

DENEYSEL OLARAK UZUN SÜRE ALKOL ALAN KOBAYLARIN SEREBELLUMLARINDA OLUŞAN DEĞİŞİKLİKLER.

Dr. İrfan ERDEMLİ x

ÖZET

Işık mikroskobu seviyesinde, alkolün kobay serebellumunda; özellikle Purkinje hücrelerine etkisini incelemek amacı ile 25 adet kobay deneye alındı. 4 aylık deneme sonuna, 11 adet alkol almış kobay ile gelindi.

Fizyolojik olarak kobaylarda kilo kaybı ve üçüncü aydan itibaren arka ayaklarda gecici felç durumu gözlemlendi.

Kontrol ve deneme gurubu hayvanlar açıldı, uygun boya yöntemleri ile preparasyonlar hazırlandı.

Bulgularımız ; kontrollar ile yapılan kıyaslamada alkol alan kobaylarda korteks tabakalarında bir inceltme, granülosada nöron ve nöroglia azalması, Purkinje hücrelerinde sitoplazmik büzülme, çekirdeğin picnotik görünümü ve hücre sayısında bir azalma, hücre uzantılarında kısalma, Nissl granüllerinde önemli bir noksanlık saptandı.

SUMMARY

EXPERIMENTALLY THE CHANGES IN THE CEREBELLUM OF THE GUINE-PIGS WHICH GIVEN ALCHOOOL A LONG TIME

FİNDİNS: When the comperison was made with the control group following differences were observed in the exprimental group; rejiner cortex layers and a cytoplasmic shrinking in the purkinje cells and a reduction in the number of the cells and also a reduction of neurons and neuroglia in the granüler layer, shrunked apperarence of the nucleus, shortining in the cell collaterals and an important lacking in Nissl granules.

(x) Uz. Dr. İrfan Erdemli: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı Öğretim Görevlisi.

GİRİŞ

19. yüzyılın başlarında, birçok klinisyen alkolik şahıslarda, ekstremitelerde dismetri, hareket kontrolunda bozukluk, derin tendon reflekslerinde hipoaktivite ile karakterize serebellar fonksiyon bozukluğunun varlığına dikkati çekmişlerdir. Alkol kullanmanın serebellar disfonksiyona yolaçtığı klinik çalışmalarla açıkça gösterildiği halde, alkolün merkezi sinir sisteminde yaptığı değişikliğin, patolojik yolla araştırılmasına ilişkin çok az sayıda çalışma bulunmaktadır.

Patolojik çalışmaların ilki 1905 te Thomas tarafından yapılarak Purkinje hücrelerinin lameller atrofisinin varlığından bahsedilmiştir. Son yıllarda hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalar insandaki serebellar fonksiyonla ilgili patolojik hadiselerle ışık tutmuştur. Bu araştırmacılar arasında, Ferraro ve Hernandez'i ni sayabiliriz.

Purkinje hücrelerinin nerelerde dejenerasyon gösterdiğini saptamak, klinik ve biyolojik önem taşır. Alkolün sinir sistemine etkisi kesindir. Fakat merkezi sinir sistemine hangi biyokimyasal mekanizma ile etki yaptığı hala aydınlatılmamıştır. Alkolizmde nörokimyasal sapmaların, biyokimyasal olarak biyojenik aminler ve alkol arasındaki karşılıklı ilişkidenden ortaya çıktığı bildirilmektedir.³

Beyinde kolinesteraz ve adozin trifosfatazların invitro etanol ile orta derecede baskılandığı ortaya konulmuştur.

Etanolün hücrelere etkileri arasında, beyin oksijen kullanımını azaltarak genel bir depresyon durumu yaratması,² sinir hücrelerinde aktif transport, transmitter fonksiyona ve enerji metabolizmasına etkisi söz konusudur. ⁴

Alkolün sinir sistemine etkisi birçok araştırmacıya konu olmuştur. Literatürde bilgilere göre görüldüğü gibi konu, halen aktüalitesini kaybetmemiştir.

