

## TUZLU SU VERİLEN VE İNTRAPERİTONEAL TUZLU SU ENJEKSİYONU YAPILAN KOBAYLARDA HİPOTALAM-NÖROHİPOFİZER SİSTEMDE GELİŞEN DEĞİŞİKLİKLER

X- Dr. Ahmet Çimen

XX- Dr. Şermin Kalaycı

### Ö Z E T

*Sadece tuzlu su verilen kobaylara, ayrıca intraperitoneal % 3'lük tuzlu su enjeksiyonu yapılarak, hayvanlarda gelişen morfolojik ve makroskopik değişikliklerle, supraoptik, paraventrikülen çekirdekler ve nörohipofizde ortaya çıkan histolojik özellikler incelenerek, literatürel bilgi ışığında tartışıldı.*

### G İ R İ Ş

Hipotalamo-nörohipofizer sistem ile ilgili yapılan araştırmalarda çok eskiden beri, birçok değişik yöntemler uygulanarak birbirinden oldukça farklı noktalar üzerinde durulmuştur. Çalışmaların büyük bir kısmı biolojik ve

fizyolojik denemelere dayanmakta ve nörosekresyonun oluş mekanizmasıyla ilgili iki ayrı görüş bulunmaktadır. Bu hususlar göz önüne alınarak taktim edilen çalışma yapılmıştır.

### MATERYAL VE METOD

Çalışmada 23 kobay kullanıldı ve bunlardan 7 tanesi kontrol, 16 tanesinde deney hayvanı olarak ayrıldı. Deneme süresince muhtemel bir gebeliği önlemek için her gruptaki

erkek ve dişi kobaylar ayrı ayrı kafeslere yerleştirildi. Bütün kobaylar tek tek tartılarak, deneme öncesi ağırlıkları kaydedildi ve kulakları delinerek numaralandı.

X- Atatürk Üniversitesi Tıp fakültesi Histoloji-emb, kürsüsü Uzmanı asistanı

XX- Aynı kürsü Profesörü ve yöneticisi

Deney ve kontrol grubu aynı ortam şartlarında tutuldu. Kontrol grubundakiler Türkiye Yem Sanayiinin pelet şeklinde hazırlanan vitaminli fare yemi ve yeşil gıda ( ıspanak, lahan, pancar yaprağı ) ile beslendi, ayrıca içebilecekleri kadar su verildi.

Deney grubundakilere ise aynı besinler verildiği halde , içmeleri için % 3 lük tuzlu su solusyonu kaplarına bırakıldı. Hergün aynı tuz solusyonundan intraperitoneal olarak 4 ml. enjekte edildi.

Belirli aralıklarla kobaylar tartılarak, canlı ağırlıktaki değişiklikler kaydedildi. 4 kobay 1 gün sonra, 8 kobay 7 gün sonra, 3 kobayda 11 gün sonra kafaları kesilerek, kafatası açıldı, beyin hipofizle birlikte çıkarıldı.

Bouin solusyonunuda tesbitten sonra parafin bloklama yapıldı, seri kesitler alındı, Chromium-alum-hema-

toxylin ve Periodic Acid Schiff boyaları reaksiyonları uygulandı.

Mikroskopik incelemede, nöron sitem toplazmasında yukarıdaki boyalarla pozitif boyanan nörosekret maddesindeki kayıp ve dejeneratif değişikliklerin değerlendirilmesi yaklaşık olarak yapılmıştır. Şöyleki: genel olarak çekirdekler (supnaoptik ve paraventrriküler) 20'lik büyütmedeki bir mikroskop sahasına sığmakta idi. Bir saha içindeki nöronlar sayıldıktan sonra bunlardan nörosekret maddesinin tamamını kaybeden veya sadece hücre periferinde madde bulunduranlarla çekirdek ve hücre sitoplasmasında şişme, çekirdeğin tamamen kaybolması şeklinde dejenerasyon belirtisi gösteren nöronlar tekrar sayıldı ve bunların nöronlar tuzlu su verilmesinden etkilenen hücreler olarak % değeri hesaplandı. Sonuçtaki yüzde olarak ifade edilen rakamlar, tüm deneme grubundaki değerlerin ortalaması alınarak elde edildi.

