

# Ligamentum Capitis Femoris'in Çocuk ve Erişkinlerde Işık Mikroskobik ve Akım Sitometrik İncelenmesi

## LIGHT MICROSCOPIC AND FLOW CYTOMETRIC EXAMINATION OF LIGAMENTUM CAPITIS FEMORIS IN CHILDREN AND ADULTS

Dr. Esin YULUĞ,<sup>a</sup> Dr. Gürsel YULUĞ,<sup>b</sup> Dr. Engin YENİLMEZ,<sup>a</sup> Dr. Yavuz TEKELİOĞLU,<sup>c</sup>  
Dr. Sevim AYDIN,<sup>a</sup> Dr. Ayşe ARVAS,<sup>c</sup> Dr. Haluk ARVAS<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Histoloji ve Embriyoloji AD, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi,

<sup>b</sup>Ortopedi ve Travmatoloji Bölümü, Numune Hastanesi, TRABZON

<sup>c</sup>Histoloji ve Embriyoloji Bölümü, Türkiye Hastanesi, İSTANBUL

### Özet

**Amaç:** Femur başı ve acetabulum arasında bulunan ligamentum capitis femoris, özellikle çocukluk çağında femur başının beslenmesinden sorumlu ve ilerleyen yaşlarda işlevi gittikçe azalan bir ligamendir. İnsan ligamentum capitis femoris'inin histolojik yapısına ait bilgiler oldukça az sayıdadır. Bu çalışmada; ligamentum capitis femoris'in çocukluk ve erişkin yaş gruplarında klasik ışık mikroskobu ve akım sitometrik analiz yöntemi ile histolojik yapısının incelenmesi amaçlandı.

**Gereç ve Yöntemler:** On üç materyal, yaşları 40-80 yaş arasında değişen hastalardan ve 15 materyal, yaşları 1-2 yaş arasında değişen hastalardan elde edildi. Ligament materyalleri ışık mikroskobik ve akım sitometrik inceleme için nötrale formalinde tespit edildi ve parafine gömüldü.

**Bulgular:** Çocukluk yaş grubu materyaller incelendiğinde; ligamentin kollagen lif yapısının oldukça düzenli olduğu, kollagen lifler arasındaki fibroblastların düzenli dizilim gösterdiği görüldü. Elastik lifler ince ve düzenli dizilimli idi. Sıklıkla kollagen lif demetlerine paralel idi. Erişkin yaş grubu materyaller incelendiğinde; kollagen lif demetlerinin farklı yönlerde dizilim gösterdiği görüldü. Kollagen lif demetleri çocukluk yaş grubuna göre daha kalındı. Fibroblastlar kollagen lifler arasında düzensiz olarak dağılmıştı. Elastik lifler azalmış ve bazı alanlarda kaybolmuştu. Yapılan akım sitometrik DNA analizi sonucunda hücre siklusuna ait bilgilerde çocukluk yaş grubu ve erişkin yaş grubu arasında yüzde oranının karşılaştırılmasında, çocukluk yaş grubunda G<sub>2</sub> ve S faz yüksekliği saptandı.

**Sonuç:** Ligamentum capitis femoris'in histolojik yapısı çocukluk yaş grubunda erişkinlerden farklı idi ve çocukluk yaş grubunda akım sitometrik olarak mitoz yüksekti. Tüm bu sonuçlar kaynak verileri ile tartışıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Femur, anatomi, histoloji, akım sitometri

### Abstract

**Objective:** Ligamentum capitis femoris which is found between the head of the femur and acetabulum is responsible for feeding head of the femur especially in childhood period. However, the feeding gradually decreases with advancing age. There is a little knowledge about the histological structure of the human ligamentum capitis femoris. In this study, it was aimed to investigate histological properties of ligamentum capitis femoris in childhood and adulthood period with light microscopy and flow cytometry.

**Material and Methods:** Thirteen femoral specimens were obtained from the patients aged between 40 to 80 years and fifteen femoral specimens were obtained from the patients aged between 1 to 2 years. Ligaments for light microscopic and flow-cytometric examinations were fixed in neutralized formalin and embedded into paraffin.

**Results:** When childhood specimens were examined, it was observed that collagen fiber bundles were oriented orderly and fibroblasts were arranged smoothly between these bundles. The elastic fibers were thin and orderly oriented and they often were parallel to the collagen fiber bundles. In the adulthood age group, the collagen fiber bundles oriented in different directions. The collagen fiber bundles were thicker than that of the childhood age group. The fibroblasts were irregularly distributed among the collagen fibers. Elastic fibers were observed in a lesser amount and lost in some areas. In childhood age group, significant increment S phase and G<sub>2</sub> phase were found in the comparison of percent ratio of among the adult and childhood age group information about cell cycle as a result of DNA analysis with flow cytometric studies.

