

T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**GEBELİKTE OLAYLANAN DENEYSEL HİPOKSİ SONRASINDA
GİNGKO BİLOBA’NIN POSTNATAL BEYİN GELİŞİMİ ÜZERİNE
OLASI ETKİSİ :WESTERN BLOTİNG, ELEKTRON MİKROSKOBİK
VE İMMUNO HİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME**

DOKTORA TEZİ
Fatma HELVACIOĞLU

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Deniz ERDOĞAN

ANKARA
Temmuz 2010

T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**GEBELİKTE OLAYLANAN DENEYSEL HİPOKSİ SONRASINDA
GİNGKO BİLOBA’NIN POSTNATAL BEYİN GELİŞİMİ ÜZERİNE
OLASI ETKİSİ :WESTERN BLOTTİNG, ELEKTRON
MİKROSKOBİK VE İMMUNO HİSTOKİMYASAL
DEĞERLENDİRME**

DOKTORA TEZİ
Fatma HELVACIOĞLU

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Deniz ERDOĞAN

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından SBE-
01/2007-42 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
Temmuz 2010

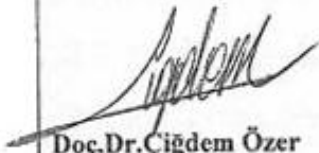
**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı Doktora Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.**

Tez Savunma Tarihi : 06/08/2010



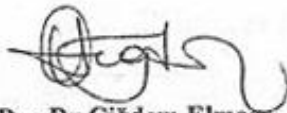
**Prof.Dr.Deniz Erdoğan
Güzi Üniversitesi
Jüri Başkanı**



**Doç.Dr.Çiğdem Özer
Gazi Üniversitesi**



**Doç.Dr.Pergin Atilla
Hacettepe Üniversitesi**



**Doç.Dr.Çiğdem Elmas
Güzi Üniversitesi**



**Doç.Dr.Günnur Take
Güzi Üniversitesi**

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	i
İçindekiler	ii
Resimler	v
Kısaltmalar ve Simgeler	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1 Beyin Gelişimi	5
2.1.1. Beyin Korteksin Gelişimi	7
2.1.2.Beyin Kommisürleri	15
2.1.3.Beyin Bükülmeleri (Flexurae encephalicae)	16
2.1.4.Rombensefalon	17
2.1.5. Mesensefalon	17
2.1.6._Prosensefalon	18
2.1.7.Hipokampüs	21
2.1.8.Beyin Gelişiminin Moleküler Düzeni	22
2.2 Beyin'in Anatomisi	23
2.2.1.Telencephalon (Cerebrum)	24
2.2.2. Cortex cerebri [pallium]	25
2.2.3.Beynin Dış Yüzündeki Derin Oluklar	26
2.2.3.1.Sulcus lateralis (Sylvius Oluğu)	26
2.2.3.2.Sulcus parieto-occipitalis	27
2.2.3.3.Sulcus calcarinus	27
2.2.3.4.Sulcus cinguli	27
2.2.4.Beyin Lobları	28
2.2.4.1.Lobus frontalis	28
2.2.5.Formacio Hipocammpi	34
2.3.Beyin'in Histolojisi	37
2.3.1.Sinir Doku Hücreleri	37
2.3.1.1. Nöronlar	38
2.3.1.2. Astrositler	47

2.3.1.3. Oligodendrositler	49
2.3.1.4. Mikroglia hücreleri	50
2.3.1.5. Ependim hücreleri	50
2.3.2. Merkezi Sinir Sisteminin Genel Yapısı	51
2.3.3. Kan- Beyin - Bariyeri	55
2.3.4. BOS (Beyin- Omurilik Sıvısı)	57
2.3.5. Beyin (Cerebrum) Histolojisi	57
2.4. Hipoksik Koşullarda Beyinde Gelişen Fizyolojik ve Metabolik Yanıtlar	65
2.4.1. Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşumu	73
2.5. Hipoksi	75
2.6. Ginkgo Biloba ve Antioksidan Etki Mekanizması	80
2.7. Hipoksida Etkili Moleküller	82
2.7.1. HSP70 (Isı şok Proteini- Heat Shock Protein)	82
2.7.2. HIF-1 (Hypoxia Inducible Factor-1)	83
2.7.3. MBP (Myelin basic protein)	85
2.7.4. Noggin ve Chordin	86
3. GEREÇ ve YÖNTEM	87
3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma	87
3.2. İmmunohistokimyasal Yöntem	89
3.3. Elektron Mikroskopik Yöntem	91
3.4. Western Blott Yöntemi	94
4. BULGULAR	97
4.1. İmmunohistokimyasal Bulgular	97
4.2. Elektron Mikroskop Bulguları	107
4.3. Western Blott Bulguları	111
5. TARTIŞMA	213
6. SONUÇ	231
7. ÖZET	232
8. SUMMARY	235

9. KAYNAKLAR	238
10.EKLER	252
11. TEŞEKKÜR	253
12. ÖZGEÇMİŞ	255

RESİMLER

Resim 1: 7 Gün Kontrol (Grup 1) Frontal Alan- HSP primer antikoru,. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 2: 7 Gün Kontrol (Grup 1) Hipokampüs- HSP primer antikoru,. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 3: Hipoksi -Doğum sonrası 7. Gün (Grup 2) Frontal Alan- HSP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 4: Hipoksi -Doğum sonrası 7. Gün (Grup 2) Hipokampüs- HSP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 5: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 7. Gün (Grup 3) Frontal alan- HSP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 6: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 7. Gün (Grup 3) Hipokampüs- HSP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 7: 14. Gün Kontrol (Grup 4) Frontal Alan- HSP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 8: 14. Gün Kontrol (Grup 4) Hipokampüs- HSP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 9: Hipoksi -Doğum sonrası 14. Gün (Grup 5) Frontal alan HSP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).

Resim 10: Hipoksi -Doğum sonrası 14. Gün (Grup 5) Hipokampüs HSP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).

Resim 11: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 14. Gün (Grup 6) Frontal alan- HSP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 12: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 14. Gün (Grup 6) Hipokampüs- HSP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 13: 21. Gün Kontrol (Grup 7) Frontal Alan- HSP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 14: 21. Gün Kontrol (Grup 7) Hipokampüs- HSP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 15: Hipoksi -Doğum sonrası 21. Gün (Grup 8) Hipokampüs HSP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).

Resim 16: Hipoksi - Doğum sonrası 21. Gün (Grup 8) Frontal alan- HSP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 17: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 21. Gün (Grup 9) Frontal alan- HSP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 18: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 21. Gün (Grup 9) Hipokampüs- HSP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 19: 28. Gün Kontrol (Grup 10) Frontal Alan- HSP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 20: 28. Gün Kontrol (Grup 10) Hipokampüs- HSP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 21: Hipoksi -Doğum sonrası 28. Gün (Grup 11) Hipokampüs HSP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).

Resim 22: Hipoksi - Doğum sonrası 28. Gün (Grup 11) Frontal alan- HSP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 23: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 28. Gün (Grup 12) Frontal alan- HSP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 24: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 28. Gün (Grup 12) Hipokampus- HSP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 25: 7 Gün Kontrol (Grup 1) Frontal Alan- Hif 1 α primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 26: 7 Gün Kontrol (Grup 1) Hipokampus- Hif 1 α primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 27: Hipoksi -Doğum sonrası 7. Gün (Grup 2) Frontal Alan- Hif 1 α primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 28: Hipoksi -Doğum sonrası 7. Gün (Grup 2) Hipokampus- Hif 1 α primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 29: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 7. Gün (Grup 3) Frontal alan- Hif 1 α primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 30: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 7. Gün (Grup 3) Hipokampus- Hif 1 α primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 31: 14. Gün Kontrol (Grup 4) Frontal Alan- Hif 1 α primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 32: 14. Gün Kontrol (Grup 4) Hipokampus- Hif 1 α primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 33: Hipoksi -Doğum sonrası 14. Gün (Grup 5) Frontal alan-Hif 1 α primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).

Resim 34: Hipoksi -Doğum sonrası 14. Gün (Grup 5) Hipokampus Hif 1 α primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).

Resim 35: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 14. Gün (Grup 6) Frontal alan- Hif 1 α primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 36: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 14. Gün (Grup 6) Hipokampüs- Hif 1 α primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 37: 21. Gün Kontrol (Grup 7) Frontal Alan- Hif 1 α primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 38: 21. Gün Kontrol (Grup 7) Hipokampüs- Hif 1 α primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 39: Hipoksi -Doğum sonrası 21. Gün (Grup 8) Hipokampüs- Hif 1 α primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).

Resim 40: Hipoksi - Doğum sonrası 21. Gün (Grup 8) Frontal alan- Hif 1 α primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 41: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 21. Gün (Grup 9) Frontal alan- Hif 1 α primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 42: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 21. Gün (Grup 9) Hipokampüs- Hif 1 α primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 43: 28. Gün Kontrol (Grup 10) Frontal Alan- Hif 1 α primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 44: 28. Gün Kontrol (Grup 10) Hipokampüs- Hif 1 α primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 45: Hipoksi -Doğum sonrası 28. Gün (Grup 11) Hipokampüs- Hif 1 α primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).

Resim 46: Hipoksi - Doğum sonrası 28. Gün (Grup 11) Frontal alan- HSP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 47: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 28. Gün (Grup 12) Frontal alan- Hif 1 α primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 48: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 28. Gün (Grup 12) Hipokampus- Hif 1 α primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 49: 7 Gün Kontrol (Grup 1) Frontal Alan- MBP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 50: 7 Gün Kontrol (Grup 1) Ak katman- MBP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 51: Hipoksi -Doğum sonrası 7. Gün (Grup 2) Frontal Alan- MBP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 52: Hipoksi -Doğum sonrası 7. Gün (Grup 2) Ak katman- MBP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 53: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 7. Gün (Grup 3) Frontal alan - MBP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 54: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 7. Gün (Grup 3) Ak katman- MBP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 55: 14. Gün Kontrol (Grup 4) Frontal Alan- MBP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 56: 14. Gün Kontrol (Grup 4) Ak katman- MBP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 57: Hipoksi -Doğum sonrası 14. Gün (Grup 5) Frontal alan - MBP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).

Resim 58: Hipoksi -Doğum sonrası 14. Gün (Grup 5) Ak katman- MBP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).

Resim 59: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 14. Gün (Grup 6) Frontal alan- MBP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 60: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 14. Gün (Grup 6) Ak katman- MBP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 61: 21. Gün Kontrol (Grup 7) Frontal Alan-MBP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 62: 21. Gün Kontrol (Grup 7) Ak katman- MBP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 63: Hipoksi -Doğum sonrası 21. Gün (Grup 8) Ak katman- MBP primer antikoru, →: Nöron. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).

Resim 64: Hipoksi - Doğum sonrası 21. Gün (Grup 8) Frontal alan- MBP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 65: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 21. Gün (Grup 9) Frontal alan- MBP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 66: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 21. Gün (Grup 9) Ak katman- MBP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 67: 28. Gün Kontrol (Grup 10) Frontal Alan- MBP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 68: 28. Gün Kontrol (Grup 10) Ak katman- MBP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 69: Hipoksi -Doğum sonrası 28. Gün (Grup 11) Ak katman- MBP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).

Resim 70: Hipoksi - Doğum sonrası 28. Gün (Grup 11) Frontal alan- Ak katman- MBP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 71: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 28. Gün (Grup 12) Frontal alan- MBP primer antikoru. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 72: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 28. Gün (Grup 12) Ak katman- MBP primer antikoru (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).

Resim 73: 7 Gün Kontrol (Grup 1) İnce kesit (Uranil Asetat& Kurşun SitratX13.12 KX).

Resim 74: 7 Gün Kontrol (Grup 1)İnce kesit (Uranil Asetat& Kurşun SitratX18.05 KX).

Resim 75: Hipoksi -Doğum sonrası 7. Gün (Grup 2) İnce kesit (Uranil Asetat& Kurşun Sitrat 75 aX5.11 KX- 75b-11.11 KX).

Resim 76: Hipoksi -Doğum sonrası 7. Gün (Grup 2) İnce kesit (Uranil Asetat& Kurşun SitratX18.30 KX).

Resim 77: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 7. Gün (Grup 3) İnce kesit (Uranil Asetat& Kurşun Sitrat 75b-12.07 KX).

Resim 78: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 7. Gün (Grup 3) İnce kesit (Uranil Asetat& Kurşun Sitrat X18.30 KX).

Resim 79: 14. Gün Kontrol (Grup 4) İnce kesit; (79a X 7.23 KX) (Uranil Asetat& Kurşun Sitrat 77b-13.68 KX).

Resim 80: 14. Gün Kontrol (Grup 4) İnce kesit (Uranil Asetat& Kurşun SitratX12.41 KX).

Resim 81: Hipoksi -Doğum sonrası 14. Gün (Grup 5) İnce kesit; (81a X 8.19 KX) (Uranil Asetat& Kurşun Sitrat 82b-14.26 KX).

Resim 82: Hipoksi -Doğum sonrası 14. Gün (Grup 5) İnce kesit (Uranil Asetat& Kurşun SitratX12.41 KX).

Resim 83: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 14. Gün (Grup 6) İnce kesit (Uranil Asetat& Kurşun Sitrat 83aX13.49-83b-13.12 KX).

Resim 84: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 14. Gün (Grup 6) İnce kesit (Uranil Asetat& Kurşun SitratX18.05 KX).

Resim 85: 21. Gün Kontrol (Grup 7) İnce kesit (Uranil Asetat& Kurşun Sitrat 85aX6.56-85b-13.12 KX).

Resim 86: 21. Gün Kontrol (Grup 7) İnce kesit, End: Endotel hücresi, ★: Çekirdek, ►: Pinositotik vezikül, →: Bağlantı birimleri, ❖: Gliyal ayak. Uranil Asetat& Kurşun SitratX18.05 KX).

Resim 87: Hipoksi -Doğum sonrası 21. Gün (Grup 8) İnce kesit (Uranil Asetat& Kurşun Sitrat 87aX6.74-87b-13.30 KX).

Resim 88: Hipoksi - Doğum sonrası 21. Gün (Grup 8) İnce kesit (Uranil Asetat& Kurşun SitratX18.30 KX).

Resim 89: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 21. Gün (Grup 9) İnce kesit (Uranil Asetat& Kurşun Sitrat 89aX6.74-89b-13.30 KX).

Resim 90: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 21. Gün (Grup 9) İnce kesit (Uranil Asetat& Kurşun SitratX18.30 KX).

Resim 91: 28. Gün Kontrol (Grup 10) İnce kesit (Uranil Asetat& Kurşun Sitrat 91aX13.30-91b-12.07 KX).

Resim 92: 28. Gün Kontrol (Grup 10) İnce kesit (Uranil Asetat& Kurşun SitratX18.30 KX).

Resim 93: Hipoksi -Doğum sonrası 28. Gün (Grup 11) İnce kesit (Uranil Asetat& Kurşun Sitrat 93aX5.95-93b-12.41 KX).

Resim 94: Hipoksi - Doğum sonrası 28. Gün (Grup 11) İnce kesit (Uranil Asetat& Kurşun SitratX18.81 KX).

Resim 95: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 28. Gün (Grup 12) (Uranil Asetat& Kurşun Sitrat 91aX13.30-91b-12.07 KX).

Resim 96: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 28. Gün (Grup 12) İnce kesit, (Uranil Asetat& Kurşun SitratX18.30 KX).

Resim 97: Westen blot analizleri

KISALTMALAR VE SİMGELER

NMDA:	N-methyl-Daspartate
HSP70:	Isı şok proteini 70
HIF1α:	Hipoksi İnducible Factor 1 α
SVZ:	Sub ventriküler zon
GE:	Ganglionik eminens
VZ:	ventriküler zon
MZ:	Marjinal zon
SP:	Subplak
BOS:	Beyin omurilik sıvısı
CA1:	Cornu Amonis1
CA2:	Cornu Amonis2
CA3:	Cornu Amonis3
CA4:	Cornu Amonis4
GER:	Granüllü Endoplazmik Retikulum
GsER:	Granüllsüz Endoplazmik Retikulum
ATP:	Adenozin trifosfat
NADH:	Nikotinamid-adenin-dinükleotid
FADH:	Flavin-adenin-dinükleotid
GLUT1:	Glucose Transporter 1
DNA:	Deoksiribonükleik asit
NO:	Nitrik oksit
SOR:	Serbest oksijen radikalleri
AMPA:	Amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazol propiyonik asit
NADPH:	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat- oksidaz
Hsp10:	Isı şok proteini 10
Hsp60:	Isı şok proteini 60
Hsp75:	Isı şok proteini 75
VEGF:	Vasküler endotelyal büyüme faktörü

SOD: Superoksit Dismutaz
MBP: Myelin basic protein
TGF β : Dönüştürücü büyüme faktörü

1.GİRİŞ

Yaşamın sürekliliği için hücresel düzeyde en temel gereksinimlerden biri yeterli oksijenin sağlanmasıdır. Hücre metabolizması oksijensiz bir ortamda yavaşlar ve bazı hücreler 30 saniye kadar kısa bir süre içinde ölmeye başlar.¹ Kanın oksijen (O₂) taşıma yetisinin azalması, solunan havadaki O₂ yoğunluğunun az olması, kan akış hızının azalması, travma, hastalıklar, metabolizmanın yavaşlaması, göğüs duvarı hareketinde anormallikler, gebelik, obezite, egzersiz, sigara, ilaçlar, stres, anksiyete, çevre dokuların yeterince oksijenlenmesini etkiler.² Dokulara giden oksijen yetersizliği durumunda hipoksi ortaya çıkar. Hipoksi, atmosferden vücut dokularına kadar olan yollardan herhangi birinde O₂ desteğinin sınırlanmasıyla gerçekleşir. Nedeni ne olursa olsun tüm hipoksi türlerinde vücut dokularında kullanılabilir özellikte olan O₂ miktarı düşer. Buna koşut olarak gelişen hipoksi serbest oksijen radikallerinin oluşumunu özellikle mitokondriyonlar ve hücre zarı üzerinde yapısal ve işlevsel hasar gelişimini tetikler ve kısa sürede koordinasyon yitimi, bilinç kaybı ve 4-5 dakika içerisinde beyin ölümü ile sonuçlanabilir.³

Oksijen yaşamın sürekliliğinde olduğu kadar gelişimsel süreçte de oldukça önemlidir. Gebelikte oksijen basıncı, plasental gelişim ve buna koşut embriyonik gelişimi de denetler. Yüksek irtifada yaşayan ve kronik olarak hipoksik koşullara etkin kalan anne adaylarında uterus kan akımının azaldığı ve plasental gelişimin yavaşladığı bildirilmiştir.^{4,5}

Annedeki damar oluşumu, fötusun gelişimi sırasında besin ve O₂ desteğini sağlayarak, embriyo ya da fötusun normal gelişim denetim altında tutar. Gebelikte olaylanan hipoksinin etkileri, oksijen düzeyine, etkin kalma süresine ve gebelik evrelerine bağlı olarak değişir. Gebelerde görülen hipoksi öncelikle intrauterin büyüme geriliği ya da preeklamsi gibi gebelik hastalıkları ile kendini gösterir. ^{6,7}

Erken gelişim sürecinde oksijen ve enerji dağılımına en duyarlı olan organ beyindir.⁸ Bu nedenle fötus ve yeni doğanda ortaya çıkan beyin anomalilerinin bilinen en belirgin nedeni gebelikte olaylanan hipoksidir.⁹ Diyabetli, kronik hipertansiyonlu, orak hücre anemili, astımlı ya da uyuşturucu madde bağımlısı olan annelerin bebekleri kronik hipoksi tehdidi altındadır. Böyle hastalıkları olan annelerin bebeklerinde intrauterin büyüme geriliği, doğum sonrası yaşama epilepsi, beyin felçleri, öğrenme güçlüğü ve zeka geriliği ile motor işlevlerde yetersizlik dikkati çekmektedir.^{10,11,12,13} Hipoksi sonucu olaylanan işlevsel bozukluklar fetal ya da yeni doğan beyinlerinde önemli yapısal hasarların sonucudur. Doğum öncesi ve doğum sırasında gerçekleşen hipoksinin mekanizması henüz tam olarak açıklanmasa da patolojik değişiklikler bilinmektedir. Beyin dokusunun hipoksiye oldukça duyarlı olması beyindeki hücre zarlarının lipid bileşiminden, lipid peroksidasyon hızından, antioksidan savunma mekanizmasından, N-methyl-Daspartate (NMDA) gibi uyarıcı

nörotansimter reseptörlerinin gelişimi ile uyum sağlaması ve hücre içi Ca^{+2} mekanizmasından kaynaklıdır.^{14, 15,16}

Özellikle gebelik süresince karşılaşılan hipoksik koşullarda, beyinde derin kortekste, hipokampüsteki nöronlarda ve özellikle beyincik purkinje hücrelerinde artan oksidatif strese neden olmasının yanı sıra yenidoğan farelerde ve sıçanlarda beyin ağırlığı, korteks hacmi ve nöronların boyutlarında küçülme ile birlikte dendritlerindeki spinlerin azalması ve sinaptik bağlantıların (sinaptogenezis) daha az oluştuğu bildirilmiştir.¹⁷

Hipoksik koşullar akut ya da kronik olarak ortaya çıkabildiklerinden son yıllarda deneysel çalışmalarda oluşturulan akut ya da kronik hipoksi modellerinde, oluşan serbest oksijen radikallerinin yıkıcı etkilerinden korunmak ya da tedavi etmek ereğiyle farklı antioksidanlar denenmiştir. E ve C vitamini, melatonin, topamirat (antiepileptik preparat), mitokondriyal E vitamini, Gingko biloba gibi sentetik antioksidanlar bunlardan bazılarıdır.

^{18,19,20}

Gingko biloba uzak doğuda binlerce yıldır kullanılan bitkisel bir antioksidandır. Kaynaklarda doğum sonrası süreçte, erişkinde ve yaşlı bireylerde belleği güçlendirdiği ve in vitro koşullarda nörogenezisi uyardığı bildirilmektedir. Kronik hipoksik gebe sıçanların yavrularında in vivo olarak doğum sonrası süreçte Gingko biloba'nın olası etkilerinin tartışıldığı yapısal bir çalışmaya kaynaklarda rastlanmamıştır.²⁰

Bu erekle çalışmamızda gebelik süresince beyin gelişiminin kritik günlerinde deneysel hipoksi modeli oluşturularak, yeni doğanlara Gingko biloba uygulamasının beyin yapısı üzerindeki olası etkilerinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Hipoksi modelinin ve Gingko biloba'nın hücrelerde oluşturduğu stresi denetlemek için HSP70 ve HIF1 α , sinirsel iletimdeki rolünü belirlemek için MBP primer antikoru ile immunohistokimyasal olarak değerlendirme yapılmıştır. Doğum sonrası nörogenezis üzerindeki etkilerini ortaya koymak ereğiyle Noggin ve Chordin primer antikoru western blot analizleriyle belirlenecektir. Hücresel boyuttaki etkilerini de geçirgen elektron mikroskopta incelenerek yapılması değerlendirilmiştir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Beyin Gelişimi

Merkezi sinir sisteminin oluşumu, gelişimin 3-8 haftaları arasındaki organogenezis sürecinde gerçekleşir. Gelişimin 3. haftasında iki tabakalı germ diski gastrulasyonla üç katlı hale gelir. Bu evrede germ diski üstte ektoderm, ortada mezoderm ile altta endoderm germ yapraklarından oluşur. Ektoderm germ yaprağı gelecekteki sinir sistemini oluşturacaktır.^{21,22}

İki tabakalı germ diskinden üç germ yaprağının oluşması, epiblastın üzerinde primitif çizginin oluşması ile başlar. Gastrulasyonun hemen sonrasında embriyo yüzeyindeki ektodermal hücreler çoğalarak nöral plağı yaparlar. Başlangıçta çok belirgin olmayan primitif çizgi 15-16 günlük embriyoda sığ bir oluğun iki yanı boyunca uzanan daha kabarık bölgeler şeklinde izlenir. Primitif çizginin sefalik ucunda primitif çukuru çevreleyen bölge primitif düğüm (Hensen düğümü) olarak adlandırılır. Primitif çukurdaki bir grup hücre notokordu yapılandıracaktır. Epiblasttan ilk göç eden hücrelerden sefalik yönde ilerleyenler prekordal plağı oluştururlar. Prekordal plak oluşması, ön beyin gelişimini uyarır. Primitif çukurdan invagine olan bir grup hücre prekordal plağa ulaşana değin göç eder ve prenotokordal hücreleri oluşturur. Prenotokordal hücrelerin hipoblastın içine karışmasıyla embriyonun orta hattında kısa bir süre için iki hücre tabakasından oluşan notokordal plak oluşur. Notokordun ve prekordal mezodermin indüksiyonu ile üzerlerindeki ektoderm kalınlaşır ve

nöral plak (lamina neuralis) biçimlenir. Nöral plak bu evrede sefalik bölgede geniş, kaudalde ise daha dar ve yassı bir disk şeklinde kalınlaşmış ektoderm plağıdır. Bu plak primitif çukurun önünde, orta-dorsal yerleşimlidir. Nöral plak şekillendikten sonra rostral' den kaudale doğru uzanan nöral oluk oluşur.^{21,22}

Plaktaki hücreler nöroektodermi yaparlar ve hücrelerin indüksiyonu ile nörolasyon süreci başlar. Bu indüksiyonla terlik şeklindeki nöral plak zamanla primitif çizgiye doğru genişler ve gelişimin 17. gününde plağın lateral kenarları yükselerek nöral katlantıları oluşturur. Bu katlantıların içindeki aktin miyofibriller kasılarak nöral katlantıların içe doğru kıvrılmasına neden olur. Gelişimin 18. gününde nöral katlantılar arasındaki görülen bu çukur bölge nöral oluk adını alır. Nöral katlantılar bir süre sonra 4-6. somit düzeyinde orta hat boyunca birbirlerine yaklaşarak kranio- kaudal yönde kaynaşırlar ve nöral tüp oluşur. Nöral plak oluşumundan başlayarak nöral tüpün oluşması süreci nörolasyon olarak tanımlanır. Bu evrede nöral plak ve nöral tüpün 2/3' si ve 4. çift somitlerin kaudaline kadar olan kısmı gelecekteki beyni; 1/3'lük geri kalan bölümü ise omuriliği oluşturacaktır. Nöral tüpün sefalik (kranial) ucu ön sinir deliği (neuroporus rostralis ya da anterior) ve kaudal ucu arka sinir deliği (neuroporus caudalis ya da posterior) olarak adlandırılır.^{21,22} Bu deliklere nöral tüp lümeni (canalis neuralis) amniyon boşluğu ile ilişkisini serbestçe sürdürür. Ön sinir deliği gelişimin 25. gününde, arka sinir deliği ise 27. günde kapanır. Nörolasyon böylece tamamlanır. Ancak son kaynak

verilerinde nöral tüp kapanmasının insanlarda gelişimin 30.gününde gerçekleştiğini bildirmektedir.²³ Sinir deliklerinin kapanması nöral tüpteki damar ağının gelişiminin tamamlanmasıyla eş zamanlı olarak gerçekleşir. Nöral tüp duvarları beyin ve omuriliği oluşturmak üzere kalınlaşırken nöral kanal beynin ventriküler sistemine ve omuriliğin santral kanalına dönüşür. 4. somit çiftinin kranialindeki geniş olan nöral tüp bölümü beyni oluşturur. Bu evrede ön sinir deliğinin kapanması ile üç ilkel beyin vezikülü şekillenir. Bunlar: Ön (prosencefalon-vesicula prosencephalica), orta (mesencephalon- vesicula mesencephalica) ve arka (rhombensefalon-vesicula rhombencephalica) beyin vezikülleridir.²²

2.1.1.Beyin Korteksin Gelişimi

Nöral tüpün duvarı nöroepiteli hücrelerinden oluşur. Epitel kalın yalancı çok katlı silindirik tiptir. Hücrelerin mitotik erkleri çok yüksektir. Bu bölüm gelecekteki ventriküler katmanı oluşturacaktır. Buradaki hücreler radial uzantıları olan simetrik hücrelerdir. ²⁴ Belirgin kutuplaşma gösterirler. Pial yüzeye uzanan apikal kutuplarında CD133 olarak bilinen prominin-1 içerirler ve birbirlerine sıkı ve ara bağlantı birimleri ile bağlanırlar. Hücrelerin bazal yüzleri ise α_6 integrin ile bazal membrana bağlanır.^{25,26,27} Nöral oluk evresinde ve tüpün kapanmasından hemen sonra, bu hücreler hızla bölünmeye başlayarak giderek daha fazla sayıda nöroepitel hücresi oluştururlar ve nöroepitel şekillenir.^{21,25}

Nöral tüp kapandıktan sonra, nöroepitelial hücreler, büyük yuvarlak şekilli ve ökromatik çekirdek içeren çekirdekçikleri koyu boyanan

bir hücre tipini oluşturmaya başlarlar. Bu hücreler ilkel sinir hücreleri ya da nöroblastlardır.^{21,22}

İnduksiyondan sonra, nöral tüp duvarında tabakalar gelişir. Nöral tüp tabakaları ventrikül boşluğundan hemisferin dış yüzüne doğru sıralanırlar. Bu tabakalarda erken embriyonik dönemden olgun beyin oluşana değin, belirli bir sıra ile değişiklikler olur.^{21,22,25}

Gelişimin 5. haftasına gelindiğinde prosensefalon tam olmayan iki sekonder veziküle ayrılır. Bunlar; bir orta bölge ve iki lateral çıkıntıdan yani ilkel beyin hemisferlerden oluşan telensefalon ile optik veziküllerin dışa doğru büyümesi ile özelleşmiş olan diensefalon'dur. Mezensefalon bölünmez. Rombensefalon ise iki sekonder veziküle ayrılır. Bu evrede beş sekonder beyin vezikülü ortaya çıkar. Gebeliğin 5. haftasında gerçekleşen bir diğer önemli olay ise beyin korteksindeki katmanların şekillenmesidir.^{21,22,25}

1. Ventriküler Tabaka (Zon). İlk oluşan ve ventrikül boşluğuna komşu en iç katmandır.^{25,28} Bu tabakanın oluşması ile kortikal gelişim başlamış olur. Gebeliğin 5. haftasında ventriküller, genişlemeye başlar. Duvar yalancı çok katlı prizmatik epitelten oluşur.²⁸ Bu yalancı çok katlı ventriküler epitel olarak da adlandırılır. Nöral tüpün erken evrelerinde ventriküler epitelin piamater' den ventrikül lümenine kadar uzandığı görülür. Epitel hücrelerinin mitoz erkleri vardır. Proliferasyonun erken evresinde buradaki hücreler hızla çoğalarak ventriküler tabakanın yüzeyini

ve kalınlığını artırır. Beyin primordiumundaki bu olay insan embriyonlarında kemirgenlere karşı çok daha belirgindir.^{25,28} Buradaki yalancı çok katlı prizmatik epitel hücrelerinin bir sonraki aşaması daha sonra ependim hücrelerine farklılaşmaktır. Bu sırada bu hücreler ventriküler düzeyde mitoz bölünmeyi sürdürürler. Fötal gelişimin ilerleyen evrelerinde piamater ile ventriküler yüzey arasında buradaki öncül hücrelerin çoğalması ile yeni öncül hücreler oluşur ve yeni katmanlar şekillenir. Oluşan bu hücreler ikincil proliferatif popülasyon olarak adlandırılır. Gelişimin 33. gününe gelindiğinde belirli noktalarda nöroepitelial kök hücreler asimetric olarak bölünmeye başlar. Bu olay nörogenezis başlangıcının göstergesidir. Öncül hücrelerin bir bölümü progenitor hücre özelliğini korurken bazıları post mitotik nöron ya da glia hücrelerine dönüşürler.^{30,31}

Nörogenezisin başlaması ile nöroepitel kök hücreleri apikal kutuplarındaki membran proteinlerini ve sıkı bağlantı birimleri ile birlikte epitel hücre özelliklerini yitirirler.³² Bu hücrelerin bir bölümü radial glial hücrelere dönüşür. Bunlar fötal glia hücreleridir. İmmunohistokimyasal çalışmalar bu hücrelerde GFAP (Glial fibriller asidik protein) ekspresyonunun varlığını göstermektedir. Radial glial hücrelerin en önemli işlevi göç eden nöronlara yol göstermektir. Gebeliğin ortalarına doğru GFAP pozitif olan radial glial hücrelerin göçlerini tamamladıkları yani beyin iskeletini oluşturdukları ve postmitoz yeteneklerini yeniden kazanarak yeni astrositler oluşturdukları bilinmektedir. Elektron

mikroskopik ve immüno histokimyasal çalışmalar ventriküler katmanda radial glial hücreler gibi radial uzantıları olan nöron öncülü hücrelerin de varlığını göstermiştir.

Bu öncül hücreler, apikal uzantıları ile ventriküler yüzeye bağlantılı iken bazal uzantılarının değişken olması ve tubulin- α 1 promotörü ekspresse etmeleri ile radial glial hücrelerden ve diğer glia öncüllerinden ayrılırlar.³³

Gebeliğin 25- 27. haftalarına gelindiğinde ventriküler tabakanın kalınlığı azalır ve tek sıralı ependimal hücre katmanına dönüşür. Bu hücrelerin ependim hücrelerine farklılaşmasından sonra mitotik erkleri sona erer.³⁴

Gebeliğin 5. haftasında ventriküller genişlemeye başlar. Ventriküler tabakanın ventriküle bakan yüzünün karşı kutbundan ayrılan bir grup hücre pial yüzeye doğru göç eder. Bu öncül nöronlar pial yüzeyin hemen altında E31-E32. günlerde öncül plak [preplate (PP)] katmanını oluşturur. Öncül plak erken marjinal tabaka olarak da bilinir. Gebeliğin 6. haftasına gelindiğinde öncül plakta yapısal olarak bir grup değişiklikler gözlenir. Öncül plağın en yüzeyel katmanında marjinal tabaka ayırt edilir. PP' nin derin laminasında ise öncül subplak oluşur.

E40-E41. günlerde ventriküler tabakanın bazalinde bölünen hücreler (birincil proliferatif hücre popülasyonu) bir hat oluşturur. Böylece öncül plak ile ventriküler tabakanın arasında yer alan ve subventriküler tabaka adı verilen yeni bir kat oluşur.³⁵

2. Subventriküler Tabaka: Ventriküler katman nöroepitelinden subventriküler katmanın (SVZ) oluşumu insanlarda farklılık gösterir. Önceki yıllarda bu katmanın kortikal plaktan sonra oluşan hücre katmanı olduğu düşünülürken son yapılan araştırmalar kortikal plak oluşmadan bir hafta önce subventriküler katmanın oluştuğunu göstermektedir.^{29,35,36,37} Ventriküler katmandaki radial glial hücreler asimetrik olarak bölünür ve subventriküler tabakaya göç ederler. Önceleri bu katmanda yalnızca glia hücrelerinin bulunduğu düşünülürken yayınlanan çalışmalarda kortikal nöronların büyük bir çoğunluğunun bu katmandan köken aldığı ortaya konulmuştur.^{38,39,40} Embriyonik evrenin sonunda subventriküler katman ventriküler tabaka ile eşit kalınlığa ulaşır. Gelişim süresince SVZ kalınlığı ve büyüklüğü sürekli olarak değişir. Bu katmandaki hücresel düzenlenim primatlarda diğer türlere karşı çok daha farklıdır. İnsanlarda gebeliğin 20. haftasına gelindiğinde SVZ'de teğet fibriller bantlar oluşturarak bu tabakayı iç ve dış alt bölümlere ayırır. İç katman ventriküler katmana yakın yerleşimlidir. İnsanlarda bu katmanda bulunan hücrelerin yüksek PAX-6, Ki 67 eksprese ettikleri belirlenmiştir.⁴¹ PAX-6, progenitör hücrelerin hücre döngüsünden çıkışını baskılar ve postmitotik işaretleyicilerin ekspresyonunu sağlar. PAX 6'nın ekspresyonunun yoğun olması çok sayıda progenitör hücrenin depo hücre olarak kalmasını sağlar. Bu nedenle bu gen ekspresyonu insanlarda farelerde olduğundan çok daha fazladır. Bu katman özellikle, göç eden nöronlara yol gösteren radial glial hücreler başta olmak üzere, prolifer

glial hücreleri barındırır. Gebeliğin ikinci yarısında, subventriküler tabaka, nöroblastlara ve subependimal germinal matriks görevi yapar. Bu yarıda göç etmeyi bekleyen glioblastlar da bu bölgede bulunur.³³

3.İntermediate Tabaka: Başlangıçta bu katlar ventriküler ve marjinal tabakalar arasında yerleşirken olarak izlenirken gelişimin ilerlemesi ile subventriküler tabaka ve kortikal plak arasında izlenir. Bu tabakayı, erken dönemlerdeki hücresel göç evresindeki postmitotik nöronlar oluşturur. İntermediate tabaka, kortikal plak oluşmadan önceki evrede, radial göç eden post mitotik hücreler içerir ve bu hücreler erken dönemde doğrudan ventriküler katmandaki hücrelerle bağlantılıdır. Bu katmanda bulunan hücreler erken evrede öncül plak tabakasına göç edecek hücreler için 'pioneer' yol açıcı hücreler olarak tanımlanmaktadır. İnsanlarda gebeliğin 9. ve 10. haftalarında intermediate katmanda sinaptik bağlantılar ve aksonal gelişim görülmeye başlar. Bu tabakadaki aksonların miyelinizasyonunu gerçekleştince intemediate katmanın gelişimi tamamlanmış olur.²⁵

4.Supplate Tabakası: Bu kat insanlarda diğer türlere karşı oldukça kalındır. Fötal insan beyinde intermediate katman ile kortikal plak arasında bulunur. Yapısal çalışmalar bu tabakadaki nöronların öncül plak tabakası, kortikal plağın derinlerinden ve gangliyonik eminens' den köken aldığını göstermektedir. Erken gelişim sürecinde bu tabakadaki nöronlar hızla bölünür ve yapısal farklılaşma sürecine girerler.

Eş zamanlı olarak VZ lateral ventriküllere doğru bazolateral yönde büyümeye başlar ve Ganglionik eminens (GE) olarak adlandırılır. Gangliyonik eminens bazal gangliyonu oluşturacak olan nöroblastlarca çevrelenmiştir. Fötustaki geçici periretiküler çekirdek, kortikal internöronlar ve talamus'un bir parçasıdır. Buna ek olarak GE çok sayıda glial hücrelerin ve büyüyen fibrillerin ara hedefi (intermediate target) olabilir. GE kalınlığı gebeliğin 28. haftasından sonra gerilemeye başlar ve doğumda artık ayırt edilemez hale gelir.⁴²

5.Kortikal Tabaka: Marginal tabaka ve öncül plak katmanı arasında yerleşik olarak bulunur. Gebeliğin 8. haftasında VZ' daki post mitotik nöronlar radial olarak göç etmeye başlar ve suplak ile MZ arasında kortikal tabakayı oluştururlar. Kortikal kat gebeliğin 10. haftasından sonra MZ ve SP arasında belirgin olarak ayırt edilebilir. Piramidal nöronların VZ' den oluştuğu düşünülürken, kortikal internöronların GE' den köken aldığı öne sürülmektedir. Kortikal plak içten dışa önce lamina 6 sonra 5, 4, 3, 2 ve 1'i oluşturur. En dış tabakada bulunan hücreler en içtekinden dışa doğru göç ederek son konumlarını alırlar. Nöroblastlar kortikal plağa göçlerini tamandıktan sonra nöronlar farklılaşmaya başlar ve iç-dış katmanlar arasında bağlantılar şekillenir. Suplaktaki kortikopetal fibriller gebeliğin 24. haftasından sonra kortikal kata penetre olmaya başlarlar. Bununla eş zamanlı olarak kortigofugal aksonlar görülür. İç katmanlar ve hemisferler arası fibriller gebeliğin 26. haftasında bağlantı kurarlar.^{25,29}

6. Marjinal Tabaka: Öncül plak tabakasının bir parçası olarak PP' in üzerinde gelişen marjinal kat hemisfer yüzeyinde bulunur. Hücresiz olan bu katman erken dönemde ventriküler tabakadaki hücrelerin dıştaki sitoplazmik uzantılarından oluşur.^{25,29}

Marjinal tabakadaki belirgin hücre tipi Cajal-Retzius hücreleridir. Bu hücreler reelin salgılayarak radial glial hücreleri etkilerler ve nöroblastların radial göçlerini engelleyici olarak işlev görürler.

Daha sonra, diensefalon ve mezensefalondan çıkan aksonlar bu tabakada yer alırlar. Bu süreç marjinal tabakanın pleksiform tabaka denilen evresidir. İleride gelişecek kortikal plak nöronlarına ait akson sonlanmaları, dendritler ve sinapslar bu tabakanın yapısını oluşturur. Fötal beyinin marjinal tabakası olgun beyin korteksinin moleküler tabakası ya da lamina 1 olarak devam eder. Korteksin en dış kısmını yapan bu bölge hücresiz bir katman olarak doğumdan sonra da varlığını korur. Korteks tabakalarını yapacak kortikal plak ise bu marjinal kat içinden gelişir.^{25,29}

7.Subpial Tabaka: Marjinal tabakanın üzerinde yer alan bu kat gebeliğin 11. haftasında SVZ'den yüzeye doğru göç eden hücrelerce oluşturulur. Gebeliğin 14. haftasında ise granüler GABAergik internöronlar ve Cajal-Retzius hücrelerinden oluşur ve tüm kortikal yüzeyi kaplar.²⁵

2.1.2.Beyin Kommissürleri

Beyin korteksi gelişirken Kommissur olarak adlandırılan lif demetleri, beyin hemisferlerinin aynı bölgelerini birbirine bağlar. Bu kommissürlerin en önemlisi, ön beynin rostral sonu olan Lamina terminalis'te çapraz yapar. Bu lamina, diensefalon'un tavan plağından optik kiazma'ya uzanır. Lamina terminalis bir hemisferden diğerine giden doğal yoldur. İlk oluşan kommissürler, filogenetik olarak beyin daha eski bölümlerini bağlayan küçük lif demetleri olan kommissura anterior ve kommissura hippocampi'dir. Kommissura anterior olfaktör bulbus ile bir hemisferin ilgili bölümlerini, karşı hemisferin ilgili alanlarına bağlar. Kommissura hippocampi hipokampal oluşumları birleştirir.^{22,25}

En büyük beyin kommissürü neo kortikal alanları bağlayan Korpus kallosum' dur. Korpus kallosum başlangıçta lamina terminalis içerisinde yer alır. Korteksin büyümesine koştur olarak yeni lifler oluştuğça, giderek lamina terminalisin dışına çıkar. Lamina terminalis'in kalıntısı Korpus kallosum ile forniks arasında yer alır. Bu kalıntı beyin dokusunun ince bir laminası olan septum pellucidum'u oluşturmak üzere geriler. Doğumda korpus kallosum diensefalon'un tavanı üzerinde uzanır. Lamina terminalis'in ventral bölümünde gelişen chiasma opticum, karşı tarafın traktus optikus' larına katılmak üzere, retinaların medial yarımından çaprazlaşan lifler içerir.²²

Hemisferlerin yüzeyi başlangıçta düzdür. Büyüme sürecinde oluk (sulci) ve çıkıntılar (gyri) gelişir. Oluk ve çıkıntılar kranial boyutta aşırı

artma olmaksızın, beyin korteksinin yüzey bölgelerinde olabildiğince artışa olanak sağlar. Corpus striatum'un dış yüzeyini örten korteks, her bir beyin hemisferlerinin büyümesi sırasında yavaşca büyür ve hemen üzeri örtülür. Bu büyümeyen korteks beyin hemisferlerinin sulkus lateralis' inin derinliğinde gizlenen insula' dır.²²

Beyin korteksinde histolojik katmanların şekillenmesi ile büyümekte olan beyinde, aynı süreçte beyin bükülmeleri gerçekleşmektedir.²²

2.1.3.Beyin Bükülmeleri (Flexurae encephalicae)

Dördüncü haftada embriyonal beyin hızla büyür ve baş kıvrımı ventrale doğru bükülür. Bu mezensefalon bölgesinde, sefalik fleksür (fleksüra mesencephalica) ile rombensefalondan omuriliğe geçiş bölgesinde servikal fleksür oluşur. Daha sonra beyinin eşit olmayan büyümesi ile bu fleksürler arasında karşı yönde pontin fleksür şekillenir. Bu bükülme rombesefalon'un tavanının incilmesi ile sonuçlanır. Başlangıçta primordial beyin, gelişen omurilikte olduğu gibi aynı temel yapıya sahiptir. Buna karşın beyin bükülmeleri ile beyinin gri ve beyaz maddenin konumlarında önemli derecede değişiklikler olaylanır. Motor alanları simgeleyen bazal plaklar ve duyu alanlarını temsil eden alar plaklar rombensefalon ve mezensefalonda orta hattın her iki yanında yer alır. Prosensefalonda alar plaklar belirgin olarak izlenirken bazal plaklar geriler.²¹

2.1.4.Rombensefalon (Arka Beyin)

Rombensefalon, beyin veziküllerinin en kaudalindeki myelensefalon ve pontin fleksurdan rombensefalik istmus'a kadar uzanan metensefalondan oluşur. Rombensefalon omurilikten servikal fleksurla ayrılır. Daha sonra sınır, kabaca foramen magnum' da yer alan birinci servikal spinal sinirin üst kökü düzeyinde belirir. Gelecekteki pons bölgesinde yer alan pontin fleksurdaki (flexura pontina) rombensefalon'u, kaudal'de myelensefalon ve rostral metensefalon bölümlerine ayırır. Myelensefalon medulla oblongata'yı metensefalon ise pons ve beyinciği oluşturur. Rombensefalon'un boşluğu dördüncü ventrikül, medulla oblongata' nın kaudal bölümündeki boşluk da santral kanalı (canalis centralis) yapar. ^{21,22}

2.1.5.Mesensefalon (Orta Beyin)

Mesensefalon rombensefalon'dan rombensefalik istmus ile ayrılır. Orta beyinde nöral kanal üçüncü ve dördüncü ventrikülleri birbirine bağlayan aquaduktus serebri adı verilen dar bir kanal şeklini alır. Mesensefalon' un alar plaklarından tektum'a göç eden nöroblastlar görme ve duyma refleksleri ile ilgili olan birer çift çekirdek oluşturur. Bunlar göz kaslarını sinirlendiren okulomotor ve troklear sinirlerle simgeleyen bir medial somatik efferent grup ve pupilla'nın sfinkter kaslarını sinirlendiren genel viseral efferent gruptur. Bazal plakların marjinal tabakaları genişleyerek krus serebrileri şekilendirir. Krus serebri'ler beyin

korteksinden pons ve omurilikten daha aşağı merkezle inen sinir liflerinin bir araya geldiği yollardır. Başlangıçta mesensefalon'un alar plakları birbirinden yüzeyel bir orta hat çöküntüsü ile ayrılmış, iki uzunlamasına yükselti şeklinde belirir. Gelişimin ilerlemesi ile transvers bir oluk bu yükseltileri anterior (supeior) ve posterior (inferior) kollikuluslara böler. Posterior kollikuluslar işitme refleksinin sinaps yaptığı bir ara istasyon olarak işlev görürken, anterior kollikuluslar görsel uyarıların korelasyon ve refleks merkezi olarak görev yapar.²¹

2.1.6.Prosensefalon (Ön Beyin)

Ön sinir deliğinin kapanması gerçekteştiğinde ön beyinin iki yanında üzerinde optik vezikül (vesicula optica) olarak adlandırılan iki lateral büyüme ortaya çıkar. Optik veziküller optik sinir ve retina primordiyumunu kapsar. Bunun hemen ardından dorsal ve rostral olarak beyin vezikülleri (beyin veziküller) ya da telensefalik veziküller olarak adlandırılan ikinci bir çift divertikül oluşur. Bunlar beyin hemisferlerinin primordial şekilleridir. Bu primordial hemisferlerin içlerindeki boşluklar lateral ventrikülleri (ventriculus lateralis) oluşturur. Prosensefalon'un ilkel beyin hemisferlerini içeren rostral ya da ön bölümü telencephalon, kaudal ya da arka bölümü ise diencephalon'dur.²²

Diensefalon:

Üçüncü ventrikülün lateral duvarlarında, daha sonra epitalamus, talamus ve hipotalamus'u oluşturacak üç şişkinlik gelişir.

Talamus epitalamustan, sulkus epitalamus ve hipotalamustan ise sulkus hipotalamus ile ayrılır. Talamus her iki tarafta hızla gelişir ve üçüncü ventrikül boşluğuna doğru çıkıntı yaparak burayı dar bir yarık haline getirir. Sağ ve sol talamus, beynin %70'inde adhesio intalamika (Massa intermedia) olarak adlandırılan üçüncü ventrikülü çaprazlayan bir gri madde köprüsü yaparak orta hatta kaynaşır.²¹

Hipotalamus

Sulkus hipotalamus'un ventralinden sefalik duvarların intermediate bölgesindeki nöroblastların promasyonu ile oluşur. Daha sonra, endokrin aktiviteler ve homeostazis ile çekirdekler gelişir. Bir çift çekirdek oluşumu olan Korpus mamillare' ler hipotalamus'un ventral yüzü üzerinde bezelye büyüklüğünde şişkinlikler oluştururlar.²²

Epitalamus

Diensefalon'un lateral duvarının dorsal bölümü ve tavanından gelişir. Başlangıçta epitalamik şişkinlikler büyüktür. Bunlar daha sonra göreceli olarak küçülürler. Korpus pineale diensefalon'un tavanının kaudal bölümünde median bir divertikül olarak gelişir. Duvarlarındaki hücrelerin proliferasyonu bu yapıyı içi dolu (solid) konik bir bez haline dönüştürür.

Dördüncü haftanın ortasında Rathke kesesi ya da hipofiz cebi olarak bilinen bir divertikül, stomadeum'un tavanından diensefalon'un tavanına komşu olarak uzanır. Gelişimin 5. haftasına gelindiğinde bu kese

uzar ve ağız epiteline yapıştığı yerde daralarak meme başı benzeri bir görünüm alır. Bu evrede diensefalondan ventral bir büyüme ile oluşan infundibulum ile temas eder. Stomadeum ektoderminden gelişen hipofiz bezi bölümleri olan pars anterior, pars intermedia ve pars tuberalis adenohipofizi oluştururlar. Altıncı hafta süresince ağız boşluğu ile hipofiz cebinin (Rathke kesesi) bağlantısı gerileyerek ortadan kalkar.²¹

Telensefalon:

Telensefalon bir median bölüm ile beyin vezikülleri olarak adlandırılan iki lateral divertikül içerir. Bu divertiküller, beyin hemisferlerinin ilkel şekilleridir. Başlangıçta beyin hemisferleri foramen interventrikülaireler aracılığıyla üçüncü ventrikül boşluğu ile bağlantılıdır. Fissura koroidea olarak adlandırılan bir çizgi boyunca, gelişen beyin hemisferinin tavanında yer alan bu ince epidermal bölüm üçüncü ventrikülün ependimal tavanı ile devam eder. Lateral ventrikülün plexus koroideus'u daha sonra oluşur. Beyin hemisferleri genişlerken diensefalon, mezensefalon ve rombensefalon'u başarılı bir şekilde sararlar. Hemisferler sonunda, yassılaştırmış medial yüzleri ile orta hatta birbirleri ile birleşirler. Bunlar arasındaki longitudinal fissurda kalan mezenşim, duramater'in median bir plikası olan falks serebri'yi yapar.²²

Korpus striatum:

Her bir beyin hemisferinin tabanında belirgin bir şişkinlik olarak ortaya çıkar. Her hemisferin tabanının oldukça büyük korpus

striatum içermesi nedeniyle, ince kortikal duvarlardan daha yavaş genişler ve beyin hemisferleri -C- şeklini alırlar.

Hemisferlerin büyümesi ve kavisi lateral ventriküllerin şeklini de etkiler. Serebrospinal sıvı (BOS) ile dolu boşluklar kabaca -C- şeklini alırlar. Her bir beyin hemisferinin kaudal ucu temporal lobu yapmak üzere ventrale ve daha sonra rostrale döner; buna bağlı olarak içindeki ventrikül bölümü Kornu temporaleyi oluşturur ve fissura koroidea' da taşınır. Hemisferin ince medial duvarı fissura koroidea boyunca, kornu temporale'nin plexus koroideus'unu oluşturmak üzere vasküler pia mater tarafından invagine edilir. Beyin korteksi farklılaşırken buraya gelip giden lifler korpus striatum boyunca geçer ve burayı Nukleus kaudatus ve Nukleus lentiformis'e böler. Kapsula interna olarak adlandırılan bu lif yolu hemisferin şekline uyum sağlayarak -C- şeklini alır. Nukleus kaudatus, lateral ventrikül'ün hatlarına uyacak şekilde genişleyerek -C- şeklini alır.

2.1.7.Hipokampus

Telensefalon'un rotasyonu ile hemisferlerin duvarı koroidal fissür'ün hemen üzerinde kalınlaşır ve hipokampus'ü oluşturur.

Sıçanlarda E16. ve E21. günlerde piramidal nöronlar hipokampus'e ventriküler tabakadan göç eder ve hipokampus'ün CA1 bölgesi boyunca yerleşirler. Bundan 3-4 gün sonra piramidal nöronlar hipokampus'ün CA2, CA3 ve CA4 bölgesine göç etmeye başlarlar. Hipokampus'ün CA1 ve CA3 bölgesi doğumda 6-10 sıra piramidal hücreden oluşurken doğumdan sonra biraz daha kalınlaşır. Yetişkinliğe

ulaştıklarında CA1 ve CA3 tabakaları 1-2 sıralı piramidal hücreden oluşur. Piramidal hücreler ile eş zamanlı olarak granüler hücreler de hipokampus'e göç etmeye başlar. Ancak bu hücrelerin farklılaşma süreleri ve göçlerini tamamlamalarının piramidal hücrelere göre daha geç olduğu bildirilmiştir. İnsanlarda granüler hücrelerin doğumdan sonraki 30. haftada göçlerini ve farklılaşma süreçlerini tamamladıkları saptanmıştır.²¹

2.1.8.Beyin Gelişiminin Moleküler Düzeni

Merkezi sinir sisteminin karaniokaudal yönde gelişimini tetikleyen sinyaller, gelişimin erken evrelerinde notokord, prekordal plak ve nöral plakta eksprese edilen Homeobox genlerince denetlenir. Bu evrede merkezi sinir sistemi ön, orta ve arka beyin bölgelerine ayrılır. Nöral plak evresinde prekordal plakta eksprese edilen LIM1 ve OTX2 ön beyin ve orta beyinin şekillenmesinde önemli rol oynarlar. Bu genler gelişimin erken evrelerinde eksprese olurlar ve epiblastta kranial bölgenin özelleşmesini sağlarlar. Gelişimin ilerlemesi ile nöral katlantıların ve farengeal arkların oluşması ile bu genlere homeobox gen ailesinden OTX1, EMX1 ve EMX2 gibi genler katılarak ön beyin ve ortabeyin bölümlerinin gelişimini desteklerler. Bu genlerin ekspresyonu ile eş zamanlı olarak nöral plağın kranial sınırıyla non nöronal ektodermin birleşim yerinde ön nöral sırt (ANR) ve arka beyin ve orta beyin arasındaki isthmus bölgeleri belirir. Bu iki bölge beyin gelişimini düzenleyecek yeni iki merkezdir. Her iki merkezde de öncelikle farklılaşmayı sağlayacak olan gen bölgeleri fibroblast büyüme faktörü-8 (FGF-8)'in uyarısı ile başlar. Dördüncü somit

evresinde ön nöral sırtta FGF-8 beyin faktörü-1 ekspresyonunu başlatır. Bu faktör telensefalon'un, ön beyin içinde bazal telensefalon'un ve retina'nın gelişimini düzenler. Aynı zaman süreçte orta beyin ve arka beyinin birleşim noktası olan istmus'da da FGF-8 uyarısı ile Homeobox gen ailesinden engrailed 1 (EN1) ve engrailed 2 (EN2) eksprese olur. EN1 orta beyin dorsalinin ve anterior arka beyin gelişimini uyarırken, EN2 beyincik gelişimini destekler.

FGF-8 bu uyarılara ek olarak WNT1 ekspresyonunu da başlatır. WNT beyin gelişimi denetleyen ve düzenleyen bir gendir.

Ön beyin ve orta beyin dorso ventral yönde biçimlenir. Merkezi sinir sisteminin ventral yönde gelişiminin denetleyen gen bölgesi sonik hedhegog (SHH) gen ailesidir. Prekordal plaktan ekspresse edilen SHH hipotalamus'un gelişimini düzenleyen NKX2.1 ekspresyonunu başlatır.

Nöral tüpün biçimlenmesi, nöral plağın çevresindeki non nöronal ektoderimde ekspresse edilen kemik morfogenetik 4 (BMP4) ve kemik morfogenetik 7 (BMP7) tarafından da denetim altında tutulur.²¹

2.2. Beyin'in Anatomisi

Sinir sistemini genel olarak, merkezi ve çevresel (periferik) sinir sistemi olarak iki bölümde incelenir. Çevresel sistem, vücudun her yanından alınan duyu (tat, dokunma, görme, işitme, vücudun pozisyonu,

ağrı, ısı, titreşim vb) bilgilerini merkeze taşıyan ve merkezden çıkan uyarıları kas ya da salgı bezi gibi ilgili yerlere ileten sinir liflerinden oluşur.⁴³

Merkezi sinir sistemi; çevreden gelen verilerin yorumlandığı, algılamının ve diğer tüm bilişsel işlevlerin yerine getirildiği bölgeleri içeren karmaşık işlevsel yapılar bütünüdür. Beyin ve omurilikten oluşur.^{43,44,45,46}

Merkezi sinir sisteminde beyin, çevreden gelen uyarıları türüne ve işlevine göre sınıflandırarak değerlendiren ve korteksinde duyu olarak anlamlandıran bölümdür.^{43,44,45,46}

Beyin, makroskopik olarak beyin yarı küreleri (hemisferler), beyin sapı ve beyincik olarak üç esas incelenir.^{43,44,45,46}

2.2.1Telencephalon (Cerebrum)

Her iki hemisfer (hemispherium cerebri [cerebralis]), fissura longitudinalis cerebri adı verilen derin bir yarıkla birbirinden ayrılmıştır. Bu yarığın içersinde falx cerebri denilen duramater bölümü ile arteria cerebri anterior ve dalları bulunur. Her iki beyin hemisferi corpus callosum ile birbirine bağlamıştır. Beyin ve beyincik arasında duramater'in tentorium cerebelli adı verilen bölümü bulunmaktadır.^{43,46}

Beyin yüzeyinde (cortex cerebri [pallium]), sulci cerebri denilen oluklar ve gyri cerebri olarak adlandırılan kabarık bölgeler bulunur. Bunlar beynin yüzeyini genişletirler. Beyin hemisferleri komşu oldukları kafatası kemiklerine uyumlu olarak isimlendirilmişlerdir. Bunlar bilinçli düşünmede etkin olan lobus frontalis, çeşitli duyu organlarından gelen bilgileri birleştiren lobus parietalis, görme duyusu ile ilgili bilgilerin değerlendirildiği bölüm lobus occipitalis, ses ve duyunun algılanması ve karmaşık uyarıların işlenmesinde etkili olan lobus temporalis'dir.^{43,45}

Her bir beyin lobu birbirinden farklı işlevleri olmasına karşın her biri 4 esas yapıdan oluşur.

1. Beyin hemisferlerinin dış yüzünü oluşturan gri madde- cortex cerebri ya da pallium
2. Korteksin hemen altında yer alan ak madde- substansia alba encephali
3. Ak madde içerisindeki bazal gangliyonlar (nuclei basales) olarak adlandırılan gri madde kümeleri
4. İç orta bölümde yer alan rhinencephalon(koku beyni).^{43,45}

2.2.2. Cortex cerebri [pallium]

Her bir beyin hemisferinin konveks olan üst-dış yüzü facies superolateralis hemisferii, düz olan iç yüzü facies medialis hemisferii ve girintili çıkıntılı olan alt yüzü facies inferior hemisferii olarak adlandırılır.

Facies superolateralis ile medialis arasındaki belirgin kenara, margo superior denir. Üst-dış yüz ile alt yüzü birbirinden ayıran kenar margo inferior, alt yüz ile iç yüzü birbirinden ayıran kenar margo medialis'dir. Hemisferlerin ön ucuna polus frontalis, arka ucuna polus occipitalis ve temporal lobun ön ucuna da polus temporalis denir.^{43,44,45}

2.2.3.Beynin Dış Yüzündeki Derin Oluklar

Beyin yüzeyindeki oluklar intrauterin yaşamın 5. ayında şekillenmeye başlar ve doğumdan sonra 1 yaşına değin yapılanmayı sürdürürler. İlk görülen oluklar sulcus centralis ve sulcus calcanarius'dur. Oluklar beyin yüzeyini üç kat genişletirler.^{43,44,45}

Sulcus centralis (Rolando oluşu): beynin iç yüzünde ve üst yüzün ortalarından başlayarak dış yüzeyde öne ve aşağı doğru, sulcus lateralis'in ramus ascendens'inin 2,5 cm arkasına kadar uzanır. Bu oluşun ön tarafında bulunan gyrus precentralis'de (4. saha) somatomotor hücreler bulunur. Bunlar vücudun karşı tarafının hareketlerinden sorumludur. Arka tarafında bulunan gyrus postcentralis'in (1.,2. ve 3. sahalar) yine vücudun karşı tarafından gelen duyuların toplandığı yer olmasıyla bu oluk büyük önem taşır.⁴³

2.2.3.1.Sulcus lateralis (Sylvius Oluğu)

Beynin dış yüzünün ortalarında, önden arkaya doğru uzanan derin bir oluktur. Bu oluk yukarıdaki frontal ve parietal lobları,

aşağıdaki temporal lobdan ayırır. Bu oluk beynin alt yüzünden başlayarak kısa bir seyrin sonunda dış yüze geçer ve burada öne yukarı ve arkaya doğru uzanan dallara ayrılır. Ramus anterior denilen ön ve ramus ascendes denilen orta kısa dalları ve ramus posterior adı verilen arka uzun dalları bulunur. Sulcus lateralis'in polus temporalis yakınında bulunan çukur bölümü fossa lateralis cerebri'dir.⁴³

2.2.3.2.Sulcus parieto-occipitalis

Beynin üst iç kenarında polus occipitalis'in yaklaşık 5cm ön tarafında başlar. Hemisferin iç yüzünde öne ve aşağı doğru uzanarak sulcus calcarinus ile birleşir.⁴³

2.2.3.3.Sulcus calcarinus

Beyin hemisferlerinin iç yüzünün arka bölümünde bulunur. Ön tarafta splenium corporis callosi'nin hemen aşağısından başlar ve yukarı doğru bir kavis çizerek polus occipitalis'e uzanır. Sulcus parieto-occipitalis, sulcus calcarinus'un orta bölümü ile birleşir.

