokusundaki yayılımı HRP'ın miktarı, verilmiş hızı, dokudaki harabiyet ve ödemin yaygınlığı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Tüm bu faktörlerle ilgili olarak HRP sinir dokusu içerisinde bir kaç cm uzaklığa kadar yayılabilir (32, 33).

HRP'ın, sinir dokusu harabiyeti olmadan uygulandığında, sinaptik terminaller tarafından alındığı ve hemen ardından pinositotik veziküller, membranöz kesecikler ve tübüller ile multiveziküller ve dens cisimlerde görüldüğü ve yine aynı yapılardan elimine olduğu elektron mikroskopik çalışmalarla ortaya konmuştur (34, 35, 36).

HRP, akson terminalleri tarafından alındıktan sonra hücre gövdesine taşınır (37). Bu taşınma için aksoplazmadaki mikrotübüllerin bütünlüğünün bozulmamış olması gerektiği düşünülmektedir. Araştırmalar mikrotübülleri bloke eden ajanların HRP'ın retrograd transportunu engellediğini bildirmektedir (37, 38). Ayrıca HRP'ın aksondan aksone pinositozunun myelinli aksonlarda nadir olduğu bildirilmektedir (39).

HRP verildikten sonra deneklerin yaşatılma süresi 24-48 saat olarak değişmektedir. Bu süre HRP'ın retrograd aksonal transport hızına bağlıdır. HRP'ın yayılımı sıcak kanlı

hayvanlarda genellikle 70-120 mm/gün olarak kabul edilir. Ayrıca kullanılan HRP tipi, akson çapı, hücre gövde büyüklüğü ve lizozomal yıkımın hızı bunda etkilidir (30, 40, 41).

Genç ve immatür deneklerde HRP'ın büyümekte olan akson uçlarındaki artmış pinositoz'a bağlı olarak daha iyi sonuçlar verdiği, transport ve eliminasyonunun daha kısa sürelerde gerçekleştiği ve bu sebeple genç deneklerde optimal yaşatma süresinin kısa tutulması gerektiği bildirilmiştir (30, 42).

Doku içerisindeki HRP'ın ışık mikroskobu ile görülebilmesi için bazı teknikler kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan yaygın yöntemlerden biri de dokunun hidrojen peroksit ve kromojen içeren bir ortamda inkübe edilmesi ile ortaya çıkarılan histokimyasal reaksiyondur. Bu reaksiyonda kullanılan kromojen genellikle benzidin türevleridir (30). Bu maddelerin çoğu karsinojendir. Ancak 3,3',5,5' tetrametilbenzidin (TMB) nonkarsinojeniktir ve HRP için kullanılan histokimyasal teknikler içerisinde en duyarlı olanıdır (43, 44). Bu teknikte, HRP ile işaretlenmiş yapılar, peroksit-peroksidaz sistemi ile oksitlenerek görünür bir reaksiyon ürünü oluşturmaktadır ve reaksiyon ürünü, ışık mikroskobu ile incelendiğinde tutulduğu dokularda gri-mavi renkli küçük granüller halinde görülmektedir (43, 45).

Pratik uygulamada HRP dokuya verildikten sonra, yapılan çalışmanın amacı doğrultusunda, denekler 24-48 saat süre ile yaşatılmaktadır. Bu süre içerisinde HRP'ın incelenecek bölgeye ulaşması beklenmektedir. Bu sürenin sonunda, denekler kardiyak perfüzyonla fikse edilir ve incelenecek doku çıkarılır. Daha sonra dokudan 30-60 μ m kalınlığında kesitler alınır ve bu kesitler hazırlanan inkübasyon ortamında reaksiyona sokulur. Reaksiyon işlemi tamamlandıktan sonra lam üzerine alınan kesitler ışık mikroskobu altında incelenebilir hale gelir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, vücut ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen, yirmi genç sıçan üzerinde yapıldı. Sıçanlara intraperitoneal Ketamin (60 mg/kg) ve Rompun (10 mg/kg) anestezisi verildikten sonra, göz kapakları ipek sütürlerle retrakte edildi. Cornea penetre edilerek humor aquous boşaltıldıktan sonra, cerrahi mikroskop altında conjunctiva insizyonu yapılarak, çalışılan kas ortaya çıkarıldı. %0.9'luk NaCl solüsyonu ile sulandırılarak hazırlanan %30'luk HRP (Sigma type VI) solüsyonu (3 mg HRP, 10 µl %0.9 NaCl), cam mikropipet ile 2-4 µl arasında değişen miktarlarda kas içine enjekte edildi.

Musculus levator palpebra superioris, şu ana kadar yapılan tüm çalışmalarda araştırmacılar arasında görüş farklılığı bulunmayan tek kas olarak görünmektedir. Bu nedenle bu kas çalışmamızın dışında bırakılmıştır.

Çalışmamızda kasın tamamını trase izleyici ile infiltre etmek için çok noktadan enjeksiyon yöntemi kullanıldı. Bunun yanısıra kasları inerve eden neuron gruplarının birbirlerine göre pozisyonlarını daha doğru değerlendirebilmek amacıyla trase izleyici madde birden fazla kasa aynı anda enjekte edildi. Enjeksiyon işlemi tamamlandıktan sonra HRP'in dışarı sızmasını önlemek amacı ile, kas parafin bant ile sarılarak göz kapakları ipek sütür ile kapatıldı.

Kas içine enjekte edilen HRP'in akson terminallerine ulaşım, akson'lar içinde ilerlemesini sağlamak amacı ile, sıçanlar 24-36 saat süre ile yaşatıldı. Bu sürenin sonunda, perfüzyonla fiksasyon işlemine geçildi.

