

ALABALIKLARIN KUYRUK KASLARINDA MOTOR SİNİR SONLARININ MORFOLOJİK VE HİSTOŞİMİK ÖZELLİKLERİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR*

Hatice ERDOST**

ÖZET

Çalışmada, alabalıkların kuyruk bölgesi kaslarının yapısal özellikleri, sinir sonlarının tipleri ve biçimleri ışık mikroskopik düzeyde incelendi.

Alabalığın kuyruk bölgesinde m. lateralis superficialis'in küçük çaplı kırmızı kas fibrillerinden oluştuğu görüldü. M. lateralis superficialis dışında kalan diğer 6 kas grubunun çoğunluğunun büyük çaplı beyaz kas fibrillerinden oluştuğu ve bunların aralarında intermediyet tip kas fibrillerinin yer aldığı saptandı. Bu kas fibrillerinden başka küçük çaplı üçgen şekilli miyosatellit hücrelerinin de mevcut olduğu tespit edildi.

M. lateralis superficialis'i oluşturan kırmızı kas fibrillerinde innervasyonun multiple ve end plate tip sinir sonları ile sağlandığı tespit edildi. Alabalıklarda m. lateralis superficialis dışında kalan diğer kuyruk bölgesi kaslarında yaygın olarak bulunan beyaz kas fibrillerinin multiple ve end grappe tip sinir sonları ile innerve olduğu görüldü. Ayrıca sadece beyaz kas fibrillerinde sinir sonları dışında kalan bölgelerde endomizyumun AChE pozitif reaksiyon verdiği saptandı.

SUMMARY

Studies on the Morphological and Histochemical Properties of Motor Nerve Terminals of the Tail Muscles of Trout

In this study, structural properties, shapes and types of motor nerve terminals of tail muscles were observed by the light microscopy. In the light of the examinations of slides taken from 7 different muscles of tail region, it was observed that, m. lateralis superficialis was formed by small diameter red muscle fibers whereas the larger part of the other 6 muscles were formed by large diameter white fibers. Meanwhile, intermediate type muscle fibers were found among these muscles. In addition to them, small, triangled myosatellite cells were observed, too.

* Aynı adlı doktora tezinden özetlenmiştir.

** Dr.; U.Ü. Vet. Fak. Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa-Türkiye.

It has been established that the innervation of the red muscle fibers of *m. lateralis superficialis* occurred by multiple and end plate type.

White muscle fibers which are extensively found in the other muscles of the tail in trout, except *m. lateralis superficialis* are innervated by multiple and end grapple type nerve terminals. Also, it has been determined that endomysium had positive AChE activity only in white muscle fibres in other regions except nerve terminals.

Key words: Motor Nerve Terminals, Histochemistry, *Salmo irideus gairdneri*, Muscle fibers.

GİRİŞ

Yaptığımız bu çalışmada alabalıklarda kuyruğun hızlı hareketini sağlayan kuyruk kaslarının güçlü kasılmasını hedef alarak kuyruk kaslarını ve bu kaslardaki sinir-kas ilişkilerini incelemeyi amaçladık.

Memeli hayvanlarda iskelet kası dokusunun yapısal ve fonksiyonel özellikleri gözönünde tutularak histokimyasal teknikler ile 3 tip kas fibrilli içerdiği bilinmektedir. Tip I, yavaş kontraksiyon yapan, yorulmaksızın uzun süre çalışabilen kırmızı kas fibrilleridir. Tip II, genelde hızlı kontraksiyon yapma yeteneğinde ve çabuk yorulan kas fibrilleri olup iki alt gruba ayrılır. Tip II a intermediyet, Tip II b ise beyaz kas fibrilleridir¹.