43

2.2.3.4.Sulcus cinguli

Beynin iç yüzünde bulunan oluktur. Corpus callosum'un ön ucunun altından başlayarak bu oluşuma koşut bir uzanım ile öne, yukarı ve daha sonra arkaya dönerek sulcus centralis'in arka

kısından kıvrılarak üst kenarda sonlanır. Beynin alt yüzündeki sulcus collateralis, polus occipitalis'den polus temporalis yakınına değin alt-dış kenara koşut uzanır.⁴³

2.2.4.Beyin Lobları

2.2.4.1.Lobus frontalis

Her bir beyin hemisferi lobus frontalis, lobus parietalis, lobus temporalis ve lobus occipitalis olarak 4 bölüme ayrılır. Bu lobların derininde bulunan insula'ya lobus insularis denir.⁴³

Beynin ön kısmında bulunur ve her üç yüzünde sarar. Arkada sulcus centralis'e, aşağıda ise sulcus lateralis'e değin uzanır. Facies superolateralis'inde üç olukla birbirinden ayrılmış 4 gyrus bulunur. Sulcus centralis'in önünde ve buna koşut olarak uzanan oluk, sulcus precentralis, iki oluk arasında bulunan gyrus da gyrus precentralis adını alır. Sulcus precentralis'den ön tarafa, polus frontalis'e uzanan oluklardan üsttekine sulcus frontalis superior, alttakine ise sulcus frontalis inferior denir. Bu iki oluk gyrus precentralis'in ön tarafında kalan bölümü üç gyrusa ayırır. Üst-iç kenarla sulcus frontalis superior arasında bulunan gyrusa gyrus frontalis superior, bunun altındakine gyrus frontalis medius ve sulcus frontalis inferior denir. Gyrus frontalis inferior'u sulcus lateralis'in ramus anterior ve ramus ascendens'i üç bölüme ayırır. Ramus

anterior'un önünde kalan kısmına pars orbitalis, arkasında kalan kısma, pars triangularis ve ramus ascendens'in arkasında bulunan bölümüne pars opercularis [operculum frontale] adı verilir. Sol tarafın gyrus frontalis inferior'u genellikle sağ tarafındakinden daha kıvrıntılı olup arka bölümü Broca'nın (pars triangularis ve pars opercularis) konuşma merkezi olarak adlandırılır.^{43,45}

Frontal lobun iç yüzü, arkada sulcus centralis'in üst kenarını kestiği yerden, öne ve aşağı doğru corpus callosum'a uzanır. Bu yüzün üst kısmında ve üst kenara koşut uzanan gyrus frontalis superior, bunun da altında corpus callosum'a komşu olarak gyrus cinguli'nin ön bölümü bulunur. Bu iki gyrus arasındaki oluğa sulcus cinguli ve corpus callosum ile gyrus cinguli arasındaki oluğa da sulcus corporis callosi denilir. Gyrus frontalis superior arkaya, parietal loba doğru uzanarak sulcus centralis'i alttan kuşatır. Bu son bölüme lobulus paracentralis adı verilir.⁴³

Frontal lobun alt yüzü orbita'nın üzerinde yerleşiktir. Bu nedenle bu yüzdeki gyruslar gyrus orbitales olarak adlandırılır. H harfine benzeyen bir oluk gyrus orbitales'leri iç, dış, ön ve arka olarak 4 bölüme ayırır. Bu yüzde fisurra longitudinalis cerebri'ye koşut olarak gyrus rectus uzanır. Gyrus rectus ile gyri orbitales'in medial bölümü

arasında bulunan oluğa sulcus olfactorius denir. Bu olukta rhinencephalon'a ait tractus olfactorius bulunur.^{43,44,45}

Lobus frontalis'deki kortikal alanlar

Area precentralis: sulcus centralis'in önünde motor merkezlerin bulunduğu alandır. Bu alan gyrus precentralis ile gyrus frontalis superior, medius ve inferior'un arka bölümlerini içerir. Area precentralis ön ve arka olarak üzere iki bölgeye ayrılır. Arka bölge (4. saha) primer motor alan olarak bilinir ve burası gyrus precentralis ile hemisferin iç yüzünde lobus paracentralis'in ön kısmını içerir. Area precentralis'in ön bölümü sekonder motor alan olarak adlandırılmıştır. Burası Brodman'ın alanlarından 6. sahanın tümü ile 8., 44. ve 45. alanların bir bölümünü içerir. Premotor alanlar gyrus frontalis superior, medius ve inferior'un gyrus precentralis'e komşu olan bölümlerinde bulunur. Tractus corticospinalis ve tractus corticonuclearis'in liflerinin büyük bir bölümü area precentralis' de bulunan küçük piramidal hücrelerden başlar. Bu alanda yaklaşık 25.000-30.000 adet Betz'in dev hücresi bulunur. Efferent (inen) yollar oksipital ve temporal lobların yanı sıra gyrus post centralis [primer somestetik saha (3.,1. ve 2. sahalar)] ile sekonder somestetik alandan başlar. Somestetik alanlardan başlayan liflerin kas hareketleri ile ilgisi yoktur ve yalnızca merkezi sinir sistemine gelen duyuları engeller ya da tetikler.⁴³

Vücutun farklı bölümlerinde uyarılar, gyrus precentralis'in (primer motor saha) farklı yerlerinden çıkar. El parmakları, dil ve dudaklar gibi çok yönlü işlevi olan bölgeler, primer motor korteksinde büyük alanlar kaplar.⁴³

Primer motor alanın işlevi vücutun bazı bölgelerinde hareket ettiren uyarılar üretmektir. Primer motor alan sekonder motor sahalardan, somestetik alanlardan (sensitif shalar), thalamus'dan, beyincik ve bazal gangliyonlardan afferent lifler alır. Bunların etkisi ile ürettiği uyarılar kişinin gereksinimine uygun şekilde gelişir. Primer motor saha hareketlerin nasıl yapılacağını sağlayan bir merkez değildir. Planlamayı sekonder motor alan yapar. Sekonder motor alanın yaptığı hareket planlamasında herhangi bir bilinçli değişiklik yapılacağı zaman, primer motor alan devreye girer.⁴³

Sekonder motor alanlar yukarı bölümde geniş aşağıda dardır. Burada Betz'in dev hücreleri bulunmaz. Bu sahanın elektrik ile uyarılmasında, primer motor alanların uyarılmasında görülen hareketler görülür. Ancak aynı kuvvetteki bir hareketi oluşturabilmek için sekonder motor alanın daha güçlü uyarılması gerekmektedir.⁴³

Sekonder motor sahalarda somestetik korteksten (3., 1. ve 2. sahalarda) thalamus ve bazal gangliyonlardan, çok sayıda afferent lif alır. Buranın işlevi geçmişteki deneyimlerden öğrenilen hareketlerin

depo edilmesidir. Bu nedenle sekonder motor alanlar, primer motor sahaların yaptıracağı hareketlerin programını gönderir. Bu durum postürel hareketlerin seyrinin denetiminde görülür.^{43,45}

Suplamenter motor alan, gyrus frontalis superior'un hemisferin iç yüzündeki bölümü ile lobulus paracentralis'in ön kısmında bulunur. Bu alanın uyarılması sonucunda karşı tarafın ekstremitesi hareket eder, ancak aynı hareketi oluşturabilmek için premotor alana oranla biraz daha fazla uyarılması gerekmektedir. Genellikle karmaşık hareketlerin denetimi, motor erkin programlanması, planlanması ve başlatılması ile ilgilidir. Ancak bu alanın devre dışı bırakılması sürekli bir hareket kaybına neden olmaz.⁴³

Frontal göz alanı, gyrus precentralis'deki yüze ait alandan, gyrus fontalis medius'a uzanır (6.,8. ve 9. alanlar ve özellikle 8. saha). Bu bölgenin elektrik ile uyarılması sonucunda genellikle gözler birbirinden uzaklaşacak şekilde hareket eder. Bu alandan çıkan liflerin kesin seyir ve bağlantıları bilinmemekle birlikte, colliculus superior'a bağlandıkları düşünülmektedir. Colliculus superior'lar da formatio reticularis aracılığı ile gözü hareket ettiren çizgili kaslara bağlanır. Frontal göz alanı, görme duyusuna bağlı olmadan, gözlerin istemli hareketleirini denetler. Frontal göz alanı bunu kortekse assosiasyon lifleri ile bağlamıştır. 6. saha lobus frontalis superior'da ve

iç yüzde sulcus limitans'a kadar uzanır. Motor becerilerin gelişmesi, ince işlerin yapılması ve duyu uyarılarına karşı istemli motor aktivite ile ilgilidir. ^{43,45}

Motor konuşma merkezi (Broca) (44. saha ve 45. saha'nın bir bölümü): gyrus frontalis' inferior'un sulcus lateralis'in ramus anterior'u ile ramus ascendens'i arasında (Pars triangularis) ve ramus ascendens ile ramus posterior'u arasında kalan bölümlerinde (operculum parietale) bulunur. Bu merkez sağ elini kullananlarda sol hemisferde daha baskınken sol elini kullananlarda sağ hemisferde daha baskın olarak izlenir. ⁴³

Broca'nın konuşma alanı, primer motor alan ile bağlantısı aracılığı ile sözcüklerin şekillenmesinde rol oynar. Larinks, ağız,dil, yumuşak damak ve solunum kaslarına uygun uyarılar motor konuşma işlevini gerçekleştirir. ^{43,45}

Prefrontal korteks (9,10,11 ve 12. sahalar):

Presentral alanın ön tarafında geniş bir bölgede yerleşiktir. Bu alan, gyrus frontalis superior, medius ve inferior'un büyük bölümü, gyri orbitales ile gyrus frontalis superior'un hemisferin iç yüzündeki bölümünün büyük parçası ve gyrus cinguli'nin ön kısmında bulunur. Çok sayıdaki afferent ve efferent liflerle beyin korteksinin diğer bölümlerine, thalamus'a, hypothalamus ve corpus striatum'a bağlanır. Tractus frontopontinus'un lifleride bu alanı nuclei pontinus aracılığıyla

beyinciğe bağlar. Bu alan, forceps frontalis (minor) ve corpus callosum'un genu'sundaki kommissural lifler ile her iki beyin hemisferine bağlanır.⁴³

Prefrontal korteks kişilerin davranışları ile ilgili merkezler içerir. Birçok kortikal ve subkortikal merkezlerden buraya gelen veriler değerlendirilerek kişilerin olaylar karşısında duyarlılığı, karar verme yetisi ve kişilik özellikleri belirlenir.^{43,45}

2.2.5.Formatio Hipocammpi

Formatio hipokammpi, ventriculus lateralis' in cornu inferius'da yer alan hippocampus, gyrus dendatus ve buna ait ak madde yapılı alveus ve fimbria hipocammpi'den oluşur.^{43,44,45,46}

Hipocampus (Cornu Amnonis, Hippocampus proper):

Hippokampus (Cornu Amnonis), denizatına benzediği için anatomist Arantius tarafından bu şekilde isimlendirilmiştir. Ventriculus lateralis' in tabanında 5 cm uzunluğunda subiculum ve medial parahippocampalis'in üstünde uzanır. Koronal kesitlerde C şeklinde görülür. Ön ucu genişleyerek pençe şeklinde uzandığı için pes hipokammpi, buradaki 3-4 çıkıntıya da digitationes hipokammpi denir. Ventriküle bakan yüzü ependim hücreleri ile örtülüdür. Bunun altındaki ak madde bölümüne alveus hipokammpi denir. Bu lifler mediale uzanarak fimbria hipokammpiyi oluştururlar.^{43, 44,45}

Ramony Cajal isimli araştırmacı, hippocampus içinde yedi tabaka belirlemiştir. Ancak bu farklı katmanlar üç esas tabaka olarak incelenmektedir. Bunlar Polimorfik tabaka (stratum oriens), Piramidal hücre tabakası (stratum pyramidale), Moleküler tabaka (Stratum moleculare)'dir. Piramidal hücrelerin daha yoğun bulunduğu hipokampus kısmına superior bölüm, daha az bulunduğu kısmına inferior bölüm denir.^{43, 44,45}

Hipokampus ayrıca kendi içinde CA1, CA2, CA3 ve CA4 olarak ayrılır.

CA1

İnsanda en büyük alan olup, hippocampus ile subiculum arasında yer alır. Sommer'in alanı olarak da tanımlanan bu alan anoksi ve iskemiye duyarlı olması nedeniyle çok önemlidir.^{43, 44,45}

CA2 ve CA3

Hippocampus'ün inferior bölümünde yer alırlar. Dirençli alan olarak anoksiye az duyarlıdır.⁴³

CA4 (Bratz Alanı)

Hipokampus ile gyrus arasında yer alır. Hipoksiye duyarlılığı orta derecelidir.^{43,45}

Subiculum, gyrus parahippocampalis'in üst bölümü ile fissura hippocampalis'in birleştiği bölüme denir. Subiculum, hippocampus ile devamlıdır. Hipokampus ve subiculum lifleri, formatio hippocampi'nin efferent yolu ile forniks'e katılırlar.^{43, 44,45}

Gyrus dentatus, subiculum ve fimbria hippocampi arasında bulunan çentikli ince bir gri madde bölümüdür. Dışta hippocampus yer alır. Önde alt yüzde içe doğru dönerek kuyruk şeklinde uncus'un iç yüzünde kaybolur. Gyrus dentatus'un kuyruk kısmına 'Giacomini'nin bandı' da denilir. Arkada, gyrus faciolaris bulunur; gyrus faciolaris ise indusium griseum ile devam eder.^{43,45}

Indusium griseum (gyrus supracallosum), corpus callosum'un üzerini kaplayan gri katmandır. Indusium griseum üzerinde iki bant şeklinde uzanan miyelinli lifler stria longitudinalis medialis ve stria longitudinalis lateralis'i (Lancisii) oluştururlar. Indusium griseum ve bu iki şerit yapı genu corporis callosi üzerinden geçip gyrus paraterminalis ve stria diagonalis'le birleşip, area septalis'e ulaşır.⁴³

Formatio hippocampi'ye afferentler, area entorhinalis'ten gyrus parahippocampalis'ten, area septalis'ten kontralateral hippocampus'tan hypothalamus, corpus amygdaloideum, thalamus, locus caeruleus, nuclei raphe ve Tsai ventral tegmental alanından gelir.⁴³

Efferentleri ise, hypothalamus, area entorhinal, subiculum ve area septalis'e gider. Area entorhinalis'ten gyrus dentatus'a, gyrus dentatus'tan hippocampus 'ün CA3'ündeki piramidal hücrelerine, CA3' deki piramidal hücrelerden Schaffer kollateralleri ile hippocampus'ün CA1' indeki piramidal hücrelerine, CA1'deki piramidal hücrelerden subiculum'a subiculum'dan ise tekrar area entorhinalis'e dönerek entorinal hipokampal halka oluşur. Bu karşılıklı bağlantılar ile area entorhinalis'in korteks cerebri

ile hipokampus arasında giriş kapısı rolü oynadığı kabul edilmektedir.^{43,}

44,45

2.3.Beyin'in Histolojisi

Sinir sistemi insanlardaki en karmaşık sistemdir. Yaklaşık on milyon sinir hücresi çok sayıda bağlantılar kurarak vücudun iç ve dış ortamını birbirine bağlar ve dengede tutar.⁴⁷ Her nöron diğer nöronlarla ortalama en az bin bağlantı içerir. Bu düzenlenim iletişim için karmaşık bir sistem oluşturur.⁴⁸

Sinir dokusu, bütünleşmiş bir iletişim ağı halinde vücuda dağılmıştır. Anatomik olarak beyin ve omurilikten oluşan merkezi sinir sistemi ile sinir lifleri ve gangliyonları kapsayan periferik sinir sisteminden oluşur.

Yapısal olarak sinir dokusu nöronlar ile bunları koruyan, destekleyen, besleyen nöron etkinliğine katılan, ve merkezi sinir sisteminin savunmasını sağlayan nöroglia hücrelerini içerir.^{48,49,50,51}

2.3.1.Sinir Doku Hücreleri

2.3.1.1.Nöronlar

Nöronlar oldukça karmaşık yapısal özellik gösteren bağımsız anatomik işlevsel birimlerdir. Uyarıları almak, iletmek ve belirli hücresel erkleri başlatmak için nörotransmitterleri ve diğer bilgisel molekülleri

salgılamakla yükümlüdürler. Nöronların çapı 5-150 µm arasında değişkenlik gösterirken şekilleri de birbirinden oldukça farklıdır. Bu nedenle işlevsel olarak üç esas grupta değerlendirilirler. Bunlar duyu, motor ve ara nöronlardır.^{48,51}

Duyu Nöronları: Değişik duyu reseptörlerince alınan duyuları merkezi sinir sistemine iletirler. Duyu nöronları somatik afferent ve visseral afferent olarak kendi içinde iki gruba ayrılırlar. Somatik afferent duyu nöronları sıcaklık, bası, ağrı, ısı, kas, eklemler, görme, işitme ve iç kulaktan gelen denge ile ilgili duyuları reseptörlerince algılar ve merkezi sinir sistemine iletirler.⁴⁸

Visseral afferent duyu nöronları, ağrı ile mukoz membranlardan gelen diğer uyarılarla birlikte, bezlerden ve kan damarlarından reseptörlerince algıladığı duyuları merkezi sinir sistemine iletmekle yükümlüdür.⁵¹

Motor Nöronlar: Merkezi sinir sisteminden aldığı uyarıyı kas, organlar ve salgı bezi gibi efektör organlara iletirler. Motor nöronlarda somatik efferent ve visseral efferent nöronlar olarak kendi içinde ikiye ayrılırlar. Somatik efferent nöronlar istemli uyarıları iskelet kaslarına iletirken, visseral efferent motor nöronlar istemsiz uyarıları düz kaslara, kalbin ileti sistemindeki purkinje hücrelerine ve bezlere taşırlar.^{50,51}

Ara Nöronlar (İnter Nöronlar): İnterkalat nöronlar olarak da isimlendirilirler. Duyu ve motor nöronlar arasında iletişimi sağlayan hücrelerdir.

Nöronların işlevleri, şekilleri ve büyüklükleri farklı olsa da çoğu yapısal olarak üç bölümden oluşur. Bunlar; Hücre gövdesi (Soma, perikaryon), uyarıyı çevreden ve diğer nöronlardan almak için özelleşen çok sayıda kısa uzantılar olan dendritler ve sinir uyarısını diğer hücrelere iletmek için özelleşen, tek ve uzun uzantı olan aksonlardır.^{48,50,51}

Hücre gövdesi (Perikaryon)

Perikaryon, çekirdek ve onu çevreleyen sitoplazmadan oluşur. Algılama yeteneği olmasına karşın temelde beslenme ile ilgili bölümdür. Birçok nöronun perikaryonu diğer sinir hücrelerince üretilen uyarıcı ve engelleyici uyarıları aktaran çok sayıda sinir ucu alır.^{50,51}

Sinir hücresi çekirdeği büyük, yuvarlak şekilli ve ökromatiktir. Belirgin bir çekirdekçik içerir. İki çekirdekli sinir hücreleri sempatik ve duyu gangliyonlarda görülür. Çekirdek kromatini ince taneciklidir ve bu da hücrenin yoğun sentez erkini yansıtmaktadır.^{48,50,}

Sitoplazmada birbirine koştur düzenlenmiş, oldukça gelişmiş granüllü endoplazmik retikulum (GER) tubulusları bulunur. Bu ağlar arasında çok sayıda bulunan poliribozomlar hücrede yapısal ve taşıyıcı proteinlerin sentezlendiğinin göstergesidir. Sitoplazmadaki GER ve poliribozom kümeleri bazofilik boyanan Nissl cisimciklerini oluştururlar. Nissl cisimciklerinin sayısı nöron tipine ve işlevine göre değişiklik gösterir. Akson tepesinde GER bulunmaz.⁴⁸

Nöron sitoplazması granülsüz endoplazmik retikulum (GsER) ağlarından da zengindir. GsER ağları dendritlerde ve aksonlarda hücre

zarının hemen altında hipolemmal sisternalar oluştururlar. GsER tubulusları ve GER sisternaları tüm hücre gövdesini sararak bir ağ oluştururlar. Hipolemmal sisternaların işlevi tam olarak anlaşılmamış olmasına karşın kalsiyum iyonları depolamak ile görevli oldukları düşünölmektedir. Bazı araştırmacılar sinaptik veziköllerin hipolemmal sisternalardan tomurcuklanarak oluştuğunu öne sürmüşlerdir. Ancak bu görüş tam olarak kanıtlanamamıştır.^{48,50,51}

Golgi kompleksi hücre gövdesinde çekirdek çevresinde birbirine koşut yerleşik çok sayıda kesecikten oluşmuştur. Golgi kompleksi nörotransmitter maddelerin ve enzimlerin paketlenmesinden ve bunların aksona iletiminden sorumludur.⁴⁸

Mitokondriyonlar tüm sitoplazmaya dağılmıştır.^{48,51}

Nöronlar bölünme yetenekleri olmayan hücreler olarak kabul edilirler. Bu nedenle sitoplazmalarında tek bir sentriyol bulunur. Buradaki mikrotüböller 9+0 yapısındadır. Bu organelin kalıntı bir yapı olduğu düşünölmektedir. Ancak son yıllarda yayınlanan araştırma verileri yetişkin beyinde bazı nöronların yenilenme yetisi olduğu yönündedir. Bu hücreler nöronal kök hücreler olarak kabul edilmektedir. Kaynaklarda beyin bazı bölgelerinde bulunan bu nöronal kök hücrelerin, bölünerek yeni nöronlar oluşturdukları ve hasarlı bölgeye göç ettikleri belirtilmiştir. Bu bulguların nörodejeneratif hastalıklarda töropatik yöntemlerin geliştirilmesine öncölük edeceği düşünölmektedir.^{48,50,51}

Nöron hücre sitoplazmasında organellerin yanı sıra melanin, lipofuskin ve lipid damlacıkları gibi inklüzyonlarda bulunur.^{48,50,51}

Koyu kahverenginden siyaha değişen renkli melanin granülleri özellikle merkezi sinir sistemindeki gri maddede ve locus cerules' de daha yoğun olarak bulurken, medulla spinalis ve vagus sinirinin dorsal motor çekirdeğinde, periferik sinir sisteminin sempatik gangliyon hücrelerinde az olarak görülürler. Melanin granüllerinin yerleşim yerleri ve işlevleri konusunda tam bir veri olmamasına karşın bu inklüzyonların dihidroksifenilalanin (DOPA) ya da metildopa' nın, dopamin ve noradrenalin gibi nörotransmitterlerin melanin öncüsü olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle bu nörotransmitterlerin sentezi sırasında ortaya çıkan bir ürün olduğu savı öne çıkmaktadır.^{50,51}

Lipofuskin inklüzyonları, düzensiz şekilli ve sarımsı kahve renkli oluşumlardır. Özellikle yetişkin yaşlı hücrelerde bulunurlar. Bu inklüzyonların lizozomal enzimatik erkin kalıntısı olduğu düşünülmektedir. Yaşın ilerlemesine koşut sayılarının arttığı ve nöron sitoplazmasında miktarının artmasının hücresel işlevleri etkilediği bilinmektedir. Bunun yanı sıra kaynaklardaki verilerin, lipofuskin granüllerinin özellikle purkinje hücrelerinde ve beyin korteksindeki nöronlarda birikim yapmadığı bildirilmiştir. Merkezi sinir sistemindeki bazı nöronlarda yaşa koşut artan ve demir içeren pigmentlerin varlığında saptanmıştır.^{48,51}

Nöron hücre sitoplazmasında çok sık rastlanmayan bir diğer inklüzyon olan lipid damlacıklarının ise metabolizmada ya da enerji

kaynaklarında görülen bir hata sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir.

48,49,51

Nöronların hücre iskeletleri nörofibrillerden oluşur. Bunlar ışık mikroskopunda gümüşleme yöntemi ile gözlenebilir. Elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde nöron hücre iskeletinin 3 farklı filamentöz yapıdan oluştuğu görülür. Bunlar 24 nm çapındaki mikrotübüller, 10 nm çapındaki nörofilamanlar (ara filamanlar), ve 6 nm çapındaki mikrofilamanlardır. Hücre iskeletinin bileşenleri perikaryonun yanı sıra akson ve dendritlerde de bulunur. Nörofibriller gümüş tuzları uygulandığında ışık mikroskopunda nörofilaman kümeleri şeklinde izlenirler. Aktin filamanlarından oluşan mikrofilamanlar hücre zarı ile ilişkilidir. Nöronlardaki mikrotübüller diğer hücrelerden ayrıcalıklı olarak hücre gövdesinde ve dendritlerde mikrotubul bağlantılı protein-2 (MAP-2), aksonlar da ise mikrotubul bağlantılı protein-3 (MAP-3) içerirler.⁴⁸

Dendritler

Dendritler diğer sinir hücrelerinden gelen uyarıları alırlar. Nöron hücre gövdesinin hücre zarı ile birlikte oluşturduğu kısa uzantılardır. Kısa bir uzanımdan sonra dallanırlar ve çapları giderek azalır. Dallar, gemmula dendrika ve spinula dendritika olarak adlandırılır. Dendritlerde Golgi kompleksi dışındaki tüm sitoplazmik içerik bulunur. Dendritlerin uç noktalarına doğru organeller ve nörofibrillerin azaldığı ya da hiç olmadığı görülür. Dendritlerin son noktaları sinaptik uçlardır. Nöronların birbirleri ile bağlantısını sağlayarak uyarıların alınmasına aracılık ederler. Ayrıca

dendritlerin yüzeyinde spin adı verilen çıkıntılar bulunur. Bu oluşumlarda diğer nöronlar ile sinaptik bağlantıların kurulmasını sağlar. Spin sayısının yaşa, beslenme alışkanlıklarına ve bireyin yapısal özelliklerine göre değişiklik gösterdiği saptanmıştır. Dendritler bazen veziküller içerir ve böylece uyarının bir diğer dendrite iletimini sağlarlar.^{48,50,51}

Aksonlar

Hücre gövdesinin akson tepeciğinden uzanan tek ve uzun bir uzantıdır. Aksonun uzunluğu ve çapı uyarıyı ileme hızı ile doğru orantılıdır. Bazı aksonlarda kolleteral dal olarak adlandırılan uzantılar bulunur. Kolleteral dallar akson ile dik açı yapan yan uzantılardır. Aksonların uç noktaları kısa küçük dallara ayrılırlar. Bunlara terminal dallar denir. Bu yapılar primer, sekonder ve tersiyer dallara ayrılarak tomurcuk şeklinde sonlanır. Teledendron olarak adlandırılan bu bölümler dendritlerle sinaps yapabilir ya da sinir sonlanması şeklinde kaslarda ve bez hücreleri gibi efektör organlarda sonlanırlar. Aksonların sitoplazmasına aksoplazma hücre zarına aksolemma denir. Aksonun perikaryondan çıkış yeri piramit şeklinde genişleme yapar ve akson tepeciği ya da başlama konisi denir. Bu bölge ile miyelinli aksonlarda miyelin kılıfının başladığı yere kadarki kısma başlangıç segmenti (ön segment) adı verilir. Burada aksolemma altında ince-yoğun bir madde yer alır. Başlangıç segmentinde GER ve ribozom bulunmaz, bol miktarda mikrotübüller ve nörofilamanlar izlenir. Bu yapıların aksonun çapını denetleme yetileri oldukları düşünülmektedir. Bazı nöronlarda bu alanda 3 kat daha fazla nörofilaman bulunduğu

bildirilmiştir. Başlangıç segmenti voltaj tetikleyici bölüm olarak da adlandırılır. Burada uyarıcı ve baskılayıcı uyarıların aksiyon potansiyellerine göre yanıt oluşturup oluşturulmayacağı belirlenir. Bu bölgede aksoplazma kısa GsER, uzun, ince mitokondriyonlar ile bol miktarda mikrotübüller kapsar. GER ve poliribozom kümeleri yoktur.^{48,50,51}

Merkezi ve periferik sinir sisteminde bazı nöroglia hücreleri bazı aksonların çevresinde miyelin kılıf oluştururken bazı aksonlarda miyelin kılıf bulunmaz. Sinir uyarıları miyelinli aksonlarda miyelinsizlere karşın çok daha hızlı iletilir. Tespit edilmemiş dokuda miyelin parlak beyaz renklidir. Miyelin varlığına göre merkezi sinir sistemi gri madde ve ak madde olarak iki bölüme ayrılır.^{49,51}

Uyarı iletimine ek olarak aksonun en önemli görevi hücre gövdesi ve akson terminali arasında aksonal taşımadır. Hücre gövdesinden akson terminaline doğru yapılan taşıma anterograd taşıma, akson terminalinden hücre gövdesine taşıma ise retrograd taşıma olarak adlandırılır.^{48,51}

Anterograd taşımada organeller, veziküller, aktin, miyozin, klatri gibi makromoleküllerin yanı sıra nörotransmitterlerin sentezi için gerekli olan enzimler taşınır. Retrograd taşımada nörofilament demetleri, mikrotübüllerin alt birimleri, çözünebilen enzimler, endositozla alınan virüs, toksin gibi maddeler akson terminalinden hücre gövdesine taşınır. Anterograd taşıma retrograd taşımaya karşın oldukça hızlıdır. Anterograd iletimde maddeler 400 mm/gün hızıyla ilerlerken retrograd iletimde 0,2

mm/gün hızında taşınmaktadır. Anterograd taşımada perikaryondan madde taşınımının hızlı bir şekilde gerçekleşmesini ATP bağımlı kinesin adı verilen microtubul associated protein sağlarken retrograd taşımının gerçekleşmesini yine mikrotubul bağlantılı protein olan dinein gerçekleştirir.⁵¹

Aksonal taşıma yalnızca sinir iletimi ya da nörotransimter maddelerin sentezi için değil akson iskeletinin sürekliliğini sağlamak içinde gerçekleştirilmektedir.⁵¹

Aksonal taşıma sistemi madde taşınımının hızına göre 2 grupta incelenir:

- Yavaş taşıma sistemi: Anterograd taşımada görülür. Maddelerin hücre gövdesinden akson ucuna taşınma hızı 0,2-4 mm/gün' dür. Yapısal elementler örneğin mikrotübül öncüsü tubulin ve, aktin molekülleri ile nörofilamentleri oluşturan proteinlerin yanı sıra kalmodulin ve çeşitli metabolik enzimlerde bu hızda taşınırlar.
- Hızlı taşıma sistemi: Maddeler her iki yönde de günde 20-400 mm/gün hızında taşınır. Hızlı anterograd taşımada hücre gövdesinden akson terminaline GsER bileşenleri, mitokondriyonlar, şekerler, aminoasitler, nükleotidler, kalsiyum taşınır. Hızlı retrograd taşımada ise akson terminalinden hücre gövdesine proteinler ve endositozla alınan maddeler iletilirler. Her iki yönde taşınım işleminde ATP bağımlı mikrotübül bağlantılı proteinler görevlidir.⁴⁸

Dendritlerdeki taşıma sisteminin de aksonal taşımaya benzer yapıda olduğu bildirilmiştir.

Nöronlar dendrit ve aksonlarına göre yapısal olarak 3 sınıfa ayrılırlar;

1. Unipolar Nöronlar: Pseudounipolar nöronlar olarak da adlandırılırlar. Hücre gövdesinden tek bir uzantı çıkar ve daha sonra bu iki dala ayrılır. Bu uzantılardan biri merkezi diğeri ise periferik daldır. Merkezi dal merkezi sinir sistemine girerken, periferik dal çevredeki organlara doğru uzanır. Her bir dalın morfolojik yapısı aksona benzer ve sinir uyarısını taşımak ile görevlidir. Bu uzantıların distal bölümleri dendritik uçlar şeklinde sonlanır. Unipolar nöronlar embriyolojik olarak bipolar nöronlardan köken alır ve başlangıçta iki uzantı içeriler. Daha sonra bu uzantılar birbiri ile kaynaşarak tek bir uzantı halini alır. Bu tip nöronlar kranial ve spinal sinirlerin duyu gangliyonlarında bulunurlar.

2. Bipolar Nöronlar: Hücre gövdesinden bir dendrit ve tek bir akson uzanır. Görme, işitme ve denge sisteminin nöronları bipolar nöronlardır.^{48,51}

3. Multipolar Nöronlar: Hücre gövdesinden çok sayıda dendrit ve tek bir akson çıkar. Sinir sistemindeki çoğu nöron, multipolar tiptir. Beyin korteksindeki piramidal nöronlar ve beyincikteki Purkinje hücreleri bu gruba örnek verilebilir.

Multipolar nöronlar aksonlarının uzunluklarına göre Golgi Tip 1 ve Golgi Tip 2 nöronlar olarak gruplandırılırlar.

- Golgi Tip I Nöronlar: Beyin korteksindeki piramidal nöronlar ve Purkinje hücreleri bu grupta yer alır. Bu tip nöronların aksonları merkezi sinir sisteminden efektör organlara değin uzanabilir. Aksonun boyu 1 metre ya da daha uzundur.

- Golgi Tip II Nöronlar: Bu tip nöronlara örnek olarak beyin korteksindeki yıldızsı (satellit) hücreler verilebilir. Aksonun boyu oldukça kısadır.^{48,51}

Merkezi sinir sisteminde nöronlara metabolik ve fiziksel destek sağlayan nöroglia dokusu bulunur. Bu doku diğer dokulardaki bağ dokusu eşdeşidir. Glia hücreleri ile hücreler arası maddeden oluşur. Glia hücreleri nöronlara karşın daha küçüktürler. Her bir nörona ortalama 10 nöroglia hücresi düşer. Hücrelerin gövdelerine korpus gliyasitikum ve uzantılarına da Prosessus gliositikus adı verilir. Glia hücreleri arasında nekzus tipi bağlantı birimleri bulunur. Glia hücreleri bölünebilen hücrelerdir. Merkezi sinir sisteminin kütlesinin yarısını nöroglia dokusu oluşturur. Birbirinden farklı işlevi olan 4 tip glia hücresi vardır.^{48,50,51}

2.3.1.2.Astrositler (Astrocytus)

Nöronlara yapısal ve metabolik destek sağlayan astrositler en büyük nöroglia hücreleridir. Merkezi sinir sisteminde gri madde de bulunan protoplazmik astrositler ve özellikle ak maddede yerleşik fibröz astrositler olarak iki farklı astrosit tipi vardır. Bazı araştırmacılar her iki

astrositinde farklı yerlerde aynı işlevi üstlendiklerini öne sürmektedir. Elektron mikroskopik incelemeler diğer nöroglia hücrelerinden ayrıcalıklı olarak astrositlerin sitoplazmalarında, çapları 8-11 μ m arasında değişen glial fibriller asidik proteinin oluşturduğu ara filamanların varlığını göstermiştir.^{48,51}

Protoplazmik astrositler, yıldızsı şekilli, bol sitoplazmalı, büyük çekirdekli ve kısa dallanmış uzantılara sahip hücrelerdir. Bu uzantıların uç noktaları hafifçe geniş olduğu için vasküler ayakçıklar ya da pedisel olarak adlandırılırlar. Bu uzantılardan bazıları nöron hücre gövdesi üzerinde sonlanırken diğerleride kan damarları üzerinde sonlanarak kan-beyin bariyerini oluştururlar. Astrositler nöronlar ve kan damarları arasında metabolit değişimi, atık maddelerin uzaklaştırılmasını sağlar. Beyin korteksinin ve medulla spinalis yüzeyine yakın yerleşimli olan astrositlerin ayakçıkları pia- mater de sonlanır. Böylece pia- glial membran oluşturulur.^{48,49,50,51}

Fibröz astrositlerin sitoplazmik uzantıları ince ve uzundur, dallanmalar yapmaz. Sitoplazmada organel azdır, birkaç serbest ribozom ve glikojen içerir, mikrofilamentler boldur. Fibröz astrositlerde protoplazmik astrositler gibi pia mater ve kan damarlarına yakın yerleşiktir.^{48,49,50,51}

Astrositler, nöronların ve Ranvier boğumlarının mikroçevresindeki K^+ , glutamat, γ - aminobütirik asit (GABA) gibi metabolit artıkları, iyonları ve nörotansimater maddeleri toplayarak nöronlara yapısal

ve metabolik destek sağlamakla görevlidirler. Ayrıca vasoaktif intestinal peptit ve norepinefrin gibi nörotransmitterlerin etkisiyle glikojen oluşturarak beyin korteksinde enerji metabolizmasını düzenlerler. Merkezi sinir sisteminde herhangi bir hasar durumunda bu bölgeye göç ederek çoğalır ve burada skar doku oluşumuna neden olurlar.^{48,49,50,51,52}

2.3.1.3.Oligodendrositler (Oligodendrocytus)

Oligodendrositler merkezi sinir sisteminde elektriksel yalıtımı sağlarlar ve miyelin kılıfı üretmekle yükümlüdürler.

Oligodendrositler astrositlere benzeyen ancak daha küçük ve daha az uzantılı olan hücrelerdir. Merkezi sinir sisteminde gri ve ak madde de yerleşmişlerdir. Sitoplazma yoğun boyanır. Çekirdek küçük ve heterokromatiktir. Sitoplazmada çok sayıda GER tubulusları, serbest ribozomları, mitokondriyonlar, belirgin bir Golgi kompleksi içerirler. Elektron mikroskopta çekirdek çevresinde ve uzantılarında mikofilamanların varlığı izlenir. Merkezi sinir sisteminde interfaziküler ve satellit oligodendrosit olarak iki farklı tipi ayırt edilir.^{48,51,52}

İnterfaziküler oligodendrositler merkezi sinir sisteminde aksonlara yakın yerleşik hücrelerdir. Miyelin kılıfının üretiminden ve sürekliliğinin sağlanmasıyla yükümlüdürler. Periferik sinir sistemindeki Schwann hücrelerinin eşdeşidirler. Bir oligodendrosit birden fazla aksonu çevreleyebilir. Satellit oligodendrositler ise büyük nöronların hücre gövdelerine yakın yerleşimlidir ve bu nedenle perinöral satellit oligodendrositler olarak da adlandırılırlar. Bu hücrelerin işlevleri henüz

tam olarak açıklanamamıştır. Bazı araştırmacılar satellite oligodendrositlerin nöronların mikroçevresini düzenlemekle birlikte patolojik koşullar altında miyelin yapımına katıldıklarını öne sürmektedirler.
48,51,52

2.3.1.4.Mikroglia hücreleri (Microglia)

Embriyonik olarak mononükleer hücrelerden köken alırlar. Gri ve ak maddede bulunurlar. Sayıları diğer nöroglia hücrelerine karşı daha azdır. Oldukça dar sitoplazma bol lizozom içerir. Çekirdek oval ya da üçgen şekillidir. Sitoplazmik uzantılar düzensizdir. Fagositoz yapma erkinde olan hareketli hücrelerdir. Bunun yanı sıra merkezi sinir sistemini virüslere, mikroorganizmalara ve tümör oluşumuna karşı korurlar. Herhangi bir antijenle karşılaştıklarında aktifleşerek antijen sunan hücrelere dönüşürler ve sitokin salgırlar. 48,50,51,52

2.3.1.5.Ependim hücreleri (Ependymocytus)

Embriyonik olarak sinir dokusunun geliştiği nöroepitelden köken alırlar. Omurilikte kanalis sentralis' de ve beyin ventrikülleri arasında koroid pleksus' da bulunan tek sıralı kübik ya da alçak prizmatik hücrelerdir. Serbest olan apikal yüzeylerinde mikrovilluslar ve bazı alanlarda da siller bulunur. Siller beyin omurilik sıvısının hareketini sağlarlar. Embriyonda hücre gövdesinden çıkan bu uzantı beyin yüzeyine kadar ulaşırken yetişkinlerde kısalır ve ancak komşu hücrelere değin uzanır. Sitoplazmalarında bol miktarda mitokondriyonlar ve ara filaman demetleri bulunur. Hücrelerarası aralıklar son derece azdır.

Sinir dokusunun ince olduğu yerde, ventriküllerde iç sınırlayıcı membranı ve piamaterin altında da dış sınırlayıcı membranı oluştururlar. Beyin ventrikülleri arasında ependimal hücrelerin modifiye olması ile koroid pleksus oluşur. Buradaki hücreler beyin-omurilik sıvısı üretmek ve kimyasal içeriğini korumakla yükümlüdürler.

Ependim hücrelerinin bir diğer özelleşmiş tipi tanisitlerdir. Bu hücrelerin uzantıları hipotalamus'a kadar uzanır ve burada kan damarlarına ve nörosekretuar hücrelere yakın sonlanırlar. Nörosekretuar hücrelere BOS taşırlar. Adenohipofizin salgısını BOS içerisindeki hormon düzeyine göre kan damarlarına ya da median eminens'e verdiği düşünülmektedir.^{48,50,51,52}

2.3.2.Merkezi Sinir Sisteminin Genel Yapısı

Merkezi sinir sistemi beyin (Encephalon) ve omurilik (Medulla spinalis)' den oluşur. Kafatası kemikleri ve omurga ile koruma altına alınan organlar üç katlı bir zar yapısı ile çevrelenmişlerdir. Bu zarlar dıştan içe doğru dura mater (sert zar), araknoid (örümceksi) zar ve pia mater (ince zar) olarak sıralanırlar. Bu üç kılıf, kesintisiz bir şekilde tüm merkezi sinir sistemini sarar ve çevresel sinir sisteminde de hafif yapı ve işlev değişiklikleri ile süreklilik gösterir.^{48,50,51}

Duramater

Duramater kafatasında ve omurgada farklı görülür. Birbirinin devamı olan zar kafatasında duramater encephali, omurgada duramater

spinalis adını alır. Kafatasında duramater periosteumla sıkı bir ilişki içersindeyken omurgada vertebralar ile epidural aralık (Spatium epidurale) arasında bulunur.^{48,}

Beyni en dıştan saran duramater düzensiz sıkı bağ dokusu yapısındadır ve 2 katmandan yapılmıştır. Kafatasına yakın yerleşimli olan periosteal dura mater osteoprogenitör hücreler, fibroblastlar kollajen lif demetleri ile zengin bir damar ağından oluşur. Duramaterin iç katmanı meningeal duramater olarak adlandırılır. Koyu sitoplazmalı fibroblastlar, kollajen lifler ve küçük kan damarlarından zengindir. Meningeal dura' nın iç yüzünde fibroblastlar sınırlayıcı hücre katmanını oluştururlar. Buradaki fibroblastlar uzun uzantılıdır ve birbirleri ile desmozom ve nekzuslar ile bağlantı kurarlar. Kollajen fibriller bu katmanda bulunmaz. Bu hücreler flöresan bir proteoglikan olduğu düşünülen amorf bir madde ile çevrelenmiştir.⁴⁸

Beyin durası (Duramater encephali)

Kafatası kemiğinin periostu ile dura sıkıca bağlanarak 2 katlı bir yapı oluştururlar. Burada epidural aralık ve dura dışını çevreleyen mezotel hücreleri bulunmaz. Damarlar duramateri delip periost'a girerler. Dura tubuler bir kılıf şeklinde kafatasından çıkan sinirlerin çevresinde dışa doğru uzanır. Sinirin en dış kılıfı olan epineuriumla kaynaşır. Epidural kanamalarda spinal duradakine benzer bir epidural aralık oluşur.^{48,49,51}

Bazı alanlarda duramaterin iç katmanı içe doğru septumlar yollayarak kranial boşluğu kavitelere ayırır. Bunlar iki beyin hemisferi

arasında falks serebri, beyin oksipital loplari ve beyincik üst yüzeyi arasında horizontal olarak uzanan tentorium serebelli, beyincik hemisferleri arasında falks cerebelli ve hipofizyal fossa'nın tavanında bulunan diafragma sella' dır. ^{48,49,51,52}

Araknoit (Arachnoidea mater)

Subdural aralığın altında yer alan saydam zardır. Damarsız ince ağ şeklinde bir bağ dokusudur. Makroskopik olarak örümcek ağına benzediğinden araknoid membran denir.

Beyni saran pia ile araknoid arasında subaraknoidal aralık bulunur. Araknoid membranın pia mater'e bakan yüzünde iki membranı birbirine bağlayan ve subaraknoidal aralığı bölmelendiren trabekülalar yer alır.

- Subaraknoidal aralıkta serebrospinal sıvı bulunur. Belirli yerlerde subaraknoidal aralık genişleyerek sisternaları yapar. Sisternalarda trabeküla çok az bulunur ya da hiç yoktur.

- Araknoid membran bazı yerlerde durayı parmak şeklinde delerek, dura içindeki venöz sinuslara açılır, son kısmı biraz genişler, üzeri yassı hücrelerle örtülü bu uzantılara araknoid villus denir. Bu villuslar, subaraknoidal aralıktaki serebrospinal sıvının aralıklı olarak venöz sinuslara akmasını sağlayan tek yönlü kapaklar olarak kabul edilebilir. Serebrospinal sıvı villusların apeksinden osmozla venöz sinuslara verilir.

- Villusların tepesinde dura oldukça incelmıştır. Serebrospinal sıvı ile venöz kan arasında doku engeli olarak sadece venin endotel katmanı vardır. Buradaki damarların geçirgenliği vücudun diğer yerlerinde bulunanlara karşın azdır. Yaşlılıkla villus bağ dokusu içinde kalsiyum tuzları birikir ve Paccioni granülleri oluşur.^{48,50,51,52}

Piamater

Beyni saran en içteki oldukça iyi damarlanmış bu membran histolojik olarak 2 katmandan oluşur.

1. İntimal Pia Katmanı: Beyin dokusuna yakın bulunan, içteki membranöz yapıdaki katmandır. İnce retiküler fibrilleri içerir. İntimal piadan sinir dokusu içine fibröz septumlar şeklinde uzantılar sokulur.

2. Epipial Katman: Yüzeyel pia katmanıdır Kollajen fibriller ve az sayıda fibroblastlar içerir. Epipial katmanın dış yüzü tek katlı yassı mezotel hücreleriyle örtülüdür.

Beyin içine giren arterler beraberlerinde pia materi de içeriye sürüklerler, böylece prekapiller arteriole kadar olan damarlar çevresinde pia mater yer alır. Damar ile pia arasındaki aralığa Virchow Robins aralığı ya da perivasküler aralık denir. Bu aralık kaybolana değin giderek daralır. Kapiller çevresinde damar ile sinir dokusunu ayırıcı glia damar ayaklarının oluşturduğu membrana limitans glia perivaskularis bulunmaktadır. Pia materde bulunan kapillerler sürekli tiptedir. Astrosit pediselleri kapillerleri çevreler ve nöral dokuyu korur.^{48,50,51,52}

2.3.3.Kan- Beyin Bariyeri

Kan-beyin bariyeri kavramı ilk kez 1880 yılında Alman mikrobiyolog P. Ehrlich tarafından ortaya atılmıştır. İntravenöz olarak verdiği Tripan mavisinin vücuttaki tüm dokuları boyarken yalnızca beyin dokusuna geçmediğini belirlemiştir.⁵³ Bu yıllardan sonra yapılan diğer deneysel araştırmalar beyinde bulunan kapiller endotel hücrelerinin özgün yapısından kaynaklı kan ve beyin arasında seçici geçirgen bir engelin varlığını ortaya koymuştur. Kan-beyin bariyeri, suda çözülen maddelerin kandan merkezi sinir sistemine geçişini sınırlayan, beyin parankiması ve ayrıca koroid pleksus epitel hücreleri arasında geçişi engelleyen beyin-kapiller endotel hücreleri arasında bulunan birleşme yerleridir.⁵⁴ Bir dizi özelleşmiş aracı taşıyıcı sistemleri, dolaşan kanda bulunan diğer maddeler arasından glukoz, belirli amino asit ve nörotransmitterlerin öncüllerinin geçişine izin verirler Endotelin sıkı bağlantı birimleri 6-8 Å çapında olup, yalnız su, Na ve Cl⁻ un geçişine olanak verirler. Bu nedenle beyin damarlarının endotel hücreleri seçici geçirgen bir özelliكتedir.^{53,55}

Beyin damarlanması erken embriyonik evrede olur. Bu dönemde oluşan damarlardaki endotel hücreleri vücudun diğer bölümlerinde olduğu gibi pencereler içerir. Diğer dokulardan ayrıcalıklı olarak endotelin nöral doku ile ilişkisinden kısa süre sonra pencereler giderek azalmaya başlar. Bu nedenle endoteldeki kan beyin bariyeri özelliklerinin genetik olarak kodlanmadığı, nöral doku kaynaklı bir sinyal ile başlatıldığı düşünülmektedir.^{54,55}

Beyindeki damar yapıları iyonların taşınımı ve beyin işlevleri için gereken metabolik maddelerin hareketlerini iki yönlü olarak düzenleyen özel bir endotel içerir. Beyin dokusundaki endotel hücreleri, diğer endotel hücrelerinden sıkı bağlantı birimleri, pencere bulundurmamaları, sitoplazmalarındaki pinositotik veziküllerinin az olması, mitokondriyonlarının çok sayıda olması, kesintisiz bazal laminaları ve kapiller duvarının dış yüzünde astrosit ayakçıkları kapsamaları ile ayrılırlar. Endotel bazal laminasını saran astrosit ayakçıkları (pediselleri) perivasküler glia limitans' ı oluşturur. Bu yapılar kan damarındaki metabolitlerin nöronlara geçişini sağlarken, nöronlardan bulunan K^+ ve nörotransmitterlerin kan damarına aktarımını sağlar. Bu durum merkezi sinir sisteminin diğer dokularla kurduğu nörokimyasal dengeyi düzenler.⁵⁵

Koroid Pleksus (Plexus corioideus): Beyin ventrikülleri arasında piamater katlanmaları ile oluşur. Buradaki hücreler beyin-omurilik sıvısının (BOS) üretimiyle sorumludur.⁵⁵

Koroid pleksus, beyin lateral ventriküllerinin duvarında, 3. ve 4. ventriküllerin tavanında piamater kıvrımlarından oluşur. Piamater tek katlı kübik ya da alçak prizmatik endotel hücreleri ile örtülüdür. Endotel hücrelerinin apikal yüzünde uçları genişlemiş mikrovilluslar ve siller bulunur. Hücre sitoplazması bol miktarda mikrofibriller içerir.^{48,56,57}

Piamater bu alanda diyaframalı ve pencereli kapillerlerden zengindir. Kapiller içersindeki doku sıvısı; endoteli, bağ dokuyu ve epiteli geçerek BOS olarak salgılanır. Burada endotel ve epitel hücreleri kan-

BOS bariyerini yaparlar. Engeldeki seçici geçirgenlikten endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantı birimleri sorumludur. Koroid pleksus'un bağ dokusu bol miktarda makrofaj içerir. ^{48,50}

2.3.4.BOS (Beyin- Omurilik Sıvısı, Liquor cerebrospinalis)

Merkezi sinir sistemi metabolizmasında ve korunmasında önemlidir. Bu sıvı merkezi sinir sistemi için bir yastık işlevi görür. Bunun yanı sıra atık metabolitleri uzaklaştırarak beynin iyon dengesinin sağlanmasına katkıda bulunur. Düşük protein içeriği ve Na^+ , K^+ , ve Cl^- iyonlarından zengin olması nedeniyle saydam ve düşük yoğunluklu bir sıvıdır. Birleşiminde %90 su ve iyonlar ile çok az sayıda lenfositler bulunabilir. Koroid pleksusda üretilen beyin omurilik sıvısı beyin ventrikülleri arasında subaraknoidal ve, perivasküler aralıkta, omurilikte sentral kanalda dolaşır. Araknoit villuslar ile ven sinüslerine dökülür. ^{48,50}

2.3.5.Beyin (Cerebrum) Histolojisi

Beyin hemisferleri telensefalondan köken alır. Bu iki hemisfer alt yüzlerinden korpus kallosum ile bağlantılıdır. Her bir hemisferde frontal, parietal, oksipital ve temporal beyin lobları yer alır. Beyin lobları histolojik olarak korteks ve medulla katmanlarından oluşur. Korteks nöron hücre gövdeleri, kan damarları ve merkezi sinir sisteminin özel bağ dokusu olan nöroglia hücrelerinin bulunduğu gri maddeden oluşur. Medulla ise miyelinli aksonlar ve nöroglia hücrelerini içeren ak maddeden yapılmıştır. ^{48,50}

2.3.5.1.Beyin korteksi (Kabuk,Corteks cerebialis, Substantia grisea)

Hemisferlerin yüzeyi yüzey alanın genişlemesini sağlayacak şekilde kıvrıntılar gösterir. Katlantıların yüzeye doğru olan uzantıları girus, içe doğru olan çöküntüleri ise sulkus adını alır. Korteks yüzeyi yaklaşık 200.000 mm² dir. Korteks kalınlığı ise 1,5 ile 4 mm arasında değişir. Korteks, sinir hücrelerini, lifleri, nöroglia hücrelerini ve kan damarlarını içerir. Hücrelerin çoğunluğu piramidal, yıldız (granüler hücreler) ve fusiform (iğ) şeklindedir. Bu hücreler laminalar şeklinde düzenlenmişlerdir. Bu şekilde tabakalara ayırma “hücresel yapı düzeni”, sitoarkitektür olarak adlandırılırken, sinir hücre gövdelerinden uzantıların düzenlenimi miyeloarkitektür olarak tanımlanır. Korteksin miyelo ve sitoarkitektürü karşılıklı incelendiğinde tabakaların dıştan içe doğru şu şekilde sıralandıkları görülür:

1- Moleküler tabaka (Str. moleculare (plexiforme); En yüzeyel kat olup pia materin hemen altında yer alır. Bu katman yüzeye koşut yerleşimli küçük nöron (neuron horizontale) hücre gövdeleri ve daha derindeki hücrelerden köken alan liflerden oluşur. Buradaki sinir hücre gövdeleri iğ şeklinde, yassılaştırmış ve çok kutupludur. Dendrit ve aksonları kısadır. Miyeloarkitektür yönünden bu kat, yüzeye koşut olan uzantıların demetlerinden yapılmış lamina tangensiyalis’ tir. Tangensiyal kattaki fibrilli yapı, III. kattaki piramidal nöronların dendritleri ile yine aynı katta yer alan

ters piramidal hücrelerin (Martinotti hücreleri) tabanlarından çıkan aksonlarının bu kata ulaşarak yüzeye koştur dallanmalar göstermeleri ile oluşur.^{48,51}

2- Dış granüler tabaka; küçük, üçgen şekilli sinir hücresi perikaryonlarını içerir. Bu nedenle granüllü görünür. Sinir hücreleri çok kutupludurlar. Dendrit ve aksonları kısadır ve bulundukları katta kalırlar. III. katta yer alan piramidal hücrelerin dendritleri I. kata geçmek için bu II. katı katederler. Granüler hücrelerle dolu olduğundan, miyeloarkitektür yönünden fibrilsiz bir yapıya sahiptir (Lamina disfibroza).^{48,51}

3- Dış piramidal hücre tabakası; bu katmanda küçük piramidal hücreler bulunur, bu hücrelerin perikaryonları piramit şeklinde ve 20-30 μ kadar büyüklüktedir. Yüzeye bakan tepelerinden bir dendrit çıkar. Bu dendritler I. kata değin uzanarak orada yüzeye koştur olarak dallanırlar. Tabandan çıkan aksonlar alttaki katları geçerek demetler halinde ak maddeye girerler. Bu katın miyeloarkitektüründe de çokça uzantılar gözlenmez. Bu kat alttaki radyal çizgili katın üzerinde yer aldığından lamina super radiata olarak bilinir. Bu katta ayrıca pek çok küçük granül hücreleri de bulunur.^{48,51}

4- İç granüler tabaka; küçük, yıldız şekilli granül hücrelerinden oluşmuştur. Perikaryonların sıklığı buraya granüllü bir görünüm verir. Bu katın genişliği korteksin çeşitli bölgelerinde birbirlerinden farklıdır. Motor ve ön motor bölgede kalındır. Bu katın

miyeloarkitektüründe çoğunlukla talamustan gelen bağlayıcı (assosiasyon) liflerden oluşan “Dış Baillarger Şeridi” gözlenir.^{48,51}

5- İç piramidal tabaka (Ganglionik tabaka); büyük ve orta büyüklükte piramidal hücrelerin bulunduğu kattır. Büyük piramidal hücrelere (40-60 μ) Betz’ in dev piramidal hücreleri denir. Piramidin üst ucundan çıkan dendritler III. katın piramidal nöronlarının dendritleri gibi I. kata çıkar ve orada yüzeye koştur olarak dallanırlar. I. katta böylece III. ve V. kattaki piramidal nöronların dendritlerinin dalları yayılırlar. Miyeloarkitektüründe, bu katın özellikle iç bölgesinde yine bağlayıcı liflerin uzantılarından oluşan İç Baillarger şeridi yer alır. Dış ve iç Baillarger şeritleri arasında Lamina interradiata bulunur. Büyük piramidal hücrelerin uzun aksonları ak maddeye geçer.⁴⁸

6- Multiform (polimorfik) hücre tabakası; çeşitli şekillerdeki hücreleri içerir. Yassı ve geniş perikaryonlu nöronların dendritleri II. ve III. katlara çıkar, aksonları ise ak maddeye girer. Bu tabakada ters piramidal hücreler (Martinotti) de bulunur. Bunların aksonları I. kata ulaşırlar. Aksonlardan ve kollateral uzantılardan oluşan yüzeye koştur uzantı demetleri de gözlenir. Böylece belirli bir çizgilenme biçimi olmayan yoğun, fibrilli bir yapı gösterir (Lamina infrastriata). Bu kat motor bölgelerde kalın, duyuusal bölgelerde incedir.^{48,51}

Bu 6 katlı, düzenli yapı, korteksin her bölgesinde benzerlik gösterir. Bu yapı düzenine sahip korteks bölümü filogenetik olarak en son şekillenen izokorteks (Neokorteks- neopallium)’ tir. Bu bölüm

bilinçli düşünme, irade, bellek, zeka gibi işlevlerle yükümlüdür. Bunun yanı sıra filogenetik olarak ilk oluşan korteks archikorteks hipokampüs'ü oluşturur. Burada gri madde farklı bir düzenlenim gösterir ve 7 katmanlıdır. İkinci oluşan korteks bölümü paleokortekstir ve neo korteksin gelişimi ile geriler yalnızca koku ile ilgili duyuları değerlendirir.^{48,51}

2.3.5.2.Hipokampüs

Hipokampüs iki esas bölümde incelenir. Bunlar kornu ammonis (Hippotalamus proper) ve dentat gyrus' tur. Hipokampüs'ün gelişimi sırasında kornu ammonis 'in içine dentat gyrus' un konkav yüzü yerleşir ve gelişim süreci sona erdiğinde birbirlerinden hippokampal oluk ile ayrılan U şeklinde bir yapı sergilerler.⁵⁸

Kornu ammonis

Vestigial hipokampal sulcustan ventriküler boşluğa doğru uzanan bölümüdür. Ventriküler yüzeyden derine doğru 6 katmanda incelenir:

1. Alveus: Hipokampüs'ün tüm ventriküler yüzeyini örter. Bu lifler medialde yassı bir bant şeklinde birbirine yaklaşarak fimbria hippokampi' yi oluşturur. Hipokampus'a ait piramidal hücre aksonları ve subikular nöronları içerir. Bu yapılar esas efferent yolaklardır. Alveus septumdan gelen afferent fibrilleri de kapsar.

2. Stratum oriens: İnsanlarda stratum pyramidalis ile olan sınırları belirsizdir. Piramidal hücrelerin bazal dendritleri ile sepet şekilli internöronların yerleştiği katmandır.
3. Stratum pyramidalis: Büyük piramidal nöronlar çoğunluktadır. Piramidal hücreler tipik üçgen şekillidir. Üçgenin tabanı alveus'a bakarken apeksi hippokampal sulcus' a dönüktür. Bazal ve apikal dendritleri komşu katmanlara kadar uzanır. Aksonları ise Str. oriens' i geçerek alveus liflerine katılır. Hipokampus'a asıl şeklini veren buradaki hücrelerin dizilimidir.
4. Stratum lucidum: CA3 alanındaki piramidal nöronlar ile bağlantı sağlayan yosunsu lifler içerir. İnsanlarda diğer primatlara karşın daha belirgindir. CA1 ve CA2 alanlarında bulunmaz.
5. Stratum radiatum: Piramidal nöronların apikal dendritlerinden oluşur. Bu yapıların birbirine koşut yerleşim göstermesi nedeniyle Str. radiatum çizgili görünür.
6. Stratum lacunosum-molekölare İnce sinir lifleri ve çok az nöron içerir.⁵⁸

Bölgesel farklılıklar

Koronal kesitlerde kornu ammonis piramidal nöronların yerleşimi nedeniyle bölgesel farklılıklar gösterir. 1934' te Lorente de No burada 4 farklı bölge tanımlamıştır.

CA1 subiculumdan devam eder. Üçgen şekilli piramidal küçük nöronlar bu alanda dağınık yerleşim gösterirler. İnsanlarda CA1 bölgesinde str. pyramidale oldukça büyük alan olarak izlenirken, sıçanlarda bu daha dar yoğundur. CA1' de str. pyramidale iki katmana ayrılır. Bunlar Str. profundum ve Str. oriensle bağlantılı olan Str. superficiale' dir. Str. profundum' da birkaç piramidal nöron izlenirken Str. superficialede daha büyük ve daha çok nöron yerleşim gösterir.

CA2 oval şekillidir. CA1' den kesin sınırlarla ayrılmıştır. Str. pyramidale katmanı burada daha dar ve yoğun bir düzenlenim gösterir.

CA3 kornu ammonis' in kavis yapan bölümüdür. İç yüzüne dentat girus' un konkav bölümü komşudur. Str. pyramidale CA2' de olduğu gibi dar bir alanı kaplar ancak burada daha az piramidal nöron bulunur. Bu alanda ayrıca dentat girus' dan gelen yosunsu fibriller ve miyelinsiz aksonlar görülür.

CA4 dentat girus' un konkav yüzüne yerleşiktir. Burada oval, büyük ve az sayıda nöronun yanı sıra miyelinli yosunsu fibriller yer alırlar.⁵⁸

Dentat Girus

Koronal kesitlerde dentat girus CA4' ü saran dorsal konkav bir katman olarak izlenir. CA1-CA3' hipokampal vestigial sulkus ile ayrılır. Kornu ammonis' e karşın daha basit bir yapısı vardır. Üç katmandan oluşur. Bunlar dıştan içe doğru moleküler, granüler ve piramidal katmanlardır.

1. Moleküler Katman: hücreler az sayıdadır. Horizontal lifler çoktur.
2. Granüler Katman: Granüler nöronların hücre gövdelerini içerir. Aksonları mossy lifler ya da yosunsu lifler olarak adlandırılır. Piramidal tabakayı geçerek CA3 ve CA4' e ulaşırlar. Bu nöronların bazal kutbundan çıkan dendritleri moleküler katmana uzanır.
3. Piramidal Katman: CA4' e komşu olan en iç kattır. Polimorfik tabaka ya da pleksiform kat olarak da adlandırılır. Burada birkaç internöron ve granüler nöronların aksonları bulunur.⁵⁸

Beyin medullası (Substansia alba)

Gri maddenin altında yer alan ak madde her yöne seyreden miyelinli lif demetlerinin ve nöroglia hücrelerinin oluşturduğu bir bütündür. Ak madde de yer alan miyelinli sinir lifleri işlevsel olarak 3 gruba ayrılırlar.

1-Bağlayıcı lifler (Assosiyasyon lifleri): Aynı hemisfere ait korteksin değişik bölgelerini birbirine bağlayan liflerdir. İki alt grupta incelenirler:

- a) Kısa Bağlayıcı Lifler: Komşu girusları birbirine bağlar.

b) Uzun Bağlayıcı Lifler: Aynı hemisferdeki farklı lobları birbirine bağlayan liflerdir.

2- Komissural lifler: Bir hemisfere ait korteks bölgelerini karşıt diğer hemisferin korteks bölgelerine bağlayan liflerdir. Korpus kallosum'u oluştururlar.

3- Projeksiyon lifler: Bu fibriller internal kapsülü oluştururlar. Korteksi daha derindeki merkezlere bağlayan liflerdir. Bunların iki tipi vardır:

a) Kortikofugal lifler: Bu lifler ak maddeden çıkarak bazal nükleusda, beyin kökünde ve omurilikte sonlanırlar.

b) Kortikopedal lifler: Talamustan köken alır ve beyin korteksinde sonlanırlar.⁵⁸

2.4.Hipoksik Koşullarda Beyinde Oluşan Fizyolojik ve Metabolik Yanıtlar

Normal hücresel metabolizmada ve mitokondriyal solunumda oksijen, elektronların son alıcısıdır. Mitokondriyal solunum zincirinde oksidatif fosforilasyon ile ATP üretimi gerçekleştirilir. ATP hücresel canlılığın sürekliliği için gerekli olan enerji kaynağıdır. Beyin, birim ağırlık başına diğer vücut dokularından daha çok enerji tüketir.¹⁵ Bu tüm vücut ağırlığının %2' si kadar olmasına karşın kalp debisinin yaklaşık %15-20' sini alır.⁵⁹ Beyin, vücuda giren oksijenin %20-25' sini kullanır. Beynin

oksijen için metabolik hızı oldukça yüksektir ve beyin dokusunda O₂ kaynağı yoktur.⁶⁰ Gri maddede oksijen için beyin metabolik hızı 3 ml/100g/dakika, ak maddede ise 1 ml/100g/dakika' dır. Bazal koşullarda beyinde kullanılan enerjinin %60' ı Na⁺/K⁺- ATPaz iyon pompasında yakıt olarak kullanılır. Bu yolla hücre içi ve dışı iyon farklılığı sürdürülür. Bu nedenle oksijen yoğunluğundaki herhangi bir değişim hücre fizyolojisini etkiler. Başta sinir hücreleri olarak vücuttaki tüm hücreler oksijen miktarına karşı oldukça duyarlıdır.⁶¹

Hipoksi, hücresel düzeyde oksijen azalması sonucunda oksidatif metabolizmadan anaerobik metabolizmaya (glikoliz) geçiş ile başlayan olaylar zincirine neden olur.⁶² Nikotinamid-adenin-dinükleotid (NADH), flavin-adenin-dinükleotid (FADH), laktik asit ve H⁺ iyonları birikir. Sonuçta anaerobik glikoliz hücresel enerji gereksinimlerine yanıt veremez ve ATP ile yüksek enerjili fosfat depoları tükenir.⁶³ Piruvat laktata metabolize edilir. Hücre sitoplazmasında laktat birikir. Hücre içi pH düşer. Başlangıçta ATP azlığı kreatinin kinaz tepkimesi ile dengelenir. Hipoksinin uzaması ile yüksek enerjili fosfat molekülleri tükenir.⁶⁴ Transsellüler iyon pompası yetersiz kalır ve hücre içi Na⁺, Ca⁺⁺, Cl⁻ ve su birikimi sonucunda sitotoksik ödem şekillenir. Bu noktada hücresel işlevlerde geri dönüşümsüz bozulma ortaya çıkar.^{62,64}

Hipoksinin akut ya da kronik olarak ortaya çıkması hücrelerde farklı yanıtların oluşturulmasına neden olur. Akut hipokside hücre içi değişiklikler olaylanır. Öncelikle oksijenli solunumdan oksijensiz solunuma geçilir ve glikoliz başlar. İkinci olarak hücre zarındaki iyon dengesi bozulur. Kronik hipoksiye karşı oluşturulan yanıt akut hipoksiye karşın daha uzun sürelidir. Dokuda ve hücrelerdeki azalan oksijen miktarı kemoreseptör özelliğinde olan karotid cisimdeki hücreleri ve böbrekteki eritropoietin salgılayan hücreleri uyarır. Arterlerdeki ve solunum kanalındaki kemoreseptörler vücudun oksijenlenmesinin uygun şekilde sürekliliğini sağlamak için sık ve derin solunumu (hiperventilasyon), kalbin hızlanmasını, kan basıncı ve toplardamar basıncının artışı tetikler. Eritropoietin, kanın O₂ taşıma yeteneğini artırmak için hızla kandaki hücrelerin artışı ile kanın yoğunluğunun artmasını sağlar. 2,3-difosfogliserat artar ve O₂'nin hemoglobin' den (Hb) ayrılmasını kolaylaştırır. Böylece organ ya da dokuların O₂ alımı sağlanır. Kemoreseptörlerin hipoksiye bir diğer yanıtı damar geçirgenliğinin artırılmasıdır. Ancak bu yanıt uzun süreli hipoksik koşullarda akciğer ve beyin ödemi ile sonuçlanır.¹⁵

Hipoksi durumunda özellikle dört hücre içi sistem etkilenir. Bunlar hücre zarı bütünlüğü, ATP oluşumu, protein sentezi ve genetik yapının bozulmasıdır. Hücre içi kalsiyumun artması ile fosfolipaz A2 uyarılır ve araşidonik asit salınır, böylece hücre zarı hasarı oluşur.

Proteazların uyarılması ile de yapısal ve zar proteinleri yıkılır. Lipazların uyarılması ile lipid peroksidasyonu olur. Prostaglandinler salınır, kapillerlerin geçirgenliği ve vazodilatasyon artar. Endonükleazlar uyarılır ve genetik yapı bozulur. Son olarak nitrik oksit sentetaz (NOS) uyarılması ile serbest oksijen radikalleri üretimi artar.⁶¹

Normal koşullarda beynin metabolik yakıtı glukozdur. Glukoz beyin kapillerlerinde kan-beyin bariyerini GLUT1 (Glucose Transporter 1) aracılığıyla aktif taşıma ile geçer. Daha sonra çeşitli taşıma molekülleri aracılığı ile merkezi sinir sistemi hücrelerine dağılır. Glukoz için beyin metabolik hızı yaklaşık 30 µg/100gr/dakika' dır. Bu toplam vücut glukoz tüketiminin %25' idir. Beynin glukoz gereksinimi çok yüksek olmasına karşın glukoz depolama yeteneği yoktur. Bu nedenle beyin korteksindeki hücreler hipoglisemiye karşı beyin sapındakilere karşı daha duyarlıdır. Glukoz beyin hücrelerinde glikoliz ve trikarboksilik asit yolları ile CO₂ ve H₂O' ya okside olur. Mitokondriyonlarda kesintisiz olarak ATP üretilir. Astrositler, hipoksik koşullarda glukozu anaerobik glikoliz ile laktata metabolize ederler. Bu yolla glutamat tutulumunu sağlayacak ATP üretilir. Laktat daha sonra hücre dışı alana salınır. Buradan nöronlar tarafından aktif olarak alınır ve pirüvata dönüştürülür. Pirüvat ise aerobik koşullarda daha fazla enerji üretmek için trikarboksilik asit döngüsüne girer. Beyin, uzamış açlıkta seçici enerji kaynağı olarak keton cisimlerini kullanır ve gliserol, glutamin, glisin gibi maddelerden glukoneogenez ile glukoz üretir.