## B U L G U L A R

### *Kontrol grubu:*

*a- Morfolojik ve fizyolojik bulgular:* Bütün hayvanların, deney süresince normal davranışlarını koruduğu, iştahlı oldukları görüldü.  
*b- Makroskopik bulgular:* Hepsinde belirli bir canlı ağırlık artışı olduğu, ortalama günde 6 gram ağırlık kilo kazandıkları saptandı. Beyin ve hipofizde normal dışı bir bulguya rastlanmadı. Hipofiz kelebek biçimi görünümündeydi ve ağırlığı 20-33 mgr. arasında değişmekteydi.

### *c- Mikroskopik bulgular:*

*Paraventrriküler nükleus:* İki kısımdan oluşmaktaydı; bunlar üçüncü ventrikulus boyunca dizildikten sonra, ventrikulusun rostralinde N. Supraoptikusa doğru diffüz bir şekilde yayılma gösteren büyük multipolar nöronlarla, üçüncü ventrikülün orta ve her iki yan tarafında yer alan hücre topluluklarının yapıldığı kompakt kısımdan ibaretti.  
*Supraoptik nükleus:* Bu çekirdek optik traktus etrafında rostral, dorso-medial ve kavdal yerleşmiş 3 grup

nörondan oluşmaktaydı. Nöronlar daha çok yuvarlağa yakın biçimde, iri hacimdeydi.

Kullanılan özel boya metodlarıyla, her iki çekirdekte nöron sitoplazmalarında, çoğunlukla kolloid tip-te homojen görünümde boyanan nörosekret maddesinin bulunduğu gözlemlendi. *Nörohipofiz*: Özellikle P.A.S boyası ile hazırlanan preparatlarda erguvan renkteki nörosekret maddesinin önemli bir miktarda bulunduğu dikkati çekti. Nörosekret maddenin fazla olması ve homojen dağılım göstermemesi nedeniyle, yer yer pituisitlerin örtülü olduğu görüldü.

#### **DENEY GRUBU:**

*a- Morfolojik ve fizyolojik bulgular:* Denemenin ikinci gününden itibaren tuzlu su enjeksiyonundan sonra 10-15 dakika içinde hayvanlar kafesin bir köşesine çekilerek devamlı titrediği, yem ve suya karşı ilgi duymadıkları görüldü. 4. günden sonra bazı kobaylarda ileri derecede halsizlik kaydedildi. Hayvanlarda devamlı kilo kaybı vardı.

*b- Makroskopik Bulgular:* Deneme grubu hayvanların hepsinde kilo kaybı olmakla birlikte, bu kayıp birinci günde en yüksek seviyede idi. İlk günde kilo azalması ortalama 48 gram iken, birinci haftanın sonunda günlük ağırlık kaybı 17 gram olarak tesbit edildi.

#### *c- Mikroskopik Bulgular:*

*Paraventriküler Nukleus:* Sadece bir gün tuzlu su verilen hayvanlarda, bu çekirdekte tipik bir dejenerasyona rastlanmadı. Nöronların % 80-90 ında nörosekret materyel muntazam şekilde bulunmasına karşın % 10-20 hücrede kayıp olduğu tesbit edildi.

7-11 gün denemenin uygulandığı kobaylarda alınan sonuçlar birbirine benzemekte idi. İlk bakışta nöronlar hipertrofiye olduğu, çekirdeklerin eksentrik lokalizasyon aldığı, sitoplazmanın soluk boyandığı, nörosekret materyelde % 70-75 kayıp olduğu dikkati (çekiyordu. Resim: 1).

