

Stereoloji ve Veteriner Hekimlikte Kullanım Alanları

Mehmet Aydın AKALAN Aysun ÇEVİK DEMİRKAN

Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye

Geliş tarihi: 18.02.2013

Kabul Tarihi: 20.03.2013

ÖZET

Yapılan bu derleme stereoloji ve veteriner hekimlikte kullanım alanları hakkında bilgi vermeyi amaçlamıştır. Stereoloji hemen hemen bütün bilim dalları tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır. Makroskobik ve mikroskobik yapıların morfolojisi, organ ve yapılardaki hücre sayısı, organın uzunluğu, hacmi, yüzey alanı, hacim bileşenleri gibi geometrik özellikler stereolojik yöntemler kullanılarak hesaplanabilmektedir. Klinikte hastalıkların teşhisi, etkilerinin belirlenmesi, tedavinin ya da cerrahi uygulamalarının takibi gibi konularda stereoloji sıklıkla kullanılmaktadır.

Anahtar Kelimeler

Stereoloji, Kullanım alanları

Stereology and Application Areas in Veterinary Medicine

SUMMARY

Stereology is commonly used in almost all science departments. Morphology of macroscopic and microscopic structures, all number in organs and entities, geometric traits such as length, volume, surface area and volume contents organs can we measured by use of stereologic methods.

Key Words

Stereology, Application areas

GİRİŞ

Stereoloji terimi, Yunancada üç boyutlu cisim, üç boyutluluk anlamına gelen "stereos" kelimesinden türemiştir (Mouton 2002). Stereoloji, üç boyutlu örneklerin, iki boyutlu kesitlerinden elde edilen veriler kullanılarak, gerçekte üç boyutlu özelliklerine ait yorumlar yapmaya yarayan bilim dalı olarak tanımlanmaktadır (Mayhew ve Gundersen 1996). Yine stereoloji, bir nesnenin geometrik ve istatistiksel yapısı hakkında nicel bilgileri elde etmek için nesnenin kesitlerini kullanan bir yöntem olarak tanımlanabilir (Cruz-Orive 1993). Stereoloji, model temelli stereoloji ve tasarım temelli stereoloji olarak da incelenir. Model Temelli Stereoloji, üzerinde çalışılan nesne veya taneciklerin geometrik yapıları ile ilgili bazı ön kabuller (örneğin, x organındaki tüm hücreler küreseldir; çapları ve hacimleri arasında şöyle bir ilişki vardır; vs gibi) yapılarak, nesnelerin kurmaca matematiksel modelleri üzerinden ölçüm yapılması esasına dayanan stereoloji dalıdır (Kaplan, 2006). Tasarım Temelli Stereoloji, sayısal özellikleri hesaplanmak istenen yapılar hakkında herhangi bir ön kabul yapılmadan, çalışma tasarımına bağlı olarak verilerin elde edildiği stereoloji alanıdır (Kaplan 2006).

Stereoloji ile ilgilenenlerin bu alanda sıklıkla başvurdukları kavramlar; tarafsızlık ve etkinliklerdir. "Tarafsızlık"; gerçek değerden sistematik bir sapma göstermemek, "etkinlik" ise makul bir sürede düşük değişkenlik göstermek demektir (Gundersen ve ark. 1988a). Bilinmeyen bir nicelik ile ilgili bir görüş, taraflı ya da tarafsız olabilir (Şekil 1).

Taraflılığın prensipte iki ana kaynağı vardır; bunlar örnekleme ve sistemik taraflılıktır. Sistemik taraflılığa neden olan birçok etken vardır, bunlar; ölçüm aletlerinin yanlış ayarlanması, mikrotomun yapısındaki hatalar, mikroskopun optik sistemindeki hatalar, değişken kesit

kalınlıkları vs. sayılabilir ve sayısı artırılabilir. Ancak en önemlisi kullanılan ölçü aletlerinin iyi kalibre edilmemesidir ve bu durumda doğru ölçüm aletleri ile aynı ölçümler tekrarlanmadıkça sonuçlardaki taraflılığın fark edilmesi mümkün olmaz (Howard ve Reed 1998; Kaplan 2006). Örnekleme taraflılığı ise; örnekleminin incelenen nesnenin hep aynı noktasından yapılarak ölçüm ve inceleme yapılması sonucu ortaya çıkar ve incelenen nesnenin her parçasına örneklemede eşit şans verilerek örnekleme yapılması taraflılığı önler (Howard ve Reed 1998; Kaplan 2006).

Etkinlik ise, yapılacak biyolojik araştırmada kaynakların (materyal, malzeme, zaman) optimum düzeyde kullanılması ile gerçek değere en yakın değeri bulmayı, yani daha kısa zamanda daha az hatalı iş yapmayı ifade eder (Gundersen ve Jensen 1987; Mouton 2002).

Stereolojik metodların en önemli stratejik temelini Sistemik Rastgele Örnekleme (SRÖ) oluşturur. Mikroskobik analizlerde üzerinde çalışılacak biyolojik dokunun örnekleme sistematik taraflılıktan uzak olmasıdır. Örnekleme yapılacak nesnenin her bir parçası eşit oranda örnekleme şansına sahip olmasıdır (Cruz-Orive 1999). Sistemik rastgele örnekleme, rastgele yapılan örnekleme göre istatistiksel anlamda gerçeğe daha yakın sonuçlar elde edilmesini sağlar (Gundersen ve ark. 1999). Burada "sistemik" sözcüğü, ilgili yapıdan alınan kesitlerin veya kesit üzerindeki inceleme alanlarının önceden belirlenmiş aralıklarla, yani sistemik aralıklarla örnekleme yapılmasını "rastgele" sözcüğü ise bu sistemik örnekleminin örnekleme aralığı içerisinde rastgele bir sayı ile başlamasını ifade eder (Gundersen ve ark. 1988b).