Perfüzyonla fiksasyon, özellikle sinir sistemi çalışmalarında gerekli olup, dokuların vücut içerisinde fikse olmasını amaçlamaktadır. Bu amaçla eter anestezisi altında karın

boşluğu açılarak, aorta abdominalis klampe edildi. Daha sonra göğüs boşluğu açılarak ince bir pipet yardımı ile kalbin ventriculus sinister'ine girildi ve 50 ml %0.9 NaCl solüsyonu verilmeye başlandı. Bu sırada atrium dextrum duvarında küçük bir kesi yapılarak dolaşımdaki kan boşaltıldı. Dolaşımdaki kan bu şekilde temizlendikten sonra, 0.1 M fosfat tamponu (pH 7.4) içerisinde %1.25 glutaraldehit ve %1 paraformaldehit içeren 500 ml fiksatif solüsyonunun verilmesine başlandı. Fiksatif solüsyonu, fiksatifin beyine ulaştığını gösteren ve ön ekstremitelerde kaslarında kasılma ile karakterize spinal refleksin görülmesine kadar basınçlı bir şekilde verildi. Spinal refleks ortaya çıktıktan sonra, fiksatifin daha düşük basınçta 20 dakika süre ile verilmesine devam edildi. 500 ml 0.1 Molar fosfat tamponunun (pH 7.4) verilmesinden sonra perfüzyon işlemi tamamlandı.

Perfüzyon işleminin tamamlanmasından sonra sıçanın kafa derisi sıyrılarak calvaria ortaya çıkarıldı. Os parietale ve pars squamosa os temporale her iki tarafta çıkarılarak beyin ve beyin sakına ulaşıldı. Nucleus nervi oculomotorii'nin yer aldığı mesencephalon dikkatli bir transvers kesi ile ayrıldı ve dura mater sıyrıldıktan sonra, bu dokudan vibratom aracılığı ile 40-50 μ m kalınlığında seri kesitler alındı.

Işık mikroskobu altında inceleme amacıyla dokunun TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidin) reaksiyonuna sokulması için şu solüsyonlar hazırlandı:

Asetat tamponu (pH 3.3)

200 ml 1.0 M sodyum asetat (CH_3COONa), 200 ml distile su içerisinde çözüldükten sonra, 190 ml 1.0 M HCl eklendi. Bu çözeltiye distile su eklenerek, toplam hacim 1000 ml'ye tamamlandı. Konsantre asetik asit (CH_3COOH) veya sodyum hidroksit (NaOH) titrasyonu ile, sonuç pH'sı 3.3'e getirildi.

A solüsyonu

92.5 ml distile suya, 5 ml asetat tamponu (pH 3.3) ve 100 mg sodyum nitroferrisiyanat eklenerek hazırlandı.

B solüsyonu

2.5 ml absolu alkol içine 5 mg 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin eklenerek, 37-40 °C'de çözünmesi sağlandı.

İnkübasyon solüsyonu

97.5 ml A solüsyonu ile 2.5 ml B solüsyonu karıştırılarak hazırlandı.

Peroksit solüsyonu

Hidrojen peroksit'in (H₂O₂), distile su içerisinde %0.3'lük çözeltisi hazırlandı.

Bu solüsyonlar taze olarak hazırlandıktan sonra, dokunun TMB reaksiyonuna sokulmasına geçildi:

1. Fosfat tamponu içinden alınan doku, üç kez distile su ile yıkandı.
2. İnkübasyon solüsyonunun hazırlanmasından birkaç saniye sonra, doku bu solüsyon içerisine alındı. Solüsyonun rengi yeşil bir refle verene kadar beklendi (15-20 dakika).
3. İnkübasyon solüsyonu içine 0.5-1 ml %0.3'lük hidrojen peroksit solüsyonu eklenerek reaksiyon başlatıldı. Doku, 20 dakika süre ile bu şekilde bekletildi.
4. Doku, inkübasyon solüsyonundan çıkarılarak, 5 ml asetat tamponu (pH 3.3) ve 95 ml distile su karıştırılarak hazırlanan yıkama solüsyonuna alındı. Bu solüsyon içerisinde 2 saat bekletildikten sonra, lam üzerine alınarak oda sıcaklığında karanlık ortamda 24 saat süre ile bekletildi.

5. Doku, iki kez 15'er saniyelik süreler ile absolu alkolden geçirilerek dehidratasyon yapıldı; iki kez de 5'er dakikalık süreler ile ksilolden geçirilerek şeffaflandırma işlemi tamamlandı. Bundan sonra, lamel ile kapatılarak, ışık mikroskobu altında incelendi.



3. BULGULAR

Musculus rectus medialis (RM): RM'i inerve eden neuron'lar nucleus nervi oculomotorii'nin rostrocaudal uzunluğu boyunca ventral ve ventrolateral kısımlarında lokalize olmakla birlikte en yoğun olarak nucleus'un orta kısımlarında gözlemlendi. Nucleus'a ait en rostral kesitlerde bulunan tek subgrup RM idi. Caudale doğru ilerledikçe medial tarafta RI ve OI subgruplarının lateralinde yer aldığı gözlemlendi. En lateraldeki neuron'lar dorsale doğru yönelerek dorsolateral bir uzantı oluşturma eğilimindeydi. Dorsolateral uçtan mediale uzanan bir grup neuron nucleus nervi oculomotorii'nin sadece orta 1/3'lük kısmında izlenebildi. En caudal kesitlerde RM sub grubunun RS sub grubunun ventralinde RI sub grubunun yine lateralinde bulunduğu tespit edildi. Özellikle nucleus'un üst yarısında, fasciculus longitudinalis medialis'in lifleri arasında, bu subgruba ait bazı neuron'lar gözlemlendi.

