



T.C.

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA POSTNATAL DÖNEMDE BEYİN VE
VENTRİKÜL GELİŞİMİNİN İNCELENMESİ**

BERİN TUĞTAĞ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ANATOMİ ANABİLİMDALI**

KAHRAMANMARAŞ 2012

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RATLARDA POSTNATAL DÖNEMDE BEYİN VE
VENTRİKÜL GELİŞİMİNİN İNCELENMESİ

BERİN TUĞTAĞ

Bu tez,
Anatomi Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS
derecesi için hazırlanmıştır.

KAHRAMANMARAŞ 2012

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Berin TUĞTAĞ tarafından hazırlanan “Ratlarda Postnatal Dönemde Beyin Ve Ventrikül Gelişiminin İncelenmesi” adlı bu tez, jürimiz tarafından 06/08/2012 tarihinde oy birliği / oy çokluğu ile Anatomi Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yakup GÜMÜŞALAN (DANIŞMAN)
Anatomi Anabilim Dalı, KSÜ

Doç. Dr. Davut ÖZBAĞ (ÜYE)
Anatomi Anabilim Dalı, KSÜ

Doç. Dr. Harun ÇIRALIK (ÜYE)
Patoloji Anabilim Dalı, KSÜ

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. M. Akif KILIÇ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Berin TUĞTAĞ

Bu çalışma KSÜ-Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2011/6-1 YLS

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

**RATLARDA POSTNATAL DÖNEMDE BEYİN VE VENTRİKÜL GELİŞİMİNİN
İNCELENMESİ
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

BERİN TUĞTAĞ

ÖZ

Postnatal dönemde ratların beyin hacimlerinin belirlenmesi ve beyin-ventrikül gelişiminde nöronal proliferasyonun, ventriküler- subventriküler zonların yapısının cinsiyete ve dönemlere bağlı olarak hücresele düzeyde ortaya konması hedeflenmiştir.

Üçüncü ventrikülün ön kısımlarından ve lateral ventrikülün pars centralis'inden, ve ayrıca lateral ventrikülün cornu inferius'undan geçen kesitler ki67 ile boyanarak ependimal, subependimal, glial, nöronal hücrelerde proliferasyon indeksleri incelendi.

Noktalı alan ölçüm cetveline göre beyin hacimleri gruplar arasında yaşa paralel artış gösterirken, erkeklerin beyin hacminin dişilere göre daha fazla olduğu bulundu.

Literatürle paralel olarak, çalışmamızın sonucunda ratlarda postnatal dönemde beyin hacminde artış olduğu, ventriküler ve subventriküler bölgede hücre yoğunluğunun yaşla birlikte azaldığı ancak hücresele farklanmaların devam ettiği ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler: Stereoloji, ventrikül, subventriküler zon, ependim hücreleri

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Anatomi Anabilim Dalı, 08/2012

Danışman: Prof. Dr. Yakup GÜMÜŞALAN

Sayfa sayısı: 90

**INVESTIGATION OF DEVELOPMENT OF THE BRAIN AND VENTRICLES IN
THE POSTNATAL PERIOD OF RATS
(M.Sc. THESIS)**

BERİN TUĞTAĞ

ABSTRACT

Determination of the brain volumes of rats in the postnatal period as well as delineating the effects of neuronal proliferation and the structures of ventricular-subventricular zones by means of sexes and developmental periods at cellular level during the development of brain and ventricles were aimed in this study.

In the sections obtained from the anterior part of the third ventricle as well as from the central part of lateral ventricles and from the inferior horn of lateral ventricles, proliferation index of ependymal, subependymal, glial, neuronal cells were examined after staining with ki67.

Brain volumes showed an increase among the groups parallel to age when calculated with point counting grid and brain volume of male rats was found to be larger than females.

we concluded that brain volume of rats increased gradually in the postnatal period, cellular density in ventricular and subventricular regions decreased in contrast with age, however cellular differentiation process continued to happen.

Key words: Stereology, ventricle, subventricler zone, ependyma cells

Kahramanmaraş Sütçü İmam University
Institute for Graduate Studies in Healty
Department of Anatomy 08/2012

Supervisor: Prof. Dr. Yakup GÜMÜŞALAN

Page number: 90

RATLARDA POSTNATAL DÖNEMDE BEYİN VE VENTRİKÜL GELİŞİMİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Bu çalışmada; Postnatal dönemde ratların beyin hacimlerinin belirlenmesi ve beyin-ventrikül gelişiminde nöronal proliferasyonun, ventriküler- subventriküler zonların yapısının cinsiyete ve dönemlere bağlı olarak hücresel düzeyde ortaya konması hedeflenmiştir.

Bu çalışma Sprague Dawley cinsi 1, 7, 14, 30, 60, 90, 120, 150, 180 günlük ratlar üzerinde yapıldı. Ratlar 7 erkek 7 dişi olacak şekilde 8 gruba ayrıldı. Letal doz anestezi sonrası Formaldehit ile fikse edilen beyinlerin hacimleri stereolojik yöntem ile hesaplandı.

Noktalı alan ölçüm cetveline göre beyin hacimleri gruplar arasında yaşa paralel artış gösterirken, erkeklerin beyin hacminin dişilere göre daha fazla olduğu bulundu. Işık mikroskopik incelemede ise 1, 7 ve 14 günlük ratlarda kübik silyalı ve çok katlı hücreler yoğunlukta iken, daha ileri yaş gruplarında tek sıralı kübik silyalı hücreler olduğu ve proliferasyonun azaldığı, ancak lateral ventrikülün cornu inferius'undan geçen kesitlerde proliferasyon indeksinin belirgin derecede yüksek olduğu bulundu.

Sinir dokusunun büyük oranda doğum öncesi dönemde geliştiği, ancak beyindeki bazı bölgelerde yer alan progenitör hücrelerin doğumdan sonraki evrelerde de farklı olarak yeni nöronların gelişimini sağladığı bildirilmiştir. Yine ratlarda postnatal birinci ay boyunca lateral ventriküllerde proliferasyon ve nörogenezin devam ettiği bildirilmiştir.

INVESTIGATION OF DEVELOPMENT OF THE BRAIN AND VENTRICLES IN THE POSTNATAL PERIOD OF RATS

SUMMARY

Determination of the brain volumes of rats in the postnatal period as well as delineating the effects of neuronal proliferation and the structures of ventricular-subventricular zones by means of sexes and developmental periods at cellular level during the development of brain and ventricles were aimed in this study.

Sprague Dawley rats aged 1, 7, 14, 30, 60, 90, 120, 150 and 180 days were used. Eight groups of rats each containing 7 males and 7 females were included in the study. The brains were fixed with formaldehyde and volumes were calculated stereologically.

Brain volumes showed an increase among the groups parallel to age when calculated with point counting grid and brain volume of male rats was found to be larger than females. In light microscopic examination, cubic ciliated and stratified cells were more common in 1, 7, and 14 day-old rats, however in older groups one layered cubic ciliated cells were widespread and proliferation rate decreased. On the other hand, proliferation index was found significantly high in sections passing through the inferior horn of lateral ventricle.

Neuronal tissue is known to develop predominantly in the prenatal period, however progenitor cells in some distinct parts of the brain continued to differentiate and led to the development of new neurons even for some time after birth. In another study, proliferation and neurogenesis were reported on the lateral wall of the lateral ventricles during the first postnatal month of rats.