Bu nedenle hipoksi, ATP sentezi durmasına karşın ATP' nin hücre içinde kullanımına engel olmaz.⁶¹

Aerobik metabolizmadan anaerobik metabolizmaya zorunlu geçiş laktat yapımına ve yapılan her 2 ATP molekülü için 2 hidrojen atomunun (H^+) salınmasına neden olur. Hücre ve organel membranlarındaki Ca^{+2} , $2H^+$, Na^+/H^+ değişimi ve Ca^{+2} , tamponlanması sırasında mitokondriyonlardan H^+ salınması gibi birçok diğer mekanizma da hücre içi asidoza neden olur.⁶⁵

ATP, hücre zarında ve hücreler arası alanda iyon dengesini sağlamakla da yükümlüdür. Sodyum iyonları (Na^+), potasyum iyonları (K^+) ve Ca^{+2} , hareketleri için ATP' ye bağımlıdır. Enerji bağımlı iyon pompalarının yetmezliği hücre zarındaki iyon dengesini bozar. Hipoksi sırasında gelişen enerji eksikliği nedeni ile Na^+-K^+ ATPaz pompası çalışmaz ve hücre zarında Na^+ , K^+ ve Ca^{+2} yoğunlukları sabit tutulamadığı için membran potansiyeli 0 mV' a yaklaşır. Hipoksiye bağlı depolarizasyon nedeni ile enerji yetmezliği olan hücrelerde; hücre içinde Na^+ birikirken, klor iyonlarının (Cl^-) da hücre içine geçmesiyle Na^+ ve Cl^- 'un hücre içi birikimi sonucu osmozla hücreler şişer ve sitotoksik hücre ödemi oluşur. Aynı zamanda membran potansiyelinin yitimi ve Ca^{+2} iyon yoğunluğu nedeni ile voltaj ve nörotransmitter bağımlı iyon kanallarının aktivasyonunun yanı sıra Na^+-Ca^{+2} pompasının çalışmamasına koşut

olarak hücre içine Ca^{+2} akımı olmakta ve hücre içi Ca^{+2} yoğunluğu aşırı olarak artmaktadır.¹⁵

Tüm bu nedenlere bağlı olarak ortaya çıkan hücre içi Ca^{+2} düzeylerindeki aşırı artış proteaz, lipaz ve endonükleaz aktivasyonu ile hücre hasarına yol açmaktadır. Kalsiyum, fosfolipaz aktivasyonu ile hücre zarı hasarına, proteaz aktivasyonu ile hücre iskeletinin parçalanmasına, nükleazlar yolu ile deoksiribonükleik asit (DNA) yıkımına, oksidatif fosforilasyonun bozulması yolu ile ATP' nin azalmasına, artmış glutamat salınımı ve NOS aktivasyonu ile NO oluşumuna neden olmaktadır.¹⁵

Bu süreç primer enerji yetmezliği olarak adlandırılır. Hipoksi şiddetine bağlı olarak 20-30 dakikadan birkaç saate kadar değişebilir. Hipoksi aynı zamanda akson sonlanmalarından eksitatör amino asitlerin (glutamat) salınımını uyarmaktadır. Glutamat, hücre yüzey reseptörlerini aktive eder ve hücre içine Na^+ ve Ca^{+2} akışı gerçekleşir. Hücre zarında fosfolipid metabolizması artar ve hücre sitoplazmasında serbest yağ asitleri birikir. Serbest yağ asitleri daha sonra mitokondriyonlarda indirgenme tepkimelerinde ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri (SOR) ile peroksidasyona uğramaktadır. Aynı zamanda prostaglandin, ksantin ve ürik asit sentezi gerçekleştirilir. Voltaj-bağımlı Ca^{+2} kanalları aracılığı ile hücre membranından hücre içine Ca^{+2} akışının artması, dışarı akışın azalması, mitokondriyon ve endoplazmik retikulumdan Ca^{+2} salınımı sonucunda hücre sitoplazmasında Ca^{+2} iyonlarının miktarı artar. Nitrik

oksit (NO) serbest radikal bir gazdır. Bazı nöronların Ca^{+2} aracılı aktivasyonu ile üretilir. Bitişikteki duyarlı hücrelere yayılarak toksik etki gösterir. Hücresel enerji yetmezliği, asidoz, glutamat ve NO nörotoksitesi, serbest radikal üretimi, Ca^{+2} birikimi ve lipid peroksidasyonu hücre yapısal bileşenlerinin bozulmasına neden olmaktadır.⁶⁴

Primer enerji yetmezliğinin uzaması sonucu olaylanan mitokondriyal işlev bozukluğu sekonder enerji yetmezliğine neden olmaktadır. Mitokondriyonda oksidatif fosforilasyon yetersizliğine bağlı olarak ATP ve fosfokreatinin gibi yüksek enerjili fosfatların yoğunluğu azalır. Bu süreç beyne sürekli O_2 ve glukoz sağlanmasına karşın sürer. Sitokrom zincirinde elektronlar toplanır ve beyinde laktat artar. Beyin laktat düzeylerinde artışa karşın, sekonder enerji yetmezliği sırasında hücre içi pH değerleri normal sınırlar içinde bulunmuştur. Sekonder enerji yetmezliğinin gelişiminde, Na/K pompasındaki yetmezliğe bağlı nöron membranındaki depolarizasyon kadar, hücre içi alandan aşırı eksitatör nörotransmitter (glutamat, aspartat) salınımının etkisi olduğu düşünülmektedir.⁶⁴

Normal beyin işlevinin sürebilmesi için eksitatör ve inhibitör nörotransmitter aktivitesinde çok duyarlı bir denge gerekmektedir. Eksitatör nörotransmitter olarak işlev gören glutamat; beyin dokusundaki

tüm eksitatör presinaptik terminallerde milimolar doku düzeylerinde bulunur, presinaptik veziküllerde depolanır ve presinaptik membranın depolarizasyonu sonucu salgılanır. Presinaptik aralığa salınan glutamat, nöron ve glialar üzerinde birçok postsinaptik membran reseptörleri aracılığı ile etkisini göstermektedir. Glutamat reseptörleri, farmakolojik, elektrofizyolojik ve biyokimyasal çalışmalar sonucu iyonotropik ve metabotropik reseptörler olarak üzere iki gruba ayrılmıştır. İyonotropik reseptörler de, amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazol propiyonik asit (AMPA), Kainat ve Nmetil- D-Aspartat (NMDA) reseptörleri olarak alt gruplara ayrılırlar. NMDA reseptörleri esas olarak beyin korteksi, hipokampus, korpus striatum ile beyincikte yoğun olarak bulunmaktadır. AMPA reseptörlerinin dağılımı da NMDA reseptörlerine benzer ancak NMDA reseptörleri beyincikte granüler hücre katmanında yoğun iken AMPA reseptörleri moleküler katta daha fazladır. Kainat reseptörleri ise hipokampusda, korteksin iç ve dış katmanlarında bulunmaktadır. NMDA reseptörleri Ca^{+2} iyon kanalları üzerinden etki gösterirken, AMPA ve Kainat reseptörleri Na^{+} girişini sağlayan iyon kanalları üzerinden etki etmektedir.¹⁵

NMDA reseptör bileşiğinin diğer iyanotropik reseptörlere karşın, Ca^{+2} a karşı 5 kat geçirgen olduğu gösterilmiştir. Hücre içindeki Ca^{+2} miktarındaki artışın en önemli nedeninin enerji bağımlı geri alımdaki

yetersizlik ile membran depolarizasyonuna bağlı artmış glutamat salınımı olduğu düşünölmektedir.¹⁵

Hipoksiye duyarlılıkta etkin olan bu moleköller bilinmesine karşı etkiler mekanizmalarında henüz tam olarak açıklanamayan noktalar bulunmaktadır. Hipoksi ile başlayan olaylar zincirinin bilinen en belirgin etkisi hücre içinde hızla serbest oksijen radikallerinin açığa çıkmasıdır.¹⁵

2.4.1.Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşumu

Kimyasal terminolojide serbest oksijen radikalleri ya da reaktif oksijen bileşikleri; çift olmayan (eşleşmemiş) elektronlar içeren maddeler olarak tanımlanırlar. Eşleşmemiş elektronlar yüksek enerjilidir ve bu nedenle kararsız yapılardır. Eşleşmiş elektronları ayırıp işlevlerine engel olurlar. Serbest radikaller, normal hücresel işlevler sırasında mitokondriyal elektron taşıma sisteminde, prostoglandinin hidropereksozidazla katalize edilen tepkimesinde, katekolaminler gibi küçük moleküllerin oto-oksidasyonunda, mikrozomal sitokrom P-450 redüktaz sisteminde düşük miktarlarda oluşturulurlar. Serbest radikaller, NMDA reseptörlerini de içerecek birçok membran reseptörlerinin işlevlerinin düzenlenmesinde görev alabilirler. Ancak, depolarizasyona bağlı gelişen hücre içi Ca_2^+ artışı, ikincil olarak serbest radikal yapımını arttırmaktadır.¹⁵

Hipoksik koşullarda oluşan serbest oksijen radikalleri için iki farklı oluşum düzeneğinden söz edilmektedir. Bunlardan birincisi oksijene duyarlı, membran bağımlı bir protein olan Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat- oksidaz (NADPH)' dır. Hücrelerde anabolik tepkimelerde, bir indirgeyici olarak kullanılır. Normal oksijen basıncında NADPH' ın serbest oksijen radikal üretimi bazal düzeydeyken hipoksi ile birlikte bu oranın hızla arttığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Reaktif oksijen bileşikleri oluşumuna neden olan bir diğer yolak mitokondriyonlardır. Hücrenin enerji merkezi olan bu organellerin, hipoksik koşullarda elektron zincirlerinde oluşan son elektron, OH iyonuna katılamaz ve serbest kalır. Hipoksi sonrası ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri süperoksitler (O^{2-}), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil ($OH\cdot$) ile serbest NO radikalleridir ve bunlardan en reaktif olan ise $OH\cdot$ dır.^{66,67}

Serbest radikaller; proteinler, lipidler ve hücre dışı matriks glikozaminoglikanları gibi molekller ile tepkimeye girerek, onları harabiyete uğratırlar.⁶⁶

Hücresel fizyolojide görülen enerji yetersizliği nöronların depolarizasyonu ve buna koşut olarak da eksisatr aminoasitlerin hücreler arası alana salınımı ile sonuçlanmaktadır. Bu da glutamatın birikimi ve NMDA reseptörlerinin aktive olması sonucunda hücre içi Ca^{2+} düzeylerinin artışı ile hücre ölümüne yol açan hücresel olaylar sürecinin başlamasını

sağlar. Enerji metabolizmasındaki akut bozulma aynı zamanda protein sentezinin azalması ve baskılanması ile sonuçlanmaktadır.⁶⁷

Serbest oksijen radikallerinin önemli bir özelliği antioksidan savunma sistemini uyarmaktır. Yenidoğan beyininde antioksidanların eksik olması ise hasarın daha da ağır olmasına neden olmaktadır.¹⁵

2.5. Hipoksi

Hipoksi, dolaşan kandaki O₂ miktarının herhangi bir nedenle azalması sonucu doku ya da organların yetersiz kanlanması olgusudur. 1884 yılında Fransız fizyolog Paul Bert'in yüksek basınçta oksijenin etkilerini ortaya koymasının sonrasında günümüzde de hipoksinin etkileri ve neden olduğu olumsuzluklar üzerindeki çalışmalar hızla sürmektedir.^{68,69}

Sağlıklı bir insan ancak deniz düzeyinden yükseklerle çıkarken hipoksi ile karşı karşıya kalırken hipoksinin ortaya çıkmasına pek çok neden olabilir. Kanama ya da hemolitik hastalığa bağlı ağır anemi sonucu kanın oksijen içeriğinde azalma, adrenal kanama, intraventriküler kanama, infeksiyon gibi ağır şoklar, anestezi, travma gibi koşullar sonucu ortaya çıkan solunum yetmezliği ya da gebelik gibi olgular hipoksinin sıklıkla karşılaşılmamasının en önemli nedenlerindendir.⁶⁹

Günümüzde hipoksi insanların günlük aktiviteleri, alışkanlıkları ve çevresel koşulların hızla değişmesi ile ortaya çıkan bir olay olarak kabul edilmektedir.

Teknolojinin gelişmesi ile birlikte insanların artık daha yüksek rakımlı yerlerde çalışmaya başlamaları, tatil yapmayı yeğlemeleri ya da daha yüksek dağlara tırmanmayı hedeflemeleri sonucu hipoksik koşullarla sıklıkla tanışmalarına neden olmaktadır. Dünya üzerindeki yerleşimlerin büyük çoğunluğu, ortalama olarak 1500 altındadır. Bu yerleşimlerde ve 2500 metreye kadar, yükseklik nedeniyle kişiye sorun yaratacak kadar hızla vücutta bir takım değişiklikler olmaz, ya da uyum mekanizmaları her türlü aktivitenin hızla üstesinden gelir. Bu uyuma aklimatizasyon denir. Aklimatizasyon, vücudun artan yükseklikle birlikte azalan oksijen (O_2) ve hava basıncına kendini ayarlama sürecidir.¹⁶

Havadaki O_2 alveollerden kapilerlere geçer. Hava basıncı düştükçe, yani yükseklik arttıkça, O_2 'nin alveolden kana geçişi de azalır.

Hava basıncının düşük olması (hipobarik ortam) da oldukça önemlidir. Deneysel bir çalışmada, hipobarik (düşük hava basıncı) + hipoksik (düşük O_2) ortamda, hipoksik (düşük O_2) + normal hava basıncının olduğu ortamdakinden daha fazla Yüksek İrtifa Hastalığı (YİH)

belirtileri olduğu gözlenmiştir. Aslında havadaki O₂ yoğunluğu aynı olmakla birlikte her solumada akciğerlere giren O₂ molekül sayısı daha azdır. Bu durumda vücudun oksijenlenmesinin uygun şekilde sürmesi için daha sık ve derin soluma, hiperventilasyon gerçekleşir. Solunumla aşırı CO₂ kaybına bağlı solunumsal alkaloz ortaya çıkar. Bunu izleyerek 24 saat içinde böbrekten bikarbonat (HCO₃) atılımının artması ile vücut asit baz dengesi yeniden normale döner. Yükselme başlangıcında, değişen koşullar nedeniyle kandaki O₂ miktarı düşer ve dehidratasyona koştur olarak kan hacmi azaldığından, kandaki katekolamin miktarı artar. Bu da kalbin hızlanmasına, kan basıncı ve toplardamar basıncının artışına yol açar. Başlangıçta sabahları normalden % 20'den daha fazla artmış olan nabız sayısı uyum sürecinde 1 hafta sonra normal değerine çok yaklaşır.⁶⁸

Hipoksi, akciğer atardamar basıncını ve beyin kan akımını artırır. Kanın O₂ taşıma yeteneğini artırmak için hızla kandaki hücrelerin artışı ile kanın yoğunluğunun artışına neden olur. Bu, doku hipoksisi nedeniyle artan eritropoietin hormonu aracılığıyla olaylanır. 2,3-Difosfoglisarat artar. Bu O₂'nin hemoglobinden (Hb) ayrılmasını ve böylece organ ya da dokuların O₂ alımını kolaylaştırır. Ayrıca hipoksi, vücuttaki kılcal damarların geçirgenliğini artırarak dokulara sıvı kaçışına da neden olur. Bu hipoksinin akciğer ve beyin ödemi oluşturma nedenlerinden biridir.¹⁵

Deniz düzeyinde, havadaki O₂ yoğunluğu % 21, barometrik basınç 760 mmHg'dır. Normal insanda oksijen tüketimi ise 250 ml/dk'dır. Dokudan dokuya değişmekle birlikte, yeterli oksijenasyon için doku düzeyinde gerekli oksijen en az PO₂ 20 mmHg'dır. Normal pH ve ısıda bu Hb'nin %25 satürasyonuna eşdeğerdir. Bunun altında hücre metabolizması anaerob olarak gerçekleşir, glukoz yıkımı laktik asit düzeyinde kalır. Bu durumun sürmesi hücrenin ölümüyle sonuçlanır. Hipoksi hangi koşulda olursa olsun sonuçta aerobik metabolizmada kesintilere, hücresel işlev yitimine ve ölüme neden olur. Hücresel ölüm süresi dokunun metabolik gereksinimine, oksijen ve enerji depolarına ve anaerobik kapasiteye bağlıdır. Bu süreçte en duyarlı organ beyindir. Canlı kalma süreleri, beyin korteksinde bir dakika, kalpte 5 dakika, böbrek ve karaciğerlerde 10 dakika kadardır. ^{69,70}

Yaşamın temel bileşenlerinden biri olan oksijen gebelikte de önemli rol oynar. Diyabetli, kronik hipertansiyonlu, plasental yetmezlik, orak hücre anemisi, astım ya da uyuşturucu madde bağımlısı olan annelerin bebekleri kronik hipoksiye etkin kalırlar. Fötal yaşamda karşılaşılan hipoksi özellikle merkezi sinir sistemini etkileyerek doğum sonrası süreçte fizyolojik ve davranışsal sorunlarla kendini gösterir. Hipoksiye etkin kalan fötuslarda görülen düşük doğum ağırlığı, büyüme geriliğinin yanı sıra ilerleyen yaşlarda görülen zeka geriliği, epilepsi, orak

hücre anemisi, bilişsel ve entellektüel yeteneklerde zayıflıktan, şizofreni ve alzheimer'dan hipoksinin sorumlu olduğu bildirilmiştir. ^{10,11,12,15}

Beyin hücrelerinin hipoksiye bu denli yatkın olmalarının en önemli nedeni nöron hücre zarının lipid bileşiminden kaynaklanır. Beyin dokusu çoklu doymamış yağ asitlerinden oldukça zengindir ve yağ asitleri oksidatif tepkimelere oldukça yatkındır. Hipoksi serbest oksijen radikallerinin artışına neden olur. Çift olmayan yüksek enerjili elektronlar öncelikle hücre zarında, mitokondriyonlarda ve DNA'da hasar oluşturur. Normalde hücre içinde %80 O₂ mitokondriyondaki sitokrom c'den serbest oksijen radikallerinin üretimini baskılayabilir. O₂ miktarının hücre içinde azalması serbest oksijen radikallerinin oluşumunu hızlandırır. Doymamış yağ asitlerinin miktarı gelişimsel süreçte hızla artar. Bu dönemde karşılaşılan hipoksi gibi olumsuz koşullar, normal şartlar altında izlenen lipid peroksidasyon hızını 5 kat artırır. Hücre de katalaz, endoperoksidaz ve dismutazlardan oluşan hücre içi savunma sistemi hipoksiden etkilenmez ancak ortaya çıkan hasarı engellemekte yetersiz kalır. ¹⁶

Hücresel düzeyde hipoksinin bir diğer etkisi hücre içinde Ca⁺² iyonlarının birikmesidir. Bu iyonların birikimi yeni serbest oksijen radikali üreten yolların aktive olmasına neden olur ve hücre ölümüyle sonuçlanır. Hücre içersinde Ca⁺² serbest oksijen radikali oluşturan siklooksigenaz, lipogenaz, nitrik oksit sintitaz gibi pek çok yolağı aktive

eder. Bunun yanı sıra NMDA gibi uyarıcı nörotransmitterlerin salınmasını tetikler. Bu tepkime zincirinin sonunda hücre içi enerji metabolizması etkilenir. Hücrenin enerji metabolizmasındaki hasar hücre içi iyon yoğunluğunu etkiler. Sodyum (Na⁺), potasyum (K⁺) pompaları ve ATP enzimlerini düşer. Bu süreç hücre içersinde özgün olmayan yıkıcı etkilerin olaylanması ile sonuçlanır.¹⁵

2.6. Ginkgo Biloba ve Antioksidan Etki Mekanizması

Ginkgo biloba, dünyada yaşayan en eski ağaçlardan birisidir. Buzul çağının etkisiyle yalnızca Çin'in güneydoğusunda varlığını sürdürebilmiştir. Yapraklarının beyne olan olumlu etkileri, öksürüğü ve astım belirtilerini azaltması ve filaria cinsi kıl kurdunun vücuttan atılması gibi etkileri nedeniyle, geleneksel Çin ve Japon ilaçlarında yüzyıllardır kullanılmaktadır.^{71,72}

Ginkgo biloba yaprakları yaklaşık 300 farklı kimyasal içerir. Bu kimyasal bileşenlerinden en önemli ikisinden biri kuersentin diğeri kaemferol, terpen ve isorhamnetin türevlerini içeren flavonoidlerdir. Flavonoidler ginkgolid ve bilobalidleri içerir. Ginkgolidler özütlerde A,B,C,D olarak sınıflandırılır. Biyolojik tepkimelerdeki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte özüttekinin asıl anti oksidan etken olduğu kanıtlanmıştır.⁷²

Ginkgo preparatlarında %24 -25 oranında flovan glikozidleri ve %6 oranında terpen laktonlarından bulunur. Bu kimyasalların özellikle beyinde kan akımını hızlandırarak nöronların oksijen ve glukoz desteğini artırdığı bilinmektedir. Ginkgo Biloba, özellikle yaşlılıkla ortaya çıkan hafıza problemlerinde, dikkat dağınıklığı ve odaklanma sorunlarında, dolaşım bozukluğundan kaynaklanan kardiyovasküler rahatsızlıkların ortaya çıkma sürecinin geciktirilmesinde destekleyici olarak önerilmektedir.

Araştırmalar; Ginkgo biloba ekstresi' nin hücre zarı yapısını kararlı hale getirmesi ve serbest radikallerin temizlenmesini hızlandırmasının yanı sıra, sodyum (Na⁺), potasyum (K⁺) ve ATP enzimlerini aktive ettiğini göstermiştir. Ginkgo biloba, özellikle beyne giden kan dolaşımını artırır. Nöronlar vücuttaki diğer hücrelere karşı zarlarında en yüksek oranda doymamış yağ asitleri içeren hücrelerdir. Düşük oksijen düzeyine karşı çok duyarlıdırlar. Beynin diğer dokulara karşı enerji rezervleri daha azdır. Buna karşın işlevleri ve düzenli çalışması için büyük enerji gereksinimleri vardır. Bu da sabit glukoz ve oksijen gereksiniminin sağlanmasıyla karşılanır. Beyindeki kan dolaşımının azalması, işlevlerine ve enerji üretimine hasar verir. Sonuçta hücre ölümleri gerçekleşir. Deneysel hipoksi ve iskemi modellerinde Ginkgo'nun, beyinde metabolizma ve nöronlar ile ilgili düzensizlikleri önlediği görülmüştür. Ginkgo biloba, bu olumlu sonuçlarını, oksijen kullanımını ve hücreler tarafından glukoz alımını ve mitokondriyonlarda solunumu artırır ve hem yeni serbest oksijen

radikallerinin oluşumunu engeller hem de bu radikalleri etkisiz hale getirir. Gingko biloba ayrıca, beyindeki ödemlerin azaltılmasına, beyin zarına ait dinamiklerin geliştirilmesine yardımcıdır. Beyin ödemi hipokside yapısal düzeyde görülen ilk olumsuz etkilerdir.⁷²

2.7. Hipokside Etkili Moleküller

2.7.1.HSP70 (Isı şok Proteini- Heat Shock Protein)

Isı şok proteinleri genelde moleküler ağırlıkları ile ilişkili olarak adlandırılır. Küçük stress proteinleri, 50-60 kDa HSP ailesi, 70 kDa HSP ailesi, 90 kDa HSP ailesi ve 100 kDa ve üzeri HSP ailesi olarak beş farklı grupta toplanırlar. Hsp10, Hsp60 ve Hsp75 hücrede mitokondriyonlarda, diğer HSP grupları fizyolojik koşullarda sitoplazma ve çekirdekte bulunur.⁷³

Isı şok proteinleri ya da HSP ailesi moleküler şaperon proteinlerinin bir sınıfı olup yüksek düzeyde korunmuş hücresel moleküllerdir. Bu proteinler normal koşullar altında da hücrelerde ekspresse edilmesinin yanı sıra, farklı stres koşullarında sentezlenmektedirler. Isı şok proteinleri yeni sentezlenen proteinlerin katlanmalarında, katlanma yapan proteinlerin gelişigüzel toplamalarını da engellerler. Bu, proteinlerin

en öncelikli işlevidir. Şaperon yapıları stres altında bozulmuş proteinleri ATP ve diğer Co-faktörlerin de yardımıyla onarırlar.⁷⁴

Normal hücresel koşullarda HSP 70, ATP bağımlı olarak yeni sentezlenen proteinlerin katlanmasına, yüksek yapılı protein bileşiklerinin oluşmasına ve bu proteinlerin hücre zarına taşınmasına yardım eder.^{73,74}

Hipoksi, egzersiz ve vücut sıcaklığındaki artış gibi stres koşullarında indüklendikleri bilinen stres proteinleri ortalama 70 kDa moleküler ağırlığa sahiptir. HSP 70 ailesi birçok işlevleri ile hücresel homeostazın korunmasında son derece önemli bir yere sahiptir. Isı şok proteini 70 (HSP 70) anti apopitotik şaperon proteinleridir.⁷⁴

HSP70 ailesi hücre içerisinde yapısal ve fonksiyonel olarak bozulmuş proteinlerin yıkımında da görev alır. Sitozolik HSP70 zarar görmüş proteinlerin proteolitik enzimler tarafından tanınmasını kolaylaştırarak bu proteinlerin yıkımına yardımcı olmaktadır.⁷⁴

2.7.2.HIF-1 (Hypoxia Inducible Factor-1)

Oksijen basıncındaki değişikliğin mitokondriyonları etkilemesi ile serbest oksijen radikalleri üretilir. Hipoksik koşullarda hücreler de uyum

süreci başlar. Serbest oksijen radikalleri hipokside uyarılan transkripsiyon faktör (HIF-1) ekspresyonunu uyarır. Bu uyarı glikoliz metabolizması, mitokondriyonlardaki enerji tüketimini, eritopoez, angiogenez, hücre canlılığının sürekliliği ya da hücre ölümü düzenlemek içindir. HIF-1 öncelikle düzenleyici etkisini vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) üzerinde gösterir. VEGF ekspresyonunun artışı angiogenezi tetikler ve böylece azalan oksijen miktarına ilk savunma sistemi oluştururlur.^{75,76}

Normoksik koşullarda da (normal oksijen basıncı) sentezlenen HIF 1 proteolize uğrarken hipoksik etkenler HIF1'in parçalanmasını engeller. Artan HIF1 yardımcı diğer proteinler (p300/CBP, ref-1, TIF-2) ile birlikte yeni genleri hedef alarak PI-3-kinase and Akt gibi yeni kurtarıcı proteinlerin ekspresyonunu sağlar.⁷⁷

HIF1 iki alt birimden oluşur. Bunlar HIF1 α ve HIF 1 β 'dir ve hipoksik koşullarda, DNA üzerindeki hedef gen dizisi üzerinde bulunan hipoksi yanıt elementi (HRE)'ne bağlanarak 70'den fazla genin transkripsiyonu ve sonrasında birçok proteinin sentezinin gerçekleşmesini sağlar. Normal oksijen basıncında HIF 1 ekspresyonu çok düşük düzeyde tutulur. Düşük oksijen basıncında HIF 1 transkripsiyonu hızla artar. Bu uyarının mitokondriyonun iç zarında süperoksit anyonunun üretilmesi ile başlar. Burada üretilen superoksit, SOD tarafından H₂O₂'ye dönüşür. Sitoplazmaya salınan H₂O₂'nin HIF-1 transkripsiyonu için sinyal

oluşturduğu düşünülmektedir. Böylece, hipoksiye yanıt olarak stres koşullarının neden olduğu yıkıcı etkileri azaltmak ve hücrel koruma sağlamak için stabilizasyonu artan HIF-1, antioksidanlar ve HSP'ler gibi birçok proteinin transkripsiyonunu gerçekleştirecektir.⁷⁸

2.7.3. MBP(Myelin basic protein)

Miyelin bazik protein merkezi sinir sisteminde en çok bulunan ikinci proteindir. Merkezi sinir sisteminde miyelin kılıfın oluşturulması için gerekli temel proteinlerden biridir. Hücre yüzeyi ile miyelin kılıfın adezyonundan sorumludur. Aktin, tubulin, Ca^{+2} , kalmodulin, klatrin ve negatif yüklü lipidlere bağlanma yeteneğine sahiptir. MBP'nin aktine bağlanarak hücre iskeletinden hücre dışına uyarı iletiminde yardımcı olduğu düşünülmektedir. Bu polianyonik proteinler ile bağlanmasının sonucu olarak miyelin kılıfın oligodendrosite daha güçlü bağlanmasını sağladığı bilinmektedir. Oligodendrositler olgunlaşınca miyelin bazik proteini sentezlerler.^{79,80}

Optik sinir ve omurilikte hipoksi koşullarında gerçekleştirilen deneysel çalışmalarda, hücre içi Na^{+}/K^{+} dengesinin değişmesi ile Ca^{++} birikiminin ve AMPA/ KA reseptörlerindeki etkileşimin miyelin yapının yıkıma uğraması ve oligodendrositlerde apoptozise neden olduğu bildirilmiştir.⁸⁰

2.7.4.Noggin ve Chordin

Chordin ve Noggin, dönüştürücü büyüme faktörü β (transforming growth factor-beta (TGF β)) ailesinin sinyal proteinleri sınıfında yer alırlar.⁸¹

Chordin ve Noggin beyin gelişimi sırasında etkili olan morfojenetik bir proteindir. BMP4 antagonisti olarak çalışan sinyal molekülleridir. Doğum sonrası deneklerde subgranüler tabakada ve dentat girusta ekspresse olduğu bilinmektedir. Hipokampusdeki nöronları etkileyerek prolifer olmalarını sağladıkları öne sürülmüştür. Noggin'in patolojik koşullar altında nöral indüksiyon için düzenleyici bir role sahip olduğu öne sürülmektedir.⁸¹

Chordin'in, ise gelişimsel süreç de herhangi bir nedenle ekspresyonunun azalmasının nöronlar arası sinaps oluşumunda aksaklıklara neden olduğu bildirilmiştir. Doğum sonrasındaki ekspresyonunun beyin bazı bölgelerinde ve özellikle hipokampusde düzenleyici etkiye sahip olduğu bilinmektedir.^{81,82}

Noggin ve Chordin'in patolojik koşullar altında nörogenezis için düzenleyici bir role sahip oldukları öne sürülmektedir.⁸¹

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Deney Hayvanları ve Gruplandırma

Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi' inden sağlanan Wistar albino cinsi gebe sıçanlar kullanıldı. Deneklerin bakım odasında ısı 21-23°C ve ışık /zaman ayarı 14/10 saat olarak belirlendi.

Çalışmada; değişik yaş gruplarına ait 12 grup oluşturuldu. Her grupta doğum sonrası farklı yaş gruplarından olmak üzere 6 adet sıçan olacak şekilde gruplara ayrıldı:

Grup 1: Kontrol grubu Gelişimin 7. günü (n=6),

Grup 2: Hipoksi (E5- E15) -Gelişimin 7. günü (n=6),

Grup 3: Hipoksi (E5- E15) + Gingko biloba Gelişimin 7.günü (n=6),

Grup 4 : Gelişimin 14. günü kontrol (n=6),

Grup 5: Hipoksi (E5- E15) -Gelişimin 14. günü (n=6),

Grup 6: Hipoksi (E5- E15) + Gingko biloba Gelişimin 14.günü (n=6),

Grup 7: Gelişimin 21. günü kontrol(n=6),

Grup 8: Hipoksi (E5- E15) -Gelişimin 21. günü (n=6),

Grup 9: Hipoksi (E5- E15) + Gingko biloba Gelişimin 21.günü (n=6),

Grup 10: Gelişimin 28. günü kontrol (n=6),

Grup11: Hipoksi (E5- E15) -Gelişimin 28. günü (n=6),

Grup12: Hipoksi (E5- E15) + Gingko biloba Gelişimin 28.günü (n=6)

uygulamasý yapılan grup olmak üzere sýçanlar toplam 12 alt gruba ayrılmıştır.

Kontrol grubu olarak belirlenen sýçanlar gebelikleri süresince normal atmosfer koşullarında yaşatıldı. Bu koşullarda elde edilen yavru erkek deneklere hiçbir işlem uygulanmadı (Grup1, Grup 4, Grup 7 ve Grup 10).

Hipoksi, % 10 'luk O₂, % 90 N gaz karışımı kullanılarak hipoksik kamerada oluşturuldu. Vajinal plak oluşumu görülen sýçanlar gebeliğinin 0. gününde kabul edildi. Sýçanlar gebeliğın 5. gününde (E5) % 10'luk O₂ gaz karışımı verilen hipoksik kamaralara konuldu ve hipoksi uygulaması gebeliğın 15. güne (E15) dek aralıksız sürdürüldü. Grup 2, Grup 5, Grup 8 ve Grup 11' oluşturan yavru erkek deneklere doğum sonrasında hiçbir işlem uygulanmadı ve belirlenen günlerde beyin dokuları alındı.

Doğumun gerçekleşmesi ile birlikte embriyonel dönemde hipoksiye etkin kalan Grup 3, Grup 6, Grup 9 ve Grup 12'yi oluşturan yavru erkek deneklere her gün belirlenen saatte 100mg/kg Gingko Biloba ekstresi oral yolla uygulandı ve deneklerin deney süresi boyunca vücut ağırlıkları ölçüldü.

Belirlenen günlerde denekler intraperitoneal ketamin (44mg/kg) ve ksilazin enjeksiyonu ile uyutularak ötenazi gerçekleştirildi. Ötenazi sonrası deneklerin kraniyal bölgeleri açılarak beyin dokuları alındı. Alınan dokular Western blotting analizleri için sıvı azota, elektronmikroskopik inceleme için pH 7,4'de 1/15 µ fosfat tamponlu % 2,5'luk gluteraldehit tespit solüsyonu içine konuldular. Işık mikroskopik inceleme için %10'luk nötral

formalinde 72 saat, tespit edildiler. Daha sonra alışlagelmiş izleme yöntemlerden geçirilerek parafine gömüldüler..

3.2. İmmunohistokimyasal Yöntem

Kontrol ve deney gruplarına ait beyin dokusu bloklarından polilizinli camlara 4 µm kalınlığında kesitler alınarak immünohistokimyasal boyamaları yapıldı. Çalışmada hipoksi ve Gingko biloba' nın stres proteinleri üzerindeki etkilerini belirleyebilmek için Santa Cruz HSP (K-20)-Fare monoklonal primer antikör (Cat: sc-24, Lot# G300) ile Santa Cruz Hif 1 α (Hif1 α -67) Fare monoklonal primer antikörü (Cat: sc- 53546 -P, Lot#1307) ve miyelizasyonu izlemek için Santa Cruz MBP Tavşan poliklonal (C-16) (Cat: sc- 13914 -P, Lot# H2107) ile indirekt immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak boyama yapıldı. Sekonder kit olarak İnvitrogen Histostain Kit (Cat: 85-9043, Lot: 724944A, Invitrogen, Camarillo, CA 93012 USA) ve Liquid DAB (3,3'-diaminobenzidine) - Plus Substrat kit (Cat:00-2020, Lot: 720221A Invitrogen, Camarillo, CA 93012 USA) kullanıldı.

Kesitler 37°C'deki etüvde bir gece tutulduktan sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak amacıyla etüv ısısı 57°C'ye çıkarılarak 1 saat daha bekletildi. Camlar deparafinizasyonu tamamlamak için 2 kez 15'er dakika ksilolde bırakıldıktan sonra sırasıyla %100'lük, %96'lık ve %80'lik alkol serilerinden 10'ar dakika geçirilerek sudan, 2 kez 5'er dakika

distile sudan geçirilerek alkolden kurtarıldı.

Kesitler doku içerisinde formaldehitin kapattığı reseptör bölgelerinin açığa çıkarılmasını sağlamak amacıyla mikrodalga fırında 1 M sitrat tamponuna (pH: 6.0) (Cat: AP- 9003- 500, Lot: 9003LT13610, Lab Vision, Fremont, USA) etkin bırakıldı. Oda ısısında 20 dakika soğutulduktan sonra 15 dakika süreyle hidrojen peroksit (Cat: TA-125-HP, Lot: 125HP14119, Lab Vision, Fremont, USA) uygulandı ve endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Daha sonra, camlar 3 kez 3'er dakika PBS (Phosphate Buffer Saline) (pH: 7.4) ile yıkandıktan sonra özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi amacıyla 5 dakika Blocking solution (Cat: 85-9043, Lot: 724944A, Invitrogen, Camarillo, CA 93012 USA) uygulandı. Bloklama aşamasının ardından kesitler yıkanmadan HSP (Cat: sc-1060, Lot: 106P602A), Hif 1 α (Cat: sc- 10790 -P, Lot:1205P306) ve MBP(Cat: sc- 13914 -P, Lot:1205P306) primer antikorlarına etkin bırakılarak 1 gece +4 derecede bekletildi. Camlar bu sürenin sonunda oda ısısında 1 saat bekletildikten sonra 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkandıktan sonra 10 dakika biyotinli sekonder antikor (Cat: 85-9043, Lot: 724944A, Invitrogen, Camarillo, CA 93012 USA) uygulanarak primer antikora bağlanması sağlandı. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra dokular enzimin biyotine bağlanması amacıyla 10 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksine (Cat: 85-9043, Lot: 724944A, Invitrogen, Camarillo, CA 93012 USA) etkin bırakıldı.

Camlar tekrar PBS ile yıkandıktan sonra kromojen olan DAB (3,3'-diaminobenzidine) (Cat:00-2020, Lot: 720221A Invitrogen, Camarillo, CA 93012 USA) uygulanarak gözle görülebilen immün reaksiyonun açığa çıkması sağlandı. Zemin boyamasında Mayer'in Hematoksileni (Cat:TA-125-MH, Lot: AMH70809, Lab Vision, Fremont, USA) kullanıldı ve camlar Entellan ile kapatıldı. Kesitler Leica DM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında değerlendirildi ve fotoğraflandı.

3.3. Elektron Mikroskopik Yöntem

Tespit:

Sorenson' un fosfat solüsyonu:

Sol. A: Potasyum fosfat monobazik (KH_2PO_4)..... 0.098gr

Distile su..... 100ml

Sol. B: Sodyum fosfat dibazik ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)..... 1.188gr

Distile su..... 100ml

18.2ml Sol. A + 81.8ml Sol. B = 100ml (pH: 7.4)

Gluteraldehit tespit solüsyonunun hazırlanması:

9.2cc Sorenson fosfat tamponu + 0.8cc Gluteraldehit = 10cc

Dokular, bu solüsyona 30 dakika etkin bırakılıp sertleşmeleri

sağlandıktan sonra, 1mm küplük parçalara bölünüp ve 1 saat daha glutraldehit solüsyonunda bekletilerek ilk tespitleri sağlandı.

Osmiyum Tetroksit tespiti:

Osmiyum tetroksit (O_5O_4)..... 0.1gr

Distile su..... 5cc

1 kısım Sorenson fosfat tamponu + 1 kısım osmiyum tetroksit

Dokular bu şekilde hazırlanmış %1 'lik osmiyum tetroksit solüsyonuna 1 saat etkin bırakıldılar. Böylece tespitleri ve boyanmaları sağlanmış oldu.

Dehidrasyon ve blok oluşturulması:

Dokular osmiyumla tespitten sonra, fazla suyun uzaklaştırılması için, artan derecelerdeki etil alkol serilerinden geçirildiler.

%50'lik alkol..... 10 dakika

%60'lık alkol..... 10 dakika

%70'lik alkol.....10 dakika

Uranil asetat..... 30 dakika (1gr uranil asetat + 50ml %80 'lik alkol, karışım hazırlandıktan sonra süzülerek 10 dakika bekletildi)

%80 'lik alkol.....2 kez yıkandı ve 10 dakika bekletildi

%90 'lık alkol..... 10 dakika

%96 'lık alkol..... 10 dakika

%100 'lük alkol.....15 dakika

Propilen oksit..... 30 dakika

Propilen oksit + gömme materyali..... 30 dakika (gömme materyalinin doku içine geçişi sağlandı)

Daha sonra dokular;

Araldit CY 212..... 10cc

DDSA..... 10cc içinde 1 gece 40°C 'de

bekletildiler.

Bir gün sonra,

Gömme materyali:

Araldit CY 212.....10cc

DDSA..... 10cc

BDMA..... 0.4cc

Dibütil fitalat..... 1cc

Bu karışıma alınan dokular 2 saat rotatorda oda ısısında, 2 saat 40°C 'de etüvde bekletildiler. Son olarak dokular aynı karışım ile 00 numara jelatin kapsüle gömüldüler. Blok içindeki havanın çıkması için 1 saat oda ısısında bekletilen kapsüller, polimerizasyon için 24 saat 45 derecede, 48 saat 60 derecede etüvde bekletildi. Süre sonunda etüv

kapatılarak dokular etüv içinde kendi hallerine soğumaya bırakıldılar.

Hazırlanan bloklarda LKB Leica ultramikrotom ile 1 μ 'luk kesitler alındı ve toluidin mavisi ile boyandı. Bilgisayar donanımlı foto-ışık mikroskobu (DCM 4000, Leica, Almanya) incelenen kalın kesitler resimlendirildi ve belirlenen bölgeler işaretlenerek formvar kaplı bakır gridler üzerine 0.2-0.5 μ 'luk ince kesitleri alındı. Alınan kesitler kontrast sağlamak için, uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyanarak Carl Zeiss EVO LS 10 elektron mikroskopta değerlendirilerek resimlendirildiler.

3.4.Western Blott Yöntemi

1- HOMOJENİZASYON

Proteaz inhibitör kokteyl (SantaCruz) içeren 50mM Tris-HCl (Sigma) solüsyonunda 300mg doku, 1,5mL hacimde homojenize edildi.

2- SDS-PAGE (Sodyum Dodesil Sülfat – Poliakrilamid Jel Elektroforezi)

%5'LİK PAKETLEYİCİ (STACKİNG) JEL

dH₂O: 3,4mL (HyClone, USA)

30% AKRİLAMİD MİX: 0,83mL (29:1 Akrlamid:Bisakrlamid) (Fisher Scientific, GERMANY)

1M TRIS (pH6,8): 0,63mL (Sigma, USA)

10% SODYUM DODESİL SÜLFAT: 0,05mL (Sigma, USA)

10% AMONYUM PERSÜLFAT: 0,05mL (Sigma, USA)

TEMED: 0,005mL (Merck, GERMANY)

%10'LUK AYIRICI (SEPARATING) JEL

dH₂O: 3,3mL (HyClone, USA)

30% AKRİLAMİD MİX: 4mL (29:1 Akrilamid:Bisakrilamid) (Fisher Scientific, GERMANY)

1,5M TRIS (pH8,8): 2,5mL (Sigma, USA)

10% SODYUM DODESİL SÜLFAT: 0,1mL (Sigma, USA)

10% AMONYUM PERSÜLFAT: 0,1mL (Sigma, USA)

TEMED: 0,004mL (Merck, GERMANY)

3- PROTEİN ÖRNEKLERİNİN HAZIRLANMASI

Homojenatlarda total protein miktarı BCA Protein Kantitasyon Kiti (PIERCE, Rockford USA) kullanılarak yapıldı. Herbir kuyucukta 50µg protein olacak şekilde yükleme yapıldı.

6X Laemmli Buffer (Yükleme tamponu):

7mL, 0,5M TRIS, %0,4 SODYUM DODESİL SÜLFAT pH 6,8 (Sigma, USA)

3,6mL GLİSEROL (Sigma, USA)

1g SODYUM DODESİL SÜLFAT (Sigma, USA)

1,2mg BROMFENOL BLUE (Acros Organics, GERMANY)

Total hacim 10mL'ye distile su ile tamamlandı.

Yükleme tamponunun 960 µL'sine 40 µL β-MERKAPTOETANOL (Merck, GERMANY) eklendi. 5 birim hacim homojenat 1 birim hacim 6x yükleme tamponu ile karıştırıldıktan sonra 96 C'de 5 dakika kaynatıldı. Kaynatılmış protein örnekleri jel kuyucuklarına yüklendi.

4- ELEKTROFOREZ

Protein örnekleri paketleyici jeli geçene kadar 50V'da ayırıcı jelde 100V'da toplam 2,5 saat +4C'de yürütüldü (Elektroforez işlemi Thermo'nun JGC-1 Dikey elektroforez sistemi ile yapıldı (Thermo Fisher Scientific, GERMANY).

5- TRANSBLOT (MEMBRANA TRANSFER)

Elektroforezi tamamlanmış jel PVDF membrana (PIERCE, Rockford USA) 200mA sabit akımda 1,5 saat transfer edilerek (Transblot işleminde

Thermo'nun OWL VEP-2 Blotter'ı kullanıldı (Thermo Fisher Scientific, GERMANY).

6- BLOCKING

Proteinlerin transfer edildiği membran %3 yağsız süt tozu (Cell Signaling Inc. GERMANY) içeren TBST (%0,1 Tween 20 içeren Tris buffer saline) tamponunda 2 saat inkübe edildi. İnkübasyon oda sıcaklığında yapıldı.

7- PRİMER VE SEKONDER ANTİKORLAR İLE İNKÜBASYON

Bloklanmış membran önerilen antikor dilüsyon miktarında primer antikor kullanılarak gece boyu inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon +4C'de yapıldı. İnkübasyon sonunda membran 2 defa TBST (%0,1 Tween 20 içeren Tris buffer saline), 1 kez TBS (Tris buffer saline) ile 10 dakika yıkandı. Yıkama işlemi biten membran HRP konjuge sekonder antikor ile önerilen dilüsyonda 2 saat inkübasyona bırakıldı. Daha önce yapılan yıkamalar aynı şekilde tekrarlandı.

8- GÖRÜNTÜLEME

HRP konjuge sekonder antikor ile inkübasyonu tamamlanmış PVDF membran ECL-Kemilüminesans substrat (PIERCE, WestPico, USA) ile 5 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucu gözlenen ışımlar sayesinde X-ray (PIERCE, USA) filmi yakılarak, bantlar görünür hale getirildi.

4. BULGULAR

4.1 İmmunohistokimyasal Bulgular

Hipobarik hipoksi ve Gingko biloba uygulamalarının beyin frontal korteks ve hipokampus bölgesinde stres proteinleri üzerindeki etkilerini değerlendirmek ereğiyle uyguladığımız HSP (ısı şok proteini) ile yapılan immünohistokimyasal değerlendirmede;

Gelişimin 7. günü kontrol (Grup1) grubunda beyin frontal korteksinde HSP'nin doku genelini negatif saptandı. Bazı piramidal nöronların ise çok zayıf tutulumu gösterdiği belirlendi. (Resim 1) Bu grupta hipokampus bölgesindeki nöronların immün negatif oldukları izlendi (Resim 2).

Hipoksi (E5-E15) uygulanan ve doğum sonrası 7. günde beyin dokuları alınan deney grubunda (Grup 2), frontal kesitlerde tüm nöron gövdelerinde ve yer yer glia hücrelerinde sitoplazma da ortadan kuvvetliye değişen HSP tutulumu ayırt edildi (Resim 3). Buna karşın hipokampus bölgesinde ki nöronlarda negatiften zayıfa değişen immünreaktivite dikkati çekti (Resim 4).

Hipoksi (E5-E15) ve doğum sonrası 7 gün Gingko biloba uygulaması yapılan deney grubunda (Grup 3) frontal alanda nöron ve glia hücrelerinde HSP tutulumunun hipoksi grubuna karşın biraz daha zayıf

olduğu ayırt edildi (Resim 5). Hipokampüs bölgesi ise immünnegati (Resim 6).

Gelişimin 14. günü kontrol (Grup4) grubunda beyin frontal kortekste nöronların çoğu alanda immünnegatif olduğu dikkati çekerken, bazı nöronların zayıf HSP immünreaktivitesi gösterdikleri belirlendi(Resim 7). Hipokampal alanda yalnızca bazı nöronlarda negatiften zayıfa değişen immünreaktivite ayırt edildi (Resim 8).

Hipoksi (E5-E15) uygulamanın ve doğum sonrası 14. günde beyin dokuları alınan deney grubunda (Grup 5) beyin frontal korteksindeki nöronlarda ve glia hücrelerinde ortadan kuvvetliye değişen HSP immünreaktivitesi belirlendi (Resim 9). Hipokampal alanda bazı nöronların zayıf HSP tutulumu gösterdiği ayırt edilirken doku genelinin immünnegatif olduğu izlendi (Resim10).

Hipoksi (E5-E15) ve doğum sonrası 14 gün Gingko biloba uygulaması yapılan deney grubunda (Grup 6) beyin frontal korteksinde 7 gün gingko biloba uygulaması yapılan gruba (Grup 3) karşın HSP immünreaktivitesinin ortadan kuvvetliye değiştiği görüldü (Resim 11). Bazı nöronlarda kuvvetli tutulumun varlığı ilgiyi çekiyordu. Bu grupta hipokampal alandaki nöronlarda HSP tutulumu zayıftı (Resim12).

Gelişimin 21. günü kontrol (Grup7) grubunda beyin frontal kesitinde korteksteki nöronların doku genelinde HSP negatif oldukları yer yer bazı nöronların çok zayıf tutulum gösterdiği izlenirken ve Hipokampüsün'de buna eşlik ettiği belirlendi (Resim 13-14).

Hipoksi (E5-E15) uygulanan ve doğum sonrası 21. günde beyin dokuları alınan deney grubunda (Grup 8) frontal korteksteki nöronla ve glia hücrelerinde ortadan kuvvetliye değişen HSP tutulumu saptandı (Resim 15). Bu grupta hipokampal alanda nöronlarda HSP immünreaktivitesi izlenmedi (Resim 16).

Hipoksi (E5-E15) ve doğum sonrası 21 gün Gingko biloba uygulaması yapılan deney grubunda (Grup 9) beyin frontal korteksdeki nöronlarda orta dereceli HSP tutulumunun varlığı görüldü (Resim 17). Hipokampal alanda da nöronlarda orta dereceli immünreaktivitenin varlığı belirlendi (Resim 18).

Gelişimin 28. günü kontrol (Grup10) grubunda beyin frontal korteks kesitinde doku genelinde nöronların HSP negatif oldukları belirlenirken hipokampal alandaki nöronlarda da tutulum izlenmedi (Resim 19-20).

Hipoksi (E5-E15) uygulanan ve doğum sonrası 28. günde beyin dokuları alınan deney grubunda (Grup11) frontal kortekste nöronlarda yaygın, glia hücrelerinde belirgin HSP immünreaktivitesi ayırt edilirken (Resim 21), hipokampal alanda belirgin tutulum izlenmedi (Resim 22).

Hipoksi (E5-E15) ve doğum sonrası 28 gün Gingko biloba uygulaması yapılan deney grubunda (Grup 12) beyin frontal korteksindeki nöronlarda 21 gün Gingko biloba uygulanan gruba karşın HSP tutulumunun nöron hücre gövdelerinde ve glia hücrelerinde daha özgün olduğu belirlendi. Diğer gruplardan ayrıcalı olarak damar endotel hücrelerinde de HSP immünreaktivitesinin varlığı ayırt edildi (Resim 23). Hipokampal alandaki nöronlarda da HSP tutulumunun varlığı izlendi (Resim 24).

HİF1 α Bulguları;

Hipokside en önemli stres proteinlerinden biri olan HİF1 α 'yı ([Hypoxia-inducible factor 1-alpha](#)) oluşturduğumuz deney modelinde immunohistokimyasal olarak belirlemek için yapılan değerlendirmede;

Gelişimin 7. günü kontrol grubunda (Grup1) frontal alandaki nöron ve glia hücrelerinde yine hipokampal alandaki nöronlarda Hif 1 α immünreaktivitesinin negatif olduğu belirlendi (Resim 25-26).

Hipoksi (E5-E15) ve doğum sonrası 7. günde beyin dokuları alınan deney grubunda (Grup 2) Hif 1 α tutulumun nöronlarda ve nöroglia hücrelerinde kuvvetli olduğu gözlemlendi (Resim27). Bu grupta hipokampal alandaki nöronların orta dereceli Hif 1 α immünreaktivitesi gösterdiği izlendi (Resim28).

Hipoksi (E5-E15) ve doğum sonrası 7 gün Gingko biloba uygulaması yapılan deney grubunda (Grup 3) frontal alanda nöronlarda ve glia hücrelerinde Hif 1 α zayıf tutulum gösterdiği saptandı (Resim 29). Hipokampal alandaki nöronlarda ise zayıftan ortaya değişen Hif 1 α tutulumunun varlığı ilgiyi çekti (Resim 30).

Gelişimin 14. günü kontrol (Grup4) grubunda beyin frontal alanında bazı nöronlarda çok zayıf Hif1 α reaktivitesi ayırt edilirken doku genelinin immünreaktivitenin olduğu görüldü (Resim 31). Bu grubun hipokampüs kesitindeki izlenen nöronların Hif1 α immünreaktivitesi göstermedikleri belirlendi (Resim 32).

Hipoksi (E5-E15) uygulanan ve doğum sonrası 14. günde beyin dokuları alınan deney grubunda (Grup 5) frontal kortekste nöronların kuvvetli Hif 1 α immünreaktivitesi gösterdikleri ilgiyi çekti (Resim 33). Hipokampal alandaki nöronların bu grupta da kuvvetli Hif 1 α tutulumu gösterdikleri izlendi (Resim 34).

Hipoksi (E5-E15) ve doğum sonrası 14 gün Gingko biloba uygulaması yapılan deney grubunda (Grup 6) frontal alanda nöron ve glia hücrelerinde Hif 1 α orta dereceli sitoplazmik immünreaktivite sergiliyordu (Resim 35). Bu grubun hipokampal kesitinde nöronların frontal alanda olduğu gibi orta dereceli tutulum sergilediği gözlemlendi (Resim 36).

Gelişimin 21. günü kontrol (Grup7) grubunda beyin frontal alanında diğer kontrol gruplarına eşdeğer olarak çok zayıf immünreaktivite gösterdikleri izlendi (Resim 37). Bu gruptaki hipokampal nöronlarda da Hif 1 α tutulumu görülmedi (Resim 38).

Hipoksi (E5-E15) uygulanan ve doğum sonrası 21. günde beyin dokuları alınan deney grubunda (Grup 8) frontal kortekste nöronlarda Hif 1 α immünreaktivitesi saptandı (Resim 39). Hipokampusdaki nöronlarda ise kuvvetli tutulumun varlığı ilgiyi çekti (Resim 40).

Hipoksi (E5-E15) ve doğum sonrası 21 gün Gingko biloba uygulaması yapılan deney grubunda (Grup 9) frontal alanda doku genelinde nöronların belirgin Hif 1 α immünreaktivitesi gösterdiği izlendi (Resim 41). Hipokampal alanda nöronlar da Hif 1 α immünreaktivitesi ayırt edildi(Resim 42).

Gelişimin 28. günü kontrol (Grup10) grubunda doku genelinde frontal alanında ki nöronlarda ve hipokampus'deki nöronların Hif 1 α negatif oldukları belirlendi (Resim43). Ancak bazı nöronların çok zayıf immünreaktivite gösterdikleri ilgiyi çekiyordu (Resim44).

Hipoksi (E5-E15) uygulanan ve doğum sonrası 28. günde beyin dokuları alınan deney grubunda (Grup11) frontal kortekste ki nöronlarda ortadan kuvvetliye değişen Hif 1 α immünreaktivitesi görüldü (Resim45). Hipokampusdeki nöronlar da da Hif 1 α 'nın ortadan kuvvetliye değişen immünreaktivite gösterdiği ayırt edildi (Resim 46).

Hipoksi (E5-E15) ve doğum sonrası 28 gün Gingko biloba uygulaması yapılan deney grubunda (Grup 12) frontal alanda belirgin tutulum gösteren nöronlar ayırt edildi. Bu grupta diğer gruplardan ayrıcalık olarak damar endotel hücrelerinde de Hif 1 α tutulumu dikkati çekti (Resim 47). Hipokampusdeki nöronlarda yine kuvvetli Hif 1 α immünreaktivitesi ayırt edildi (Resim 48).

MBP bulguları;

Hipokside miyelinizasyonu değerlendirmek için MBP (Myelin basic protein) ile yaptığımız immunohistokimyasal değerlendirmede;

Gelişimin 7. günü kontrol (Grup1) MBP'nin frontal alandaki nöronlarda ve gliyal hücrelerde belirgin tutulum gösterdiği izlendi (Resim 49). Ak katmandaki traktuslarda kuvvetli MBP tutulumu ayırt edildi (Resim 50).

Hipoksi (E5-E15) uygulanan ve doğum sonrası 7. günde beyin dokuları alınan deney grubunda (Grup 2) frontal kortekste ki nöron ve gliyal hücrelerde yer yer tutulumun zayıfladığı görüldü (Resim 51). ak katmanda ise yer yer açılmalar izlenirken bazı alanlarda MBP immünreaktivitesinin olmadığı belirlendi (Resim 52).

Hipoksi (E5-E15) ve doğum sonrası 7 gün Gingko biloba uygulaması yapılan deney grubunda (Grup 3) MBP tutulumunun hem gri katmanda nöronlarda ve gliyal hücrelerde hem de ak katmandaki miyelinli akosnlarda ve gliyal hücrelerde kontrole eşdeğer olduğu izlendi (Resim 53-54).

Gelişimin 14. günü kontrol (Grup4) grubunda korteksteki nöronlarda kuvvetli medulladaki miyelin kılıfta ve gliyal hücrelerde kuvvetli MBP tutulumu belirlendi (Resim 55-56).

Hipoksi (E5-E15) uygulanan ve doğum sonrası 14. günde beyin dokuları alınan deney grubunda (Grup 5) gri katmanda nöron ve gliya hücrelerinde zayıf MBP immünreaktivitesi görüldü (Resim 57). Medulla da bazı alanlarda miyelinli aksonların MBP pozitif bazı bölgelerde ise MBP negatif oldukları dikkati çekti (Resim 58).

Hipoksi (E5-E15) ve doğum sonrası 14 gün Gingko biloba uygulaması yapılan deney grubunda (Grup 6) MBP tutulumunun korteksteki nöronlarda ve gliyal hücrelerde kontrol grubuna eşdeğer görünüm sergilediği ayırt edildi (Resim 59). Ak katmandaki miyelin kılıfta ve gliyal hücrelerde tutulum yine belirgindi (Resim 60).

Gelişimin 21. günü kontrol (Grup7) grubunda gri katmandaki nöron ve gliya hücrelerinde kontrol gruplarında olduğu gibi MBP tutulumunun nöronlarda ve gliyal hücrelerde oldukça kuvvetli olduğu ayırt edildi (Resim 61). Ak katmanda traktuslarda yine belirgin tutulumun varlığı görüldü (Resim 62).

Hipoksi (E5-E15) uygulanan ve doğum sonrası 21. günde beyin dokuları alınan deney grubunda (Grup 8) gri katmanda nöronlarda ve gliyal hücrelerde MBP immünreaktivitesinin kontrol grubuna göre azaldığı dikkati çekti (Resim 63). Ak katmanda bazı miyelinli aksonların ve gliyal hücrelerin MBP negatif oldukları izlenirken bazı alanlarda zayıf tutulumun varlığı saptandı (Resim 64).

Hipoksi (E5-E15) ve doğum sonrası 21 gün Gingko biloba uygulaması yapılan deney grubunda (Grup 9) gri maddedeki nöron ve gliyal hücrelerde hipoksi grubuna karşın kuvvetli tutulum ayırt edildi (Resim 65). Ak katmanda ise yine hipoksi grubuna karşın miyelinli aksonlarda ve gliyal hücrelerde MBP immünreaktivitesi artmıştı (Resim 66).

Gelişimin 28. günü kontrol (Grup10) grubunda MBP tutulumunun gri katmanda ve ak katmanda diğer kontrol grupları benzer olduğu saptandı (Resim 67). Ak katmanda traktuslarda yine belirgin tutulumun varlığı görüldü (Resim 68).

Hipoksi (E5-E15) uygulanan ve doğum sonrası 28. günde beyin dokuları alınan deney grubunda (Grup11) gri katmanda nöronlarda ve gliyal hücrelerde MBP immünreaktivitesinin 21 gün hipoksi grubuna karşın azaldığı dikkati çekti (Resim 69). Ak katmanda bazı alanların MBP

negatif oldukları izlenirken bazı alanlarda miyelin kılıfta ve gliyal hücrelerde MBP tutulumunun varlığı saptandı (Resim 70).

Hipoksi (E5-E15) ve doğum sonrası 28 gün Ginkgo biloba uygulaması yapılan deney grubunda (Grup 12) gri maddedeki nöronlarda hipoksi grubuna karşı kuvvetli tutulum kuvvetliydi (Resim 71). Ak katmanda yine hipoksi grubuna karşı MBP immünreaktivitesi gliyal hücrelerde ve miyelinli aksonlarda oldukça belirgin olarak izleniyordu (Resim 72).

4.2.Elektron Mikroskop Bulguları

Hipoksi ve Ginkgo biloba'nın hücresel boyuttaki olası etkilerini incelemek için ince yapı düzeyinde yaptığımız incelemelerde;

Gelişimin 7. günü kontrol (Grup1) grubuna ait ince yapı incelemelerinde, nöron çekirdeklerinin ökromatik yapısı ve sitoplazmik içeriği belirgindi. Sitoplazmada GER tubulusları dardı ve lümenleri oldukça yoğun bir madde ile doluydu. Serbest ribozomlar tüm sitoplazmaya dağılmıştı. Mitokondriyonlar kristal yapıda ve yuvarlak gözlemleniyordu. Golgi kompleksi belirgindi. Sinaptik yapılar ayırt ediliyordu (Resim 73). Damar endoteli sitoplazmadaki organel dağılımları ve yassı çekirdeği ile normal yapıdaydı. Sitoplazmada az sayıda pinositotik veziküller belirgindi.

Hücre bağlantı birimleri normal görünümdeydi. Gliya ayakları normal düzenlenimdeydi (Resim 74).

Hipoksi (E5-E15) uygulanan ve doğum sonrası 7. günde beyin dokuları alınan deney grubunda (Grup 2) küçük büyültmeli resimlerde çekirdek ve sitoplazmanın kontrol grubuna karşın daha yoğun olduğu ilgiyi çekti. Büyük büyültmeli resimler de sitoplazmada yaygın ribozom toplulukları ayırt ediliyordu. GER tubuluslarının sarnıçlar yapacak şekilde genişlediği gözlemlendi. Sitoplazmanın elektron yoğunluğuna koşut olarak Golgi kompleksi ayırt edilemedi. Mitokondriyonlar belirgindi. Sinaptik yapılar normal görünümdeydi (Resim 75). Büyük büyültmeli resimlerde, damar duvarında endotel hücrele ve sitoplazmasında vakualizasyon dikkati çekti. Pinositotik veziküller belirgindi. Bağlantı birimleri erişkin yapısındaydı. Glia ayaklarının aşırı genişlediği izlendi. (Resim 76).

Hipoksi (E5-E15) ve doğum sonrası 7 gün Gingko biloba uygulaması yapılan deney grubunda (Grup 3) küçük ve büyük büyültmeli incelemelerde nöron sitoplazmanın ve çekirdeğinin az yoğun boyandığı belirlendi. Sitoplazmada vakuollerin varlığı, GER tubuluslarının azlığı dikkati çekti. Mitokondriyonlar normal yapıdaydı. Sinaptik yapılar yine korunmuştu (Resim 77a-77b). Büyük büyültmeli damar incelemelerinde endotelin normal yapıyı koruduğu izleniyordu. Sitoplazmada az sayıda

organel ve pinositoik veziküller yaygın olarak dağılmıştı. Bağlantı birimleri belirgindi. Gliya ayaklarında ödemin varlığı belirgindi. (Resim 78).

Gelişimin 14. günü kontrol (Grup4) grubunda nöron çekirdek ve sitoplazmalarının ve sinaptik yapıların normal yapıda olduğu izlendi. GER tubulusları lümenleri yoğun materyalle dolu ancak dar görünüşleri ile ilgiyi çekti. Sitoplazmada serbest ribozom grupları belirgindi. Mitokondriyon kristallarının son derece düzenli olduğu görüldü (Resim79a-79b). Büyük büyültmeli incelemelerde damar endotel yapısı çekirdek, sitoplazmik içerik, bağlantı birimleri ve glia ayakları ile 7 gün kontrol grubuna (Grup 1) eşdeşti (Resim 80).

Hipoksi (E5-E15) uygulanan ve doğum sonrası 14. günde beyin dokuları alınan deney grubunda (Grup 5), 7 gün hipoksi grubundaki (Grup 2) gibi büyük piramidal nöronlarda gövdelerin ve çekirdeğin yoğun boyandığı dikkat çekiciydi. GER tubuluslarının yer yer genişlemişti ve organel içeriği belirgin değildi. Sitoplazmada serbest ribozomlar yaygındı. Hücre uzantılarında da yapı aynıydı. Sinaps bölgeleri normal yapıda izleniyordu(Resim 81). Damar endotel hücreleri normal yapıdaydı. Diğer gruplardan ayrıcalı olarak pinositotik veziküllerin göreceli olarak arttığı dikkati çekti. Gliya ayaklarında ödem yine yaygındı(Resim 82).

Hipoksi (E5-E15) ve doğum sonrası 14 gün Gingko biloba uygulaması yapılan deney grubunda (Grup 6), 7 günlük Hipoksi+ Gingko biloba (Grup 3) grubuna karşın yapının daha korunmuş olduğu ayırt edildi. Piramidal ve diğer nöron gövdelerinde yapı oldukça korunmuştu. Piramidal nöronlarda çekirdek ve sitoplazma yoğunluğu diğer gruplarla eşdeşti. GER tubuluslarında genişleme belirlenmedi. Sinaptik yapılar normaldi (Resim 83a-83b). Endotel hücrelerinde yapının korunduğu gözlemlenirken gliya ayaklarında ödemin kısmen azaldığı izlendi. Pinositotik veziküller ve bağlantı birimleri kontrol grubuna eşdeşti (Resim 84).

Gelişimin 21. günü kontrol (Grup7) grubu diğer kontrol gruplarıyla aynı ince yapıyı özelliklerini paylaşıyordu. Bu grupta çekirdek kromatininin son derece dağınık olduğu dolayısıyla nöronların aktif sentez evresinde oldukları ayırt edildi. Sitoplazmada GER tubulusları, mitokondriyonlar, serbest ribozom toplulukları ve Golgi bölgesi belirgindi (Resim 85). Bu grupta damar endotel hücreleri değerlendirildiğinde hücrelerin aktif hücre görünümünde olduğu ayırt edildi. Genişlemiş GER tubulusları izlendi. Mitokondriyonlar ve pinositotik veziküller sitoplazmaya dağılmıştı. Bağlantı birimleri normal yapıdaydı (Resim 86).

Hipoksi (E5-E15) uygulanan ve doğum sonrası 21. günde beyin dokuları alınan deney grubunda (Grup 8) nöron gövdelerinin diğer hipoksi gruplarından belirgin bir ayrıcalığı gözlemlenmedi. Çekirdek ve

sitoplazma yoğunluğu ilgiyi çekerken GER tubuluslarının aşırı genişlediği belirlendi. Sinaptik veziküllerde belirgin bir değişim gözlenmedi (Resim 87). Damar duvarında endotel hücreleri normal yapıda ancak inaktif görünümdeydi. Gliya ayaklarında aşırı ödem saptandı (Resim 88).

Hipoksi (E5-E15) ve doğum sonrası 21 gün Gingko biloba uygulaması yapılan deney grubunda (Grup 9) doku genelinde yapının diğer gruplara karşın biraz daha korunduğu görüldü. GER tubuluslarındaki genişleme belirginliğini yitirirken diğer organeller normal yapıdaydı. Sinaptik yapılar normaldi (Resim 89). Damar endotel hücrelerinde yapı korunmuşken gliya ayağında ödem sürüyordu. Endotel sitoplazmasında pinositotik veziküllerin göreceli olarak az olduğu belirlendi (Resim 90).

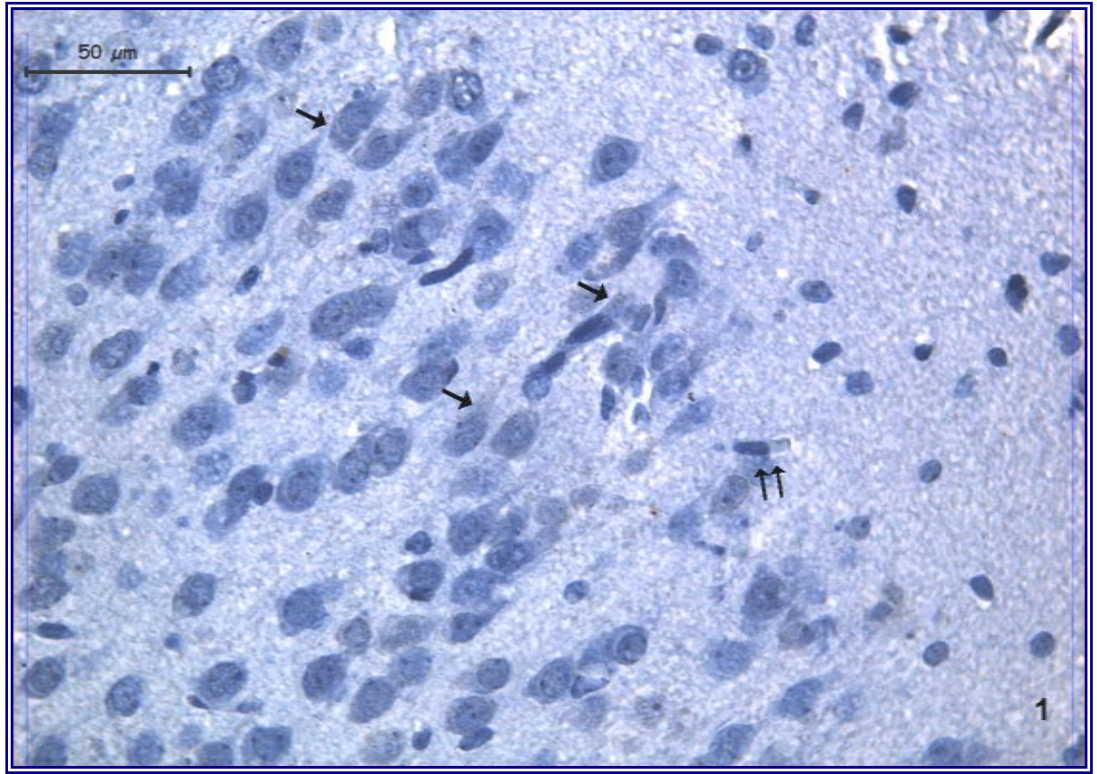
Gelişimin 28. günü kontrol (Grup10) grubunda ince yapı diğer kontrol grupları ile eşdeşti. Nöron çekirdek ve sitoplazmaları, endotel hücreleri ve gliya ayakları normal yapıdaydı. GER tubulusları elektron yoğun materyalle dolu olarak gözlendi. Sitoplazmada mitokondriyonlar ve serbest ribozomlar normal yapılarıyla ayırt edildi. Damar endotel hücrelerinde organel içeriği ve az sayıdaki pinositotik veziküller belirlendi. Bağlantı birimleri normal yapıdaydı. Gliya ayaklarında yer yer genişlemeler olmak la birlikte genel yapı normaldi (Resim91-92).

Hipoksi (E5-E15) uygulanan ve doğum sonrası 28. günde beyin dokuları alınan deney grubunda (Grup11) en belirgin nöronal dejenerasyon bu grupta görüldü. Bazı nöronlarda piknotik çekirdek ve sitoplazmadaki organel dağılımı apoptozise gidişi anımsatıyordu. Mitokondriyonların yer yer şiştiği, Golgi bölgesinin son derece gelişkin olduğu ilgiyi çekti. Bu hücrelerde sinaptik yapıların azalması belirgindi (Resim 93). Damar endotel hücrelerinde yaygın vakualizasyon ilgiyi çekiyordu. Endotel hücrelerinin kıvrıntılı görünüm sergilediği dikkati çekti. Sitoplazmada çok sayıda pinositotik vezikül belirlendi. Bağlantı birimleri normal yapıdaydı. Gliya ayaklarının aşırı derecede genişlediği ilgiyi çekiyordu (Resim 94).

