

Böbrek ile ilgili morfolojik yapı hacimlerinin stereolojik yöntemle araştırılması*

Mehmet Ali MALAS, Osman SULAK, Bahadır ÜNGÖR, Esra ÇETİN, Soner ALBAY

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi AD, Isparta

Özet

Amaç: Çalışmamızda stereolojik yöntem kullanılarak ratlarda böbreğin total hacmi ve böbrek pelvis hacminin belirlenmesi amaçlandı.

Gereç ve yöntem: Çalışmamızda anomali ve patolojisi olmayan beş erkek ve beş dişi rat kullanıldı. Ratların ağırlıkları 150-200 gram arasında değişiyordu. Cavalier yöntemi kullanılarak böbreğin total hacmi ve pelvis hacmi tahmin edildi. Daha sonra böbreğin yoğunluğu belirlendi.

Bulgular: Cinsler, sağ ve sol böbrek arasında böbrek hacimleri farklıydı ama böbrek total hacmi / pelvis hacmi oranının cinsler, sağ ve sol böbrek arasında farklı olmadığı belirlendi ($p>0.05$). Böbrek parametreleri arasında ise müspet yönde korelasyon vardı ($p<0.001$)

Sonuç: Cinsler arasında ve sağ - sol böbrekler arasında total böbrek ve renal pelvis hacminin farklılık gösterdiği saptandı.

Anahtar kelimeler: Böbrek total hacmi, böbrek pelvis hacmi, rat

Abstract

Determination of the volume of renal morphological structure by stereological method

Objective: The purpose of the present study is to assess the kidney total volume and renal pelvis volume in rats using the stereological method.

Materials and methods: In this study, we examined 20 kidney of 10 albino adult rats (male 5, female 5) with no anomalies and pathologies. The rats were weighing between 150-200 gr. Total kidney volume and renal pelvis volume were estimated using Cavalier Principles. The density of the kidney were calculated as well.

Results: The volumes of the kidney were different between right and left sides and between sex. But, the ratios of the kidneys total volumes to renal pelvis volumes between right and left and sex was not significant ($p>0.05$). The correlation between the kidneys parameters were significant ($p<0.001$).

Conclusion: The kidney total volume and renal pelvis volume were different between sexes and right and left sides.

Keywords: Kidney total volume, renal pelvis volume, rat

*: Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 568 Proje numarası ile desteklenmiştir.

Giriş

Böbrek ile ilgili morfolojik yapıların hacimlerinin somut olarak ifade edilmesi oldukça önemlidir. Böbrek yapısına ait korteks, medulla ve kaliksiyel yapılarda meydana gelen gelişme geriliği, patoloji ve anomalilerle sonuçlanır, Böbrek hacmi ile ilgili tanımlanan morfolojik sayısal tanımlamalar deneysel çalışmalarda ve tedavi sonrası takip açısından oldukça önemlidir.

Daha önce yapılan çalışmalarda böbrek yapısına ait histolojik doku hacimleri ile ilgili tanımlamalar ortaya konulmuştur (4-6). Deney hayvanlarında yapılan toksikolojik çalışmalarda; toksik ajanların böbrek yapısı üzerine olan etkisi böbrek dokusu üzerinde yapmış oldukları patolojilerin stereolojik olarak yapılan hesaplamalarında yüzey alanı, sayısal ve hacimsel değişiklikleri hakkında bilgiler sunulmuştur. Mayhew TM (4) diabetik ratlarda yaptığı

çalışmada renal glomeruller üzerine olan etkileri stereolojik yöntemle hacim hesaplamalarıyla ortaya koymuştur. Bertram JF (6) renal glomeruler yapıları stereolojik yöntemle çalışmış renal glomerul sayıları ve hacimleri ile ilgili sayısal tanımlamalar ortaya koymuştur. Ayrıca glomeruler hücre sayısı ve boyutları hakkında da bilgiler vermiştir. Casotti ve Braun (5) renal yapılarla ilgili yaptığı elektron mikroskopik çalışmada stereolojik olarak böbrek damar yapıları ile ilgili olarak, yüzey alanı ile ilgili tanımlamalar ortaya koymuştur.

