

# Gebelikte Sıçan Böbreküstü Bezi Hücrelerindeki Geometrik Morfometrik Değişimler

## Geometric Morphometric Changes in Adrenal Cortex Cells of Rats During Pregnancy

Hakkı TAŞTAN,<sup>a</sup>  
Özgür EROĞLU,<sup>b</sup>  
Serdar YÜKSEL<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Biyoloji Bölümü,  
Gazi Üniversitesi  
Fen Edebiyat Fakültesi,

<sup>b</sup>Patoloji Bölümü,  
<sup>c</sup>Genetik Bölümü,  
Dr. Zekai Tahir Burak Kadın Doğum  
Eğitim ve Araştırma Hastanesi,  
Ankara

Geliş Tarihi/Received: 05.07.2010  
Kabul Tarihi/Accepted: 05.01.2011

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Serdar YÜKSEL  
Dr. Zekai Tahir Burak Kadın Doğum  
Eğitim ve Araştırma Hastanesi,  
Genetik Bölümü, Ankara,  
TÜRKİYE/TURKEY  
serdarykl@yahoo.com

**ÖZET Amaç:** Gebelikte böbreküstü bezinin değişime uğradığı araştırmacılar tarafından bildirilmektedir. Bu değişimlerin hipofiz-adrenal korteks hormonlarının gebelik dönemindeki seviyelerinin artışı ve karşılıklı etkileşimlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu çalışmada gebelikte böbreküstü bezindeki değişimler histolojik bakımdan değerlendirilerek böbreküstü bezlerinin tabaka kalınlıkları ve hücre yoğunlukları morfometrik başlık altında verilmektedir. Bu çalışmada diğer araştırmalardan farklı olarak hücre düzeyinde morfometrik yöntemler uygulanmıştır. Hücre ve nükleus çapı, hücre alanı ve hücre yoğunlukları belirlenerek gebe ve gebe olmayan kontrol grubu arasında hücre morfometrisi bakımından farklılık bulunup bulunmadığının tespit edilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca günümüzde gelişmekte olan bir alan olan nesne tanıma yöntemlerinden kenar çıkartma metodolojisi, zona retikularis hücrelerinin farklı nükleus formlarını ayırmada kullanılması olanakları araştırılmıştır. **Gereç ve Yöntemler:** Araştırmada gebe olan ve olmayan Wistar-albino cinsi sıçanlar kullanılmıştır. Gebe olmayan kontrol grubu ile 6, 12 ve 18 günlük gebe sıçanların adrenal korteks histoloji ve hücre morfometrisi sonuçları varyans, ayırma ve faktör analizi ile karşılaştırılmıştır. **Bulgular:** Hücre morfometrisi bakımından zona glomerulosa hücrelerinin nükleus çapları, hücre çapları ve alanlarının bütün gruplarda farklılık gösterdiği, zona fasikülata nükleus çaplarının büyük oranda farklı olmadığı, hücre çapları ve alanlarının birbirinden farklı olduğu, zona fasikülata hücrelerinin büyüklüklerinin gebelik sonuna kadar düzenli olarak arttığı, zona glomerulosa hücrelerinin gebelik günü ilerledikçe boyutlarının arttığı, fakat gebelik sonuna doğru küçüldükleri tespit edildi. Zona retikularis nükleus formlarını ayırmada landmark metodunun en etkin metot olduğu tespit edildi. **Sonuç:** Hücre morfometrisi verilerinin hücre yoğunluğu, gebelik günü, histolojik bulgular ve literatür araştırmaları ile birlikte değerlendirildiğinde birbirleri ile uyumlu olduğu düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Adrenal glandlar; histoloji; biyometri

**ABSTRACT Objective:** Gestational changes have been reported in adrenal cortex by researchers. These changes are thought to arise from elevations and interactions of pituitary-adrenal cortex hormones during pregnancy. In these studies, changes in adrenal cortex during pregnancy have been evaluated histologically and layer thicknesses and cell intensities of adrenal cortex have been given under morphometric heading. In this study, different from the other studies, morphometric methods were applied at cellular level. Detection of the difference between pregnant group and non-pregnant control group in terms of cell morphology was aimed by determining diameters of the cells and the nuclei and cell intensities. Additionally, possibility of using margin emission methodology which is among object recognition methods, a new field, in discrimination of distinct nucleus forms of zona reticularis cells was investigated. **Material and Method:** In this research, pregnant and nonpregnant Wistar albino rats were used. Results of histology and cell morphology of adrenal cortexes of the nonpregnant rats in control group and 6, 12 and 18 days of pregnant rats were compared using variance, discrimination and factor analysis. **Results:** It was found that diameters of nuclei and cells and areas of zona glomerulosa cells differed in all groups in terms of cell morphometrics; diameters of zona fasciculata nuclei did not differ significantly; diameters and areas of cells were different from each other; size of zona fasciculata cells increased regularly until the end of pregnancy; size of zona glomerulosa cells increased as pregnancy progressed, however decreased towards the end of pregnancy. It was detected that landmark method was the most effective method for discrimination of nucleus forms of zona reticularis. **Conclusion:** Data of cell morphometry is thought to be consistent with cell intensity, gestation time, histologic findings and literature analysis when evaluated altogether.

**Key Words:** Adrenal glands; histology; biometry

doi:10.5336/medsci.2010-20202

Copyright © 2011 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2011;31(5):1073-81

**A**drenal korteksin (böbreküstü bezi) yapısı gebelikte değişime uğramaktadır. Bunun nedeni gebelikte östron (E1) ve östradiol (E2) miktarının yaklaşık 100 kat artması olabilir. E2'nin hipofiz adrenal korteks aksını uyardığı bilinmektedir. Bu şekilde serumda ACTH miktarı artar ve adrenal korteks büyür.<sup>1-4</sup> Gebelik sırasında glukokortikoidlerin adrenokortikal salgılanması da oldukça artar. Glukokortikoidlerin, anne dokularında aminoasit mobilasyonu ile fötüs dokularının sentezinde kullanılmalarına yardımcı olmaları olasıdır.