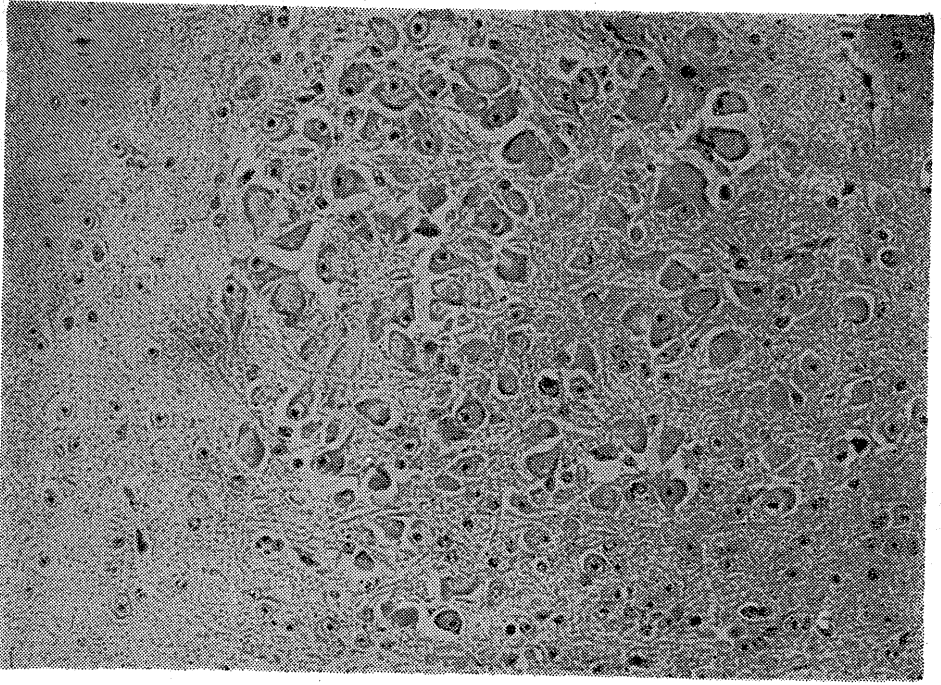
Ayrıca hipertrofik nöronlarda yer yer çekirdek ve hücre zarının bütünlüğünün bozulduğu, bazı nöronların çekirdek ve sitoplazmaları içindeki granüler görünümün tamamen kaybolarak çok solgun boyandıkları kaydedildi.

Az olmakla birlikte vakuoler dejenerasyon gösteren nöronlara da rastlandı.

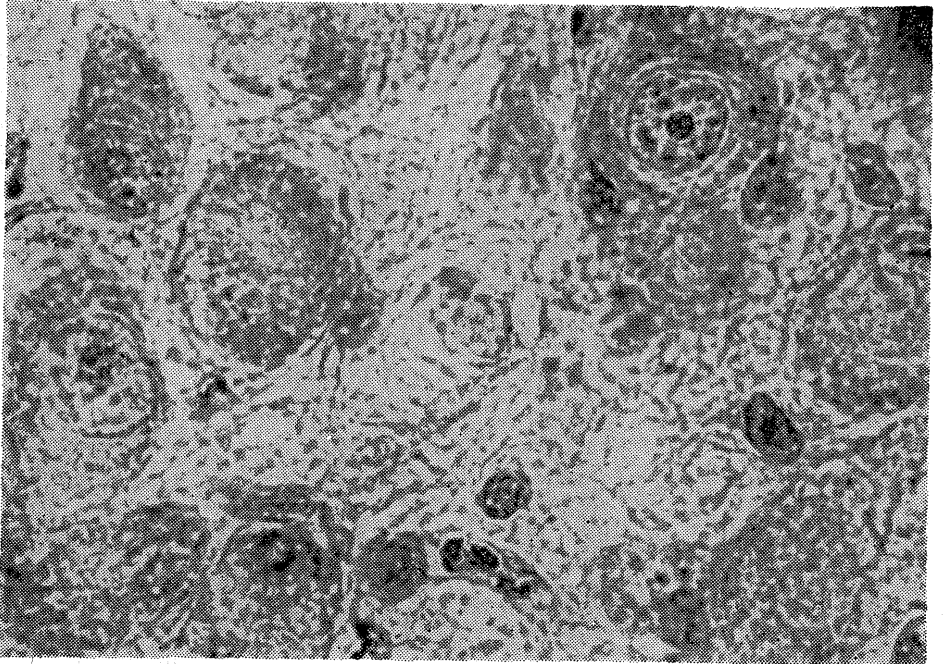
Nukleusun tamamı dikkate alınca paraventriküler çekirdekte harabiyete uğrayan hücre sayısının, supraoptik çekirdeğe kıyasla daha az olduğu önemle kaydedildi.