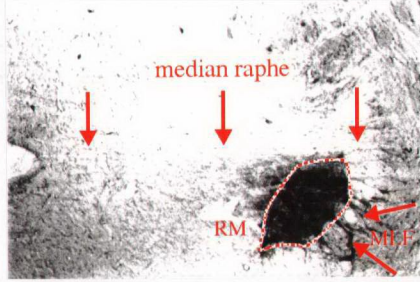
Musculus rectus inferior (RI): Bu subgruba ait neuron'lar nucleus nervi oculomotorii'nin sadece alt 3/4 lük kısmında saptandı. Tüm kesitlerde, RI sub grubunun, median raphe ile komşu olan bölgede yer aldığı, nucleus'un orta kısımlarından itibaren RS sub grubunun ventralinde, RM sub grubunun ise medialinde bulunduğu gözlemlendi. Median raphe'ye en yakın yerleşimli subgrup olmasına rağmen median raphe veya fasciculus longitudinalis medialis içerisinde bu subgruba ait herhangi bir neuron izlenmedi.

Musculus obliquus inferior (OI): Bu subgruba ait motoneuron'ların rostral ucu RM ve RI sub gruplarına göre 200-250 μ m daha caudal bölgede idi. Bu sub grubun motoneuron'ları RM ve RI'un hemen dorsalinde ovoid bir hücre kitlesi oluşturmaktaydı. RM ve RI sub grupları ile bu subgrup arasında "U" şeklinde dorsal konkavite gösteren ve kontrilateral RS sub grubu ile ilgili alan gözlemlendi. Median raphe veya

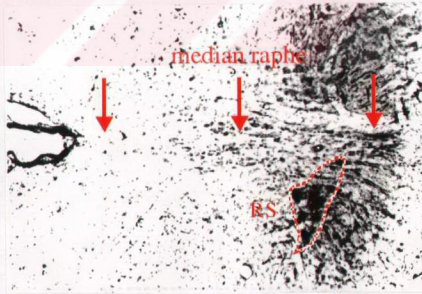
fasciculus longitudinalis medialis içerisinde bu subgruba ait herhangi bir neuron izlenmedi.

Musculus rectus superior (RS): Bu subgruba ait neuron'lar nucleus nervi oculomotorii'nin alt 1/2 lik kısmında yerleşmişti. OI sub grubunun ventro-medialinde, RI sub grubunun dorso-lateralinde bulunan bu sub grubun lateral ucu RM sub grubunun dorso-medial kısmında lokalize idi. Nucleus nervi oculomotorii'nin daha caudal bölümlerinde bu sub grup OI sub grubunun ventralinde, RM ve RI sub gruplarının dorsalinde yer alıyordu. Median raphe veya fasciculus longitudinalis medialis içerisinde bu subgruba ait herhangi bir neuron izlenmedi.

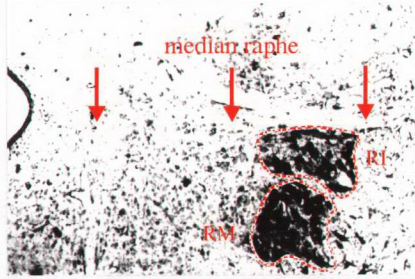




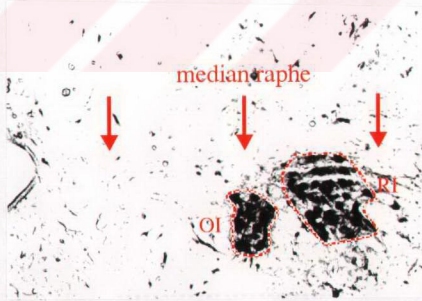
Şekil 1. Musculus rectus medialis'i (RM) inerve eden subgrubun nucleus nervi oculomotorii içerisindeki lokalizasyonunu gösteren fotoğraf. Bu subgrubun anterolateral kısımda fasciculus longitudinalis medialis'e (MLF) ait alan izlenmektedir.



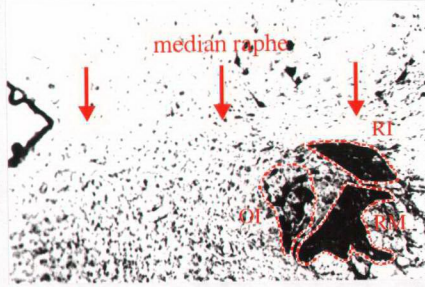
Şekil 2. Musculus rectus superior'u (RS) inerve eden subgrubun nucleus nervi oculomotorii içerisindeki lokalizasyonunu gösteren fotoğraf.



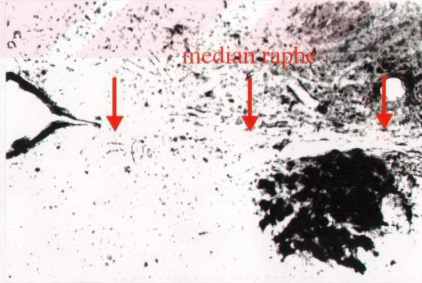
Şekil 3. Musculus rectus medialis (RM) ve musculus rectus inferior'u (RI) inerve eden subgrupların nucleus nervi oculomotorii içerisindeki lokalizasyonunu gösteren fotoğraf.