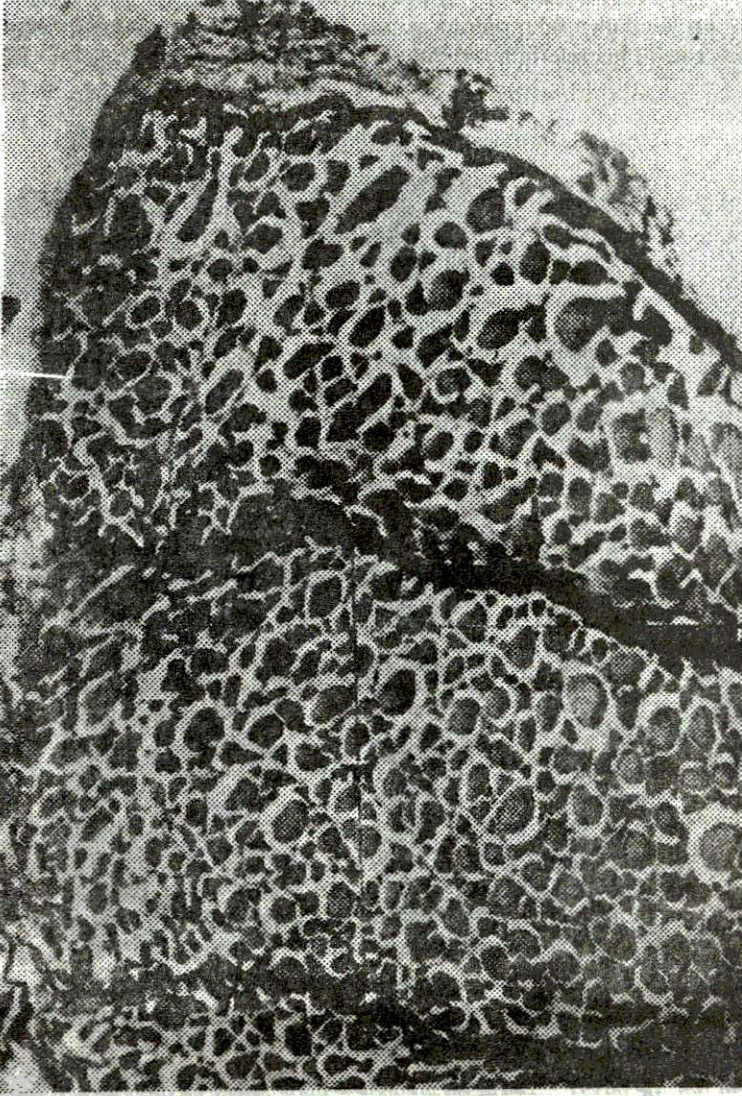
Balıkların kas dokuları üzerinde çalışmalar yapan araştırmacılardan bir kısmı²⁻⁶ kas fibrillerini yapısal ve fonksiyonel özelliklerine göre 4 grupta toplamışlardır. Bunlar, kırmızı, beyaz, intermediyet ve tonik kas fibrilleridir.

MATERYAL VE METOD

Çalışmamızda kullanılan alabalıkların kuyruk bölgesinde bulunan 7 ayrı kastan-*m. suprakarinalis*, *m. dorsalis lateralis*, *m. lateralis dorsalis*, *m. lateralis superficialis*, *m. lateralis ventralis*, *m. ventralis lateralis*, *m. infrakarinalis-doku* örnekleri alındı. % 10 formol, formol-alkol, formol-salin ve susa solusyonlarında tespit edilenlerden 5-7 mikron kalınlığında histolojik kesitler elde edildi ve Crossman'ın üçlü boyama tekniği⁷ ile boyandılar. Kas fibrillerinde mevcut lipid varlığının ortaya konulması amacıyla % 10 formol-salin solusyonunda tesbit edilen doku örneklerine Sudan Black-B metodu⁸ uygulandı. Sinir telleri, sinir sonlarının tipleri ve biçimlerini saptamak amacıyla % 10 formol, formol-alkol solusyonlarında tespit edilenler parafin bloklara alınarak Marsland Glees'in gümüş impregnasyonu metodu⁹ kullanılarak boyandı. Kas fibrillerinde motor sinir sonları çevresinde bulunan AChE enzimini gösterebilmek amacıyla tamponlu formol tespitinde hazırlanmış bloklara Gomori metodu¹⁰ uygulandı.