Böbreküstü bezinin bir katmanı olan zona fasikülatanın derin kısmı hamilelikte ve doğurganlık yaşındaki kadınlarda genişler. Yaşlı erkeklerde kortikal atrofi daha çok bu bölgede izlenir. Gebe koblarda zona fasikülata ve zona retikularis hücrelerinde çok sayıda lipid vakuolüne rastlanır.<sup>2</sup> Lipid damlacıklarının kolesterol esterlerinden oluştuğu bilinmektedir. Kolesterol ise hormonların öncülüdür. Kolesterol esterleri ACTH salgılanmasıyla kolesterole dönüştürülmektedir. Böylece kısa süre içinde seruma steroid hormon verilebilmektedir.<sup>5-8</sup> Gebe hamsterlerde böbreküstü bezinin ağırlığı gebeliğin beşinci gününde en yüksek değere ulaşır. Gebeliğin sonlarına doğru ağırlık azalmaya başlar. Buna karşın gebeliğin beşinci günündeki hücre sayısı onuncu günden daha azdır (hipertrofi). Kan kortizol düzeyi gebelikte yaklaşık 10 katına çıkar. beşinci günde hücre sayısı ile ağırlık doğru orantılı olarak değişir.<sup>9,10</sup>

Bu çalışmada gebelikte ortaya çıkan hormonal değişimlere koşut olarak adrenal korteks hücrelerinde oluşabilecek morfometrik değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Morfometrik araştırmalar biyolojik yapıların karşılaştırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada hem kontrol ve gebe koblaların zona glomerulosa ve zona retikularis hücrelerinin çapları ve alanları karşılaştırılmış, hem de zona retikulariste bulunan farklı hücrelerin bilgisayar ortamında otomatik olarak ayırımının Fourier ve geometrik morfometri yöntemleri ile gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

Wistar-albino cinsi sıçanların gebelikte böbreküstü bezi hücreleri morfometrisi ile ilgili bir ça-

lışma günümüze kadar yapılmamakla birlikte başka denek hayvanları üzerinde böbreküstü bezi morfometrisi ile ilgili çalışmalar mevcuttur.