*Supraoptik Nukleus:* Nöronlarda görülen dejeneratif değişiklikler diğer çekirdektekine benzemekteydi. 7-11 gün tuzlu su verilenlerde paraventriküler çekirdekten farklı olarak gözlenen en belirli bulgu; bu çekirdekte ki hemen bütün hücrelerin sitoplazmalarında nörosekret materyelin oldukça fazla miktarda kayba uğramış olmasıydı. Bu kayıp % 80-85 civarındaydı.

Salgı boşalması daha çok sitoplazmanın çekirdeğe yakın bölgesinde görüldü. Hücrenin periferine doğru salgı kaybı azalmaktaydı. Böylece, hücrelerin birçoğunda, nöroplazmanın periferinde yarım ay biçiminde nörosekret maddesinin bulunduğu dikkati çekiyordu (Resim 2).



(Resim-1 7 gün tuzlu su Overilen kobayın pareventriküler nukleus kesiti. Boya Chromium alumin Hematoxylin-phloxin, nörosekret materyelin ileri derecede boşalmış görünümü (X 20).



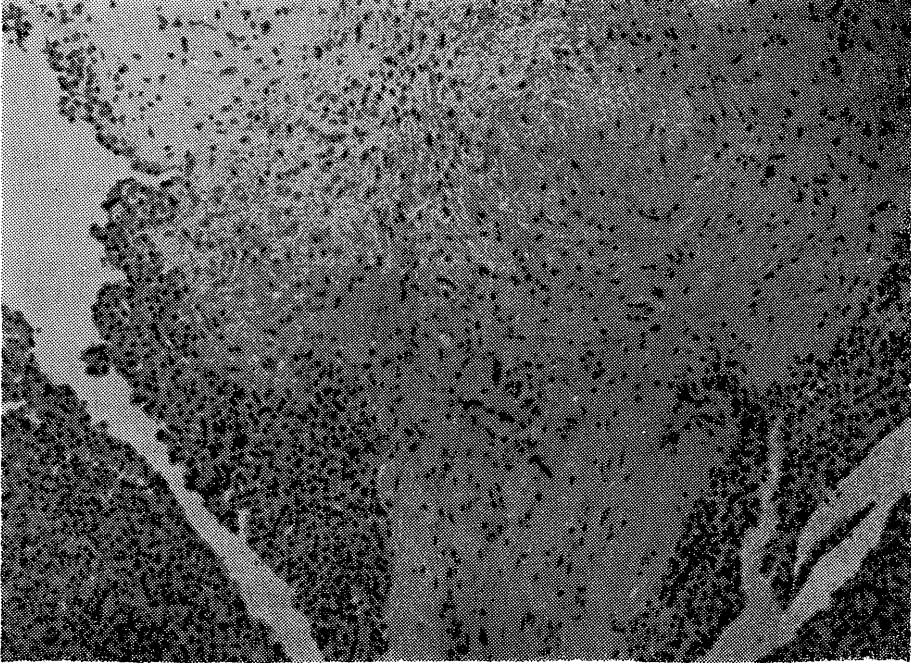
Resim -2 Supraoptik nukleusta ileri derecede nörosekret kaybı (100 X).

### Nörohipofiz:

Başlıca bulgular : Ödem, hiperemi pituisit çekirdeklerinde şişme, az sayıda mitotik figürler ve deneme süresine bağlı olarak değişik miktarlarda seçilen erguvan renkteki nörosekret materyel idi.

Bir günlük deneme yapılan hayvanlarda; nörosekret kaybı diğer çekir-

dektekilere yakın oranda idi (% 15-20 7-11 gün tecrübe yapılan kobaylardaki nörosekret kaybı % 5-70 idi. Kontrol grubunda görülen ve daha çok kolloid tipte olan nörosekretin hücre ve interstisyel dokuyu kaplıyacak şekildeki görünümüne, bu grup hayvanlarda çok az sahada rastladı (Resim 3).



Resim : 3- P.A.S boyası ile boyanmış nörohipofizde nörosekret büyük oranda kaybolmuş görünümünde (10 X).

### T A R T I Ş M A

Bu çalışmada, tuzlu su verilen ve tuzlu su enjeksiyonu yapılan kobaylarda, canlı ağırlık kaybı olduğu ve hipotalamik çekirdeklerle, nörohipofizde nörosekret materyelde kayıp bulunduğu kontrol grubu ile kıyaslama sonucu tesbit edildi.