TEŞEKKÜR

Eğitimim süresince, duygusal- bilimsel teşviğin yanısıra engin hoşgörüsü ile en sıkıntılı anlarımda “**her şey güzel olacak**” diyerek sürekli motive edip, tezimin her aşamasını büyük bir titizlikle takip eden ve öğrencisi olmaktan büyük onur duyduğum hocam sayın Prof. Dr. Yakup GÜMÜŞALAN’a,

Yüksek Lisans eğitimim boyunca, bilgi ve deneyimlerinden geniş ölçüde yararlandığım ve bütün sorularımı büyük bir sabır göstererek cevaplayıp, desteğini ve hoşgörüsünü esirgemeyen hocam sayın Doç.Dr. Davut ÖZBAĞ’ a,

Tezimin histolojik değerlendirmelerini büyük bir titizlik ve özveri ile yapan sayın Doç. Dr. Harun ÇIRALIK’a,

İstatistiksel değerlendirme aşamasında bütün gülyüzlülüğü ile bana yol gösteren sayın Doç. Dr. Tufan MERT’e,

En mutlu ve en sıkıntılı anlarımda yanımda olarak, huzur ve güven dolu sözleri ile yüzümü gülümseten çok değerli arkadaşlarım’a,

Ayrıca...her şeyden önce bana ‘iyi bir insan’ olmayı yaşayarak öğreten ve her zaman her koşulda yanımda olan çok kıymetli ailem’e teşekkür ederim!..

Berin TUĞTAĞ

Kahramanmaraş, 2012

İÇİNDEKİLER

ÖZ.....	I
ABSTRACT	II
ÖZET.....	III
SUMMARY	IV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	XI
1. GİRİŞ	1
1.1. Beyin Gelişimi.....	4
1.1.1. İnsanlarda beyin gelişimi	4
1.1.2. Ratlarda beyin gelişimi.....	6
1.2. Ventriküler Sistem.....	9
1.2.1. İnsanlarda ventriküler sistem	9
1.2.2. Ratlarda ventriküler sistem.....	11
1.2.3. Lateral ventrikül	12
1.2.4. Üçüncü ventrikül	13
1.2.5. Dördüncü ventrikül	13
1.3. Liquor Cerebrospinalis- Beyin omurilik sıvısı (BOS)	14
1.4. Ventriküler ve Subventriküler Zon	15
1.5. Sinir Sistemi Hücreleri	18
1.5.1. Nöron ve özellikleri.....	18

1.5.2. Nöroglia ve özellikleri.....	18
1.6. Suya Daldırma Metodu (SDM).....	20
1.7. Stereoloji	21
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	27
3. MATERYAL VE METOT.....	33
3.1. Materyal	33
3.1.1. Araştırmanın yapıldığı yer	33
3.1.2. Deneklerin seçimi.....	33
3.1.3. Deneysel işlemler	33
3.2. Metod	35
3.2.1. Beynin diseksiyonu	35
3.2.2. Suya daldırma metodu (SDM)	36
3.2.3. Stereolojik işlemler	36
3.2.4. Hata Katsayı ve hesaplanması.....	38
3.2.5. Kesitler üzerinde alan ölçümü ve toplam hacmin hesaplanması.....	39
3.2.6. Histolojik işlemler	40
3.2.7. İstatistiksel değerlendirme.....	41
4. BULGULAR.....	41
4. BULGULAR.....	42
4.1. Stereolojik Bulgular	42
4.2. Histolojik Bulgular.....	48
5. TARTIŞMA	55
6. KAYNAKLAR.....	62

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. İnsanlarda beyin ventriküler sisteminin yapısı ve gelişimi	10
Şekil 1.2. İnsanlarda ve ratlarda ventrikül gelişimi.....	12
Şekil 1.3. Lateral ventrikül'ün lateral duvarı ve hücresel hareketlenmeler.....	17
Şekil 1.4. Merkezi sinir sistemindeki hücrelerin şematik gösterimi	20
Şekil 1.5. Sıvı yer değiştirmesi yöntemi ile hacim ölçümü.....	21
Şekil 1.6. Noktalı alan ölçüm cetveli.	23
Şekil 1.7. Nokta sayımı ile hacim ölçümü yönteminin uygulanması sırasında, kullanılabilecek bir normogram örneği.....	24
Şekil 1.8. Beyinden alınan kesitler	25
Şekil 1.1. SDM'de kullanılan 50 ml'lik erlen	36
Şekil 3.2. 120 günlük ratdan 1 mm'lik aralıklarla elde edilen beyin kesiti.....	37
Şekil 3.3. Dilimlerin elde edildiği fraksiyon bıçağı	38
Şekil 4.1. 1 günlük ratlar'a ait histolojik görüntü kübik silyalı ve strafiye hücre	49
Şekil 4.2. 30 günlük ratlar'a ait histolojik görüntü kübik silyalı, strafiye ve tek sıralı hücre tabakası.....	49
Şekil 4.3. 14 günlük ratlarda KI67 ile boyanan hücreler (kırmızı ile boyananlar).....	52
Şekil 4.4. 120 günlük ratlarda KI67 ile boyanan (kırmızı ile boyananlar).....	52
Şekil 4.5. 1 günlük ratlarda hücre yoğunluğu	53
Şekil 4.6. 150 günlük ratlarda hücre yoğunluğu	54

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Ratlarda embriyonal dönemden başlayarak periyodik meydana gelen hücresel farklılıklar (GD: gestasyon day, PND: Postnatal day).....	8
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan hayvanların gruplama şeması.....	34
Çizelge 4.1. Postnatal 1, 7, 14 ve 30 günlük ratların Cavalieri metoduna göre beyin hacimleri.....	42
Çizelge 4.2. Postnatal 30, 60, 90 ve 120 günlük ratların Cavalieri metoduna göre beyin hacimleri.....	43
Çizelge 4.3. Postnatal 120, 150 ve 180 günlük ratların Cavalieri metoduna göre beyin hacimleri.....	43
Çizelge 4.4. Postnatal 1, 7, 14, 30, 60, 90, 120, 150 ve 180 günlük ratların Cavalieri metoduna göre beyin hacimleri.....	44
Çizelge 4.5. Postnatal 1, 7, 14, 30, 60, 90, 120, 150 ve 180 günlük ratların Cavalieri metoduna göre beyin hacimleri.....	44
Çizelge 4.6. Postnatal 1, 7, 14, 30, 60, 90, 120, 150 ve 180 günlük ratların Suya daldırma Metoduna göre beyin hacimleri.....	45
Çizelge 4.7. Bütün grupların Cavalieri ve suya daldırma metoduna göre beyin hacimleri ve karşılaştırmaları.....	46
Çizelge 4.8. Postnatal 1, 7, 14, 30, 60, 90, 120, 150 ve 180 günlük ratların ağırlıklarının yaşla birlikte değişimi.....	47
Çizelge 4.9. Postnatal 1, 7, 14, 30, 60, 90, 120, 150 ve 180 günlük ratların beyin ağırlıklarının yaşla birlikte değişimi.....	47
Çizelge 4.10. Kruskal wallis ile yaş, kilo ve beyin ağırlıklarının p değerleri.....	48
Çizelge 4.11. Mann- Whitney U ile yaş, kilo, beyin ağırlıkları, suya daldırma metodu ve cavalieri prensiblerinin p değerleri.....	48
Çizelge 4.12. Postnatal 30, 60, 90 ve 150 günlük ratlardaki SVZ'daki proliferasyon indeksleri.....	50

Çizelge 4.13. Bütün grupların SVZ'daki ependim hücre sayılarının yaşla ilişkisi	51
Çizelge 4.14. Bütün gruplardaki SVZ'da bulunan ependim hücre ortalamaları	53