**Conclusion:** The histologic structure of the ligamentum capitis femoris in the childhood age group is different from the adults and has a flow cytometric increasing mitosis. All these results were discussed with source of data.

**Key Words:** Femur anatomy & histology, flow cytometry

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2005, 25:154-160

Geliş Tarihi/Received: 09.06.2003

Kabul Tarihi/Accepted: 28.02.2005

**Yazışma Adresi/Correspondence:** Dr. Esin YULUĞ  
KTÜ Tıp Fakültesi  
Histoloji ve Embriyoloji AD,  
61080, TRABZON  
eyuluğ@meds.ktu.edu.tr

Copyright © 2005 by Türkiye Klinikleri

Ligamentum capitis femoris, articulatio coxa'da bulunur. Üçgen şeklindedir. Tepesi fovea capitis femoris'e tabanı ise iki bant şeklinde incisura acetabuli'nin iki ucuna tutunur.<sup>1</sup> Şahıslar arasında sağlamlık bakımından çok varyasyon gösteren bu bağ, sinoviyal

membranla sarılmıştır. Bazen çok ender olarak bu bağ hiç bulunmayabilir. Ligamentum capitis femoris'in görevi bir bağ fonksiyonundan ziyade, özellikle küçük yaşlarda içinde taşıdığı arteria obturatoria'nın dalı olan ramus acetabularis açısından önemlidir. Bu arter, femur başının kanlanmasından sorumludur.<sup>2</sup> Femur başının beslenmesinden sorumlu bu ligamentin, histolojik yapısında ilerleyen yaşlarda ne tür yapısal değişiklikler gösterdiğine dair literatürler oldukça azdır.

Bu ligamentin yapısal özellikleri yıllardır, primer olarak, ışık mikroskopik analizler kullanılarak aydınlatılmaya çalışılmıştır. Günümüzde lazer ışınlarının kullanılması ile yeni metodların geliştirilmesi sonucu birçok hastalığın moleküler düzeyde tanı ve tedavisi mümkün hale gelmiştir. Floresan aktiviteli analiz ve ayırma yöntemi, başka bir ifade ile akım sitometri (flow cytometry), başvurulan tekniklerden birisidir. Akım sitometri ile hücrenin fiziksel özellikleri, yüzey antijen reseptörleri, hücre içi bileşenleri, nükleer DNA-RNA tayinleri, diğer bazı hücresel parametrelerin kantitatif tayini ve hücre siklusu analizi yapılabilmektedir. Bu teknik ile hücrelerin ilk istirahat ( $G_1$ ), mitoz öncesi ( $G_2$ ) ve aktif sentez (S) dönemleri belirlenebilmektedir.<sup>3</sup>

Bu çalışmanın amacı; insan ligamentum capitis femoris yapısını, klasik ışık mikroskobu ve akım sitometrik analiz yöntemi ile morfolojik açıdan çocukluk ve erişkin yaş gruplarında karşılaştırmak ve sonuçları tartışarak bu konuda yapılacak olan çalışmalara ışık tutmaktır.

### Gereç ve Yöntemler

Çalışma KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD'da yapıldı. Helsinki Deklerasyon Prensipleri'ne uygun olarak çalışmaya katılan hastalar bilgilendirildi ve olurları alındı. Çocukluk yaş grubu ligamentum capitis femoris materyalleri doğuştan kalça çıkığı nedeni ile opere edilen 1-2 yaş arası 15 hasta ve erişkin yaş grubu ligamentum capitis femoris materyalleri ise akut femur boyun kırığı nedeni ile parsiyel protez uygulanan 40-80 yaş arası 13 hastadan tedavi amaçlı çıkarılan

ameliyat materyallerinden elde edildi. Materyaller ışık mikroskopik ve akım sitometrik inceleme için takibe alındı.

### Işık Mikroskopik Değerlendirme

Elde edilen ligamentum capitis femoris materyallerinden 1 cm uzunluğunda kesitler alındı ve %10'luk formaldehit solüsyonuna konuldu. Parçalar rutin alkol-ksilen doku takibi serisinden sonra parafin bloklara gömüldü.