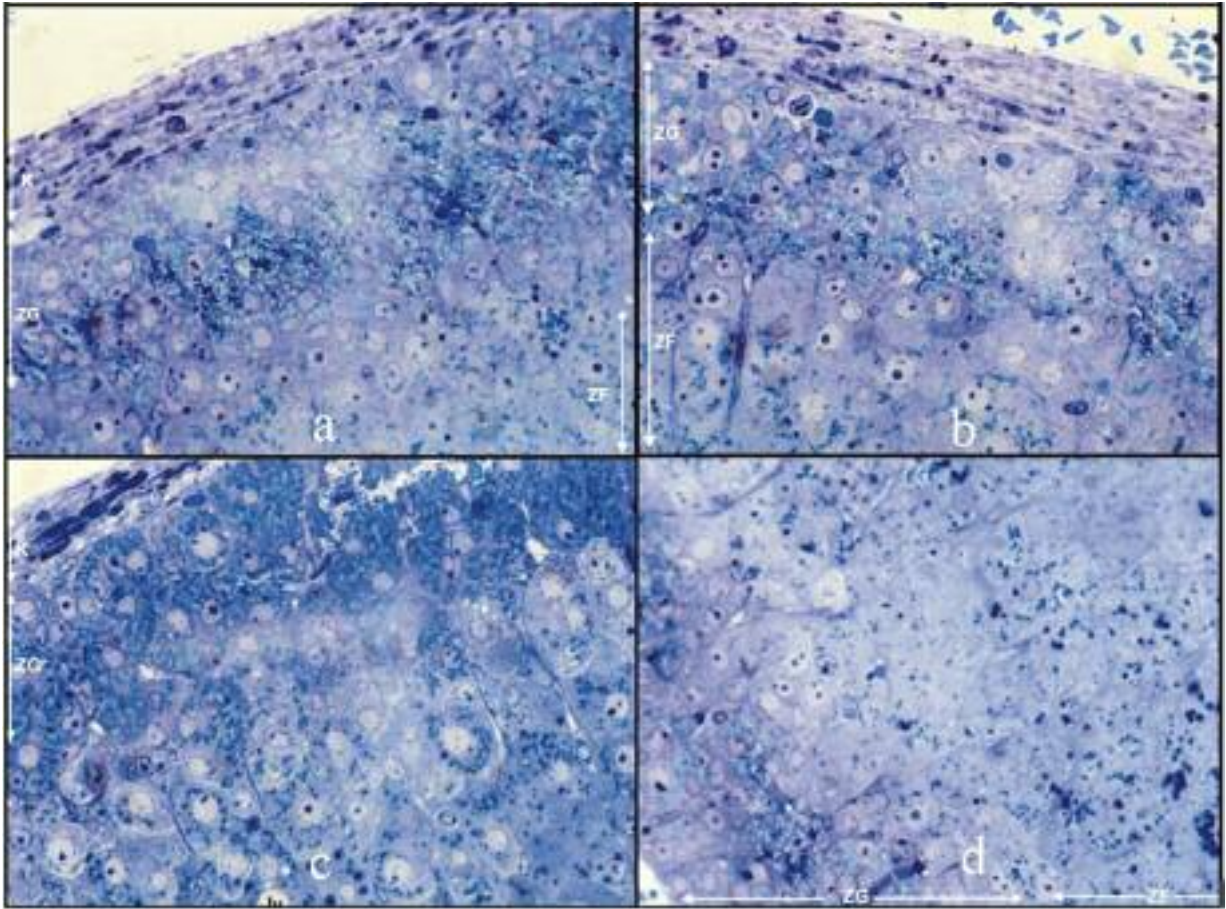
## GEREÇ VE YÖNTEMLER

### HİSTOLOJİ YÖNTEMİ

Bu çalışmada kullanılan, gebeliğin farklı dönemlerine ait böbreküstü bezi doku örnekleri Ankara İbni Sina Hastanesinden sağlanan sıçanlardan elde edildi. Dişi, Wistar-albino cinsi, 1 yaşında ve ağırlıkları ortalama 350 g olan sıçanlar seçildi. Tüm gruplardaki sıçanlara standart koşullarda (14 saat aydınlık/10 saat karanlık ve 22 ± 2 derece sıcaklıkta pellet yem ve musluk suyu verildi. Vaginal smear ile östrus evresinde olduğu belirlenen dişi sıçanlar dört dişi bir erkek olacak şekilde bir gece aynı kafeste tutuldular. Ertesi gün erkek sıçanlar kafesten alındı ve dişilerde vajinal plağın (çiftleşme tıpası) oluşum günü gebeliğin birinci günü olarak kabul edildi. Tüm gruptaki denekler dekapitasyonla öldürülerek böbreküstü bezi dokusu alındı. Parafine gömülen materyalden alınan yarı ince kesitler Toluidin mavisi ile boyanarak ışık mikroskopunda 200 kat büyütülerek renkli fotoğrafları çekildi (Şekil 1).<sup>11</sup> Çalışmada kontrol, 6, 12 ve 18 günlük olmak üzere dört grup kullanıldı. Her bir grup için üç hayvan, her hayvandan iki blok, yaklaşık 10 seri kesit ve 30'a yakın dijital görüntü alanı olmak üzere toplamda 12 hayvan, 24 blok, yaklaşık 120 seri kesit ve 400'e yakın dijital görüntü alanı alınarak analize uygun olan görüntü alanları kullanıldı.

### MORFOMETRİ YÖNTEMİ

Çalışmanın power analizi MINITAB 15.1 kullanılarak hesaplanmıştır. Sürekli ölçümlere ait normallik kontrolleri Kolmogorov-Smirnov testi ile test edilmiş ve normal dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Nükleus çapı, hücre çapı ve hücre alanı parametreleri için gruplar arasındaki farklılıklar One-Way ANOVA testi ile test edilmiştir ve ikili karşılaştırmaları için ise Tukey testi kullanılmıştır. Ayrıca test gruplarının ölçüm sonuçlarına göre gerçek gruplarına yerleşme oranlarını hesaplamak amacıyla Diskriminant analizi kullanılmıştır. İstatistik analizler SPSS 11.0 paket programında yapı-



**ŞEKİL 1:** a. Kontrol grubu, b. 6 günlük gebe grubu, c. 12 günlük gebe grubu, d. 18 günlük gebe grubu zona glomerulosa (ZG) ve zona fasikülata (ZF) tabakaları (Toluidin mavisi, x200)

mış ve istatistiksel anlamlılık seviyesi  $P < 0.05$  olarak alınmıştır.<sup>12,13</sup>

Ayrırma analizi için gerekli veri seti büyüklüğü her bir değişken için minimum 20 olmak üzere en az 100 veridir.<sup>14</sup> Bu çalışmada her bir değişken için en az 60-65 olmak üzere toplamda zona fasikülata ve zona retikularis ölçümleri için ayrı ayrı yaklaşık 250 veri kullanılmıştır.

Çalışmanın son kısmında otomatik nesne tanıma olanakları farklı nükleus formlarına uygulandı. Bunun için sırası ile şu işlemler gerçekleştirildi: Preparat fotoğraflarında gözlenen farklı biçimlerden biri olan nükleus yapılarının bilgisayar programları yardımıyla (Shape) seçilerek diğer yapıların elenmesi sağlandı (kenar çıkartma). Farklı kenar yapısına ve biçime sahip nükleus yapılarının istatistiksel olarak değerlendirilebilmesi için sayısallaştırılması gerekmektedir. Bu nedenle dalga ve

ses işlenmesi gibi geniş alanlarda faydalanılan Fourier analizi kullanıldı. Elde edilen sayısal veriler bir bakıma farklı nükleus formlarını tanımladı. Bu sayısal verilerin sınıflandırılabilmesi ve kümelendirilebilmesi demek bir bakıma farklı nükleus formlarının kenar yapı benzerliklerine göre gruplara ayrılması ve sınıflanması demektir. Bu amaç için en yaygın kullanılan yöntem olan faktör analizi istatistiksel yöntem olarak kullanıldı. Hesaplanan ilk iki faktör skoru değişkenler arasındaki maksimum farklılığı vermesi bakımından en iyi ayrımı da sağlayacağı için grafiksel gösterimde kullanıldı.

Faktör analizinde önce ham Fourier verileri kullanıldı, ikinci olarak ise nükleus biçiminin Fourier yardımıyla dönüştürüldüğü eliptik yapının belli noktalarındaki koordinatları kullanıldı (landmark yaklaşımı). Her iki veri tipinin birlikte kullanılması

amacı en etkin ayrımın hangi veriler üzerinden gerçekleştiğini belirlemek içindi. Eliptik Fourier dönüşümü ve faktör analizleri sadece bu amaç için tasarlanmış Shape yazılımıyla, koordinatları kullanan landmark yaklaşımı ise IMP serisi (PCAGen6 ve CoordGen6f) yazılımlarla gerçekleştirildi. Çalışmada kullanılan Minitab 15 ve SPSS 11.0 paket programı dışındaki IMP-TPS serisi yazılımlar ve Shape yazılımı Freeware (ücretsiz)'dir.

## BULGULAR

Varyans analizi sonuçlarına göre zona fasikülata ve zona glomerulosa tabakalarında bütün parametrelere ait gruplar arasındaki farklılıklar anlamlıdır. P değerleri bütün gruplarda 0.05'ten düşük çıkmıştır ( $p=0.001$ ). P değerleri ve tanımlayıcı istatistikler Tablo 1'de verilmiştir.

Zona glomerulosa tabakası hücre-nükleus çapları ile hücre alanlarının kontrol ve test gruplarında ortalama ve standart sapma istatistiklerinin karşılaştırılmaları sonucunda altı günlük test grubunda nükleus çapı ( $4.07 \pm 0.302 \mu\text{m}$ ) ve hücre çapında ( $9.28 \pm 0.766 \mu\text{m}$ ) en yüksek ölçüm değerinin gözleendiği, en düşük ölçüm değerlerinin ise 18 günlük test grubunun nükleus çapı ( $3.44 \pm 0.276 \mu\text{m}$ ) ve hücre çapında ( $7.90 \pm 0.730 \mu\text{m}$ ) gözleendiği tespit edilmiştir. On iki ve 18 günlük test gruplarında ölçümlerde tespit edilen artışın 18 günlük test gru-

bunun, kontrol grubunun nükleus çapı ( $3.68 \pm 0.344 \mu\text{m}$ ) ve hücre çapının da ( $8.20 \pm 0.821 \mu\text{m}$ ) altında olmak üzere oldukça düştüğü tespit edilmiştir (Tablo 1), (Şekil 2).