Tarayabildiğimiz literatürde palmye sincabı, yabancı sıçan, yarasa,

kedi ve köpeklerde hipotalamik çekirdeklerin morfolojik incelenmelerinin yapıldığını gördük. Kobayların hipotalamo - hipofizer sistem yapısının genel olarak palmye sincabınkine gösterdiği dikkatimizi çekti. Sadece bazı farklılıklarında bulunduğunu kaydettik. Şöyleki; sincaplarda bulunan (1) paraventriküler çekirdekten supraop-

tik çekirdeğe doğru yayılan, böylece iki çekirdek arasında bir köprü görevi yapan diffüz hücre topluluğuna, kobaylarda raslamadık. Yine sincaplarda supraoptik çekirdeği yapan hücre gruplarından dorsomedial olanının az sayıda ve küçük nöronlardan oluştuğu bildirilmektedir (1), biz kobaylarda her 3 grupta yer alan hücrelerin büyük nöron tipinde olduklarını gördük. Ayrıca araştırmacı supraoptik çekirdekte 3 hücre grubunu aynı kesitte görebildiğini kaydetmesine rağmen, biz bu 3 hücre grubunu (Dorsomedial, kavdal ve rostral) aynı kesit içinde göremedik.

Çalışmamızda tuzlu su verilmesini izliyen ilk gün fazla, sonraları daha az oranda artan bir kilo kaybının olduğunu tesbit ettik. Howe ve arkadaşları (2) susuz bıraktıkları sıçanlarda giderek artan bir kilo kaybı olduğunu, yabancı hayvanlarda ise hızlı bir ağırlık kaybının görüldüğü nü, ilk 6 gün içinde evcil sıçanlarda % 35, yabancılerde % 17 kilo kaybı bulunduğunu kaydetmektedirler. Mono ve çalışma arkadaşları (3) murinea türü sıçanlarda susuzluğa daha az dayanıklı oluşlarına bağlı olarak, ilk 14 gün içinde % 45 kilo kaybı geliştiğini ve hiçbir hayvanın 17. günden sonra susuzluğa dayanamadığını gözlemişlerdir. Ağırlık kaybı ile ilgili bulgumuz diğer araştırmacıların kine benzetmekle birlikte, hayvan türüne bağlı olarak kayıp oranında değişmeler olduğuda ortadadır.

Deneme süresini 11 gün olarak seçmemizin nedeni, benzeri deneme sürelerinde kısa oluşu (3,4) idi. Esasen bu süre sonunda bile hayvanlar çok

zayıflayarak giderek ölüme yaklaşılmaktaydılar.

Bir gün ve 7-11 gün tuzlu su verilen hayvanlardaki nörosekret kayıp oranı karşılaştırılmasından sonra, nörosekret kaybı ile deneme süresi arasında paralelizm bulunduğunu söyleyebiliriz. Ortmann (5), Kovaks (4), vijyan (1)'in değişik yıllarda yapmış oldukları çalışmalardan, elde ettikleri sonuçlar, bizim bu yöndeki bulgumuz ile aynı doğrultudadır. Mona (3). (1), Daniel ve arkadaşları (6) nın tuzlu su enjeksiyonundan sonra hipotalamik çekirdeklere, nöron sitoplazma periferinde rasladıklarını bildirdikleri yarımaya veya konik biçimli yapılarla, incelediğimiz preparatların büyük bir kısmında tipik olarak rasladık.

Bir hafta veya daha fazla tuzlu su verdiğimiz kobaylarda, hipotalamik çekirdeklerin her ikisinde de, fakat özellikle supraoptik çekirdekte daha fazla (% 75-80) nörosekret kaybı olduğunu kaydetmiştik.

Bir araştırmacı grubu (1) benzeri uygulama ile palmye sincaplarında yaptıkları incelemede, baphsedilen çekirdeklere % 90'a yakın sekret kaybının bulunduğunu bildirmişlerdir.

Mona ve arkadaşları (3) ise aynı tip çalışmayı fare ve sıçanlar üzerinde kıyaslamalı olarak yürütmüşlerdir. Sıçanlarda ilk birkaç gün içinde hipotalamik çekirdeklere normale kıyasla arttığını, ileri safhalarda % 72 oranında bir kayba rastladığını, fakat 14 'üncü günden sonra kaybolan bu maddenin yeniden eski düzeyine ulaştığını yazmaktadırlar. Bu bulguların bir kısmı bizim ve bazı araş-

tırcıların bulgularıyla ters düşmektedir.