Sunulan çalışma bu konuda az sayıda olan histolojik deneysel çalışmalara bir yenisini ilave etmenin yararlı olacağı düşüncesiyle yapılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM:

Çalışmamızda; yaşları 1,5-2 arasında değişen 4'ü kontrol 21 deneme, olmak üzere toplam 25 adet erkek ve dişi kobay kullanıldı. Kobaylar denemenin ilk günü tartıldı ve protokollerine işlendi. Her gün aç karnına kobayın vücut ağırlığı dikkate alınarak % 45 lik etil alkol oral olarak direkt mideye, süratle verilip hayvanlarda sarhoşluk meydana getirildi. Verilen doz bir insan için ani sarhoşluk dozu 8 oz (30x8-240cc). üzerinden hesaplandı.

Hayvanlar deney süresince yeterli diyet (pancar ve yem sanayinin vitaminli yemleri) ile beslendi. Her ayın sonunda, verilen alkol-dozu ilk dozun iki katı olarak arttırıldı. Uygulama hatası ve akut alkol intoksikasyonundan kobayların bir kısmı öldü. Denemenin sonuna 11 adet alkol alan kobay ile gelindi.

Dördüncü ayın sonunda kontrol grubu ve denemeye tabi tutulan kobaylar eter anestezi ile bayıldılar. Uygun otopsi yöntemi uygulanarak açıldılar. Kobayların serebellumları tuzlu formalinde tesbite alındı. Gerekli takip yapıldı. Vermisin ve hemisferlerin kesit yüzleri üste gelecek şekilde parafin bloğa alındı. 6 mikron kalınlığında kesitler yapıldı.

Çalışmada histokimyasal yöntemler titizlik- uygulanarak 5 ayrı boyama yapıldı.

- 1- Hematoxylen-Esositin
- 2- Gümüşleme (Roger metodu)
- 3- Methy'green byronin (Trevan and Sharrock'a göre)
- 4- Cresyl acht viole boyası (Aker'e göre)
- 5- Galloçyanin boyası (Aker'e göre)

BULGULAR

ALKOL ALAN KOBAY GURUBU

a) Morfolojik ve Fizyolojik Değişiklikler: Dört ay süre ile alkol verilmesi sırasında kobayların tümünde belirgin bir kilo kaybı ortaya çıktı.

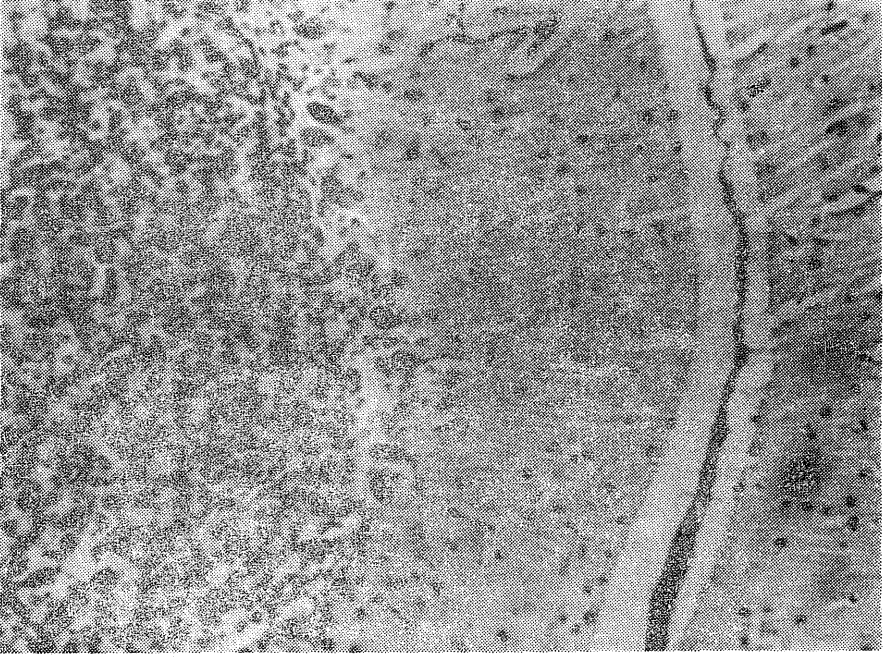
Alkol alan kobaylar alkol verildikten sonra kısa bir süre sessizlik devresi geçiriyorlardı. Alkol verilmesinden bir saat sonra, verilen yeme karşı aşırı bir istek duyuyorlardı. Denemenin üçüncü ayından itibaren alkol aldıktan sonra arka ekstremitelerde geçici felç durumu görülüyordu.

b) Mikroskopik Bulgular: Makroskopik olarak seçilen atrofi mikroskopik olarak bütün kobaylarda görüldü. atrofının dişi ve erkek kobaylarda farklılık göstermediği gözlemlendi. Pyramis, nodulus ve uvula kısımlarında korteks kalınlığında, incelmeye konu değildi. Değerlendirmede kontrol gurubu ile kıyaslama yönteminden yararlanıldı. Resim: I.