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- SVZ** : Subventriküler zon
- VZ** : Ventriküler zon
- LV** : Lateral ventrikül -Ventriculus lateralis
- 3V** : Üçüncü ventrikül- Ventriculus tertius
- 4V** : Dördüncü ventrikül -Ventriculus quartus
- CM** : Cavalieri metodu
- SDM** : Suya daldırma metodu
- BOS** : Beyin omurilik sıvısı
- CSF** : Cerebrospinal fluid

1. GİRİŞ

Bütün canlılarda hücre bölünmesi ile başlayan gelişim süreci hücre farklılaşması ve göçleri ile devam eder. Tek bir döllenen yumurtadan başlayan bu süreç tam ve eksiksiz bir organizmayı meydana getirinceye kadar tekamül eder. Peki birbirinden çok farklı görevleri yerine getirmek üzere bir araya gelen sistemler birbirleriyle nasıl iletişim halindedirler? Sistemler arasındaki bu denge nasıl sağlanıyor? Aslında bütün bu soruların cevabı tek bir yerde toplanıyor: **Sinir sistemi!...**

Sinir sistemi, nöronlar, glialar ve astrositler ile canlı vücudunun, gelişen son yüzyıl teknolojisine rağmen mekanizmasının tam olarak çözülemediği, ileri düzeyde özelleşmiş sistemlerin üst organizasyonudur. Beyin ise bu organizasyonun merkezini oluşturmaktadır.

Yüzyıllar öncesinden başlayıp günümüze kadar hala ‘gizemli organ’ olma özelliğini koruyan beyin, tarih boyunca birçok bilim adamının ortak ilgi ve merak alanı olmuştur. Beyin ve sinir sistemine ilişkin ilk söylemler MÖ. 4000 yıllarına dayanırken, beynin anatomisiyle ilgili ilk çalışmalar ise MÖ. 2500 yıllarında Mısır papirüslerinde görülmektedir. 18. yy’da Parkinson ve Alzheimer, 19. yy’da şizofreni ve depresyon gibi ruhsal hastalıklar tanımlanırken günümüzde ise beyin ve sinirlerle ilgili olarak bilinen 1000’den fazla hastalığın varlığından bahsedilmektedir. Şüphesiz ki; araştırılmak istenen her konunun doğrudan insanlar üzerinde yapılması imkansızdır. Bu amaçla, çeşitli bilim adamları farklı yollar deneyerek insanın yapı ve organizasyonunu araştırmışlardır. İnsan anatomisini anlamaya yönelik yapılan çalışmalar farklı bilim disiplinlerinde çeşitli yönleriyle ele alınarak incelenmiş, hem insan hem de hayvanlar (rat, kedi, köpek) üzerinde yapılarak insanlığa bilim mirası olarak sunulmuştur. Bergamalı Galen (MS 129-201) hayvanlar üzerinde otopsi yaparak normal anatomik yapıları tanımlamaya çalışmıştır. İnsan anatomisi hakkında en önemli bilgileri, cesetler üzerinde araştırarak insan resimleri çizen Leonardo da Vinci (1452-1519) ise sadece damarların yerini belirleyebilmek için bile on tane ceset açtığını ifade etmiştir.

İnsanlarda beyin ventrikül gelişiminin postnatal dönemde tam olarak araştırılmamış olmasının yanı sıra postnatal yaşamın ilk aylarında da devam etmesi ve bu süreçte deney hayvanı olarak kullanılan rat ve fare gibi hayvanların da kullanılabilir olması yapılan bu çalışmayı daha değerli kılmaktadır. Çünkü insanlarda beyin gelişimi 15-17 yaşlarına kadar devam ettiği halde asıl önemli değişiklik ilk 2 yılda olmaktadır. Ayrıca farklı serebral bölümlerin hacimleri, toplam intrakraniyal hacim (IKH) hayatın ilk 2 yılında hızla artmaktadır ve bu değişikliklerin daha yavaş bir şekilde adölesan döneme kadar devam ettiği bildirilmektedir. Ancak deney

hayvanı olarak kullanılan rat ve fareler serebral organizasyon yönüyle insanlarınkiyle her ne kadar benzerlik gösteriyorsa da gelişimleri incelendiğinde aslında büyük farklılıkların olduğu görülmektedir. Ratlarda sinir sistemi gelişimi daha çok postnatal dönemde olurken, insanlarda prenatal dönemde olmaktadır. Örneğin ratlarda laktasyon transferi (süt akımı) postnatal birinci haftada, insanlarda ise transplazental akımın üçüncü trimesterinde olduğu belirtilmektedir. (Rice, 2000). Bu çalışmanın planlanmasının amaçlarından biri de yukarıda belirtildiği gibi ratlarda beyin ve ventrikül gelişiminin belli periyotlarla basamak basamak incelenip bu süreçlerin insanlarınkiyle karşılaştırılmasıdır. Böylece ratlar üzerinde yapılacak çalışmalar insanlarla kıyaslanırken daha doğru sonuçlar elde edilecektir.

Beyin hacminin gelişime paralel olarak nasıl bir değişime uğradığının belirlenmesi oldukça önemlidir. Çünkü beyin hacmi, gelişimin belirlenmesinde bir köşetaşı olmasının yanı sıra pek çok hastalık için de belirleyici bir tanı kriteridir. Otizm, hiperaktivite bozuklukları, şizofreni, epilepsi, preterm doğumlar ve hidrosefali gibi birçok hastalığın tanı ve tedavisinde önemli rol oynayabilmektedir. Burada esas olan beyin hacmi ile beyin ventrikülleri arasında negatif bir geri ilişkinin olmasıdır. Etrafı tamamen nöral yapılar ile çevrili olan beyin ventrikülleri, motor, duyuşal, görsel yollar ile hayati önemde otonomik ve endokrin merkezlerin bulunduğu anatomik yapılardır. İnsanlarda ve ratlarda dört adet olarak bulunan beyin ventrikülleri diğer yapılarla çok sıkı bir ilişki içinde oldukları ve beyin omurilik sıvısını (BOS) üreterek salgılama yapmaları nedeniyle çeşitli çalışmalarda büyük değişiklik gösterebilmektedirler. Eskiden erişkin memeli sinir sisteminde kök hücrelerin bulunmadığına ve bu nedenle yaşlılık, hasar ve hastalık nedeniyle yitirilen beyin hücrelerinin yerini yenilerinin alamayacağına inanılmaktaydı. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda, erişkin memeli beyninin çeşitli bölgelerinde mitotik aktivite gösteren hücrelerin olduğu saptanmıştır. Embriyonik dönemde beynin ventriküler zonundaki (VZ) nöroepitel kök hücreler; nöron ve gliaların büyük çoğunluğunu meydana getirirken, erişkinde ise ependimal hücrelere dönüşen VZ nöroepitel kök hücrelerinin proliferasyonunu gösteren ileri sürülmüştür. Bunun tersine bazı araştırmalarda ise ependimal hücrelerin erişkinde de bölünmeye devam ettiği bildirilmiştir. Son yıllarda yapılan diğer çalışmalarda, erişkin memelilerde nöron gelişiminin, lateral ventriküllerin subventriküler zonu (SVZ) ve hipokampus olmak üzere başlıca iki bölgede meydana geldiği belirtilmiştir (Köktürk, 2007).

Bu çalışmanın yapılmasının diğer bir amacı da; Yeni doğan ve erişkin sıçan beyni ile lateral ve üçüncü ventriküllerin VZ ile SVZ'da PAS ve KI-67 boyaları kullanılarak histolojik tekniklerle bu bölgelerin yaş ve cinsiyetlere göre mitotik aktivitelerini belirlemektir.