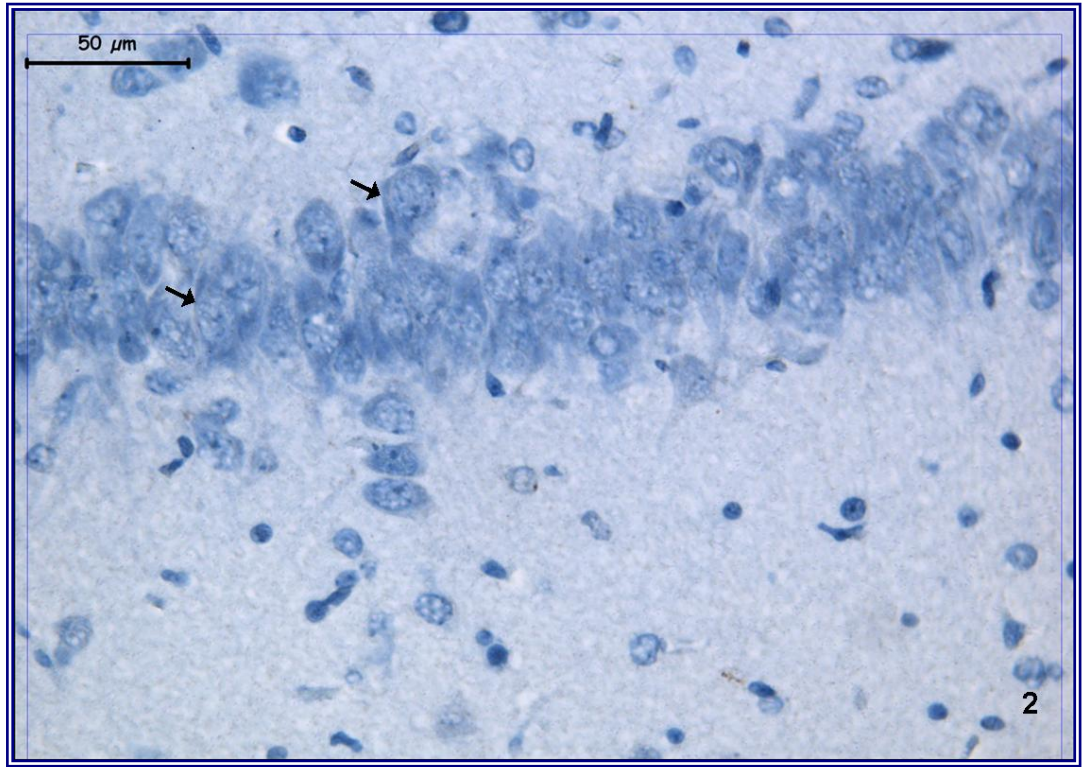
Hipoksi (E5-E15) uygulanan ve doğum sonrası 28 gün Gingko biloba uygulaması yapılan deney grubunda (Grup 12) yapının biraz daha korunmuş olduğu belirlendi. Ökromatik çekirdek, belirgin çekirdekçik, sitoplazmada normal ve dejenere mitokondriyonlar gözlemlendi. GER tubuluslarının yer yer normal yapı sergilediği yer yer ise genişlediği ve lümenlerinin yoğun bir madde ile dolu olduğu gözlemleniyordu (Resim 95). Endotelin oldukça korunduğu, buna karşın gliya ayaklarındaki ödemin yaygınlığı belirlendi. Yer yer mitokondriyon kökenli vakuoler oluşumlar izlendi. Pinositotik veziküller ve bağlantı birimleri aynı grubun kontrolüne eşdeşti (Resim 96).

4.3. **Western Blott Bulguları**

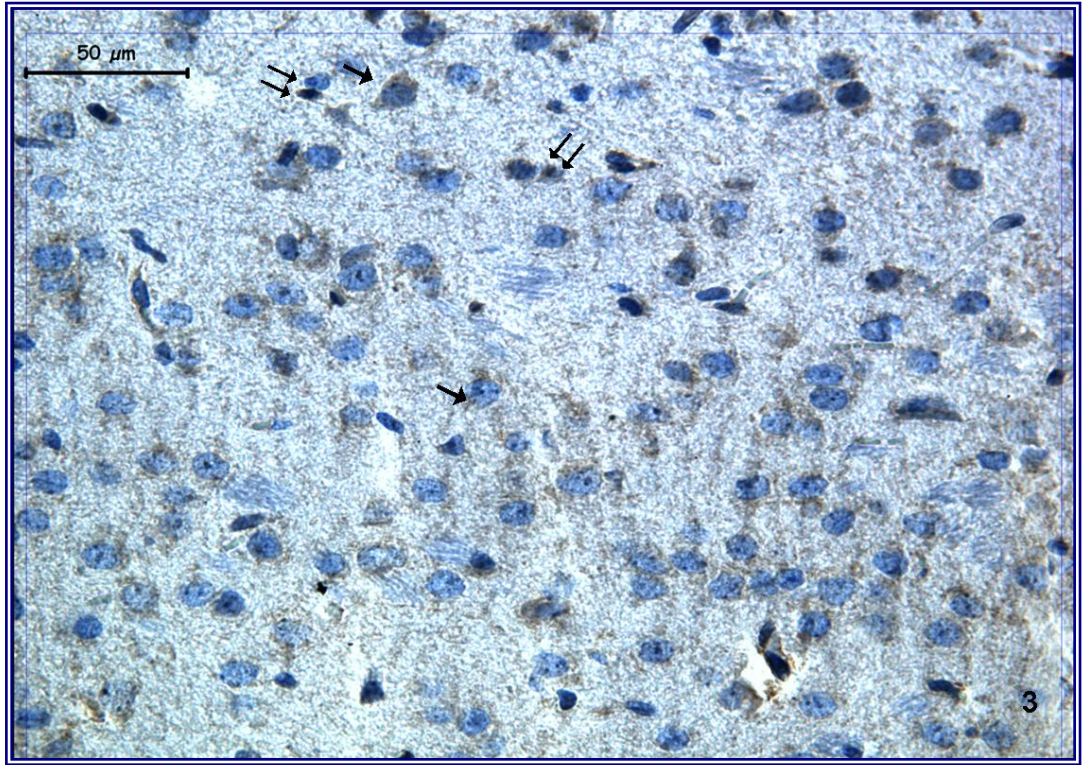
Hipoksi uygulamasında olumsuz etkilen nörogenez sürecinde hipokampüs bölgesinde hipoksi uygulanan gruplarda ve Gingko biloba uygulanan gruplarda chordin ve noggin proteinlerinin ekspresyonunu değerlendirmek için yapılan western blott analizlerinde; chordin primer antikorunun kontrol gruplarına karşın yalnızca hipoksi uygulanan gruplarda anlamlı ölçüde azaldığı saptandı. Hipoksi uygulaması sonrası Gingko biloba uygulanan deney gruplarında ise chordin ekspresyonunun hipoksi gruplarına göre anlamlı ölçüde arttığı ancak kontrol gruplarındaki kadar yoğun ekspresyona edilmediği belirlendi. Noggin proteininin analizlerinde ilerleyen zamana koşut hem hipoksi gruplarında hemde hipoksi ve Gingko biloba uygulanan gruplarda eş zamanlı kontrol gruplarına göre azaldığı saptandı.



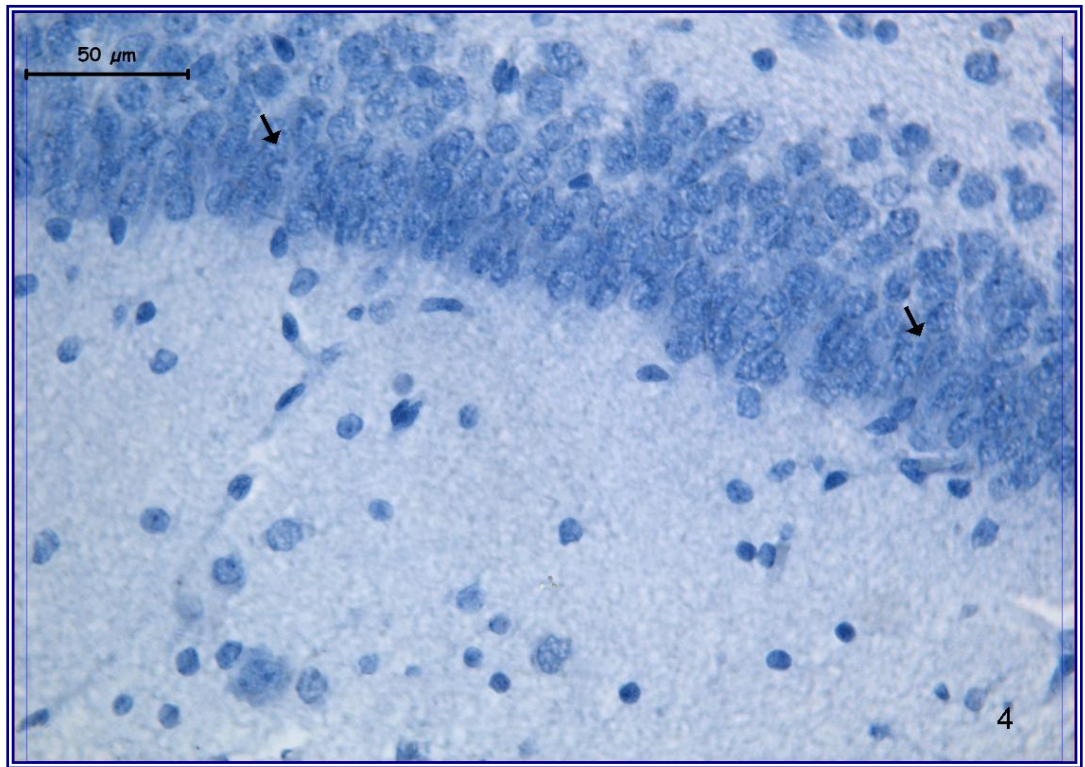
Resim 1: 7 Gün Kontrol (Grup 1) Frontal Alan- HSP primer antikoru, →:Nöron, ⇨:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



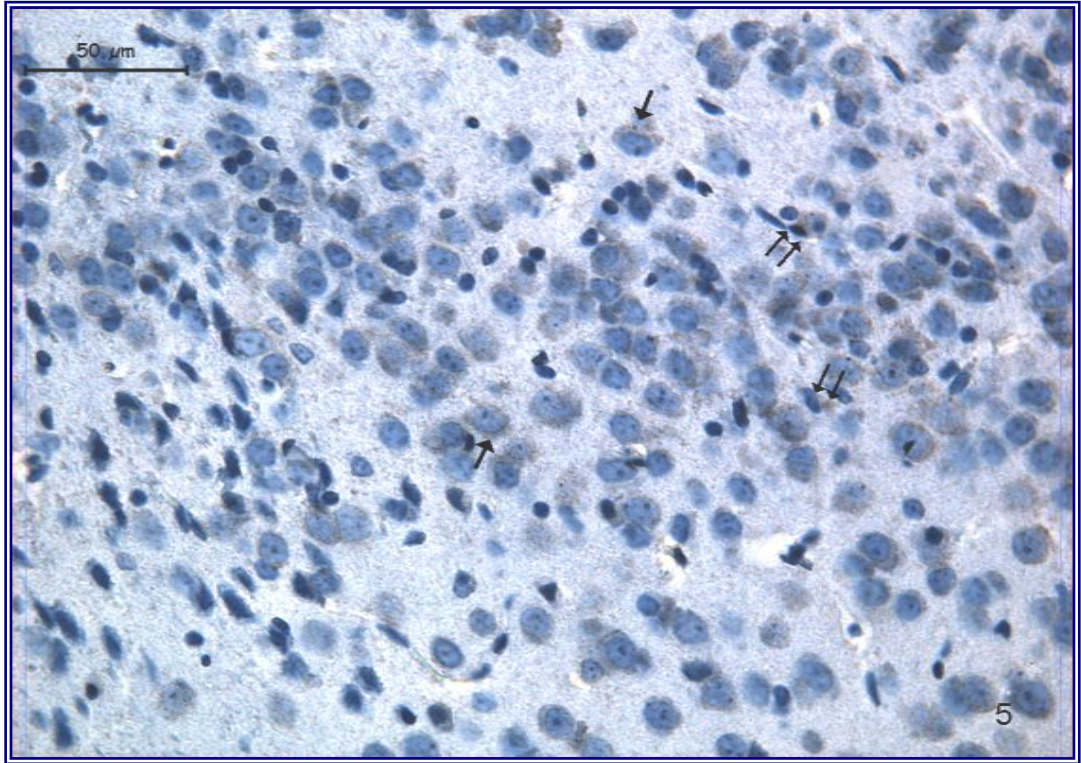
Resim 2: 7 Gün Kontrol (Grup 1) Hipokampus- HSP primer antikorlu,
→:Nöron (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



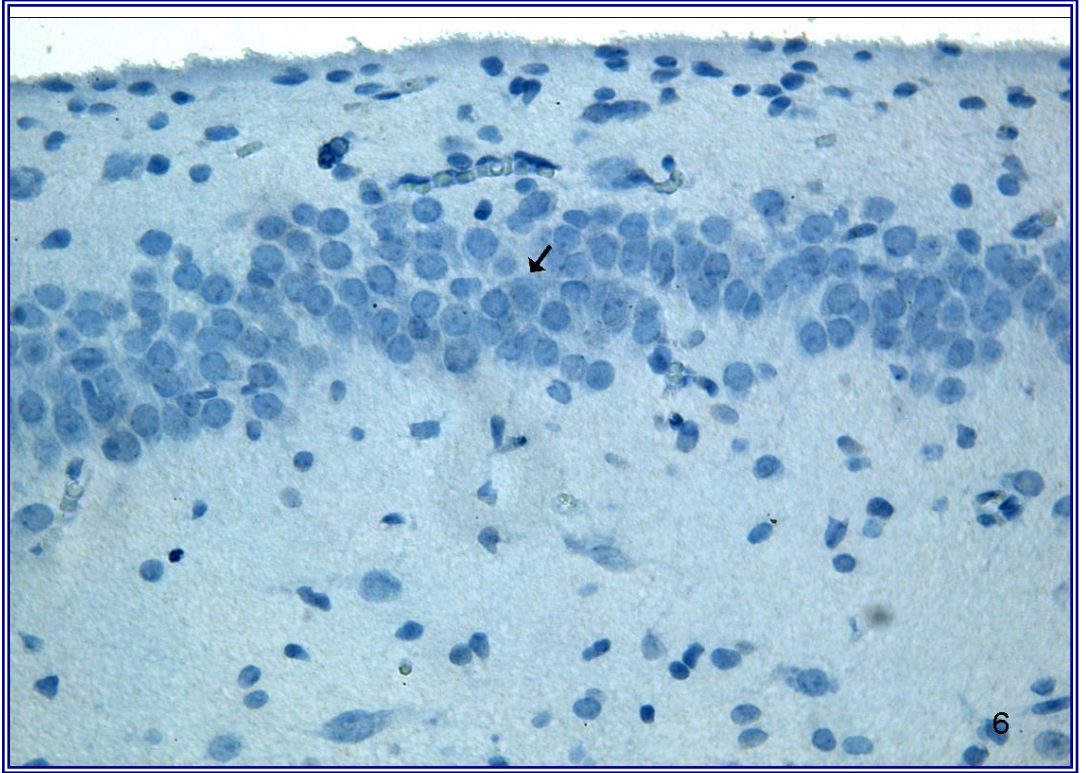
Resim 3: Hipoksi -Doğum sonrası 7. Gün (Grup 2) Frontal Alan- HSP primer antikoru, →:Nöron, ⇨: Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



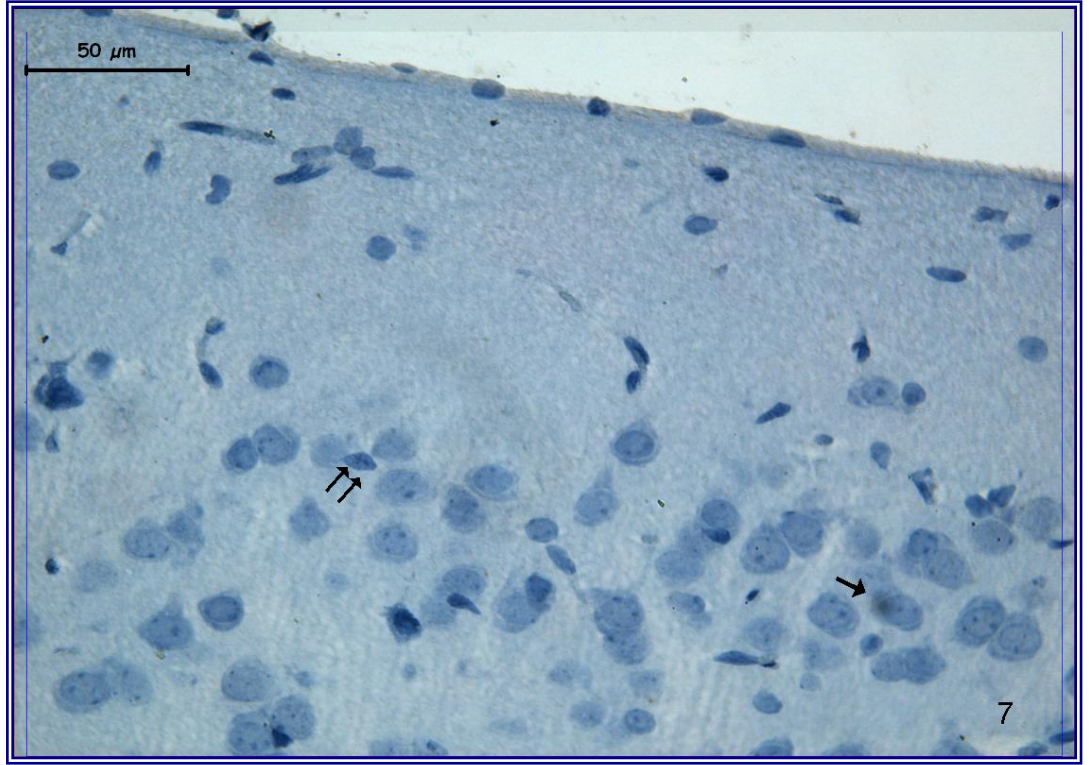
Resim 4: Hipoksi -Doğum sonrası 7. Gün (Grup 2) Hipokampüs- HSP primer antikoru, →:Nöron (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



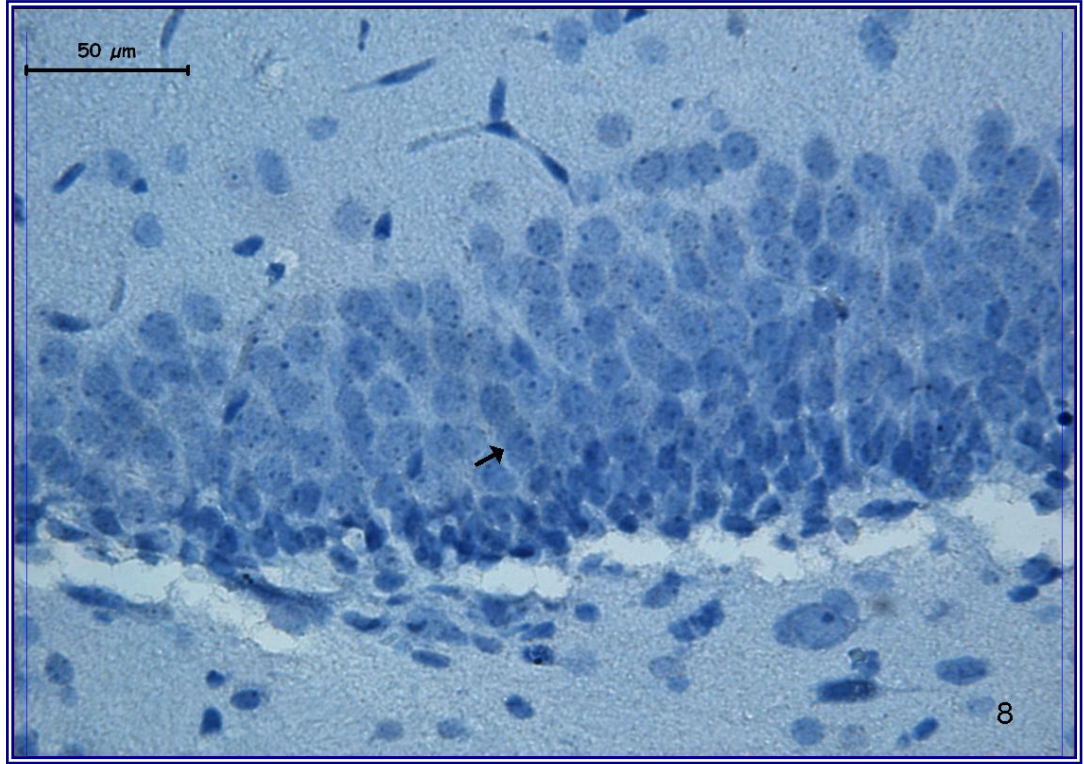
Resim 5: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 7. Gün (Grup 3) Frontal alan- HSP primer antikoru, →:Nöron, ⇨:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



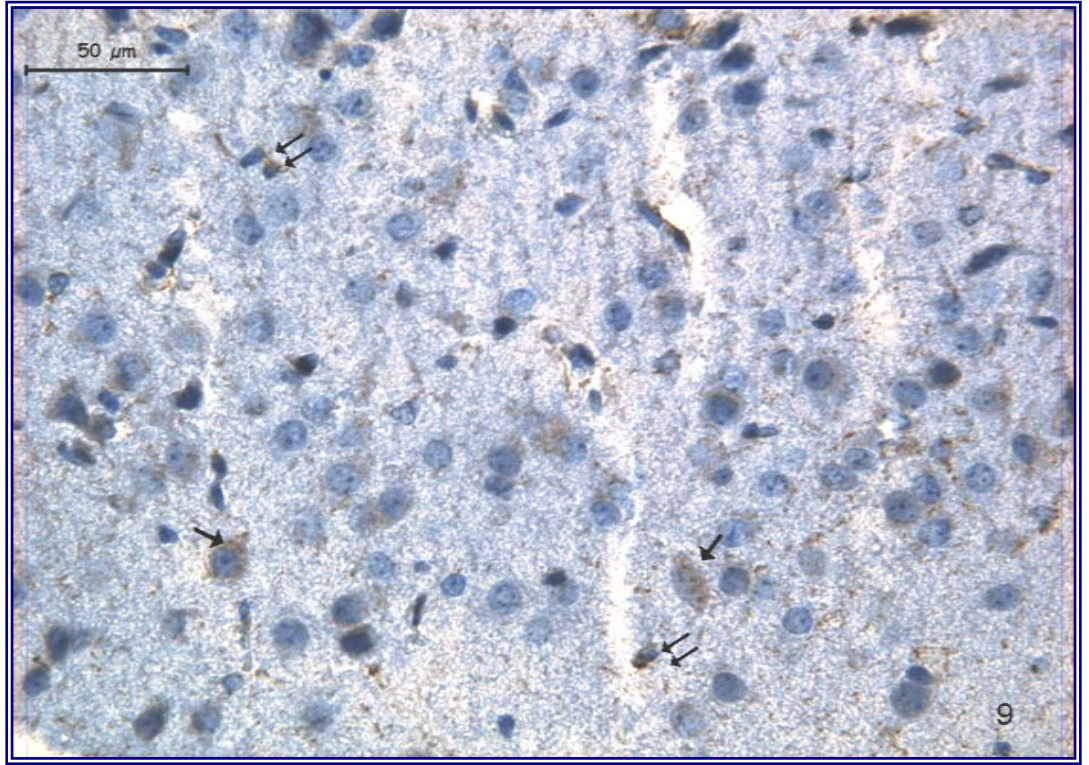
Resim 6: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 7. Gün (Grup 3)
Hipokampus- HSP primer antikoru, →:Nöron (İmmünperoksidaz&
Hematoksilen X400).



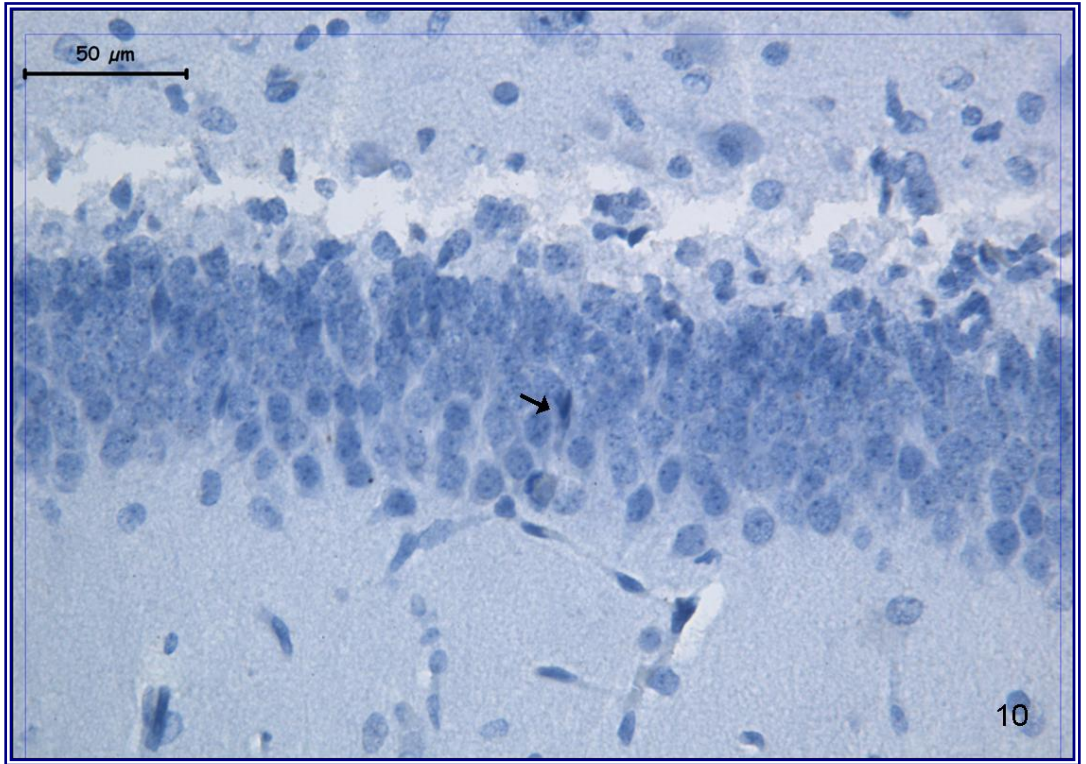
Resim 7: 14. Gün Kontrol (Grup 4) Frontal Alan- HSP primer antikoru,
→:Nöron, ⇨:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



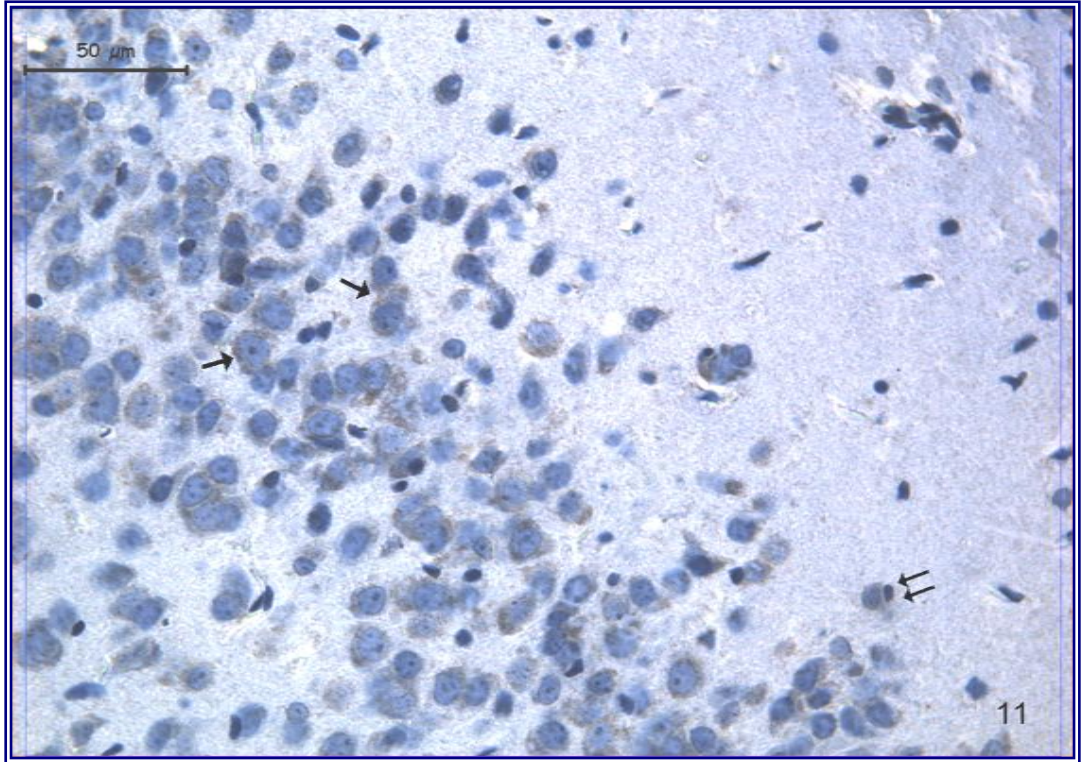
Resim 8: 14. Gün Kontrol (Grup 4) Hipokampus- HSP primer antikoru, →:Nöron (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



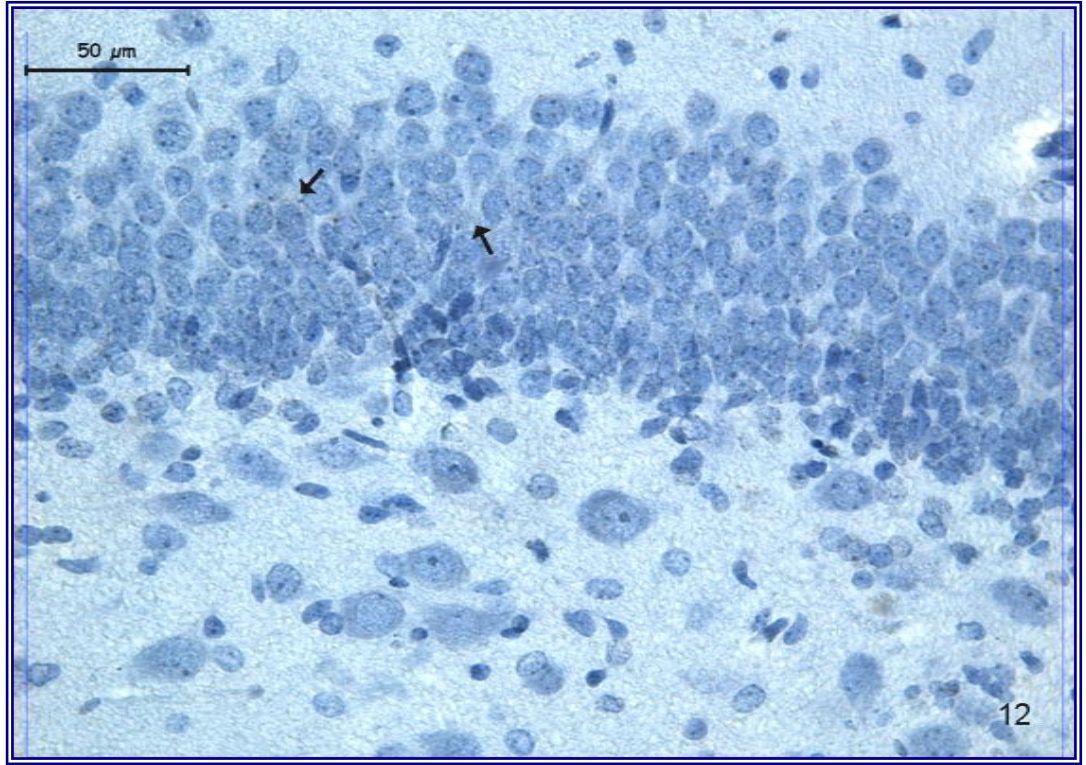
Resim 9: Hipoksi -Doğum sonrası 14. Gün (Grup 5) Frontal alan HSP primer antikoru, →: Nöron, ⇨: Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).



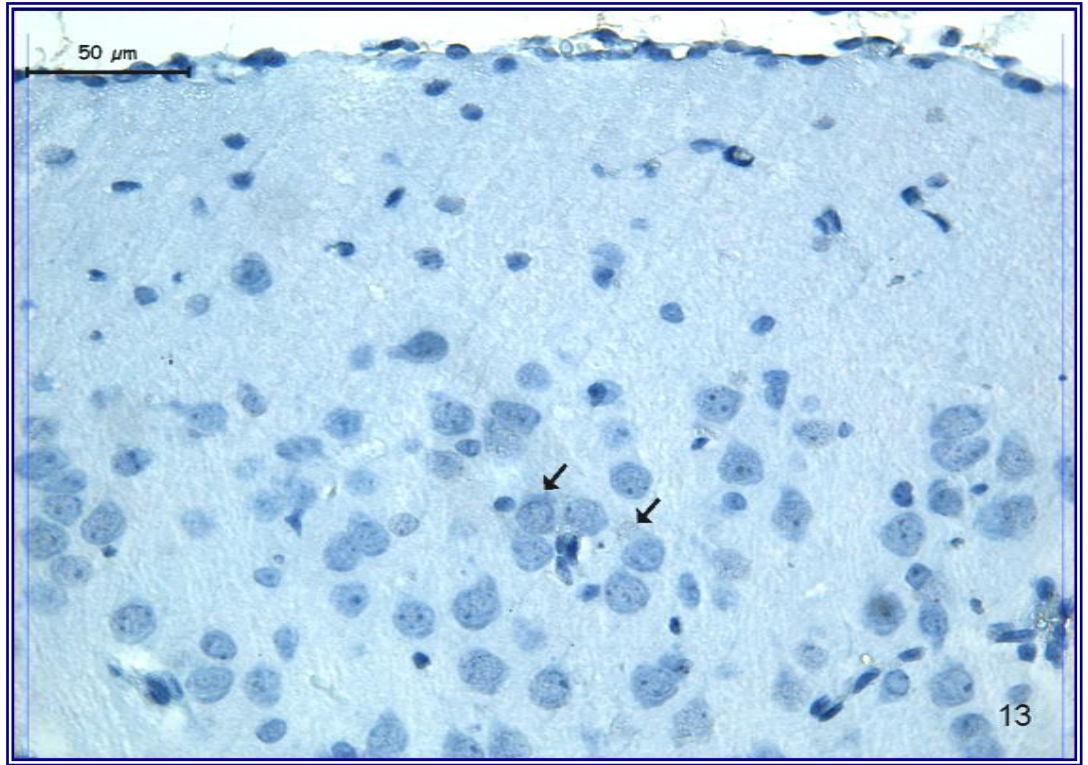
Resim 10: Hipoksi -Doğum sonrası 14. Gün (Grup 5) Hipokampüs-HSP primer antikoru, →: Nöron (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).



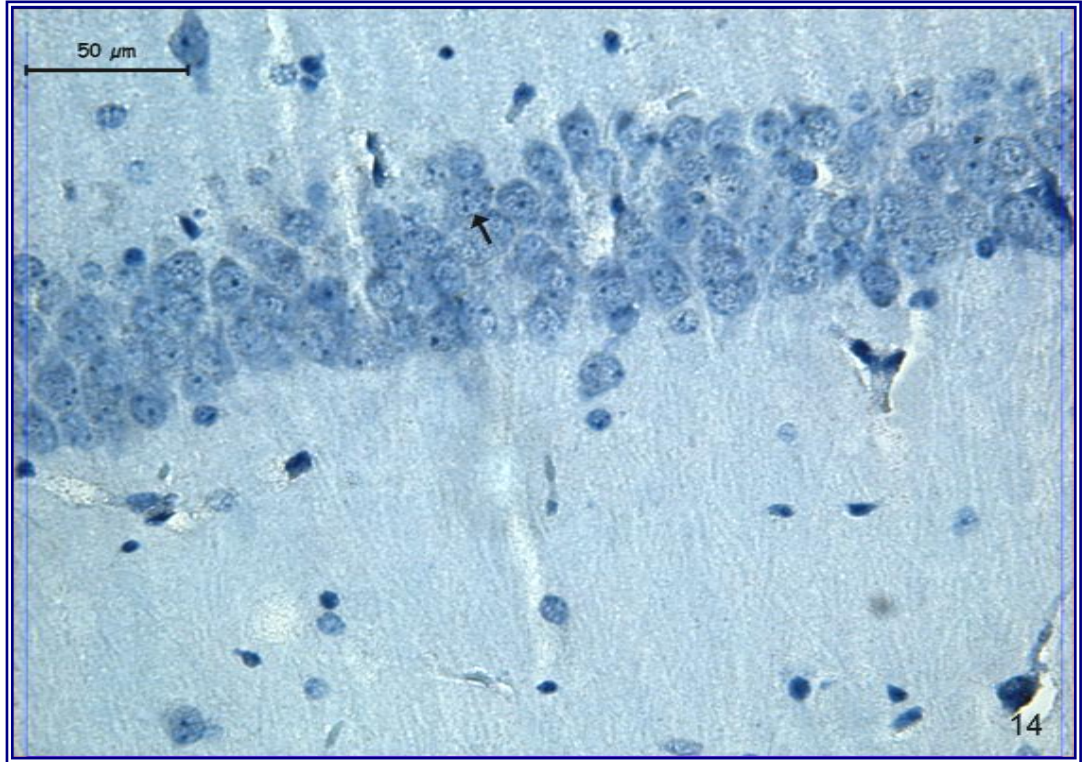
Resim 11: Hipoksi + Ginkgo biloba Doğum sonrası 14. Gün (Grup 6) Frontal alan- HSP primer antikoru, →:Nöron, ⇨:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



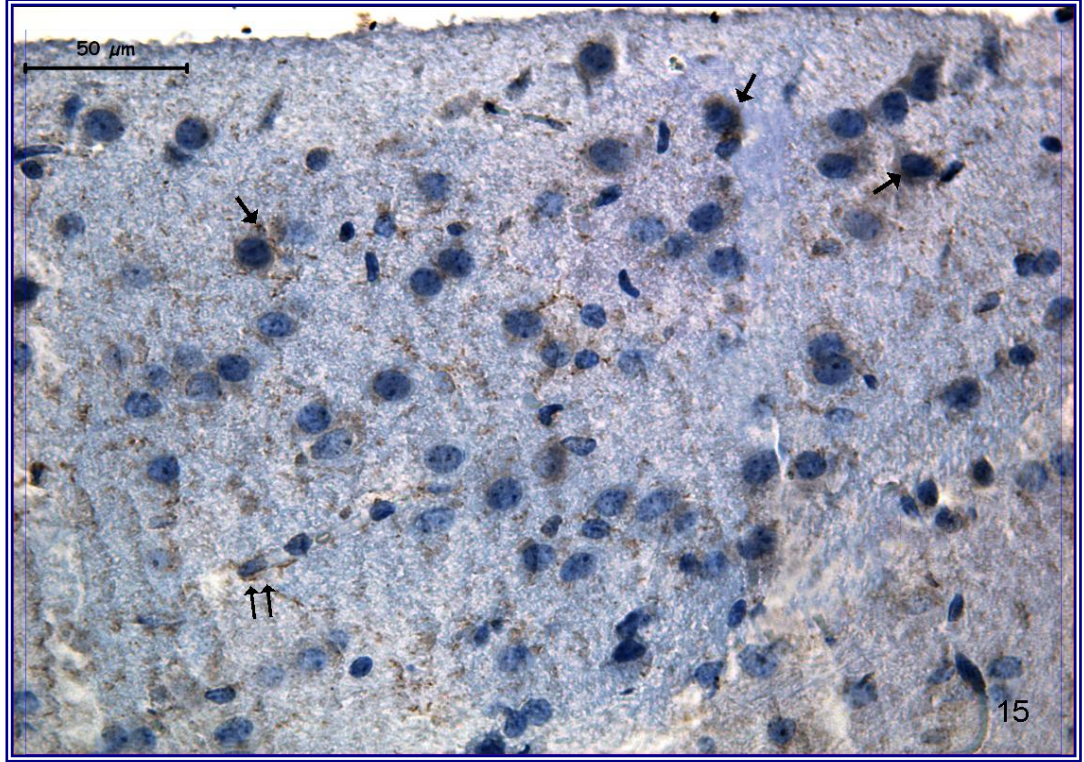
Resim 12: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 14. Gün (Grup 6) Hipokampus- HSP primer antikoru, →:Nöron (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



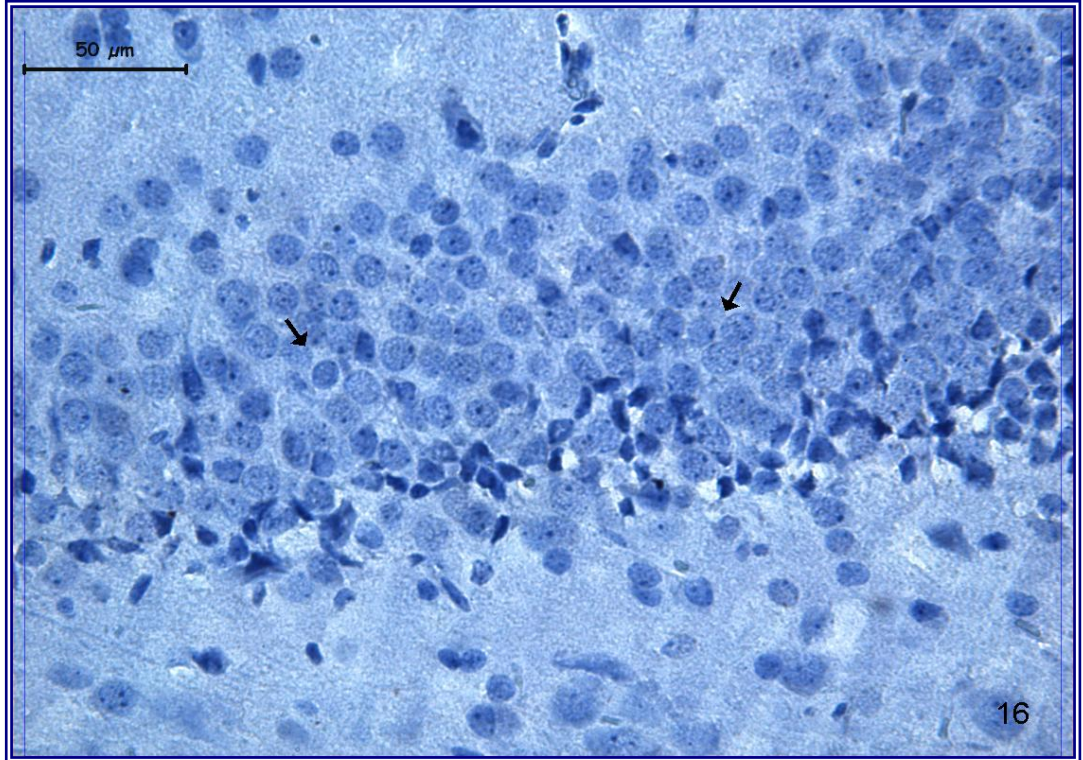
Resim 13: 21. Gün Kontrol (Grup 7) Frontal Alan- HSP primer antikoru, →:Nöron, ⇌:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



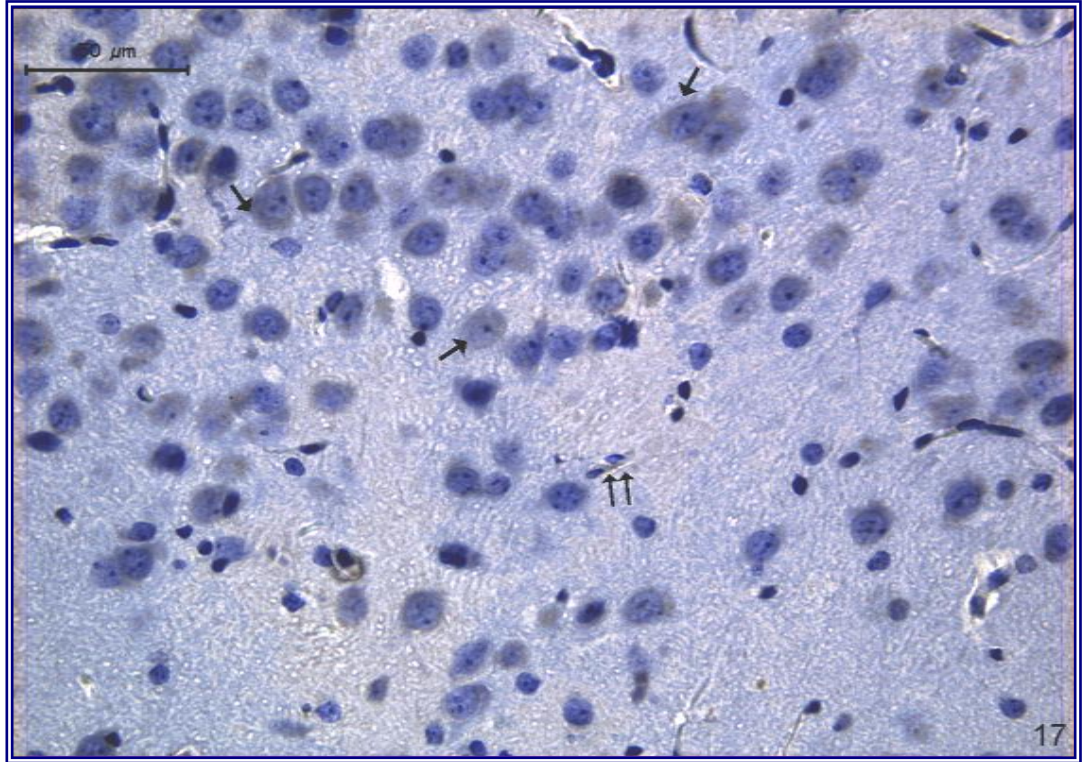
Resim 14: 21. Gün Kontrol (Grup 7) Hipokampus- HSP primer antikoru, →:Nöron (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



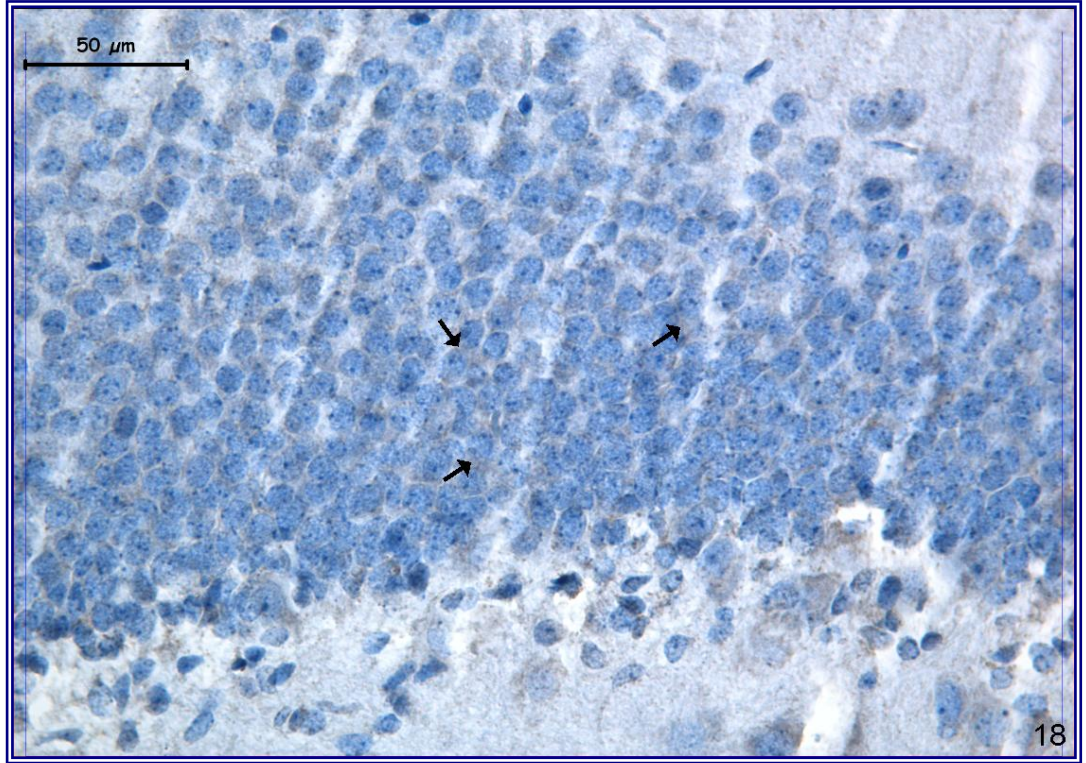
Resim 15: Hipoksi -Doğum sonrası 21. Gün (Grup 8) Frontal alan - HSP primer antikor, →: Nöron (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).



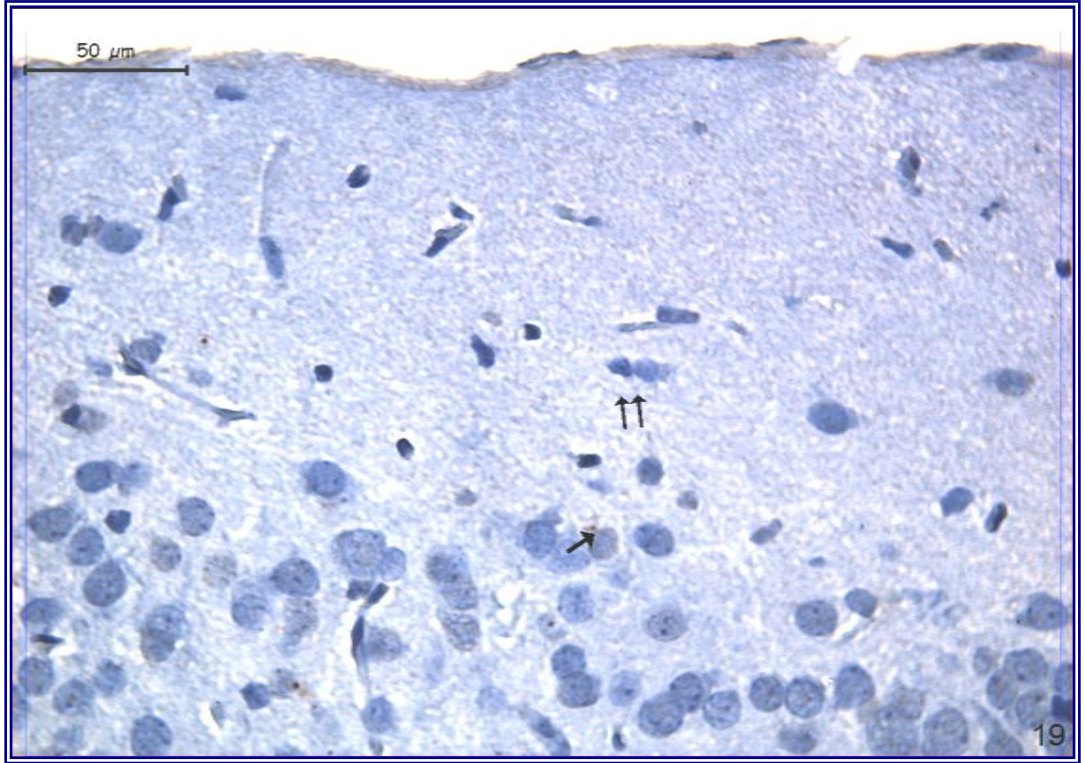
Resim 16: Hipoksi - Doğum sonrası 21. Gün (Grup 8) Hipokampus - HSP primer antikoru, →:Nöron, ⇨:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400)



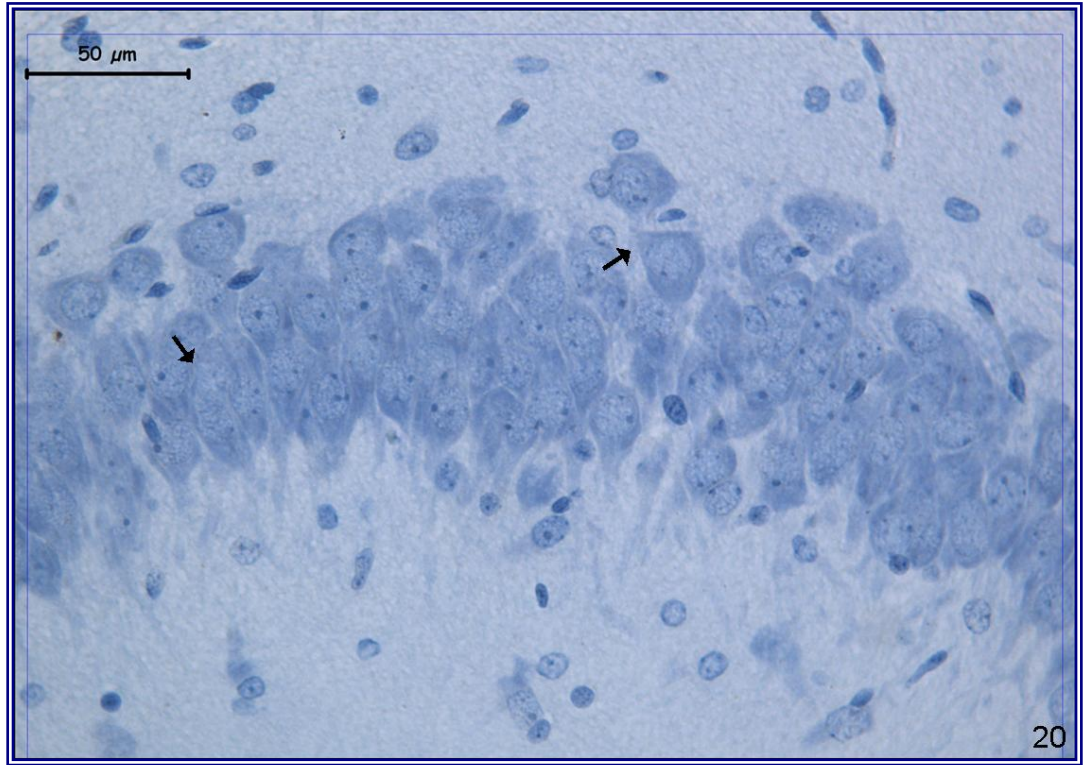
Resim 17: Hipoksi + Ginkgo biloba Doğum sonrası 21. Gün (Grup 9) Frontal alan- HSP primer antikoru, →:Nöron, ⇨:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



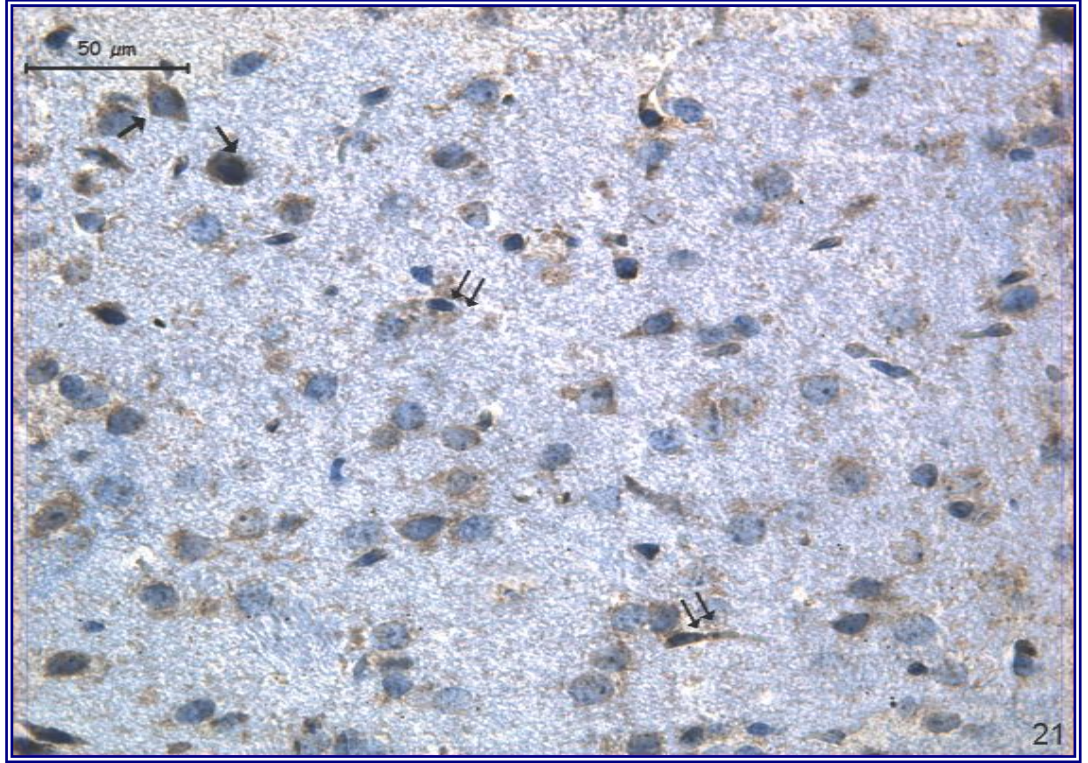
Resim 18: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 21. Gün (Grup 9) Hipokampüs- HSP primer antikoru, →:Nöron (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



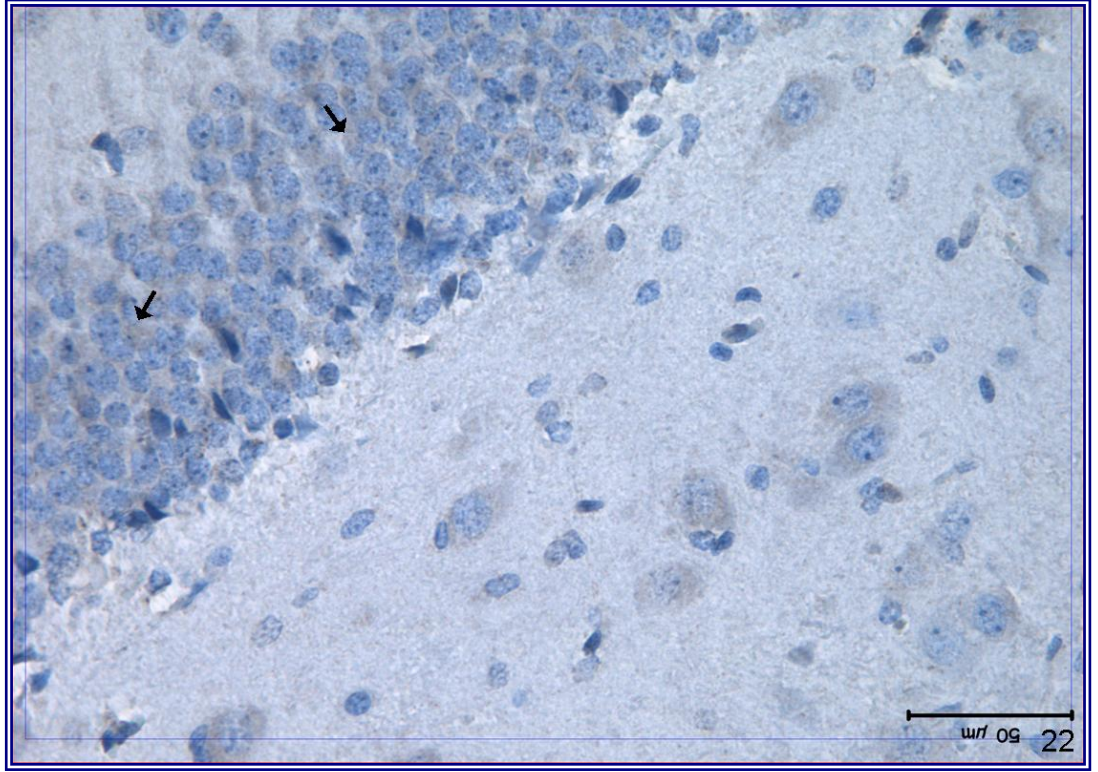
Resim 19: 28. Gün Kontrol (Grup 10) Frontal Alan- HSP primer antikoru, →:Nöron, ⇨:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



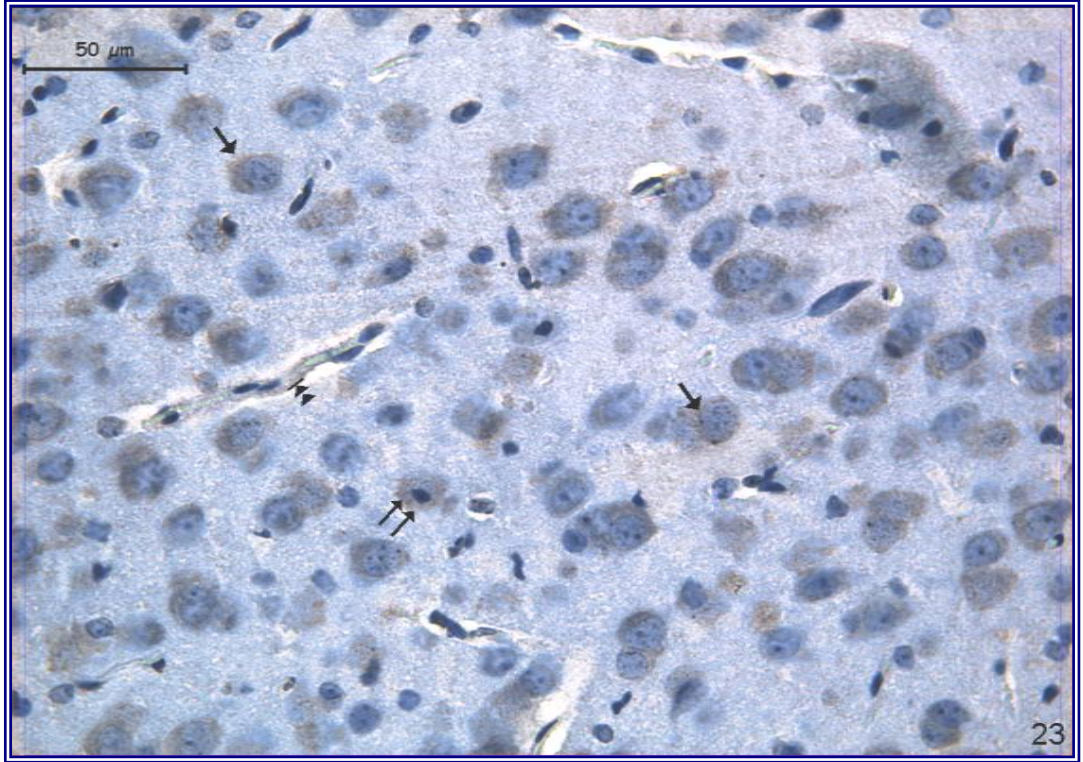
Resim 20: 28. Gün Kontrol (Grup 10) Hipokampus- HSP primer antikor,
→:Nöron (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



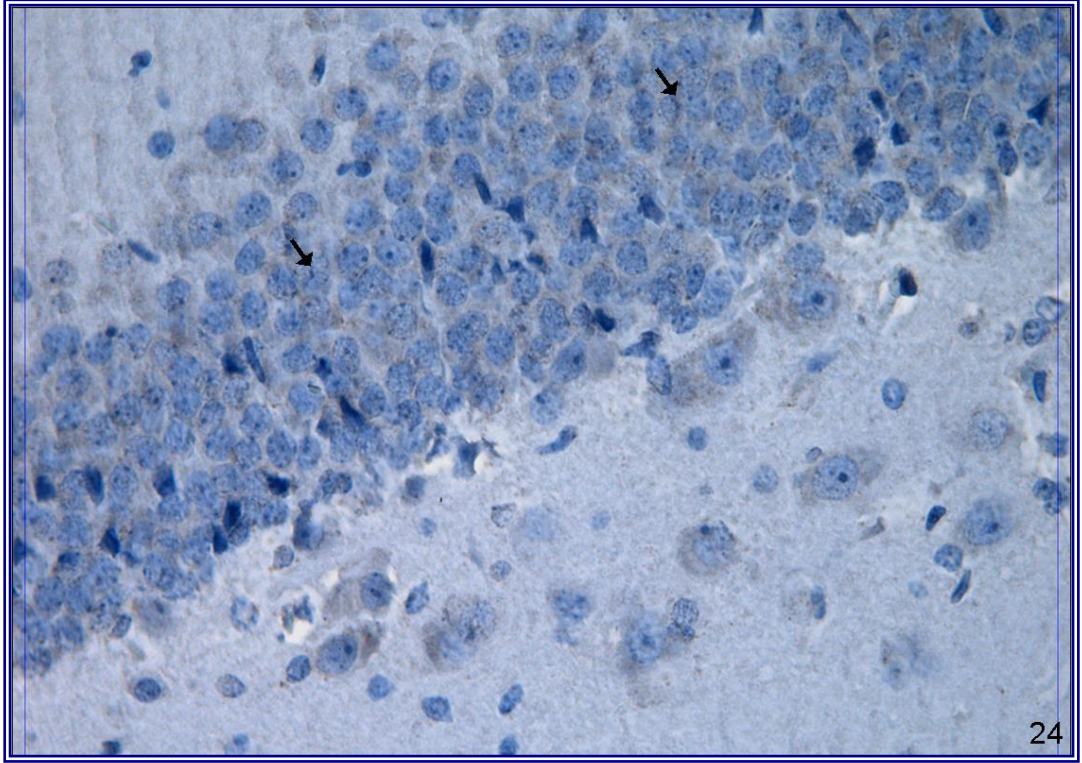
Resim 21: Hipoksi -Doğum sonrası 28. Gün (Grup 11) Frontal alan - HSP primer antikor, →: Nöron (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).