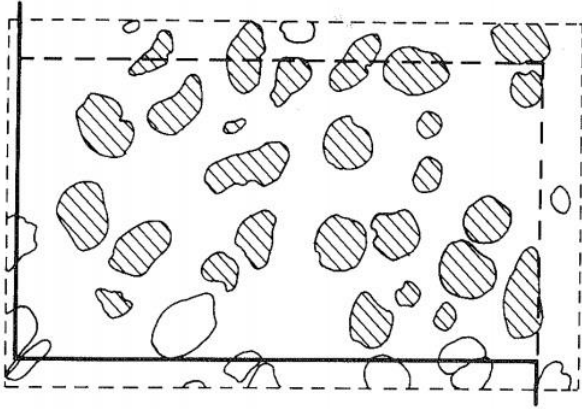
Stereolojide, tanecik sayımı yapmak için tanecik izdüşümlerinden yararlanılan durumlarda, kesitlerde ortaya çıkan tanecik izdüşümlerinin belli bir alanla sınırlandırılarak sayılması gerekmektedir. Bu durumda,

izdüşümlerin hangi kurallara göre sınırlandırılması gerektiği konusu ortaya çıkar (Şekil 2) (Kaplan 2006).

	Tarafsız ya da kesin	Tarafli ya da kesin değil
Hassas		
Hassas değil		

Şekil 1. Taraflılık ve doğruluğun grafiksel gösterimi. Üst sıra yüksek hassasiyeti göstermektedir ve hedefe isabet eden noktalar birbirine yakın olarak kümelenmiştir. Alt sıra ise düşük hassasiyeti göstermekte ve noktalarda belirgin bir dağınıklık söz konusudur. Sağ sıra tarafıllığı, sol sıra ise tarafsızlığı göstermektedir (Howard ve Reed 1998).

Figure 1. A graphical illustration of the difference between precision and accuracy in an experiment. The top row of targets shows high precision, that is the hits are closely clustered together. The bottom row shows low precision and there is a marked scatter of hits



Şekil 2. Tarafsız sayım çerçevesi (Gundersen ve ark. 1988a)

Figure 2. Unbiased counting frame

Çeşitli sayım çerçevelerinin kullanılması ile yapılan yanlışlıklar saptandıktan sonra iki boyutlu düzlemlerde gerçek sayımın nasıl bulunacağını, 1977 yılında Gundersen "tarafsız sayım çerçevesi" olarak adlandırılan bir sayım çerçevesi modeli geliştirerek tarif etmiştir (Bektaş 2006).

Tarafsız sayım çerçevesinin sayım kuralları şöyle sıralanabilir;

1. İzdüşümleri tamamen sayım çerçevesi içerisinde kalan, yani herhangi bir kenar veya köşeye kesilmeyen tanecikler sayıma dahil edilir.
2. Çerçevenin "yasak" çizgileri ile ifade edilen kenarlar ile kesişen izdüşümler sayılmazlar.
3. Serbest çizgi ile temas eden tanecik izdüşümleri sayıma dahil edilir.

4. Çerçevenin yasak çizgilerinin uzantıları ile herhangi bir şekilde kesişen izdüşümler de sayıma dahil edilmezler (Gundersen 1977).

Belirli bir hacimde bulunan taneciklerin sayısını tarafsız bir yöntemle hesaplamak için üç boyutlu bir örnekleme yöntemi olan disektör yöntemi geliştirilmiştir (Stereo 1984). Tarafsız sayım çerçevesi iki boyutlu ortamlarda tarafsız örnekleme yaparken, disektör üç boyutlu ortamlarda tarafsız örnekleme yapar (Gundersen ve ark. 1988a). Disektör, bilinen bir "t" aralığı ile birbirinden optik ya da fiziksel olarak ayrılmış iki kesit düzleminde oluşan üç boyutlu bir hacim sondasıdır (Cruz-Orive ve Weibel 1990). Disektörün temel mantığı, taneciklerin kesit alma doğrultusu boyunca ilk ortaya çıktıkları veya son görüldükleri kısımları, yani taneciklerin "uçlarını" bulmaktır. Her taneciğin şekli ve yöneliminden bağımsız olarak, bir yönde bir tek ucu olduğu düşünülürse, bu mantıkla iş gören bir metot, gerçek tanecik sayısına ulaşılmasını sağlar (Anonim 2011; Gundersen ve ark. 1988b).

Bu yöntem fiziksel ve optik disektör olmak üzere iki şekilde uygulanır (Gundersen 1986).

Fiziksel disektör ardışık, birbirine paralel, aynı kalınlıkta ve aralarındaki mesafe bilinen iki kesit üzerinde tanecik sayımında kullanılmaktadır. Disektör yöntemi için iki ayrı kesit gerekir ve bu iki adet iki boyutlu kesit düzleminde birisi "örnek", diğeri "gözlem" kesiti olarak adlandırılır (Stereo 1984). Bu ardışık iki kesitin incelenmesinde tanecik olarak nitelendirilen yapı, her iki kesitte de görülebileceği gibi kesitlerden birinde görünüp diğesinde görünmeyebilir. Kural olarak kesitlerden birinde görülen ancak diğesinde görünmeyen tanecik sayıma dahil edilir ve bu disektör taneciği olarak adlandırılır (Duman 2010). İki kesit arasındaki mesafeye ise disektör yüksekliği adı verilir, yapılan sayım sonucunda disektör yükseklikleri boyunca örneklenebilen disektör taneciklerinin (yani tanecik uçlarının) sayısı bulunur (Odacı ve ark. 2004). Burada dikkat edilecek önemli nokta; kesitler karşılaştırılırken aynı taneciğe ait ya da farklı taneciklere ait olan iz düşümlerin birbirinden iyi bir biçimde ayırt edilmesi gerektiğidir (Ünal ve ark. 2002b).