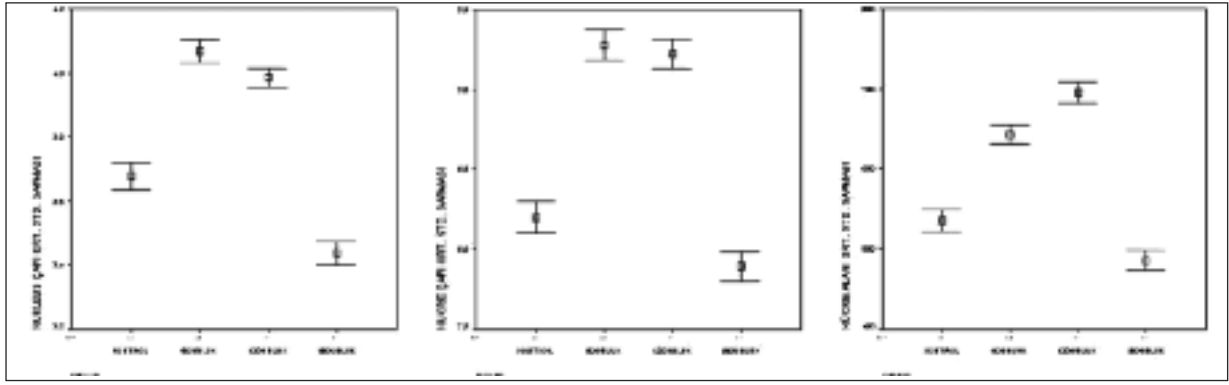
Zona fasikülata hücre morfolometrik ölçümlerine göre nükleus çapları birbirine çok yakındır (ölçümler sırası ile kontrol, 6, 12 ve 18 günlük test gruplarında  $5.37 \pm 0.561 \mu\text{m}$ ,  $5.33 \pm 0.697 \mu\text{m}$ ,  $5.03 \pm 0.681 \mu\text{m}$  ve  $5.10 \pm 0.351 \mu\text{m}$ 'dir), hücre çapları ve alanları ise sırası ile kontrol, 6, 12 ve 18 günlük test gruplarında kademeli olarak artış göstermektedir (hücre çapları  $12.56 \pm 0.836 \mu\text{m}$ ,  $12.23 \pm 1.419 \mu\text{m}$ ,  $19.55 \pm 3.973 \mu\text{m}$  ve  $31.06 \pm 1.704 \mu\text{m}$ 'dir, hücre alanları ise  $932.94 \pm 147.830 \mu\text{m}^2$ ,  $1095.26 \pm 246.562 \mu\text{m}^2$ ,  $1892.89 \pm 686.210 \mu\text{m}^2$  ve  $3872.60 \pm 806.580 \mu\text{m}^2$ 'dir). Sadece 6 günlük grubun hücre çapı ortalaması kontrol grubundan çok az düşük olmakla birlikte standart sapma değeri kontrol grubu ile iç içe geçmektedir (Tablo 1), (Şekil 3).

Tukey yöntemi ikili karşılaştırmalı varyans analizi sonuçlarına göre zona glomerulosa nükleus çapları 6 ve 12 günlük gruplar haricinde istatistiksel olarak farklılık göstermektedir. Hücre çapları kontrol grubu ve 18 günlük gruplar ile 6 ve 12 günlük gruplar haricinde, hücre alanları ise bütün zona glomerulosa gruplarında birbirinden farklıdır (Tablo 1).

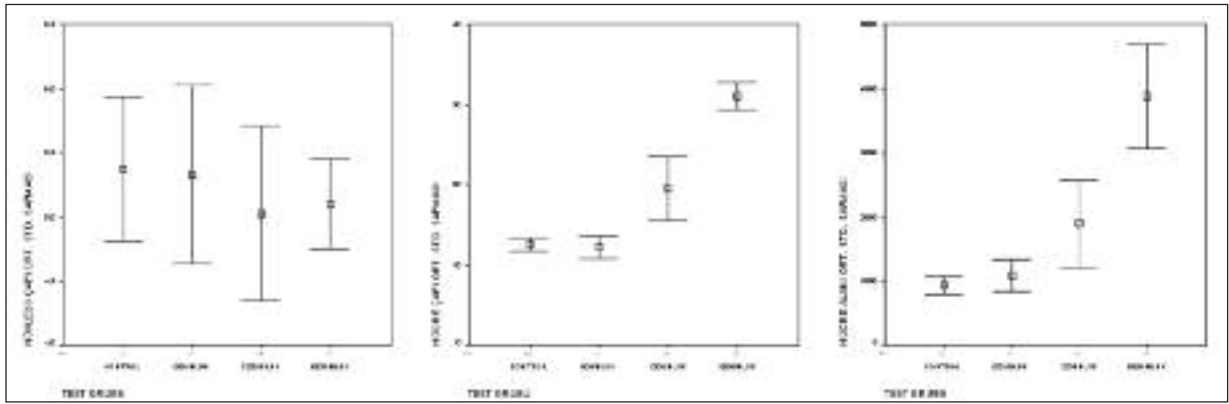
**TABLO 1:** Bütün grupların tanımlayıcı istatistikleri ve varyans analizi sonuçları.