Hazırlanan parafin bloklardan Leica RM 2155 marka mikrotom ile 5-7  $\mu$  kalınlığında seri kesitler alındı. Kesitler hematoksilin-eozin (H&E), trikrom-Masson ve Verhoeff boyaları ile boyandı. Olympus marka ışık mikroskobunda kesitler incelenerek resimleri çekildi. Bu çalışma ile çocukluk ve erişkin yaş gruplarından alınan ligamentum capitis femoris materyalleri acetabuler ve caput femoris kısımlarındaki kollagen lif yapısı, iğsi ve oval hücre yoğunluğu, elastik lif yapısı ve arteriol-venül duvar kalınlığı açısından değerlendirildi. İğsi-oval hücre sayısı ve arteriol-venül duvar kalınlığı oküler mikrometre ile her iki grup için ayrı ayrı X 40 büyütmede 5 farklı alan değerlendirilerek ortalama sonuçları istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

### Akım Sitometrik Analiz (Hedley Metodu)<sup>4</sup>

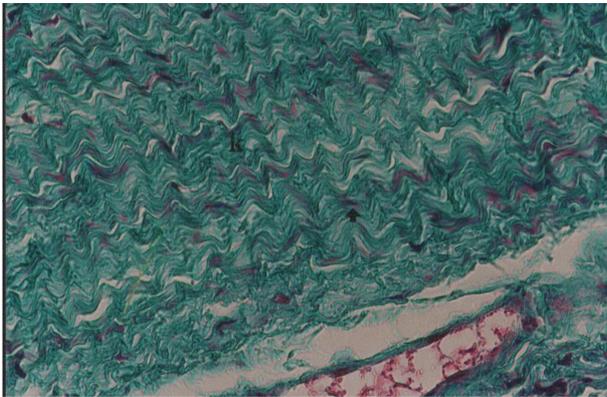
Parafin bloğa gömülü dokulardan Leica RM 2155 marka otomatik mikrotomla 45-50  $\mu$  kalınlığında 5'er adet kesit alındı. Kesitlerin üzerine 10 mL ksilen konularak 2 x 10 dk.lık bir sürede parafin uzaklaştırıldı. Kesitler %100, %90, %75, %50 etanol serilerinden 10'ar dk. geçirildi. Doku örnekleri 37°C'de benmaride bir gece distile suda bekletildi. Ertesi gün örnekler 2 defa daha distile suda yıkandı, daha sonra saat camına aktarıldı. Bistüri yardımı ile örnekler parçalandı, enjektöre çekildi ve naylon (DNA) mesh filtre takılı 16 G iğneden 2 defa geçirildi. Hazırlanan bu örnekler 10 dk. 500 devirde santrifüj edildi, süpernatant atıldı. PH: 1.5 olan %0.5 pepsin solüsyonundan (100 mg pepsin + 20 mL %0.9 serum fizyolojik) 3 mL eklenerek vortekslendi. Bunlar 37°C'de 30 dk. inkübe edildi ve 5'er dk. aralıklarla vortekslendi; 3 mL RPMI 1640 medium (Sigma 320-1875) solüsyonu ile nötralize edilip 800

devirde 10 dk. santrifüjlendi. Süpernatant atıldı ve tekrar 3 mL RPMI solüsyonu eklenerek 50 µm'lik filtreden geçirildi. Örnekler 500 µL solüsyondan alındı, DNA Prepte (DNA-Prep LPR Coulter 6604454 < %0.1 NaN<sub>3</sub> ve DNA-Prep Stain Coulter 6604451 < %0.1 NaN<sub>3</sub> < %0.1 Propidium Iodide) hazırlandı ve 15 dk.lık karanlıktaki inkübasyondan sonra akım sitometrik analizi yapıldı.

Akım sitometri cihazı (Coulter Epics Elite ESP), flow-check ile standardize edildikten sonra her tüpteki hücreler sayılarak 488 nm argon iyon lazerden geçirildi. Ortalama 25.000 hücre sayılarak, bilgisayar analiz ortamına kaydedildi. Analiz sırasında istenmeyen agregat ve hasarlı hücreler değerlendirme dışı tutuldu. DNA histogramında G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> ve S fazındaki hücrelerin % oranları Multicycle AV Phoenix flow systems coulter DNA analiz programı kullanılarak değerlendirildi.