Daha önce böbrek patolojilerinde böbreğin total yapısı ile ilgili olarak renal hipertrofi veya renal agnesis tanımlamalarında sayısal parametreler ile ilgili sınıflamalardan ziyade daha soyut tanımlamalar kullanılmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda pelvis yapısı ve öncesine ait kaliksiyel yapıların hacmi ile ilgili stereolojik herhangi bir yöntem tanımlan-

mamıştır. Çalışmamızda böbreğin total hacmi ve kaliksiyel yapılarla ilgili olarak stereolojik yöntemle hacim hesaplamalarının yapılması planlandı. Daha önce yaptığımız pilot çalışmada hesaplanmasını düşündüğümüz bu yapılarla ilgili olarak stereolojik hacim hesaplamasının Cavalier yöntemi ile olabileceği görüldü. Böbreğin total ve kaliksiyel yapıları ile ilgili hacimsel ifadelerin böbrek gelişimi, patoloji ve anomalilerinin değerlendirilmesinde yardımcı olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca daha sonra yapılacak olan renal yapılar ile ilgili toksikolojik ve teratolojik çalışmalara da örnek teşkil edecektir. Çalışmamızda ayrıca böbrek yapılarına ait morfolojik tanımlamalar ile cinsler ve sağ sol arası bölgesel farklılıkların olup olmadığı diğer literatürler ışığında tartışılacaktır. Ayrıca varyasyonların olup olmadığı araştırılacaktır. Çalışmamızda böbrek yapılarına ait hacim parametrelerinin veya morfolojik yapıların daha fazla tanımlanması ile böbrek ile ilgili yapısal ve bölgesel patolojiler hakkında daha fazla bilgi sunulmuş olacaktır. Ayrıca böbrek malformasyonlarının, anomalilerinin veya patolojilerinin teşhis ve tedavisine katkıda bulunmuş olacaktır. Çalışmamızda böbrek ile ilgili morfolojik yapı hacimlerinin stereolojik yöntemle araştırılması amaçlandı.

Materyal ve Metod

Çalışmada ağırlıkları 150 - 200 gram arasında değişen 5 dişi ve 5 erkek Wistar albino cinsi erişkin rat kullanıldı. Böbrek dokusu ratlar dan total olarak çıkarıldı. Çalışma öncesi böbrek ağırlığı Mettler Toledo Medium PB 153 marka elektronik terazi ile ölçüldü. Ayrıca böbreklerin uzunluğu, kalınlığı ve genişliği de kumpas yardımı ile ölçüldü. Özel hazırladığımız mikropipetler kullanılarak böbreklerin taşıma su yöntemi ile total hacimleri belirlendi.

Daha önce yaptığımız pilot çalışmada, hesaplamayı düşündüğümüz böbrek total hacmi ve pelvis hacmi ile ilgili olarak stereolojik hacim hesaplamasının Cavalier yöntemi ile yapılabileceği görüldü. Çalışmada böbreklerin hacmi stereolojik olarak Cavalier'in tarafsız hacim hesaplaması yöntemi kullanılarak belirlendi (1, 2). Böbrekler rutin histolojik takip yöntemlerinden sonra bütün halinde parafin içine bloklandı. Bloklamadan sonra 10 µm kalınlığında transvers düzlemde seri kesitler alındı.

Kesitlerden sistematik rastgele örnekleme ile alınan 15 adet kesit, hematoksin eozin ile boyandı. Oküler mikrometrede nokta sayımı yapıldı. Oküler mikrometrenin kesit yüzeyini tamamen kaplamadığı kesitlerde, mikroskop tablasının x ve y eksenine yerleştirdiğimiz stage-meter (mikrometre cinsinden uzunluk ölçen saat) kullanıldı. Nokta sayımını takiben kesit alanı hesaplandı. Daha sonra kesit alanı kesit kalınlığı ile

çarpılarak hacim hesaplaması yapıldı. Hacim hesaplamasında $V = P \cdot a \cdot (p) \cdot t$ formülü kullanıldı (V: hacim, P: tüm kesitlere isabet eden toplam nokta sayısı, a: bir noktanın temsil ettiği alan, p: kesit sayısı, t: kesit kalınlığı).