Değişik tür hayvanlarda, bizim kobaylarda saptadığımız, gibi, nörosekret kaybı görülmektedir.

Bulgularımız arasında kaydettiğimiz bir noktada, nörosekret salgılayan çekirdek nöronlarının arasında ve yakınında yer alan kan damarlarında ileri derecede dilatasyonun varlığıydı. Nöronlardaki dejeneratif değişiklikler ve kan damarlarındaki dilatasyon, verilen tuzlu suya bağlı osmotik basınç değişikliği sonucu, nöronlarda antidiüretik aktivitenin artmış olabileceği kanısını uyandırdı. Bu bulgumuz farklı araştırmacıların (1,3,4,7,8,9,) laboratuvar ve yabani hayvanlar üzerindeki çalışmalarında varılan sonucu destekler niteliktedir.

Dikkat çeken bulgularımızdan birisinde ; supraoptik çekirdek nöronlarının paraventriküler çekirdek nöronlarına kıyasla, daha fazla dejenerasyona uğramasıdır. Bu sonucumuz, bazı araştırmacılar tarafından ortaya atılan, hipotalamo-nörohipofizer antidiüretik aktivitenin birinci planda supra optik çekirdekle ilgili olduğu görüşünü (3,10) desteklemektedir.

Nörohipofizdeki sekret kaybı bulgumuz (% 65-70) bazı araştırmacıların (1,7) vardıkları sonuçlara uymaktadır.

Mona (3) susuzluğa bıraktığı değişik sıçan türlerinde, nörohipofizde, hipotalamik çekirdeklerdeki gibi, nörosekret miktarının ilk günlerde normalden fazla bulunduğunu bildirmiştir. Yine bu bulgusu bizim bulgumuz ters düşmektedir.

Nörohipofizde kaydettiğimiz pituitisitlerde şişme, yer yer mitotik figür-

lerin bulunuşu, yaygın ödem ve damarlarda hiperemi bazı benzeri araştırmalarda (11) da bildirilmektedir.

Birçok araştırmacı, çalışmalarının ağırlığını hipotalamik çekirdeklerden salgılandığı görüşü kuvvet kazanmış, olan oksitosin ve vazopressinin kimyasal yapısını aydınlatma üzerinde toplamıştır. Değişik tür hayvanlarda çalışan Adams (12) nörosekret materyelin lipitten zengin protein tabiatında bir madde olduğu sonucuna varmıştır. Bazı araştırmacılar ise (4, 12) Gomori pozitif reaksiyon veren nörosekretin yapısında karbonhidrad bulunan lipoprotein olduğunu bildirmişler, P.A.S boya metoduyla bu görüşlerini doğrulamışlardır. Değişik histokimyasal çalışmalarda, nörosekret maddesinin oksitosin ve vazopressin hormon kompleksi ile boyanabilen bir taşıyıcıdan meydana geldiğini, neticede bunun bir glicolipoprotein olduğu sonucuna varılmıştır.

Laktasyon periyodundaki köpekler uyutularak, hipotalamik çekirdeklerdeki nörosekretuar aktivite araştırılmış (13), narkoz altındaki köpeklerin elektriksel uyarılması sonucu bu çekirdeklerdeki nöronların, oksitosin ve vazopressin salgıladıkları kaydedilmiştir. Bu iki çekirdekten hangisinin hangi hormonu salgıladığının belirlenemediğide bildirilmiştir.

Hereditör hipotalamik diabet insipiduslu sıçanlarda, mutlak vazopressin sentezinin yetersiz oluşunun keşfedilişi, hipotalamo-nörohipofizer sistemin incelenmesinde ilginç bir eksperimental model olarak kullanılmasına yol açmıştır. Nitekim Dyball (14) normal ve diabet insipiduslu sıçanlarda tuzlu su enjeksiyonu yaparak uyguladıkları çalışma-

da, elektron mikroskopik görünümün artmış protein sentezini gösterdiğini (artmış granüler tip endoplazmik retikulum , aktif golgi) yazmaktadır.