#### İstatistiksel Değerlendirme

Işık mikroskopik bulguların birbirleri ile istatistiksel olarak karşılaştırılmasında gruplar bağımsız olduğundan parametrik student's T testi kullanıldı. Akım sitometrik analiz sonuçlarının ikişerli karşılaştırılmasında, parametrik varsayımlar yerine getirilmediğinden ve gruplar bağımsız olduğundan nonparametrik Mann-Whitney-U testi kullanıldı. Veriler ortalama (±) standart sapma olarak ifade edildi. İstatistiksel analizde p<0.05 anlamlı olarak kabul edildi.



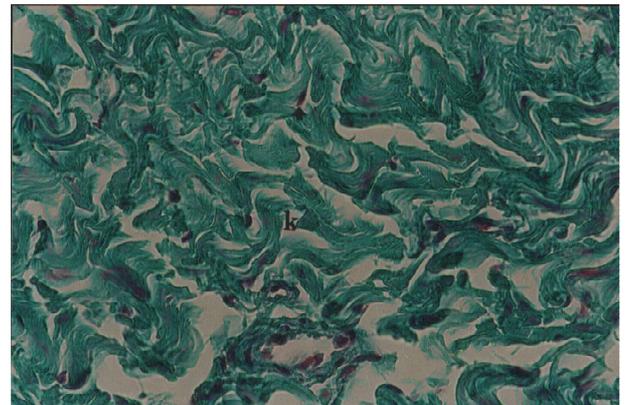
**Resim 1.** Çocukluk yaş grubu. Düzenli ve sıkı dizilimli kollagen lifler (k) ve aralarında bunlara paralel dizilimli hücreler (▲) (trikrom-Masson X 40).

## Bulgular

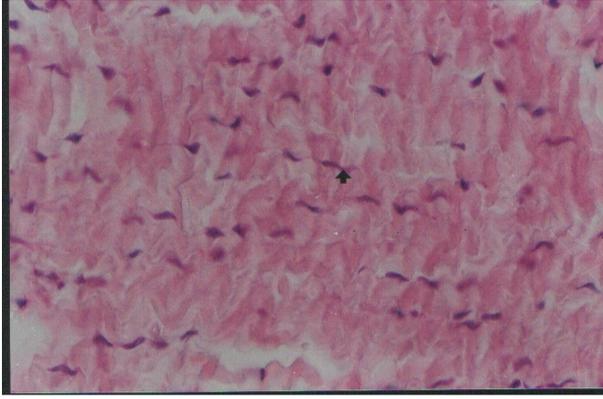
### Işık Mikroskopik Bulgular

Çocukluk yaş grubu ligament materyallerinin kollagen lif ve hücrelerini görüntülemek için trikrom-Masson ile boyanmış kesitlerin ışık mikroskopik incelenmesinde, kollagen lif demetlerinin oldukça sıkı ve düzenli dizilimli olduğu, lif demetleri arasında bulunan hücrelerin, kollagen liflere paralel ve düzenli dizilim gösterdiği izlendi (Resim 1). Erişkin yaş grubu ligament materyallerinin trikrom-Masson ile boyanmış kesitlerinde ise kollagen lif demetlerinin oldukça gevşek ve rastgele dizilimli olduğu, hücrelerin dağınık kollagen lif demetleri arasında düzensiz bir şekilde yerleştiği ve hücre yoğunluğunun azalmış olduğu izlendi (Resim 2).

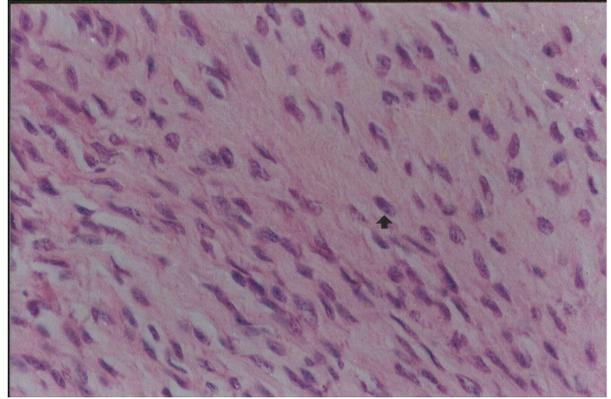
Çocukluk yaş grubu ligament materyallerinin acetabulumu yakın kısmında H&E ile yapılan boyamalarda hücrelerin iğsi şekilli, çekirdeklerinin hiperkromatik, sitoplazmalarının asidofilik; femur başına yakın kısmında ise hücrelerin büyük, oval şekilli, sitoplazmalarının asidofilik, nukleuslarının oval ve hipokromatik olduğu ve bu hücrelerin bazılarında mitoz figürlerine rastlandığı görüldü (Resim 3, 4). Erişkin yaş grubunda ise; ligamentin acetabulumu yakın kısmında hücrelerin az yoğun, iğsi şekilli ve hiperkromatik nukleuslu hücrelerden oluştuğu, femur başına yakın kısmında ise hücrelerin rastgele dizilimli ve az yoğun, hipokromatik nukleuslu oval hücrelerden oluştuğu