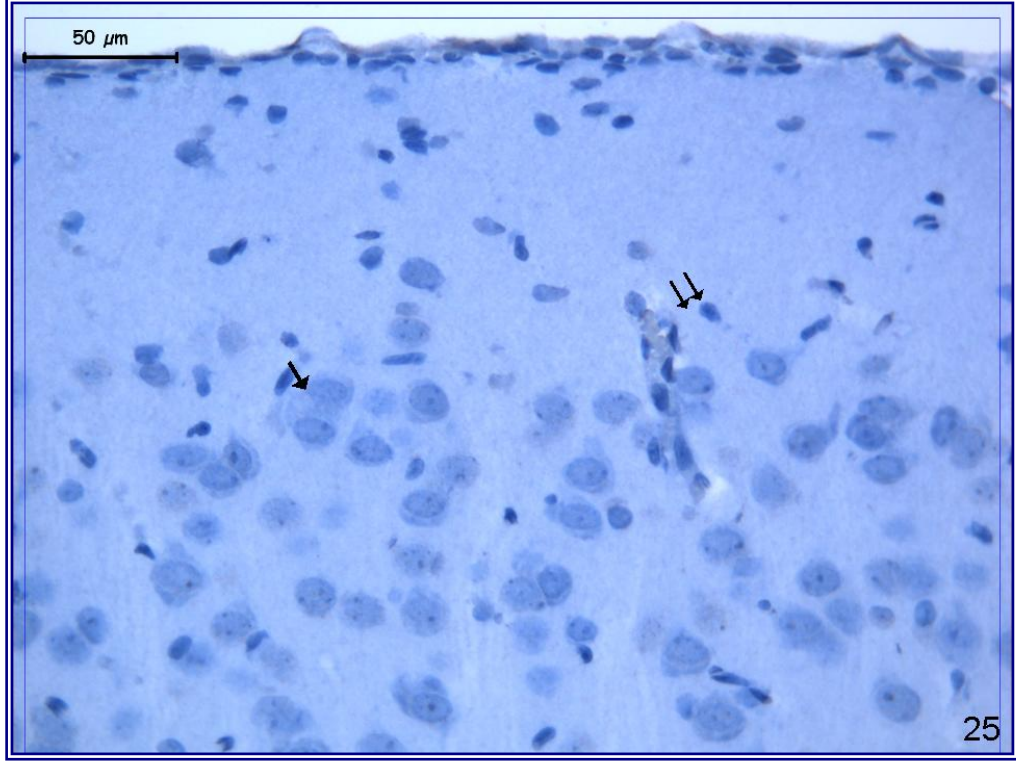
Resim 22: Hipoksi - Doğum sonrası 28. Gün (Grup 11) Hipokampus - HSP primer antikoru, →:Nöron, ⇌:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



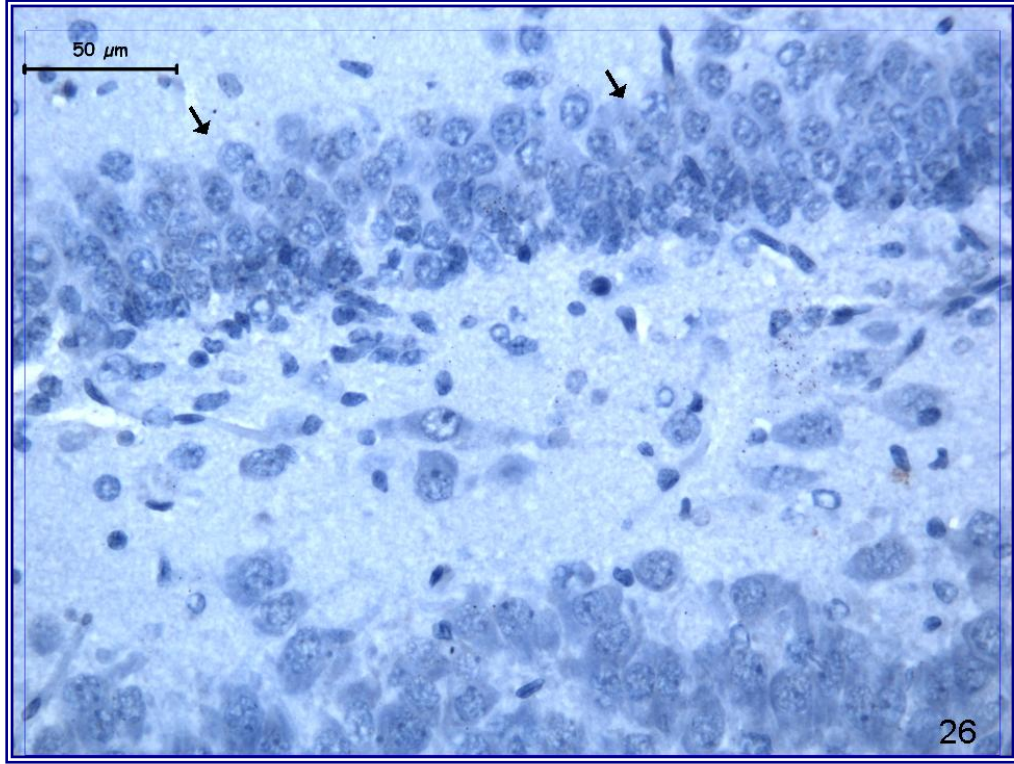
Resim 23: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 28. Gün (Grup 12) Frontal alan- HSP primer antikoru, →:Nöron, ⇨:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



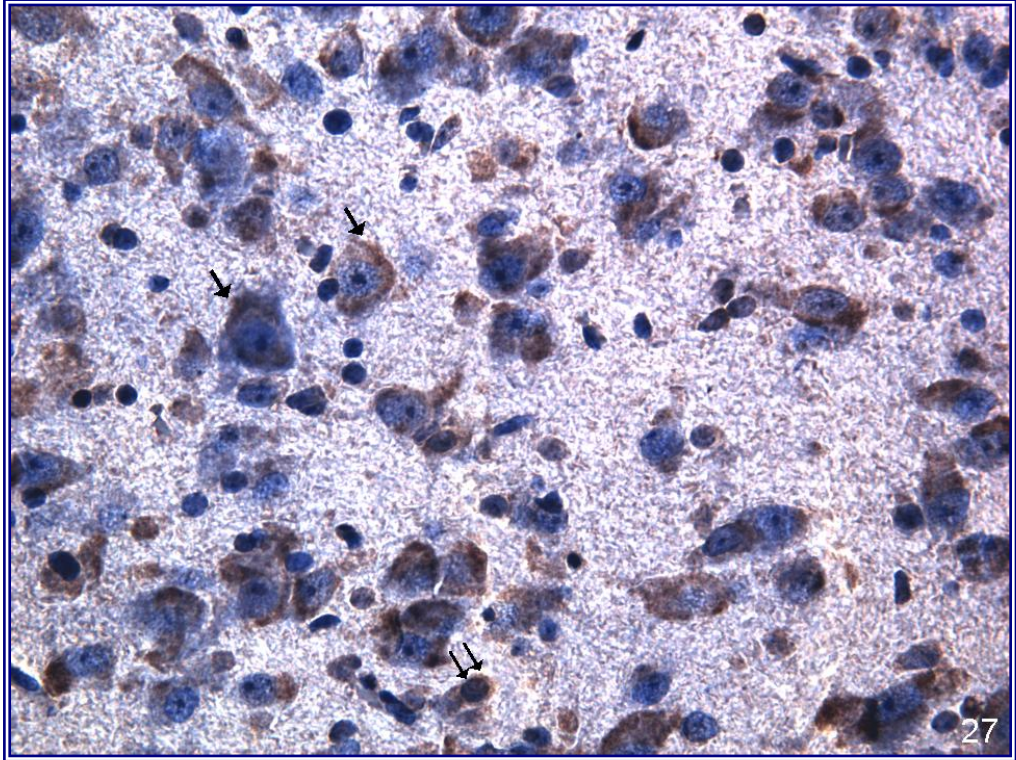
Resim 24: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 28. Gün (Grup 12) Hipokampus- HSP primer antikoru, →:Nöron (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



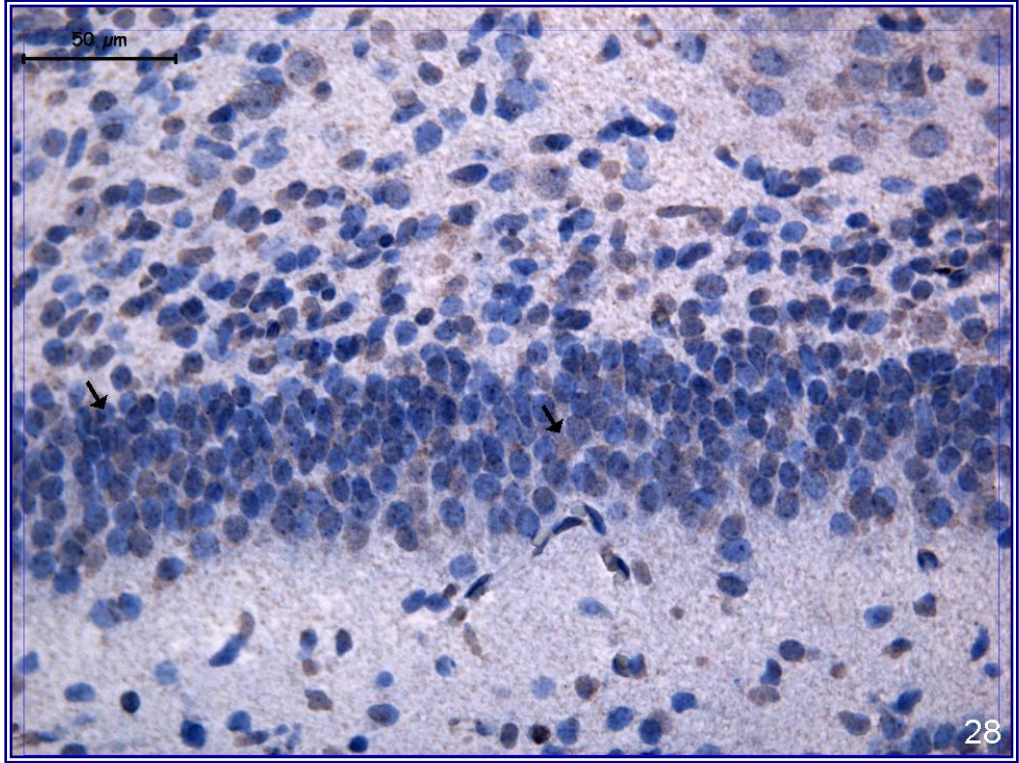
Resim 25: 7 Gün Kontrol (Grup 1) Frontal Alan- Hif 1 α primer antikoru,
→:Nöron, ⇨:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



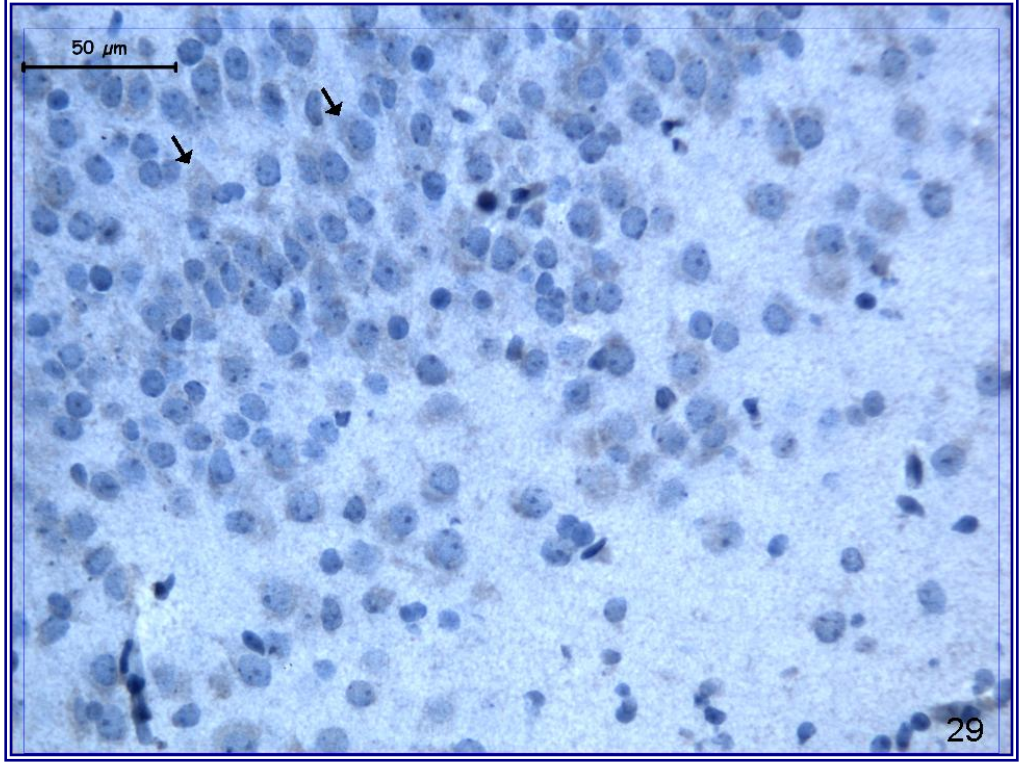
im 26: 7 Gün Kontrol (Grup 1) Hipokampüs- Hif 1  primer antikoru,
 :Nöron ( mm nperoksidaz& Hematoksilen X400).



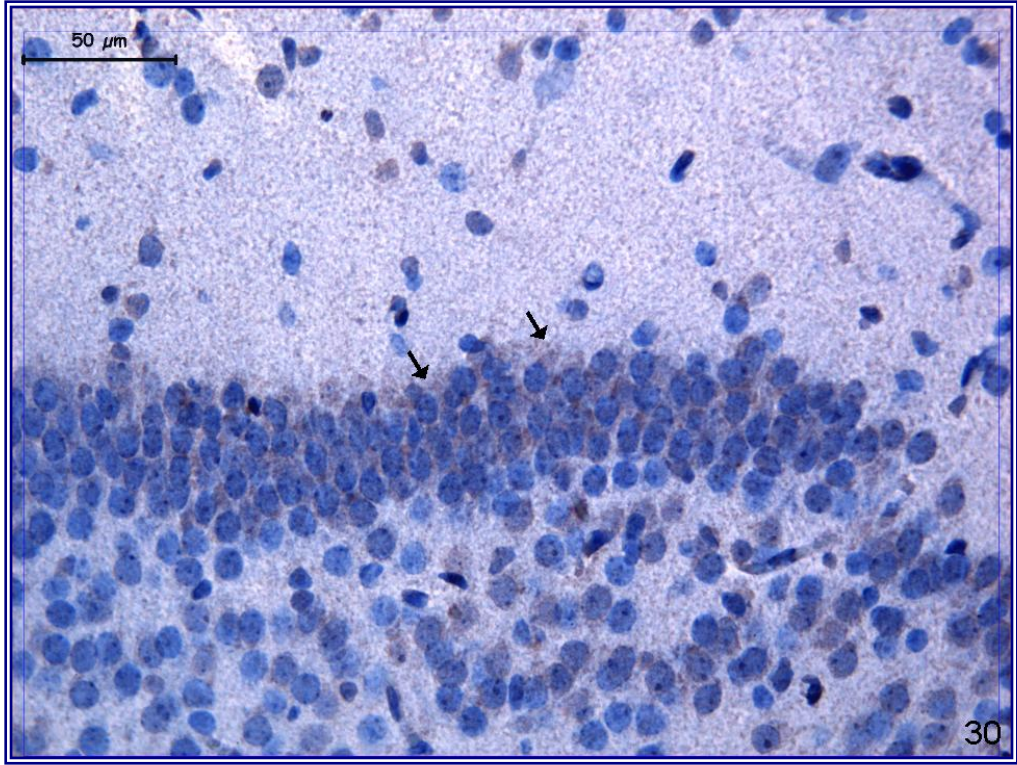
Resim 27: Hipoksi -Doğum sonrası 7. Gün (Grup 2) Frontal Alan- Hif 1 α primer antikoru, →:Nöron, ⇨:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



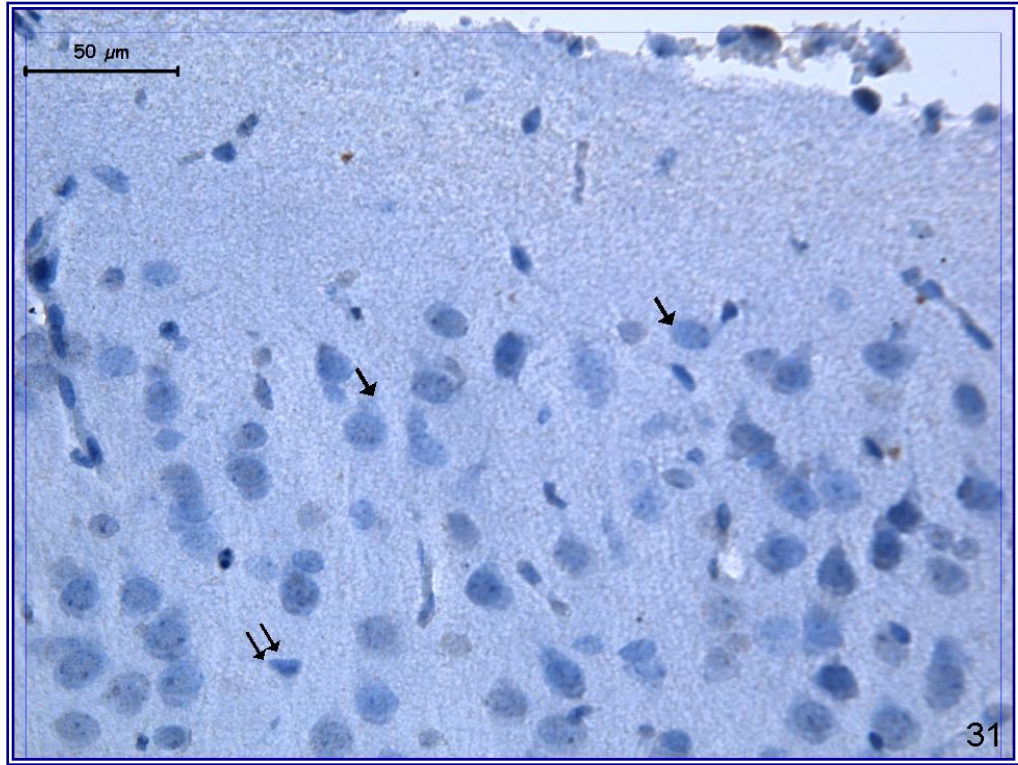
Resim 28: Hipoksi -Doğum sonrası 7. Gün (Grup 2) Hipokampus- Hif 1 α primer antikor, →:Nöron (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



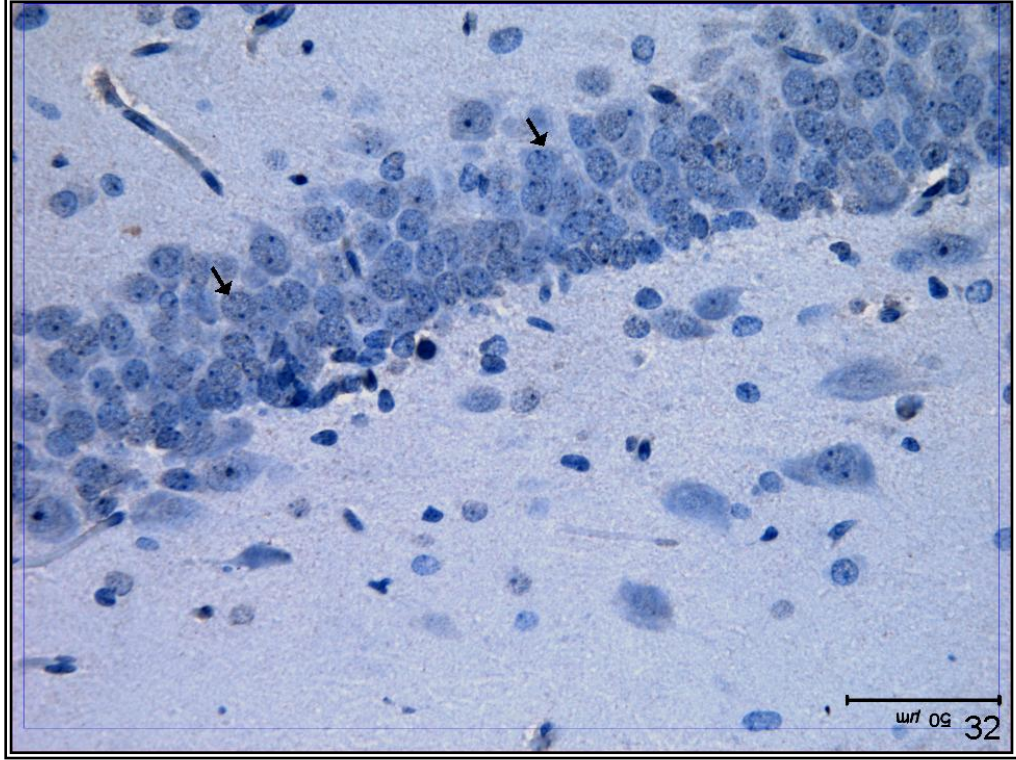
Resim 29: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 7. Gün (Grup 3) Frontal alan- Hif 1 α primer antikoru, →:Nöron, ⇨:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



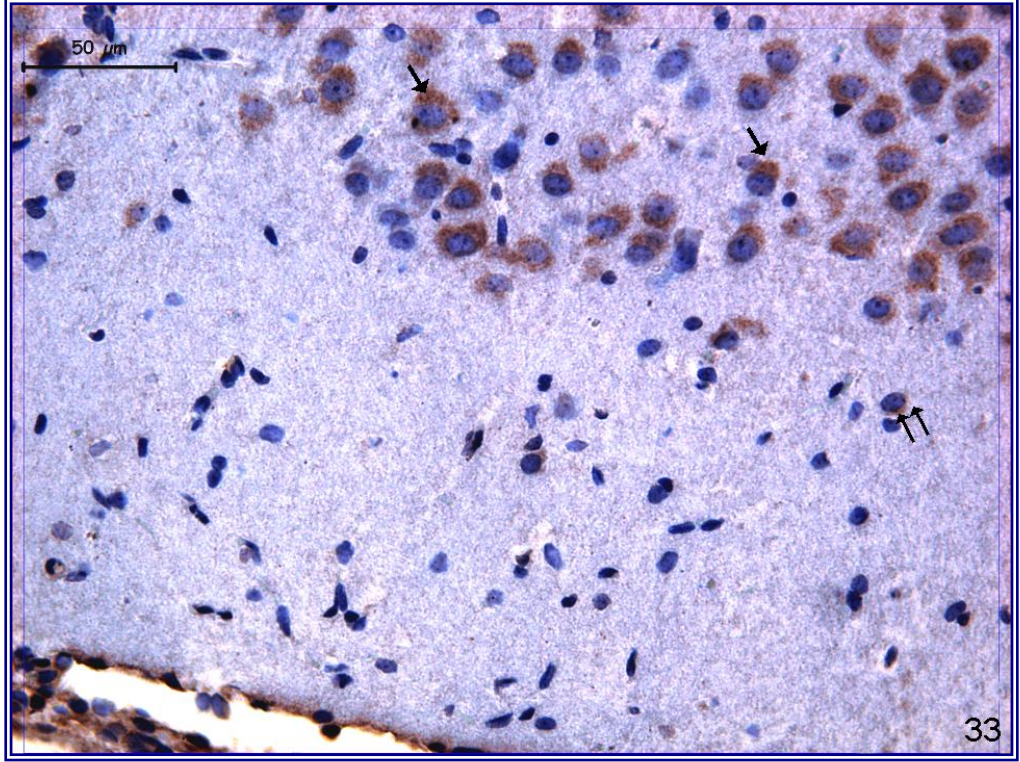
Resim 30: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 7. Gün (Grup 3) Hipokampus- Hif 1α primer antikoru, →:Nöron (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



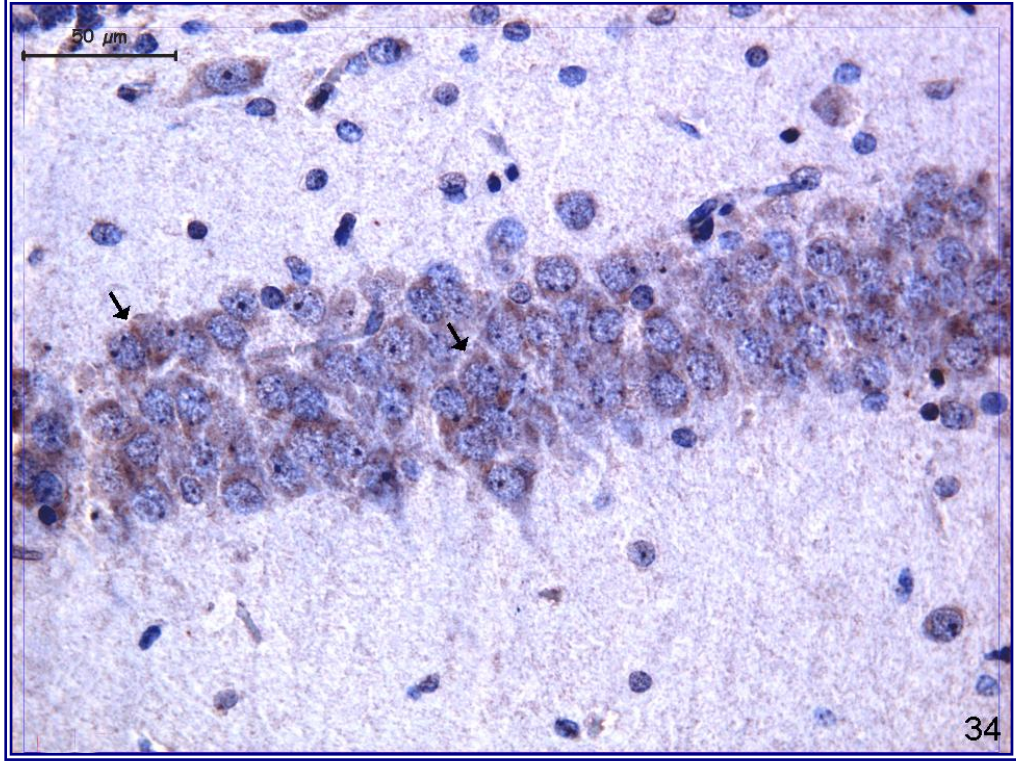
Resim 31: 14. Gün Kontrol (Grup 4) Frontal Alan- Hif 1 α primer antikor,
→:Nöron, ⇨:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



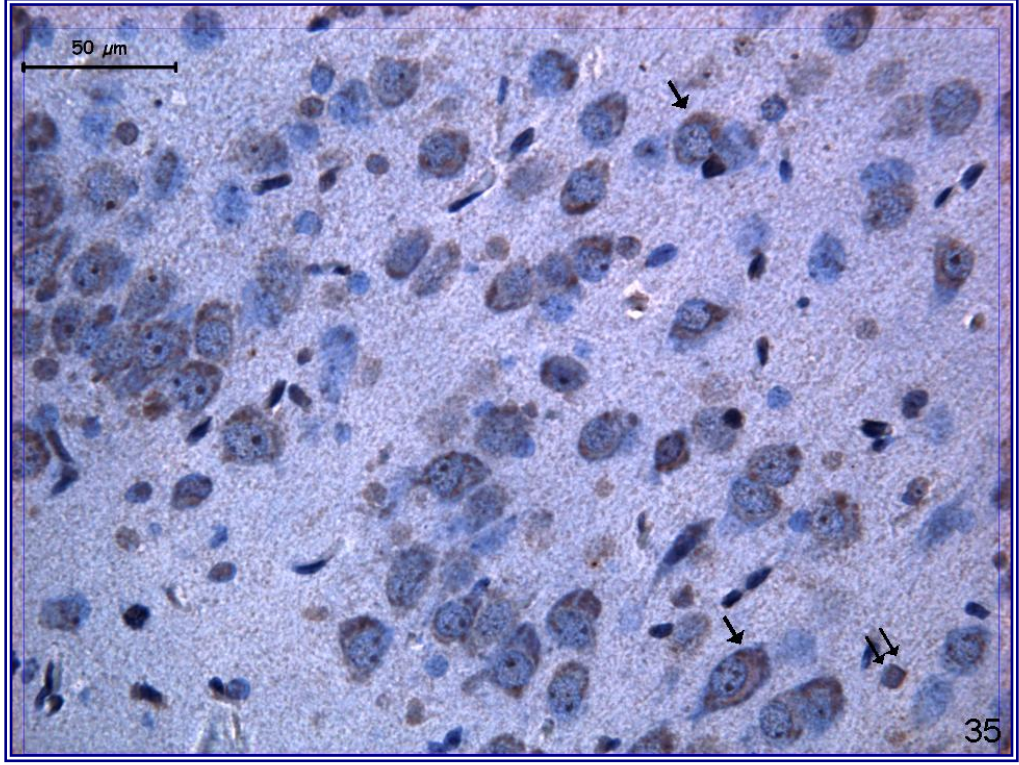
Resim 32: 14. Gün Kontrol (Grup 4) Hipokampus- Hif 1 α primer antikor,
→:Nöron (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



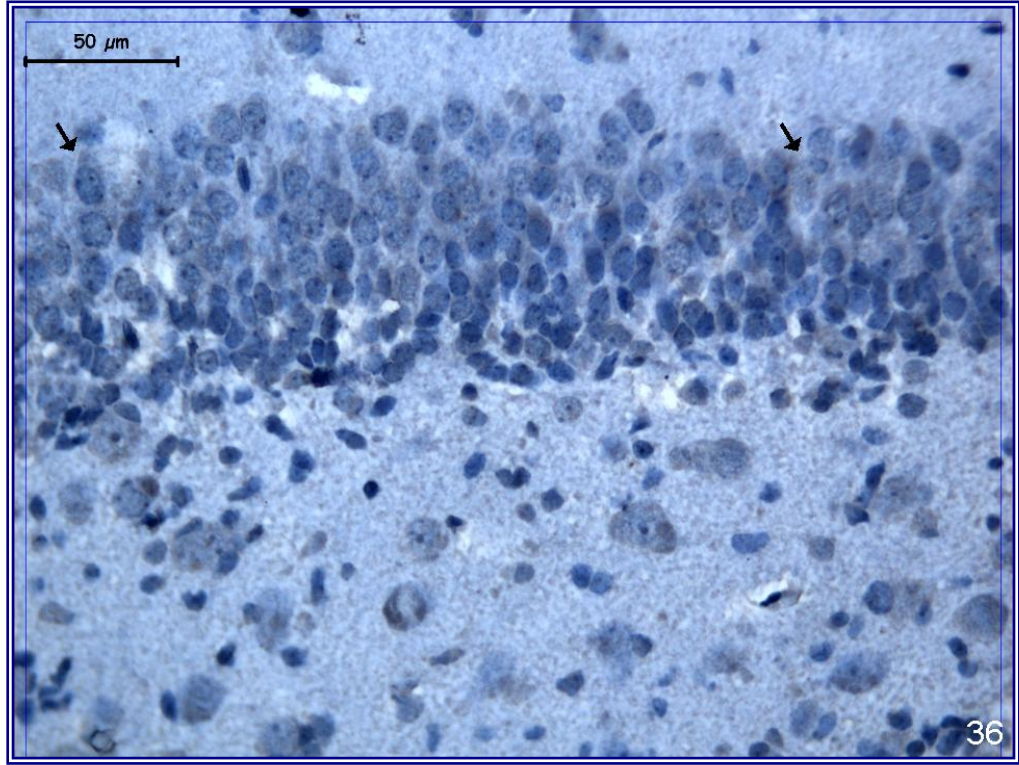
Resim 33: Hipoksi -Doğum sonrası 14. Gün (Grup 5) Frontal alan-Hif 1 α primer antikoru, →: Nöron, ⇨: Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).



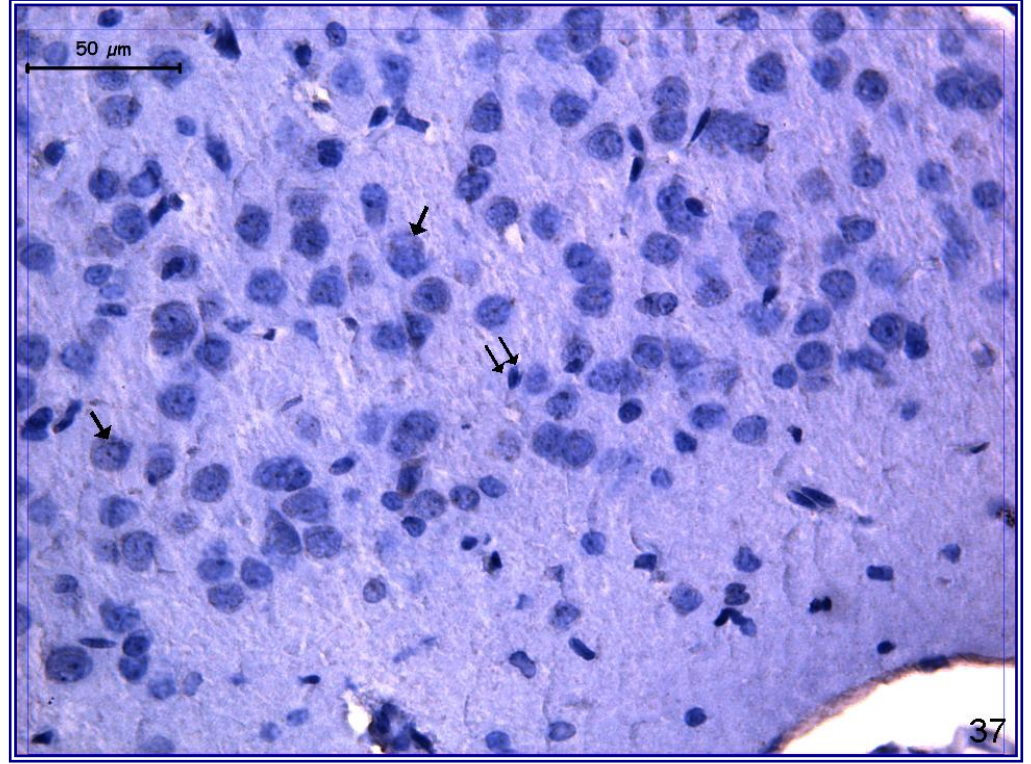
Resim 34: Hipoksi -Doğum sonrası 14. Gün (Grup 5) Hipokampüs-Hif 1 α primer antikoru, →: Nöron (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).



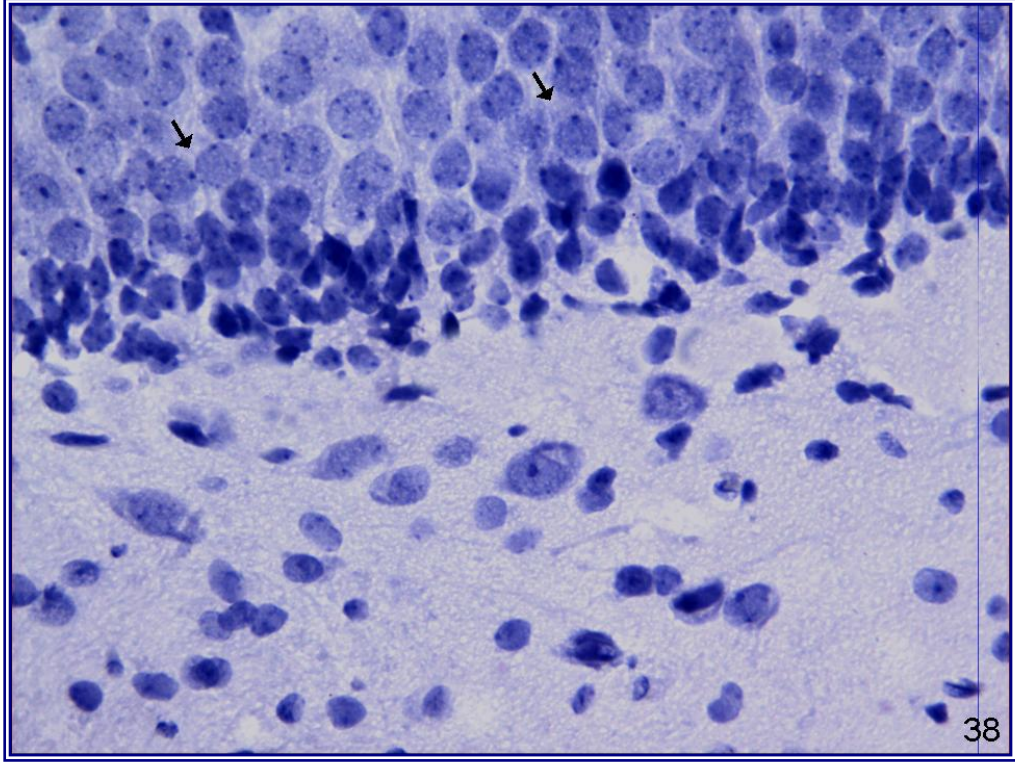
Resim 35: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 14. Gün (Grup 6) Frontal alan- Hif 1α primer antikoru, →:Nöron, ⇨:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



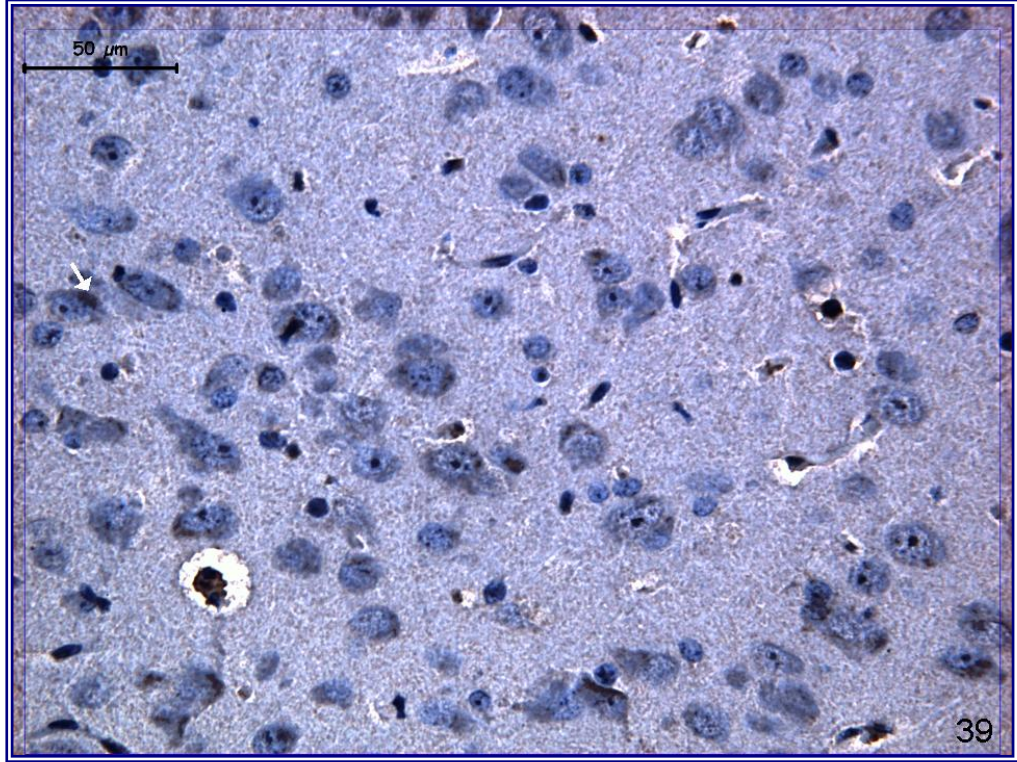
Resim 36: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 14. Gün (Grup 6)
Hipokampus- Hif 1 α primer antikoru, →:Nöron (İmmünperoksidaz&
Hematoksilen X400).



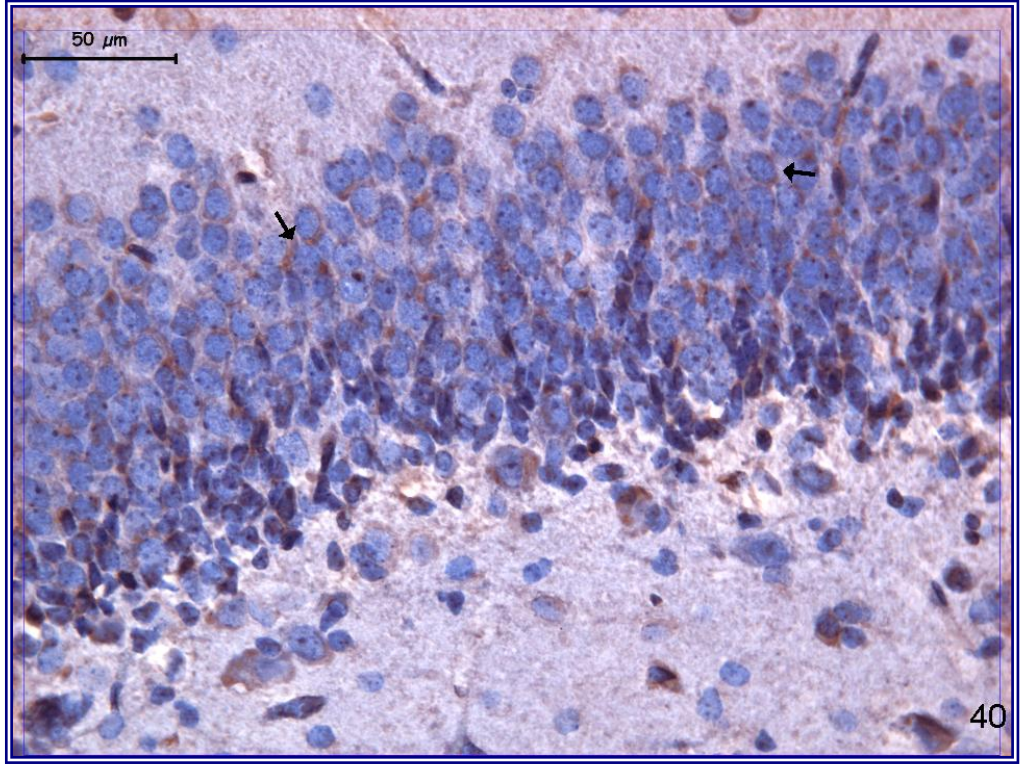
Resim 37: 21. Gün Kontrol (Grup 7) Frontal Alan- Hif 1 α primer antikor, →:Nöron, ⇨:Gliyal hücre. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



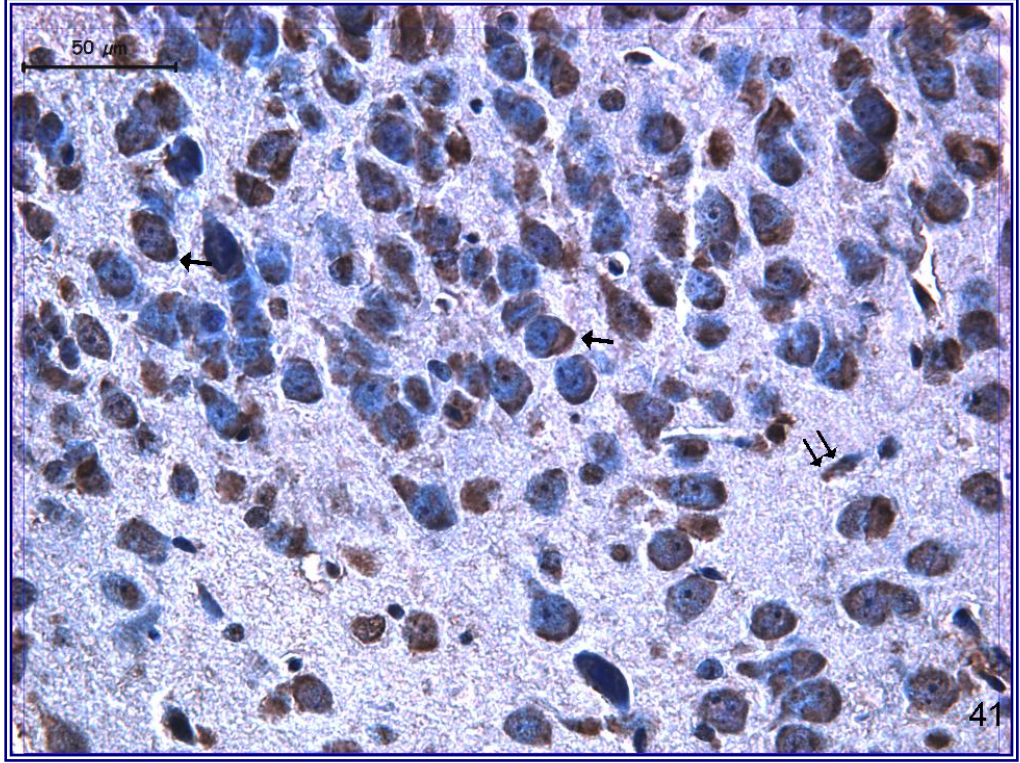
Resim 38: 21. Gün Kontrol (Grup 7) Hipokampus- Hif 1 α primer antikor,
→:Nöron (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



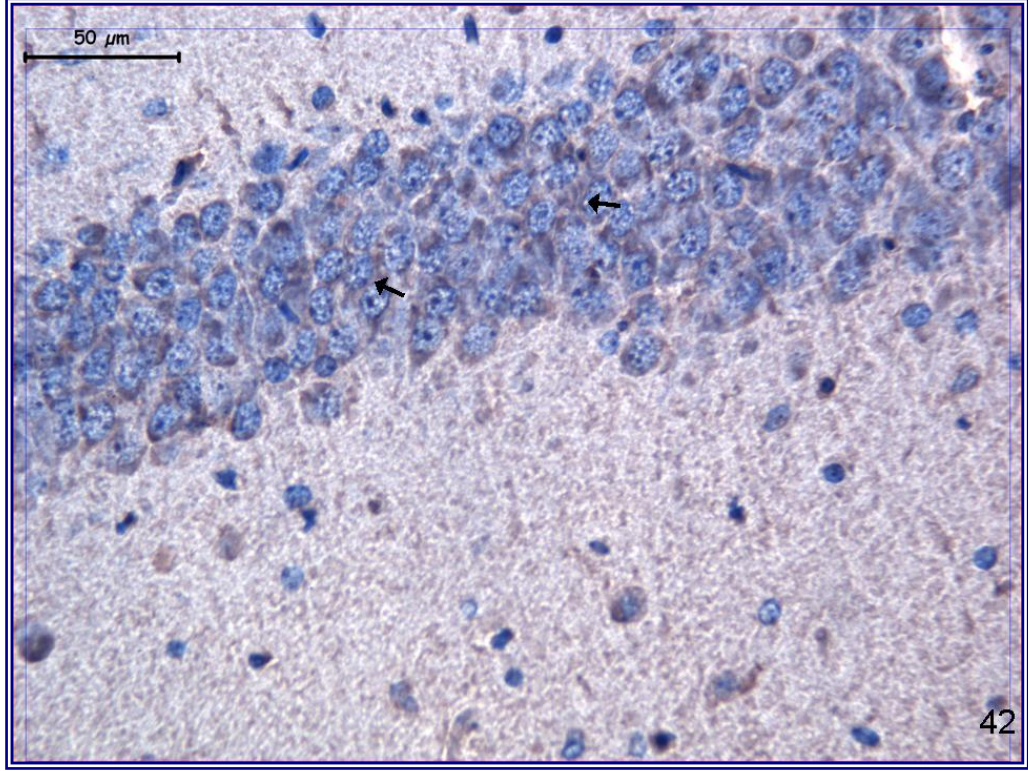
Resim 39: Hipoksi -Doğum sonrası 21. Gün (Grup 8) Frontal alan- Hif 1 α primer antikoru, →: Nöron (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).



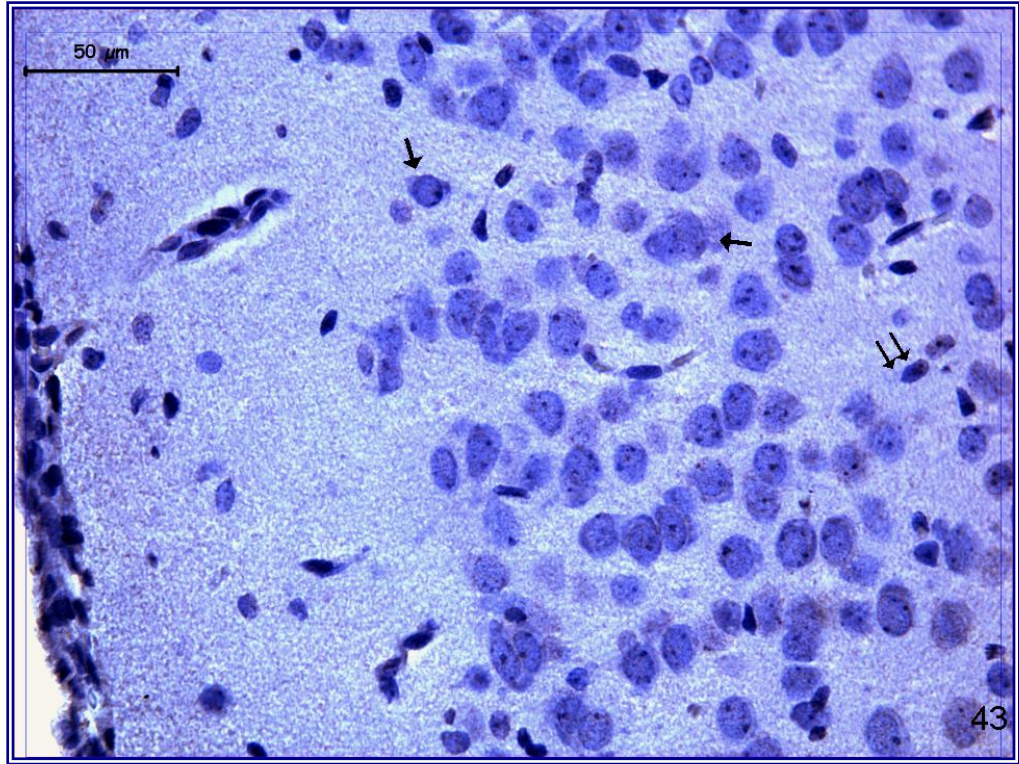
Resim 40: Hipoksi - Doğum sonrası 21. Gün (Grup 8) Hipokammpüs- Hif 1α primer antikoru, →:Nöron, ⇨:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400)



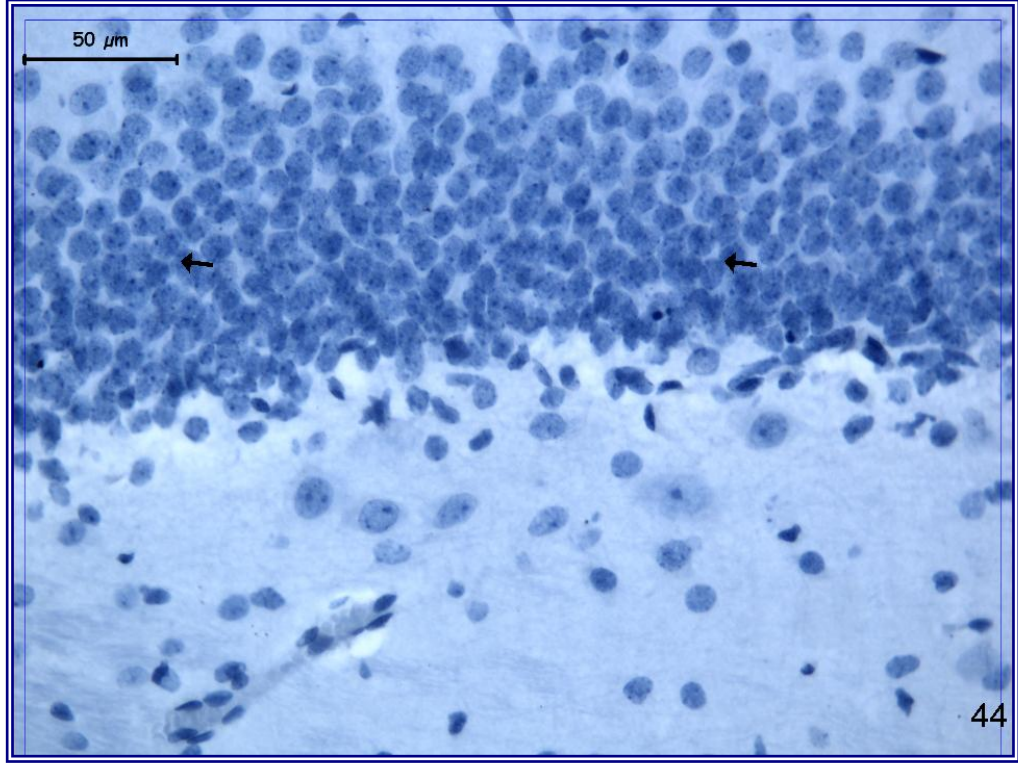
Resim 41: Hipoksi + Ginkgo biloba Doğum sonrası 21. Gün (Grup 9) Frontal alan- Hif 1 α primer antikoru, →:Nöron, ⇨:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



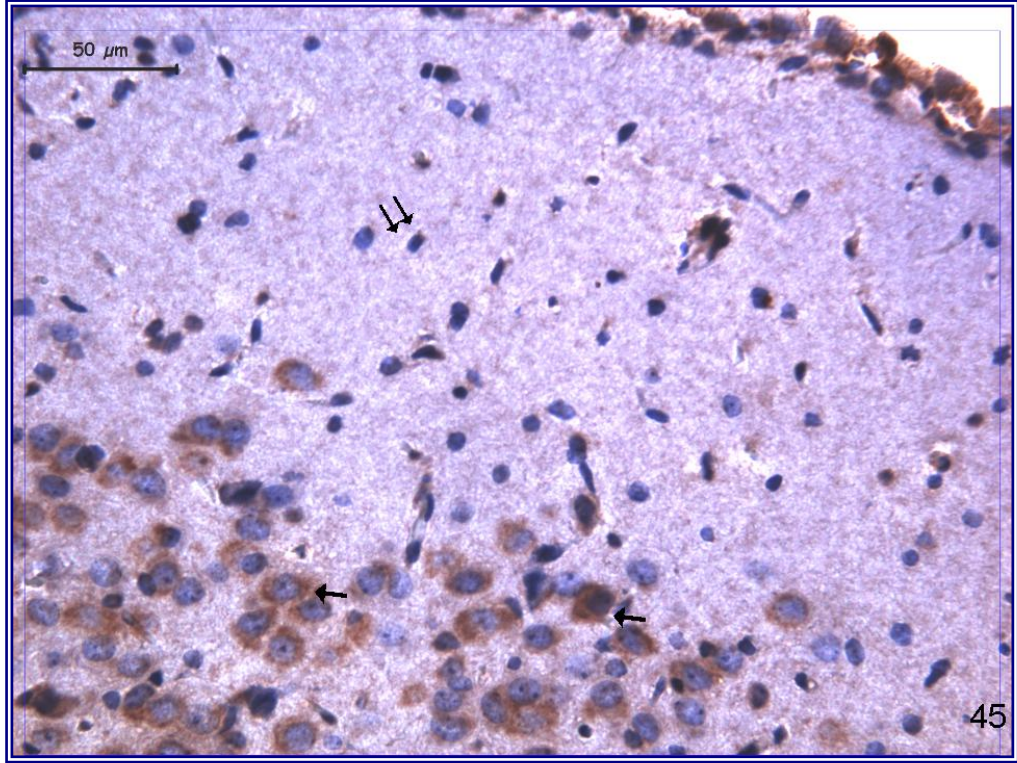
Resim 42: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 21. Gün (Grup 9) Hipokampus- Hif 1 α primer antikoru, →:Nöron (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



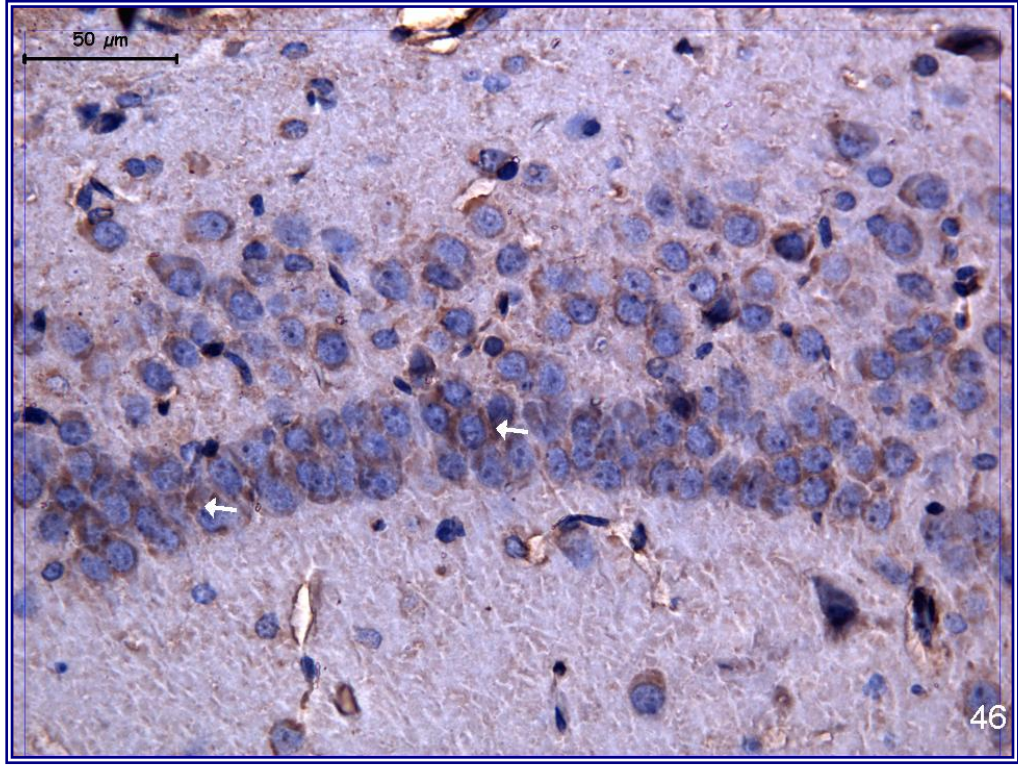
Resim 43: 28. Gün Kontrol (Grup 10) Frontal Alan- Hif 1 α primer antikoru,
→:Nöron, ⇨:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



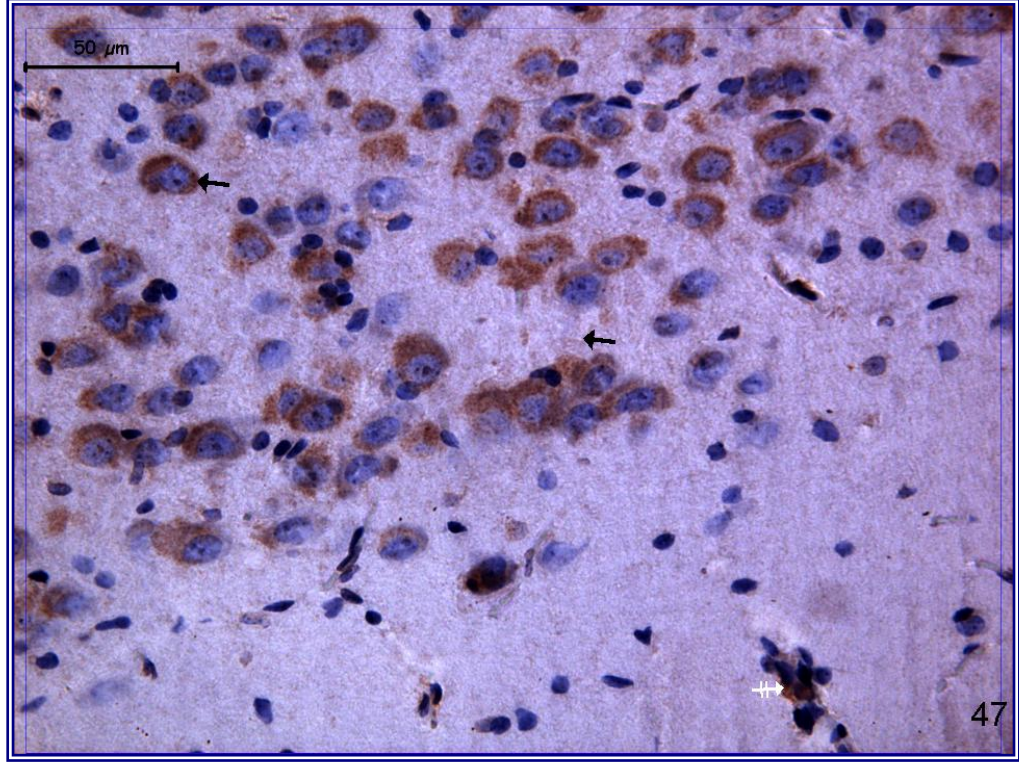
Resim 44: 28. Gün Kontrol (Grup 10) Hipokampus- Hif 1 α primer antikoru, →:Nöron (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



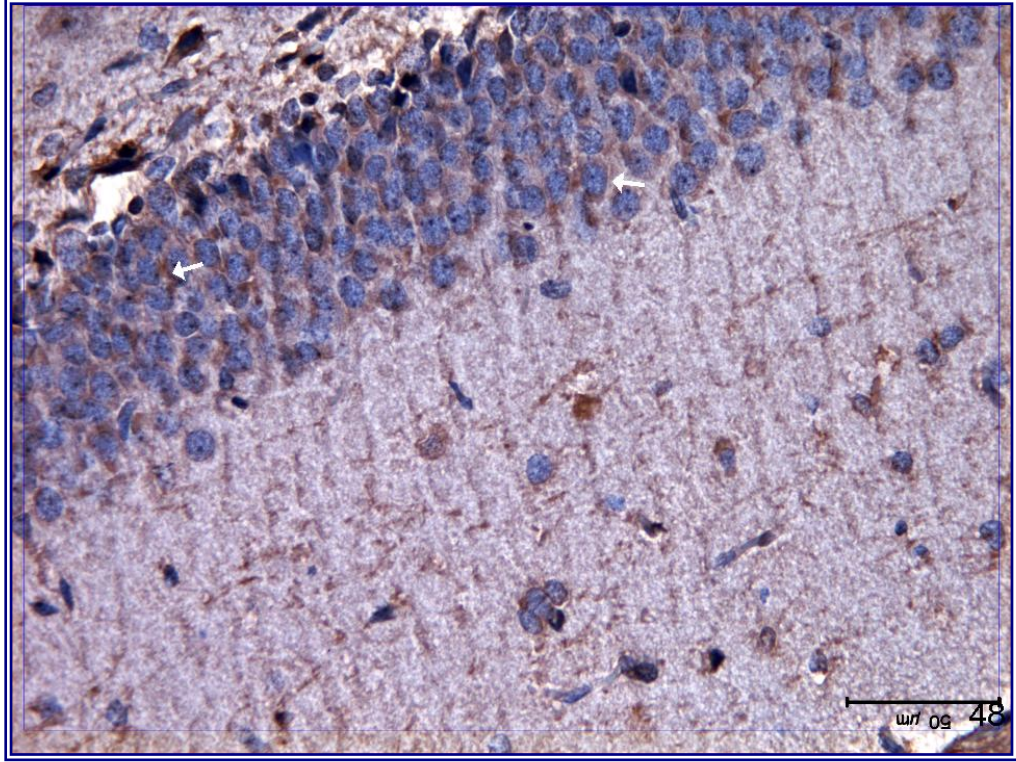
Resim 45: Hipoksi -Doğum sonrası 28. Gün (Grup 11) Frontal alan- Hif 1 α primer antikoru, →: Nöron (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).