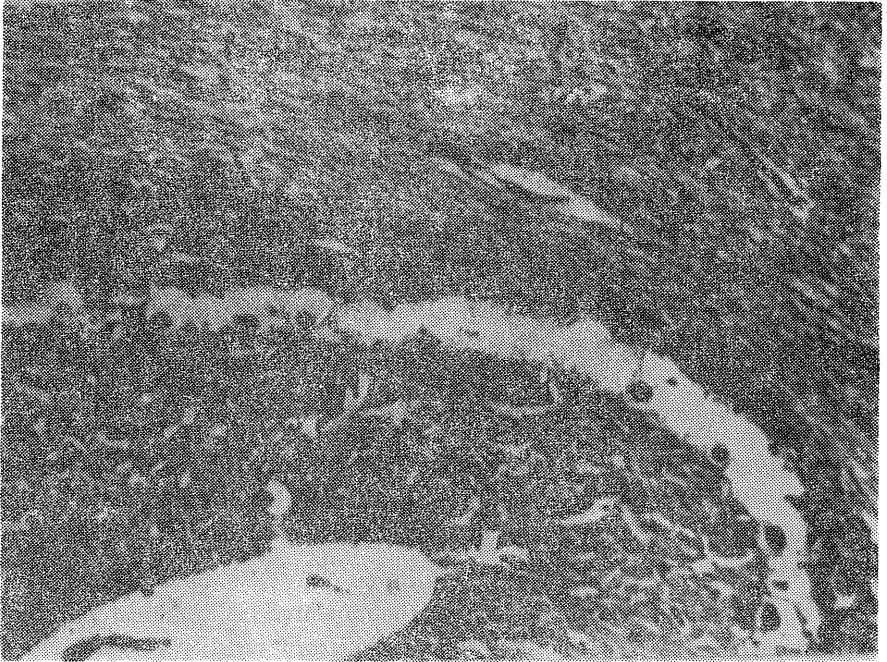
Hematoxylen-Eosin preparatları: Değişiklik Purkinje hücre tabakasında bulunmakta idi. Kontrol grubu ile kıyaslamada Purkinje hücre sayısının, kulmen ve vermiste fazla miktarda azaldığı deklive tüber ve pyramis kısımlarında ise sayıca önemli bir değişim olmadığı gözlemlendi.

Bazı preparatlarda, yer yer purkinje hücrelerinde tamamen kaybolma dikkati çekiyordu (bu yok oluş tabakalar arasında soluk dar bir bölgeyi oluşturmaktaydı). Bazı Purkinje hücreleri ise çok küçüktü. Moleküler tabaka kalınlığında azalma seçiliyordu. Bazı kısımlarda glia hücrelerinin artımına bağlı (glosis) süngerimsi bir görünüş arz ediyordu.

Granüler Tabaka: Hücre yoğunluğundaki azalmaya bağlı, olarak kalınlık incelmeye gözlemlendi. Resim:2