Bu araştırmaların büyük bölümünde gelişimin ilk safhasından itibaren sinir dokusunun temel elemanları olan nöron ve glia hücreleri üzerinde durularak proliferasyon ve migrasyon faaliyetleri histolojik olarak değerlendirilmiştir. Nöron sayısında meydana gelen değişiklikler hem ontolojik hem de toksikolojik çalışmalarda en çok kullanılan değerlendirme yöntemleri arasında yer almaktadır. Zira gelişim sırasında gözlenen nöronal ölümler veya anormallikler canlıda çok çeşitli nöropatolojik durumların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Ayrıca son 80 yıldır genetik ve moleküler boyutta da çok çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Özellikle beynin işlevlerini ve çeşitli beyin hastalıklarını daha iyi anlayabilmek için beyin dalgalarını ölçen EEG, yapısını gösteren tomografi ve manyetik rezonans gibi yeni görüntüleme tekniklerinin geliştirilmesinin yanı sıra sintigrafi gibi ileri tekniklerin geliştirilmesi de beyni anlama ve gizemini aydınlatmada önemli rol oynamaktadır.

Bilginin elde ediliş yöntemleri arasında başta morfometrik çalışmalar olmak üzere histopatolojik ve biyokimyasal çalışmalar gelmektedir. Morfometrik yöntemler ile makro yapılardan mikro yapılara kadar elemanların sayı, hacim, ağırlık ve uzunluk gibi parametreleri değerlendirilebilmektedir. Bu bağlamda, morfolojik kriterlerin özellikleri ile ilgili sayı parametrelerinin hangi ölçüm ve değerlendirme teknikleriyle inceleneceği, araştırma neticesinde elde edilecek verilerin doğru bir biçimde değerlendirilip değerlendirilemeyeceği konusu çok önemlidir. Biyolojik yapılar veya bunların içerisinde bulunan yapısal alanlar, gerçekte uzunluk, genişlik ve yükseklik olmak üzere üç boyutludur. Çıplak gözle makroskopik olarak görülebilecek bu boyutlardaki materyaller algılama sınırlarımız içindedir. Objeler görme sınırlarımızın altında ise, biyolojik materyaller ve onların alt birimleri olan hücre, çekirdek, ekirdekcik, nöron vb. optik cihaz denilen ve objeyi olduğundan fazla büyüterek algılanabilir duruma getiren özel aletler kullanılır. Optik cihazlar kullanılırken materyal ile ilgili n hazırlıkların yapılması zorunluluğu vardır. Sözü edilen bu hazırlıkların devreye girdiği durumlarda, artık dokudan doğrudan bilgi edinme şansı ortadan kalkmış olur. Aslında; mikroskop altında incelenen objeler; sadece üç boyutlu yapılardan alınmış olan iki boyutlu kesit görüntüleridir. Sözü edilen bu görüntüler iki boyut, yani uzunluk ve genişlik (x ve y eksenleri) hakkında fikir verirken, üçüncü boyutları hakkında ise doğrudan bir bilgi sağlayamayacaktır. Çok çeşitli morfometrik değerlendirme yöntemleri olduğu için bu çalışmada, hem aradaki karmaşayı gidermek hem de beyin hacimlerinin kullanılan yöntemlere göre birbirleriyle olan tutarlılıklarını belirlemek amacıyla iki yöntem kullanılarak ölçülmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızın değerlendirilmesinde kullanılan metodolojiden biri, bilim dünyasındaki bu karışıklıkları gidermeye yönelik bir yaklaşım olup, temeli Cavalieri

prensibine dayanan stereolojik yöntemdir. Bu yöntem; ilk defa İtayan bilgin Bonaventura Cavalieri tarafından 17. yy'da ortaya konularak organ veya bileşenlerinin hacimlerini hesaplamaya yönelik olarak geliştirilmiştir. Yukarıda da bahsedildiği gibi stereoloji, organların çeşitli görüntüleme sistemlerine ait kesitleri üzerinden yapının hacmi gibi üç boyutlu özelliklerini hesaplayan metodlar içermektedir. Kullanılan ikinci yöntem ise çeşitli organların hacimlerini belirlemede yüzyıllardır uygulanan suya daldırma metodudur (SDM). Bu metod, sıvı içine daldırılmış bir katının, sıvı içinde askıdaki kuvvetinin, daldırma sırasında yer değiştirmesine sebep olduğu sıvı ağırlığına eşit olduğunu kabul eden Archimedes prensibine dayanmaktadır.

1.1. Beyin Gelişimi

Canlılarda gelişim süreci boyunca beyin, metabolik aktivite ve kimyasal ajanlarla yakın ilişki içindedir. Eğer gelişim esnasında toksik ajanlar devreye girerse nörogenez ve ontogenez olumsuz yönde etkilenecek ve bu etkilenmenin derecesi de organ gelişiminde öncelik-sonralık ilişkisine göre farklı olacaktır. Etkilenen organların en başında ise beyin gelmektedir. Beyin gestasyonun başlangıcından itibaren postnatal gelişim süreci de dahil olmak üzere çeşitli nörotoksik ve farmasötik maddelere maruz kalabilmekte ve doğrudan ya da dolaylı olarak etkilenebilmektedir.

İnsanlarda ve kemirgenlerde (fare, rat...) sinir sistemi gelişim süreci, özellikle de beyin gelişimi periyotları birbirinden önemli oranda farklılık göstermektedir. Kemirgenlerde postnatal gelişimden söz edilirken, insanlarda ise gelişim daha çok prenatal dönemde olmaktadır. Yapı ve fonksiyonel olarak insan ve rat beyni birbirine oldukça benzerlik göstermesine karşılık, bulbus olfactorius gibi bazı yapılar ratlarda insanlara göre daha geniş yer kaplamaktadır. Bu farklılıkların özellikle gelişimin kritik evrelerinde olması oldukça ilgi çekici konulardan birisini oluşturmaktadır. Yani Prenatal veya postnatal gelişim sürecinde insanlarda haftalık periyotlardan bahsedilirken ratlarda günlük gelişim söz konusudur. Örneğin kraniofasiyal gelişim ratlarda 10-16. gestasyon günlerinde olurken, insanlarda 3-7,5. gestasyon haftasında olmaktadır. Bunlara ek olarak üçüncü ventrikül ile koroid pleksusların görülmeye başlanma zamanı ratlarda gestasyonun 13,5. gününe, insanlarda ise gestasyonun 12- 13. haftalarına rastlamaktadır (Rice ve Barone, 2000).

1.1.1. İnsanlarda beyin gelişimi

İnsanlarda doğumda beynin ağırlığı, yetişkinlikteki beyin ağırlığının % 25'ini oluştururken 6. yaşta %95'e ulaşır. Bu artış miyelinizasyon, sinaps oluşumu, nöron olgunlaşması ve glia

hücresi gelişimi ile olmaktadır (Cavines ve ark, 1996). Doğumda miyelinizasyon thalamus'ta başlayarak sinir sisteminin organizasyonel ve işlevsel kapasitesini meydana getirmek üzere aşağıdan yukarıya aşamalı bir gelişim izler.