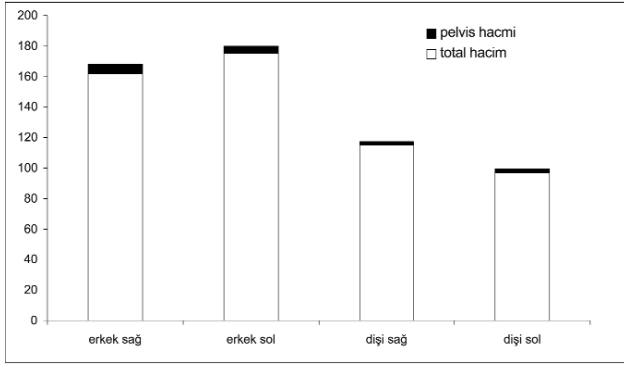
Böbreklerin gerçek hacimleri, dokuların formaldehit fiksasyonu ve parafin blok içerisindeki büzüşme nedeniyle küçüleceğinden dolayı (3) bu azalma dikkate alınarak tahmini hacim hesaplandı. Daha sonra böbreklerin yoğunlukları $(Dn) = \text{ağırlık (W)} / \text{hacim (V)}$ formülü kullanılarak hesaplandı. Cinslere ve sağ sol olmalarına göre bütün olgulardan alınan ölçümler ayrı ayrı değerlendirildi. Windows versiyonlu SPSS istatistik programı kullanılarak bütün verilerin ortalamaları ve standart sapmaları belirlendi. Cinsler arası , sağ ve sol böbrek ölçülerinin karşılaştırılmasında Nonparametrik Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Bulgular

Çalışmamızda kullanılan 5 dişi ve 5 erkek Wistar albino cinsi ratların ağırlıkları gram cinsinden ölçüldü. Ratlar eter anestezisi ile bayıltıldı, sonra abdomen diseksiyonu ile böbrek yapıları total olarak çıkarıldı. Çıkarılan böbrekler, Mettler Toledo Medium PB 153 marka elektronik terazi ile ölçüldü. Ayrıca böbreklerin uzunluğu, kalınlığı ve genişliği de kumpas yardımı ile ölçüldü (Tablo 1). Mikropipetler yardımı ile taşıma su yöntemi ile böbreklerin total hacimleri belirlendi (Tablo 1).

Böbreklerin hacminin, stereolojik olarak Cavalier'in tarafsız hacim hesaplaması yöntemi (1, 2) ile belirlenmesi için, böbrekler rutin histolojik takip yöntemlerinden sonra bütün halinde parafin içine bloklandı. Bloklamadan sonra, transvers düzlemde 10 mikron kalınlığında seri kesitler alındı. Kesitlerden sistematik rastgele örnekleme ile alınan 15 adet kesit hematoksin eozin ile boyandı (Resim 1). Oküler mikrometrede nokta sayımı yapıldı. Nokta sayımında 2 lik ve 4 lük objektiflerde 10X10 luk nokta gridler kullanıldı. Nokta sayımını takiben kesit alanı hesaplandı. Daha sonra Cavalier yöntemine uygun olarak formüller kullanılarak total ve renal pelvis hacmi hesaplaması yapıldı.

Böbreklerin gerçek boyutları dokuların formaldehit fiksasyonu ve parafin blok içerisinde büzüşmesinden dolayı küçüleceğinden büzüşme katsayısı belirlendi. Bu katsayının belirlenmesinde işlemler öncesi aldığımız boyutlar ile işlem sonrası aldığımız boyutlar karşılaştırıldı. Böbreklerdeki büzüşmenin veya küçülme katsayısının, ortalama %48.16 olduğu belirlendi. Bu azalma dikkate alınarak tahmini gerçek hacim hesaplandı (Tablo 2). Daha sonra böbreklerin yoğunlukları $(Dn) = \text{ağırlık (W)} / \text{hacim (V)}$ formülü