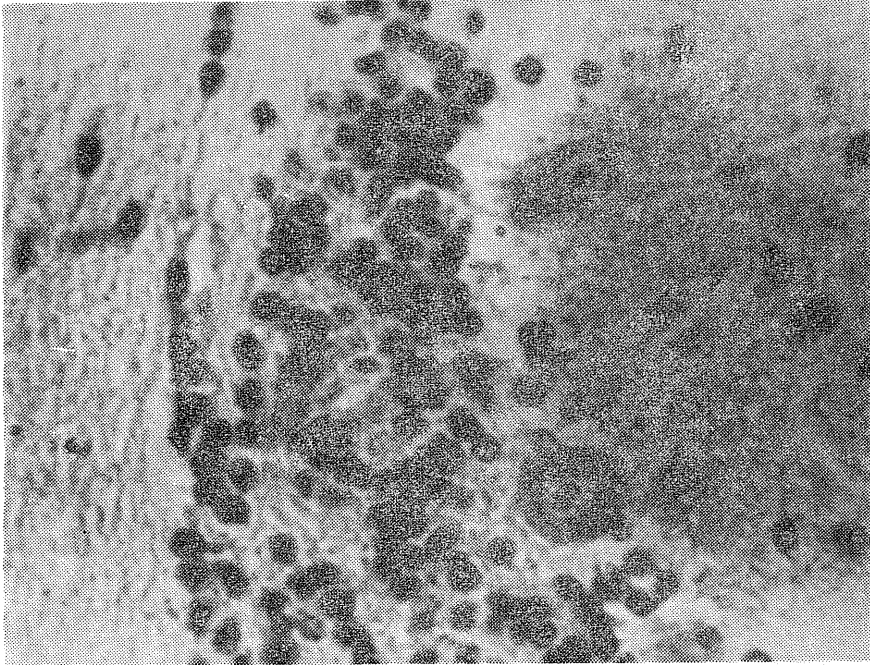
Resim: 1- Kontrol grubundan alınmış H.E ile boyanmış Serebellar korteks ve Purkinje hücrelerinin sıklığı.



Resim: 2- Alkol alan koblardan alınmış HE. ile boyanmış serebellar tabakaların incelendiği ve Purkinje hücrelerinin kaybolması gözlenmektedir.

Substantia Alba: Oldukça sağlamdı. Bazı preparatlarda ancak ufak sahalar halinde glial çekirdek artışı vardı.

Gümüşleme Preparasyonları: Atrofik bölgelerdeki Purkinje hücreleri dallı budaklı uzantılarını ya tamamen kaybetmiş ya da uzantıları sayıca azalmış biçimde idi. Resim:3



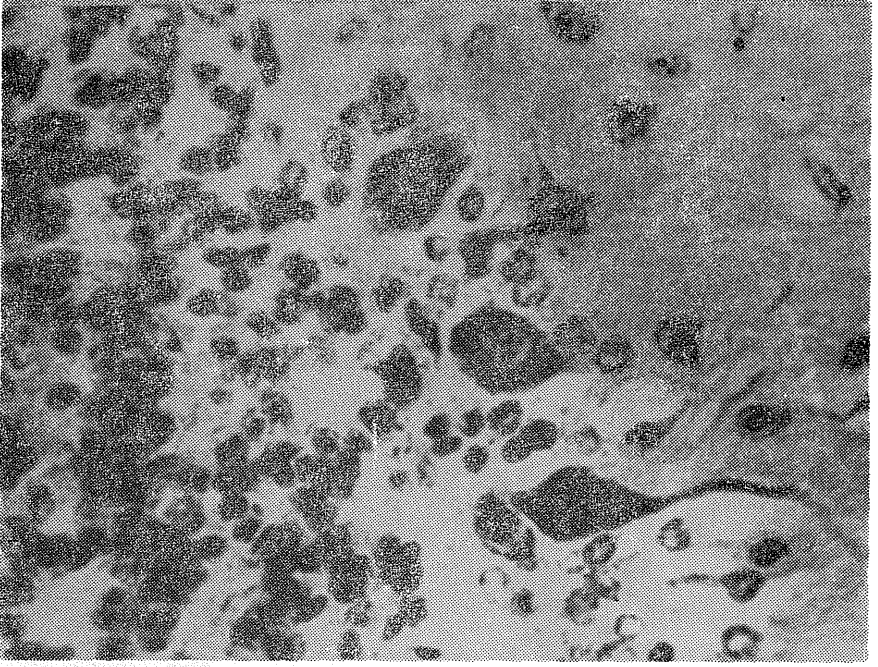
Resim: 3- Purkinje hücreleri belirsiz uzantılarını kaybetmiş ve sığ. granülosa hücrelerinde bir seyreklik ve süngerimsi durum dikkatini çekiyor. Gümüşleme boyası.