Ölçüm yeri	Grubu	n	Zona glomerulosa			Zona fasikülata		
			Ortalama $\pm$ Std.Sapma	p	n	Ortalama $\pm$ Std.Sapma	p	
Nükleus çapı	Kontrol grubu	67	$3.68 \pm 0.344 \mu\text{m}$	<0.001	62	$5.37 \pm 0.561 \mu\text{m}$	0.02	
	6 günlük gebe sıçan	64	$4.07 \pm 0.302 \mu\text{m}^*$		63	$5.33 \pm 0.697 \mu\text{m}$		
	12 günlük gebe sıçan	61	$3.99 \pm 0.238 \mu\text{m}^*$		64	$5.03 \pm 0.681 \mu\text{m}^*,\ddagger$		
	18 günlük gebe sıçan	61	$3.44 \pm 0.276 \mu\text{m}^*,\ddagger,\#$		56	$5.10 \pm 0.351 \mu\text{m}^*,\ddagger$		
Hücre çapı	Kontrol Grubu	67	$8.20 \pm 0.821 \mu\text{m}$	<0.001	62	$12.56 \pm 0.836 \mu\text{m}$	<0.001	
	6 günlük gebe sıçan	64	$9.28 \pm 0.766 \mu\text{m}^*$		63	$12.23 \pm 1.419 \mu\text{m}$		
	12 günlük gebe sıçan	61	$9.22 \pm 0.724 \mu\text{m}^*$		64	$19.55 \pm 3.973 \mu\text{m}^*,\ddagger$		
	18 günlük gebe sıçan	61	$7.90 \pm 0.730 \mu\text{m}^*,\ddagger,\#$		56	$31.06 \pm 1.704 \mu\text{m}^*,\ddagger,\#$		
Hücre alanı	Kontrol Grubu	67	$535.73 \pm 114.788 \mu\text{m}^2$	<0.001	62	$932.94 \pm 147.830 \mu\text{m}^2$	<0.001	
	6 günlük gebe sıçan	64	$642.86 \pm 99.167 \mu\text{m}^2^*$		63	$1095.26 \pm 246.562 \mu\text{m}^2^*$		
	12 günlük gebe sıçan	61	$695.67 \pm 101.591 \mu\text{m}^2^*,\ddagger$		64	$1892.89 \pm 686.210 \mu\text{m}^2^*,\ddagger$		
	18 günlük gebe sıçan	61	$486.33 \pm 95.738 \mu\text{m}^2^*,\ddagger,\#$		56	$3872.60 \pm 806.580 \mu\text{m}^2^*,\ddagger,\#$		

\*; kontrol grubu ile farklılıkları, †; 6 günlük ile farklılıkları, ‡; 12 günlük ile farklılıkları, #; 18 günlük ile farklılıkları göstermektedir.



ŞEKİL 2: Zona glomerulosa tabakası hücre-nükleus çapları(µm) ve hücre alanları (µm<sup>2</sup>).



ŞEKİL 3: Zona fasikülata tabakası hücre-nükleus çapları (µm) ve hücre alanları (µm<sup>2</sup>).

Zona fasikülata nükleus çapları kontrol grubu ve 12 günlük grup ile 6 ve 12 günlük gruplar haricinde birbirinin aynıdır. Hücre çapları ise kontrol grubu ve 6 günlük grubun dışında birbirinden farklı ve hücre alanları ise bütün zona fasikülata gruplarında birbirinden farklıdır (Tablo 1).

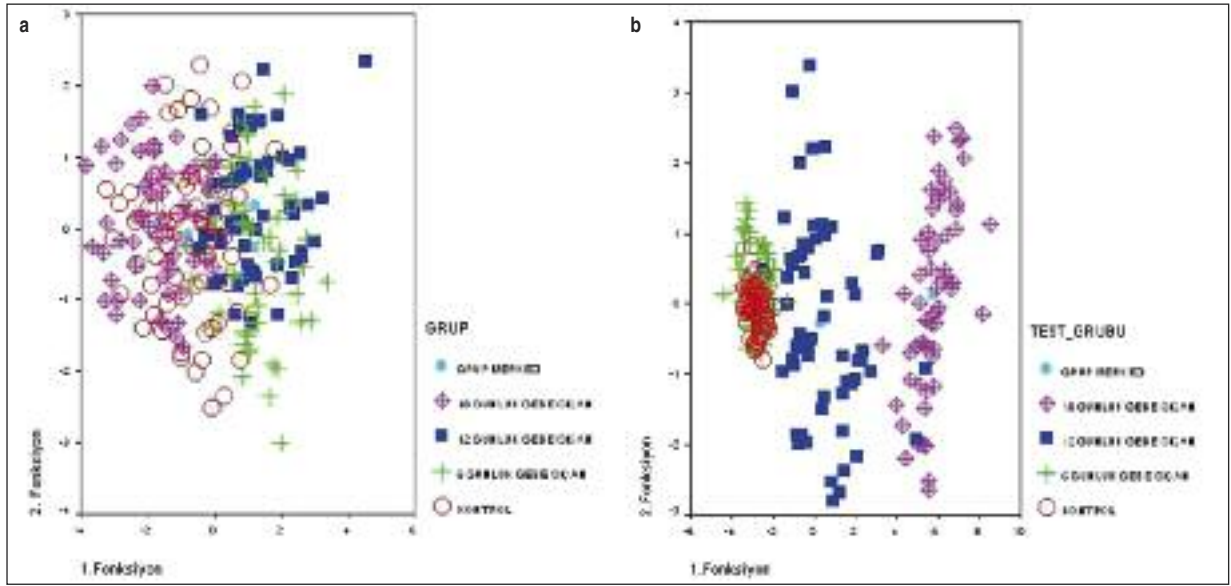
Ayrıca ortalamaları arasında çok büyük bir farklılık gözlenirse de denek sayılarından dolayı, zona fasikülata parametresinde nükleus çapında “18 günlük gebe sıçanlarla kontrol grubu arasında” ve “18 günlük gebe sıçanlarla 6 günlük gebe sıçanlar” arasındaki farklılıklar, zona glomerulosa parametresinde ise hücre çapında “18 günlük gebe sıçanlarla kontrol grubu arasındaki farklılıklar ve zona fasikülata parametresinde hücre alanında “6 günlük gebe sıçanlarla kontrol grubu arasındaki” farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 1).

Kontrol grubu ile diğer gebe grupların zona glomerulosa ve zona fasikülata ölçüm sonuçlarının birlikte değerlendirildiği diskriminant fonksiyonu analizine göre gruplar belli oranlarda orijinal gruplarına yerleşmişlerdir. Zona fasikülata zona glomerulosa hücre ölçüm sonuçları üzerinden yapılan diskriminant (ayırma) fonksiyonu sınıflandırma yüzdesi, %50'nin üzerinde olmasına rağmen en başarılı ve yüksek sınıflandırma yüzdesinin zona fasikülata grubunda ortaya çıktığı görülmüştür (Tablo 2, Şekil 4).