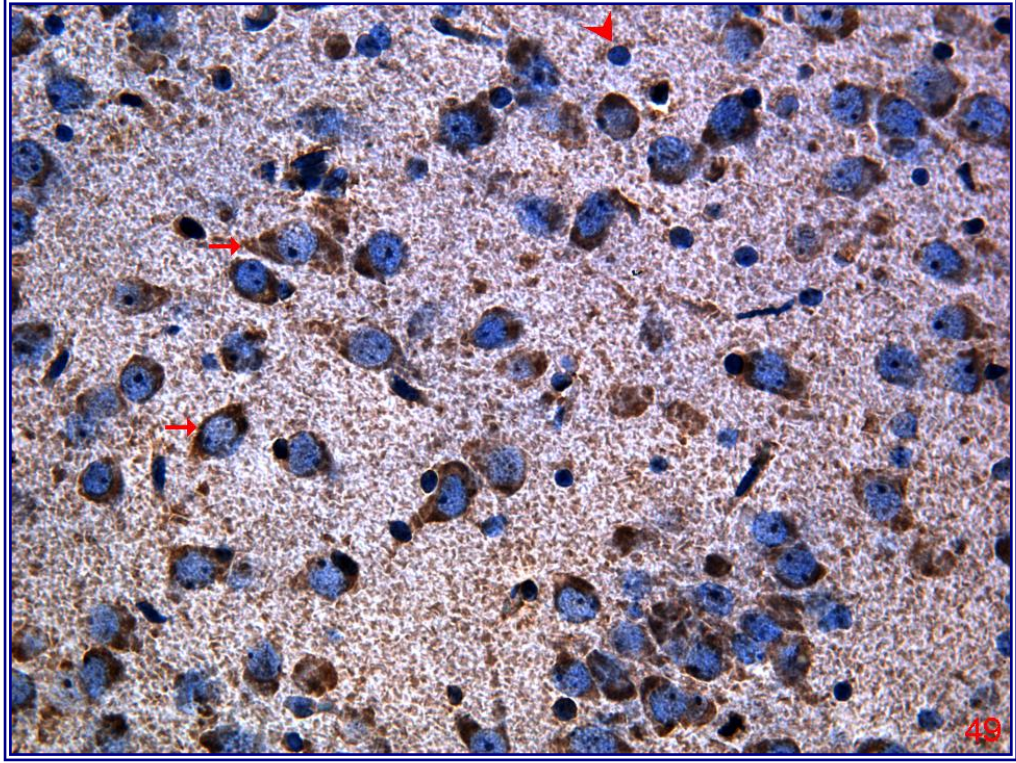
Resim 46: Hipoksi - Doğum sonrası 28. Gün (Grup 11) Hipokammpüs-HSP primer antikoru, →:Nöron, ⇨:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



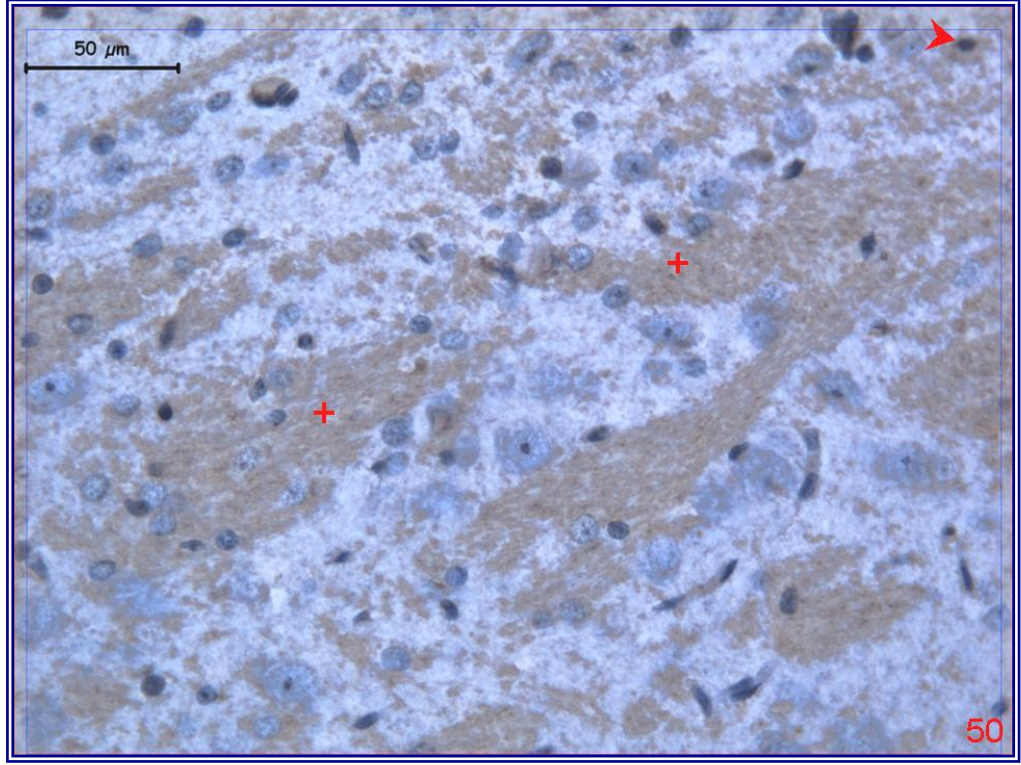
Resim 47: Hipoksi + Ginkgo biloba Doğum sonrası 28. Gün (Grup 12) Frontal alan- Hif 1α primer antikoru, →:Nöron, ⇨:Gliyal hücre, ‡: Damar endotel hücresi (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X40



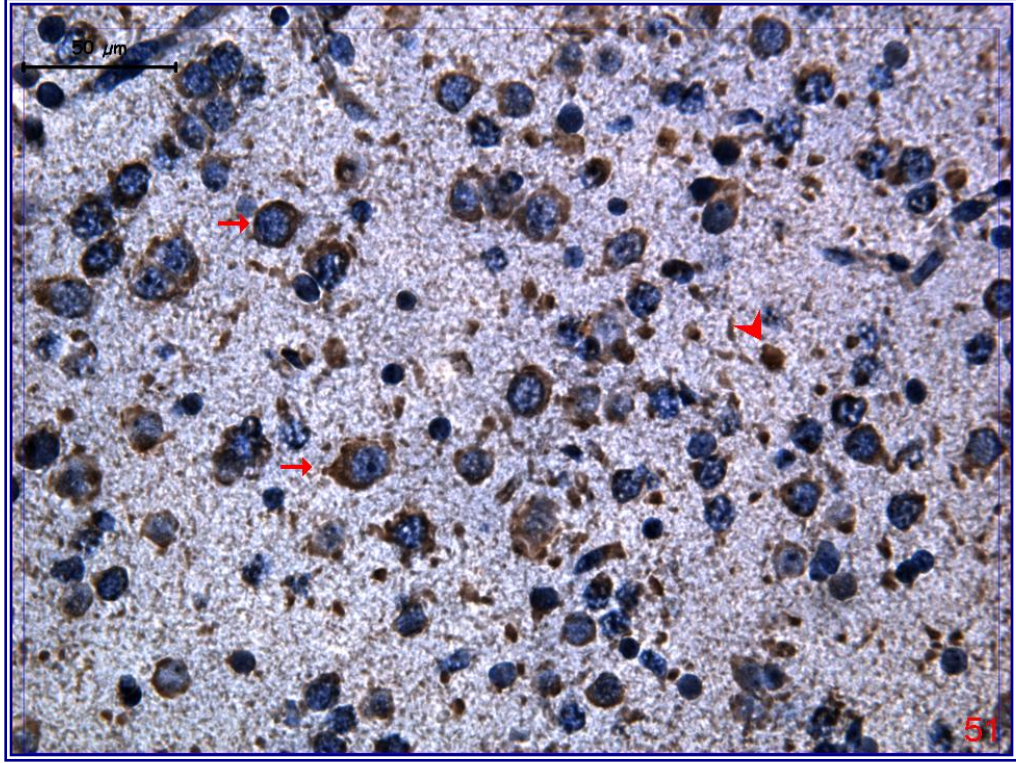
Resim 48: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 28. Gün (Grup 12) Hipokampus- Hif 1 α primer antikoru, →:Nöron (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



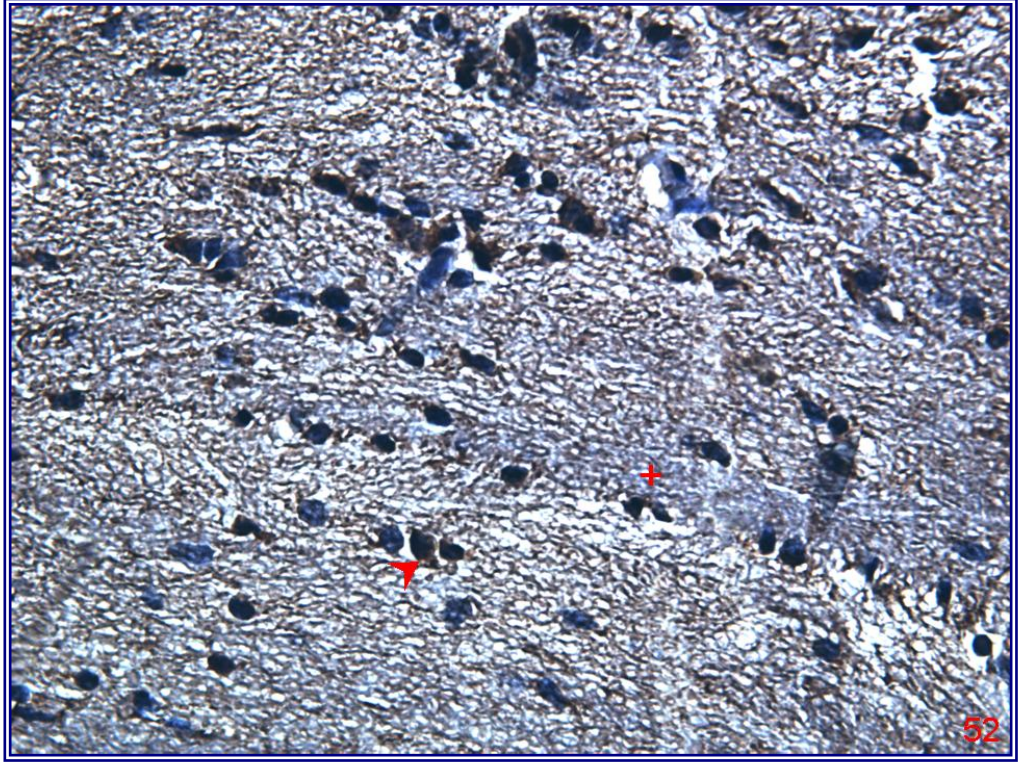
Resim 49: 7 Gün Kontrol (Grup 1) Frontal Alan- MBP primer antikoru,
→:Nöron, ➤:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



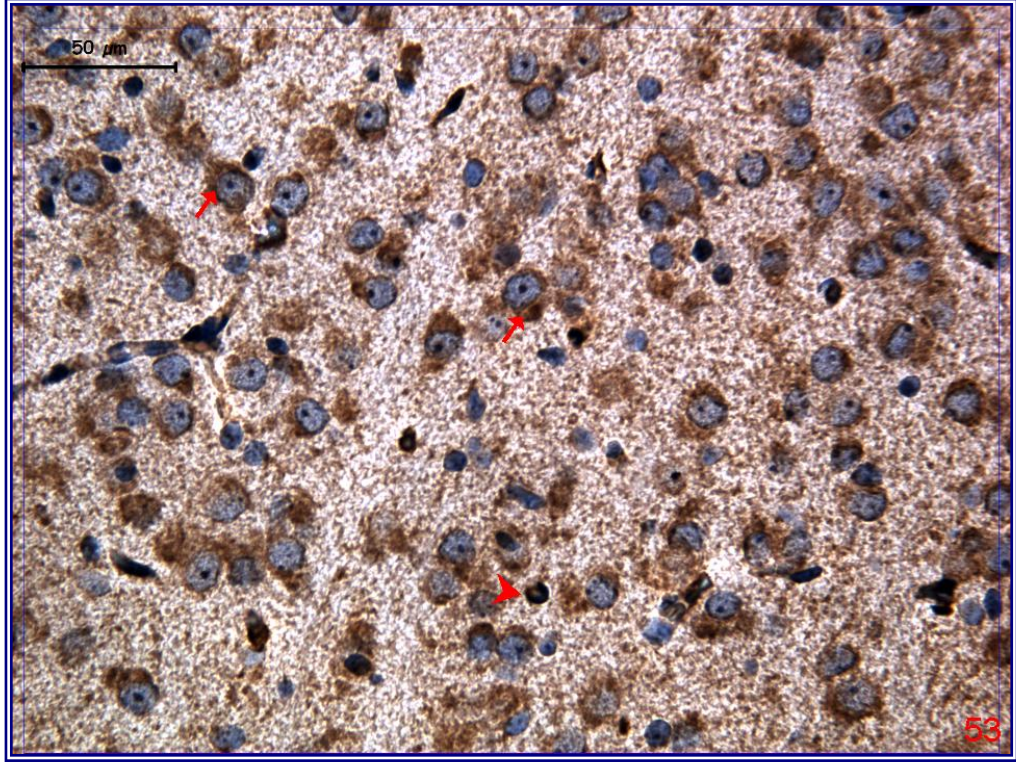
Resim 50: 7 Gün Kontrol (Grup 1) Ak katman- MBP primer antikoru, ➤:Gliyal hücre,+: Miyelinli aksonlar (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



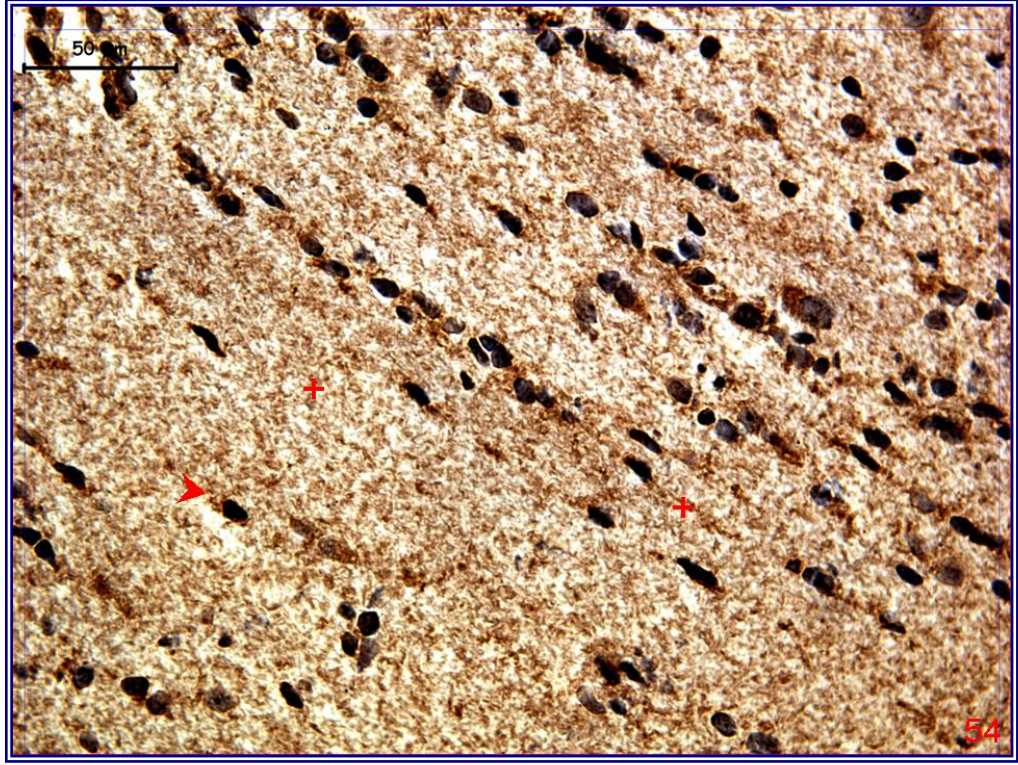
Resim 51: Hipoksi -Doğum sonrası 7. Gün (Grup 2) Frontal Alan- MBP primer antikoruna →:Nöron, ➤:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



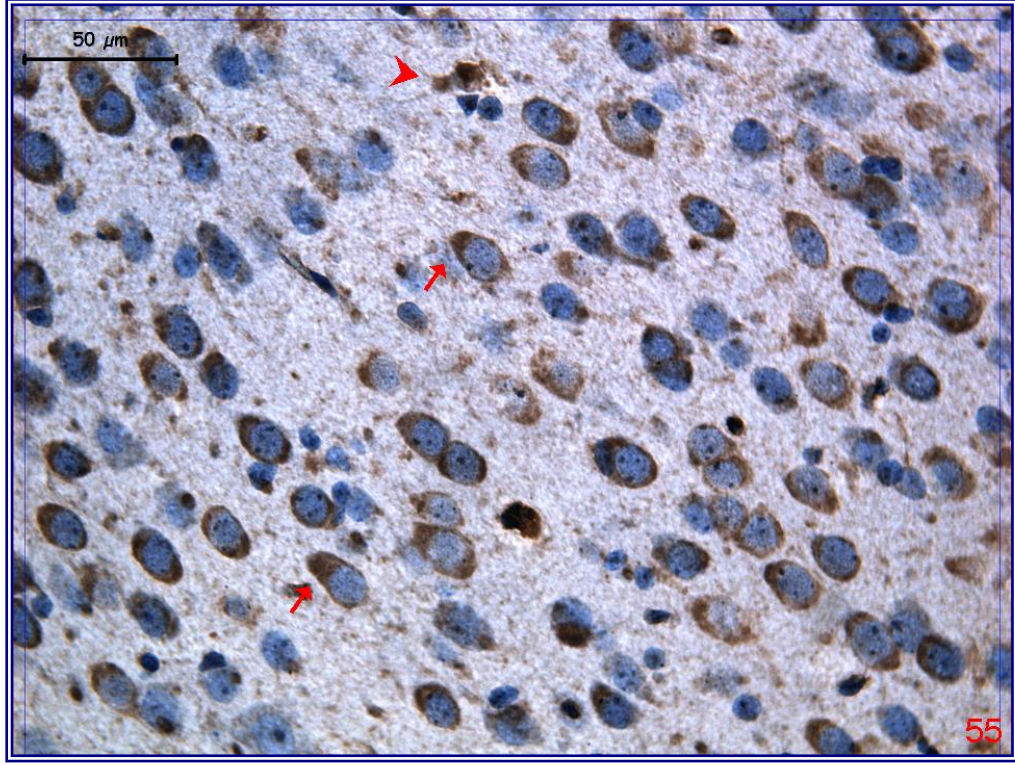
Resim 52: Hipoksi -Doğum sonrası 7. Gün (Grup 2) Ak katman- MBP primer antikoru, ►:Gliyal hücre, +: Miyelinli aksonlar (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



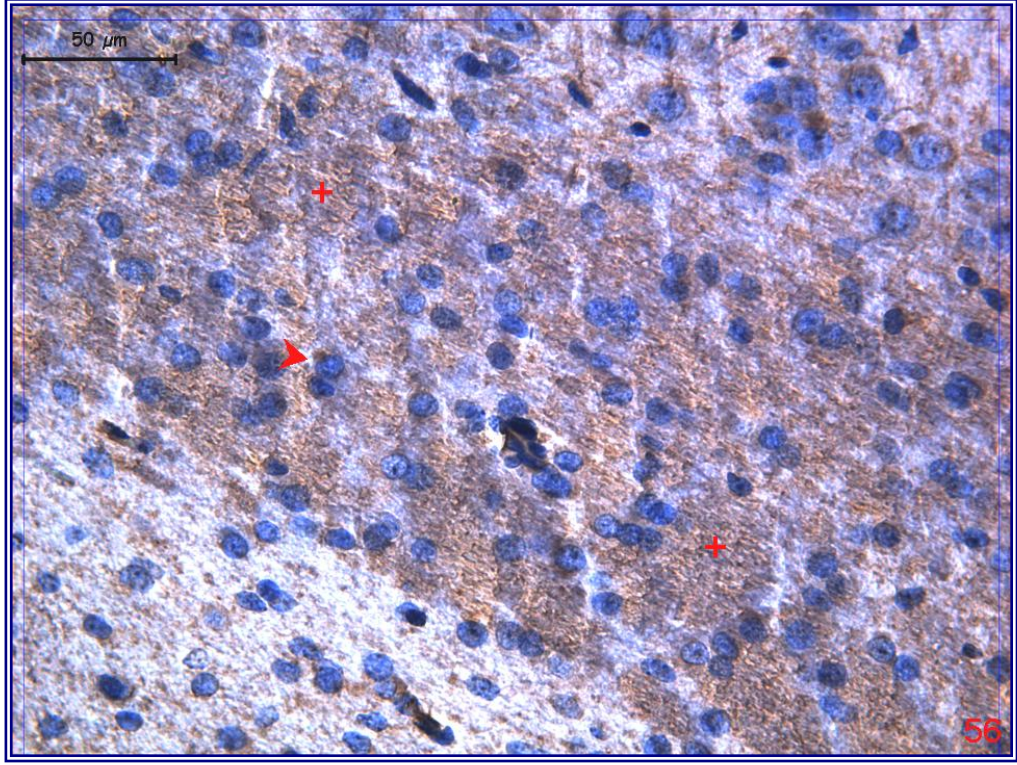
Resim 53: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 7. Gün (Grup 3) Frontal alan - MBP primer antikoru, →:Nöron, ➤:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



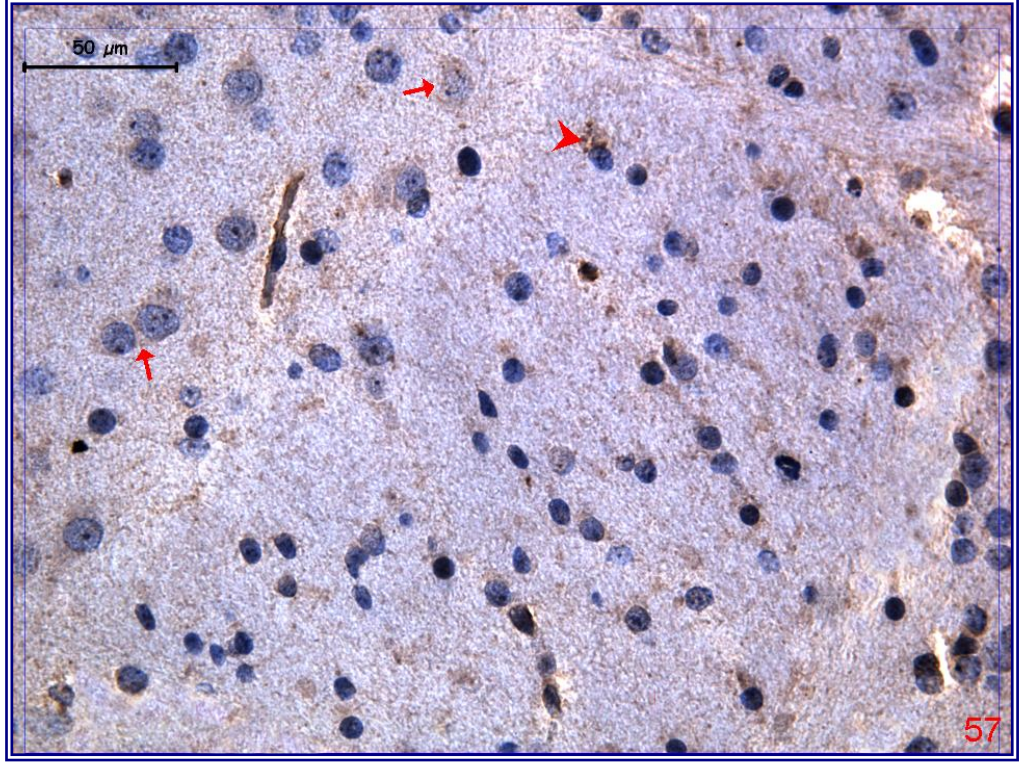
Resim 54: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 7. Gün (Grup 3) Ak katman- MBP primer antikoru, ➤:Gliyal hücre, +: Miyelinli aksonlar (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



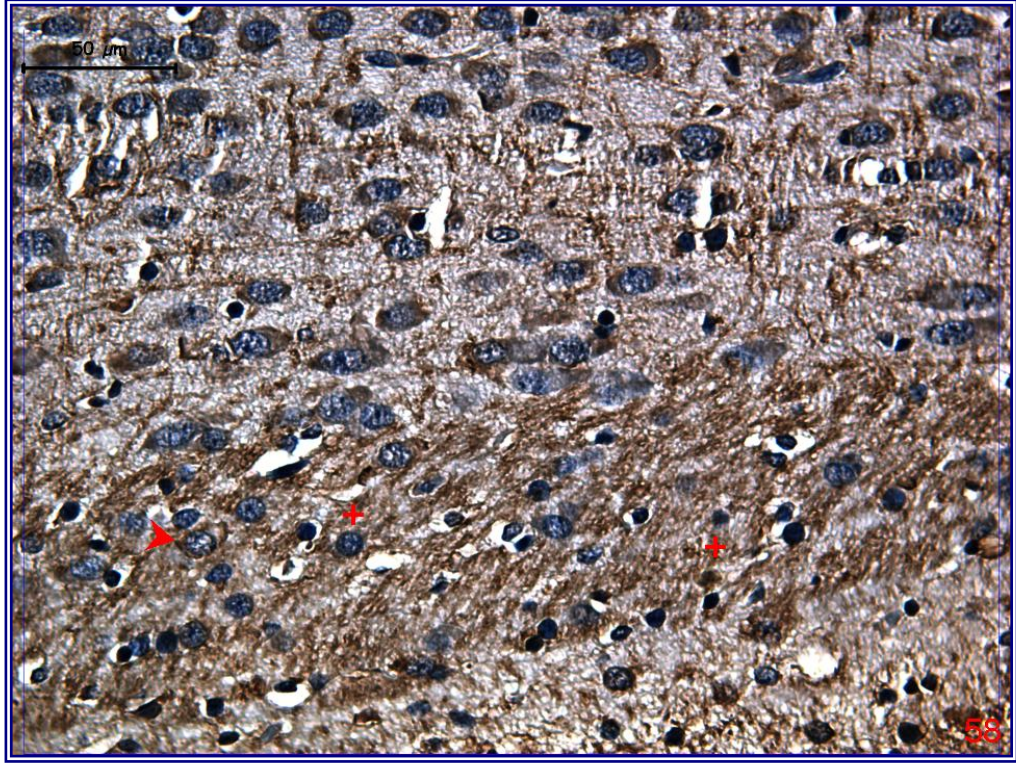
Resim 55: 14. Gün Kontrol (Grup 4) Frontal Alan- MBP primer antikoru, →:Nöron, ►: Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



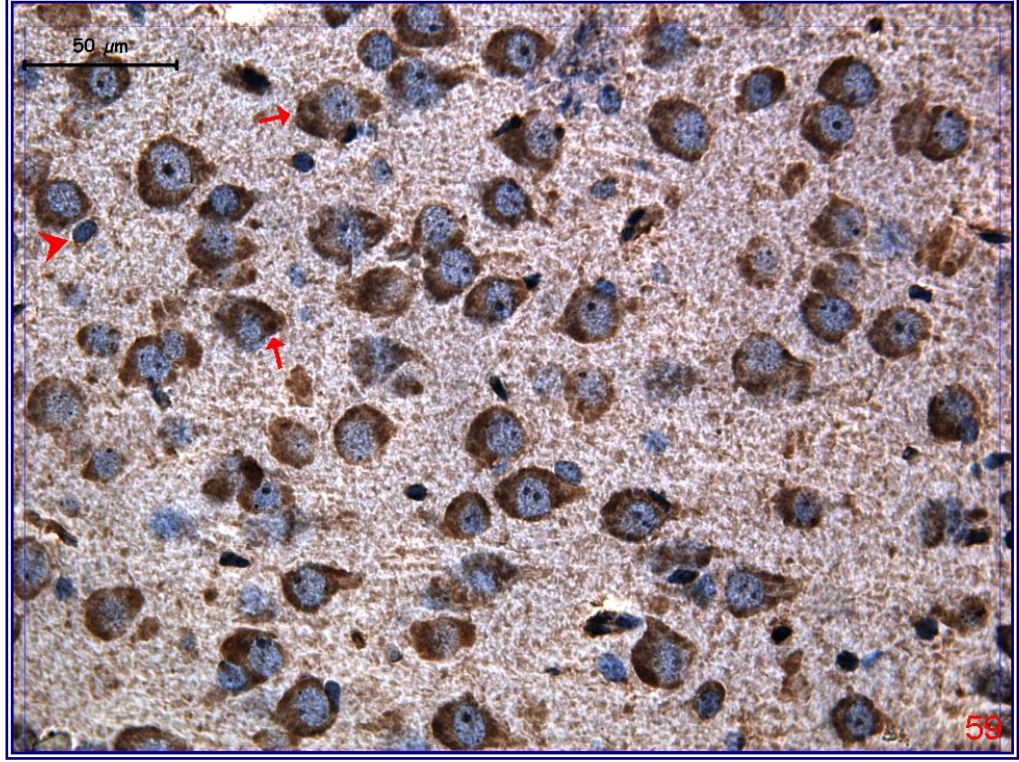
Resim 56: 14. Gün Kontrol (Grup 4) Ak katman- MBP primer antikoru, ➤:Gliyal hücre,+: Miyelinli aksonlar (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



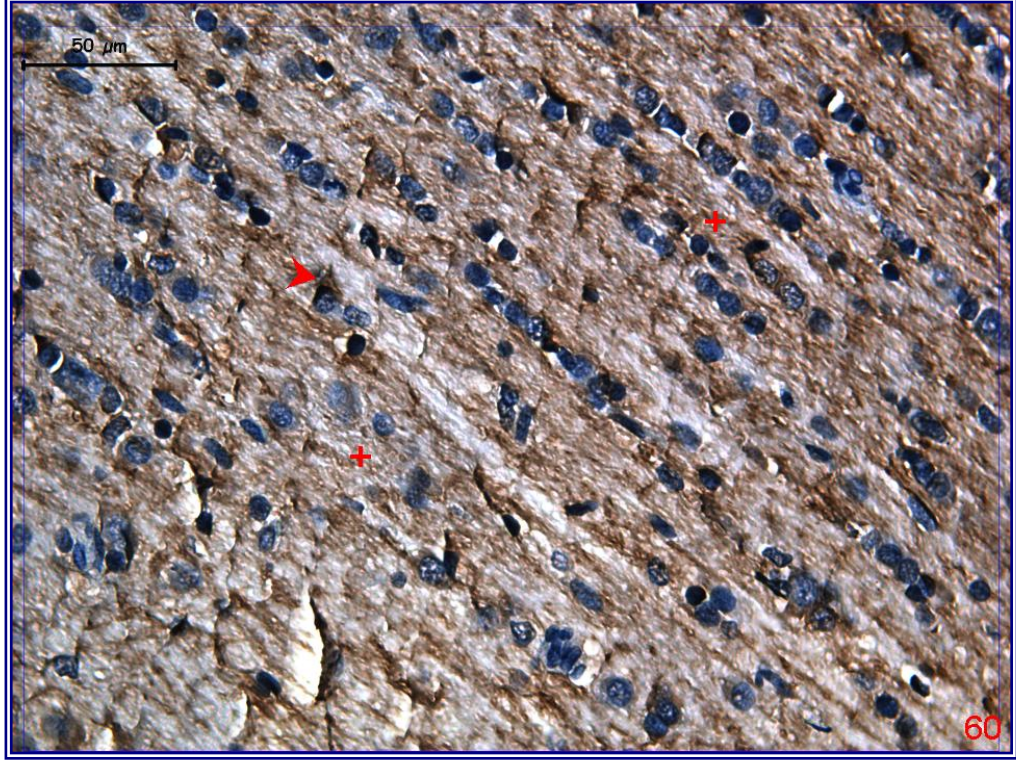
Resim 57: Hipoksi -Doğum sonrası 14. Gün (Grup 5) Frontal alan - MBP primer antikoru, →: Nöron, ➤: Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).



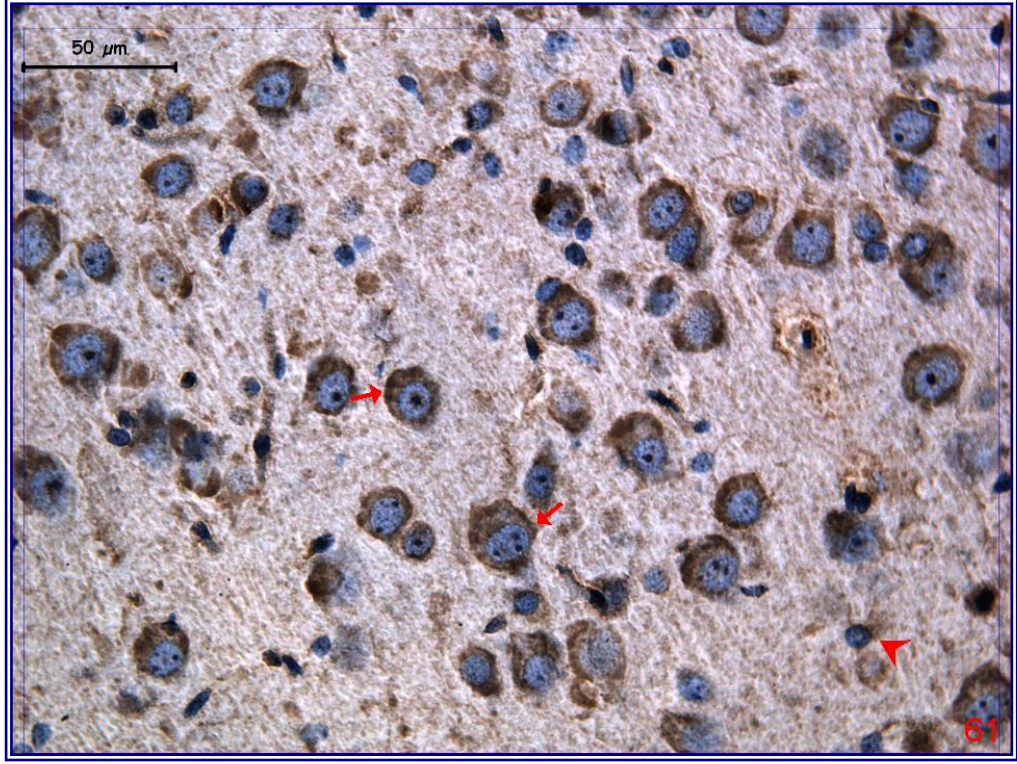
Resim 58: Hipoksi -Doğum sonrası 14. Gün (Grup 5) Ak katman- MBP primer antikoru, ➤:Gliyal hücre,+: Miyelinli aksonlar (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).



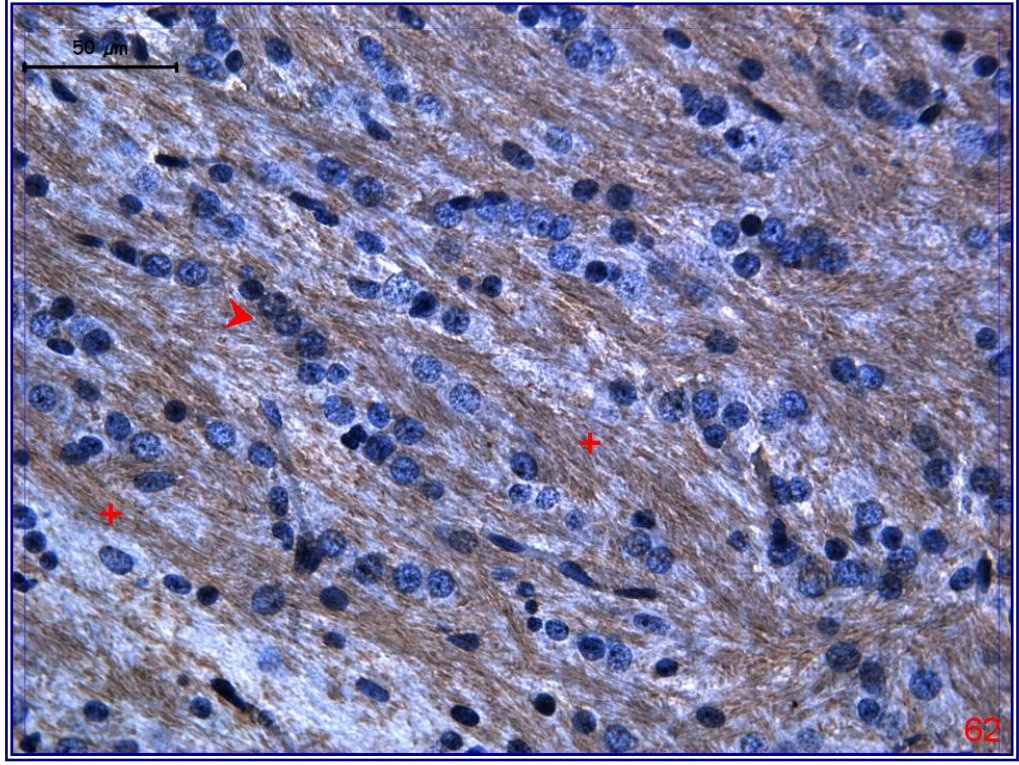
Resim 59: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 14. Gün (Grup 6) Frontal alan- MBP primer antikoru, →:Nöron, ➤: Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



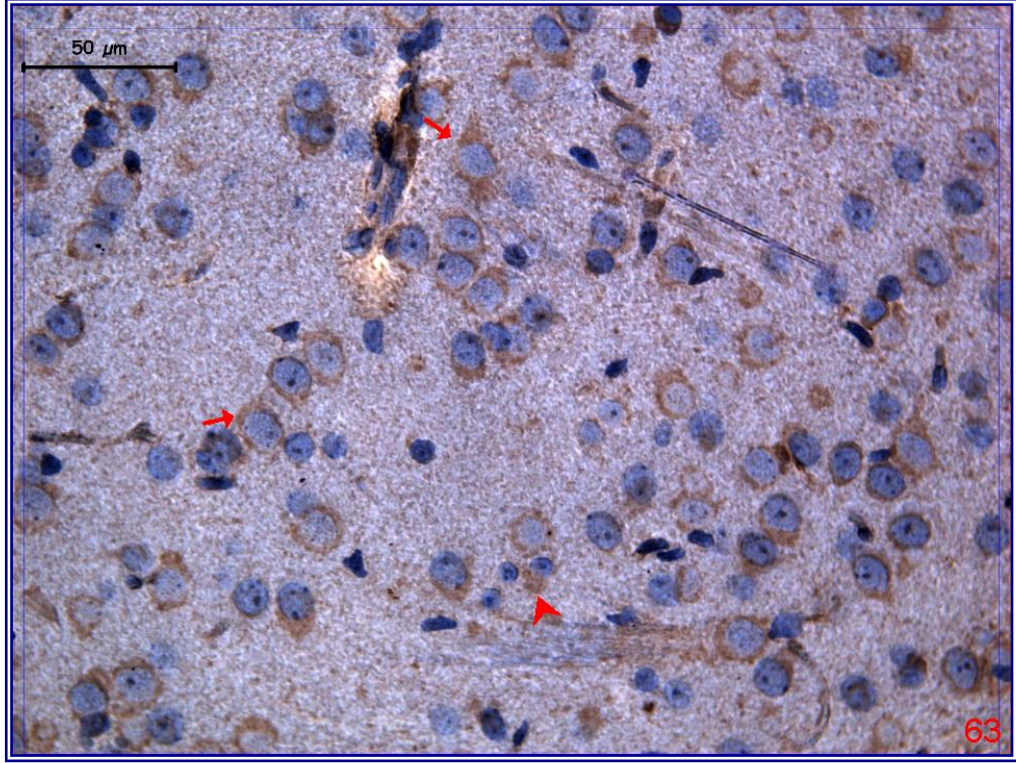
Resim 60: Hipoksi + *Ginkgo biloba* Doğum sonrası 14. Gün (Grup 6) Ak katman- MBP primer antikoru, ➤: Gliyal hücre, +: Miyelinli aksonlar (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



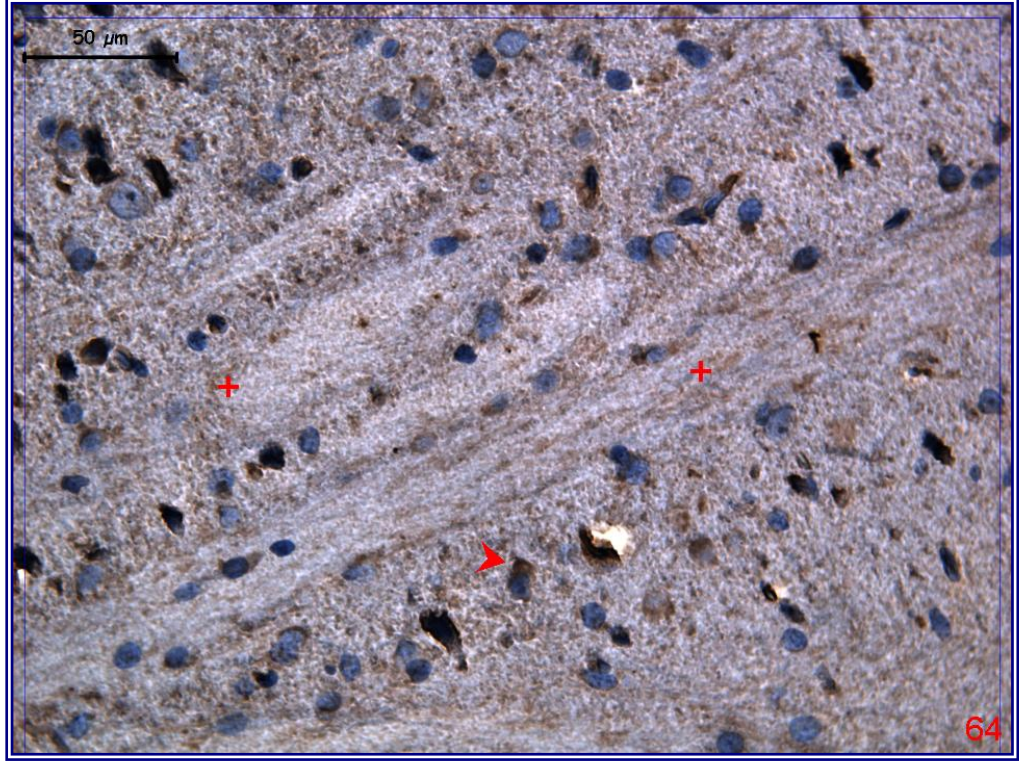
Resim 61: 21. Gün Kontrol (Grup 7) Frontal Alan-MBP primer antikoru, →:Nöron, ►:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



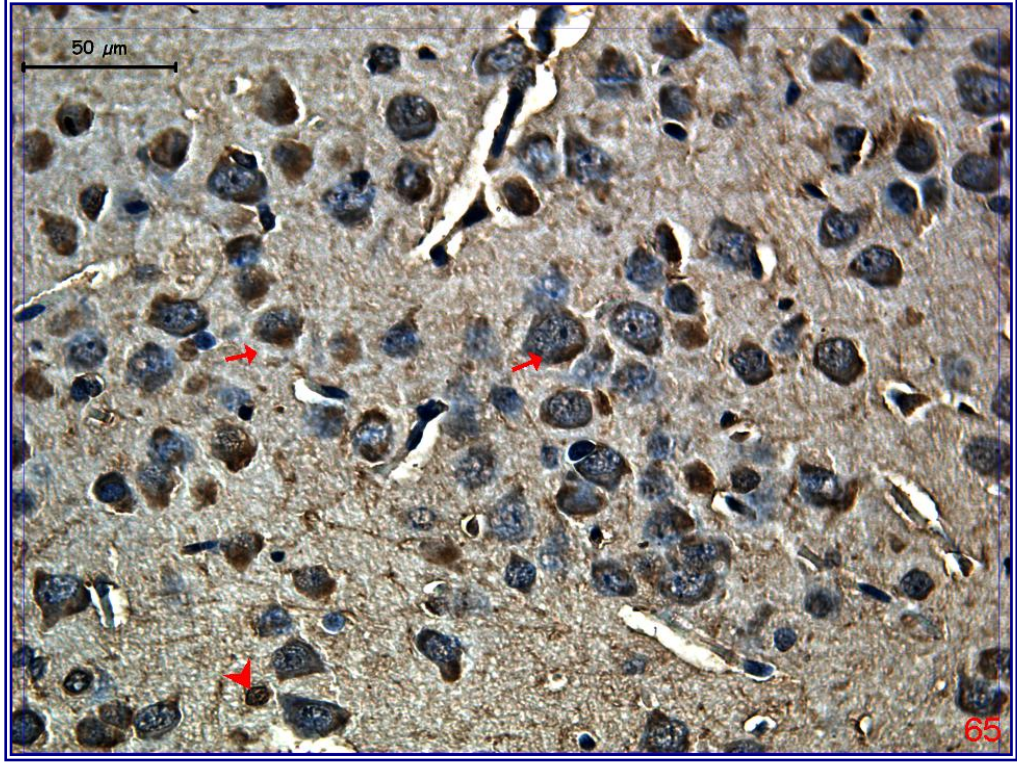
Resim 62: 21. Gün Kontrol (Grup 7) Ak katman- MBP primer antikoru, ➤: Gliyal hücre, +: Miyelinli aksonlar (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



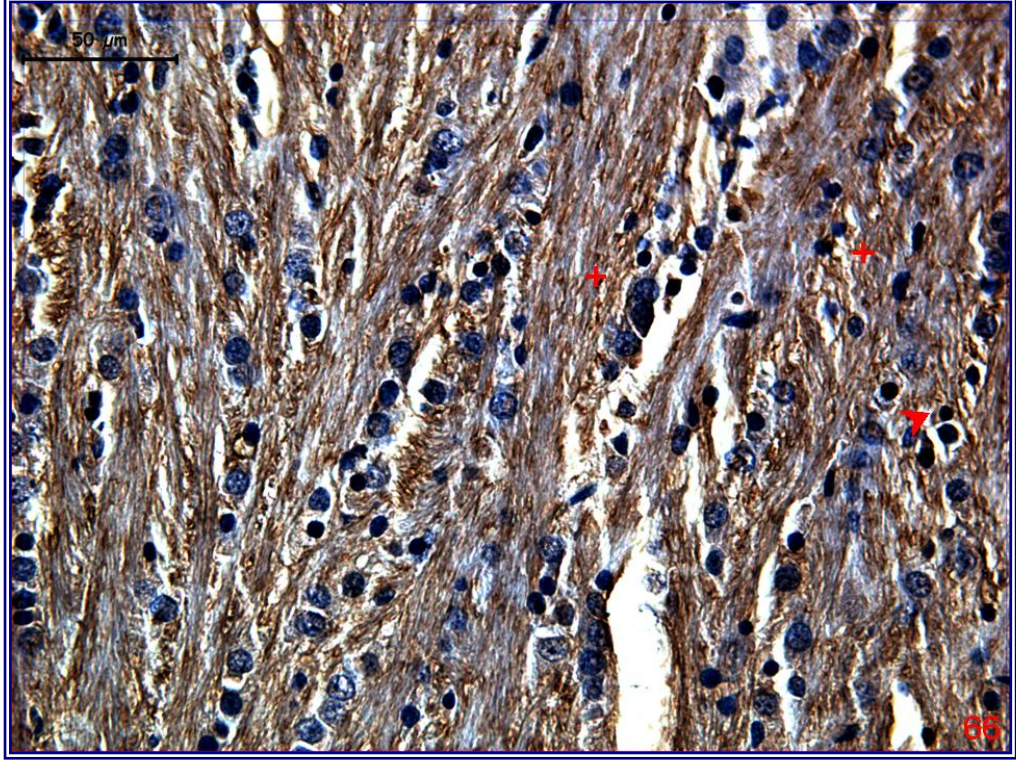
Resim 63: Hipoksi -Doğum sonrası 21. Gün (Grup 8) Ak katman- MBP primer antikor, →:Nöron, ➤:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).



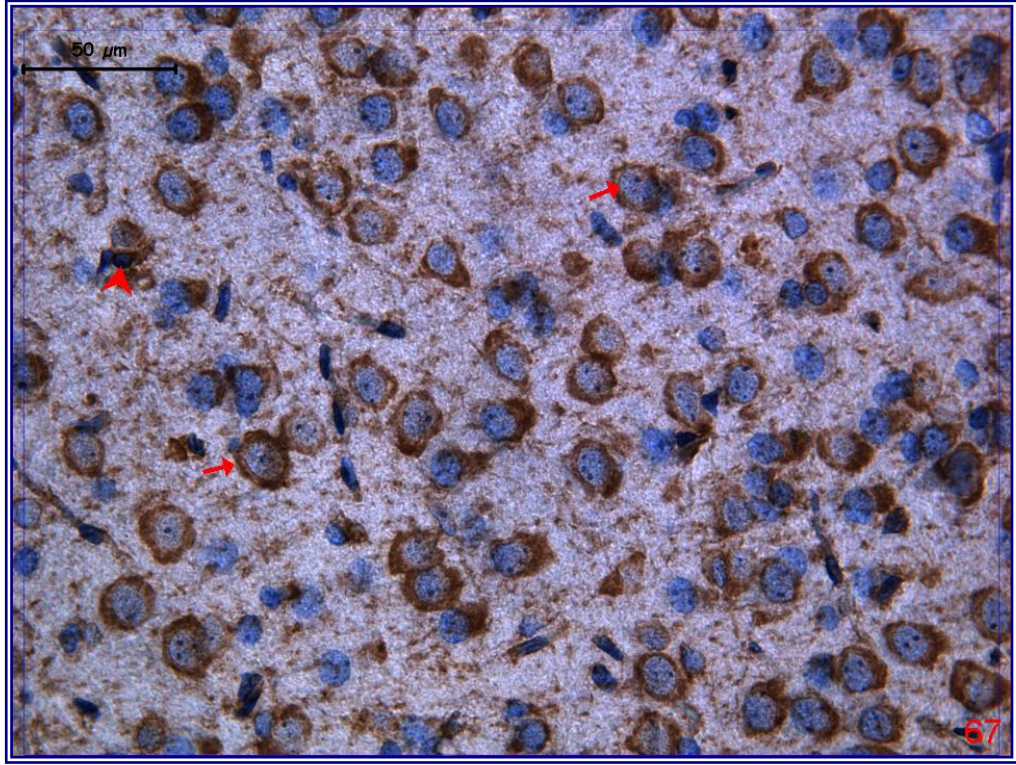
Resim 64: Hipoksi - Doğum sonrası 21. Gün (Grup 8) Frontal alan- MBP primer antikoru, ➤: Gliyal hücre, +: Miyelinli aksonlar (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



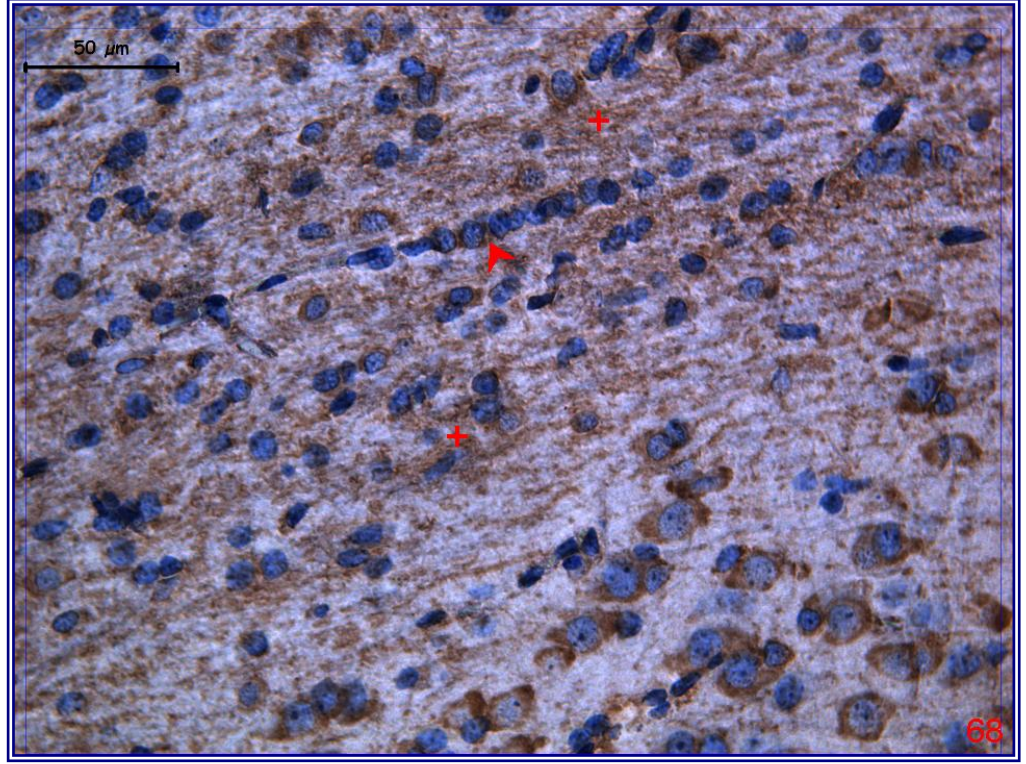
Resim 65: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 21. Gün (Grup 9)
Frontal alan- MBP primer antikoru, →:Nöron, ➤:Gliyal hücre.
(İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



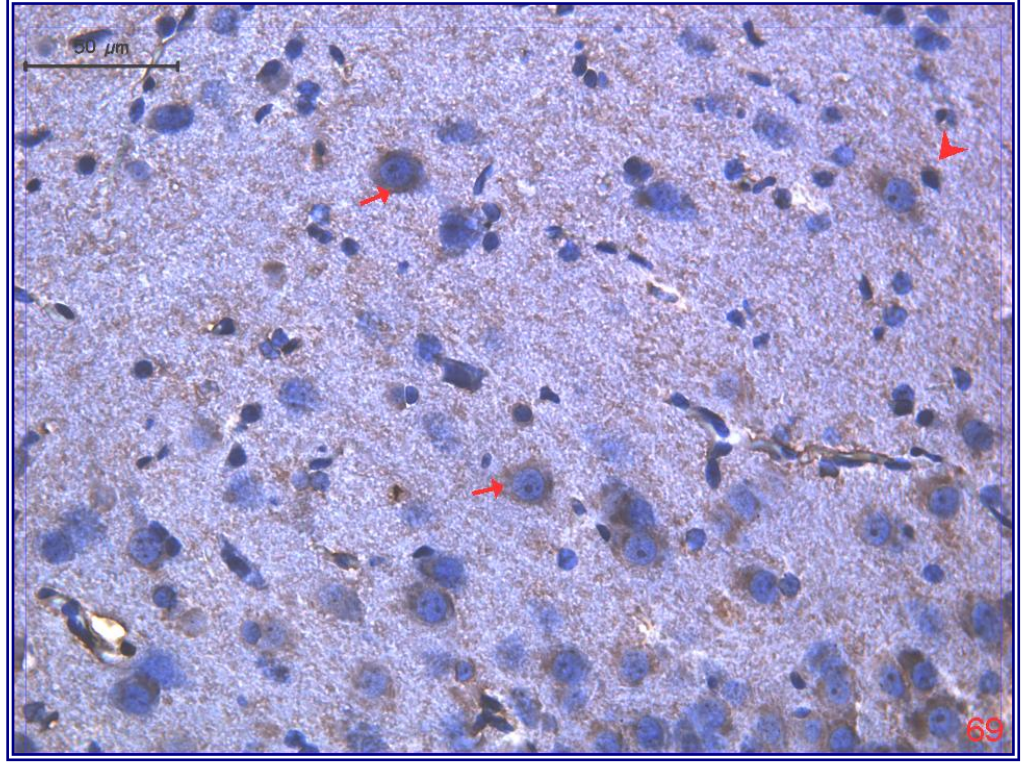
Resim 66: Hipoksi + *Gingko biloba* Doğum sonrası 21. Gün (Grup 9) Ak katman- MBP primer antikoru, ➤: Gliyal hücre, +: Miyelinli aksonlar (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



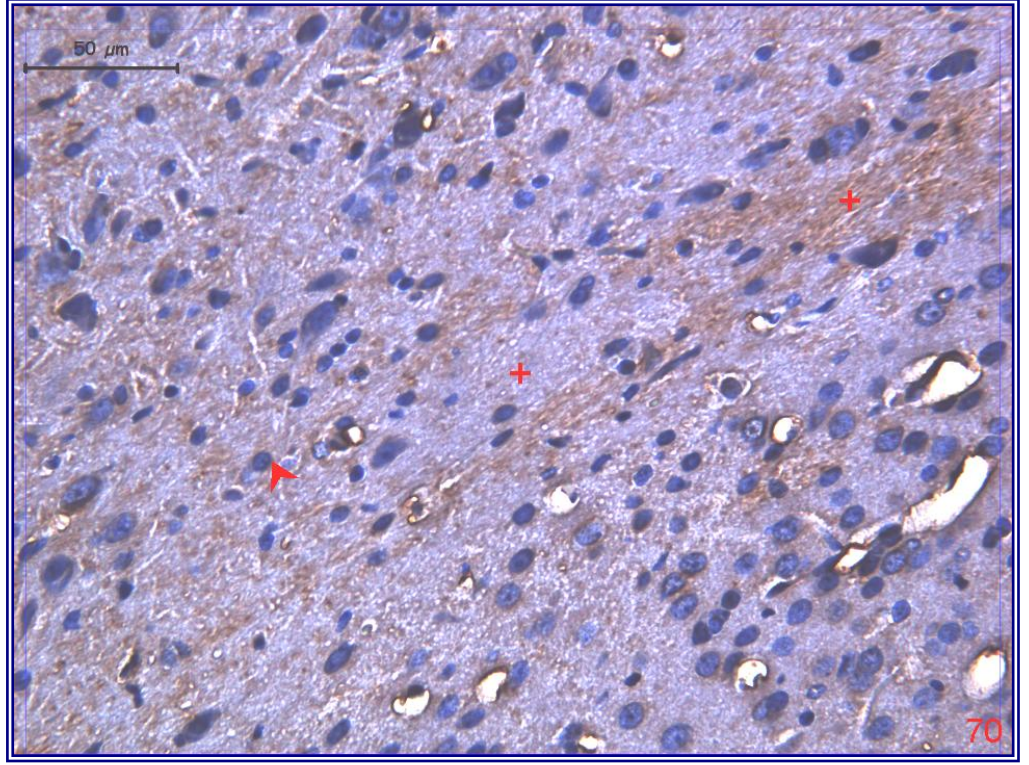
Resim 67: 28. Gün Kontrol (Grup 10) Frontal Alan- MBP primer antikoru, →:Nöron, ➤:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



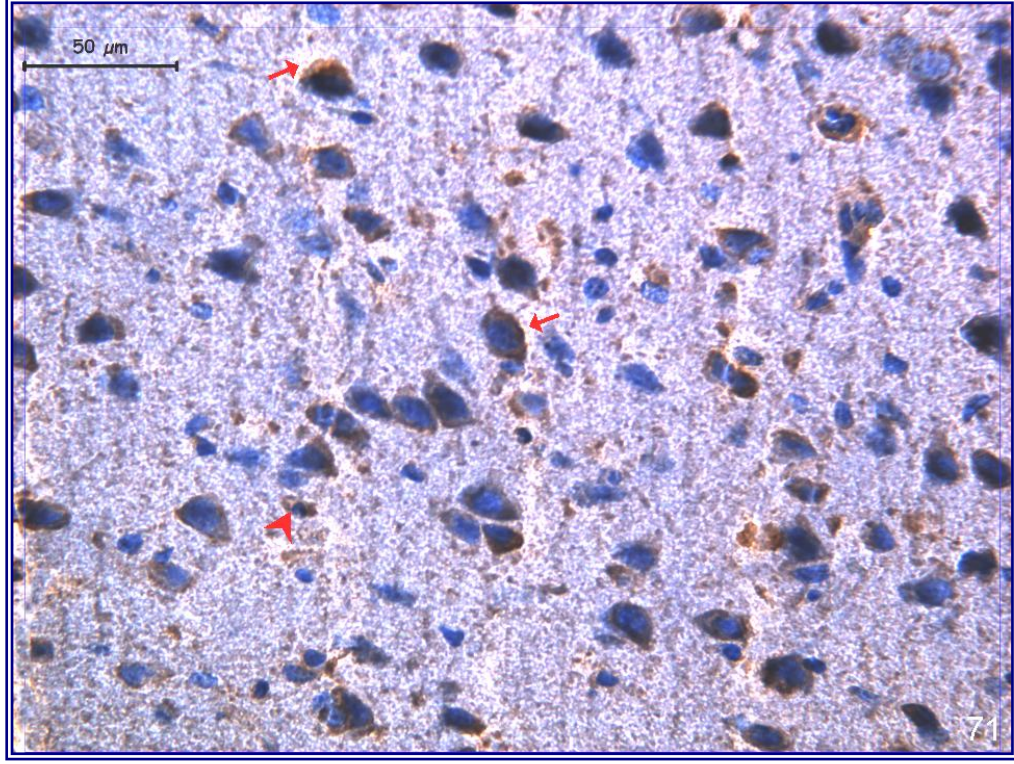
Resim 68: 28. Gün Kontrol (Grup 10) Ak katman- MBP primer antikor, ➤: Gliyal hücre, +: Miyelinli aksonlar (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



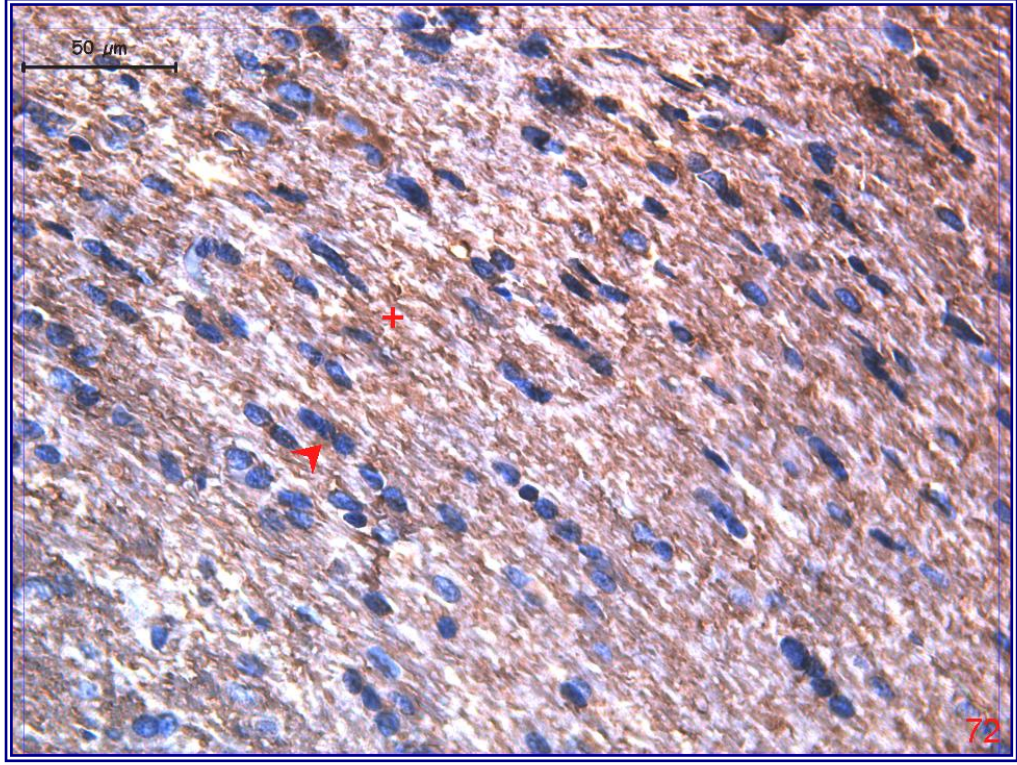
Resim 69: Hipoksi -Doğum sonrası 28. Gün (Grup 11) Ak katman-MBP primer antikoru, →:Nöron, ➤:Gliyal hücre (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X 400).



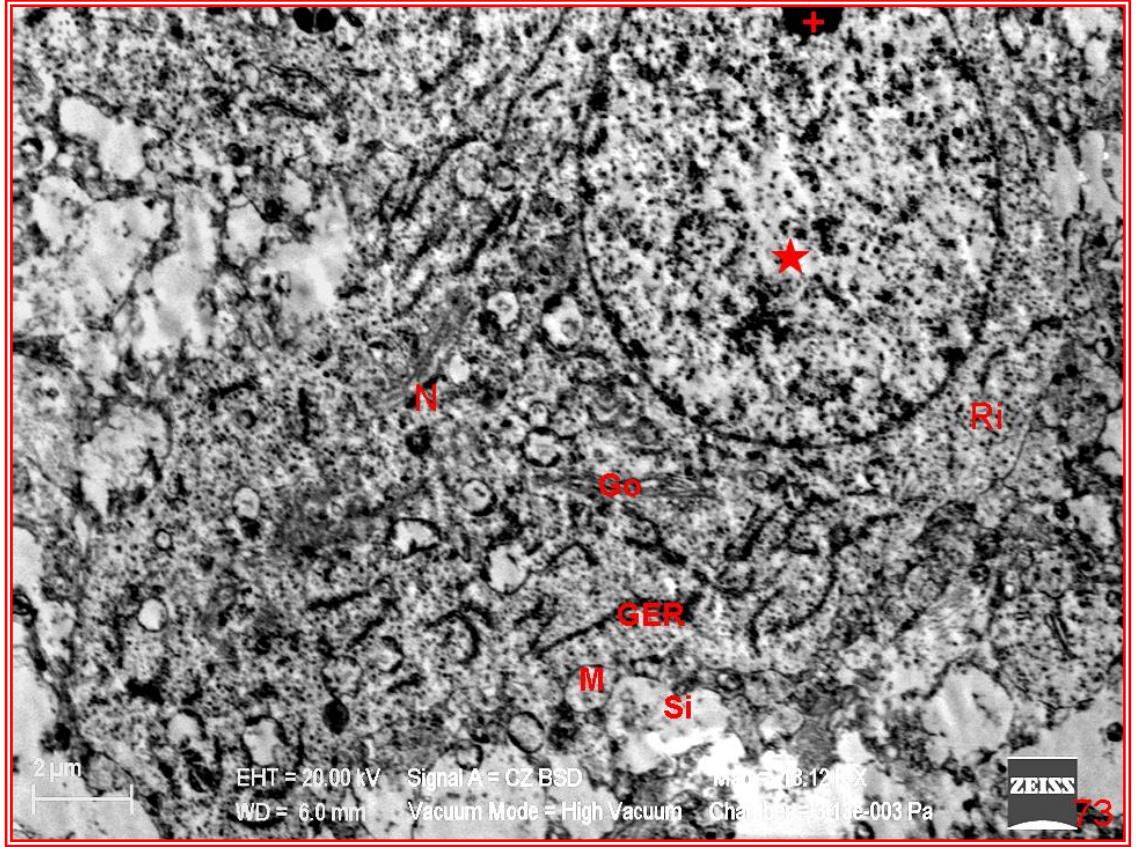
Resim 70: Hipoksi - Doğum sonrası 28. Gün (Grup 11) Frontal alan- Ak katman- MBP primer antikoru, ➤: Gliyal hücre, +: Miyelinli aksonlar (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



Resim 71: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 28. Gün (Grup 12) Frontal alan- MBP primer antikoru, →:Nöron, ►:Gliyal hücre. (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



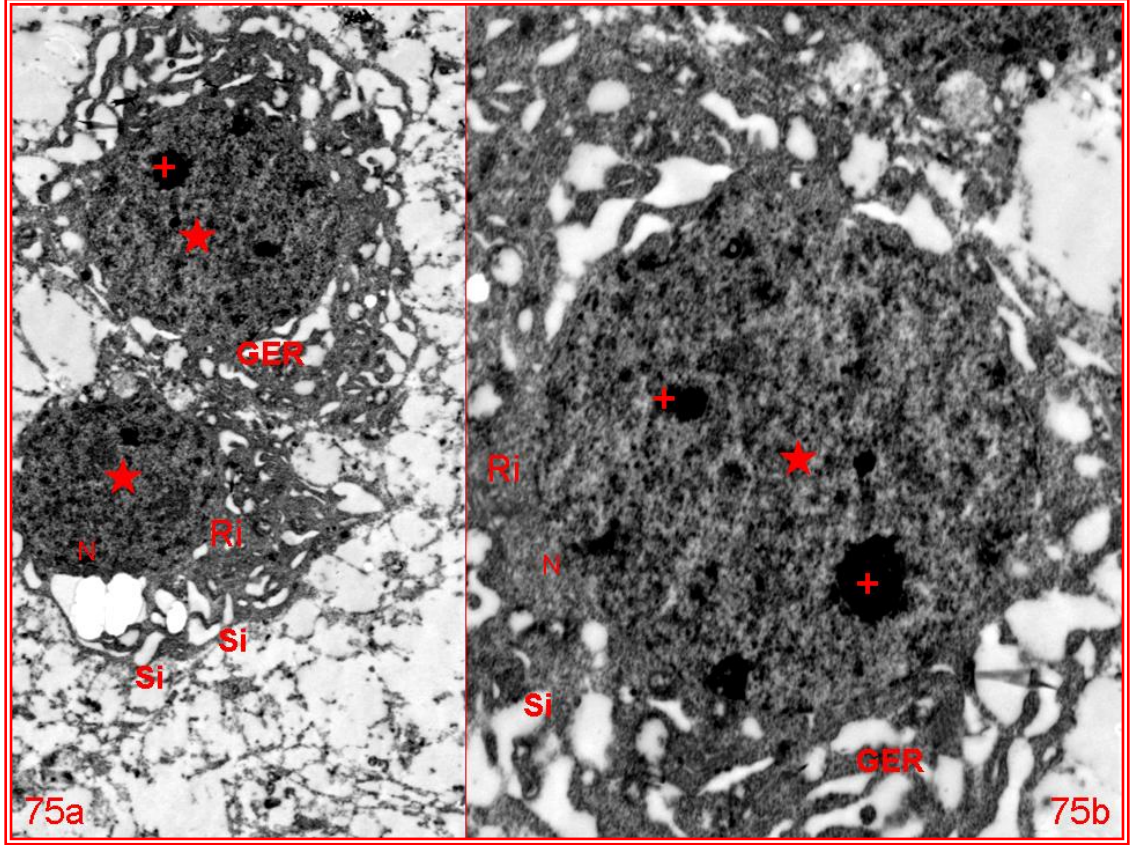
Resim 72: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 28. Gün (Grup 12) Ak katman- MBP primer antikoru, ➤: Gliyal hücre, +: Miyelinli aksonlar (İmmünperoksidaz& Hematoksilen X400).



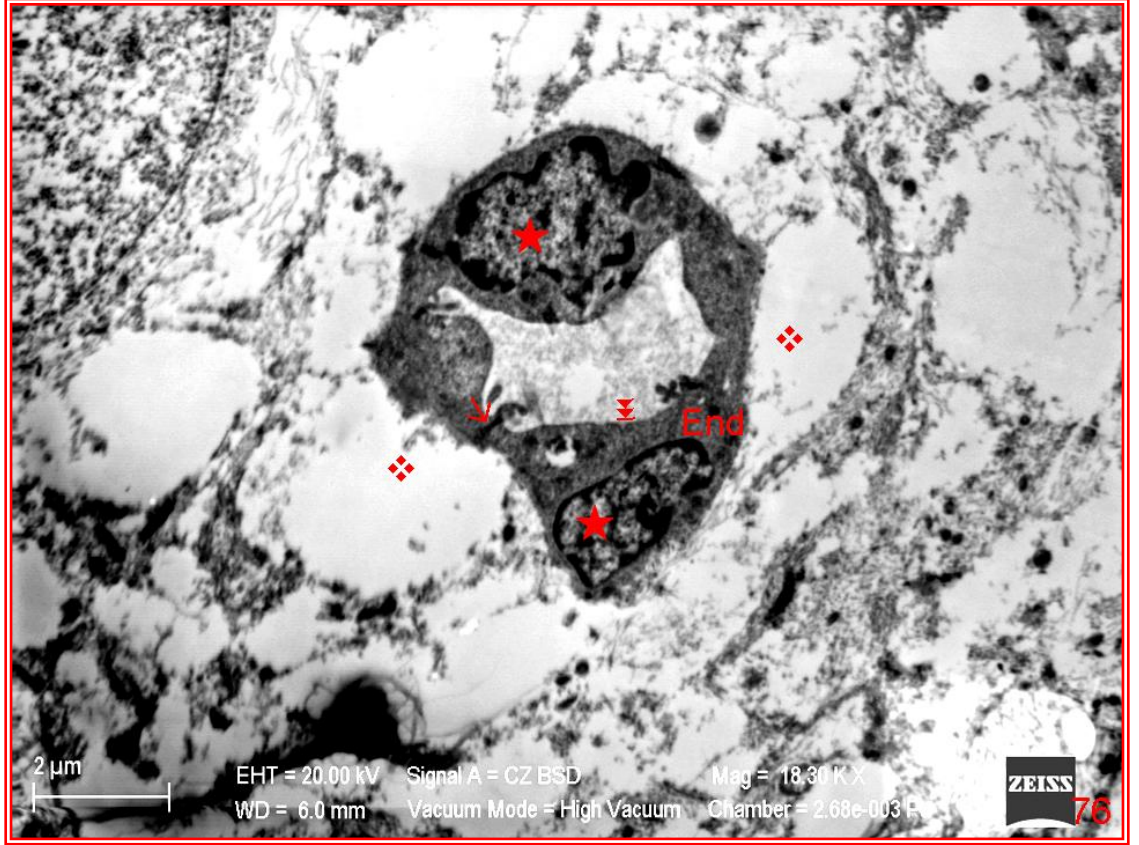
Resim 73: 7 Gün Kontrol (Grup 1) İnce kesit; N: Nöron, ★: Çekirdek,+ Çekirdekçik, GER; Granüllü endoplamik retikulum, Ri: Ribozom, Go: Golgi kompleksi, M: Mitokondriyon, Si: Sinaptik alan (Uranil Asetat& Kurşun SitratX13.12 KX).



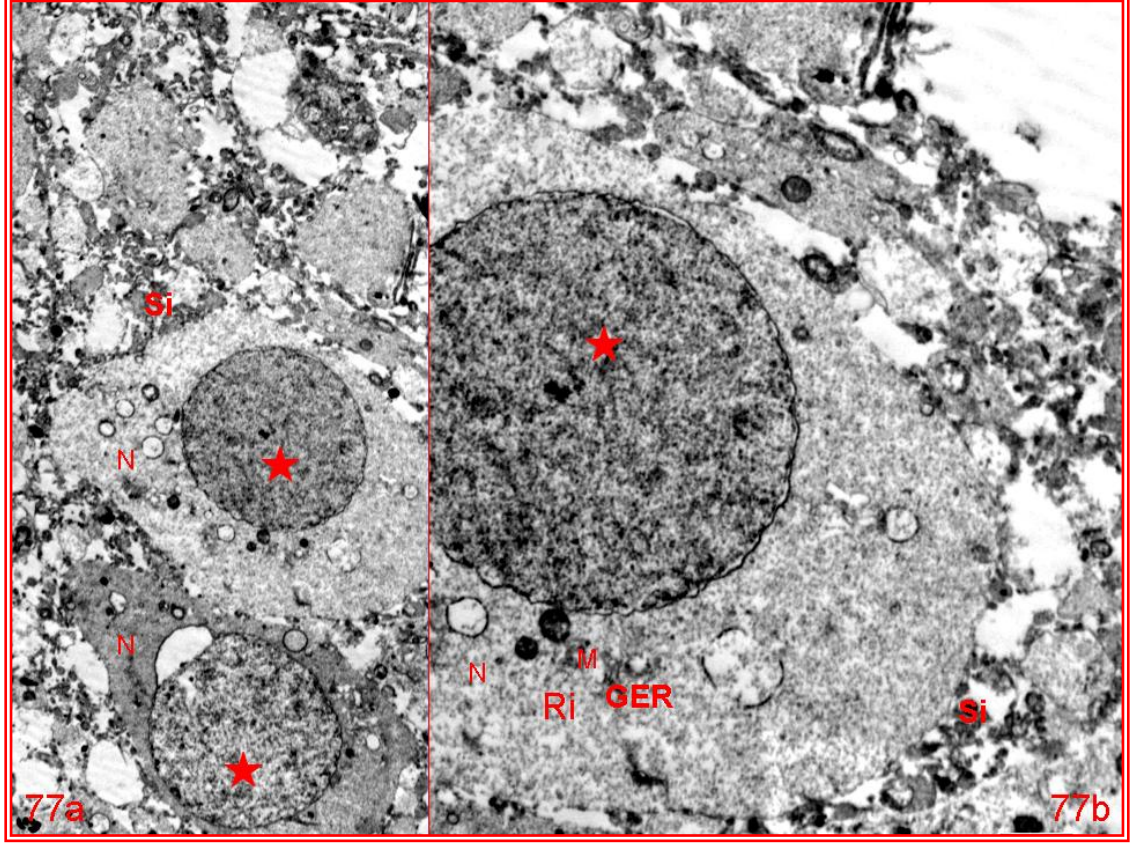
Resim 74: 7 Gün Kontrol (Grup 1)İnce kesit, End: Endotel hücresi, ,★: Çekirdek, ⇨: Pinositotik vezikül, →: Bağlantı birimleri, ❖: Gliyal ayak (Uranil Asetat& Kurşun SitratX18.05 KX).