BULGULAR

Alabalığın kuyruk bölgesinde bulunan 7 kastan elde edilen histolojik kesitler üçlü boyama tekniği ile boyanarak incelendiler. Bu bölgedeki kasların segmentlerden (miyomer) oluştuğu ve bu segmentlerin birbirlerinden ince bir bağ doku tabakası (miyoseptum) ile ayrıldığı görüldü (Resim: 1). Lateral bölgede derinin hemen altında

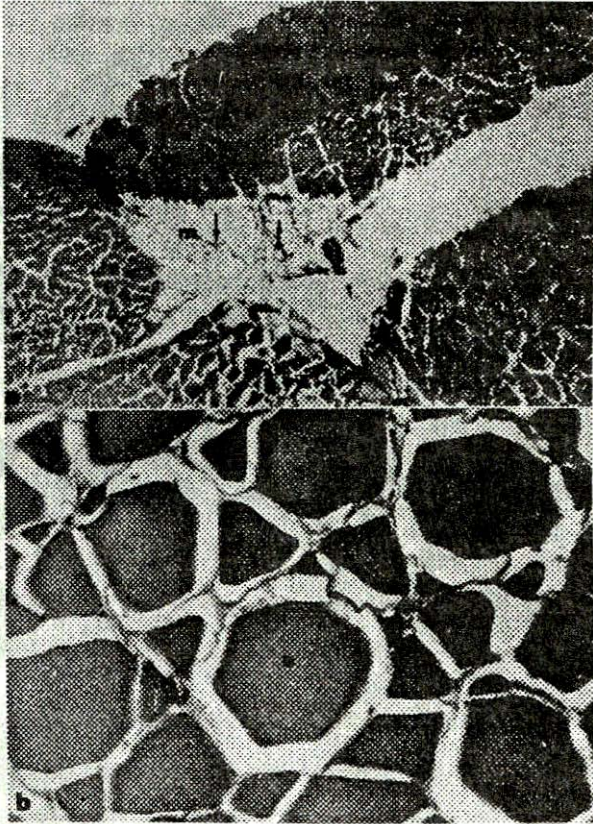


Resim: 1

M. infrakarinalis'de miyomer (m) ve miyoseptum (ok) üçlü boy. tek. x 200

seyreden m. lateralis superfisialis'in horizontal iskelet septumu bölgesinde 2 katman halinde bulunduğu saptandı. Bu katmanların özellikle m. lateralis dorsalis ve m. lateralis ventralis bölgesinde oldukça kalınlaştığı görüldü. M. lateralis superfisialis'in ortalama 16-17 mikron çapta olan kas fibrillerinden oluştuğu ve bu fibrillerin homojen bir yapı oluşturdukları tespit edildi. Ayrıca myoseptumun kan damarları yönünden zengin olduğu saptandı (Resim: 2a).

Alabalığın kuyruk bölgesinde bulunan diğer 6 kasta kas fibrillerinin çoğunluğunun 70-100 mikron çapa sahip oldukları ve bu kas fibrillerinin aralarında orta büyüklükte çapa sahip kas fibrillerinin de yer aldığı görüldü. Bu kaslarda çoğunluğu oluşturan büyük çaplı kas fibrillerinin çevresinde yer alan endomizyumun kan damarları yönünden fakir olduğu ve kas fibrillerinin arasında küçük çaplı, üçgen şekilli miyosatellit hücrelerinin mevcut olduğu tespit edildi (Resim: 2b).