Zona glomerulosa ve zona retikularis hücrelerinin nükleus çapı, hücre çapı ve hücre alanı ölçümü verileri üzerinden gerçekleştirilen ayırma analizinde hesaplanan birinci ve ikinci diskriminant fonksiyonlarının istatistiksel güvenilirliği ve gücünü tespit eden Wilk's Lambda değeri anlamlı olmakla birlikte, bu değer zona fasikülata grubunda

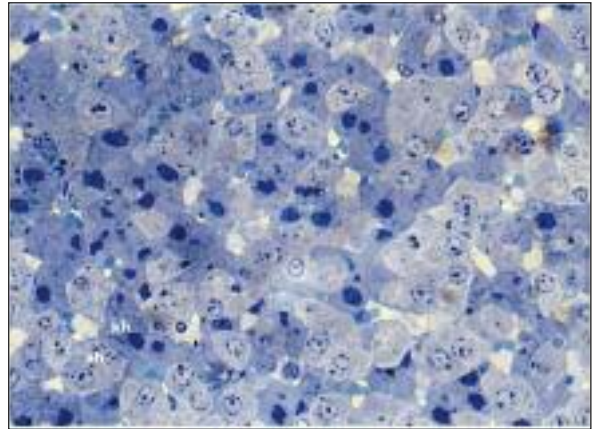
**TABLO 2:** Kontrol grubu ile test grubunun hücre ölçüm sonuçlarına göre sınıflanma başarıları.

Ölçüm yeri	Grup	Kontrol (%)	6 günlük gebe sıçan (%)	12 günlük gebe sıçan (%)	18 Günlük gebe sıçan (%)	Toplam (%)
Zona glomerulosa	Kontrol grubu	44.78	10.45	11.94	32.84	100.00
	6 Günlük gebe sıçan	12.50	50.00	37.50	0.00	100.00
	12 Günlük gebe sıçan	11.48	31.15	57.38	0.00	100.00
	18 Günlük gebe sıçan	34.43	0.00	0.00	65.57	100.00
Zona fasikülata	Kontrol grubu	69.35	30.65	0.00	0.00	100.00
	6 Günlük gebe sıçan	36.51	63.49	0.00	0.00	100.00
	12 Günlük gebe sıçan	6.25	6.25	81.25	6.25	100.00
	18 Günlük gebe sıçan	0.00	0.00	0.00	100.00	100.00

**ŞEKİL 4:** a. Zona glomerulosa b. Zona fasikülata kontrol ve test gruplarının birinci ve ikinci diskriminant fonksiyonuna göre ayırma analizi grafiği.

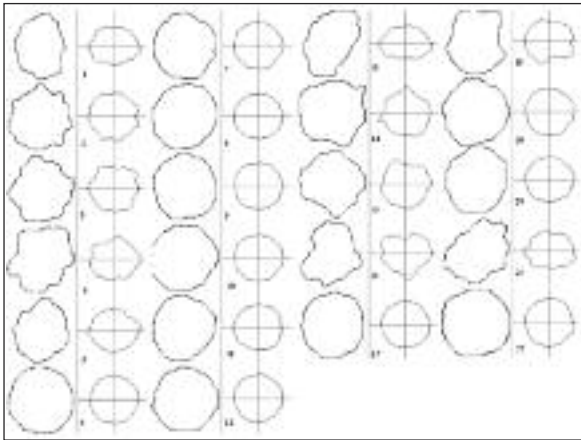
daha iyi sonuç vermiştir ve sıfıra yakındır. Özdeğerler de benzer bir biçimde zona fasikülata grubunda zona glomerulosaya göre daha iyi sonuç vermiştir ve yüksektir (Tablo 3).

Çalışmanın son kısmında 12 günlük gebe sıçanların böbreküstü bezi açık ve koyu zona retikularis hücrelerinin ayrımı şekil tanıma yöntemlerinden biri olan kenar çıkartma ile sağlanmıştır (Şekil 5). Kenar çıkartma işleminden sonra Fourier transformu ile şekiller eliptik geometrik yapılara dönüştürülmüştür (Şekil 6). Eliptik geometrik yapıların polar koordinatlarından elde edilen veri setleri üzerinden yapılan faktör analizi (principle

**ŞEKİL 5:** 12 günlük gebe grupta zona retikularis açık renkli (ah) ve koyu renkli (kh) hücreleri (Toluidin mavisi, x200).

**TABLO 3:** Kontrol grubu ile test grubunun ayırma analizi özdeğer ve Wilk's lambda istatistikleri.

Ölçüm yeri	Özdeğerler				
Zona fasikülata	Fonksiyon	Eigenvalue	Varyansın %'si	Ayrım gücü	Kanonik korelasyon
	1	11.86	99.59	0.92	0.96
	2	0.05	0.41	0.05	0.21
	Wilks' Lambda				
	Fonksiyon	Wilks' Lambda	ki-kare	Serbestlik derecesi	Anlamlılık
	1	0.07	626.95	6.00	0.00
2	0.95	11.38	2.00	0.00	
Ölçüm yeri	Özdeğerler				
Zona glomerulosa	Fonksiyon	Eigenvalue	Varyansın %'si	Ayrım gücü	Kanonik korelasyon
	1	1.59	96.50	0.61	0.78
	2	0.05	2.91	0.05	0.21
	Wilks' Lambda				
	Fonksiyon	Wilks' Lambda	ki-kare	Serbestlik derecesi	Anlamlılık
	1	0.37	250.05	9.00	0.00
2	0.95	14.00	4.00	0.01	



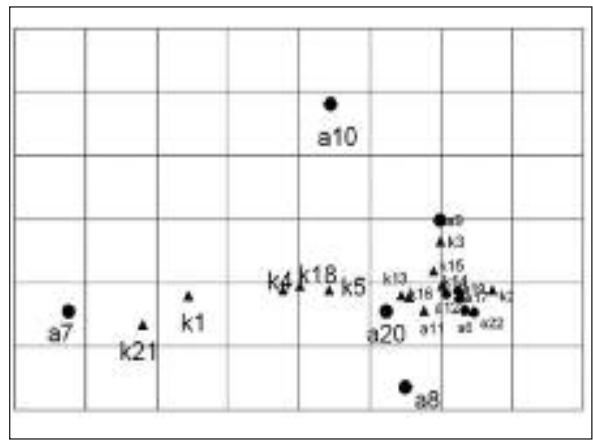
**ŞEKİL 6:** Orijinal fotoğraf üzerinden kenar çıkartma algoritması ile elde edilen nükleus biçimleri, solda orijinal yapı sağda normal yapının eliptik Fourier dönüşümü (1, 2, 3, 4, 13, 14, 15, 16, 18 ve 21 koyu renk hücre nükleus şekilleri, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 19, 20 ve 22 açık renk hücre nükleus biçimleri).

component yöntemi) sonucunda elde edilen ilk iki faktör skoru bu iki hücre grubunu grafiksel olarak belli bir düzeyde ayırmıştır (Şekil 7).