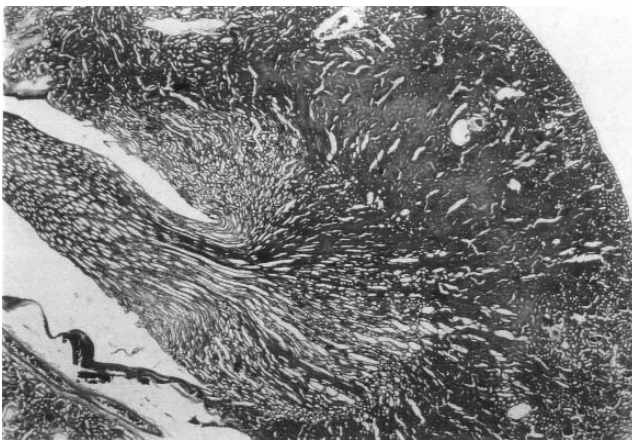
Grafik 1 : Cinslere, sağ ve sola göre böbreklerin total ve pelvis hacimleri (mm³)

kullanılarak hesaplandı (Tablo 2). Cinslere ve sağ sol olmalarına göre bütün olgulardan alınan ölçümler ayrı ayrı değerlendirildi.

Cinsler arasında bütün parametrelerde farklılık olduğu tespit edildi ($p < 0.001$, Tablo 1). Her iki cinstede sağ ve sol böbrek ölçülerinin karşılaştırılmasında da farklılık olduğu belirlendi ($p < 0.01$, Tablo 1, Tablo 2). Erkek sağ böbrek parametreleri ile dişi sağ böbrek parametreleri ve erkek sol böbrek parametreleri ile dişi sol böbrek parametrelerinin karşılaştırılmasında da farklılık olduğu belirlendi ($p < 0.01$, tablo 1, tablo 2). Total hacim ile renal pelvis hacim oranının cinsler arasında karşılaştırılmasında ise farklılık olmadığı belirlendi ($p > 0.05$). Parametreler arasındaki korelasyon ilişkisinde anlamlı bulundu ($p < 0.001$).

Tartışma ve Sonuç

Daha önce yapılan çalışmalarda, böbrek yapısına ait histolojik doku hacimleri ile ilgili tanımlamalar ortaya konulmuştur (4-6). Deney hayvanlarında toksik ajanların böbrek yapısı üzerine olan etkisi, böbrek dokusu üzerinde yapmış oldukları patolojilerin stereolojik olarak yapılan hesaplamalarında yüzey alanı, sayısal ve hacimsel değişiklikler hakkında bilgiler sunulmuştur. Mayhew TM (4) diabetik ratlarda yap-



Resim 1 : Böbrek kesitinde korteks, medulla ve pelvise ait yapıların görüntüsü (H&E, X48)

tığı çalışmada diabetin renal glomeruller üzerine olan etkilerini belirtmektedir. Bertram JF (6) renal glomeruler yapıları stereolojik yöntemle çalışmış renal glomerul sayıları ve hacimleri ile ilgili sayısal tanımlamalar ortaya koymuştur. Casotti ve Braun (5) elektron mikroskopik çalışmada stereolojik olarak böbrek damar yapıları ile ilgili olarak yüzey alanı ile ilgili tanımlamalar ortaya koymuştur.

Seyer-Hansen ve Gunderson (7) kompensatuar renal hipertrofiyi ratlarda çalışmışlar, ve tek taraflı yapılan nefrektomi sonrası karşı tarafta gelişen renal hipertrofi ile ilgili stereolojik veriler elde etmişlerdir. Nefrektomi sonrası 4. günde kompensatuar renal hipertrofide böbrek ağırlığında %31, total glomerul hacminde %17, glomerül filtrasyon yüzeyinde ise %10 oranında artış olduğunu ortaya koymuşlardır. 24 gün sonra ise böbrek ağırlığında %44, total glomerul hacminde %24, glomerül filtrasyon yüzeyinde ise %22 oranında artış olduğunu belirttiktedirler (7). Yine aynı çalışmada 4. günde proksimal tubuldeki hücre hacminin %30, proximal tubul çapının ise %11 arttığı ifade edilmektedir. Tubuler uzunluğun ise daha sonra arttığı belirtilmektedir. Seyer-Hansen ve Gunderson (7) bu çalışmalarında renal hipertrofide glomerül büyümesinin tubuler büyümeden daha az olduğunu göstermişlerdir. Renal hipertrofide proximal tubul önce transver olarak büyümekte, daha sonra ise longitudinal olarak artmaktadır. Ayrıca Seyer Hansen ve Gunderson (7) proximal tubuldeki büyüme fazının hücre hipertrofisi ve hücre hiperplazisine bağlı olduğunu belirttiktedirler.