Şekil 4. Musculus rectus inferior (RI) ve musculus obliquus inferior'u (OI) inerve eden subgrupların nucleus nervi oculomotorii içerisindeki lokalizasyonunu gösteren fotoğraf.



Şekil 5. Musculus rectus medialis (RM), musculus rectus inferior (RI) ve musculus obliquus inferior'u (OI) inerve eden subgrupların nucleus nervi oculomotorii içerisindeki lokalizasyonunu gösteren fotoğraf. Kontralateral musculus rectus superior'u (RS) inerve eden subgrupun lokalizasyonu bu üç subgrupun arasında yer alan ters V şeklindeki bölgedir.



Şekil 6. Musculus rectus medialis (RM), musculus rectus inferior (RI), musculus rectus superior (RS) ve musculus obliquus inferior'u (OI) inerve eden subgrupların tümünü birarada gösteren fotoğraf.



Şekil 7. Nucleus nervi oculomotorii içerisindeki subgrupların lokalizasyonunun rostralden caudale doğru şematik görünümü.

4. TARTIŞMA

Nucleus nervi oculomotorii'nin organizasyonunun incelenmesinde HRP (Horseradish Peroxidase) ya da diğler trase izleyicileri kullanmak, sıklıkla uygulanan tekniklerdir. Ancak, bu gelişmiş tekniklere rağmen değışik araştırmacılar tarafından aynı hayvan türleri üzerinde yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu farklılıkların nedenleri şu şekilde sıralanabilir:

1. Trase izleyici maddeler kullanılarak yapılan daha önceki çalışmalarda kas enjeksiyonları tek noktadan yapılmıştır. Halbuki bu maddelerin doku içerisinde yayılma özelliğı kısıtlı olduğundan bir kasa ait neuron'ların tümünü görüntülemek için o kasın tamamını trase izleyici ile infiltre etmek gerekir.

2. Daha önceki çalışmalarda trase izleyici maddenin tek kasa ya da sinire verilmesine bağılı olarak, alınan kesitlerde sadece o kasa ait neuron'ların pozisyonu değerlendirilmiştir. Bu durumda kesit alma aşamasında kesit düzleminden milimetrik, hatta daha küçük kaymalar o kasa ait neuron'ların pozisyonlarının yanlış değerlendirilmesine yol açabilir. Ayrıca tek kas enjeksiyonu ile, kasları inerve eden neuron gruplarının birbirlerine göre pozisyonlarının değerlendirilmesi oldukça zordur.

3. Trase izleyici maddenin verilmesi sırasında diğler kaslara bulaşmaya bağılı olarak yanlış sonuçlar ortaya çıkabilir.

Çalışmamızda amaç, birden fazla kasa aynı anda HRP uygulayarak nucleus nervi oculomotorii'nin organizasyonunun daha iyi tanımlanabileceğini göstermektir. Daha önceki çalışmalarda HRP tek bir kasa uygulandıktan sonra kesit alınmış, böylece kesit alma işleminde dokudaki en ufak açı değışiklikleri nucleus organizasyonu hakkında farklı değerlendirmelere yolaçmıştır.

Birden fazla kasa aynı anda HRP uygulanması, nucleus nervi oculomotorii subgruplarının birbirlerine göre pozisyonlarını daha iyi değerlendirmeye imkan sağlamıştır. Miyazaki (52), Labandeira Garcia (53) gibi bazı araştırmacılar nucleus subgrupları arasında belirgin çakışmalar (overlapping) olduğunu ileri sürmüştür. Bunun, daha önce de belirtildiği gibi tek bir kasa HRP uygulanması ve kesit alma sırasındaki açı değişikliklerinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Çünkü bulgularımız subgruplar arasında söylenildiği gibi belirgin çakışmalar olmadığını ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda önce RM'a HRP uygulanarak nucleus içinde bu kasa ait alt grubun yeri belirlendi. Ardından daha önceki çalışmalardan farklı olarak, RM ile birlikte ikinci bir kasa HRP uygulanarak bu iki kasa ait subgrupların yeri ve birbirlerine göre pozisyonları farklı seviyelerde belirlendi. Böylece nucleus subgrupları arasındaki olası çakışmalar daha iyi gözlenebildi. Bu işlem tüm kaslar için ayrı ayrı yapıldı. Bir sonraki aşamada, yine diğer çalışmalardan farklı olarak, üç kasa birden HRP uygulanarak farklı seviyelerde nucleus organizasyonu belirlendi. Son olarak kasların tümüne HRP uygulanarak nucleus'un tamamı görüntülendi.

Trase izleme tekniği kullanılarak yapılan çalışmalar ekstraoküler kasların inervasyonu konusunda farklılıkları ortaya çıkarmıştır. Bu konudaki ilk çalışmalar Warwick tarafından maymunda yapılmıştır (48). Ardından Tarlov (49), retrograd dejenerasyon tekniği ile genç kedilerde nucleus nervi oculomotorii organizasyonunu belirlemiş, ancak sonuçlar Warwick'in maymun üzerindeki bulgularından kısmen farklı çıkmıştır. Bu durum farklı türdeki deney hayvanlarında farklı organizasyonlar olduğunu düşündürmektedir.