Hipotalamo-nörohipofizer sistemin nörosekretuar aktivitesinin incelenmesinde yaş, cinsiyet ve gebelik gibi durumların etkileri üzerinde bazı araştırmacıların durdukları görülmüştür. Beyaz fareler üzerinde yapılan ça-

lışmada , hiçbir fötusun gerek hipotalamus ve gerekse nörohipofizinde boyanabilen bir materyele raslanmadığı bildirilmiştir (15).

Erkek ve dişi genç farelerde sekresyon materyelinin az olduğu, yaşlı farelerdeyse bunun daha fazla olduğu, gebelerde yine oldukça fazla nörosekresyonun bulunduğu gösterilmiştir.

## SUMARY

### THE EFFECT of HYPERTONIC SOLUTION in THE HYPOTHALAMIC NEUROHYPO-PHYSEAL NEUROSECRETORY SYSTEM in GUINEA PIGS

The present study reports on changes in the hypothalamic-neurohypophyseal system in guinea-pig treated with hypertonic saline. Concomitant with loss in body weight there was progressive disappearance of neuro-

secretory material from supraoptic nucleus , paraventricular nucleus and neurohypophyse.

The results are discussed in relation of literature knowledge.

## K A Y N A K L A R

1- Vijyan, E., Sathyanesan, A.G.: In situ Observation on the Structure of the Neurosecretory System in the Indian Palm. *Neuroendocrinol*, 7: 337-47, 1971

2- Howe, A., Pearse, A.G.E.: A Histochemical Investigation of Neurosecretory Substance in the Rat. *J. Physiol.* 133: 41-42, 1956

3- Mona, C.B., Mordechai, A.: Effects of Dry Diet in the Hypothalamic Neurohypophyseal Neurosecretory System in Spiny Mice as Compared to the Albino Rat and Mouse. *Gene. Comp. Endoer.* 12: 231-241, 1969

4- Kovacks, K., Bacrach, D., Varro, V., Olah, F. : Hypothalamus and Water Metabolism. *Acta Morph. Hung.* 2: 72-73, 1952

5- Ortmann, R. : Untersuchungen über das Morphologische Verhalten des Hypothalamo, Neurohypophysaren Systems nach Eingriffen in den Wasser und Salzhauzshalt. *Klin. Wschr.* 28: 449, 1950

6- Daniel, P.M., Marjorie, M.L. and pericard, M.L: The Human Hypothalamus and Pituitary Stalk after Hypophysectomie on Pituitary Stalk Section. *Brain* 95: 813-824, 1972



- 7- Bargmann, W.: Die Elective Darstellung einer Marklosen Diencephalen Bahn. *Mikroskopie* 5: 289-292, 1950
- 8- Ellman, G.L., Gan, G.L.: Respons of the Gells of the Supraoptic Nucleus. *Experimental Brain Res.* 14: 1-8, 1971
- 9- Fiore, M.S.H., Mancini, R.E.: *New Atlas of Histology*, Philedelph. 1973
- 10- Kovaks, K., Bachrach, D., Varro, V., Olah, F. : *Morphologia es Biologiai Waltozasok. A Nucleus Supraopticus ban es Paraventriculariben Hypertoniás.* *Kiserl. Divastud.* 5: 143, 1953
- 11- Imai, K.: Soma Observation on the Hypothalamo-hypopyseal Neurosecretory System in the Albino Rat. *J. Med. Sci.* 3: 281-289, 1954
- 12- Raisman, G.: An Ultrastructural Study of the Effects of Hypothalamy on the Supraoptic Nucleus of the Rat. *Comp. Neurol.* 181-207, 1973
- 13- Biesset, G.W., Clark, B.J., Errington, M.L.: The Hypdthalamic neurosecretory Pathway for the Reales of Oxytocin and Vasopressin in Cat. *J. Physiol.* 217: 111-131, 1971
- 14- Dyball, R.E., Morris, J.F.: The Ultrastructure of the Hypothalamo-Neurohypophyseal System of the Rat in Relation to its Secretory and Electrical Activity. *J. Anat.* 11: 325, 1972
- 15- Kalimo, H. and Rinne, U.K.: Ultrastructral Studies on the Hypothalamic Neuron of the Rat. *Z. Zollforsch. Mikrosk. Anat.* 13: 205-225, 1972