Yapısal olarak, insan serebral korteksi türler arasında korteks gelişiminin en üst düzeyindedir. Sinir sisteminin gelişiminden önce embriyoda 3. haftada (trilaminar germ diski) üç hücre tabakası ayırt edilir. En iç tabaka olan endodermden gastrointestinal sistem, akciğerler ve karaciğer, mezodermden kaslar, bağ dokusu ve sistemler gelişirken, en dış tabaka olan ektodermden ise kolumnar (silindirik) epitel gelişir ve bu tabaka bütün sinir sisteminin gelişiminin kaynağını oluşturur (Moore ve Persaud, 2003). Ektodermal dokunun özelleşip nöral tüpü oluşturması bu gelişmeler esnasındaki ilk anahtar olaydır. Memelilerde embriyonik dönem boyunca (3. haftanın başı—8. haftanın sonu) tüm major organ sistemleri gelişmeye başlayarak 8. haftanın sonunda büyük oranda işlevsel organların gelişimi de tamamlanmış olur (Moore ve Persaud, 2003). Merkezi sinir sistemi ise 3. haftanın başında primitif düğümün önünde arka orta hatta **nöral plak** olarak adlandırılan ektoderm kalınlaşması şeklinde ortaya çıkar (Moore ve persaud, 2002). Nöral tüpün oluşumu gestasyonun yaklaşık 26-28. günlerine denk gelmektedir. Kapanma servikal bölgede başlayıp sefalik ve kaudal yöne doğru ilerlerken nöral tüpün ön ve arka kısımları geçici olarak açık kalır. Sefalik ucu (anterior por), 18- 20 somitlik evrede, diğer bir deyişle gestasyonun 24-26. günleri arasında tamamen kapanır. Kaudal uç (posterior nöropor) ise, gestasyonun yaklaşık 25. ile 28. günleri arasında kapanır. Kranial nöroporun kapanması servikal bölgedeki kapanma alanından kraniyale doğru ilerler ve bu bölgeden daha sonra ön beyin gelişir (Rice ve Barone, 2000).

Gestasyonun 33. gününde telencephalon, yeni oluşmaya başlayan ventrikülün dış yüzeyini kaplayan farklılaşmamış hücrelerden oluşan psödostratifye kolumnar epitelden ibarettir. Böylece bu şekilde ventriküler sistemin temel yolu kurulmuş olur. Spinal kordun lümeni olan canalis centralis ise, beyin vezikülleri ile devam eder (Netter, 2000).

İnsanlarda her bir hemispherium cerebri gelişimin 5. haftasının başında telensefalik veziküllerin birleşmesiyle oluşur. Gelişim ilerledikçe lobus frontalis, lobus parietalis ve son olarak da lobus occipitalis ile lobus temporalis'i oluşturmak üzere genişleme gösterir. Gelişen beyinde, sağ ve sol hemisferleri prosencephalon'un ön duvarları birleştirir. Lamina terminalis denilen bu kısımdan, daha sonra commissura anterior, fornix ve corpus callosum gelişir (Taner, 2002).

Beyinde meydana gelen bu değişimlere ek olarak insanlarda ve diğer memelilerde gelişim sadece doğum öncesi evrede değil doğum sonrasında da devam etmektedir (Habgood ve ark,

1993). Gebeliğin 3.-4. aylarında, fetüse ait çevresel reflekslerin hemen hemen hepsi gelişmiş durumdadır (Uysal, 2006). Bununla birlikte, doğum anında dahi merkezi sinir sistemine ait bazı yüksek fonksiyonlar oluşmamıştır. MSS'ndeki bazı bölümlerin miyelinizasyonu, doğumdan bir yıl kadar sonra tamamlanmaktadır. Bu gelişim süreci, insanda aşağıdaki aşamalara ayrılarak incelenmektedir.

Beyin, başlangıçta kazandığı % 95'lik hacim için gereken zamanın uzunluğu kadar bir zamanda yetişkin hacmini, yani kalan % 5'ini tamamlar. Fakat beyin yapısındaki ve fizyolojisindeki değişiklikler hayat boyu devam etmektedir. Büyüme oranı intrauterin yaşam ve ilk postnatal aylarda oldukça hızlıdır (Rice ve Barone, 2000). Literatürdeki çalışmalar prenatal gelişimden 8-9 yaşına kadar beyin, ön beyin ve beyin sakının tümünde hücre sayısının arttığını ve su hacminin azaldığını göstermiştir. Normal gelişim sürecinde beyin kan akımı ve metabolizmasında yaşa bağlı değişimler olmaktadır. Örneğin glukoz metabolik hızının mutlak değerleri doğumda en düşük düzeyde iken hızla artarak ilk iki yılda erişkin değerine ulaşmakta ve 3-4 yaşına kadar artmaya devam etmektedir. Bu yüksek değerler 9 yaşına kadar korunup sonra azalmakta ve yaşamın ikinci on yılında tekrar erişkin düzeyine ulaşmaktadır.

1.1.2. Ratlarda beyin gelişimi

İnsan ve ratların beyin gelişim süreçleri her ne kadar spesifik olarak birbirinden farklı olsa da büyük gelişimler genelde aynıdır. Buradaki en belirgin fark ratlarda gelişim günlük zaman dilimlerinde olurken, insanlarda ise haftalık veya aylık periyotlarda olmasıdır.

Nöral plaktan gelişen nöral tüp, ratlarda yaklaşık olarak gestasyonun 10-11. günlerinde oluşmaya başlar. Embriyonik primitif nöral tübün ön ve arka deliklerini oluşturan anterior nöropor gestasyonun 10,5.- 11,5. gününde kapanırken posterior nöropor ise gestasyonun 11,3.- 12,0 gününde kapanır (Rice ve Barone, 2000). Hem insanlarda hem de ratlarda bu erken gelişim esnasında kesintilerin olması beyin ve omurilikte spina bifida ve anensefali (beynin oluşmaması) gibi ciddi merkezi ve periferik sinir sistemi hasarlarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Santral sinir sisteminin özellikle de beynin spesifik bölgelerinin gelişimi ratlarda gestasyonun 9.5 -10.5 gününde oluşmaya başlarken, insanlarda ise gestasyonun birinci ayından itibaren meydana gelir. Bu gelişim sürecinde sırasıyla önce gestasyonun 11-16. günleri arasında metencephalon ve myelencephalon gibi arka beyin, 12. gününden itibaren telencephalon ve diencephalon, en son da beynin lateral bölgeleri gelişir. Ratlarda pons, medulla oblongata ve cerebellum arka beyinden gelişmektedir. Özellikle

cerebellum gelişimi gestasyonun 12. gününden başlayarak postnatal 16-19. günlere kadar devam etmektedir (Rice ve Barone, 2000).

Rat beyninin hızlı büyüme dönemi (brain growth spurt), doğum sonrası 0-21. günler arasında olmaktadır. Bu dönemin insandaki karşılığının ise gebeliğin 2. trimesterinden postnatal yaşamın 2. yılına kadar uzandığı bildirilmiştir (Dobbing, 1970). Bu artışın miyelinizasyon, sinaps oluşumu, nöron olgunlaşması ve glia hücresi gelişimine paralel olarak meydana geldiği düşünülmektedir. Yaklaşık olarak gestasyonun 5-6. günlerinde implantasyonu tamamlanan embriyoda organogenez gestasyonun 8-15. günleri arasında olmaktadır. Yüksek oranda damarlanma ve oligodendroglial hücre proliferasyonu postnatal 0-21. günler arasında olurken, yüksek oranda miyelinizasyon da 16-30. günler arasında olmaktadır (Rice ve Barone, 2000).

Postnatal dönemde sadece beyin ağırlık ve hacim olarak artış göstermekle kalmaz aynı zamanda gerek kraniyofasiyal gelişim (gestasyonun 10-16. günleri), gerekse beyin derin yapılarının gelişimi de hızlı bir şekilde devam etmektedir. Örneğin colliculus superior ve colliculus inferior ile tectum gelişimi postnatal periyot boyunca meydana gelmektedir. Afferent ve efferent yapılarındaki sinaptogenez süreci de bu gelişime paralel olarak artış gösterir. Ayrıca hipotalamus ve talamus'da bulunan çekirdeklerin gelişimi, embriyonun geç dönemlerinde başlayarak fetal safhanın erken evrelerinde sonlanır.