Araştışıcılar nucleus nervi oculomotorii organizasyonunu şematik olarak farklı şekillerde göstermektedir. Genel olarak kabul gören ilk şematik çizim Bernheimer-Brower tarafından maymundaki kromatolizis yoluyla gözleme dayanan çalışma ve insandaki patolojik çalışmalar sonucunda yapılmıştır. Bu araştışıcılar hücre gruplarının rostro-caudal bir organizasyon içinde olduğunu söylemiştir (50). Daha sonra Abd-el-Malek, Szentagothai ve Danis, bu rostro-caudal organizasyonun kedi ve köpek için de belirgin farklılıklarla birlikte geçerli olduğunu bildirmiştir. Bach ve van Biervliet ise tavşanda ekstraoküler göz kaslarını inerve eden neuron gruplarının dorsoventral organizasyonundan bahsetmektedir (50). Bu durum yine farklı deney hayvanlarında farklı organizasyonları düşündürmektedir.

Gacek (51), geek kediler üzerindeki çalışmasında OI subgrubunun diğer tüm subgruplardan daha küçük olduğunu ve özellikle caudal kısımda en lateralde yer alan subgrup olduğunu, MLF içerisinde RM ile ilgili neuron bulunduğunu, RI ve RM ile ilgili neuron'ların birlikte rostro-caudal bir uzantı oluşturduklarını, ve yine RS ve OI ile ilgili neuron'ların benzer bir uzantı yaptıklarını bildirmektedir. Ancak Akagi (50), kedi üzerindeki çalışmasında RI ile ilgili neuron'ların nucleus içinde rostral kısım hariç tüm seviyelerde ipsilateral yer aldığını, bunun yaklaşık 0.8 mm caudal kısmında hem RM hem de RS ile ilgili neuron'ların, en caudalde ise OI ile ilgili neuron'ların yerleştiklerini göstermiştir. Aynı alışmada LPS ile ilgili neuron'lar bilateral olarak central caudal nucleus grubu içerisinde gözlenmiştir. Ancak tavşanda bu nucleus yoktur ve bu kas kontrilateral tarafta RS ile ilgili neuron'lara yakın olarak bulunan neuron'lar tarafından inerve edilir.

Bienfang (52), kedilerde mikroelektrod ile antidromik stimulasyon tekniği kullanarak yaptığı çalışmalarında RS'a ait çapraz yapan ve OI'a ait ipsilateral neuron grupları belirlemiş ve bu iki kasa ait subgrupların maymun ve kedide benzer yerleşimli olduğunu bildirmiştir. Akagi'nin (50) kediler üzerinde yaptığı çalışmada, RS ve RI

subgrupları ile ilgili bulguları Bienfang'ın bulgularını desteklemektedir. Buna göre, OI subgrubu ipsilateral olarak nucleus'un caudal 2/3 lük bölümünde, RS subgrubu ise daima kontrlatel olarak nucleus'un caudal 1/2 lik bölümünde yer almaktadır.

Warwick (48) çalışmasında, maymunlarda nucleus nervi oculomotorii'de tek tek ekstraoküler kaslara ait bölgeleri belirlemiştir. Buna göre RS'a karşı taraftan; LPS'a bilateral; RI, RM ve OI'a aynı taraftan rostrocaudale doğru uzanmış neuron gruplarından lifler gelir.

Tarlov (49) çalışmasında, akson harabiyetini takiben neuron'larda oluşan kromatolizis ile kedide ekstraoküler kasları inerve eden neuron gruplarının nucleus içerisindeki lokalizasyonunu belirlemiştir. Buna göre kedide rostrocaudal bir organizasyon vardır. Nucleus içerisinde RM'a ait neuron'lar ipsilateral ve en dorsalde yer alırken, hemen aşağısında ipsilateral OI'a, daha ventralde RI'a, bilateral olarak caudal central nucleus'ta LPS'a ve caudomedialde ise kontrlatel RS'a ait neuron'lar yer alır. Fakat bu çalışmada uygulanan teknikte hayvan yaşı çok önemli bir kriterdir. Hayvan yaşı arttıkça kromatolizis gösteren neuron sayısı giderek azalmaktadır. Bunda immatür hücrelerin zedelenmeye daha duyarlı olmasının etkisi vardır.

Gacek, çalışmasında Tarlov'un genç kedilerde yaptığı çalışmanın önemini kabul etmekle birlikte uygulanan teknikten kaynaklanan bir takım problemleri gündeme getirmiştir. Örneğin kromatoliziste hücrelerin eşzamanlı olmayan cevabının yanılıya yol açacağını, ayrıca nucleus'taki neuron grupları arasında çakışma olabileceğini ileri sürmüştür. Gacek, bu nedenle yine genç kedilerde yaptığı çalışmada HRP kullanmayı tercih etmiştir. Bu çalışmada Gacek tüm subgruplara ait neuron'ları net olarak ortaya koymuştur. Tarlov'un çalışmasında OI'a ait neuron'ların oluşturduğu subgrup, RM ile RI arasında yerleşmiş olarak açıklanırken, Gacek çalışmasında böyle bir lokalizasyonu reddedip OI'a ait neuron'ların bu her iki kasın da medial tarafında bulunduğunu

söylemektedir (53). Aynı çalışmada Gacek, nucleus nervi oculomotorii içerisinde RI, RM ve OI'a ait subgrupların ipsilateral, buna karşın RS'a ait subgrupun kontrilateral yerleştiğini bildirmektedir.

Miyazaki (46), kedi üzerinde yaptığı çalışmada birkaç nokta dışında genelde daha önceki çalışmalarla uyumlu sonuçlar elde etmiştir. Bu farklılıklar nucleus subgrupları arasında kesin sınırların gözlenmemesi, RM'a ait iki subgrup gözlenmesi ve fasciculus longitudinalis medialis içerisinde çok sayıda RM ile ilgili neuron tespit edilmesi şeklinde sıralanabilir. Miyazaki, bu çalışmada RS'a ait motoneuron'ların yaklaşık %20'sinin fasciculus longitudinalis medialis içerisinde veya daha ventrolateral bölgede dağınık halde bulunduğunu, yine burada RI veya OI ile ilgili az sayıda motoneuron'un yer aldığını söylemektedir.