Optik disektör, kalın bir doku kesiti içerisinde z eksenine boyunca optik olarak ilerlerken oluşturulan sanal bir küp olarak da düşünülebilir (Odacı ve ark. 2004). Bu yöntemde fiziksel olarak ardışık iki ayrı kesitte karşılaştırma yapma zahmeti bulunmamakta ve tek bir kalın kesit hacmi içerisinde ardı ardına alınan optik kesitlerden faydalanılarak, seçilen örnekleme alanında tanecik sayımı yapılması sağlanmaktadır (Coggeshall 1992; Mayhew 1992).

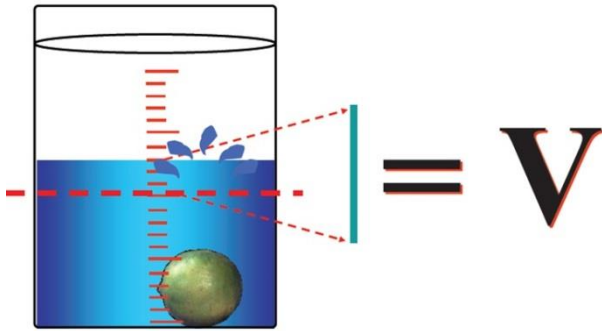
Stereolojik metotlar arasında en pratik ve basit olanı parçalama (fractionator) yöntemi, gücünü basitliğinden almaktadır. Dokuya uygulanan histolojik işlemlerden, dokuların şişme, büzüşme gibi yapısal değişimlerinden, kesit alma sırasındaki haraplanma ve hacim değişimlerinden bağımsızdır. Ayrıca, çalışılan yapı, organ ve taneciklerle ilgili hiçbir ön bilgiye gereksinim göstermez (Canan ve ark. 2002).

Stereolojide kullanılan diğer bir metod Cavalieri prensibidir. Bu metod, organ ya da yapıların hacim değerlerinin hesaplanması amacıyla 300 yıl kadar önce İtalyan matematikçi Bonoventura Cavalieri tarafından geliştirilmiştir. Cavalieri herhangi bir objenin hacminin, nesneden paralel, belirli aralıklarla kesilmiş 2 boyutlu kesitler sayesinde hesaplanabileceğini göstermiştir (Şekil 3) (Akbas ve ark. 2004).

Bu metot, hacmi hesaplanmak istenen yapıdan paralel dilimler alarak, her bir dilim için yüzey alanları ile kalınlıklarının çarpımı sonucu elde edilen hacim değerlerinin toplanmasını içerir (Sahin ve ark. 2003). Cavalieri prensibini uygulamak için, hacmi hesaplanmak istenen yapı eşit aralıklarla ve birbirine paralel olarak dilimlere ayrılır. Daha sonra ise her bir dilimin aynı yöne bakan kesit yüzeylerinin alanları hesaplanır ve tüm dilimlerden elde edilen yüzey alanları toplanarak, ortalama dilim kalınlığı ile çarpılır. Sonuçta elimizdeki yapının toplam hacmini tarafsız bir şekilde hesaplamış oluruz. Bu işlem matematiksel olarak ise şu şekilde ifade edilir;

$$V_{ref} = \sum a_i \times t$$

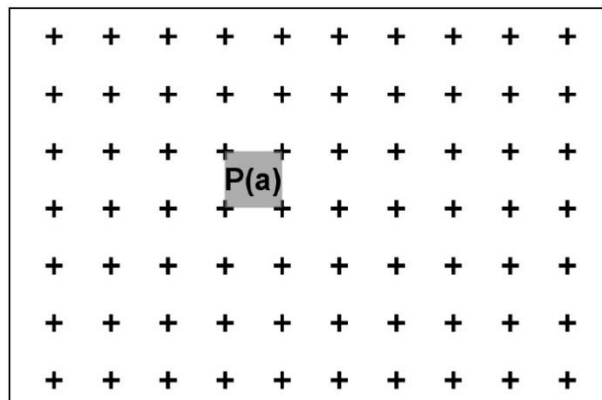
Denklemden V_{ref} ; ilgilendiğimiz yapının toplam ya da referans hacmi, a_i ; i numaralı kesitteki yapı izdüşümünün yüzey alanını, t ; ortalama kesit kalınlığını gösterir.



Şekil 3. Arşimet prensibi ile hacim hesaplaması (Canan ve ark. 2002)

Figure 3. Measuring method with Archimedes principle

Mikroskopik kesitler ve makroskopik dilimler üzerine uygulayabileceğimiz Cavalieri prensibi için ilk adım yüzey alanını hesaplamaktır. Bunun için bilgisayar destekli görüntü analiz cihazları kullanılarak planimetrik olarak izdüşüm alanları doğrudan ölçülebileceği gibi, yüksek doğrulukta ölçüm yapmak için mutlaka bilgisayara ihtiyaç yoktur (Canan ve ark. 2002). Bu amaçla Noktalı Alan Ölçüm Cetveli kullanmak stereolojide sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Ayrıca noktalı alan ölçüm cetveli kullanılarak yapılan ölçümler diğer planimetrik ölçümlerden daha kısa sürede ve daha güvenilir sonuçlar verdiği gibi maliyeti de oldukça düşüktür (Şekil. 4) (Duman 2010)



Şekil 4. Yüzey alanı hesaplamada kullanılan Noktalı Alan Ölçüm Cetveli (Canan ve ark. 2002)

Figure 4. Transparent point grid

Noktalı alan ölçüm cetveli, birbirinden eşit aralıklarla ayrılmış noktalardan oluşan ve sistematik noktaların bir yüzey üzerine dizilmiş şeklindedir. Böyle tasarlanmış bir cetvelde her bir "artı" (+) işaretinin orta noktası cetvel