Ratlarda sinir sisteminin hücre bazında da zamansal gelişiminin incelenmesi beyin gelişiminin daha iyi bir şekilde anlaşılmasına büyük katkı sağlayacaktır. Merkezi sinir sisteminin önemli hücrelerinden olan glial ve mikronöronların proliferasyonu da postnatal dönemde devam ederek gelişim sürecinin tamamlanmasında rol alırlar. Hücrelerdeki bu diferensiasyon (farklılaşma) ve sinaptogenezis olayları özellikle kortikal ve subkortikal yapılarda postnatal periyot boyunca devam eder. Çünkü proliferasyon ve migrasyon olayı gestasyonun 8-9. günlerinde başlayarak postnatal 15. güne kadar devam ederken, farklılaşma ve sinaptogenez gestasyonun yaklaşık olarak 15. günlerinde başlayıp erişkin döneme kadar devam etmektedir (Çizelge 1.2)

Çizelge 1.1. Ratlarda embriyonal dönemden başlayarak periyodik meydana gelen hücrel farklanmalar (GD: gestasyon day, PND: Postnatal day)

Embriyonik dönem		Fetal dönem		Doğum		Postnatal dönem	
		<u>Yapısal organizasyon</u>					
		<u>Histogenez</u>					
<u>Organogenez</u>							
GD 8-9	GD 11	GD 15	GD 21-22	PND 15	PND 35-45 (Adult dönem)		
<u>Nörolasyon</u>							
<u>Proliferasyon ve migrasyon</u>							
		<u>Farklılaşma ve sinaptogenez</u>					
<u>Gliogenez</u>							
				<u>Miyelinizasyon</u>			

0-5. günler arasında beynin birçok yapısında sabit bir gelişim söz konusu iken 5- 15. postnatal günler arasında önemli bir gelişim söz konusudur. Bu gelişim yaklaşık 180 güne kadar düzenli bir artış gösterir. Fakat daha sonra biraz azalmış olarak sabit bir seviyede gelişim sonlanır. Literatürde yaşam evreleri aşağıda özetlendiği biçimiyle sıralanmaktadır;

- a. Zigot Evresi: Döllenmeden hemen sonra
- b. İmplantasyon: Gestasyonun 5-6. günleri
- c. Embriyo Evresi: Gestasyonun ilk 15 günü
- d. Fetal Evre: Gestasyonun 15-21. günleri arası
- Doğum
- e. Süt dönemi: 0-21 gün
- f. Preadölesan dönem: 22-60 gün
- g. Adölesan dönem: 60-95 gün
- h. Adult (erişkin) dönem: 95 gün...

Gelişim sürecinde cinsiyetler arasında hem vücut ağırlıklarında hem de beyin ağırlıklarında önemli bir fark bulunmamaktadır. İnsanlardakinin aksine doğumda beyinleri çok az geliştiği için yeni doğan bir yavru ratın beyni insan fetus beyнинin yaklaşık olarak 15. (Fetal gününe denk gelmektedir (Dobbing, 1981). Ratlarda beynin en hızlı büyüme dönemi postnatal 1-15. günler arasında olmaktadır. Özet olarak, ratlarda beynin toplam ve bölgesel ağırlığının yanı sıra hacimsel büyümesi de daha çok postnatal periyot boyunca olmaktadır (Çizelge 1.2.).

Çizelge 1.2. Ratlarda yaşa bağlı olarak beyin ağırlığının karşılaştırılması (Rice ve Barone, 2000)



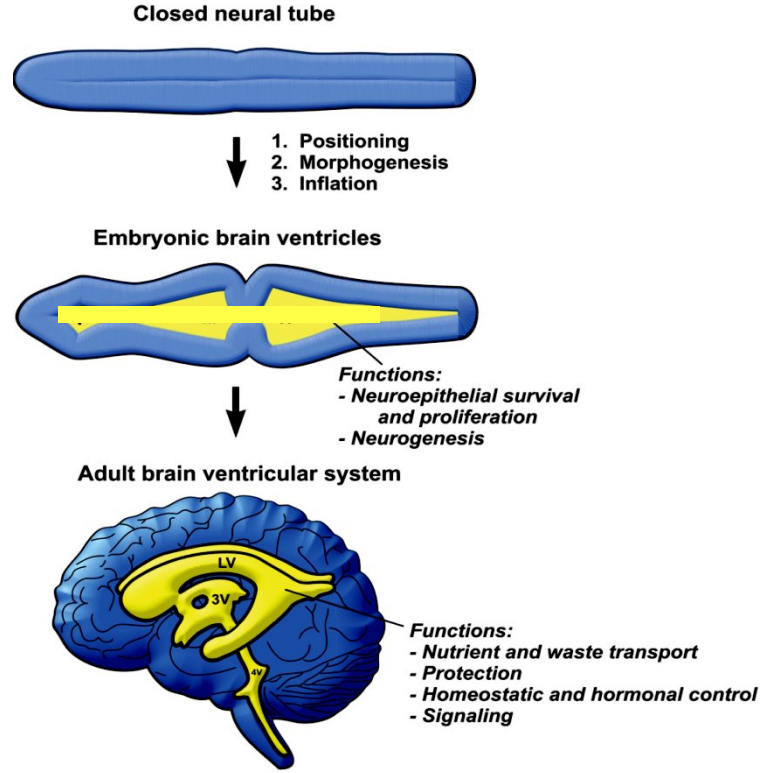
Yapılan araştırmalar göz önüne alınarak, bu çalışmada postnatal birinci günden 180. güne kadar ratlarda beyin ve ventrikül gelişimleri incelenecektir.

1. 2. Ventriküler Sistem

1.2.1. İnsanlarda ventriküler sistem

Merkezi sinir sisteminin gelişiminin erken evrelerinde nöral tüp içinde canalis centralis bulunur. Beynin ileri derecede genişleme gösterdiği belirli yerlerde bu kanal da genişleyerek ventrikülleri meydana getirir (Dere, 2000). Ventriküler sistem; ventriculus tertius (3. ventrikül), ventriculus quartus (4. ventrikül) ve ventriculus lateralis (2 tane lateral ventrikül) olmak üzere ependim epitelle kaplı, beyin omurilik sıvısı ile dolu ve birbiri ile bağlantılı boşluklardan oluşmaktadır. Bu boşluklar beyin ve medulla spinalis etrafındaki spatium subarachnoideum (subaraknoid aralık) ile bağlantılıdır. Her bir hemispherium cerebri içindeki boşluk ventriculus lateralis, iki diencephalon arasında yer alan kavite ise ventriculus tertius olarak bilinir. Gelişimin devam etmesi ile orta beyin kavitesi küçülerek aquaeductus cerebri

(sylvius kanalı)'yi oluşturur. Tüm arka beyin kavitesi ise ventriculus quartus'u oluşturur (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. İnsanlarda beyin ventriküler sisteminin yapısı ve gelişimi (Lowery and Sive, 2009)