Bertram JF (6) ortalama ağırlığı 215 16 gram olan Sprague Dawley ratlarda renal yapıları stereolojik yöntemle çalışmış, renal total hacimlerin 848 118 mm³ olduğunu tespit etmiştir. Çalışmamızda ise ortalama ağırlığı 185 15 gram olan Wistar albino cinsi ratlarda böbrek total hacminin 97.05 13 ile 175 15 mm³ arasında olduğu tespit edildi.

Casotti ve Braun (5) farklı serçe türlerinde serçelerin böbrek anatomisi ile ilgili yaptıkları stereolojik çalışmada, böbreğin korteks, medulla ve majör damarlarının hacimlerini stereolojik yöntemle ortaya koymuşlardır. Ayrıca nefronun yüzey alanı ve hacmini de hesaplamışlardır. Farklı serçe türlerinde böbrek medulla hacminin farklı olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). Kortekste yapılan hacim hesaplamasında proksimal tubul hacminin distal tubul hacminden yüksek olduğu tespit edilmiştir (5). Farklı serçe türlerinde de böbrek içerisindeki hacim oranlarının farklılıkları ifade edilmektedir.

Engerman ve Kern (8) diabete bağlı renal patolojide glomeruler hipertrofinin anlamlılığına işaret etmektedir. Ayrıca yapılan diğer çalışmalarda kronik enfeksiyon veya neoplazilere bağlı renal patolojilerde renal

Tablo 1 : Makroskobik verilerin cinslere, sağ ve sola göre dağılımı

	CİNS*			
	ERKEK**		DİŞİ**	
	SAĞ***	SOL***	SAĞ***	SOL***
Böbrek Ağırlığı (mgr)	673 ± 50	776 ± 56	590 ± 45	557 ± 48
Böbrek hacmi taşıma yöntemi (mm ³)	675 ± 120	650 ± 95	550 ± 85	540 ± 75
Böbrek Yüksekliği (mm)	15,6 ± 2	16,78 ± 3	14,16 ± 3	14,95 ± 3
Böbrek Genişliği (mm)	10,9 ± 2	10,69 ± 2	10,18 ± 2	9,81 ± 2
Böbrek Kalınlığı (mm)	7,25 ± 2	8,05 ± 2	6,82 ± 1	7,17 ± 1

* : p<0.001, bütün parametrelerde cinsler arası farklılık

** : p<0.01, bütün parametrelerde sağ - sol arası farklılık

*** : p<0.01, erkek sol ile dişi sol, erkek sağ ile dişi sağ arası fark

yapılar ile ilgili hacimlerin ve kantitatif değerlerin değişebileceği önemle vurgulanmaktadır (9-11) Daha önce böbrek patolojilerinde böbreğin total yapısı ile ilgili olarak renal hipertrofi veya renal agenesis tanımlamalarında sayısal parametreler ile ilgili sınıflamalardan ziyade daha soyut tanımlamalar kullanılmıştır. Ayrıca böbreğin pelvis yapısı ve öncesine ait kaliksiyel yapılarla ilgili olarak yapılan patoloji ve

anomalilerde yapılan hidronefroz isimlendirmesinde daha önce yapılan çalışmalarda stereolojik olarak herhangi bir yöntem tanımlanmamıştır.

Çalışmamızda böbreğin total hacmi ve kaliksiyel yapılarla ilgili olarak stereolojik yöntemle hacim hesaplamaları yapıldı. Rat böbreklerinde pelvisi oluşturan yapıların hacimlerinin böbreğin total hacimlerine göre %2-3 arasında olduğu tespit edildi (Tablo 2,

Tablo 2 : Mikroskobik verilerin cinslere, sağ ve sol oluşlarına göre dağılımı

	CİNS*			
	ERKEK**		DİŞİ**	
	SAĞ***	SOL***	SAĞ***	SOL***
Böbrek total hacim (mm ³)	162 ± 25	175,13 ± 15	114,90 ± 15	97,05 ± 13
Renal pelvis hacmi (mm ³)	5,78 ± 2	4,912 ± 1	2,42 ± 1	2,75 ± 1
^b Tahmini gerçek total hacim (mm ³)	240 ± 22	259,47 ± 14	170,23 ± 20	143,78 ± 21
Ağırlık / hacim oranı	2,8 ± 1	2,99 ± 1	3,46 ± 1	3,87 ± 1
Total hacim / pelvis hacmi	3,56 ± 1	2,80 ± 1	2,10 ± 1	2,83 ± 1