üzerindeki bir noktanın varlığını temsil eder. Bu noktaların her biri ise, dört noktanın arasında kalan alanı yani "bir birim cetvel alanı" ($P(a)$) temsil eder. $P(a)$ bilinen bir noktalı ölçüm cetveli, alanı hesaplanmak istenen bir kesit görüntüsü üzerine rastgele bırakılırsa, kesitteki izdüşümü üzerine isabet eden noktaların sayısı ile bu izdüşümün kesitte temsil ettiği alan doğru orantılı olacaktır. İlgilenilen yapının izdüşümünün sınırları içine düşen nokta sayısı toplamı ($\sum P_i$), $P(a)$ ile çarpılırsa, kesitteki izdüşümün toplam alanı (A_i) tarafsız olarak bulunmuş olur (Kalkan 2009).

$$A_i = \sum P_i \times P(a)$$

STEREOLOJİNİN VETERİNER HEKİMLİKTE KULLANIM ALANLARI

Günümüzde stereoloji genel tıp, astronomi, jeoloji, matematik ve diğer mühendislik bilimlerinde sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak en çok fayda sağladığı alanlar anatomi, histoloji, fizyoloji, patoloji gibi biyolojik yapılarla uğraşan bilim dallarıdır (Bolat 2011).

Stereolojinin kullanım alanlarından birisi, dokulardaki yapısal değişikliklerin, histolojik kesitlerden üç boyutlu olarak analizidir (Boyce ve ark. 2010). Bir organdaki toplam hücre sayısının belirleneceği bir çalışmada, o organdaki tüm kesitleri ele alıp hücreleri teker teker saymak çoğunlukla imkansızdır (Gundersen ve Jensen 1987; Gundersen ve ark. 1999). Bu yüzden ilgililenen yapıdan alınan örnekler üzerinde stereolojide kullanılan en uygun yöntemle bu değerleri tespit etmek çok daha pratiktir (Gundersen ve Jensen 1987; West 1999). Bir zamanlar külfetli ve zaman alan bir yöntem olan hücre sayımı, stereolojik yaklaşımlar sayesinde etkili ve pratik bir hal almıştır. Örneğin bazı toksikolojik çalışmalarda, dokularda hücre sayısındaki küçük değişimler ve dokudaki potansiyel farkedilmesi zor yapısal değişiklikler açısından gerekli hassasiyeti stereoloji sağlayabilmektedir (Boyce ve ark. 2010). Bu alanda yapılan bir çalışmada, coumarin ve 4-methylcoumarin'in hepatik endoplazmik retikulum üzerine etkileri araştırılmış, coumarin ve 4-methylcoumarin verilen ratların karaciğerlerinde kumarinin neden olduğu hepatoksisite stereolojik metodlarla incelenmiş ve coumarin'in hücrede stoplazmik büyümeye, 4-methylcoumarin'in ise Endoplazmik retikulum ve Golgi cisimciğinde değişimlere yol açtığı gözlemlendiği bildirilmiştir (Iglesia ve ark. 1975). Mendis-Handagama ve ark. (1998)'nin luteinize edici hormon tedavisi uygulanan ratların Leydig hücrelerindeki yapı ve fonksiyonlarını incelediği diğer bir çalışmada; stereolojik metodlar kullanılarak LH uygulanmış erişkin ratların Leydig hücre hacim yoğunluğunu, her testis için Leydig hücre sayısı ve ortalama Leydig hücre hacmi hesaplanmış, LH uygulamasının hiperplazi, hipertrofi ve Leydig hücrelerinde testosteron salgılama kapasitesinde artışa neden olduğu bildirilmiştir. Prematüre koyunlarda yapılan bir çalışmada kronik akciğer hastalıklarının tedavisi için A vitamini kullanımının etkinliğini araştırmışlardır. Bu çalışmada solunum üzerine olumlu etkileri olduğu bilinen, fakat yapısal ve moleküler olarak ne gibi etkileri olduğu pek araştırılmayan A vitamini etkileri stereolojik olarak araştırılmış ve yemlere günlük olarak Vitamin A ilavesinin sekonder alveoler septasyonu ve alveoler kapillar gelişimini artırdığı saptanmıştır (Albertine ve ark. 2010).

Disektörler metoduyla doku ya da organ içerisindeki tanecik sayısı; kesitlerin alınma yönü, sayılacak tanecik büyüklüğü, doku içerisindeki yönelimi, dokunun histolojik

işlemler sırasında büzüşme ve genişlemesi gibi hesaplama hatalarına neden olabilecek katsayılarından bağımsız olarak, yani tarafsız olarak hesaplanabilir (Ünal ve ark. 2002a; Stereo 1984). Bir patolojik örnekteki tanecik sayısını hesaplamada, taneciklerin tamamının sayılması genellikle pratik değildir. Onun yerine referans alanın bilinen bir parçasında tanecik sayısı hesaplanır. Parçalanma prensibi herhangi bir yapıdan, tek tip (uniform) sistematik rasgele örnekleme ile seçilen nispeten küçük bir doku parçasında tanecik sayımı yapmak ve bu küçük parçanın, ana yapıya olan oranı ile çarpılarak, toplam sayının elde edilmesini içerir (Gundersen ve ark. 1988b). Burada bilinmesi gereken tek olgu, örnekleme olarak alınan parçaların, tüm organ veya yapının kaçta kaçına karşılık geldiğidir (Gundersen 1986). Söz konusu olan sadece örnekleme (parçalama) oranı olduğundan, kesit kalınlığı, deformasyon derecesi ve doku hakkında herhangi bir ön kabul yapmaya gerek kalmamaktadır (Anonim 2011). Sonuçta elde edilen doku parçacıkları, histolojik kesitlere ayrılır ve bunlar arasından da yine sistematik ve rastgele bir seçim yapıldıktan sonra, disektör metodu uyarınca tanecik sayımı gerçekleştirilir. Bu örneklerden elde edilen tanecik sayısı, organın "o kadar parçasında" bulunan taneciklerin sayısıdır (Canan ve ark. 2002).