Glicksmann (54), sıçanda nucleus nervi oculomotorii organizasyonunun tavşandakine benzer olduğunu bildirmiştir. Buna göre RM ve RI ile ilgili neuron'lar ipsilateral rostral 2/3 lük bölgede, OI ile ilgili neuron'lar ipsilateral orta 1/3 lük bölgede, RS ile ilgili neuron'lar kontrilateral caudal 2/3 lük bölgede yer almaktadır. LPS bilateral inervasyona sahiptir. Ayrıca RM ile ilgili bazı neuron'lar fasciculus longitudinalis medialis içerisinde dağılmış olarak bulunmaktadır. Çalışmamızda biz de, Glicksmann ile uyumlu olarak, fasciculus longitudinalis medialis içerisinde sadece RM ile ilgili neuron'lar tespit ettik. Ancak Glicksmann'dan farklı olarak, RM sub grubunu ipsilateral olarak nucleus'un tüm rostrocaudal uzunluğu boyunca, RS sub grubunu kontrilateral olarak sadece alt 1/2 lik kısımda ve RI sub grubunu ise ipsilateral olarak rostral uç hariç tüm seviyelerde gözlemledik.

Labandeira Garcia (47), sıçan üzerindeki çalışmasında nucleus nervi oculomotorii içerisindeki motoneuron'ların ayrı subgruplar halinde bulunmadıklarını, aksine birbirleri ile çakışmış halde olduklarını bildirmektedir. Farklı olarak bu çalışmada tüm

kasların, kendi subgrupları dışında, fasciculus longitudinalis medialis içerisindeki motoneuron'lar tarafından da inerve edildikleri söylenmektedir. Bu çalışma ayrıca farklı memeli türlerinde farklı organizasyonlar olduğunu belirtip, bunlardan en belirgin olan ikisini tavşanda central caudal nucleus'un olmaması ve maymunda RI ve RM'a ait neuron'ların lokalizasyonunun kedi ve tavşandakinin tersi olması şeklinde açıklamıştır.

Labandeira Garcia (47), çalışmasında tüm kasların, kendi subgrupları dışında, fasciculus longitudinalis medialis içerisindeki motoneuron'lar tarafından da inerve edildiklerini söylemektedir. Oysa biz, Miyazaki (46) ve Glicksmann'ın (54) çalışmalarıyla uyumlu olarak, sadece RM'a ait kesitlerde fasciculus longitudinalis medialis içerisindeki neuron'larda boyanma gözledik.

Labandeira Garcia çalışmasında, RM ve RI subgruplarının nucleus'un tüm rostrocaudal uzunluğu boyunca bulduklarını, ancak RM subgrubuna ait neuron'ların çoğunluğunun rostral 2/3 lük kısımda, RI subgrubuna ait neuron'ların ise daha çok rostral 1/2 lik kısımda ve ventromedial bölgede bulunduğunu, nucleus'un rostral seviyelerinde RM ve RI subgrupları birbiri ile karışık halde iken, daha caudal seviyelerde RM subgrubunun nucleus'un ventral ve medial kısımlarında gözlendiğini bildirmektedir. Biz ise çalışmamızda RM subgrubunu Labandeira Garcia gibi tüm nucleus boyunca ventrolateral bölgede, ancak RI subgrubunu sadece alt 3/4 lük kısımda ve medial bölgede gözledik. Ayrıca rostral seviyelerde RM ve RI arasında bir çakışma tespit etmedik.

Gomez-Segade (55), sıçanlarda sadece RS subgrubu üzerinde çalışmış ve bu subgruba ait neuron'ların kontrateral olarak caudal 2/3 lük kısımda yer aldığını bildirmiştir. Bu lokalizasyon bizim çalışmamız ile uyumlu olmakla birlikte Gomez-Segade de Labandeira Garcia gibi fasciculus longitudinalis medialis içerisinde bu subgruba ait neuron izlediğini söylemektedir.

Labandeira Garcia OI subgrubunun ipsilateral olarak tüm seviyelerde ve daha çok dorsal bölgede, RS subgrubunun ise kontrilateral olarak nucleus'un özellikle alt 1/2 lik kısmında yer aldığını bildirmektedir. Bizim bulgularımız Labandeira Garcia'nın bu sonuçları ile uyumludur. Ancak Labandeira Garcia median raphe içerisinde OI subgrubuna ait neuron'ların, fasciculus longitudinalis medialis içerisinde de RS subgrubuna ait neuron'ların izlendiğini söylemektedir. Biz ise fasciculus longitudinalis medialis içerisinde sadece RM subgrubuna ait neuron gözlerken, median raphe içerisinde hiçbir subgruba ait neuron tespit edemedik.



5. SONUÇLAR

1. Nucleus nervi oculomotorii'nin organizasyonu, farklı türde canlılarda ve farklı araştırmacıların çalışmalarında değişik sonuçlar vermiştir. Bunun nedeni, muhtemelen, uygulanan yöntemlerdeki eksikliklerdir. Bu çalışmanın planlanmasının esas nedeni, sıçanda bu organizasyonu daha güvenilir bulduğumuz bir yöntemle yeniden ortaya koymak idi. Bu nedenle çalışmamızda aynı anda birden fazla kasa ve daha fazla miktarda HRP (Horseradish Peroxidase) uygulandı ve subgrupların birbiri ile ilişkisi daha doğru bir şekilde değerlendirildi.