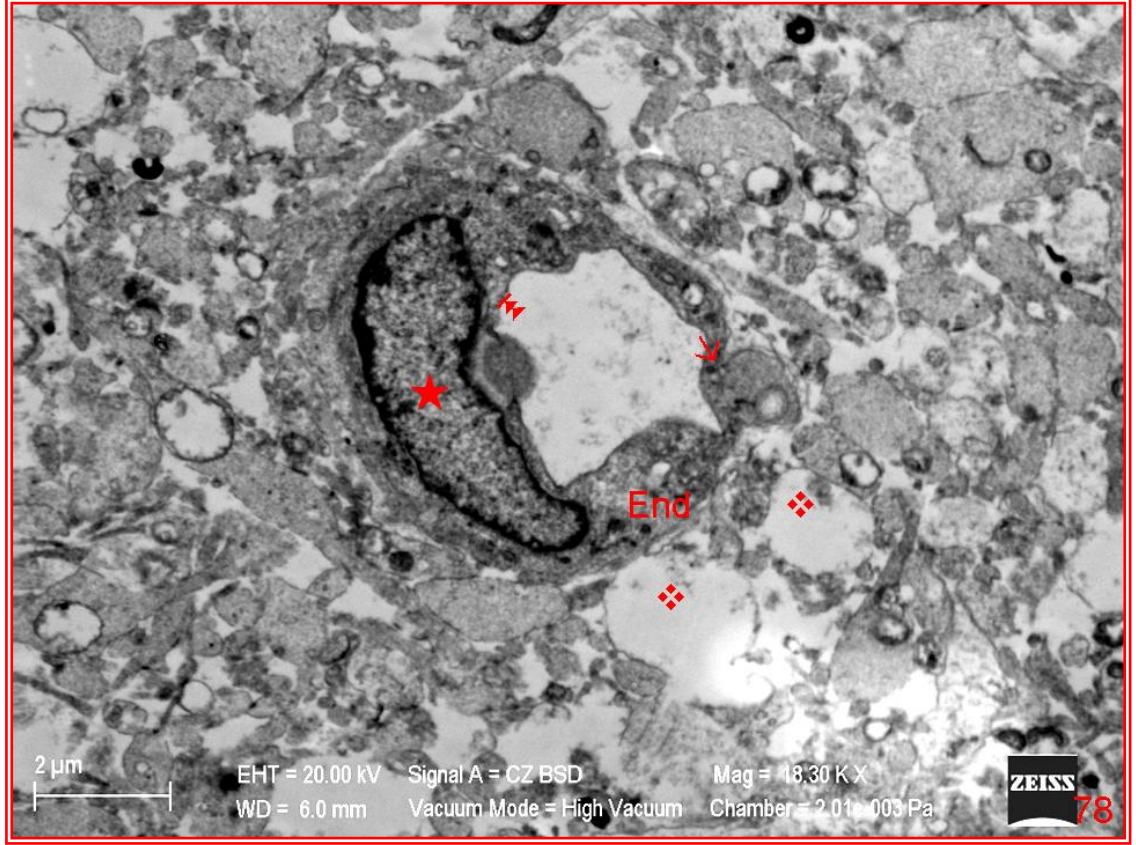
Resim 75: Hipoksi -Doğum sonrası 7. Gün (Grup 2) İnce kesit; N: Nöron, ★: Çekirdek,+ Çekirdekçik, GER; Granüllü endoplamik retikulum, Ri: Ribozom, Go: Golgi kompleksi, M: Mitokondriyon, Si: Sinaptik alan (Uranil Asetat& Kurşun Sitrata 75 aX5.11 KX- 75b-11.11 KX).



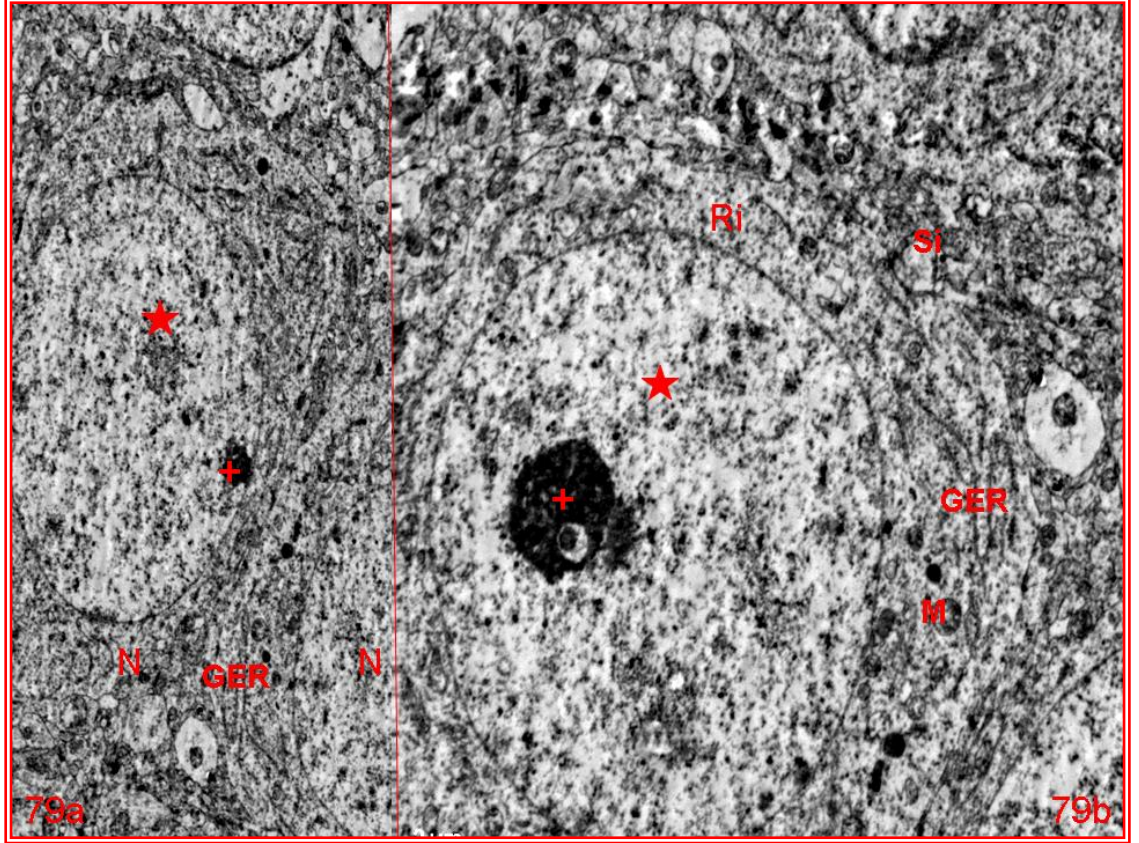
Resim 76: Hipoksi -Doğum sonrası 7. Gün (Grup 2) İnce kesit, End: Endotel hücresi, ★: Çekirdek, ►: Pinositotik vezikül, →: Bağlantı birimleri, ♦: Gliyal ayak (Uranil Asetat& Kurşun SitratX18.30 KX).



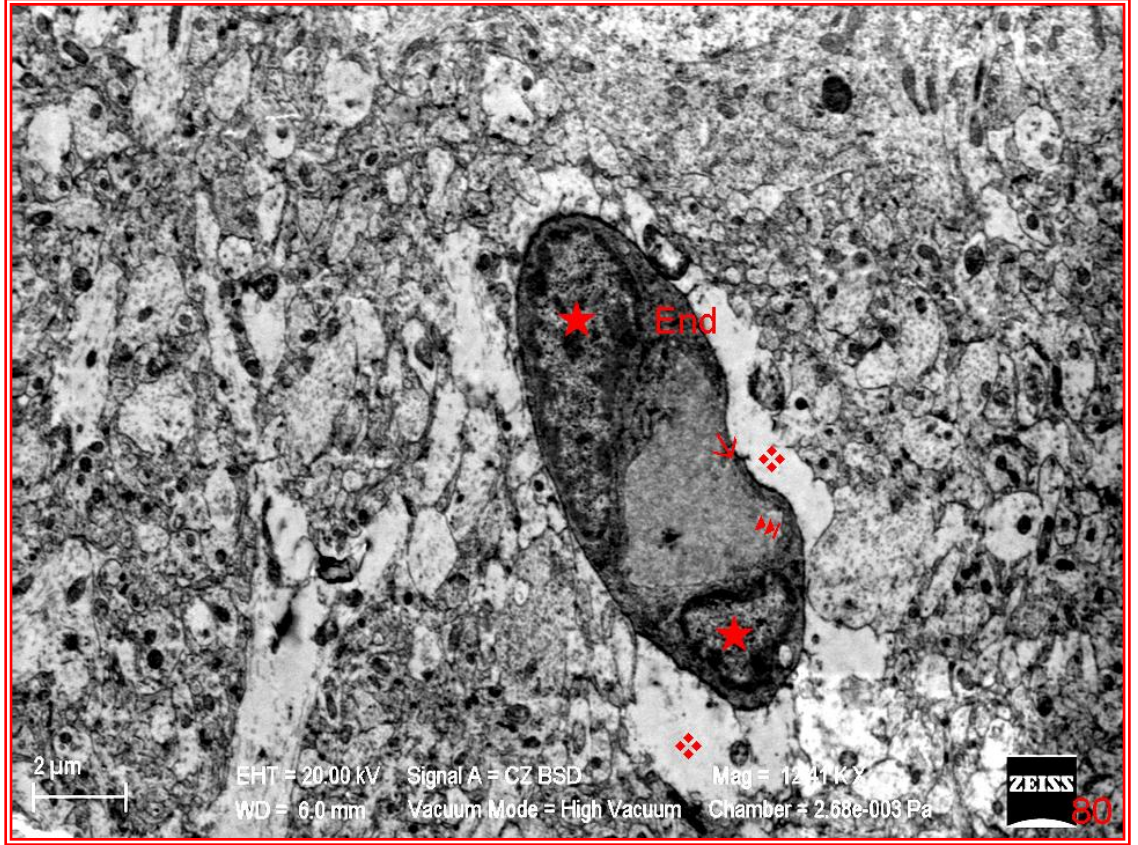
Resim 77: Hipoksi + *Gingko biloba* Doğum sonrası 7. Gün (Grup 3) İnce kesit; N: Nöron, ★: Çekirdek, Si : Sinaptik alan (77a X 5.11 KX), N: Nöron, ★: Çekirdek, GER; Granüllü endoplamik retikulum, Ri: Ribozom, M: Mitokondriyon, Si: Sinaptik alan (Uranil Asetat& Kurşun Sitrat 75b-12.07 KX).



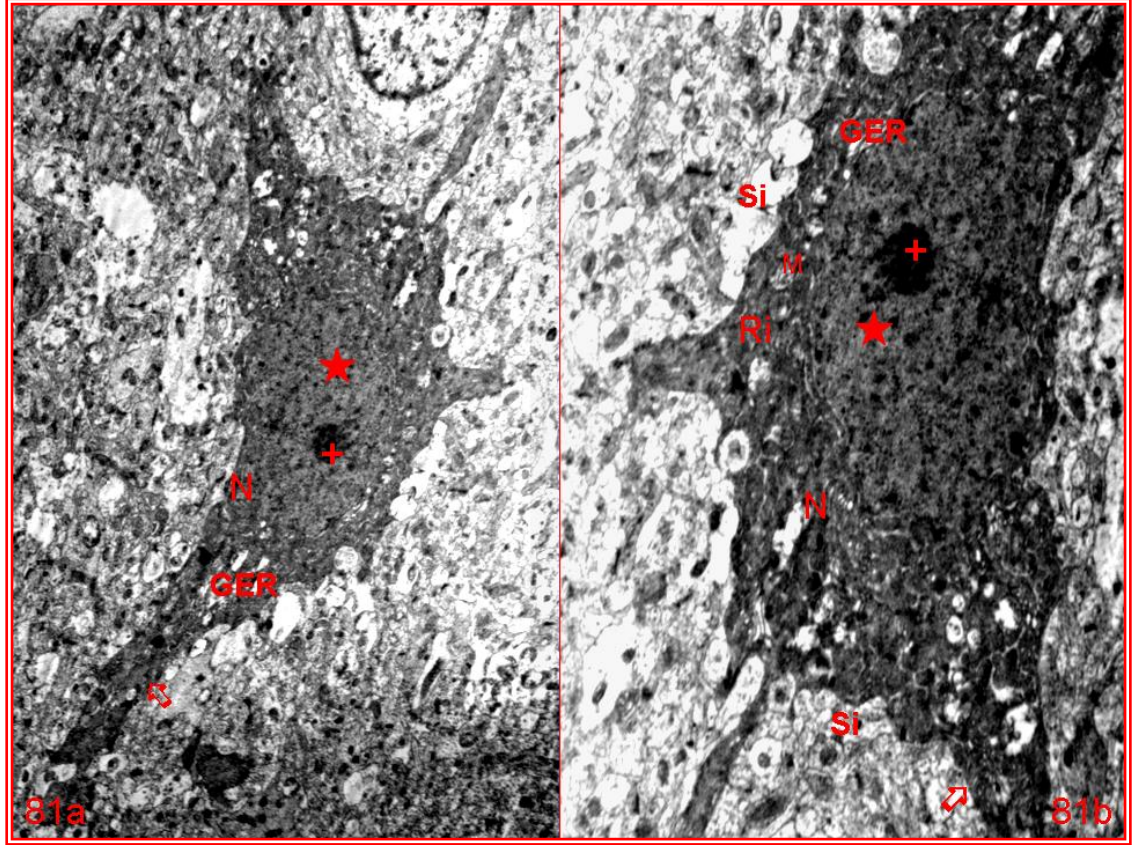
Resim 78: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 7. Gün (Grup 3) İnce kesit, End: Endotel hücresi, ★: Çekirdek, ⇨: Pinositotik vezikül, →: Bağlantı birimleri, ❖: Gliyal ayak (Uranil Asetat& Kurşun Sitrat X18.30 KX).



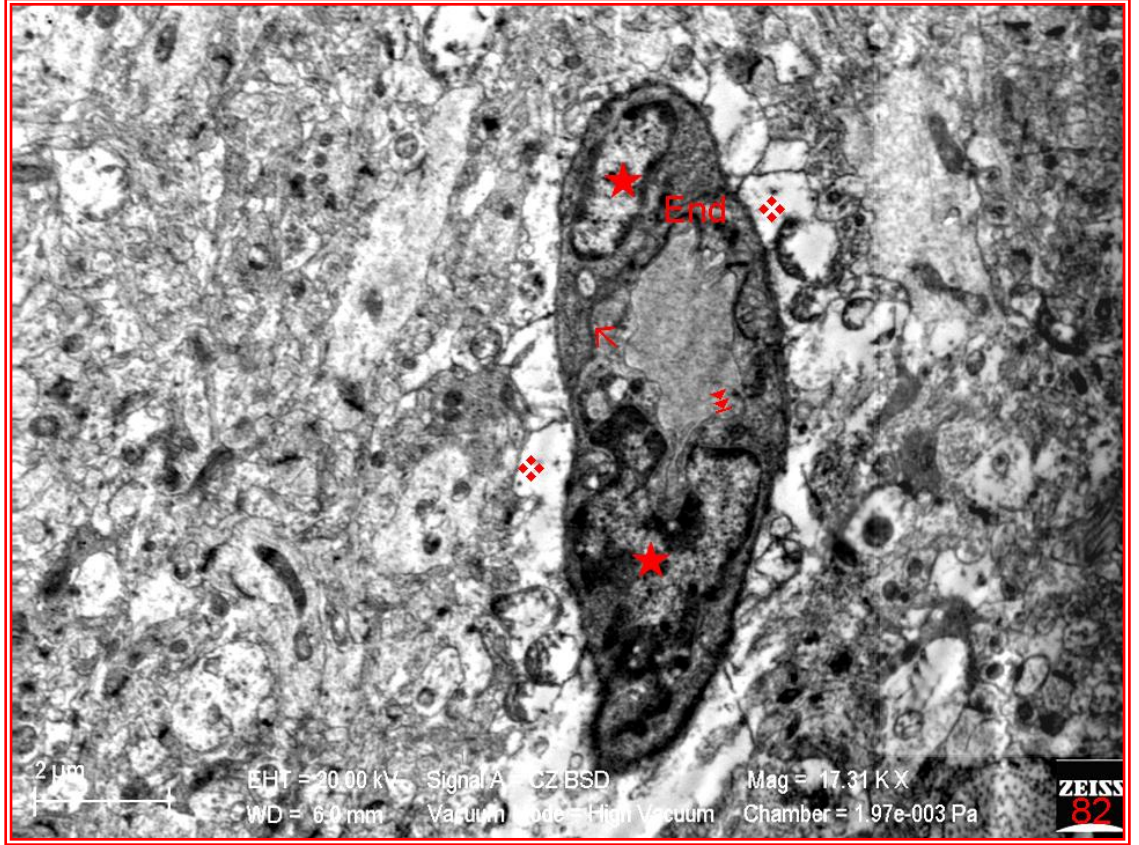
Resim 79: 14. Gün Kontrol (Grup 4) İnce kesit; N: Nöron ,+ Çekirdekçik, GER; Granüllü endoplamik retikulum (79a X 7.23 KX), N: Nöron, ★: Çekirdek, GER; Granüllü endoplamik retikulum, Ri: Ribozom, M: Mitokondriyon, Si: Sinaptik alan (Uranil Asetat& Kurşun Sitrat 77b-13.68 KX).



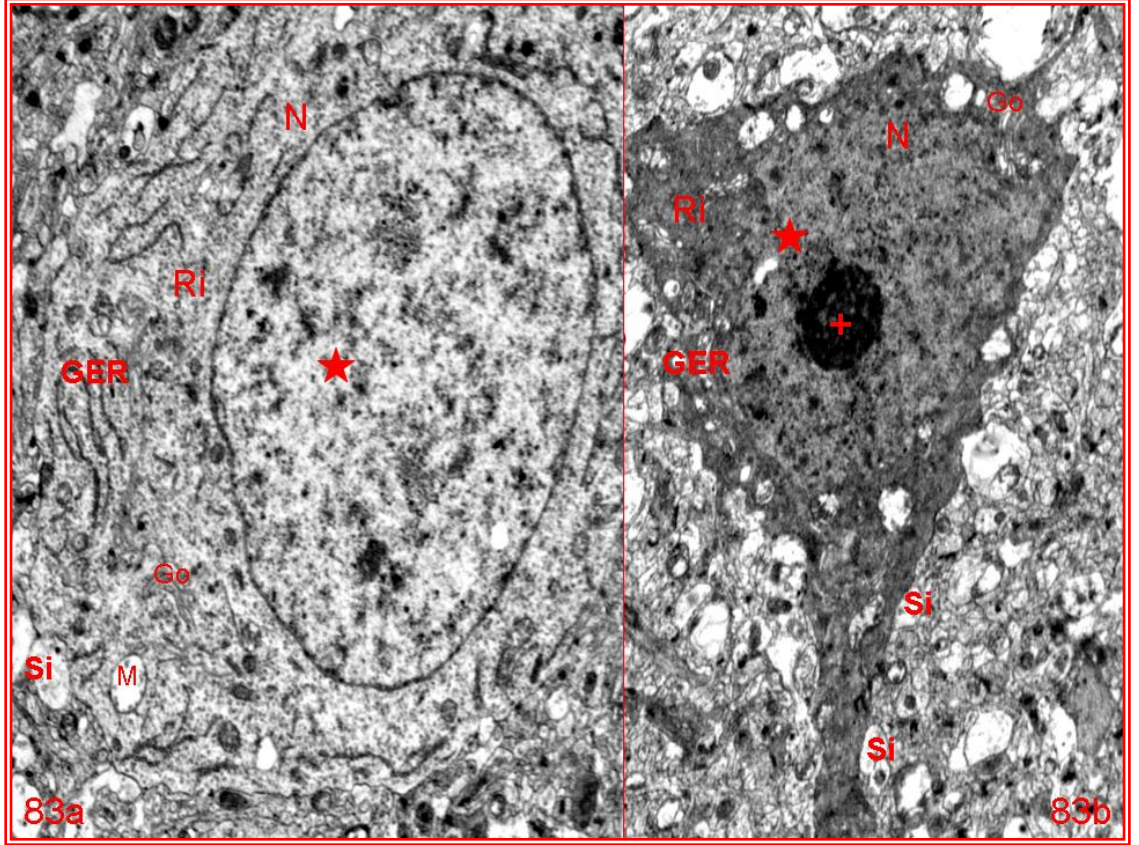
Resim 80: 14. Gün Kontrol (Grup 4) İnce kesit, End: Endotel hücresi, ★: Çekirdek, ►►: Pinositotik vezikül, →: Bağlantı birimleri, ❖: Gliyal ayak (Uranil Asetat& Kurşun SitratX12.41 KX).



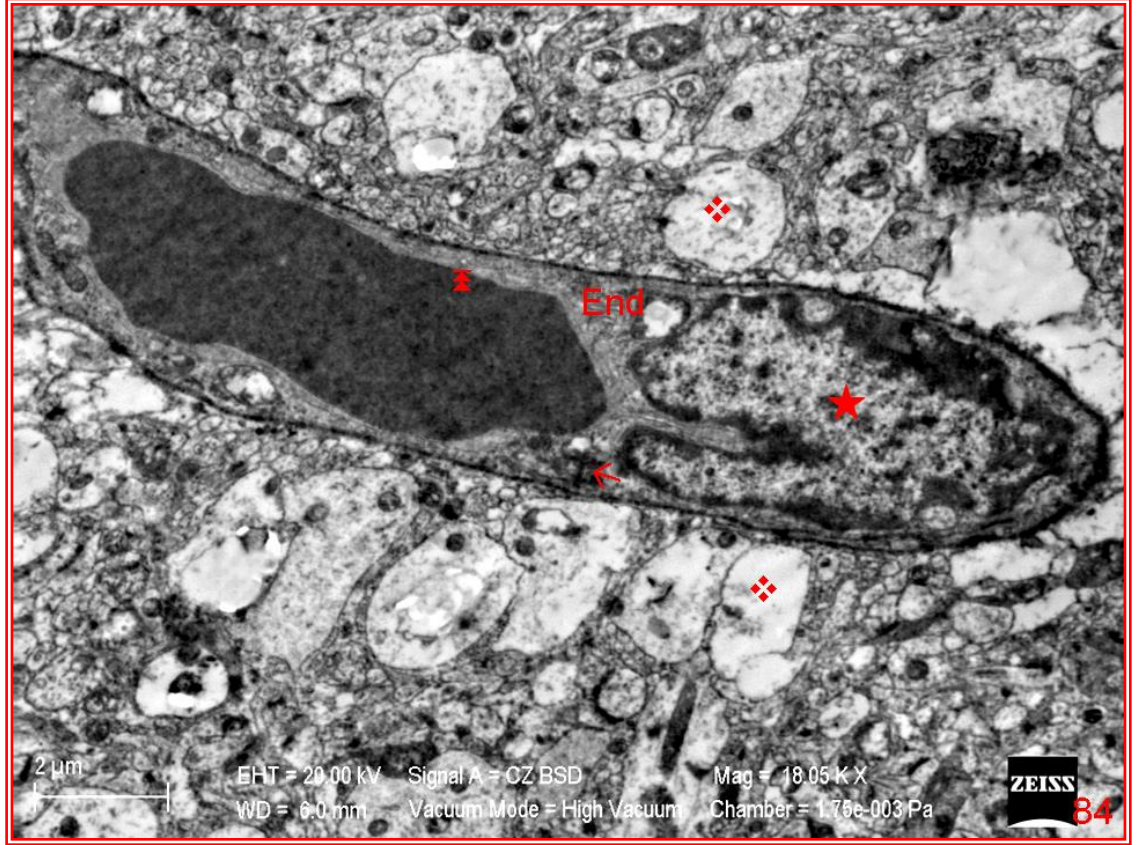
Resim 81: Hipoksi -Doğum sonrası 14. Gün (Grup 5) İnce kesit; N: Nöron , ,★: Çekirdek, +: Çekirdekçik,, GER; Granüllü endoplamik retikulum,⇨: Nöron uzantısı (81a X 8.19 KX), N: Nöron, ★: Çekirdek, GER; Granüllü endoplamik retikulum, Ri: Ribozom, M: Mitokondriyon, Si: Sinaptik alan, ⇨: Nöron uzantısı (Uranil Asetat& Kurşun Sitrat 82b-14.26 KX).



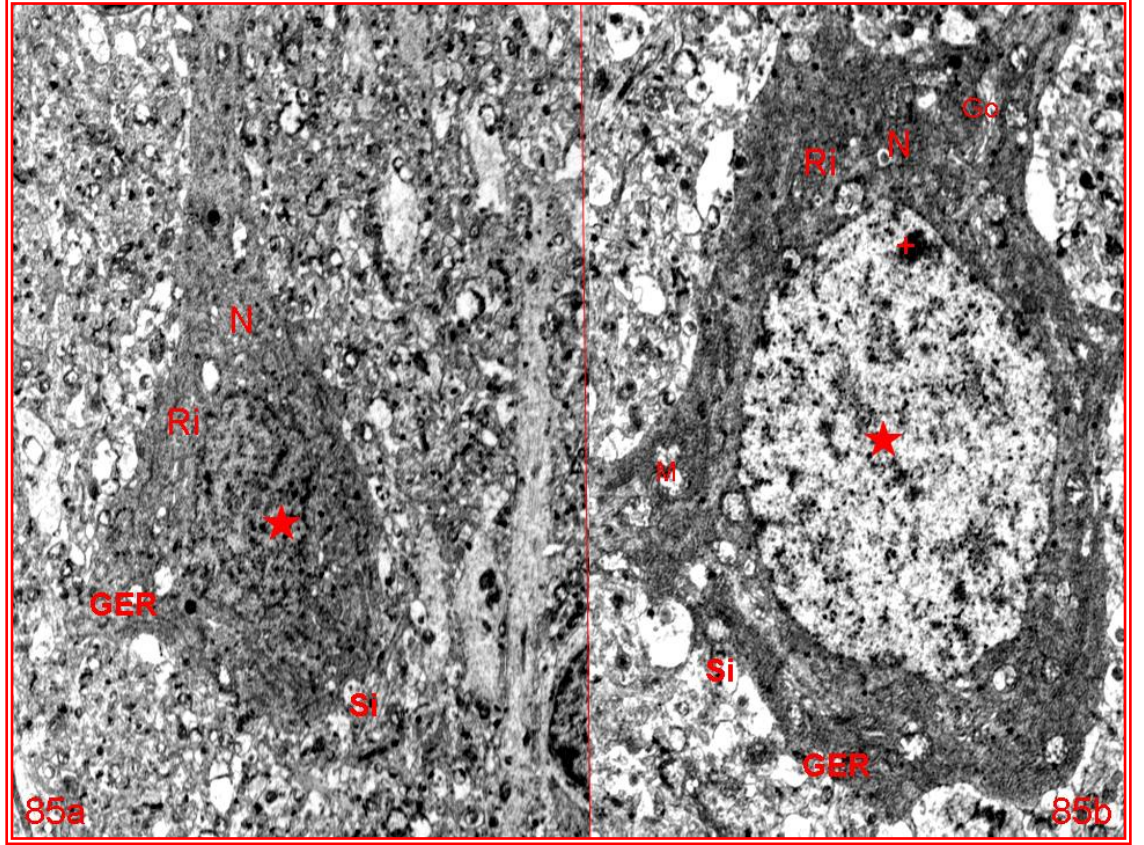
Resim 82: Hipoksi -Doğum sonrası 14. Gün (Grup 5) İnce kesit, End: Endotel hücresi, ★: Çekirdek, ⇨: Pinositotik vezikül, →: Bağlantı birimleri, ❖: Gliyal ayak (Uranil Asetat& Kurşun SitrataX17.31 KX).



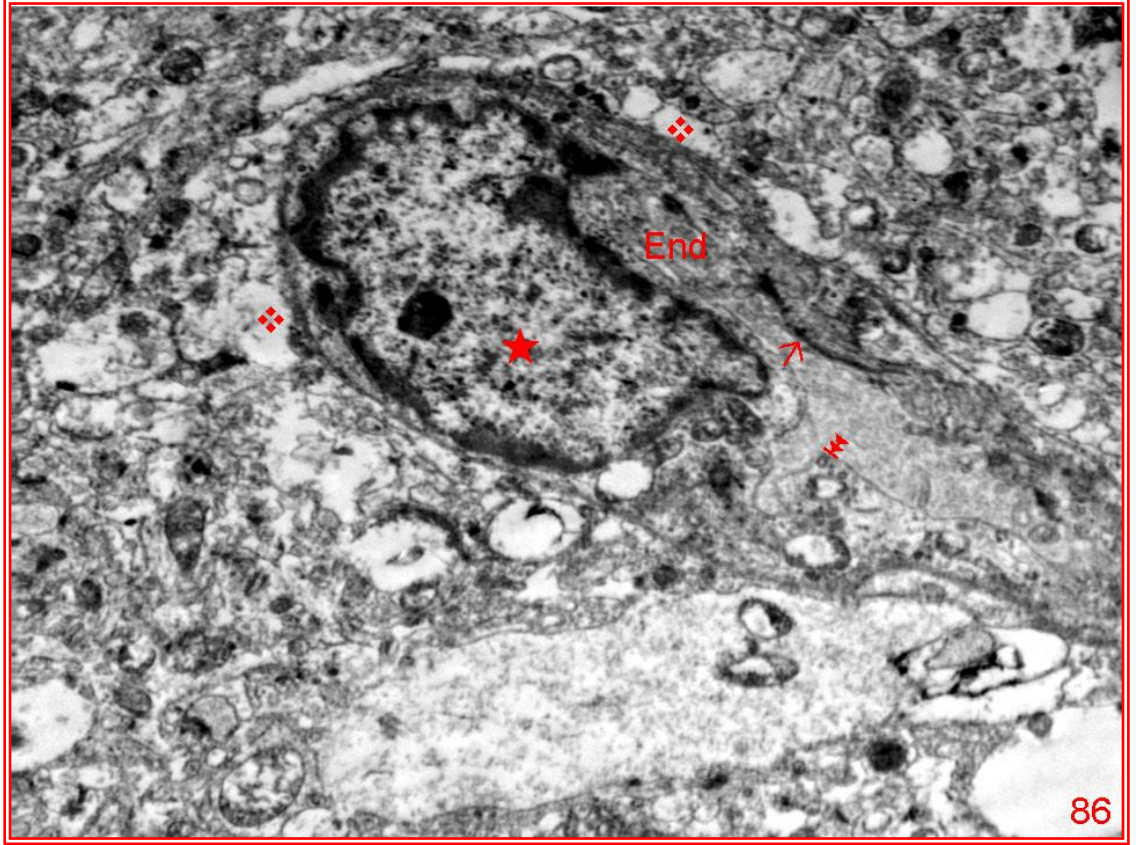
Resim 83: Hipoksi + *Ginkgo biloba* Doğum sonrası 14. Gün (Grup 6) İnce kesit; N: Nöron, ★: Çekirdek, +: Çekirdekçik, GER; Granüllü endoplamik retikulum, Ri: Ribozom, M: Mitokondriyon, Si: Sinaptik alan (Uranil Asetat& Kurşun Sitrata 83aX13.49-83b-13.12 KX).



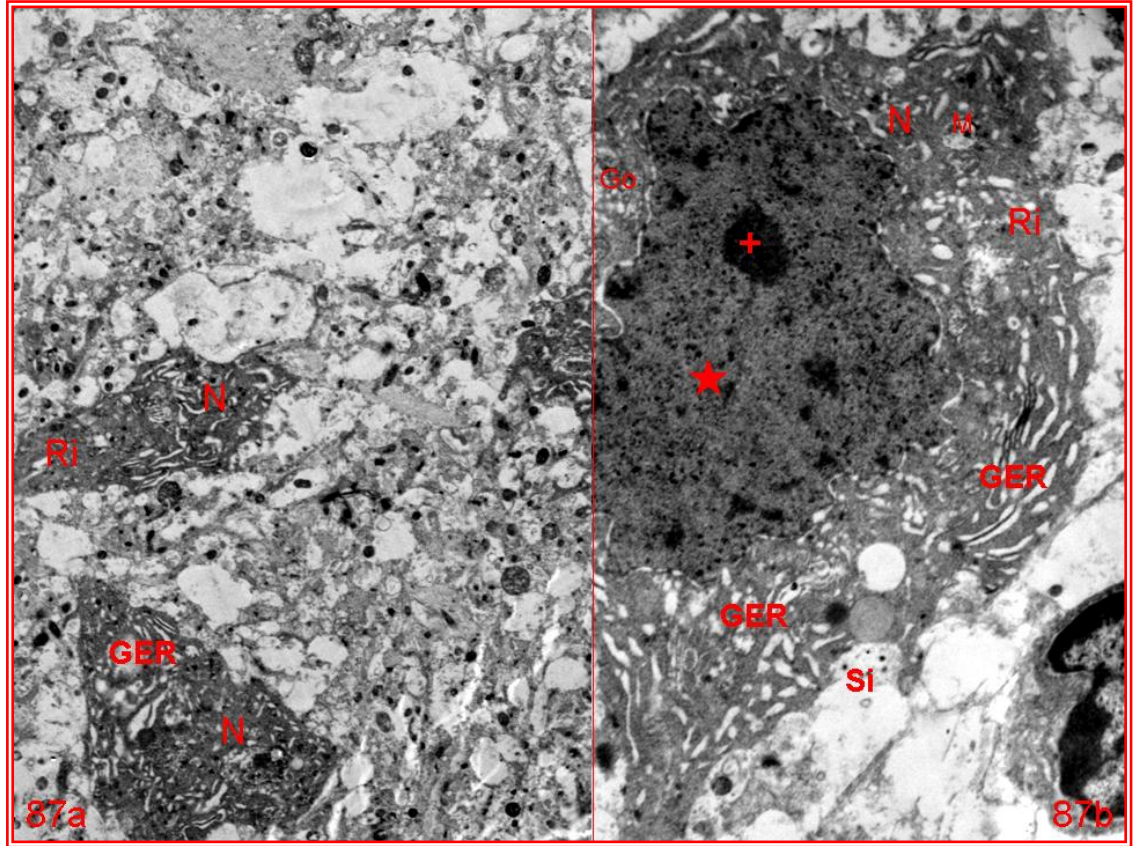
Resim 84: Hipoksi + *Ginkgo biloba* Doğum sonrası 14. Gün (Grup 6) İnce kesit, End: Endotel hücresi, ★: Çekirdek, »»: Pinositotik vezikül, →: Bağlantı birimleri, ❖: Gliyal ayak (Uranil Asetat& Kurşun SitrataX18.05 KX).



Resim 85: 21. Gün Kontrol (Grup 7) İnce kesit; N: Nöron , ★: Çekirdek, +: Çekirdekçik, GER; Granüllü endoplamik retikulum, Ri: Ribozom, M: Mitokondriyon, Si: Sinaptik alan (Uranil Asetat& Kurşun Sitrat 85aX6.56-85b-13.12 KX).



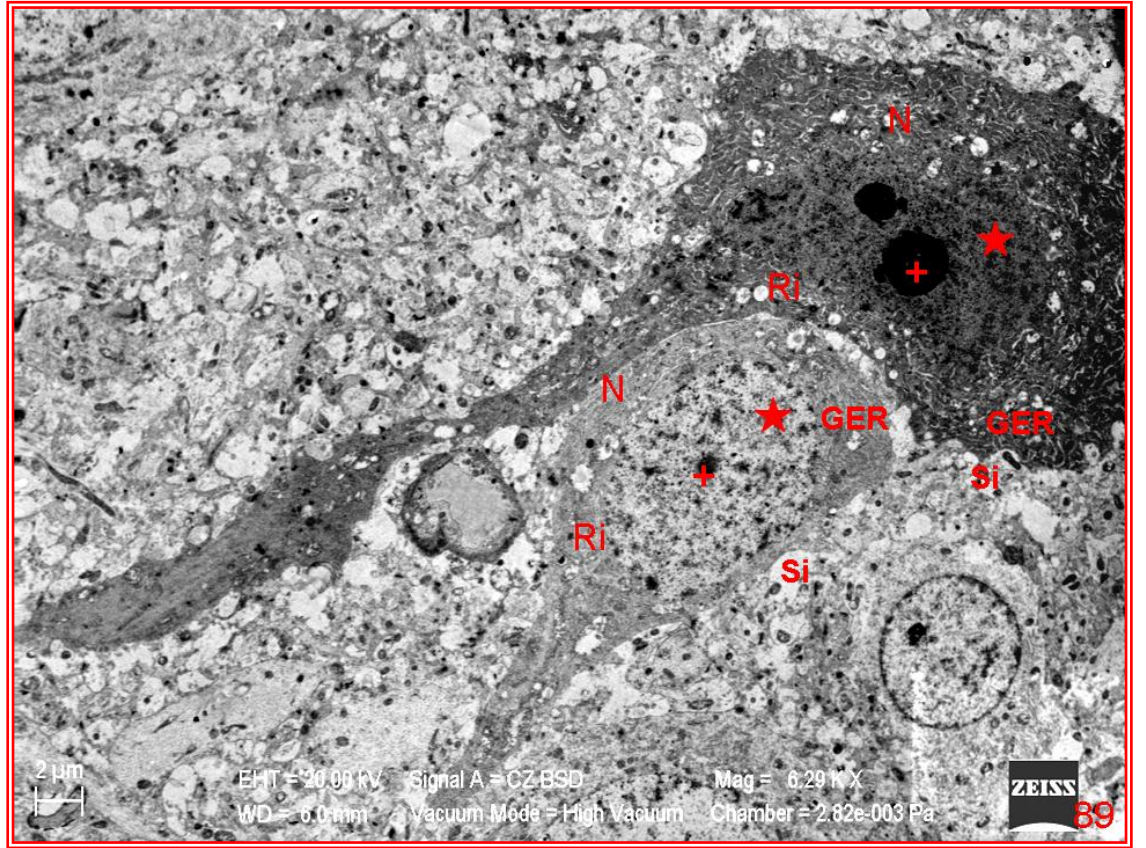
Resim 86: 21. Gün Kontrol (Grup 7) İnce kesit, End: Endotel hücresi, ★: Çekirdek, ⇨: Pinositotik vezikül, →: Bağlantı birimleri, ❖: Gliyal ayak (Uranil Asetat& Kurşun SitratX18.05 KX).



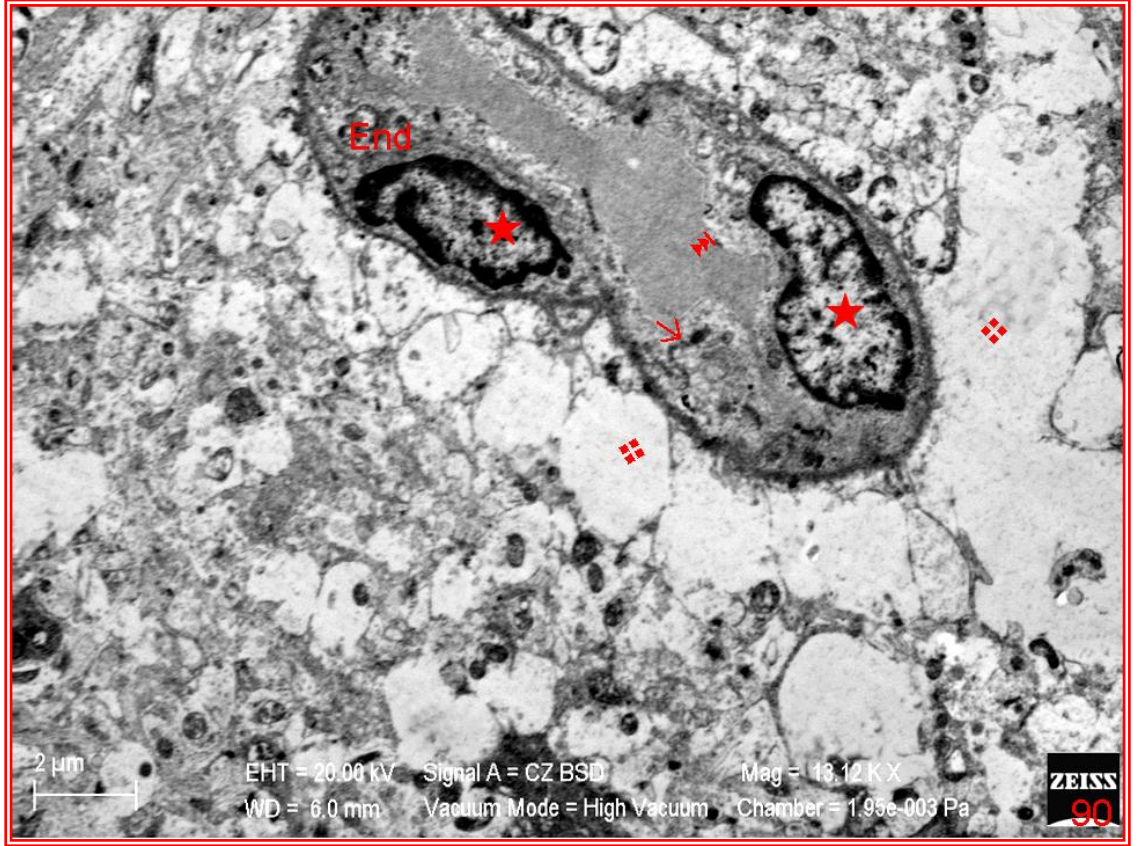
Resim 87: Hipoksi -Doğum sonrası 21. Gün (Grup 8) İnce kesit; N: Nöron ,★ Çekirdek, +: Çekirdekçik, GER; Granüllü endoplamik retikulum, Ri: Ribozom, M: Mitokondriyon, Go: Golgi kompleksi, Si: Sinaptik alan (Uranil Asetat& Kurşun Sitrat 87aX6.74-87b-13.30 KX).



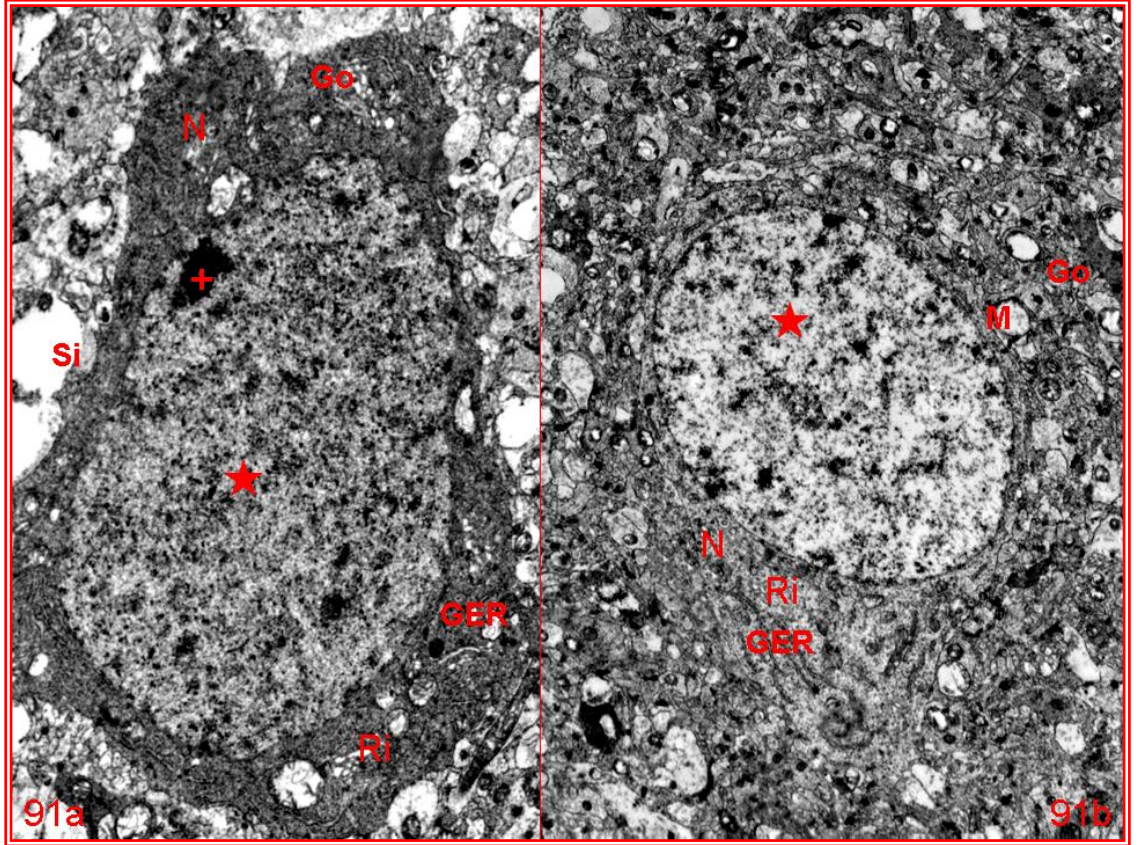
Resim 88: Hipoksi - Doğum sonrası 21. Gün (Grup 8) İnce kesit, End: Endotel hücresi, ★: Çekirdek, ⇨: Pinositotik vezikül, →: Bağlantı birimleri, ❖: Gliyal ayak (Uranil Asetat& Kurşun SitrataX18.30 KX).



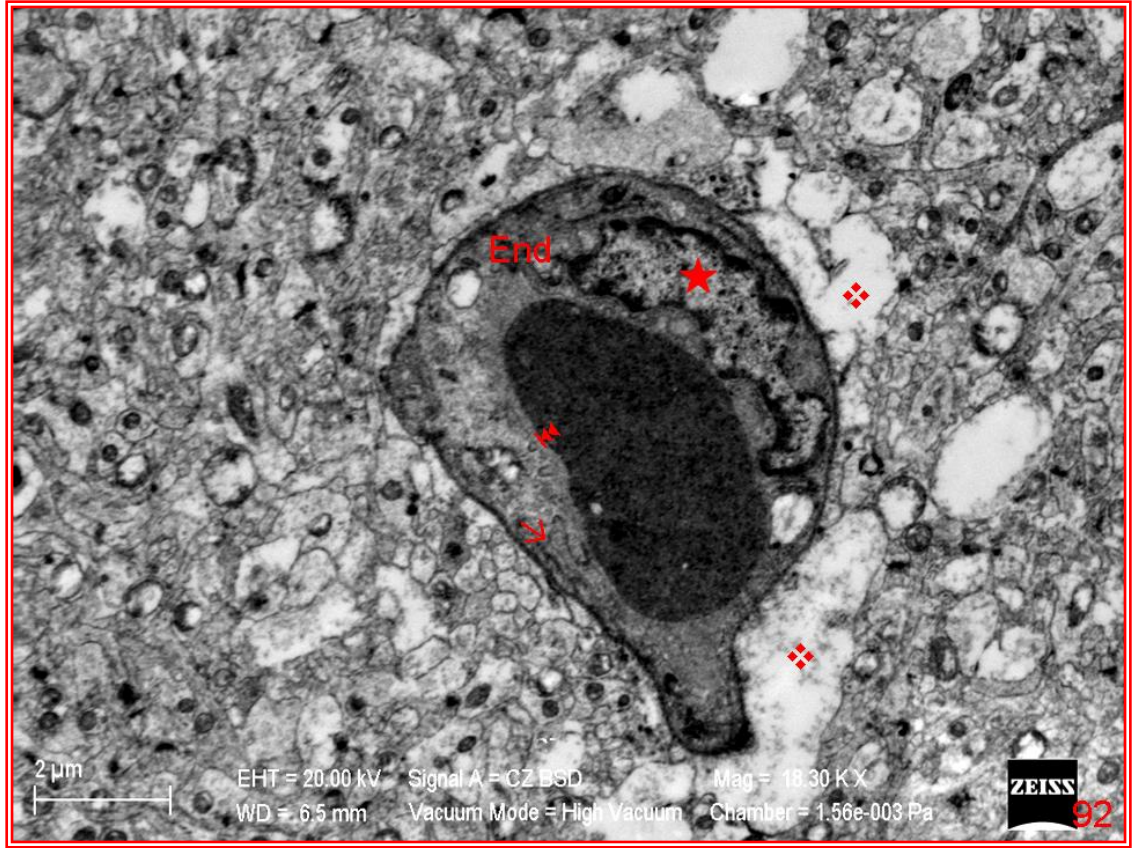
Resim 89: Hipoksi + Ginkgo biloba Doğum sonrası 21. Gün (Grup 9) İnce kesit; N: Nöron , ★ Çekirdek, +: Çekirdekçik, GER; Granüllü endoplamik retikulum, Ri: Ribozom, M: Mitokondriyon, Go: Golgi kompleksi, Si: Sinaptik alan (Uranil Asetat& Kurşun Sitrat 89aX6.74-89b-13.30 KX).



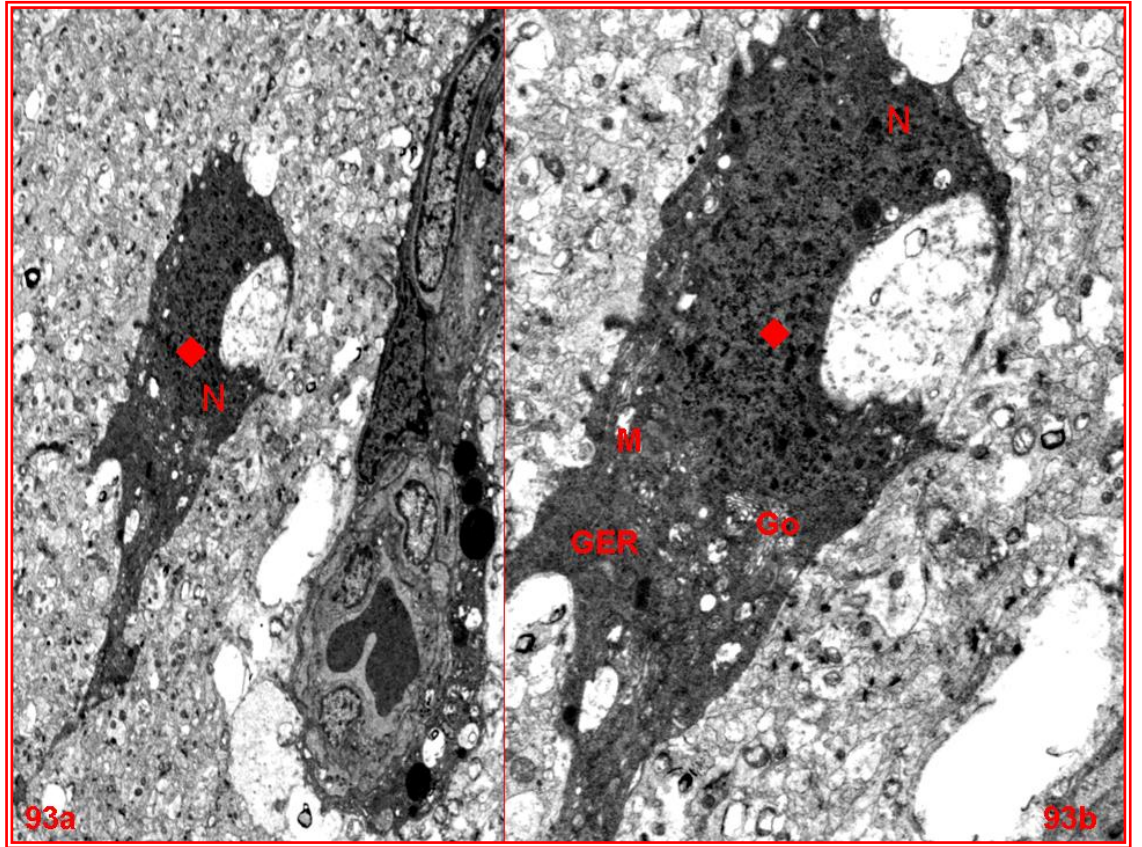
Resim 90: Hipoksi + *Gingko biloba* Doğum sonrası 21. Gün (Grup 9) İnce kesit, End: Endotel hücresi, ★: Çekirdek, ►►: Pinositotik vezikül, →: Bağlantı birimleri, ❖: Gliyal ayak (Uranil Asetat& Kurşun SitratX18.30 KX).



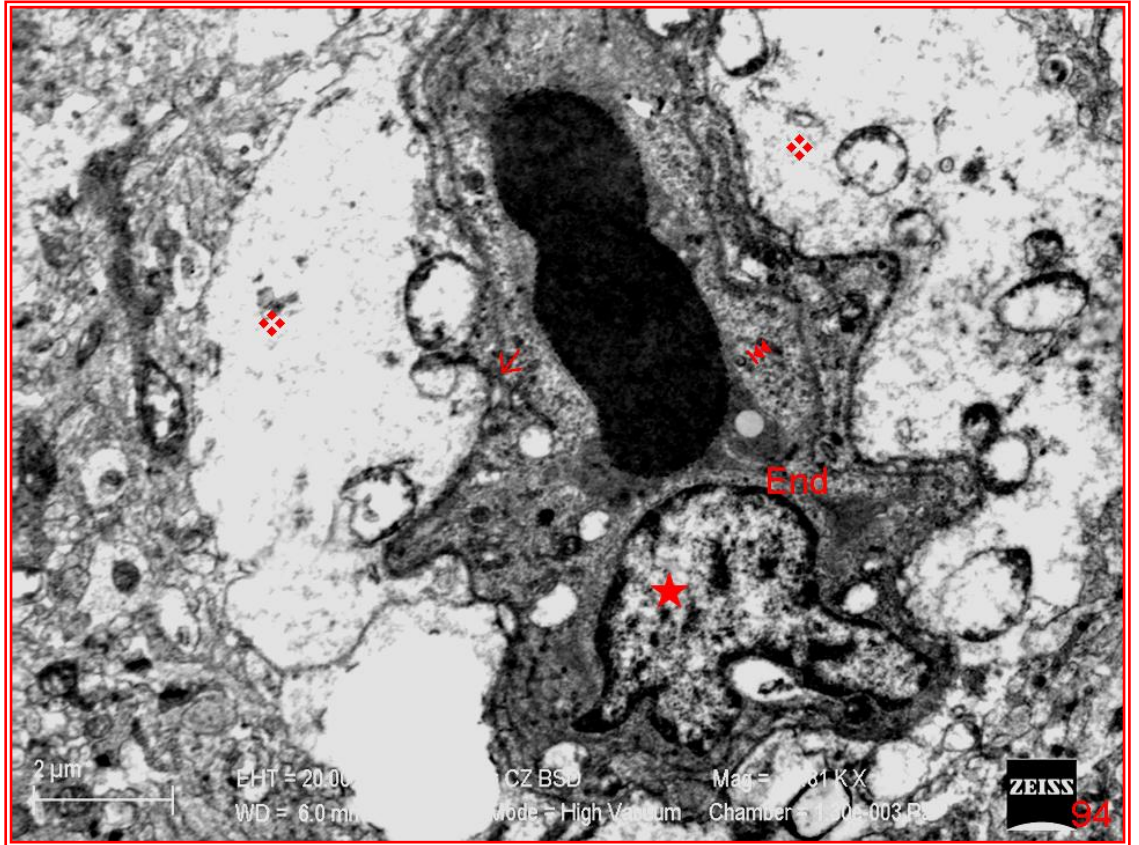
Resim 91: 28. Gün Kontrol (Grup 10) İnce kesit; N: Nöron , ★ Çekirdek, +: Çekirdekçik, GER; Granüllü endoplamik retikulum, Ri: Ribozom, M: Mitokondriyon, Go: Golgi kompleksi, Si: Sinaptik alan (Uranil Asetat& Kurşun Sitrat 91aX13.30-91b-12.07 KX)



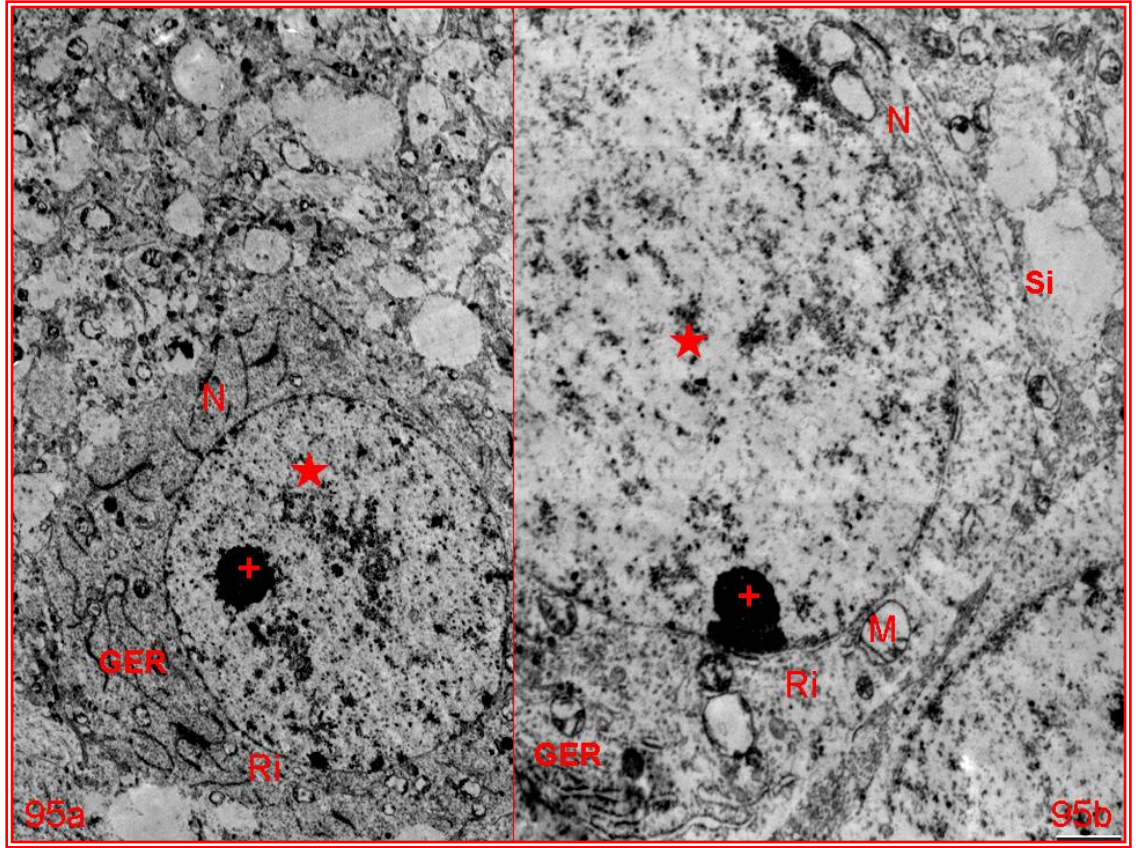
Resim 92: 28. Gün Kontrol (Grup 10) İnce kesit, End: Endotel hücresi, ★: Çekirdek, ►►: Pinositotik vezikül, →: Bağlantı birimleri, ❖: Gliyal ayak (Uranil Asetat& Kurşun SitrataX18.30 KX).



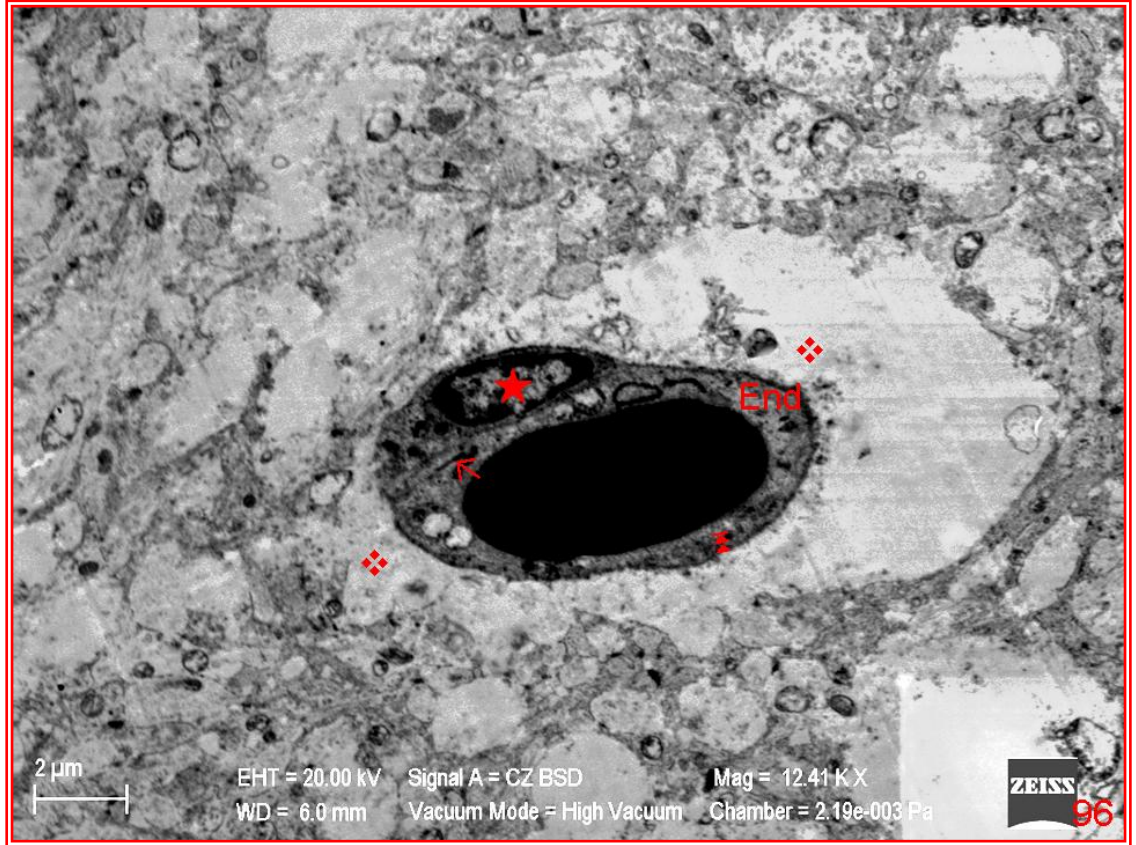
Resim 93: Hipoksi -Doğum sonrası 28. Gün (Grup 11) İnce kesit; N: Nöron ,◆: Piknotik çekirdek, +: Çekirdekçik, GER; Granüllü endoplamik retikulum, M: Mitokondriyon, Go: Golgi kompleksi (Uranil Asetat& Kurşun Sitrat 93aX5.95-93b-12.41 KX).



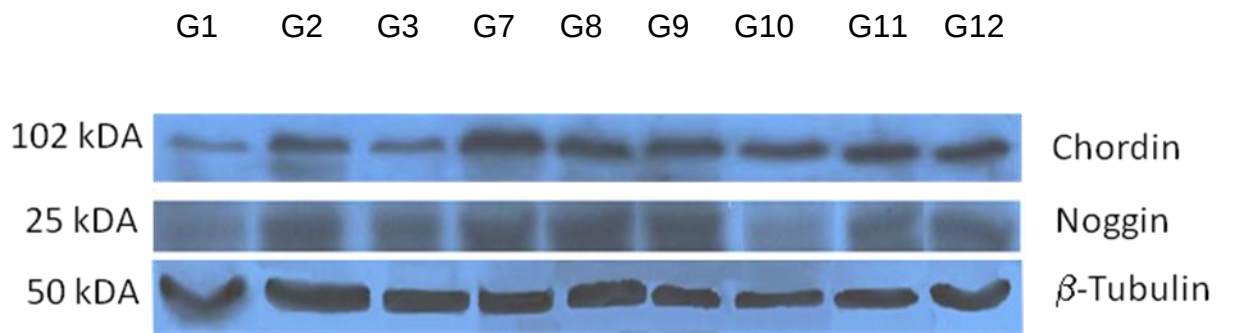
Resim 94: Hipoksi - Doğum sonrası 28. Gün (Grup 11) İnce kesit, End: Endotel hücresi, ★: Çekirdek, ⇨: Pinositotik vezikül, →: Bağlantı birimleri, ❖: Gliyal ayak. Uranil Asetat& Kurşun SitratX18.81 KX).



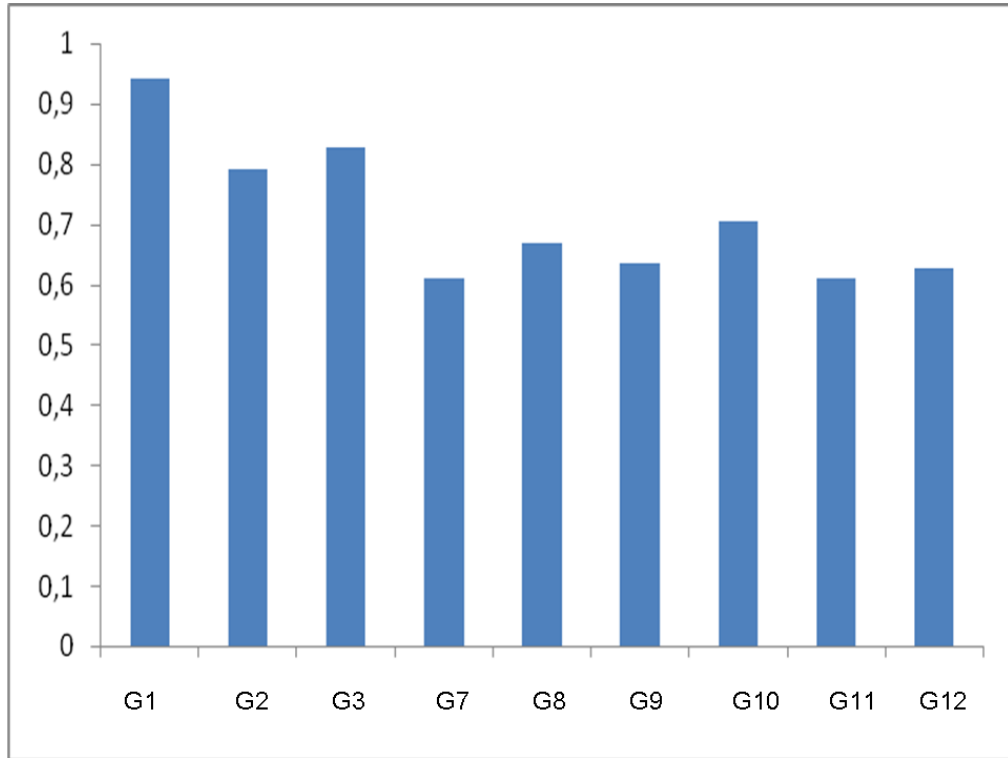
Resim 95: Hipoksi + Ginkgo biloba Doğum sonrası 28. Gün (Grup 12) N: Nöron , ★ Çekirdek, +: Çekirdekçik, GER; Granüllü endoplamik retikulum, Ri: Ribozom, M: Mitokondriyon, Go: Golgi kompleksi, Si: Sinaptik alan (Uranil Asetat& Kurşun Sitrat 91aX13.30-91b-12.07 KX).



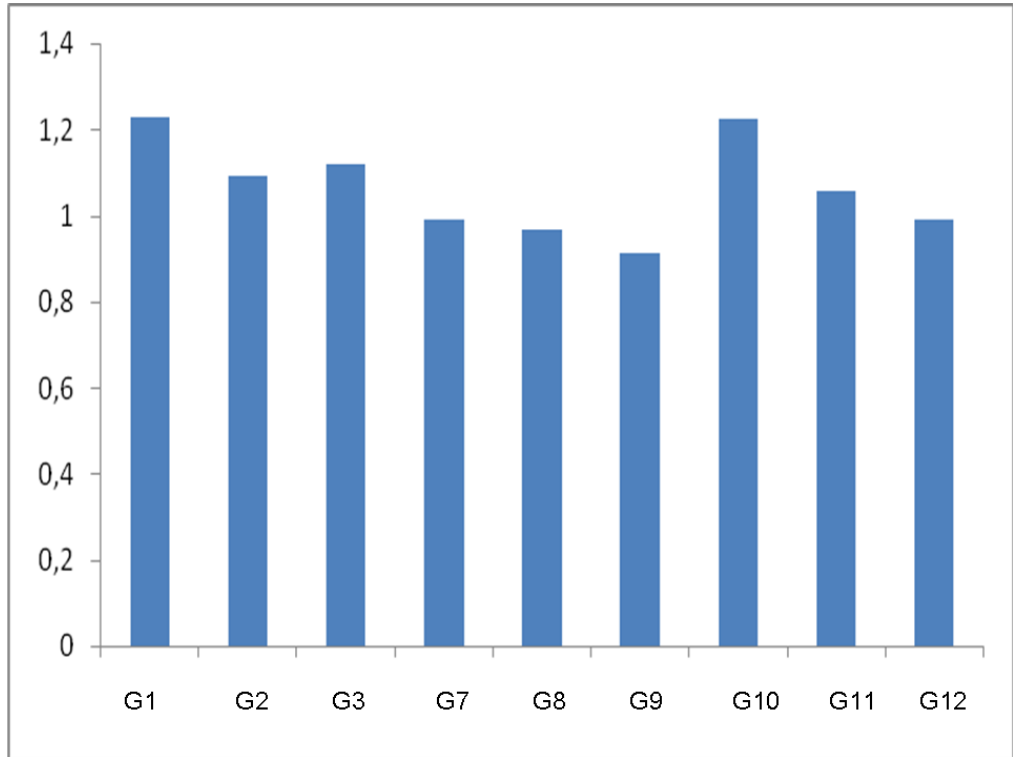
Resim 96: Hipoksi + Gingko biloba Doğum sonrası 28. Gün (Grup 12)
İnce kesit, End: Endotel hücresi, ★: Çekirdek, ⇨: Pinositotik vezikül, →: Bağlantı birimleri, ❖: Gliyal ayak (Uranil Asetat& Kurşun SitratX12.41 KX).