Cavalieri metodu kullanılarak, düzensiz bir şekil ya da boyuta sahip bir yapının hacmi, etkin bir biçimde ve hassas olarak ölçülebilir (Jelsing ve ark. 2005). Düzensiz şekilli nesnelerin hacminin hesaplanması için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bunlardan en bilineni Arşimet prensibidir. Bu yöntemde incelenen yapı içi su dolu, dereceli bir kaba bırakılarak, taşındığı ya da yükselttiği su miktarı hesaplanır (Howard ve Reed 1998). Ancak ilgilenilen organ akciğer gibi doğal iç boşluklar (kaviteler) içeriyorsa, böyle yapılarda sıvı yer değiştirme yöntemini uygulamak için, organın boşluklarının girişleri (örneğin akciğerlerde primer bronşlar) su geçirmeyecek bir biçimde tıkanıldıktan sonra hacim ölçümü yapılmalıdır. Aksi takdirde, organın boşluklarına su dolması sonucu, hacim gerçek hacimden daha küçük olarak ölçülebilir (Canan ve ark. 2002). Cavalieri prensibi ile kesinlik ifade eden ve kişisel taraflılıktan uzak sayısal değerler elde edilir ve elde edilen bu veriler son derece güvenilir ve tarafsızdır (Black 1999).

Biyolojik yapıların (karaciğer, akciğer, dalak, beyin ventrikülleri, kalp boşlukları vs.) hacimleri Cavalieri prensibi ile radyolojik görüntüleme tekniklerinin kombinasyonu ile hesaplanabilir ve bu sayede güvenilir verilere ulaşılabilmektedir (Basoglu ve ark. 2007). Yapılan diğer bir araştırmada ise beyin ve serviks tümörü bulunan hastalarda, radyoterapi tedavisi süresince tümör hacimleri incelenmiş, Cavalieri metodunun tarafsız ve etkin sonuçlar verdiği, yöntemin planimetrik metodlar kadar etkin ve güvenilir olduğu ortaya konulmuştur (Gong ve ark. 1999; Gong ve ark. 2004). Normal ve skolyozlu vertebra gövdelerinin volumetrik analizlerinde hem iki noktadan lateral ve bir noktadan anteroposterior çekilmiş radyografik görüntülerden, hem de bilgisayarlı tomografi (BT) görüntülerinden Cavalieri prensibini kullanmışlardır ve bu yöntemin hem uygulamasının kolay, hem de tatmin edici şekilde kesin sonuç verdiği belirtilmiştir (Diab ve ark. 1998). Yapılan bir çalışmada şizofrenik hastalar ile kontrol grubu arasında cerebellum hacmi farkı Cavalieri metodu kullanılarak kıyaslanmış ve bu iki grup arasında önemli farklar bulunmadığını bildirilmiştir (Andersen ve Packenberg 2003). Bunların dışında Edwards ve ark. (1999) multiple sklerozlu hastalarda beyin sapı, beyincik ve omuriliğin üst servikal hacmini; Garden ve Roberts (1996) fetüs, fetal beyin, fetal karaciğer ve fetal akciğer hacmini; Howard ve ark. (2003) prefrontal kortikal alt

alanların hacmini, Jelsing ve ark. (2005) domuzlarda farklı beyin kompartmanlarının hacmini; Mazonakis ve ark. (2000), 16 hastanın dalak hacmini; Sahin ve ark. (2003) kadavralardan elde ettikleri beş karaciğerin hacmini MR görüntüleri üzerinden Cavalieri metodu kullanılarak hesaplamışlardır. Cavalieri prensibi ile hacim hesaplaması; özel geliştirilmiş ve pahalı bilgisayar destekli sistemlere, bu konuda eğitilmiş teknik personele ihtiyaç duymaması bakımından ilave mali yük getirmez, ancak dikkat edilmesi gereken bir husus ise incelenen yapının ya da organın diğer yapılardan kesin sınırlarla ayırt edilmesinin sağlanmasıdır (Basoglu ve ark. 2007; Kalkan ve ark. 2007).

Klinikte ise hastalıkların teşhisi, hastalıkların etkilerinin belirlenmesi, tedavi planlaması, tedavinin ya da cerrahi uygulamaların takibi gibi konularda yapıların hacminin bilinmesine dolayısıyla da stereolojiye sıklıkla ihtiyaç duyulmaktadır (Chia ve Baddeley 2000; Sahin ve ark. 2003). Klinikte fiziksel muayene sonucunda yeterli bilgi elde edilemediği durumlarda BT, MR ya da röntgen gibi görüntüleme yöntemlerine başvurulur, ancak hekimin elde edilen görüntüleri yorumlaması nicel olarak yeterli olmayacaktır. Bu gibi in vivo olarak nicel veri elde etmek amacıyla MR ya da BT'den elde edilen kesit görüntülerde Cavalieri prensibinin kullanılması kesinlik ve tarafsızlık yönünden güvenilir sonuçlar elde etmemizi sağlar (Gundersen 1986; Roberts ve ark. 2000).

Beslenme ya da uygulanan bir diyetin olumlu ya da olumsuz etkilerini saptamak için de stereolojik yöntemler güvenilir birer araç olarak karşımıza çıkar. Örneğin testis üzerine yapılmış bir çalışmada Bielli ve ark. (2001) sadece yerli meralarda beslenen kontrol grubu koçlar ile gelişmiş meralarda ve tahl saplementleri ile beslenen deney grubu koçların testiküler ağırlıkları ve testis stereolojilerini karşılaştırmışlar, sonuçta fetal ve postnatal dönemdeki beslenme yönetiminin koçların testiküler stereolojisine ve sertoli hücre sayısına etkisini araştırarak, beslenme ve verimsel parametrelere dikkat çekmişlerdir (Bielli ve ark. 2001).