2. Daha önceki çalışmalarda nucleus subgrupları arasında belirgin çakışma (overlapping) olduğu bildirilmektedir. Ancak biz çalışmamızda subgruplar arasındaki sınırların izlenebildiğini ve belirgin bir çakışma olmadığını gözledik.

3. Çalışmamızda nucleus nervi oculomotorii'nin tüm rostrocaudal uzunluğu boyunca sadece RM sub grubu ile ilgili neuron'lar izlendi. Diğer subgrupların, özellikle orta seviyelerde yoğun olmak üzere, daha alt seviyelerde olduğu gözlemlendi.

4. Çalışmamızda fasciculus longitudinalis medialis içerisinde sadece m. rectus medialis ile ilgili neuron'lar gözlemlendi. Median raphe içerisinde herhangi bir subgruba ait neuron izlenmedi.

6. KAYNAKLAR

1. Lumsden A, Krumlauf R. Patterning the vertebrate neuraxis. *Science* 1996; 274: 1109- 1115.
2. Cooper ERA. The development of the nuclei of the oculomotor and trochlear nerves(somatic efferent columns). *Brain*. 1946; 69: 50-57.38.
3. Cooper ERA. The trochlear nerve in the human embryo and foetus. *Br. J. Ophthalmol.* 1947; 31: 257-275.
4. Sakamoto M. Embryology of the third, fourth and sixth cranial nerves. *Acta Soc. Ophthalmol. Jpn.* 1953; 57: 146-148.
5. Sevel D. Development of the nerves of the extraocular muscles. Presented at the International Strabismus Association- American Association of Pediatric Ophthalmology and Strabismus Combined Meeting, Asilomar, CA, October, 1982.
6. Wahl CM, Noden DM, Baker R. Developmental relations between sixth nerve motor neurons and their targets in the chick embryo. *Dev. Dynam.* 1994; 201: 191-202.
7. Martinez AJ, Mcneer KW, Hay SH.Extraocular muscles: Morphogenetic study in humans-Light microscopy and ultrastructural features. *Acta Neuropathol.* 1977; 38: 87-93.
8. Gamble HJ, Fenton J, Allsopp G. Electron microscope observations on human fetal striated muscle. *J. Anat.* 1978; 126: 567- 589.
9. Sohal GS. Development of the oculomotor nucleus, with special reference to the time of cell origin and cell death. *Brain Res.* 1977; 138: 217-228.
10. Sohal GS, Weidman TA. Development of the trochlear nerve: Loss of axons during normal ontogeny. *Brain Res.* 1978; 142: 455- 465.
11. Miller NR, Newman NJ. *Clinical Neuro-ophthalmology*.1998 5. Ed. Vol. 1: 1053-1054.

12. Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE, Ferguson MWJ. Gray's Anatomy. 38. Ed.: 1068.
13. Maciewicz RJ, Kaneko CRS, Highstein SM. Morphophysiological identification of interneurons in the oculomotor nucleus that project to the abducens nucleus in the cat. *Brain Res.* 1975; 96: 60-65.
14. Maciewicz RJ, Romagnano MA, Baker R. Two projections of the oculomotor internuclear neurons. *Anat. Rec.* 1977; 187: 642.
15. Maciewicz RJ, Spencer R. Oculomotor and abducens internuclear pathways in the cat. In control of gaze by brain stem neurons. Elsevier/ north- Holland. 1977: 99-108.
16. Maciewicz RJ, Phipps BS. The oculomotor internuclear pathway: A double retrograde labeling study. *Brain Res.* 1983; 262: 1-8.
17. Burde RM, Loewy AD. Central origin of oculomotor parasympathetic neurons in the monkey. *Brain Res.* 1980; 198: 434-439.
18. Carpenter MB. Neuroanatomy. Maryland, Williams and Wilkins. 4. Ed. 1991: 203-204.
19. Kerkut GA, Walker RJ. Marking individual nerve cells through electrophoresis of ferrocyanide from a microelectrode. *Stain Technol.* 1962; 37:217-219.
20. Globus A, Lux HD, Schubert P. Soma dendritic spread of intracellularly injected tritiated glycine in cat spinal motoneurons. *Brain Res.* 1968; 11: 440-445.
21. Behrens ME, Wulff DG. Light-initiated responses of retinula and eccentric cells in the Limulus eye. *J. Gen. Physiol.* 1965; 48:1081-1093.
22. Potter DD, Furshpan EJ, Lennox ES. Connections between cells of the developing squid as revealed by electrophysiological methods. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1966; 55: 328-336.
23. Thomas RC, Wilson VJ. Marking single neurons by staining with intracellular recording microelectrodes. *Science* 1966; 151: 1538-1539.
24. Stretton AOW, Kravitz EA. Neuronal geometry: determination with a technique of intracellular dye injection. *Science* 1968; 162: 132-134.