Eliptik Fourier dönüşümü ile standartlaştırılan yapıların ayırımında dört landmark seçilerek geometrik morfometri yöntemi uygulanmıştır. Hesaplanan ilk iki faktör skoruna göre hücreler Şekil 8'deki gibi birbirinden ayrılmıştır.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Literatür araştırmalarına göre konumuz ile birebir örtüşen birer çalışma olmamasına rağmen benzer



**ŞEKİL 7:** Açık renk (a) ve koyu renk (b) hücrelerin nükleus kenarlarının polar koordinat verileri üzerinden gerçekleştirilen faktör analizi grafiği (x eksenini birinci faktör skoruna, y eksenini ise ikinci faktör skoruna karşılık gelmektedir).

çalışmalara Nowak ve ark. Özbek, Kovzun ve ark. ve Al-Motabagani ve ark. örnek gösterilebilir.<sup>2,5,9,15,16</sup> Özbek gebe kobay böbreküstü bezinin morfometrik ve histolojik özellikleri üzerine yaptığı çalışmada böbreküstü bezi korteksinde kalınlaşma görüldüğünü, zona glomerulosa hücreleri sayısında gruplar arasında önemli bir farkın olmadığını, zona glomerulosa hücrelerinde hiperplazi, zona fasikülata ve zona retikularis hücrelerinde gebe gruplarda kontrol grubuna göre birim alanda daha az sayıda hücre olduğunu, gebe grubu hücrelerinde lipid miktarında artış olduğunu, lipofuksin

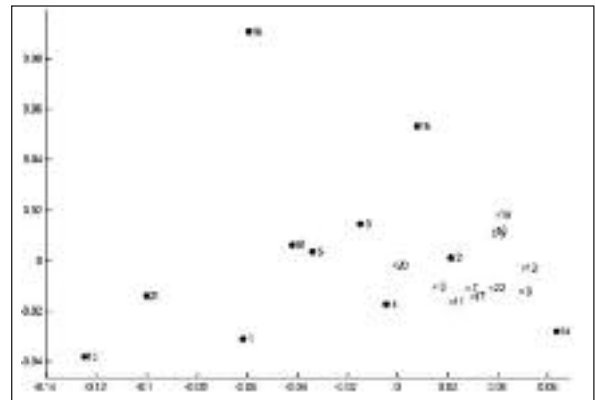
pigmentleri, myelin figürleri ve polimorfik mitokondrileri tespit etmiştir.<sup>2</sup> Bu çalışmada ise zona glomerulosa hücrelerinin 0.001 mm<sup>2</sup>'de kontrol grubunda 43.2 ± 3.1, 6 günlük gebe grubunda 35 ± 2.3, 12 günlük gebe grubunda 12.8 ± 2.2 ve 18 günlük gebe grubunda 18 ± 4.3 olduğu ve zona fasikülata hücrelerinin 0.001 mm<sup>2</sup>'de kontrol grubunda 17.6 ± 2.2, 6 günlük gebe grubunda 24 ± 4.2, 12 günlük gebe grubunda 22 ± 1.6 ve 18 günlük gebe grubunda 16.8 ± 4.6 olduğu tespit edilmiştir. Birim alana düşen ortalama hücre sayıları gebelik günü ilerledikçe azalmaktadır. Bunun nedeni artmış metabolik aktivite ve steroid sentezinde öncül madde olarak kullanılan yağ esterlerinin oluşturduğu hücrelerde genişlemeye sebep olan lipid damlacıkları olabilir. Bu çalışmada ayrıca gebe grubun lipid damlacıklarının ve lipofuksin pigmentlerinin arttığı, mitokondriumların genişlediği tespit edilmiştir.<sup>11</sup> Nowak ve ark. ise gebe grupta endoplazmik retikulum tübüllerinin genişlediğini, lipid damlacıkları ve lipofuksin pigmentlerinin arttığını, mitokondrilerin genişlediğini bildirmiştir.<sup>9</sup>

Hücre morfometrisi verileri varyans analizi ile değerlendirildiğinde zona fasikülata hücrelerinin nükleus çaplarında büyük oranda bir farklılığın olmadığı görüldü. Zona glomerulosa hücrelerinin nükleus çapları varyans analizine göre büyük oranda birbirinden farklıdır. Zona glomerulosa ve zona fasikülata hücre çapları ve hücre alanları ise büyük oranda birbirinden farklıdır. Gebelik günündeki ilerlemeye paralel olarak zona fasikülata hücre alanları ve çaplarında da artış gözlemlendi. Zona glomerulosada ise bu artış 6 ve 12 günlük test gruplarında gözlenmiştir. On sekiz günlük test grubunda ise hücrelerde küçülmenin olduğu tespit edilmiştir.

Tanımlayıcı ve varyans istatistiğine destek olması bakımından gerçekleştirilen ayırma analizinde de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ayırma analizinde hedeflendiği gibi grup üyelikleri büyük oranda doğru tahmin edilmiştir. Bunun bir diğer anlamı ise ölçüm sonuçları her bir grubu diğer bir gruptan ayıracak düzeyde farklı olduğu ve iyi bir ayırmanın gerçekleştiği, grupların birbirinden farklı olduğudur. Fakat zona glomerulosa grupları, ayırma (diskriminant) analizinde iç içe geçmiştir

(Şekil 4a). Aynı şekilde grup üyelik yüzdeleri de düşüktür. Bunun nedeni kontrol grubu, 18 günlük test grubu ve 6-12 günlük test gruplarının ortalamalarının birbirine çok yakın olması olabilir. Zona fasikülata diskriminant analiz grafiğinde elde edilen gruplar arası ayrılma oldukça iyidir, fakat kontrol grubu ile 6 günlük test grupları birbiri içine geçmiştir. Her iki grubun da ayrılma analizleri varyans analizini destekler niteliktedir.