Canlı vücudundaki anatomik oluşumlarda yaşa bağlı ya da egzersizler sonucu görülen gelişim ya da değişimleri hacimsel ya da hüresel bazda gözlemlemek amacıyla da stereolojinin kullanılabileceğinin bir örneğini Melo ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada göstermişlerdir. Çalışmada Aquoti paca'da ggl. cervicale superior nöronlarında postnatal gelişime bağlı olarak gerçekleşen hücre sayısı değişiklikleri ve hacim özellikleri incelenmiş, yaş ilerledikçe otonom sinir sisteminde fonksiyonel hemostaz için nöron sayısından ayrı olarak, her zaman hücre sayısı kaybı ile ilişkili olmayan farklı adaptasyon mekanizmalarının olabileceğinden bahsedilmiştir. Cavalcanti ve ark. (2009)'nın yaptıkları bir çalışmada ise tasarım temelli stereoloji metodu kullanılarak ggl. cervicale inferior hacimleri, toplam ggl. cervicale inferior nöron sayısı, ggl. cervicale inferior nöronlarının ortalama perikaryal hacmi ve tüm ggl. cervicale inferior'daki nöronların toplam hacimleri incelenmiştir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise Ömer (2006) stereolojik metod kullanarak 40 adet kıvrıkcık koyunun cranial volümlerini hesaplamış ve bu yöntemle elde edilen güvenilir verilerin kafatası ve morfolojik verilerle korrelasyon analizini yaparak, aralarındaki ilişkinin boyutunu değerlendirmiş, bu sayede ülkemiz hayvancılığında büyük öneme sahip olan kıvrıkcık ırkı koyunların gelişim anomalilerinin değerlendirilmesi yanında neurodejeneratif hastalıklarının da yorumlanabileceğini bildirmişlerdir. Cavalieri yöntemi ile sıçanlarda gelişimin farklı dönemlerinde beyin hacmi ile ilgili parametreler elde edilmiş, gebeliğin erken aşamalarında şekillenmeye başlayan beynin, doğumdan

sonra tekrar organize edildiği, özellikle sinir doku stromasının gebeliğin geç dönemlerinde geliştiği gösterilmiştir (Keleş 2007). Başka bir araştırmada optik parçalama yöntemi kullanılarak, cerebral iskemisi ve reperfüzyonundan sonra haşhaş yağının hipocampus üzerinde koruyucu etkisi çalışılmıştır (Çevik-Demirkan ve ark. 2012).

Yapılan operasyonların etkinliğini ya da yan etkilerini de stereoloji sayesinde gözlemleyebileceğimizi Fioretto ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada göstermiştir. Bu çalışmada; intraocular basıncın düzenlenmesi, pineal hormon melatonin salgılanması, periodontal hastalıklarla ilişkisi ve rat dilinde tümör gelişimini baskıladığı ve bazı nöropatilerle ilişkisi olduğu düşünülen ggl. cervicale superior'un operasyonla alınmasının etkileri incelenmiş ve controlateral ganglionlara derin etkileri olduğu bildirerek, ileriki çalışmaların bu operasyonun fonksiyonel ve klinik sonuçlarına odaklanmasının faydalı olacağını bildirmiştir. Yine ülkemizde yapılan benzer bir araştırmada ise deneysel vazektominin erişkin sıçan testisinde oluşturduğu morfolojik değişiklikleri Cavalieri ve optik disektör yöntemleri ile incelenmiş, interstisyum ve bazal membrandaki artışın, testisteki hücrelerin etkileşimini bozabileceği ortaya konmuştur (Cumbul 2008).

Hastalığın neden olduğu lezyonların hacminin stereolojik olarak hesaplanması ve bu sayede yeni çıkan aşuların etkinliğinin saptanabileceğini ise Sharpe ve ark. (2009) yaptığı bir çalışmada göstermiştir. Bu çalışmada tuberculosis'li maymunlarda MR görüntülerinden toplam akciğer ve lezyon hacimleri incelenerek karşılaştırılmıştır. MR stereolojinin kesin, ölçülebilir ve laboratuvarlar arasında kolaylıkla standart hale getirilebilecek nispeten basit değerlendirme sağladığı ve hastalık ilerlemesine ya da aşı etkinliğinin klinik değerlendirilmesinde kullanılması gerektiği bildirilmiştir. Yine bazı hastalıklar ve kullanılan ilaçlar zaman zaman organların hacimlerinde atrofi veya hipertrofi gibi değişiklikler yapabilmektedir ve bunların tespiti hastalık teşhislerinde önemli yer tutmaktadır. Bu amaçla İnce (2006) yaptığı çalışmada, 30 kıvrıkcık ırkı koyun ve 30 kıl keçisi üzerinde Cavalieri metodunu kullanarak ventrikül hacimlerini hesaplamıştır. Guidi ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada diabetes mellitus'la ilişkili olarak celiac ganglion nöronlarındaki morfoquantitatif değişiklikleri stereolojik olarak incelemişler ve diabetik köpeklerde diabetik olmayanlara nazaran hem nöron hem de çekirdek hacminde belirgin büyüklük saptadıklarını, bu hipertrofinin diabetes mellitus esnasındaki nöron kaybını telafi etmeye yönelik gelişen bir mekanizma olabileceğini bildirmişlerdir.

Sonuç olarak stereolojik yöntemler veteriner hekimlik alanında çok geniş bir uygulama alanına sahiptir. Günümüzde teknolojik gelişmelere paralel olarak stereolojide de daha ayrıntılı ve tutarlı veriler elde edilmekte ve daha hızlı analizler yapılabilmektedir.

KAYNAKLAR

- Akbas H, Sahin B, Eroglu L, Odaci E, Bilgic S, Kaplan S, Uzun A, Ergur H, Bek Y (2004). Estimation of breast Prothesis Volume by the Cavalieri principle using magnetic resonance images. *Aesthetic Plast Surg*, 28, 275-280.
- Albertine, K.H., Dahl, M.J., Gonzales, L.W., Wang, Z.M., Metcalfe, D., Hyde, D.M., Plopper, C.G., Starcher, B.C., Carlton, D.P., Bland, R.D. (2010). Chronic lung disease in preterm lambs: effect of daily vitamin A treatment on alveolarization. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 299 (1), 59-72.
- Andersen BO, Pakkenberg B (2003). Stereological quantitation in cerebella from people with schizophrenia. *Br J Psychiatry*, 182, 354-361.