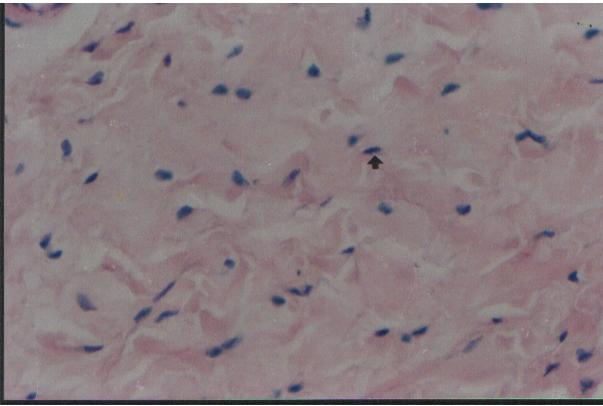
**Resim 2.** Erişkin yaş grubu. Düzensiz dizilimli kollagen lifler (k) ve arasında düzensiz dizilimli hücreler (▲) (trikrom-Masson X 40).



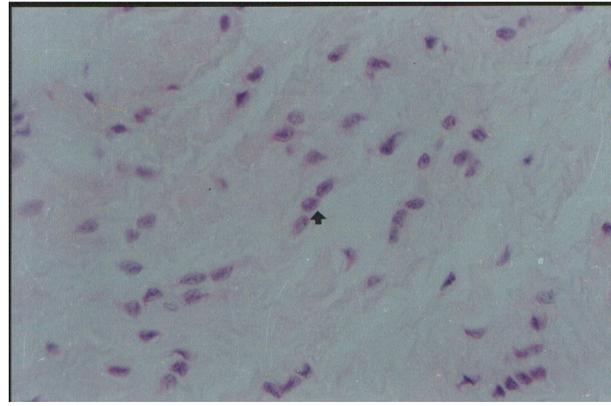
**Resim 3.** Çocukluk yaş grubu. Ligamentin acetabulumuna yakın kısmında yoğun, iğsi hücreler (▲) (H&E X 40)



**Resim 4.** Çocukluk yaş grubu. Ligamentin femur başına yakın kısmında yoğun, oval (▲) hücreler (H&E X 40).



**Resim 5.** Erişkin yaş grubu. Ligamentin acetabulumuna yakın kısmında az yoğun iğsi hücreler (▲) (H&E X 40).



**Resim 6.** Erişkin yaş grubu. Ligamentin femur başına yakın kısmında rastgele dizilmiş, az yoğun oval hücreler (▲) (H&E X 40).

izlendi (Resim 5, 6).

Hücre yoğunlukları açısından istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; çocukluk yaş grubunda acetabulumuna yakın kısımda iğsi hücrelerin sayısında ( $p < 0.001$ ), femur başına yakın kısımda ise oval hücre sayısında ( $p < 0.001$ ) erişkin yaş grubuna göre anlamlı artış saptandı (Tablo 1).

Verhoeff ile yapılan boyamada; çocukluk yaş grubunda elastik liflerin kollagen lif demetleri arasında düzenli dizilmiş, kalın ve yoğun; erişkin yaş grubunda ise ince, kollagen lif demetleri arasında düzensiz dizilmiş ve kesintili olduğu izlendi (Resim 7, 8).

Her iki grubun kollagen lif demetleri arasında bulunan arteriol-venül duvar kalınlıkları değerlendirildiğinde; erişkin yaş grubunda çocukluk yaş grubuna göre damar duvar



**Resim 7.** Çocukluk yaş grubu. Kollagen lif demetlerine paralel dizilmiş bol elastik lifler (▲) (Verhoeff X 40).

kalınlığının artmış olduğu tespit edildi. Bu farklılık istatistiksel olarak da anlamlı idi ( $p < 0.001$ ) (Tablo 1).



**Resim 8.** Erişkin yaş grubu. Kollagen lif demetleri arasında düzensiz dizilimli, ince ve kesintili elastik lifler (▲) (Verhoeff X 40).