Çalışmanın son kısmında varyans ve ayırma analizlerinden tamamen ayrı bir konu olan nesne tanıma yaklaşımı uygulanmıştır. Bu uygulamada zona retikularis ve glomerulosa hücrelerinin ayırma analizinde olduğu gibi test grupları analiz esnasında bilinmemektedir. Bu analizin temel hedefi bilinmeyen grupları tahmin etmektir. Bu nedenle faktör analizinin otomatik nesne tanıma sürecine daha uygun bir istatistikî yöntem olduğu düşünülebilir. Bu analizde veriler kenar çıkartma işlemi ve Fourier analizi ile faktör analizi istatistiği ise Shape yazılımı ile otomatik olarak gerçekleştirilmiştir. Fakat eliptik Fourier analizinin dönüştürdüğü yapıların kenar biçimleri farklı farklı da olsa dönüşüm sonucunda oluşan eliptik nesne 2 ve 1 no'lu koyu hücrelerde olduğu gibi dairesel yapıya yaklaşmaktadır. Bu nedenle 2 ve 14 no'lu koyu hücreler Şekil 8'de faktör analizi grafiğinde görüldüğü gibi açık renk hücrelerin kümelenildiği grafik bölgesine yerleşmişlerdir. Koyu hücrelerin açık hücrelerden ayrımı polar koordinat verilerinin fak-



ŞEKİL 8: Orijinal fotoğraf üzerinden kenar çıkartma algoritması ile elde edilen nükleus biçimlerinin landmark metodu faktör analizi grafiği (1, 2, 3, 4, 13, 14, 15, 16, 18 ve 21 koyu renk hücreler, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 19, 20 ve 22 açık renk hücreler).



tör analizi grafiğinin (Şekil 7) başarılı bir ayrımını sağlamamasına rağmen eliptik yapıların landmark metoduna göre faktör analizi grafiğinin daha güçlü bir ayrım gerçekleştirdiği, amaçlandığı gibi grup üyeliklerinin belli bir oranda tahmin edildiği söylenebilir (Şekil 8).

Sonuç olarak tanımlayıcı istatistikler (ortalamlar ve standart sapmalar), varyans analizi ve ayırma analizleri kontrol ve test gruplarının geo-

metrik morfometrik bakımdan birbirinden farklı olduğunu büyük oranda ortaya koymuştur. Gelişen bilgisayar teknolojileri ve kümeleme analizi yöntemleri nesne tanıma ve sınıflandırma işlemleri farklı hücrelerin ayrımında ve sayımında kolaylıklar getirmektedir. Bu çalışmada uygulanan landmark yönteminin nesnelere (nükleusların) doğru sınıflanmasında Fourier temelli kenar sayısal verilerinden daha etkin olduğu tespit edilmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Nowak M, Rebuffat P, Mazzocchi G, Nussdorfer GG, Malendowicz LK. Gestational changes in hamster adrenal cortex: morphometric and ultrastructural stereologic studies. *Cell Tissue Res* 1989;256(2):241-6.
2. Özbek E, Akçay G. [Comparative structure of guinea PIG adrenal cortex in early and late gestational periods: a morphometric and light-microscopic study]. *Atatürk Üniv Diş Hek Derg* 2000;10(2):34-41.
3. Özbek E. [Atypical histological structures observed in the adrenal glands of adult guinea PIG]. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 1999;19(2): 78-84.
4. Dündar Ö, Tütüncü L, Ergür AR, Gönen G, Müngen E. [Perinatal and maternal complications related to postterm pregnancies]. *Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst* 2008;18(5): 312-20.
5. Önen Sertöz Ö, Binbay Tİ, Elbi Mete H. [The neurobiology of burnout: the hypothalamus-pituitary-adrenal gland axis and other findings]. *Türk Psikiyatri Dergisi* 2008;19(3): 318-28.
6. Erdoğan D, Hatipoğlu MT, Görgün M, Ilgaz C. *Özel Histoloji*. 1. Baskı. Ankara: SBAD Yayınları; 1996. p.150-3.
7. Kitay JI. Sex differences in adrenal cortical secretion in the rat. *Endocrinology* 1961;68: 818-24.
8. Sağlam M, Aştı N, Özer A. *Genel Histoloji*. 3. Baskı. Ankara: Yorum Matbaası; 1997. p. 123.
9. Nowak M, Nussdorfer GG, Nowak KW, Mazzocchi G, Malendowicz LK. Gestational changes in hamster adrenal cortex: stereologic and functional studies. *Res Exp Med (Berl)* 1990; 190(3):163-71.
10. Gököz A, Özşeker H. [Histology and pathology of adrenal gland]. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2005;1(3):1-7.
11. Eroğlu Ö, Lortlar N, Kılıç S, Hatipoğlu MT, Ömeroğlu S. The ultrastructure of the zona fasciculata layer of suprarenal gland during pregnancy. *Gynecology Obstetrics & Reproductive Medicine* 2008;14(3):140-4.
12. Heperkan Y. [Types of Distribution]. *Tip'ta İstatistik Yöntem ve Uygulamaları*. 1. Baskı. Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayını; 1981. p. 134,187.
13. Özdamar K. [Sampling Methods and Parametric Tests]. *SPSS ile Biyoistatistik*. 5. Baskı. Eskişehir: Kaan Kitabevi; 2003. s.276-83, 356, 393-6.
14. Kalaycı Ş. [Analysis of Variance and Cluster Analysis]. *SPSS Uygulamalı Çok Değişkenli İstatistik Teknikleri*. 2. Baskı. Ankara: Asil Yayın Dağıtım; 2006. s.133, 208, 220, 222, 335-44.
15. Al-Motabagani MAH. Effect of cadmium on the morphology of adrenal gland in mice. *J Anat Soc India* 2002;51(2):212-5.
16. Kovzun OI. [The effect of ovariectomy and estradiol on DNA, RNA and protein metabolism in the adrenal cortex of rats]. *Fiziol Zh* 1996; 42(1-2):53-8.