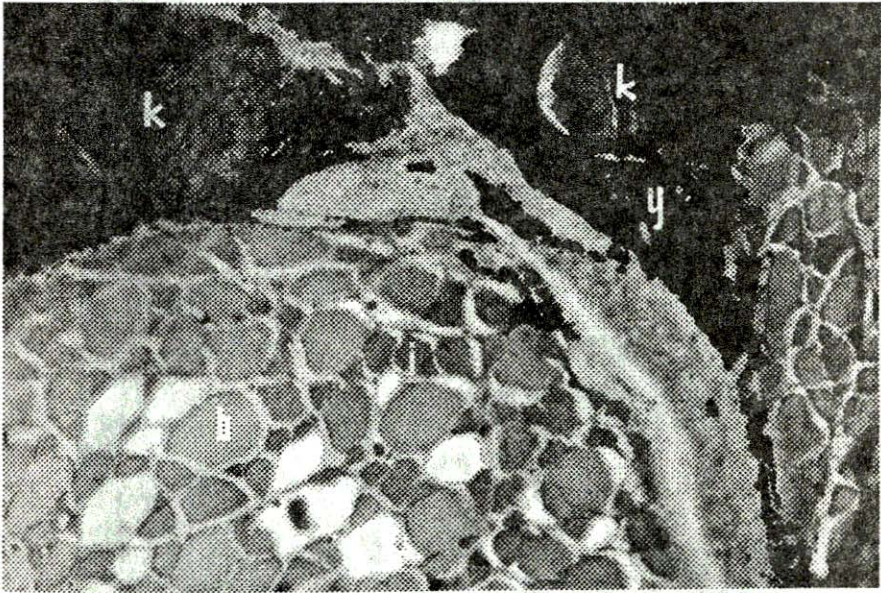


Resim: 2

a) Myoseptum (m) içerisinde kan damarları (ok) m. lat. sup. (a)'in birinci (1) ve ikinci (2) katmanı, m. lat. dor. (b) üçlü boy. tek. x 100

b) M. vent. lat.'de büyük (b) orta büyüklükte (i) kas fibrili ve üçgen şekilli miyosatellit hücreleri (s) üçlü boy. tek. x 450

Kuyruk bölgesindeki kasların lipid varlıklarının ortaya konulması amacıyla yapılan preparatlar incelendiğinde fazla lipid içeren kas fibrilleri preparatlarda koyu tonda görülürken, diğer kas fibrillerinin lipid içeriği miktarına bağlı olarak orta derecede koyulukta ve açık tonda reaksiyon verdikleri saptandı. Miyoseptumda bulunan yağ hücreleri de içermiş oldukları nötr yağlardan dolayı siyah renkte gözlendi (Resim: 3). *M. lateralis superfisialis*'i oluşturan küçük çaplı kas fibrillerinde lipidin hücre içerisinde homojen şekilde yayılmış iri vakuoller halinde olduğu aynı zamanda bu kas fibrillerinin endomizyumunda lipidin bol miktarda bulunduğu saptandı. *M. lateralis superfisialis* dışında kalan diğer 6 kasta kas fibrillerinin lipid miktarları açısından farklı reaksiyon verdikleri ve lipiddен fakir, büyük çaplı kas fibrillerinin açık tonda boyandıkları görüldü. Bu kas fibrillerinde lipidin oldukça küçük veziküller halinde miyofibriller arasında bulunduğu gözlenirken endomizyum tabakasının lipid yönünden fakir olduğu gözlendi.