Resim 97: Hipokammpüs'de Chordin ve Noggin Western blot analizleri.



Grafik 1: Hipokampüs’de Chordin proteini gruplara göre dağılımı.



Grafik 2: Hipokammpüs’de Noggin proteininin gruplara göre dağılımı.

5. TARTIŞMA

Günümüzde teknolojinin gelişmesine koşut, malzeme desteğiyle birlikte, düşük irtifalarda yaşayan pek çok insan başta dağcılık olmak üzere iş ya da eğlence amaçlı gezilerle 2500 metre ve üzerindeki yüksekliklere çıkmaktadır. Bu kişilerde özellikle hızlı tırmanışlar sonrasında yüksek irtifa hastalıkları belirmektedir. Dağcılar denemelerinde yüksek irtifada gözlerinin karardığını, yavaş hareket ettiklerini ve aşırı soluk alıp verdiklerini belirtmişlerdir.⁸³ Çok hızlı bir şekilde yüksek irtifaya ulaşmanın en olumsuz etkisi oksijene en duyarlı organ olan beyinde kendini gösterir. Bu kişilerde akciğer ödemiyle birlikte kas aktivitelerinde ve bilişsel yeteneklerde zayıflama kısa sürede görülen en belirgin değişikliklerdir. Bu veriler yüksek dağlara tırmanan dağcılarının yaşadıkları deneyimlerin fizyolojik ve yapısal kökenlerini açıklamaktadır. Dağcılık sporu ile ilgilenen gönüllü katılımcılarda nörolojik testler ve magnetik rezonans görüntüleme sistemi ile beyinde ve diğer organlarda olaylanan değişimler belirlenebilmektedir.^{68,84,85,86}

Giacinta Miscio ve arkadaşlarının 7 gönüllü yetişkin erkekte yaptıkları araştırmada, katılımcılar öncelikle 4554 m yükseklikte 3-5 gün geçirdikten sonra yaşamlarını deniz seviyesinde sürdürmüşlerdir. Bu denemeden 10 ay sonra nörofizyolojik testlerde beyindeki kortikal uyarımın deniz düzeyinde yaşayanlara karşın anlamlı ölçüde zayıfladığı belirtilmiştir. Beyin korteksindeki iletimin yavaşlamasının kas

hareketlerinde ve karar verme yetisinde izlenen zayıflamanın da nedeni olabileceğini vurgulamışlardır.⁸⁶

Paola ve arkadaşları 2008 yılında yayınladıkları çalışmalarında yüksek irtifada görülen düşük oksijen basıncının dağcılarda etkisini değerlendirmişlerdir. Everest dağına tırmanan dağcılarda magnetik rezonansla beyindeki ak madde yoğunluğunu, nörolojik testlerle ise bilişsel ve nörolojik işlevleri incelemişlerdir. Sporcularda MR görüntülerinde beyin hasarlarına yatkınlık ile birlikte ak madde yoğunluğunda azalma gözlenirken nörolojik ve bilişsel yeteneklerde zayıflamaların olduğunu bildirmişlerdir.⁶⁸

İnsanlar üzerinde yapılan bu gözlemler ve testler araştırmacıları deney hayvanları üzerinde hipobarik hipoksi modelleri oluşturmaya yönlendirmiştir. Hipoksinin beyinde neden olduğu hasarlar ve moleküler değişimlerin mekanizması üzerine yoğunlaşmıştır.^{16,86,87,88,89,90}

Titus ve arkadaşlarının çalışmalarında 6000 m'lik irtifaya benzeyen koşullarda yetişkin sıçanların nöronlarındaki yapısal değişimler ve davranışsal testler ile öğrenme yetenekleri araştırılmıştır. 2 gün

süresince hipoksi koşullarına etkin bırakılan sıçanların, uzamsal belleklerinde belirgin değişimlerin görülmesinin yanı sıra nöronlarda da az düzeyde dejeneratif değişiklikler belirlenmiştir. 7 gün süresince hipoksik kamarada kalan sıçanlarda ise nörolojik testlerde belirgin düşüş görülmüştür. Ayrıca nöronların dendritlerinde dallanmanın azaldığı, boyunun kısaldığı dendritik atrofinin daha belirgin olarak izlendiği bildirilen veriler arasındadır.⁹⁰

Hota ve arkadaşlarının 2008 ve 2009 yıllarında yayınlanan bağıntılı iki çalışmasında hipobarik hipoksi modeli oluşturulmak için sıçanlar 7620 m'lik oksijen basıncının olduğu hipoksi kafeslerine konulmuştur. Kontrol grubu normal atmosfer basında yaşatılırken, deney gruplarındaki sıçanları 3, 7 ve 14 gün süresince günde 15 dk hipoksik kafeslerde tutan araştırmacılar hipoksinin neden olduğu apoptozisin mekanizmasını p75, NMDAs (N-Metil- D aspartat reseptör) ve hipokampusdeki apoptozisi TUNEL yöntemi ile kaspaz 3 antikoru kullanarak değerlendirmişlerdir. Hipoksinin hücre düzeyde bilinen etkilerinden biri hücre içine aşırı Ca^{+2} girişine neden olmasıdır. İyon dengesizliğinin olumsuz etkilerinden bir tanesi de, p75^{NTR} hücre içi yoğunluğunun artmasıdır. p75^{NTR} 75 kDa ağırlığında glikoprotein yapılı transmembran proteinidir. Hücre içi parçası tip 2 ölüm reseptörleri ile bağlantılıdır. Aşırı ekspresyonu nöronlarda apoptozise neden olur ve

kaspaz 3 yolağını etkin konuma getirir. Bu çalışmada hipokampüs’de, hipokside ilerleyen güne koşut p75 ekspresyonunun ve kaspaz tutulumunun arttığı belirlenmiştir. Bu bulgu pek çok çalışmada belirtilen hipoksik koşullardaki bellek zayıflamasının asıl nedeninin nöronlardaki apoptozis olduğunu açıklamaktadır.^{91,92}

2007 yılında yayınlanan bir çalışmada sıçanlarda hipobarik hipoksi (6100m) modelinde hipokampüsdeki nöronlarda nörodejenerasyon flouro jade B ve DNA kırılması TUNEL yöntemi ile değerlendirilmiştir. 3 ve 7 gün süresince hipoksik kafeslerde tutulan sıçanlarda artan süreye koşut, CA1 ve CA3 alanlarında apoptotik hücrelerin artığı ve hücrelerde piknotik çekirdek, hücre içi ödem ve bazı hücrelerin büzüldüğü saptanmıştır. Özellikle 5000 m’nin üzerinde oluşan beyin hasarlarında, geri dönüşümün oldukça zor olduğunu belirten araştırmacılar, insanlarda ve diğer memeli deneklerde görülen bellek kaybı ve öğrenme güçlüğü gibi etkilerin hipokampüs’ün hipoksiye duyarlı olmasından kaynaklandığını vurgulamışlardır.⁸⁹

Hipoksinin beyin üzerindeki olumsuz etkilerinin yanı sıra bazı araştırmacılar aralıklı hipoksinin kemirgenlerde nörogenezi tetiklediğini öne sürmektedirler.^{93,94}

2005 yılında Zhu ve arkadaşları yayınladıkları çalışmada, yetişkin sıçanlarda aralıklı olarak hipobarik hipoksi modelinin nörojenesis üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. 2 hafta süresince günde 4 saat 3000-5000m' lik yüksek irtifa ortamına etkin bırakılan sıçanlarda kök hücrelerdeki proliferasyonu belirlemek için 5-Bromo- 2 deoksiüridin-5-monofosfat (BrdU) işaretleyicisi ile immünohistokimyasal olarak değerlendirme yapmışlardır. Deneysel verilerde, subventriküler katmanda ve dentat girusta hipoksiye etkin kalan sıçanlarda BrdU tutulumunun belirgin olarak arttığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu sonucu, hipoksinin neden olduğu hasara karşı beyindeki uyum mekanizması olarak yorumlamışlardır.⁹³

Buna benzer bir diğer çalışma P. Vert ve JL Daval tarafından yenidoğan sıçanlar üzerinde yapılmıştır. 1 günlük sıçanların hipokampusünde CA1 bölgesini kültüre eden araştırmacılar, hipoksi uygulamasından 20 gün sonra subventriküler katmanda proliferen hücreleri BrdU ile göstermişlerdir. Hipoksiden 3 ve 6 saat sonra kültür ortamındaki hücrelerde belirgin azalma belirleyen araştırmacılar, beyindeki iyileşme sürecinin 20. günden sonra başladığını ve hücrelerin proliferen

olduğunu saptayarak doğum sonrası nörogenezin varlığını göstermişlerdir.⁹⁵

Poiurie ve arkadaşları fetal gelişim sürecinde ılımlı (3 saat) ve sert hipoksi (6 saat) olarak tanımladıkları hipoksi modelinde ön beyin bölgesinde apoptozis ve hücre döngüsündeki proteinlerin etkisini immühistokimyasal ve Western blot yöntemi ile değerlendirmişlerdir. Gebeliğin 14. gününde sezeryanla alınan deneklerin, ön beyin bölgeleri kültür ortamına alınarak 3 ve 6 saat %5'lik CO₂ basıncına etkin bırakılmıştır. 6 saat süresince hipoksik kalan hücrelerde apoptotik işaretleyicilerin belirgin olarak arttığı belirlenirken, 3 saat hipoksik kalan nöronlarda PCNA pozitif hücrelerin arttığı, p53, p21, Bax ve kaspaz antikorlarının azaldığı saptanmıştır. Araştırmacılar tüm sonuçlara göre, kültür ortamında kısa süreli hipoksinin hücre döngüsünü aktive ettiğini ve nörogenezi tetiklediğini belirtmişlerdir.⁹⁶

Çalışmamızda nörogenezde düzenleyici oldukları düşünülen chordin ve noggin proteinlerinin Western Blott analizlerinde hipoksi uygulamalarında her iki protein ekspresyonunun eş zamanlı kontrol gruplarına göre azaldığı saptanırken antioksidan uygulamanın chordin protein ekspresyonunda yalnızca hipoksi uygulanan gruplara göre artış

gösterdiği belirlendi. Ancak antioksidan uygulamanın Noggin protein ekspresyonunda aynı etkiyi göstermediği saptandı. Uzun süreli Gingko biloba uygulamasının her iki protein ekspresyonunun sürekliliğini sağlayabileceğini düşündürdü.

Hipoksik koşulların beyinde hedef aldığı bölgelerden biri de beyin korteksidir. ^{14,96,98,99} Hipobarik hipoksi modelinde beyin korteksinde nitrik oksit ve nitrik oksit inhibitörlerinin etkisini değerlendiren araştırmacılar, çalışmalarında sıçanları 8325 m'lik irtifa modelinde 7 saat süresince hipoksiye etkin bırakmışlardır. Bu sürecin sonunda denekleri normal atmosfer basıncına alınarak 0, 1, 3, 5 ve 10. günlerde nNOS, iNOS düzeyleri immünohistokimyasal ve Western blot yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiştir. NO beyindeki kan akımı, nöronal gelişim, sinaptik plastisite, bellek şekillenmesi ve nöroendokrin işlevleri düzenleyen aracı bir moleküldür. Bu nedenle de hipoksi ya da iskemi koşullarında patofizyolojik yanıtların şekillenmesinde anahtar rol oynar. Bu yanıtların engellenmesinde NO inhibitörlerinin olası koruyucu etkilerini belirlemek için denekler hipobarik hipoksi grubu, hipoksi + 7-nitroindazol ve hipoksi (NO inhibitörü) + L-NAME (NO inhibitörü) uygulanan gruplar olarak 3'e ayrılmıştır. Araştırmacılar tüm gruplarda iNOS tutulumunun hipoksi ile artmadığını saptamışlardır. Hipobarik hipoksi uygulanan deneklerde ise, kortikal nöronlarda nNOS ekspresyonunun tüm gruplarda arttığını belirten araştırmacılar, nitrotirozin uygulamasının bu yanıtı baskıladığını

belirlemişlerdir. Hipoksik koşullarda nöronlarda artan NO sentezini baskılamakta 7-nitrotirozinin daha etkin olduğunu bildiren araştırmacılar, hipobarik hipoksida görülen klinik belirtileri engellemekte bu inhibitörün olumlu etkileri olabileceğini öne sürmüşlerdir.⁹⁹

Simona ve arkadaşlarının 2003 yılında yayınladıkları çalışmada, yenidoğan sıçanlar 0-19. günler arasında hipoksik koşullara etkin bırakılmıştır. Doğum sonrası 24, 27, 32, 100 ve 109. günlerde davranışsal testler uygulanan deneklerin, korteks kalınlığı, nöronlardaki nörofilaman ve nöroglia dağılımı incelenmiştir. Deney gruplarının aynı gelişim günlerindeki kontrol gruplarına karşın, davranışsal testlerde bellek ve öğrenme yeteneği açısından daha zayıf oldukları belirtilmiştir. Yapısal düzeyde korteks kalınlığının değişmediğini belirten araştırmacılar nörofilaman tutulumunun kontrol grubuna göre zayıf olduğunu, GFAP + astrositlerin ve oligodendrosit yoğunluğunun yine kontrol grubuna karşın anlamlı derecede az olduğunu saptamışlardır. Yenidoğanda etkin kalınan hipoksik koşulların nöronların olgunlaşmasında ve nöroglia dağılımını düzenlenmesinde, kontrol grubuna karşın gecikmeye neden olduğunu bildirmişlerdir.⁹⁸

Dağcılarda yapılan MRI görüntülemelerinde ve deney modellerinde belirlenen dejeneratif değişikliklerden biri de ak madde yoğunluğundaki azalmadır. Shankar ve Rivkees'in çalışmasında kültüre

edilen oligodendrosit öncül hücreleri, %1 ve %4 O₂ basıncında tutulmuştur. İmmünohistokimyasal değerlendirmede, oligodendrositlerin farklılaşmasını izlemek için fosfo-cdc2, öncül hücreleri belirlemek için PDGFR α , olgun oligodendrositler için MBP ve hipoksida hücre döngüsünü değerlendirmek için p27^{Kip1} antikorlarını kullanmışlardır. Uygulamanın 7. gününde oligodendrosit öncül hücrelerin ve prolifer olan hücrelerin sayılarının azaldığı saptanmıştır. Olgun oligodendrositlerin ise kontrol grubuna karşın daha az MBP ekspresyonu gösterdiği belirlenmiştir.⁷⁹

Çalışmamızda oluşturduğumuz hipobarik hipoksi modelinde embriyonel E5- E15. günlerde hipoksiye etkin kalan yavru deneklerin belirlenen günlerde alınan beyin dokusunda özellikle ak katmanda MBP immünreaktivitesinin eş zamanlı kontrol gruplarına ve Gingko biloba uygulanan gruplara karşın azaldığı saptandı. Özellikle Gingko biloba'nın uzun süreli uygulamasının yapıldığı deney gruplarında (21 ve 28 gün) MBP tutulumunun daha özgün olması bu antioksidanın geçen süreye koşut miyelinizasyonda daha olumlu etkilerinin görülebileceğini düşündürdü.

Hipoksi ile yapılan hayvan deney modellerindeki çalışmalarda, embriyonel dönemde yetişkin döneme karşın, hipoksik koşullara deneklerin daha dirençli olduğu ortaya konulmuş olsa da beyin, düşük oksijen basıncına gelişimsel süreçte de oldukça duyarlıdır. Fötal

gelişim süreci genetik ve çevresel etmenlerce denetlenir. Gelişim sürecindeki çevresel etmenler insanlarda ve hayvanlarda hücresel yanıtları ve hücre fizyolojisini etkiler. 1957 Thomson'ın annedeki ankisiyetenin genç sıçanlardaki duyuşal durumu etkilediğini kanıtlaması gebelikteki stres koşullarının üzerindeki çalışmaları yoğunlaştırmıştır. Kaynaklardaki çalışmalar gebelikteki maternal stresin özellikle beyin gelişiminde, nöroplastisitede etkin olduğunu öne sürerken, doğum sonrasında görülen bazı kronik hastalıklara yatkınlıktan, maternal stresli yükümlü tutmaktadırlar. ^{100,101} Gebelik süresince sıklıkla karşılan stres etkenlerinden biri olan hipoksi, intrauterin büyüme geriliği, yeni doğan ölümlerinin ve doğum sonrası kalıcı nörolojik bozukluklar ile birlikte motor işlevlerde görülen kayıpların en önemli nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Maternal hipoksinin pek çok nedeni vardır. Bunlar arasında annede görülen diyabet, kronik hipertansiyon, enfeksiyon, çoklu gebelik, orak hücre anemisi, narkotik kullanımı, anneye herhangi bir nedenle uygulanan anestezi, astım, plasental yetmezlik, plasenta previa, maternal hipoksi (deniz düzeyinden 1500 m yukarıda yaşam) sayılabilir. Hipoksinin bu denli yaygın görülmesi, çoklu etkene sahip olmasından kaynaklanmaktadır. ^{2,10,11,12,13,102,103} Ancak gebelikte gerçekleşen hipoksi hangi nedenle olursa olsun yenidoğanda ve yetişkin dönemde görülen aynı patolojik sonuçları doğurur. Uteroplasental kan akımı azalır. Gebelerde bu koşullarda soluk alıp verme hızının ve arterial O₂ basıncının artması ile bu duruma uyum sağlanmaya çalışılsa da, fötusun gebelik

yaşına göre düşük doğum ağırlığına sahip olduğu görülür. Bunun yanı sıra gebelikte karşılaşılan hipoksik koşullarda fetal rezorpsiyon, fötusta teratojenik etkiler, ekstremitte defektlerin izlenebileceği bildirilmiştir. ^{103,104, 105,106}

2001 yılında yayınlanan deneysel bir çalışmada 5000m ve 7000m'yi taklit eden hipobarik hipoksi modelinde gebe sıçanlar kullanılmıştır. Gebelikleri süresince 13 kez günde 8 saat hipoksi uygulanan annelerden elde edilen yavru sıçanların, doğum sonrası 12., 25. ve 35. günlerde motor aktiviteleri izlenmiştir. 7000m'lik irtifadaki oksijen basıncına etkin kalan sıçanlarda doğum oranının oldukça düşük olmasının yanı sıra doğum sonrası canlı kalım süresinin de oldukça az olduğu belirtilmiştir. Doğumdan sonraki 12. günde motor reflekslerin kontrol grubuna karşın azaldığı izlenirken ilerleyen zamana koşut reflekslerin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin olarak azaldığı saptanmıştır.¹⁴

Zhuravin ve Dubrovskaya doğum öncesi evrede hipobarik hipoksiye etkin bıraktıkları gebe sıçanlardan elde ettikleri yavrularda, davranışsal testler ile birlikte duyusal-motor korteksi nöronlarında, Golgi gümüşleme yöntemi ile yapısal değişimleri izlemişlerdir. Kontrol grubuna karşın korteksin daha kısa olduğunu belirten araştırmacılar, deneklerde

nekrotik alanlar, apoptotik nöronlar ve dendritlerin piknotik görünüm sergilediğini belirtmişlerdir.¹⁰⁸

Çalışmamızda ince yapı düzeyinde değerlendirdiğimiz Frontal kortekste nöron hücre gövdelerinin eş zamanlı kontrol gruplarına karşın yalnızca hipoksi uygulanan gruplarda daha yoğun sitoplazmalı ve çekirdek içerdikleri görüldü. Bu hücrelerde sitoplazmada GER tubuluslarının oldukça genişlemiş oldukları ayırt edildi. Bu hücrelerin aktif protein sentezledikleri düşünüldü. Piknotik görünümlü çekirdeğe sahip olan nöronlarda Golgi bölgesinin oldukça gelişkin olması ve diğer hücresel organellerin aktivasyonu bu görünüme sahip olan hücrede apoptozise gidişin göstergesi olarak düşünüldü. Hipoksi ve Gingko biloba uygulaması yapılan deney gruplarında nöron hücre gövdelerinin sitoplazmik içeriklerinin geç dönemde (21gün- 28 gün Gingko uygulaması) eş zamanlı kontrol grupları ile yapısal açıdan yalnızca bazı alanlarda benzerlik gösterdikleri saptandı.

Çevresel koşulların değişimi yetişkin ve fötuslerde hücresel yanıtları düzenler. Oksijen ve glukoza oldukça duyarlı olan beyin, hipoksi gibi travmatik koşullarda kimyasal ve elektriksel dengesini yeniden düzenleyerek tepkisel bir yanıt oluşumunu sağlar. Özellikle hasarlı bölgelerde gen ekspresyonunu yeniden düzenleyerek Hif1 α gibi transkripsiyon faktörlerinin etkin konuma geçmesini sağlar. Bu uyarım

nöronların hipoksik koşula uyum sağlaması için gerekli olan mekanizmaları harekete geçirir. Bu süreçte Hif1-1 α bağımlı ve bağımsız yollar aktive olur ve 70'den fazla gen bölgesi işlevsellik kazanır. Oksijen yetersizliğine karşı beyinde koruma mekanizması aktive olur.^{3,109,110}

Hif1- α hipoksik koşullarda angiyojenезisi başlatan temel faktörlerden biridir.^{109,111} Angiyojenезisi başlatmasının ve düzenlemesinin yanı sıra Hif1- α 'nın glikoliz metabolizmasını düzenlediği ve nöronları koruyucu etki gösterdiği bilinmektedir.¹¹²

Kalpana ve arkadaşları deneysel hipobarik hipoksi modelinde yetişkin sıçanlarda beyinde ödem oluşumunu, serbest oksijen radikallerinin düzeyi ile birlikte VEGF ve NF Kappa primer antikorlarının dağılımında CoCl₂ etkisini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan CoCl₂, hipoksik koşullarda hücrelerde hızla eksprese edilen HIF1- α 'yı taklit eden bir bileşiktir. Hipoksida artan serbest oksijen radikallerinin, özellikle damar geçirgenliğini artırarak HIF1- α , VEGF, NF kappa ekspresyonunun artmasına neden olduğunu vurgulamışlardır. CoCl₂ uygulamasıyla birlikte, hipoksida oluşan beyin ödeminin azaldığını belirtmişlerdir.¹¹³

Zhao ve arkadaşları 2008 yılında yayınladıkları çalışmalarında, %3'lük ve % 10'luk O₂ basıncında, in vitro ortamda, hipokampüsdeki nöronlarda nöronal kök hücrelerin proliferasyonlarını ve

proliferasyonda HIF1- α 'nın rolünü değerlendirmişlerdir. Western blot analizi ile %10'luk oksijen basıncında, Hif1- α ekpressyonun arttığını belirten araştırmacılar aynı zamanda BrdU pozitif boyanan nöronal kök hücrelerin sayısında da artış belirlemişlerdir. Hif1- α 'nın proliferasyondaki düzenleyici etkisini kanıtlamak için vektör aracılığıyla Hif1- α gen bölgesini etkisiz hale getirdiklerinde, aynı O₂ basıncında hipokampüsdeki nöronal kök hücrelerin proliferere olmadığını saptamışlardır.¹¹⁴

Hipobarik hipoksi deney modelimizde hem frontal alanda hem de hipokampüsde nöronlarda hipoksi uygulamasının Hif1-1 α immünreaktivitesini belirgin olarak artırdığı belirlendi. Gingko uygulamasının kısa dönemde (7 gün, 14 gün) hem frontal lobda hem de hipokampüs'de Hif1- α ekspresyonunu desteklemediği izlenirken uzun dönem uygulanan gruplarda (21 gün, 28 gün) her iki beyin bölgesinde Hif1-1 α immünreaktivitesinin artışı bu strese karşın Gingko biloba'nın yitirilen beyin işlevlerinde olumlu etkileri olabileceği kanısını uyandırdı.

Hipokside Hif1- α 'nın bir diğer önemli etkisi anti-apoptik mekanizmaları aktive etmesidir. Bu konuyla ilgili yayınlanan çalışmalarda kronik ılımlı hipokside (%10 O₂- 2 Hafta) ya da akut sert hipokside (%1 O₂ – 1 gün) beyinde Hif1- α 'nın ekspresyonunun arttığı görülürken apoptotik hücreler belirlenmemiştir. Hif1- α 'nın anti- apoptotik işleyişi tam olarak

bilinmemekle birlikte, EPO gibi anti-apoptotik etkenleri aktive ederek işlev gördüğü düşünülmektedir.^{115,116,117}

Hipoksik koşullara beynin ve diğer organların oluşturduğu yanıtlardan biri de HSP 70 stres proteininin ekspresyonunu artırmasıdır. HSP 70'in akut hipoksi modellerinde merkezi sinir sistemi üzerinde olumlu etkisi bilinmekle birlikte nöronlar üzerindeki koruyucu işleyişi nasıl gerçekleştirdiği bilinmemektedir.^{118,119,120} Zhang ve arkadaşlarının 2009 yılında yayınladıkları çalışmalarında, hipoksida HSP 70 ekspresyonu artırılarak beyinde görülen dejenerasyonların engellenmesi hedeflenmiştir. Geranilgeranilaseton antiülser ajanıdır. 1996 yılından bu yana yayınlanan araştırmalarda bu etken maddenin HSP 70 ekspresyonunu kalpte, retinada ve beyinde artırdığı bildirilmiştir. Sıçanlara 6 saat hipobarik hipoksi öncesi tek doz uygulanan geranilgeranilaseton'un HSP 70 ve NO ekspresyonu üzerine etkisi incelenmiştir. Western blot analizlerinde, hipoksinin 1 saat sonrasında kortekste ve hipokampüste HSP 70 ekspresyonunun artışı ve iNOS aktivitesinin azaldığını saptamışlardır. Ancak etken maddenin hipoksinin 7 saat sonrasında iNOS ekspresyonunu engellemekte yetersiz kaldığı belirtilmiştir.¹²⁰

Çalışmamızda, HSP immünreaktivitesinin hem hipoksi gruplarında hem de hipoksi ve Gingko biloba uygulanan gruplarda özellikle frontal korteksteki nöronlarda olduğu belirlendi. Ancak süren gelen

uygulamaya koşut 21 ve 28 gün antioksidan uygulamalarından sonra immünreaktivitenin hem frontal alanda hem de hipokampüsde belirlenmesi HSP ekspresyonunda Gingko biloba'nın destekleyici bir etken olabileceği kanısını uyandırdı.

Kaynak alışmaları hipoksinin bir diğer önemli etkisini antioksidan savunma sisteminin baskılanması olarak açıklamaktadır.^{84,121,122,123} O₂ basıncının azalmasıyla hücrelerde serbest oksijen radikalleri ile birlikte nitrik oksit bileşikleri artar. Beynin hipoksik strese duyarlı olmasının nedeni beyindeki hücrelerin lipid yoğunluklarının diğer organlara karşın daha yüksek olması, antioksidan savunma sistemlerinin ise daha zayıf olmasından kaynaklanır.^{16,113} HSP 70 ve Hif1 α'nın ekspresyonları stres altında hızla yükselse de hipoksinin oluşturduğu dejeneratif değişiklikleri engellemekte tek başına yetersiz kalır. Ayrıca normoksik koşullara dönüldüğünde her iki gen bölgesi bir süre sonra işlevsiz hale gelir. Hücrelerde başlayan dejeneratif değişiklikler ise artarak sürer. Bu noktada araştırmacılar antioksidan özellikleri bilinen maddeler kullanarak bu iki gen bölgesini sürekli etkin konuma getirmeyi hedeflemektedir.^{124,125}

Çalışmamızda hipoksi sonrası frontal alanda ve hipokampüs' de etkinliğini değerlendirdiğimiz Gingko biloba'nın, süreye koşut Hif 1α'nın ekspresyonunu her iki beyin bölgesinde devamlılığı sağladığı izlenirken

HSP protein ekspresyonunda özellikle frontal alanda etkin olduğu belirlenmiştir.

Hipoksi ve beyin çalışmalarında artan oksidatif strese karşı kullanılan etken maddelerden biri mitokondriyal E vitaminidir. Triphenylfosfonyum içeren bu madde mitokondriyonlarda birikir. Çalışmada sağ karotid arterin daraltılması ile oluşturulan hipoksi – iskemi modelinde artan dozlarda Mit E vitamini uygulamasının koruyucu etkisi incelenmiştir. 4.35 µM, 43.5 µM, ve 148 µM dozlarda uygulanan antioksidan gruplarında apoptozis azalmasına karşın 435 µM dozda nörotoksik etki görülmüştür. Araştırmacılar ayrıca yalnızca mitokondriyal oksidatif stresin engellenmesinin beyinde görülen hasarı önlemede yetersiz kaldığını belirtmişlerdir.¹²⁶

Maternal hipobarik hipoksi modelinde koruyucu etkisi araştırılan bir diğer etken madde Magnezyum sülfattır. MgSO₄ 'ın iskemik ataklarda serbest oksijen radikallerine karşı merkezi sinir sisteminde koruyucu etkisi bilinmektedir. 4 saat süresince %9'luk O₂ basıncında tutulan gebe sıçanların yavrularında alınan hipokampüs ve talamus bölgelerinde nöronların yapısal özellikleri, çekirdeklerdeki piknozis hematoxilen-eozin boyamasıyla değerlendirilmiştir. Hipoksi gruplarında hipotalamusdaki nöronlarda hücre sitoplazmasının ve çekirdeğinin

bütünlüğünü yitirdiğini belirten araştırmacılar $MgSO_4$ uygulanan hipoksi grubunda nöronlardaki dejeneratif değişikliklerin azaldığını bildirmişlerdir.

2007 yılında Zhua ve ekibinin çalışmasında hipoksik nöronlarda Hif1- α ekspresyonuna ginkgolitlerin etkisi incelenmiştir. Kortikal nöronların 8 saat süresince hipoksiye etki bırakılmasıyla apoptotik hücrelerin arttığını belirten araştırmacılar kültür ortamına ginkgolid eklendiğinde hücrelerin canlılık oranlarının anlamlı ölçüde arttığını belirlemişlerdir. Western blot analizlerinde hipoksi ve ginkgolid uygulanan kültür ortamında, nöronlarda Hif1- α ve EPO ekspresyonunda artış saptadıklarını bildirmişlerdir.¹²⁷

6. SONUÇ

Değerlendirmelerimiz sonucunda, embriyonel dönemde uygulanan hipobarik hipoksinin frontal alanda ve hipokampus'deki nöronlarda stres proteinlerinden olan HSP ve Hif1 α 'yı artırdığı belirlendi. MBP ile yaptığımız değerlendirmede ise, ak maddede immünreaktivitenin azalması hipoksida azalan kas aktivitelerinin bir göstergesi olarak kabul edildi. Hipoksi ve Gingko biloba etkinliğinin birlikte değerlendirildiği deney gruplarında verilerimiz, HSP ve Hif1 α protein ekspresyonunda belirli bir süre uygulamaya koşut olumlu etkilerin görülebileceğini düşündürdü. İnce yapı düzeyinde hipoksi gruplarında eş zamanlı kontrol gruplarına karşın nöron hücre gövdelerinde izlenen yapısal değişimlerde, Gingko biloba'nın geri dönüştürücü etkisi baskın olarak izlenmedi. Bunun yanı sıra hipokampüsde yapılan nörogenezde düzenleyici rolü olduğu düşünülen Chordin ve Noggin proteinlerinin western blot analizlerinde; chordin proteininin, hipoksi uygulaması ile ekspresyonunun azaldığı izlenirken hipoksi ve Gingko biloba uygulamasının ekspresyonu anlamlı ölçüde artırıcı belirlendi. Noggin proteininin yine hipoksi uygulaması yapılan gruplarında eş zamanlı kontrol gruplarına karşın azaldığı izlenirken antioksidan uygulamanın azalan bu ekspresyon üzerinde etkili olmadığı saptandı. Elde edilen veriler ışığında süreye koşut stres proteinlerinin ekspresyonunun artması Gingko biloba'nın uzun süreli uygulamasında daha etkin olabileceği yargısını uyandırdı.

7.ÖZET

Erken gelişim sürecinde oksijen ve enerji dağılımına en duyarlı organ beyindir. Bu nedenle fötüs ve yenidoğanda ortaya çıkan beyin anomalilerinin bilinen en belirgin nedeni gebelikte olaylanan hipoksidir. Diyabetli, kronik hipertansiyonlu, orak hücre anemili, astımlı ya da uyuşturucu madde bağımlısı olan annelerin bebekleri kronik hipoksi tehdidi altındadır. Böyle hastalıkları olan annelerin bebeklerinde intrauterin büyüme geriliği, doğum sonrası yaşamda epilepsi, beyin felçleri, öğrenme güçlüğü ve zeka geriliği ile motor işlevlerde yetersizlik dikkati çekmektedir. Hipoksi sonucu olaylanan işlevsel bozukluklar fötal ya da yeni doğan beyinlerinde önemli yapısal hasarların sonucudur.

Çalışmamızda embriyonel dönemde oluşturulan hipobarik hipoksi modelinde beynin gelişiminde olaylanan dejeneratif değişikliklerde postnatal Gingko biloba uygulamasının Western blotting, elektron mikroskopik ve immünohistokimyasal düzeyde etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda hipobarik hipoksi, % 10 'luk O₂, % 90 N gaz karışımı kullanılarak hipoksik kamarada oluşturuldu. Vajinal plak oluşumu görülen sıçanlar gebeliğinin 0. gününde kabul edildi. Gebeliğin 5. gününde (E5) % 10'luk O₂ gaz karışımı verilen hipoksik kamaralara konuldu ve hipoksi uygulaması gebeliğin 15. güne (E15) dek aralıksız sürdürüldü. Elde edilen erkek yavrulardan bir grubu yalnızca hipoksi uygulanan gruplar olarak

belirlendi ve doğum sonrası 7., 14., 21. ve 28. günlerde beyin dokuları alındı. Bir grubuna ise doğumun gerçekleşmesi ile birlikte yavrulara her gün belirlenen saatte 100mg/kg Gingko Biloba ekstresi oral yolla uygulandı ve 7,14,21 ve 28 günlerde beyin dokuları alındı. Normal atmosfer basında yaşayan gebe sıçanlardan elde edilen erkek yavrulardan ise eş zamanlı kontrol grupları belirlendi ve toplam 12 deney grubu oluşturuldu.

Elde edilen beyin dokuları, Western blotting, elektron mikroskop ve immünohistokimya için alışlagelen yöntemler uygulanarak incelemeye alındı.

Değerlendirmelerimiz sonucunda, embriyonel dönemde uygulanan hipobarik hipoksinin frontal alanda ve hipokampus'deki nöronlarda stres proteinlerinden olan HSP ve Hif1 α 'yı artırdığı belirlendi. MBP ile yaptığımız değerlendirmede ise, ak maddede immünreaktivitenin azalması hipokside azalan kas aktivitelerinin bir göstergesi olarak kabul edildi. Hipoksi ve Gingko biloba etkinliğinin birlikte değerlendirildiği deney gruplarında verilerimiz, HSP ve Hif1 α protein ekspresyonunda belirli bir süre uygulamaya koşut olumlu etkilerin görülebileceğini düşündürdü. İnce yapı düzeyinde hipoksi gruplarında eş zamanlı kontrol gruplarına karşın nöron hücre gövdelerinde izlenen yapısal değişimlerde, Gingko biloba'nın geri dönüştürücü etkisi baskın olarak izlenmedi. Bunun yanı sıra

hipokampüsde nöroenezde düzenleyici rolü olduğu düşünölen Chordin ve noogin proteinlerinin Western blott analizlerinde; Chordin proteininin ekspresyonu hipoksi gruplarında eş zamanlı kontrol gruplarına göre azalırken, Gingko biloba uygulanan gruplarda yalnızca hipoksi uygulanan gruplara göre artış gösterdiği saptandı. Noggin proteinlerinin ekspresyonu hem hipoksi uygulanan gruplarda hem de hipoksi+ Gingko biloba uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre azaldığı belirlendi. Antioksidan uygulamanın noggin ekspresyonunu belirgin olarak etkilemediği izlendi. Yapılan değerdendirmeler sonucunda süreye koşut stres proteinlerinin ekspresyonunun artması Gingko biloba'nın uzun süreli kullanımında daha etkin olabileceği yargısını uyandırdı.

8.SUMMARY

Brain is the most sensitive organ for distribution of oxygen and energy in the early development. Hence, the most significant cause of the brain abnormality seen in fetus and new-born is hypoxia occurred during pregnancy. Babies whose mothers have diabetes, chronic hypertension, sickle-cell anemia, asthma or are drug addict are subjected to chronic hypoxia. It is pointed out that these babies have intrauterin growth retardation, epilepsia after born, cerebral palys, learning difficulties, mental retardation, and disabilities in motor functions. Functional disabilities caused by hypoxia are the consequences of major structural damages occurred in fetus or new-borns' brains.

In our experiment, hypobaric hypoxia was generated in hypoxic camara by using gas mixture of 10% O₂ an 90% N. Rats having vaginal plaque were excepted as they are on their 0. (zeroth) day of their pregnancy. On the 5th day (E5) of the pregnancy, they were put into hypoxic camara filled with the mixture of gas containing 10% O₂ and were continuously held in there until the 15th day (E15) of the pregnancy. A group of male offsprings were assigned to be the group having only hypoxia and their brain tissues were taken out on 7., 14., 21. and 28. days after birth. For another group of male offsprings, 100 mg/kg Gingko Biloba were given by oral path at the same hour of everyday after birth and their brain tissues were taken out on 7., 14., 21. and 28. days after birth.

Simultaneous control groups containing male offsprings born from pregnant rats lived in normal atmospheric pressure were assigned and 12 control groups were generated totally.

Acquired brain tissues were investigated by using usual techniques such as Western blot analysis, immunohistochemical analysis and electron microscopy.

In conclusion of our study, it is revealed that hypobaric hypoxia applied in embryological process increases HSP and Hif1 α , stress proteins in neurons, at frontal area and hippocampus. In an evaluation performed with MBP, decreasing in immunoreactivity of white matter was accepted to be a indicator of decreased muscle activity in hypoxia. Experiment groups in which hypoxia and Gingko biloba activity were evaluated together, our data revealed that with a definite period of application, both hypoxia and Gingko biloba have parallel positive effects on HSP and Hif1 α protein expression. In ultrastructural level, the reverse conversion effect of Gingko biloba on the structural changes observed in neuron cell bodies was not dominantly observed at hypoxia groups despite in simultaneous control groups. In addition Chordin and Noggin, protein which thought to be regulatory role in neurogenesis, in Western blot analyses of hippocampus; Chordin protein is decreased at hypoxia groups compared to simultaneous control groups, it is determined that expression of Chordin

proteins increased at Ginkgo biloba apply group when only compared to hypoxia groups. It is also determined that expression of Noggin proteins decreased both at hypoxia groups and hypoxia+Ginkgo biloba apply groups compared to control groups. It is observed that antioxidant apply didnot affect significantly the expression of Noggin protein. Increased expression of stress proteins as time progresses, has shown that Ginkgo biloba can be more effective in the long-term use.

9. KAYNAKLAR

1. Clark JM. Pulmonary limits of oxygen tolerance in man. *Exp. Lung Res* 1988; 14:897-910
2. Chen W, Ostrowski RP, Obenaus A, Zhang JH. Prodeath or Prosurvival: Two Facets of Hypoxia Inducible Factor-1 in Perinatal Brain Injury. *Exp Neurol*. 2009 March; 216(1): 7–15.
3. Ratan RR, Siddiq A, Smirnova N, Karpisheva K, Layton RH, McConoughey S, Langley BB. Harnessing hypoxic adaptation to prevent, treat and repair stroke. *Mol Med* 2007;85:1331–1338.
4. Ho-Chen JK, Ain R, Alt Ar, Wood AG, Gonzalez NC, Soares MJ. Hypobaric Hypoxia as a Tool to Study Pregnancy-Dependent Responses at the Maternal–Fetal Interface. *Methods in Molecular Medicine*. 2007; Vol. 122:427-434.
5. Zamudio S. The placenta at high altitude. *High Alt. Med. Biol* 2003;4, 171–191.
6. Moore LG. Fetal growth restriction and maternal oxygen transport during high altitude pregnancy. *High Alt. Med. Biol* 2003; 4:141–156.
7. Moore LG, Shriver M, Bemis L, et al. Maternal adaptation to high altitude pregnancy: an experiment of nature—a review. *Placenta* 2004; 25:60–71.
8. Braaksma MA, Bas RK, Nyaka C, Paul G, Aarnoudse JG. Delayed neuronal migration of protein kinase C immunoreactive cells in hippocampal CA1 area after 48 h of moderate hypoxemia in the near term ovine fetus. *Developmental Brain Research* 1999; 114: 254-260.

9. Golan H, Huleihel M. The effect of prenatal hypoxia on brain development: short- and long-term consequences demonstrated in rodent models. *Developmental Science* 2006; 9:4 338–349.
10. White, BM. and Beischer NA. Perinatal mortality in the infants of diabetic women. *Aust N.Z. J Obstet Gynecol* 1990; 30, 323-326
11. Baschat AA, Hecher K. Fetal growth restriction due to placental disease. *Semin Perinatol* 2004; Feb;28(1):67-80.
12. Richardson BS. et al. Fetal cerebral, circulatory, and metabolic responses during heart rate deceleration with umbilical cord compression. *Am J Obstet Gynecol.* 1996; 175:929-936.
13. Moore LG, Shriver M, Bemis L, Hickler B, Wilson M, Brutsaer T, Para E, Vargas E. Maternal Adaptation to High-altitude Pregnancy: An Experiment of Nature—A Review. *Placenta* 2004; 25, Supplement A, Trophoblast Research, 18, S60–S71.
14. Mareová D, Valkounová I, Jandová K, Bortelová J, Trojan S. Excitability Changes of Cortical Neurons during the Postnatal Period in Rats Exposed to Prenatal Hypobaric Hypoxia. *Physiol. Res* 2001; 50: 215-219.
15. Toescu EC. Hypoxia sensing and pathways of cytosolic Ca²⁺ increases. *Cell Calcium* 2004; 36:187–199.
16. Møller P, Risom L, Lundby C, Mikkelsen L, Loft S. Hypoxia and Oxidation Levels of DNA and Lipids in Humans and Animal Experimental Models. *Life* 2008; 60(11): 707–723.
17. Hogan A M, Haan M A, Data A, Kirkham FJ. Hypoxia: an acute, intermittent and chronic challenge to cognitive development. *Developmental Science* 2006; 9:4: 335–337.
18. Covey MV, Murphy MP, Hobbs CE, Smith R AJ, Oorschot DE. Effect of the mitochondrial antioxidant, Mito Vitamin E, on hypoxic–

ischemic striatal injury in neonatal rats: A dose–response and stereological study. *Experimental Neurology* 2006; 199: 513–519.

19. Noh MR, Kim SK, Sun W, Park SK, Choi HC, Lim JH, Kim IH, Kim HY, Kim H, Eun BL. Neuroprotective effect of topiramate on hypoxic ischemic brain injury in neonatal rats. *Experimental Neurology* 2006; 201: 470–478.
20. Naik SR, Pilgaonkar VW, Panda VS. Evaluation of Antioxidant Activity of Ginkgo biloba Phytosomes in Rat Brain. *Phytother. Res* 2006; 20:1013–1016
21. Sadler TW. Langman medical embryology. Başaklar AC (Çev) .9 Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık; 2007
22. Moore KL, Persaud TVN. The Developing Human. 8th. Ed. China: Saunders; 2007.
23. O'Raihillt M. The embriyonic human brain: An atlas of developmental stages (Willey-Liss)1999
24. Carlson MB. Human Embryology and Developmental Biolgy. 4rd. Ed. China:Mossby; 2009.
25. Bystron I, Blakemor C, Rakic P. Development of the human cerebral cortex: Boulder Committee revisited. *Neuroscience* 2008; 9:110-122.
26. Gotz, M, Huttner WB, The cell biology of Neurogenesis. *Nature Rev. Mol. Cell Biol* 2005; 6: 777–788.
27. Gotz M, Barde YA. Radial glial cells defined and major intermediates between embryonic stem cells and CNS neurons. *Neuron* 2005; 46:369–372.
28. Bystron I, Rakic P, Molnar Z, Blakemore C. The first neurons of the human cerebral cortex. *Nature Neurosci* 2006; 9: 880–886.

29. Chan W Y, Kostovic I, Takashima S, Feldhaus C, Didingr GS, Verney C, Yew D, Ulfing N. Normal and Abnormal Development of the Human Cerebral Cortex *Neuroembryology* 2002;1:78–90.
30. Noctor SC, Flint AC, Weissman TA, Dammerman RS., Kriegstein A R. Neurons derived from radial glial cells establish radial units in neocortex. *Nature* 2001; 409: 714–720.
31. Cappello S. et al. The Rho-GTPase cdc42 regulates neural progenitor fate at the apical surface. *Nature Neurosci* 2006; 9: 1099–1107.
32. Gotz M, Huttner WB. The cell biology of neurogenesis. *Nature Rev. Mol. Cell Biol* 2005; 6: 777–788.
33. Gal JS. et al. Molecular and morphological heterogeneity of neural precursors in the Mouse neocortical proliferative zones. *J. Neurosci* 2006; 26:1045–1056.
34. Simonati A, Tosati C, Rosso T, Piazzola E, Rizzuto N. Cell proliferation and death: morphological evidence during corticogenesis in the developing human brain. *Microsc. Res. Tech.* 1999; 45: 341–352.
35. Carney RS, Bystron I, Lopez-Bendito G, Molnár Z. Comparative analysis of extra-ventricular mitoses at early stages of cortical development in rat and human. *Brain Struct. Funct.* 2007; 212: 37–54.
36. Lopez-Bendito G, Molnar, Z. Thalamocortical development: how are we going to get there? *Nature Rev. Neurosci.* 2003; 4: 276–289.
37. Kriegstein A, Noctor S, Martinez-Cerdeno V. Patterns of neural stem and progenitor cell division may underlie evolutionary cortical expansion. *Nature Rev. Neurosci.* 2006; 7: 883–890.

38. Zecevic N, Chen Y, Filipovic R. Contributions of cortical subventricular zone to the development of the human cerebral cortex. *J. Comp. Neurol.* 2005; 491:109–122.
39. Brazel, CY, Romanko M J, Rothstein RP, Levison SW. Roles of the mammalian subventricular zone in brain development. *Prog. Neurobio* 2003; 69: 49–69.
40. Rakic, P. Developmental and evolutionary adaptations of cortical radial glia. *Cereb. Cortex* 2003; 13 :541–549.
41. Quinn JC. et al. Pax6 controls cerebral cortical cell number by regulating exit from the cell cycle and specifies cortical cell identity by a cell autonomous mechanism. *Dev. Biol.* 2007; 302: 50–65.
42. Ulfing N, Neudörfer F, Bohl J. Transient structures of the human fetal brain: Subplate, thalamic reticular complex, ganglionic eminence. *Histol Histopathol* 2000;15:771–790.
43. Arıncı K, Elhan A. *Anatomi 2 cilt.3. Basım.* Ankara: Güneş Kitabevi; 2001:298-322.
44. Taner D, Atasever B. *Foksiyonel Nöroanatomi 6. Basım.* Ankara: ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve iletişim A.Ş.; 2007.
45. Gray H. *Anatomy of the Human Body.* Philadelphia: Lea & Febiger;; 2000.
46. Yıldırım M. (Çev). *Klinik Anatomi 8. Basım.* İstanbul: Nobel;2000.
47. Sur M, Rubenstein John LR. *Patterning and Plasticity of the Cerebral Cortex Science* 2005; 310:805-809.
48. Gartner PG, Hiatt JL. *Color text Book of Histology. 3rd ed.* WB Saunders Co; 2006.
49. Demir R. Çeviri Editörü. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi.* Ankara: Palme; 2006.

50. Erdoğan D, Hatipoğlu MT, Görgün M, Ilgaz C. Özel Histoloji 2. Baskı. Ankara: Hatipoğlu; 2007.
51. Ross MH, Pawlina W. Histology a text and atlas 5th ed. Philadelphia: Saunders; 2006.
52. Erdoğan D, Hatipoğlu MT, Görgün M, Ilgaz C. Genel Histoloji 2. Baskı. Ankara: Hatipoğlu; 2000.
53. Köksel T, Güteryüz A: Kan-Beyin Bariyeri. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2001; 1: 94-99.
54. Nebi Yılmaz. Kan-Beyin Bariyerinin Fiziopatolojisi. Van Tıp Dergisi 2006;13:(1):25-27,
55. Sweeney BP, Grayling M: Opioids, transporters and the blood--brain barrier. Eur J Anaesthesiol 2005; 22: 489-91.
56. Pardridge WM: The blood-brain barrier and neurotherapeutics. NeuroR 2005; 2:1-2.
57. Bauer B, Hartz AM, Fricker G, Miller D: Modulation of p-glycoprotein transport function at the blood-brain barrier. Exp Biol Med 2005; 230:118-27.
58. Duvernoy HM. The Human Hippocampus 3rd Edition. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2005.
59. Fisher TE, Bourque CW, The function of Ca(2+) channel subtypes in exocytotic secretion: new perspectives from synaptic and non-synaptic release, Prog. Biophys. Mol. Biol 2001; 77: 269–303.
60. Peers C, Kemp PJ. Ion channel regulation by chronic hypoxia in models of acute oxygen sensing, Cell Calcium 2004; 36:341–348.
61. Randall AD, Tsien RW. Pharmacological dissection of multiple types of Ca²⁺ channel currents in rat cerebellar granule neurons, J. Neurosci 1995; 15: 2995–3012.

62. Wenger RH. Cellular adaptation to hypoxia: O₂-sensing protein hydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors, and O₂-regulated gene expression, *FASEB. J.* 2002; 16: 1151–1162.
63. Arundine M, Tymianski M. Molecular mechanisms of calciumdependent neurodegeneration in excitotoxicity, *Cell Calcium* 2003; 34:325–337.
64. Gorter JA, Petrozzino JJ, Aronica EM, Rosenbaum DM, Opitz T, Bennett MV, Connor JA, Zukin RS. Global ischemia induces downregulation of Glur2 mRNA and increases AMPA receptor-mediated Ca²⁺ influx in hippocampal CA1 neurons of gerbil, *J. Neurosci* 1997;17: 6179–6188.
65. Semenza GL, Wang GL. A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation, *Mol. Cell Biol* 199; 12: 5447–5454.
66. Chandel NS, Schumacker PT. Cellular oxygen sensing by mitochondria: Old questions, new insight, *J. Appl. Physiol* 2000; 88: 1880–1889.
67. Gonzalez C, Sanz-Alfayate G, Agapito MT, Gomez-Nino A, Rocher A, Obeso A. Significance of ROS in oxygen sensing in cell systems with sensitivity to physiological hypoxia, *Respir. Physiol. Neurobiol* 2002);132:17–41.
68. Paolaa MD, Bozzalia M, Faddab L, Musiccoc M, Sabatinid U, Caltagironeb C. Reduced oxygen due to high-altitude exposure relates to atrophy in motor-function brain areas *European Journal of Neurology* 2008; 15: 1050–1057.
69. Pers C, Dallas ML, Boycott HE, Scragg JL, Pearson HA, Boyle JP. Hypoxia and Neurodegeneration. *Ann. N.Y. Acad. Sci* 2009; 1177: 169–177.

70. Khozhai LI, Otellin VA, Kostkin VB. Formation of the Neocortex in Rats after Prenatal Hypoxia. *Neuroscience and Behavioral Physiology* 2004; 34: 207-212.
71. Baltasi C. The Benefits of Ginkgo Biloba. *Journal of the American Dietetic Association* 2007;107: 432-433.
72. Logani S, Chen MC, Tran T, Le T, Raffa RB. Actions of Ginkgo Biloba related to potential utility for the treatment of conditions involving cerebral hypoxia. *Minireview Life Sciences* 2000;67: 1389-1396.
73. Liu JC, He M, Wan L, Cheng XS. Heat shock protein 70 gene transfection protects rat myocardium cell against anoxia-reoxygenation injury. *Chinese Medical Journal* 2007; 120 (7): 578-583.
74. Buzzard KA, Giaccia AJ, Killender M, Anderson RL. Heat shock protein 72 modulates pathways of stress-induced apoptosis. *The Journal of Cell Biology* 1998; 273: 17147-17153.
75. Piret J, Mottet D, Raes M, Michiels C. Is HIF-1 a pro- or an antiapoptotic protein? *Biochemical Pharmacology* 2002; 64:889-892.
76. Schofield CJ, Ratcliffe PJ. Oxygen sensing by HIF hydroxylases. *Nature reviews. Molecular cell biology* 2004; 5: 343-354.
77. Laderout KL. The interaction between HIF-1 and AP-1 transcription factors in response to low oxygen. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 2005; 16: 502-513.
78. Minet E, Michel G, Mottet D, Raes M, Michiel C. Transduction pathways involved in Hypoxia-Inducible Factor-1 phosphorylation and activation *Free radical biology & medicine* 2001;31: 847-855.

79. Akundi RS, Rivkees SA. Hypoxia Alters Cell Cycle Regulatory Protein Expression and Induces Premature Maturation of Oligodendrocyte Precursor Cells. *Plos One*. 2009; 4 (3):1-11.
80. Boggs JM. Myelin basic protein: a multifunctional protein. Review. *Cellular and Molecular Life Sciences*.1945-1961.
81. Tang J, Song M, Wang Y, Fan X, Xu H, Bai Y. Noggin and BMP4 co modulate adult hippocampal neurogenesis in the APPswe/PS1DE9 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2009; 385 : 341 –345
82. Anderson RM, Lawrence AR, Stottmann RW, Bachiller D, Klingensmith J. Chordin and noggin promote organizing centers of forebrain development in the Mouse. *Development* 2002;129: 4975-4987.
83. Thomas F. Hornbein. The high-altitude brain. *The Journal of Experimental Biology* 2001;204:3129–3132.
84. Maiti P, Singh SB, Sharma AK, Muthuraju S, Banerjee PK, Ilavazhagan G. Hypobaric hypoxia induces oxidative stress in rat brain. *Neurochemistry International* 2006; 49: 709–716.
85. Facep ZK, Honigman B. High-Altitude Medicine. *Facep Emergency Medicine Clinics of North America* 1997;15(1):191-222.
86. Miscio G, Milano E, Aguilar J, Savia G, FoVani G, Mauro A, Mordillo-Mateos L, Romero-Ganuza J, Oliviero A. Functional involvement of central nervous system at high altitude. *Exp Brain Res* 2009; 194:157–162.
87. Basnyat, B, Murdoch, DR. High-altitude illness. *Lancet* 2003; 361:1967–1974.

88. Askew EW. Work at high altitude and oxidative stress: antioxidant nutrients. *Toxicology* 2002;180: 107–119.
89. Maiti P, Singh SB, Muthuraju S, Veleri S, G. Ilavazhagan. Hypobaric hypoxia damages the hippocampal pyramidal neurons in the rat brain. *Brain research* 2007; 1175: 1 – 1759.
90. Titus ADJ, Shankaranarayana Rao B, Harsha HN, Ramkumar K, Sri Kumar BN, Singh SB, Chattarji S. Raju TR. Hypobaric Hypoxia-Induced Dendritic Atrophy Of Hippocampal Neurons Is Associated With Cognitive Impairment In Adult Rats. *Neuroscience* 2007; 145: 265–278.
91. Hota SK, Barhwal K, Singh SB, Ilavazhagan G. Chronic hypobaric hypoxia induced apoptosis in CA1 region of hippocampus: A possible role of NMDAR mediated p75NTR upregulation. *Experimental Neurology* 2008; 212: 5–13.
92. Barhwal K, Hota SK, Baitharu I, Prasad D, Singh SB, Ilavazhagan G. Isradipine antagonizes hypobaric hypoxia induced CA1 damage and memory impairment: Complementary roles of L-type calcium channel and NMDA receptors. *Neurobiol Dis* 2009;34(2):230-44.
93. Zhu LL, Zhao T, Li HS, Zhao H, Wu LY Ding AS, Fan WH, Fan M. Neurogenesis in the adult rat brain after intermittent hypoxia. *Brain Research* 2005; 1055: 1 – 6.
94. Bunn HF, Poyton RO. Oxygen sensing and molecular adaptation to hypoxia, *Physiol. Rev* 1996; 76: 839– 885.
95. Vert P, Daval JL. Cell death and neurogenesis after hypoxia: a brain repair mechanism in the developing rat? *Bull Acad Natl Med* 2006;190(2):469-484.
96. Bossenmeyer-Pourié C, Lièvre V, Grojean S, Koziel V, Pillot T, Daval JL. Sequential expression patterns of apoptosis- and cell

cycle-related proteins in neuronal response to severe or mild transient hypoxia. *Neuroscience*. 2002;114(4):869-82.

97. Mareová D, Valkounová I, Jandová K, Bortelová J, Trojan S. Excitability Changes of Cortical Neurons during the Postnatal Period in Rats Exposed to Prenatal Hypobaric Hypoxia. *Physiol. Res* 2001; 50: 215-219.
98. Simonová Z, Sterbová K, Brozek G, Komárek V, Syková E. Postnatal hypobaric hypoxia in rats impairs water maze learning and the morphology of neurones and macroglia in cortex and hippocampus. *Behav Brain Res*. 2003;15:141(2):195-205.
99. Serrano J, Encinas Jm, Fernández Ap, Rodrigo J, Martínez A. Effects Of Acute Hypobaric Hypoxia On The Nitric Oxide System Of The Rat Cerebral Cortex: Protective Role Of Nitric Oxide Inhibitors. *Neuroscience* 2006; 142: 799–808.
100. FAN JM, CHEN XQ, JIN H, DU JZ., Gestational Hypoxia Alone or Combined With Restraint Sensitizes The Hypothalamic–Pituitary Adrenal Axis And Induces Anxiety-Like Behavior In Adult Male Rat Offspring *Neuroscience* 2009; 159: 1363–1373.
101. FAN JM, CHEN XQ, JIN H, DU JZ. Mueller BR, Bale TL Sex-specific programming of offspring emotionality after stress early in pregnancy. *J Neurosci* 2008; 28:9055– 9065.
102. Ream M, Ray AM, Chandra R, Chikaraishi DM. Early fetal hypoxia leads to growth restriction and myocardial thinning. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008;295(2):583-595.
103. Dubrovskaya NM, Zhuravin IA.. Ontogenetic Characteristics of Behavior in Rats Subjected to Hypoxia on Day 14 or Day 18 of Embryogenesis. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 2010; 40 (2):231-238.

104. Moore LG, Jahnigen D, Rounds SS, Reeves JT, Grover RF. Maternal hyperventilation helps preserve arterial oxygenation during high-altitude pregnancy. *J Appl Physiol* 1982;52:690–694.
105. McAuliffe F, Kametas N, Krampfl E, Ernsting J, Nicolaides K. Blood gases in pregnancy at sea level and at high altitude. *Br J Obstet Gynaecol* 2001;108:980–5.
106. Moore LG, Brodeur P, Chumbe O, D'Brot J, Hofmeister S, Monge C. Maternal hypoxic ventilatory response, ventilation, and infant birth weight at 4,300 m. *J Appl Physiol* 1986;60:1401–1406.
107. Moore LG, Zamudio S, Zhuang J, Sun S, Droma T. Oxygen transport in Tibetan women during pregnancy at 3658 m. *Am J Phys Anthropol* 2001b;114:42–53.
108. Webster WS, Abela D. The Effect of Hypoxia in Development. *Birth Defects Research* 2007; (Part C) 81:215–228.
109. LaManna JC, Chavez JC, Pichiule P. Structural and functional adaptation to hypoxia in the rat brain. *The Journal of Experimental Biology* 2007; 3163-3169.
110. Chen L, Endler A, Shibasaki F. Hypoxia and angiogenesis: regulation of hypoxia-inducible factors via novel binding factors. *Exp Mol Med* 2009; Dec 31;41(12):849-57.
111. Chen L, Endler A, Shibasaki F. Hypoxia and angiogenesis: regulation of hypoxia-inducible factors via novel binding factors. *Experimental and Molecular Medicine* 2009;41(12): 849-857.
112. Sónia CC, Paula MI. Hypoxia-inducible factor 1: a new hope to counteract neurodegeneration? *Journal of Neurochemistry* January 2010;112(1):1-12.
113. Kalpana S, Dhananjay S, Anju B, Lilly G, Ram MS. Cobalt chloride attenuates hypobaric hypoxia induced vascular leakage in rat brain:

Molecular mechanisms of action of cobalt chloride. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2008 Sep 15;231(3):354-63.

114. Zhao T, Zhang C, Liu Z, Wu L, Huang X, Wu H, Xiong L, Wang X, Wang X, Zhu L, Fan M. Hypoxia-driven proliferation of embryonic neural stem / progenitor cells – role of hypoxia-inducible transcription factor-1a. *FEBS Journal* 2008;275: 1824–1834.
115. Greijer, AE, Wall V E. The role of hypoxia inducible factor 1 (HIF-1) in hypoxia induced apoptosis. *J. Clin. Pathol* 2004;57:1009 1014.
116. Bianciardi P, Fantacci M, Caretti A, Ronchi R, Milano G, Morel S, von Segesser L, Corno A, Samaja M. Chronic in vivo hypoxia in various organs: hypoxia-inducible factor-1alpha and apoptosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 2006; 342:875–880.
117. Akakura N, Kobayashi M, Horiuchi I, Suzuki A, Wang J, Chen J, Niizeki H, Kawamura Ki, Hosokawa M, Asaka M. Constitutive expression of hypoxia-inducible factor-1alpha renders pancreatic cancer cells resistant to apoptosis induced by hypoxia and nutrient deprivation. *Cancer Res* 2001;61:6548–6554.
118. Guanghe F, Feng ZP. Chronic hypoxia stress-induced differential modulation of heat-shock protein 70 and presynaptic proteins. *J Neurochem* 2007; 100:50–61.
119. Chen XL, Sun L, Yu P-L, Chen R. Heat shock protein 70 and ischemic brain injury. *Chin J Clin Rehabil* 2006; 10:137–139.
120. Zhang K, Zhao T, Huang X, Liu Z, Xiong L, Li M, Wu L, Zhao Y, Zhu L, Fan M. Preinduction of HSP70 promotes hypoxic tolerance and facilitates acclimatization to acute hypobaric hypoxia in mouse brain. *Cell Stress and Chaperones* 2009;14:407–415.
121. Magalhaes J, Ascensao A, Viscor G, Soares JM, Oliveira J, Marque, F, Duarte JA.. Skeletal muscle ultrastructural and plasma biochemical signs of endothelium dysfunction induced by a high-

altitude expedition(Pumori. 7161 m). Bas Appl. Myol. 2004;91: 185–191.

122. Moller P, Loft S, Lundby C, Olsen NV. Acute hypoxia and hypoxic exercise induced DNA strand breaks and oxidativeDNA damage in humans. FASEB J. 2001; 15:1181–1186.
123. Singh SN, Vats P, Kumria MM, Ranganathan S, Shyam R, Arora MP, Jain,C, Sridharan, K. Effect of high altitude (7620 m) exposure on glutathione and related metabolism in rats. Eur. J. Appl. Physiol 2001;84:233–237.
124. Zhua L, Wua X, Yangb L, Dua F, Ming Z. Qiana.Up regulation of HIF-1 α expression induced by ginkgolides in hypoxic neurons.Brain resarch 2007; 11661 – 11668.
125. Li Z, Lin XM, Gong PL, Zeng FD, Du GH. Effects of Gingko biloba extract on gap junction changes induced by reperfusion/reoxygenation after ischemia/hypoxia in rat brain.Am J Chin Med 2005;33(6):923-934.
126. Covey MV, Murphy MP, Hobbs C E, Smith RAJ, Oorschot DE. Effect of the mitochondrial antioxidant, Mito Vitamin E, on hypoxic–ischemic striatal injury in neonatal rats: A dose–response and stereological study. Experimental Neurology 2006; 199: 513–519.
127. Hallak M, Hotra Jw, Kupsky Wj. Magnesium Sulfate Protection of Fetal Rat Brain From Severe Maternal Hypoxia.Obstetrics & Gynecology. 2000; 96 (1): 124-128.

10. EKLER

17/12/2007 14:32 9003122213202

GU GEN SEK BÜRO

PAGE 01/01



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı

21.12.2006

SAYI : B.30.2.GÜN.0.EU.00.00/123-18366
KONU:

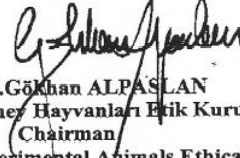
Sayın
Prof.Dr.Celal ILGAZ
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji
Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

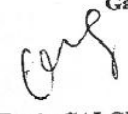
G.Ü.ET-06.085 kod numaralı ve "Gebelikte olayların deneysel hipoksi sonrasında Ginkgo bilobanın postnatal beyin gelişimi üzerine olası etkisi: Western Blotting, elektron mikroskopik ve immunohistokimyasal değerlendirme." başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

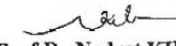
Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-06.085 and entitled "The Probable effects of Ginkgo biloba after the experimental hypoxia in pregnancy on postnatal brain development: Western blotting, Electron microscobic and Immunohistochemical evaluation." is in compliance with Gazi University Ethical Council regulations.

With my best regards.


Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanı
Chairman
Gazi University Experimental Animals Ethical Council

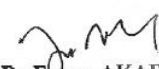

Prof.Dr.Engin ÇALGÜNER

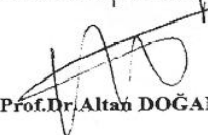

Prof.Dr.Nedret KILIÇ


Prof.Dr.Sevil PEHLİVAN


Prof.Dr.Deniz ERDOĞAN


Prof.Dr.Deniz ERBAŞ


Prof.Dr.Fatma AKAR


Prof.Dr.Altan DOĞAN


Doç.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU


Uz.Vet.Hek.Seyda DİKER

11. TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalışmalarımındaki katkıları ve emeklerinin yanı sıra bilgisi ve hayat görüşü ile yolumu aydınlattığı ve Histoloji ve Embriyoloji ailesinin bir üyesi olmamı sağladığı için danışmanım ve Anabilim Dalı Başkanımız

Prof. Dr. Deniz Erdoğan'a

Eğitim sürecimde bilgi ve deneyimleri ile katkılarından dolayı

Prof. Dr. Tahir Hatipoğlu'na

Prof. Dr. Celal Ilgaz'a

Prof. Dr. Candan Özoğlu'a

Prof. Dr. Suna Ömeroğlu'na,

Eğitimim süresince ve tez çalışmalarımda beni yönlendiren ve destekleriyle yanımda olan

Doç. Dr. Gülnur Take'ye

İlgi ve desteği ile yanımda olan

Doç. Dr. Çiğdem Elmas'a

Birlikte çalıştığım, yorulduğum bu zorlu süreç de beni motive eden, her güçlükte benimle yan yana olan ve tanımaktan onur duyduğum değerli arkadaşım

Arş. Gör. Güleser Göktaş'a

Bana varlıkları ile destek olan çalışma arkadaşlarım

Arş. Gör. Seren Gülşen Gürgen'e, Uzm. Dr. Tayfun Göktaş'a
Arş.Gör. Gülce Naz Saraç'a, Mahmud Bagirzade,'ye Arş. Gör. Dr. Seda

Nur Akyol'a, Arş. Gör. Dr. Semra Ergül'e, Arş. Gör. Dr. Nesrin Gürçay'a,
Arş. Gör. Dr. Oğuzhan Tezcan'a,

AnabilimDalı personelimiz Şemsi Öztürk'e, Recep Orhan'a ve Tekin
Koçak'a

Bu süreç içersinde bana katlanan ve içtenlikleriyle yanımda olan
İpek İnce Sungur'a, Ebru Fisunoğlu'na, Gülay Civelek Özgül'e, Eda
Topçuoğlu'na, Burcu Yücel Şen'e

....Ve bu hayatta var olmamı sağlayan, öğretileriyle ve koşulsuz
destekleriyle yanımda olan Annem Türkan Helvacıoğlu ve Babam İrfan
Helvacıoğlu'na, kardeşlerim Emin ve Esra Helvacıoğlu'na

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Arş. Gör. Fatma Helvacıoğlu

2010 ANKARA

12. ÖZGEÇMİŞ

Arş. Gör. Fatma HELVACIOĞLU

04.03. 1979 yılında Afyon'da doğdu. 1995 yılında Afyon Lisesinden mezun oldu. 1996 yılında Hacettepe üniversitesinde bir yıl boyunca İngilizce hazırlık eğitimi aldı. 1997-2001 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünü bitirdi. 2001-2004 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Histoloji ve Embriyoloji anabilimdalında yüksek lisansını tamamladı. 2004 yılında aynı anabilimdalında doktora eğitimine başladı. 2005 Aralık ayında araştırma görevlisi kadrosuna atandı. Araştırmacı halen aynı bölümde görevine devam etmektedir.