* : p<0.001, bütün parametrelerde cinsler arası farklılık (total hacim / pelvis hacmi hariç)

** : p<0.01, bütün parametrelerde sağ - sol arası farklılık

*** : p<0.01, erkek sol ile dişi sol, erkek sağ ile dişi sağ arası fark

^b : total hacme % 48.16 lık büzüşme miktarı ilaveli, büzüşme katsayısı; % 48.16 (önceki boyutun küçülme miktarı)

Grafik 1). Çalışmamızda ayrıca böbrek yapılarına ait morfolojik tanımlamalar ile cinsler ve sağ-sol arası bölgesel farklılıkların olup olmadığı diğer literatürler ışığında tartışıldı. Ayrıca pelvis hacimlerinin varyasyonlarının olup olmadığı konusunda yapılacak çalışmalara da bu çalışmamızın alt yapı oluşturabileceği kanaatindeyiz. Böbrek pelvis yapısını değiştirecek anomali ve patolojilerde pelvis yapısının normal hacminin belirlenmesi oldukça önemli olabilir. Böbreğin pelvis yapısını oluşturacak olan kaliksiyel yapılar ile ilgili hacimsel ifadelerin böbrek gelişiminin, patoloji ve anomalilerinin değerlendirilmesinde de yardımcı olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca daha sonra yapılacak olan renal yapılar ile ilgili toksikolojik ve teratolojik çalışmalarda örnek teşkil edecektir. Araştırmamızda insanlarda pelvis ve onu oluşturan yapılar ile ilgili hacimsel olarak yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmadı. İnsanlarda normal pelvis hacimlerinin ortaya konması pelvis hacmini değiştirebilecek patoloji ve anomalilerin yorumlanmasında yardımcı olabilecektir.

Kaynaklar

1. Gunderson HJG, Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen L, Moler A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, Sorensen FB, Vesterby A, West MJ. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS* 1988; 96: 379-94.
2. West MJ. New stereological methods for counting neurons. *Neurobiology of Aging* 1993; 14: 275-85.
3. Hopwood D. Fixation and fixatives. In: Bancroft JD, Stevens A, Turner DR. *Theory and practise of histological techniques*. Fourth ed. USA: Churchill Livingstone 1996: 32-3
4. Mayhew TM. Second-order stereology and ultrastructural examination of the spatial arrangements of tissue compartments within glomeruli of normal and diabetic kidneys. *J Microsc.* 1999 Aug; 195 (Pt 2): 87-95.
5. Casotti G, Braun EJ. Renal anatomy in sparrows from different environments. *J Morphol.* 2000 Mar; 243(3): 283-9.
6. Bertram JF. Analyzing renal glomeruli with the new stereology. *Int Rev Cytol.* 1995; 161: 111-72. Review.
7. Seyer-Hansen K, Gunderson HJG, Ostterby R. Stereology of the rat kidney during compensatory renal hypertrophy. *Acta Path Microbiol Immunol Scand Sect A*, 1985; 93: 9-12.
8. Engerman RL, Kern TS. Hyperglycemia and development of glomerular pathology: diabetes compared with galactosemia. *Kidney International* 1986; 36: 41-5.

9. Ward JM, Konishi N, Diwan BA. Renal tubuler cell or hepatocyte hyperplasia is not associated with tumor promotion by di(2-ethylhexyl)phthalate in B6C3F1 mice after transplacental initiation with N-nitrosoethylurea. *Exp Pathol* 1990; 40: 125-38

10. Ellis EN, Steffes MW, Goetz FC, Sutherland DER, Mauer SM. Glomerular filtration surface in typ I diabetes mellitus. *Kidney International* 1986; 29: 889-94.

11. Sundelin B, Bohman SO. Loss of renomedullary interstitial cells in brattleboro rats after vasopressin treatment. *Laboratory Investigation* 1988; 58: 388-94.

Yazışma Adresi:

Doç.Dr M.Ali MALAS
SDÜ Tıp Fak.Anatomi AD, 32260 / ISPARTA

Tel : 0 246 2113301
Fax : 0 246 2371165

E-mail: mamalas@hotmail.com