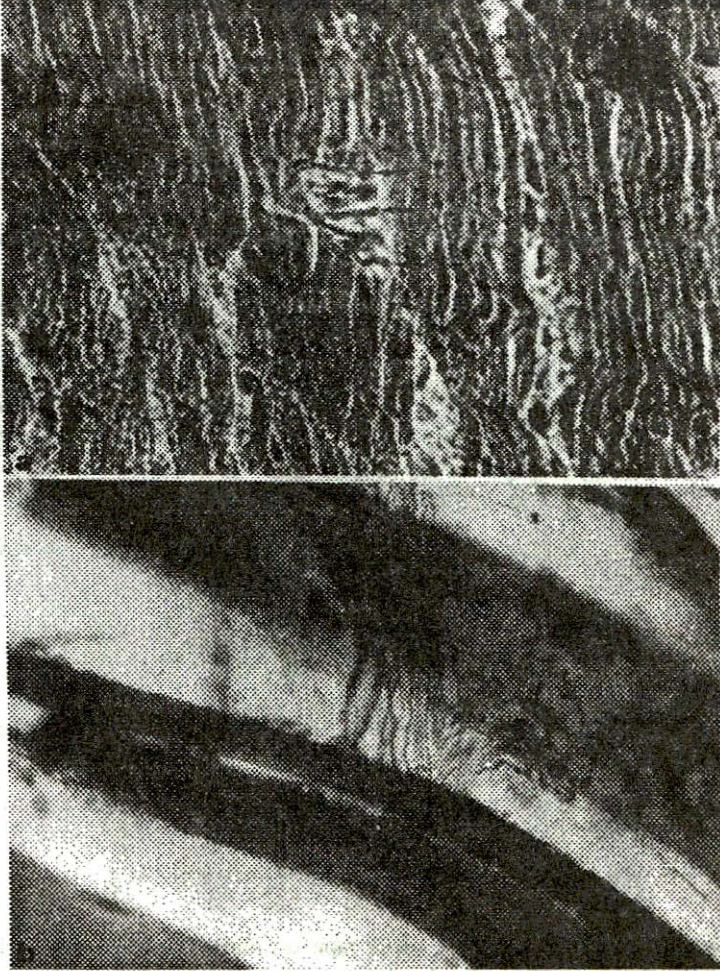


Resim: 3

M. lat. sup.'de lipiddен zengin kas fib. (k) *m. lat. dor.*'de lipiddен fakir kas fib. (b), orta derecede lipid içerenler (i), miyoseptumda yağ hüç. (y). Sudan Black-B boy. tek. x 160

Kan damarlarından zengin ve küçük çaplı kas fibrillerinden oluşan *m. lateralis superfisialis*'in gerek hücre içinde gerekse hücre dışında bol miktarda lipid içermesiyle kırmızı tip kas fibrillerine benzer özelliklere sahip olduğu saptandı. *M. lateralis superfisialis* dışında kalan diğer 6 kas grubunun büyük çoğunluğunu oluşturan büyük çaplı kas fibrillerinin, beyaz tip kas fibrillerine benzer morfolojik özelliklere sahip ve lipid içeriği yönünden fakir olduğu görüldü. Beyaz kas fibrillerinin aralarında yer alan orta derecede lipid içeren ve ortalama 35-50 mikron çapa sahip olan fibrillerin de

intermediyet tip kas fibrilleri olduğu belirlendi. Marsland-Gless'in gümüş impregnasyonu tekniği sonucunda elde edilen preparatlar incelendiğinde kırmızı kas fibrillerini innerve eden motor sinir sonlarının kas fibrili üzerinde tesbih taneleri gibi dizi tarzında sıralandıkları görüldü (Resim: 4a). Beyaz kas fibrillerinde ise endomizyum içerisinde seyreden akson demetlerinden ayrılan aksonların bir kısmının kas fibrili üzerinde dallanarak birbirlerine yakın noktalarda sonlandıkları tespit edildi (Resim: 4b).



Resim: 4

- a) *M. lat. sup.*'i innerve eden motor sinir sonları (ok) Gümüş impreg. tek. x 1500
b) *M. lat. vent.*'in endomizyumunda aksonların bir kısmının kas fib. üzerinde sonlanmaları. Gümüş impreg. tek. x 750

AChE enziminin demonstrasyonu amacıyla yapılan preparatlarda kırmızı kas fibrillerinin birbirine yakın birçok noktadan yassılmış oval şekilli sinir sonları ile innerve edildiği görüldü (Resim: 5a). Böylece alabalıklarda m. lateralis superficialisi oluşturan kas fibrillerinin çok noktadan (multiple), end plate tipte bir innervasyona sahip oldukları tespit edildi. Alabalığın kuyruk bölgesinde çoğunluğu oluşturan beyaz kas fibrillerinin çok noktadan (multiple) end grappe tip sinir sonlarına sahip oldukları gözlemlendi. AChE enzimi demonstrasyonu tekniği uygulamaları sonucunda beyaz kas fibrillerinde sarkolem üzerindeki sinir sonları dışında kalan bölgede, endomizyumda da pozitif reaksiyon görüldü (Resim: 5b).



Resim: 5

a) *M. lat. sup.*'in enine kesitinde sinir sonları (ok) AChE demons. x 700

b) *M. lat. dor.*'in enine kesitinde büyük çaplı kas fibrillerinde görülen end grappe tip sonlanmalar ve endomizyumda AChE (+) reaksiyon (*) AChE demons. x 850

Balıklarda iskelet kas dokusunun histokimyasal ve ultrastrüktürel özellikleri üzerinde incelemeler yapan pek çok araştırmacı²⁻⁶ yaptıkları çalışmalarda kas fibrillerini kırmızı, beyaz intermediyet ve tonik kas fibrilleri olarak 4 grupta toplamışlardır.