**Tablo 1.** Çocukluk ve erişkin yaş grubuna ait ligament materyallerinin ışık mikroskopik değerlendirme sonuçları.

	Çocukluk yaş grubu (n= 15)	Erişkin yaş grubu (n= 13)	p
Acetabular kısımdaki iğsi hücreler	119.66 ± 16.56	40.53 ± 4.66	< 0.001
Femur başına yakın kısımdaki oval hücreler	136.86 ± 15.75	56.46 ± 7.64	< 0.001
Arter duvar kalınlığı µm	2.53 ± 1.06	7.61 ± 1.12	< 0.001
Ven duvar kalınlığı µm	2.20 ± 1.26	6.00 ± 1.08	< 0.001

**Tablo 2.** İki grubun akım sitometrik G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> ve S yüzdelilerinin istatistiksel olarak karşılaştırması.

	Çocukluk yaş grubu (Ort ± SS)	Erişkin yaş grubu (Ort ± SS)	p
%G <sub>1</sub>	48.8 ± 3.1	89.0 ± 2.6	< 0.001
%G <sub>2</sub>	22.6 ± 5.3	3.12 ± 1.1	< 0.001
%S	28.7 ± 5.8	7.9 ± 2.1	< 0.001

### Akım Sitometrik Bulgular

Akım sitometrik analiz ile grupların hücre siklusuna ait G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> ve S fazlarının % olarak değerleri, ortalamaları ve standart sapmaları hesaplandı. Elde

edilen bu sonuçlar doğrultusunda gruplar birbirleriyle istatistiksel olarak karşılaştırıldı (Tablo 2).

Çocukluk yaş grubu ligamentlerinin akım sitometrik analiz sonuç ortalamaları; G<sub>1</sub>: 48.8 ± 3.1, G<sub>2</sub>: 22.6 ± 5.3 ve S: 28.7 ± 5.8 iken, erişkin yaş grubu akım sitometrik analiz sonuç ortalamaları ise G<sub>1</sub>: 89.0 ± 2.6, G<sub>2</sub>: 3.12 ± 1.1 ve S: 7.9 ± 2.1 idi. İki grubun sonuçları karşılaştırıldığında analiz sonuçlarının tümünde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu (p < 0.001).

### Tartışma

Ligamentum capitis femoris, femur başını acetabulumla bağlayan ve femur başının beslenmesinden sorumlu, sağlamlık bakımından şahıslar arasında farklılık gösteren bir ligamenttir. Wertheimer ve Lopes; ligamental arterlerin varlığını ve ligamentum capitis femoris'in femur başının beslenmesinden sorumlu olduğunu göstermiştir.<sup>5</sup>

Yapılan çalışmada, ligamentum capitis femoris'in yaş grupları arasında histolojik farklılıklarının ışık mikroskopik ve akım sitometrik olarak karşılaştırılması, ligamentin ilerleyen yaşlarda artan mekanik yüke adaptasyonunun değerlendirilmesi açısından da önemlidir. Woo ve ark., ilerleyen yaşla birlikte, ligamentin enerji depolama ve kullanma kapasitesinin azaldığını göstermişlerdir.<sup>6</sup>

Çalışmada ışık mikroskopik olarak; çocukluk yaş grubunda ligamentum capitis femoris'in kollagen lif demetlerinin oldukça sıkı ve düzenli dizilimli, kollagen lif demetleri arasındaki hücrelerin bu liflere paralel, düzenli dizilimli ve oldukça yoğun olması, erişkin grupta ise kollagen lif demetlerinin düzensiz dizilimli, kollagen lif demetleri arasındaki hücrelerin ise düzensiz ve seyrek olması yumuşak dokunun aşırı yüklendiği zaman kollagen liflerin daha fazla üretildiğini, düzensizleştiğini ve hipertrofi olduğunu göstermektedir.<sup>7</sup> Bu yapı değişikliklerinin ilerleyen yaşlarda basıya bağlı mekanik etkiden kaynaklandığı kaynak verileri ile desteklenmiştir.<sup>8</sup> Hipertrofi, biyolojik dokunun fonksiyonel ihtiyaçlarını karşılamaya yöneliktir. İlerleyen

yaşlarda artan yük ve mekanik bası kollagen liflerde hipertrofi nedenidir.<sup>8,9</sup>