- Basoglu A, Buyukkarabacak Y, Sahin B, Kaplan S (2007). Volumetric evaluation of the lung expansion following resection: a stereological study. *Eur J Cardiothorac Surg*, 31, 512-517.
- Bektaş Ş (2006). Cep telefonlarının fetal ve postnatal dönemde fare beyincik granüler hücre sayısı üzerine etkisi Stereolojik bir çalışma. Yüksek Lisans Tezi, Van.
- Bielli A, Katz H, Pedrana G, Gastel MT, Moraña A, Castrillejo A, Lundeheim N, Forsberg M, Rodriguez-Martinez H (2001). Nutritional management during fetal and postnatal life, and the influence on testicular stereology and Sertoli cell numbers in Corriedale ram lambs. *Small Rumin Res*, 40 (1), 63-71.
- Black KJ (1999). On the efficiency of stereologic volumetry as commonly implemented for three-dimensional digital images. *Psychiatry Res*, 90 (1), 55-64.
- Bolat D (2011). Lenghorn Irkı Kanatlılarda Medulla Spinalis Stereolojik Metodlarla İncelenmesi. Doktora Tezi, Konya.
- Boyce RW, Dorph-Petersen KA, Lyck L, Gundersen HJG (2010). Design-based Stereology: Introduction to Basic Concepts and Practical Approaches for Estimation of Cell Number. *Toxicol Pathol*, 38, 1011-1025.
- Canan S, Sahin B, Odacı E, Ünal B, Aslan H, Bilgiç S, Kaplan S (2002). Toplam hacim, hacim yoğunluğu ve hacim oranlarının hesaplanmasında kullanılan bir stereolojik yöntem: Cavalieri prensibi. *T Klin Tıp Bilimleri*, 22 (S), 7-14.
- Cavalcanti RA, da Pureza DY, de Melo MP, de Souza RR, Bergamaschi CT, do Amaral SL, Tang H, Loesch A, Ribeiro AA (2009). Low-intensity treadmill exercise-related changes in the rat stellate ganglion neurons. *J Neurosci Res*, 87(6), 1334-1342.
- Chia J, Baddeley A (2000). Accuracy of estimates of volume fraction. *Image Anal Stereol*, 19, 199-204.
- Coggeshall RE (1992). A consideration of neural counting methods. *Trends Neurosci*, 15, 9-13.
- Cruz-Orive LM (1993). Systematic sampling in stereology. Bulletin of the international statistical institute, 451-468.
- Cruz-Orive LM (1999). Precision of Cavalieri sections and slices with local errors. *J Microsc*, 193 (3), 182-198.
- Cruz-Orive LM, Weibel ER (1990). Recent stereological methods for cell biology: a brief survey. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2, 48-56.
- Cumbul A. (2008). Deneysel vazektominin farklı süreler sonrasında erişkin sıçan testisinde oluşturduğu morfolojik değişikliklerin stereolojik yöntemlerle incelenmesi. Doktora Tezi, Eskişehir.
- Çevik-Demirkan A, Öztaşan N, Oğuzhan EO, Çil N, Coşkun S. (2012). Poppy seed oil protection of the hippocampus after cerebral ischemia and re-perfusion in rats. *Biotech Histochem*. 87, 499-505.
- Diab KM, Ollmar S, Sevastik, JA, Willers U, Svensson A (1998). Volumetric determination of normal and scoliotic vertebral bodies. *Eur Spine J*, 7 (4), 282-288.
- Duman A (2010). Meme tümörlerinde tümör hacminin stereolojik hesaplanmasının prognostik parametreler ile karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, Erzurum.
- Edwards SGM, Gong QY, Liu C, Zvartau ME, Jaspan T, Roberts N, Blumhardt LD (1999). Infratentorial atrophy on magnetic resonance imaging and disability in multiplesclerosis. *Brain*, 122, 291-301.
- Fioretto ET, Rahal SC, Borges AS, Mayhew TM, Nyengaard JR, Marcondes JS, Balieiro JC, Teixeira CR, Melo MP, Ladd FVL, Ladd AABL, Lima AR, Silva AAP, Coppi AA (2011). Hypertrophy and neuron loss: structural changes in sheep SCG induced by unilateral sympathectomy. *Int J Dev Neurosci*, 29 (4), 475-481.
- Garden AS, Roberts N (1996). Fetal and fetal organ volume estimations with magnetic resonance imaging. *Am J Obstet Gynecol*, 175, 442-448.
- Gong QY, Tan LT, Romaniuk CS, Jones B, Brunt JNH, Roberts N (1999). Determination of tumor regression rates during radiotherapy for cervical carcinoma by serial MRI: comparison of two measurement techniques and examination of intraobserver and interobserver variability. *Br J Radiol*, 72, 62-72.
- Gong QY, Eldridge PR, Brodbelt AR, Garcia-Finana M, Zaman A, Jones B, Roberts Ni. (2004). Quantification of tumor response to radiotherapy. *Br J Radiol*, 77, 405-413.
- Guidi WL, Balieiro JC, De Souza RR, Loesch A, Ribeiro AA (2007). Diabetes mellitus-related morphoquantitative changes in the celiac ganglion neurons of the dog. *Vet J*, 177(1): 54-62.
- Gundersen HJG (1977). Notes on the estimation of the numerical density of arbitrary particles: the edge effect. *J Microsc*, 111, 219-223.
- Gundersen HJG (1986). Stereology of arbitrary particles. *J Microsc*, 143 (1), 3-45.
- Gundersen HJG, Jensen EBV (1987). The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microsc*, 147, 229-363.