Beyin ventriküler sistemi nöral tüpten gelişmektedir. Nöral tüpün 4. çift somit hizasından başlayan kaudal kısmından medulla spinalis gelişirken ilerleyen haftalarda nöral tüpün lateral duvarları kalınlaşır. 9–10. haftalara kadar medulla spinalis için dar bir merkezi kanal kalıncaya kadar nöral tüpte çap azalması devam eder. Yeni kapanan nöral tüp tek katlı silindirik nöroepitel ile döşelidir ve ilerleyen zamanlarda hücreler mitoz bölünme göstererek psödostratifiye (yalancı çok katlı) bir nöroepitel oluşturur. Nöral tüp duvarında, telensefalik hemisfer duvarında da izlenebilen dört konsantrik zon gelişir. 1970 de zonlarla ilgili terminolojik karışıklık nöroembriyoloji’de standardize edilmiştir. Nöral tüpün iç kısmında kalan nöroepitelyal hücreler *ventriküler tabakayı* (ependimal tabaka) oluşturur ve bu tabakadan omuriliğin büyük glial hücreleri olan makroglial hücreler (astrozitler ve oligodentrositler) ve tüm nöronlar gelişir (Moore, 2003; Sadler, 2005). Ventriküler tabakadaki nöroepitel hücrelerden bazıları bölünüp primordial nöronlara (nöroblastlara) farklılaşır ve farklılaşan hücreler ventriküler ve marjinal tabakaların arasında *zona intermediata (ara tabaka)*'yi oluşturur. tabakalar ventrikül boşluğundan hemisferin dış yüzüne doğru

sıralanırlar. Bu zonlarda erken embriyonik dönemden (olgun beyin) oluşana kadar, belirli bir sıra ile değişiklikler olur (Moore, 2002; Moore, 2003).

1. Ventriküler zon: İlk oluşan zondur. Ventrikül boşluğuna komşu en iç zon olup psödostratifiye kolumnar epitel hücrelerinden oluşur. Epitel hücreleri mitotik ve intermitotik formdadırlar. Psödostratifiye epitel hücreleri burada ependim farklılaşmasından önceki aşamadaki hücrelerdir. Bu epitel hücrelerinin çekirdekleri kendi radial sitoplazmik uzantıları içinde hareket ederler. Bu esnada ventriküler düzeyde mitotik bölünmeye devam ederler. Ependim farklılaşmasından sonra ise mitotik aktivite durur.

2. Marjinal zon: İkinci olarak oluşan zon hemisfer yüzeyinde bulunur. Hücresiz olan bu zon erken dönemde ventriküler zondaki hücrelerin dıştaki sitoplazmik uzantılarından meydana gelir. Daha sonra, diencephalon ve mesencephalon'dan çıkan aksonlar ortama hakim olur. Korteks tabakalarını yapacak kortikal plak bu marjinal zon içinden gelişir (Sadler, 2005).

3. İntermediate zon: Üçüncü oluşan tabaka olup ventriküler ve marjinal zonlar arasında yerleşmiştir. Bu tabakayı erken dönemlerdeki hücresel migrasyon evresindeki postmitotik nöronlar oluşturur.

4. Subventriküler zon: En son olarak oluşan bu zon özellikle, migrasyon yapan nöronlara yol gösteren radial glial hücreler başta olmak üzere, proliferatif glial hücre barındırır. Gestasyonun ikinci yarısında, subventriküler zon nöroblastlara subependimal germinal matriks görevi yapar. Ependim farklılaşmasından sonra ise ventriküler zona dönüşür (Bölük, 2012).

Ventriküllere yakın olan bölgeye “proliferatif alan” denir ve genç nöronları içerir. 12. haftadan 20. haftaya kadar bu nöronlar orijinlerinden kortekste oluşturacakları bölgelere göç ederler ve glial hücrelerin bir kısmını oluştururlar. Beynin gövde kısmının miyelinizasyonu 29. haftada bölgesel olarak başlar ve genellikle aşağıdan yukarı ve arkadan öne doğru ilerler. Major gelişimin önemli aşamalarından biri olan sinapsların çoğalması ve düzenlenmesi gebeliğin 20. haftasında başlar. Sinaptik duyarlılık ise doğumdan sonra hızla artar ve 2 yaş civarında yetişkinde görülen seviyesinin yaklaşık yarısına ulaşır. (Seftalioğlu, 1998; Lenroot ve Giedd, 2006).

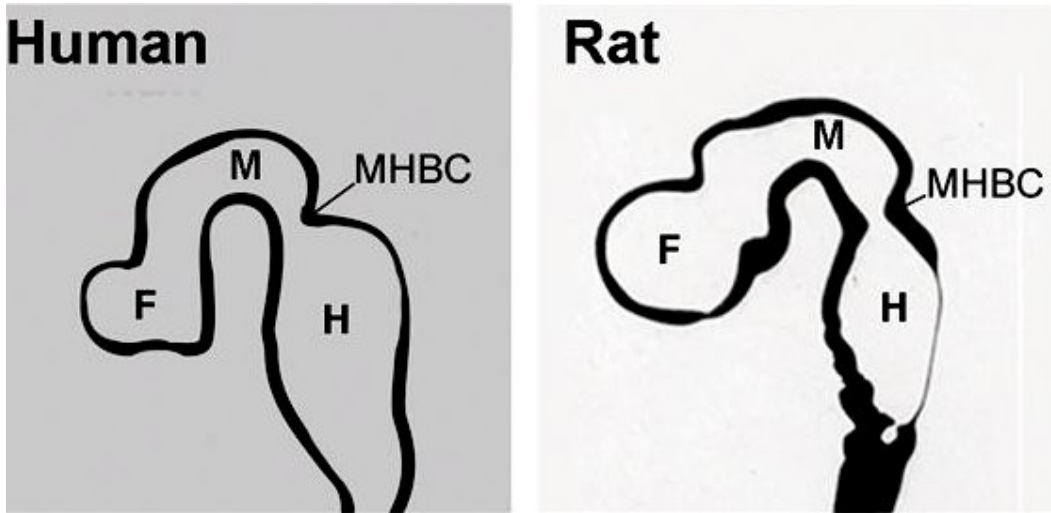
1.2.2. Ratlarda ventriküler sistem

Vertebralıların beyini ve beyin sistemi, nöroepitel doku tarafından çevrelenen ve beyin omurilik sıvısı ile dolu bir seri boşluk ile ilişkilidir. Ventrikül duvarlarını döşeyen plexus choroideus'lardan ise Beyin Omurilik Sıvısı (BOS) üretilmektedir. Beyin omurilik sıvısı hem

embriyoda hem de yetişkinde çok önemli bir yapıya sahip olup gelişimi ve fonksiyonu tam olarak anlayamamıştır.

Ratlarda ventriküler sistem ile insanlardaki ventriküler sistem hemen hemen aynı yapı ve özelliğe sahiptir (Şekil 1.2). Sadece gelişim dönemlerinde farklılıklar bulunmaktadır. Örneğin üçüncü ventrikül ile koroid pleksusların görülmeye başlanma zamanı ratlarda gestasyonun 13, 5. 14,5 gününe, insanlarda ise gestasyonun 48-51. gününe rastgelmektedir.

Kısaca; rat ventriküler sistemi; birbirleriyle bağlantılı boşluk ve kanallardan meydana gelmiştir. Her serebral hemisfer, foramen interventriculare (foramen Monroe) yoluyla üçüncü ventrikül ile bağlantılı geniş birer lateral ventrikül bulundurmaktadır. Üçüncü ventrikül ise orta hatta yerleşmekte olup sağ ve sol olmak üzere her iki talamus ve hipotalamus arasında bulunan ince bir boşluktan meydana gelmektedir. Aquaeductus cerebri (Aquaeductus Sylvii) aracılığı ile de dördüncü ventrikülle bağlantı kurar. Dördüncü ventrikül ise beyin sapı ve cerebellum arasında yer alan geniş bir boşluktur.