Ligamentin acetabulumuna yakın kısmındaki hücreler iğsi şekilli ve hiperkromatik nukleuslu idi. Bunlar matür fibroblastlar yani fibrositler olarak değerlendirildi. Femur başına yakın kısımdaki hücreler ise oval şekilli ve hipokromatik nukleuslu idi. Bu hücrelerde mitoz figürleri izlendi. Bunlar ligamentin rejenerasyonunu sağlayan genç ve aktif fibroblastlar olarak değerlendirildi. Erişkin yaş grubunda, femur başına yakın kısımda az sayıda aktif fibroblastlarla birlikte bol miktarda matür fibroblastlar izlendi. Erişkin gruptaki hücrelerde mitoz figürlerine daha az rastlandı. Erken yaş grubunda aktif fibroblastların femur başına yakın alanlarda izlenmesi rejenerasyonun bu kısımda daha fazla olduğunu ve erişkin yaşlarda daha az miktarda izlenmesi ise rejenerasyonun ilerleyen yaşla birlikte azaldığını göstermektedir. Ayrıca rejene-rasyonun proksimalde, distale göre daha fazla olmasının vaskülarizasyon ve innervasyon yayılımının proksimalden distale doğru olması ile uyumlu olduğunu düşünüyoruz.

Her iki grupta kollagen lif demetleri arasında kılcal damarlar, arterioller ve venüllere rastlandı. Fakat erişkinlerde damar duvar kalınlığının daha fazla olmasının hücre sel sentezin mekanik uyarısına bağlı olduğunu düşünüyoruz. Bu hipotezimiz kaynak verileri ile de desteklenmektedir.<sup>10,11</sup>

Çocukluk yaş grubunda kollagen lif demetleri arasında bol elastik lif toplulukları vardı. Bunlar paralel dizilimli ve kalındı. Erişkin yaş grubunda ise elastik lif bantlarının azaldığı ve kesik kesik düzensiz hal aldığı görüldü. Greenlee ve ark.; elastik liflerin yaşla birlikte olgunlaşıp, kalınlaştığını göstermiştir.<sup>12</sup> Bizim çalışmamızda erişkin yaş grubunda elastik liflerin azaldığının ve incelendiğinin tespit edilmesi, elastik liflerin buldukları yerin fonksiyonuna bağlı olarak farklı gelişim ve yapı gösterebileceği bilgisi ile uyumludur.<sup>13</sup>

Akım sitometri, moleküler düzeyde analiz imkanı veren tekniklerden birisidir. Parafinde bloklanmış dokuların akım sitometri tekniği ile

incelenmesi son yıllarda başarılmıştır. Günümüzde akım sitometri dk.da 1000-100000 hücreyi birçok özellikleriyle inceleyip, verileri analiz edebilen bir düzenektir. Hücrelerin kohezyon göstermeden tek tek dağılabildikleri bir süspansiyon içinde olmaları şarttır. Kullanılacak örnek, cerrahi işlemle elde edilen taze dokulardan, dondurularak saklanmış ya da parafinde bloklanmış dokulardan elde edilmiş olabilir.<sup>4,14</sup> Parafinde bloklanmış dokuların akım sitometri ile incelenmesinde taze dokulara göre bazı avantajlar vardır. Parafinde bloklanmış dokuların önce ışık mikroskopik inceleme şansı olduğundan dokunun en uygun kısmını seçmek mümkündür. Taze dokularda yeterli ve doğru örnekleme yapılıp yapılmadığını kontrol etmek ise çok zordur.

Tespitli parafinize dokularda hücre nukleusları daha iyi korunduğundan DNA içeriğinin incelenmesi daha doğru olacaktır.<sup>4</sup> Deparafinizasyon işlemi, değerlendirilecek hücrelerin membranlarının ve stromal elemanların zarar görmelerine neden olduğundan, parafinize dokularda hemen yalnızca nukleuslarla ilgili DNA çalışmaları yapılabilmektedir.

Parafin bloklardaki çocukluk ve erişkin yaş gruplarına ait ligamentum capitis femoris materyallerine akım sitometri tekniği ile DNA analizi yapıldı. G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> ve S fazları gruplar arasında karşılaştırıldı. Çalışmamızdaki grupları incelediğimiz zaman, DNA indeksinin diploid özellikte olduğu tespit edildi. Çocukluk yaş grubunda mitotik aktiviteden dolayı G<sub>1</sub> yüzdesi düşük bulunurken, erişkin grupta mitotik aktivitenin azalmasıyla G<sub>1</sub> oranındaki artış kaynak verileriyle de desteklenmiştir.<sup>4</sup>

G<sub>2</sub> fazı DNA içeriğinin 2 katına çıkıp mitozun gerçekleştiği fazdır.<sup>14</sup> Bu fazda elde edilen değerler dolaylı olarak mitotik aktiviteyi göstermektedir. Çocukluk ve erişkin yaş grupları arasında yapılan değerlendirmede, çocukluk yaş grubunda G<sub>2</sub> yüzdesi, erişkin yaş grubuna göre anlamlı olarak yüksekti (p< 0.001). Bu yüksekliğin nedenini, çocukluk yaş grubundaki bağ dokusu hücrelerinin

(fibroblastlar) mitotik aktivitesinin yüksekliği ile açıklayabiliriz.