- Gundersen HJG, Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, Sorensen FB, Vesterby A, West MJ (1988a).** Some new simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS*, 96: 379-394.
- Gundersen HJG, Bagger P, Bendtsen TF, Evans SM, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, Sorensen FB, Vesterby A, West MJ (1988b).** The new stereological tools: disector, fractionator and point-sampled intercepts and their use in pathological research. *APMIS*, 96, 857-881.
- Gundersen HJG, Jensen EBV, Kieu K, Nielsen J (1999).** The efficiency of systematic sampling in stereology – reconsidered. *J Microsc*, 193, 199-211.
- Howard MA, Roberts N, Garcia-Finana M, Cowell PE (2003).** Volume estimation of prefrontal cortical subfields using MRI and stereology. *Brain Res Protoc*, 10, 125-138.
- Howard CV, Reed MG (1998).** Unbiased stereology. Three-dimensional measurement in microscopy. Oxford: Bios, 39-54.
- Iglesia FA, McGuire EJ, Feuer G (1975).** Coumarin and 4-methylcoumarin induced changes in the hepatic endoplasmic reticulum studied by quantitative stereology. *Toxicology*, 4, 305-314.
- İnce N (2006).** Koyun (kıvrıkcık) ve keçilerde (kıl keçisi) ventriculus cordis'lerin stereolojik metot'la incelenmesi. Doktora Tezi, İstanbul.
- Jelsing J, Rostrup E, Markenroth K, Paulson OB, Gundersen HJG, Hemmingsen R, Pakkenberg B (2005).** Assessment of in vivo MR imaging compared to physical sections in vitro: A quantitative study of brain volumes using stereology. *Neuroimage*, 26 (1), 57-65.
- Kalkan E, Cander B, Gul M, Karabagli H, Girisgin S, Sahin B (2007).** Prediction of prognosis in patients with epidural hematoma by a new stereological method. *Tohoku J Exp Med*, 211 (3), 235-242.
- Kalkan Y (2009).** Sıçan yenidoğan ve erişkinlerde hipokampus gelişiminde nöron sayısının cinsiyete ve dönemlere bağlı olarak hesaplanması (Bir stereolojik ve histolojik çalışma). Doktora Tezi, Erzurum.
- Kaplan S (2006).** Klinik ve Deneysel Çalışmalarda Stereolojik Yöntemler Kursu. Stereoloji Derneği. www.stereoloji.org. 27-29 Haziran, Afyonkarahisar.
- Keleş ON (2007).** Sıçan fetüs, yenidoğan ve erişkinler cerebrum gelişiminin volumetrik açıdan incelenmesi (bir stereolojik ve embriyolojik çalışma). Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
- Mayhew TM (1992).** A Review of recent advances in stereology for quantifying neural structure. *J Neurocytol*, 21, 313-328.
- Mayhew TM, Gundersen HJG (1996).** If you assume, you can make an ass out of u and me: A decade of the disector for stereological counting of particles in 3D space. *J Anat*, 188, 1-15.
- Mazonakis M, Damilakis J, Maris T, Prassopoulos P, Gourtsoyannis N (2000).** Estimation of spleen volume using MR imaging and random marking technique. *Eur Radiol*, 10, 1899-1903.
- Melo SR, Nyengaard JR, da Roza Oliveira F, Ladd FV, Abrahão LM, Machado MR, Sasahara TH, de Melo MP, Ribeiro AA (2009).** The developing left superior cervical ganglion of Pacas (Agouti paca). *Anat Rec*, 292 (7), 966-975.
- Mendis-Handagama SM, Watkins PA, Gelber SJ, Scallen TJ (1998).** The effect of chronic luteinizing hormone treatment on adult rat Leydig cells. *Tissue Cell*, 30 (1): 64-73.
- Mouton PR (2002).** Principles and practices of unbiased stereology. John Hopkins University Press, 5-6.
- Odacı E, Yıldırım Ş, Bahadır A, Canan S, Şahin B, Baş O, Bilgiç S, Kaplan S (2004).** Yeni stereolojik yöntemlerin olası hata kaynakları ve çözüm yolları. *T Klin Tıp Bilimleri*, 24, 78-87.
- Ömer H (2006).** Kıvrıkcık koyunlarında stereolojik metotla cranial völüm hesaplanması ve bunun kafatası parametreleriyle aralarındaki korelasyonu. Doktora Tezi, İstanbul.
- Roberts N, Puddephat MJ, McNulty V (2000).** The benefit of stereology for quantitative radiology. *Br J Radiol*, 73 (871), 679-697.
- Sahin B, Emirzeoglu M, Uzun A, Incesu L, Bek Y, Bilgiç S, Kaplan S (2003).** Unbiased estimation of liver volume by the Cavalieri principle using magnetic resonance images. *Eur J Radiol*, 47, 164-170.
- Sharpe SA, Eschelbach E, Basaraba RJ, Gleeson F, Hall GA, McIntyre A, Williams A, Kraft SL, Clark S, Gooch K, Hatch G, Orme IM, Marsh PD, Dennis MJ (2009).** Determination of lesion volume by MRI and stereology in a macaque model of tuberculosis. *Tuberculosis*, 89 (6), 405-416.
- Sterio DC (1984).** The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the disector. *J Microsc*, 134 (2), 127-136.
- Ünal B, Aslan H, Canan S, Şahin B, Kaplan S (2002a).** Biyolojik ortamlardaki objelerin sayımı yapılırken kullanılan eski (tarafı) sayım metodlarının önemli hata kaynakları ve çözüm önerileri. *T Klin Tıp Bilimleri*, 22, 1-6.
- Ünal B, Canan S, Aslan H, Şahin B, Çataloluk O, Kaplan S (2002b).** Doku örneklerindeki objelerin sayılarının hesaplanmasında tarafsız stereolojik metodlar: Fiziksel Disektör. *T Klin Tıp Bilimleri*, 22, 15-24.
- West MJ (1999).** Stereological methods for estimating the total number of neurons and synapses: Issues of precision and bias. *Trends Neurosci*, 22, 51-61.