Klasik kitaplarda^{11,1} balıklarda siyah et olarak adlandırılan m. lateralis superficialis'in özellikle kuyruk bölgesi enine kesitlerinde üçgen şeklinde yerleşim gösterdiğinin belirtilmesi, bizim bulgularımızı destekler durumdadır.

Klasik kitaplarda^{13,14} memeli hayvanlarda yavaş kontraksiyon yapan, yorulmaksızın uzun süre çalışabilen kırmızı kas fibrillerinin oldukça küçük çaplı, kapillar damarlardan zengin, aerobik metabolizmaya sahip oldukları, yağ asitlerini primer enerji kaynağı olarak kullandıkları ve yüksek ATP-ase aktivitesi gösterdikleri belirtilmektedir. Çalışmamızda yaklaşık 16-17 mikron çapa sahip, lipid yönünden zengin olan m. lateralis superficialis'in kırmızı kas fibrillerinden oluştuğunu saptadık.

Memeli hayvanlarda kırmızı kas fibrillerine yaklaşan motor sinir tellerinin birçok kola ayrıldığı, bu kollardan herbirinin kas fibrili yüzeyinde birbirinden uzak noktalarda hafif şişkinlikler ile sonlandığı belirtilmiştir¹⁵. Sağlam ve Özer¹⁶ tavuk ve bıldırcın kanat kaslarından anterior latissimus dorsi (ALD) ve posterior latissimus dorsi (PLD) ile çalışarak hızlı kontraksiyon yapan kırmızı kas fibrillerinin genellikle tek bir noktadan tek bir sinir sonu ile end plate tipinde innerve edildiğini bildirmişlerdir. Bizim kırmızı kas fibrillerinde saptamış olduğumuz sonlanma tipi kanatlıların kırmızı kas fibrillerindeki end plate tip sonlanma biçimiyle benzerlik göstermekle birlikte, kanatlılarda bu kas fibrilleri hızlı kontraksiyon yaparken alabalıklarda yavaş kontraksiyon yapmaktadır. Birçok araştırmacının^{2,5,17} da belirttiği gibi balıklarda kırmızı kas fibrilleri yavaş kontraksiyon yapmalarıyla kanatlıların kırmızı kas fibrillerinden ayrılmaktadır. Ayrıca alabalıkların kırmızı kas fibrillerinin multiple innervasyona sahip olması bir başka farklılığı oluşturmaktadır. Mos ve arkadaşları³, teleost balığının axial iskelet kas fibrillerinde AChE reaksiyonunu ve acetylcholine reseptörlerini saptayarak kırmızı kas fibrillerinin birçok küçük end plate'lerden ibaret zincir şeklinde bir innervasyona sahip olduklarını belirtmişlerdir.

Memeli hayvanlarda hızlı kontraksiyon yapan beyaz kas fibrillerinin sadece birer noktadan, pek ender olarak da iki noktadan motor plak biçiminde sinir sonları aldığı belirtilmiştir¹⁵.

Kanatlı hayvanlarda ise yavaş fakat uzun süreli kontraksiyon yapan beyaz kas fibrillerinin, hızlı çalışanların aksine birçok noktadan end grappe tipte sinir sonları ile innerve olduğu belirtilmektedir¹⁵. Korneliussen⁵ atlantik hagfish ile yaptığı çalışmada, beyaz kas fibrillerinin bir uçtan oldukça yassı biçimde ve end plate tipte sinir sonlarıyla innerve olduğunu saptamıştır. Saptamış olduğumuz multiple innervasyon tipi Mos ve arkadaşları³, Bergmen¹⁷ tarafından da desteklenmektedir. Mos ve arkadaşları³ teleost balığında beyaz kas fibrillerinin birden fazla sinir sonu ile end plate tipte bir innervasyona sahip olduklarını belirtmişlerdir. Beyaz kas fibrilleri çevresinde sinir sonu bulunmayan kısımlarda da AChE pozitif reaksiyon veren alanlar saptamışlardır. Bizim de çalışmamızda saptadığımız gibi beyaz kas fibrillerinde sarkolem çevresinin AChE pozitif reaksiyon vermesi beyaz kas fibrillerinin sadece aktif end plate