S faz değeri, hücrelerin sentez hızı hakkında bilgi vermektedir. Aktif DNA içeriğinin 2 katına çıktığını gösteren faz sentez fazıdır. Bizim çalışmamızda çocukluk yaş grubunun S faz değeri erişkin yaş grubuna göre anlamlı olarak yüksek idi ( $p < 0.001$ ).

Işık mikroskopik ve akım sitometrik analiz ile çocukluk yaş gruplarında mitotik aktivitenin erişkin yaş grubuna göre oldukça fazla olduğu belirlendi.

Sonuç olarak; ligamentum capitis femoris'in çocukluk ve erişkin yaş gruplarında histolojik farklılıklar gösterdiğini ve bu değişikliklerin akım sitometrik bulgular ile de uyumlu olduğunu belirledik. Ligamentum capitis femoris hasarlarında, özellikle genç bireylerde, mitotik aktivitenin hızlı olması nedeniyle erken müdahale ve uygun tedavilerle hızlı iyileşme sağlanabilir. Ligamentin yapısına yönelik bu tür çalışmaların artırılması ile bu konuda yapılacak uygulamalara yön verilebileceğini düşünüyoruz.

#### KAYNAKLAR

1. Odar İV. Anatomi Ders Kitabı. 12. Baskı. Ankara: Hacettepe Taş Kitapçılık Ltd. Şti; 1986. p.127-8.
2. Warwick R, Williams PL. Gray's Anatomy. 35<sup>th</sup> ed. Edinburg: Logman Group; 1973. p.449-50.
3. Riley RS, Mahin EJ, Ross W. Clinical application of flow cytometry. 1<sup>st</sup> ed. New York: Iqaku Shoin Medical Publishers Inc; 1993. p.361-7.
4. Hedley DW, Friedlander ML, Taylor IW. Application of DNA flow cytometry to paraffin-embedded archival material for the study of aneuploidy and its clinical significance. Cytometry 1985;6:327-33.
5. Wertheimer LG, Lopes Sde L. Arterial supply of the femoral head. A combined angiographic and histological study. J Bone Joint Surg Am 1971;53:545-56.
6. Woo SL, Orlando CA, Gomez MA, Frank CB, Akeson WH. Tensile properties of the medial collateral ligament as a function of age. J Orthop Res 1986;4:133-41.
7. Kennedy JM, Eisenberg BR, Reid SK, Sweeney LJ, Zak R. Nascent muscle fiber appearance in over loaded chicken slow-tonic muscle. Am J Anat 1988;181:203-15.
8. Glagov S, Zarins CK, Masawa N, Xu CP, Bassiouny H, Giddens DP. Mechanical functional role of non-atherosclerotic intimal thickening. Front Med Biol Eng 1993;5:37-43.
9. Johnson TL, Klueber KM. Skeletal muscle following tonic overload: Functional and structural analysis. Med Sci Sports Exerc 1991;23:49-55.
10. Leung DY, Glagov S, Mathews MB. Cyclic stretching stimulates synthesis of matrix components by arterial smooth muscle cells in vitro. Science 1976;191:475-7.
11. Chen HH, Li AF, Li KC, Wu JJ, Chen TS, Lee MC. Adaptations of ligamentum teres in ischemic necrosis of human femoral head. Clin Orthop 1996;328:268-75.
12. Greenlee TK Jr, Ross R, Hartman JL. The fine structure of the elastic fibers. J Cell Biol 1966;30:59-71.
13. Ippolito E, Ishii Y, Ponseti IV. Histologic, histochemical and ultrastructural studies of the hip joint capsule and ligamentum teres in congenital dislocation of the hip. Clin Orthop Relat Res 1980;146:246-58.
14. Vindelov LL, Christensen IJ. A review of techniques and results obtained in one laboratory by an integrated system of methods designed for routine clinical flow cytometric DNA analysis. Cytometry 1990;11:753-70.