Moleküller ve Granüler Tabaka: Glia artımı, fibrillerde artış ve glia fibrillerin yama şeklinde Purkinje hücrelerinin kayb olduğu yöreleri kapladığı glial elementlerde büzülmenin olduğu saptandı.

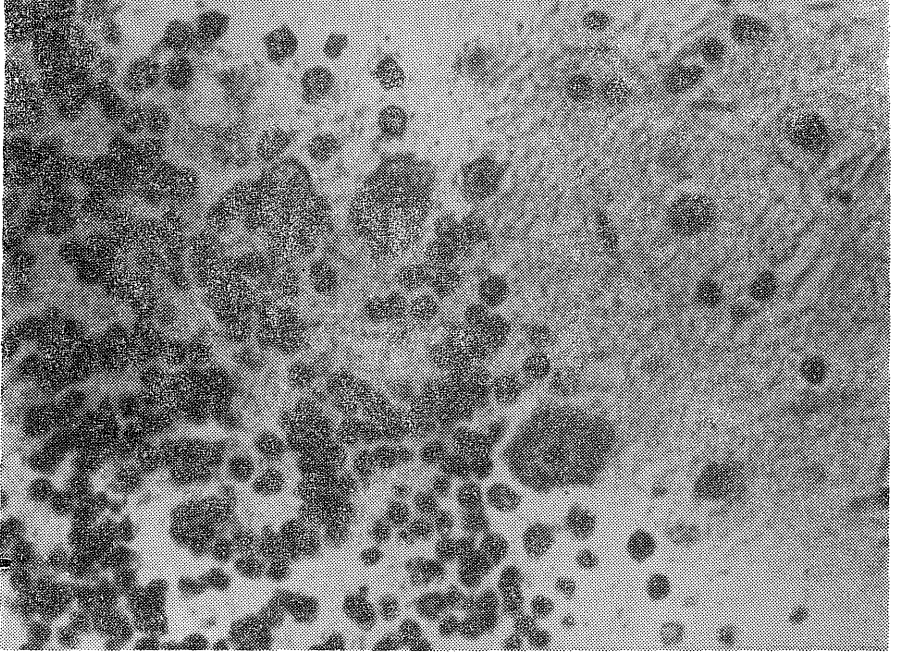
Substantia Alba:Hasara uğrayan yörelerdeki gri cevher içinde yerleşen substantia alba myelinini, zayıf boyanmakta, soluk renkte görülmekte idi. Resim 4:.

Serebellar Hemisferler: Önden arkaya doğru gidildikçe granüler tabakadaki inceleme daha az belirli ve Purkinje hücre kaybı-düzensiz şekil almaktaydı.

Nissl Preparasyonları: Purkinje hücrelerinin çoğu Nissl granüllerini kaybetmişti, bazılarında ise azalma vardı. Bu preparatların kıyaslanmasında tabakadaki hücresel yoğunluğun azalması daha iyi görülmekteydi. Resim: 5



Resim: 4- Gümüşleme ile boyanmış preparatta Purkinje hücre uzantıları soluk ve myelinin belirsizliği izlenmekte.



Resim: 5- Gallocyanin metodu ile boyanmış bu preparatta Nissl granülleri az ve soluk olup Purkinje hücreleri dejeneratif gözlenmekte.

Methyl Green Preparasyonları: Önemli derecede olmamakla beraber RNA da azalma olduğu saptandı.

TARTIŞMA

Çalışmamızda; kobaylarda 4 ay süre ile alkolün verilmesinde ortaya çıkan serebellar değişiklikler; makroskobik ve mikroskobik olarak değerlendirilmiştir.

Bu sürede; kobaylarda % 15 den fazla bir kilo kaybı olmuştur. J.Jarlstedt sıçanlarda 8 aylık denemede kontrollara kıyasla % 20 ağırlık kaybı saptanmıştır. Serebellar atrofinin lokalizasyonu, birçok araştırmacının bulgusuna uymaktadır.

Bu araştırmacılar atrofinin yaygın olmadığını az veya çok vermiş ve komşu lateral loblarda bölgesel oluşumunu görmüşlerdir. Lezyonun şiddetinin önden arkaya doğru azaldığı da literatürde ki araştırmacıların bulguları ile paraleldir.