25. Ochs S. Fast transport of material in mammalian nerve fibers. *Science* 1972; 176: 252-260.
26. Pitman RM, Tweedle CD, Cohen MJ. Branching of central neurons: intracellular cobalt injection for light and electron microscopy. *Science* 1972; 176: 412-414.
27. Heym C, Forssmann WG. *Techniques in neuroanatomical research*. Springer-Verlag. 1981: 209.
28. Graybiel AM, Devor M. A microelectrophoretic delivery technique for use with horseradish peroxidase. *Brain Res.* 1974; 68: 167-173.
29. Snow PJ, Rose PK, Brown AG. Tracing axons and axon collaterals of spinal neurons using intracellular injection of horseradish peroxidase. *Science* 1976; 191: 312-313.
30. Heimer L, Robards MJ. *Neuroanatomical Tract-Tracing Methods*. Plenum Press. 1981: 207.
31. Rennke HG, Venkatachalam MA. Chemical modification of horseradish peroxidase. *J. Histochem. Cytochem.* 1979; 27: 1352-1353.
32. Kimm CC, Strick PL. Critical factors involved in the demonstration of horseradish peroxidase retrograde transport. *Brain Res.* 1976; 103: 356-361.
33. Venegas H, Hollander H, Distel H. Early stages of uptake and transport of horseradish peroxidase by cortical structures, and its use for the study of local neurons and their processes. *J. Comp. Neurol.* 1978; 177: 193-212.
34. Boadwell RD, Brightman MW. Cytochemistry of undamaged neurons transporting exogenous protein in vivo. *J. Comp. Neurol.*, 1979; 185: 31-74.
35. La Vail MM, La Vail JH. Retrograde intraaxonal transport of horseradish peroxidase in retinal ganglion cells of the chick. *Brain Res.*, 1975; 85: 273-289.
36. Price P, Fisher AWF. Electron microscopical study of retrograde axonal transport of horseradish peroxidase in the supraoptico-hypophyseal tract in the rat. *J. Anat.* 1978; 125: 137-147.

37. La Vail JH, Rapiscardi S, Sugino IK. Evidence against the smooth endoplasmic reticulum as a continuous channel for the retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. *Brain Res.*1980;191:3-20.
38. Bunt AH, Lund RD, Lund JS. Retrograde axonal transport of horseradish peroxidase by ganglion cells of the albino rat retina. *Brain Res.* 1974; 73: 215-218.
39. Oldfield BJ, Lachlan EM. Uptake and retrograde transport of horseradish peroxidase by axons of intact and damaged peripheral nerve trunks. *Neurosci. Lett.* 1977; 6: 135-141.
40. Hansson HA. Uptake and intracellular bidirectional transport of horseradish peroxidase in retinal ganglion cell. *Exp. Eye. Res.* 1973; 16: . 377-388.
41. Sakai H, Woody CD. Relationship between axonal diameter, soma size, and axonal conduction velocity of HRP- filled, pyramidal tract cells of awake cats. *Brain Res.* 1988; 460: 1-7.
42. Jacobson H, Trojanowski CD. The appearance of dendrites of callosal and corticothalamic neurons in somatosensory cortex of immature rats demonstrated by horseradish peroxidase. *Adv. Neurol.* 1975; 12: 319-333.
43. Mesulam MM. Tetramethylbenzidine for horseradish peroxidase neurohistochemistry. A non-carcinogenic blue reaction-product with superior sensitivity for visualizing neural afferents. *J. Histochem. Cytochem.*1978; 26: 106-117.
44. Mesulam MM, Rosene DL. Sensitivity in horseradish peroxidase neurohistochemistry: A comparative and quantitative study of nine methods. *J. Histochem. Cytochem.*, 1979; 27(3): 763-773.
45. de Olmos JS, Carrer H. A horseradish peroxidase study of the afferent connections to the medial basal hypothalamus in the rat. *Anat. Rec.* 1978;190:380.
46. Miyazaki S. Location of motoneurons in the oculomotor nucleus and the course of their axons in the oculomotor nerve. *Brain Res.*1985; 348:. 57-63.

47. Labandera Garcia JL, Gomez-Segade LA, Suarez Nunez JM. Localisation of motoneurons supplying the extra-ocular muscles of the rat using horseradish peroxidase and fluorescent double labelling. *J. Anat.*, 1983; 137(2): 247-261.
48. Warwick R. Representation of extraocular muscles in the oculomotor nuclei of the monkey. *J. Comp. Neur.* 1953; 98: 449- 504.
49. Tarlov E, Tarlov SR. The representation of extraocular muscles in the oculomotor nuclei: experimental studies in cat. *Brain Res.*1971; 34: 37- 52.
50. Akagi Y. The localisation of the motor neurons innervating the extraocular muscles in the oculomotor nuclei of the cat and rabbit. *J. Comp. Neur.* 1978; 181: 745- 762.
51. Gacek RR. Localisation of neurons supplying the extraocular muscles in the kitten using horseradish peroxidase. *Exp. Neur.* 1974; 44: 381-403.
52. Bienfang DC. Location of the cell bodies of the superior rectus and inferior oblique motoneurons in the cat. *Exp. Neur.* 1968; 21: 455-466.
53. Gacek RR. Location of the brainstem neurons projecting to the oculomotor nucleus in the cat. *Exp. Neur.*1977; 57: 725-729.
54. Glicksmann MA. Localisation of motoneurons controlling the extraocular muscles of the rat. *Brain Res.* 1980; 188: 53-62.
55. Gomez-Segade LA, Labandera Garcia JL. The central course of the axons of motoneurons innervating the superior rectus muscle in the mammalian eye. *Trab. Inst. Cajal*, 1980; 169-178.

7. ÖZGEÇMİŞ

Dr. Mustafa Aktekin 08. 03. 1967'de Adana'da doğdu. 1977'de Celalettin Sayhan İlkokulu'ndan, 1985'te Adana Anadolu Lisesi'nden mezun olarak aynı yıl Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne girdi. 1991 yılında tıp fakültesinden mezun olduktan sonra 16 ay süre ile Şırnak Devlet Hastanesi'nde mecburi hizmetini yaptı. Ardından Adana Karataş İlçesi sağlık ocağında görev yaptı. 1996 yılından bu yana Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.