bölgelerinde AChE enzimini içermediği ve bu enzimin tüm endomizyum içerisinde bol miktarda bulunabileceği üzerinde durmuşlardır. Endomizyum içerisindeki AChE enziminin yüksek oranda bulunması bize uyarımların sinir tellerinden kas fibrillerine çok daha sık ve hızlı iletildikleri fikrini vermektedir. Alabalıklarda kuyruk bölgesinde yoğun olarak bulunan beyaz kas fibrillerinin, yukarıda belirtilen özellikleri sayesinde kuyruğun hızlı ve güçlü hareket edebildiğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. JUNQUEIRA, C.L., CARNEIRA, J., KELLEY, O.R.: Basic Histology, Seventh edition, Appleton and Lange, Connecticut, 195-214 (1992).
2. ZAWADOWSKA, B., KILARSKI, W.: Histochemical characterization of the muscle fiber types of the Teleost (*Esox Lucius L.*) *Acta Histochem.*, 75, 91-100 (1984).
3. MOS, W., MASLAM, S., RAAMSDONK, V.W., KILARSKI, W., JAGER, S.D.: Acetylcholinesterase and acetylcholine receptor histochemistry on end plate regions, myotendinous junctions, and sarcolemma in the axial musculature of three teleost fish species, *Acta Histochem.* 72, 39-59 (1983).
4. KILARSKI, W., KOZLOWSKA, M.: Comparison of ultrastructural and morphometrical analysis of tonic, white and red muscle fibers in the myotome of Teleost Fish (*Noemacheilus barbatulus L.*), *Z. Mikrosk-Anat, Forsch Leipzig*, 101, (4), 636-648 (1987).
5. KORNELIUSSEN, H.: Ultrastructure of motor nerve terminalis on different types of muscle fibers in the Atlantic Hagfish (*Myxine glutinosa, L.*), *Z. Zellforsch.*, 147, 87-105 (1973).
6. KILARSKI, W.: The fine structure of striated muscles in Teleosts, *Zeitschrift für Zelforsch.*, 79, 562-580 (1967).
7. CROSMANN, G.: A modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved, *Anat. Rec.*, 69, 33-38 (1937).
8. HERXHEIMER, G.W.: Sudan Black B method for fat, *Zbl. Allg. Path. Anat.*, 14, 481 (1903).
9. MARSLAND, T.A., GLEES, P.: Modification of the gleees silver impregnation for paraffin sections, *I. Neuropathology and Exp. Neurology*, 13 ,(16), 587-591 (1954).
10. GOMORI, G.: *Microscopic histochemistry.* Univ., Chicago Press, Chicago, 352-353 (1952).
11. HARDER, W.: *Anatomy of Fishes, Vol. I,* Nagele Obermiller Company, Stuttgart, 96-103 (1975).
12. LAGLER, K.F., BARDACH, J.E.: *Ichthyology*, 4. edition, Michigan Ann Arbor Company, Michigan, 74-77 (1967).
13. BLOOM, W., FAWCETT, D.W.: *A Textbook of Histology*, Tenth edition, W.B. Saunders Com., Toronto, 295-313 (1975).

14. DELLMANN, H.D., BROWN, M.E.: Textbook of Veterinary Histology, Second edition, Lea and Febiger, Philadelphia, 97-112 (1981).
15. SAĞLAM, M.: Genel Histoloji, Genişletilmiş 4. baskı, Yorum Matbaacılık Sanayi, Ankara, 221-243 (1993).
16. SAĞLAM, M., ÖZER, A.: Tavuk ve bildircında motorik sinir sonlarının morfolojik ve histoşimik farklılıkları, Vet. Hay./Tar. Orm., 4, 37-40 (1980).
17. BERGMAN, R.A.: Motor nerve endings of twitch muscle fibers in Hicompus hudsonius, J. Cell. Biol., 32, 751-757 (1967).