Mikroskobik atrofi: Purkinje hücrelerinde kayıp ve dejenerasyon belirtileri tabakalarda hücre kaybı, tabaka kalınlığında incelleme ve gliosis ile karakterize idi. Serebellar çekirdeklerde glia reaksiyonları ve nöron dejenerasyonu olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir. 1,9

Bizim çalışmalarımızda ise belirgin değişikliklere rastlanmamıştır.

Purkinje hücreleri, bazı toksik maddelere karşı hassastır. Ferraro ve Hernandezi 9 çalışmalarında alkol intoksikasyonunda, Purkinje hücrelerinin harabiyetini göstermişlerdir.

J. Jarlastedt 2 ay süreli etanol kullanmada Purkinje hücrelerin de RNA miktarında azalma olduğunu görmüş ve alkol intoksikasyonunda RNA azalmasının çeşitli varsayımlarını tartışmıştır. J.Jarlstedt'in alkolu uzun süre vermesi (8 ay) sonucu, protein sentezi kapasitesinde gerçek bir hasar olmamasını belirtmesi ilginçtir. Bizim çalışmamızda RNA miktarında önemli derecede olmakla beraber bir azalma olduğu görülmektedir.

Lhermitte 5-6 ve arkadaşları, etanol verilen tavşanlarda Purkinje hücrelerinde degeneratif değişikliklerin oluşturduğunu bulmuşlardır. Daha sonra diete thiamin katılması ile tekrarlanan deneme sonucu, dejenerasyon belirtilerinin daha az belirgin duruma geldiğini kaydetmişlerdir.

Kronik alkoliklerde, şahsın gıda alması çoğunlukla yetersizdir, genellikle şahıs, düşük protein diyeti alır, bu nedenle bazı araştırmacılar serebellar değişiklikleri etanola bağlamaktan ziyade diete bağlamaya yönelmişlerdir.10

Yapılan çalışmada, kobaylar yeterince beslenmiştir. fakat %20 ye yakın kilo kaybının ortaya çıkması, yinede beslenme bozukluğunun var olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda, etanolün, etki mekanizması ne olursa olsun uzun süre verilmede bulgularımıza göre; serebellumda, ön kısımda l6kalize dejeneratif değişikliklere sebep olduğu kanısıyla neticelendirildi.

KAYNAKLAR:

- 1- Allsop j., and Turner, B.: Cerebellar degeneration asociatel with chronic alcoholism. J. Neural. Sci., 3:238, 1966
- 2- Beer C.T. and Quastel J.H.: Canad. J. Biochem, Physiol. 36,543.1958
- 3- Hillarp. H.W.,Puxe K and Dahlstrom: Demonstration and mapping of central nevrns containing depamine, nonadrenaline and 5-HT and their reaction to psychopharmaco, Phoarmacol, Rev. 18,127, 1961.
- 4- İsrail, Y.: Quart. J. MK. Stud. Alc. 3., 293,1970.
- 5- Jarlstedt. J.: Experimental alcoholism in rats: Protein synthesis subcellular fraction from cerebellum cortex cerebri and liver after long-term treatment, J. Neurocehem.,
- 6- Jarlstedt j. et al: Experimental alcoholism in rats: RNA 2ontent an composition in isolatedracerebellar purkinje cell after longeterem treatmentd, J. Neuropathal Exp, Neural 31: 346-51 1972.
- 7- Kiessilng, K.H: The effect of acetaldehyde on mitochondrial respiration, Exp. Cell Res 30:569, 1963.
- 8- Kinard, F.W. and Hay, H.G.: Effect of ethanol administration aon brain and liver enzyme activites, Amer, J. Physiol, 198: 657, 1960.
- 9- Lhermitte, j.: Cortical cerebellar degeneration, Proc. Roy. Soc. Med, 28 379 1934.
- 10- Porta. E.A. Koch O.R. and Hertroft W.S. Lab. invest, 20, 562, 1969
- 11- Romano, J. Micheal. M. and Merritt, MH.: Alcoholic cerebellar degeneration, Arc. Neurol. Psychiat. (Chic) 44: 1230-36 1940.
- 12- Victor, M., Adams, R.D., and MMancall, E.L. Alconolic cerebellar degeneration, Trans, Amer, Neural. Ass. June 1858. P. 95-99.