Şekil 1.2. İnsanlarda ve ratlarda ventrikül gelişimi (Lowery and Sive, 2009)

1.2.3. Lateral ventrikül

Lateral ventriküller her bir hemisferin içerisinde bulunan uç uzantılı boşluklar olup ventriküler sistemin en kranialde olanıdır. Her iki tarafın lateral ventrikülleri ortada septum pellucidum ile birbirinden ayrılmıştır. İç yüzü ependim hücreleri ile döşeli olup, içerisinde de beyin omurilik sıvısı (BOS) - cerebrospinal fluid (CSF) bulunur. Üçüncü ventriküle sağlı sollu foramen interventriculare (Monro deliği) ile bağlantılıdır. Pars centralis, cornu frontale (cornu anterius), cornu occipitale (cornu posterius), cornu temporale (cornu inferius) olmak üzere 4 bölümden oluşur (Arıncı, 2001).

Pars centralis, foramen interventriculare'den splenium corporis callosi'ye kadar uzanır. Tavanında corpus callosum'un alt yüzü, iç duvarında ise thalamus, nucleus caudatus, stria terminalis, vena thalamostriata, plexus choroideus ventriculi lateralis, lamina affixa ve fornix'in corpus'u bulunur. Cornu frontale (cornu anterius), yan ventriküllerin foramen interventriculare'nin ön tarafında kalan bölümü olup, nucleus caudatus'un ön ucunun iç yüzü etrafında dolanarak frontal lob içerisine uzanır (Arıncı, 2001). Cornu occipitale (cornu posterius), yan ventriküllerin oksipital lob içerisine uzanan dar ve uzun arka bölümüdür. İç duvarında calcar avis denilen uzunlamasına bir kabartı görülür. Corpus callosum'un forceps occipitalis (major)'u calcar avis'in üzerinde oluşturduğu ikinci çıkıntıya bulbus cornus occipitalis (posterioris) denir. Cornu temporale (cornu inferius), yan ventriküllerin temporal lob içerisine giren bölümü olup yaklaşık 2,5 cm uzunluğundadır (Karacan, 2008; Urgun 2010).

1.2.4. Üçüncü ventrikül

Üçüncü ventrikül corpus callosum ve lateral ventrikül pars centralis'inin altında; sella turcica, hipofiz bezi ve mesencephalon'un üzerinde, thalamus ve hypothalamus'un her iki yarısı arasında yerleşmiştir. Anterosuperior kenarında foramen Monroe'lar yoluyla her iki lateral ventrikül ile ilişki halindedir. Üçüncü ventrikül çatısı anteriorda foramen Monroe'dan, posteriorda recessus suprapinealis'e kadar yukarı doğru hafif bir yay şeklinde uzanım göstermektedir. Üçüncü ventrikül tabanı anteriorda chiasma opticum, posteriorda aqueductus cerebri'nin üst açıklığına kadar uzanmaktadır. Tabanın anterior yarımı diensefalik yapılar, posterior yarımı ise mezensefalik yapılar tarafından oluşturulmuştur. Alttan incelendiğinde tabanı oluşturan yapılar anteriordan posteriora doğru chiasma opticum, hypothalamusun infundibulumu, tuber cinereum, corpora mamillare, substantia perforata posterior ve serebral pediküllerin medial yüzeyinin üzerindeki tegmentum olarak sıralanırlar (Arıncı, 2001).

1.2.5. Dördüncü ventrikül

Cerebellum'un ön tarafında, medulla oblongata'nın üst yarısı ile pons'un arka tarafında yer alan dördüncü ventrikül kaudalde canalis centralis ile devam eder. Dördüncü ventrikülün tabanı fossa rhomboidea olarak isimlendirilir. Tavanı (arka duvarını) üst tarafta velum medullare superior, alt tarafta dördüncü ventrikülün plexus choroideus'u; tabanını (ön duvarını) ise fossa rhomboidea oluşturur. Üst dış kenarını pedunculus cerebellaris superior, alt dış kenarını tuberculum gracile ve tuberculum cuneatum ile pedunculus cerebellaris inferior

oluşturur. Dördüncü ventrikül; foramen magendie ve foramen luschka adı verilen delikler aracılığı ile spatium subarachnoidale ile bağlantı kurar (Arıncı, 2001; Karacan, 2008)

1.3. Liquor Cerebrospinalis- Beyin omurilik sıvısı (BOS)

İlk defa yaklaşık 200 yıl önce tanımlanan beyin ventriküler sisteminin yüksek mental fonksiyonları olduğuna inanılmaktaydı (Zoran, 2005). Daha sonraları bu inanışın yanlış olduğu, aslında ventrikül duvarını döşeyen ependim tabakasındaki silialar tarafından BOS üretiminin yapıldığı ve bu sıvının yaşamsal- nörogenez olaylarını düzenleyen moleküler sinyaller taşıdığı belirtilmiştir. Ayrıca bu serebrospinal sıvı sadece choroid plexus'lardan değil aynı zamanda bazen ventrikül duvarındaki astar hücrelerinden de üretilebildiği belirtildi (Lowery and Sive, 2009).

Embriyonik beynin ventriküler boşluğu onu saran nöroepitelin pozisyonunu ve şeklini doğrudan yansıtır. Yani beyin ventriküllerinin gelişiminin çeşitli yönlerden koordinasyonunu sağlayarak ventriküllerin doğru pozisyon almasını sağlar (Paxinos, 2004). Daha sonra ise düzenli hücre ölümleri ile ventriküller son şeklini alırlar. Sonuçta nöroepitelyal dokudan ilk BOS salgılanarak ventriküller şişer. Nöronal proliferasyon ve determinasyonun düzenlenmesinde embriyonik BOS'un üretilmesi oldukça önemli olup nöroepitelyal proliferasyon neredeyse tamamen ventrikül yüzeyinde embriyonik BOS ile temas halindedir (Lowery, 2009). Embriyonik BOS'un içerdiği faktörler erken pluripotent hücrelerin üretilmesi için vazgeçilmez bir olaydır. Yani ventrikül ne kadar büyükse proliferasyon da o kadar fazladır.

Ependim hücreleri ventriculus cerebri ve medulla spinalis ortasındaki canalis centralis'in duvarlarını çevreler. Tek sıra kübik epitelyum hücrelerine benzer biçimde dizilirler. Ventriculus cerebrilerin duvarındaki plexus choroideus da ependim hücreleri ile örtülüdür. Bu tür glia hücreleri mezoderm kökenli merkezi sinir sistemi zarları ile yakın ilişki içinde olup piamater ile birlikte tela choroidea'yı yapar. Ependim hücrelerinde uzun uzantılar bulunmazken erişkinde hücrelerin taban bölümünden kısa uzantılar çıkarak alt dokuda yayılırlar. Ependim katının başlıca görevleri desteklik ve salgı yapmaktır. Tela choroidea'daki ependim hücreleri BOS'nı salgırlar (Lowery, 2009).

BOS büyük bir kısmı ventriculus lateralis'lerde olmak üzere ventriculus cerebri'lerdeki plexus choroideus'lar tarafından salgılanır. Cerebrum ve medulla spinalis'in etrafındaki spatium subarchoideum ile ventriculus cerebri ve medulla spinalis'in canalis centralis'inde bulunan BOS'un toplam miktarı 80–150 ml. arasında değişir. Ortalama 130 ml. kadardır.

Bunun 15–40 ml.'si beyin ventriküllerinde, büyük bir kısmı lateral ventriküllerde, geri kalan bölümü ise spatium subarachnoideum'da bulunur. Her iki ventriculus lateralisteki plexus choroideus'un yüzeyi 40 cm² olup buradan BOS'un yaklaşık olarak % 70'i salgılanır. BOS, sinus sagittalis superior aracılığı ile villi arachnoidale'lerden venöz dolaşıma katılır (Arıncı ve Elhan, 2001).

1.4. Ventriküler ve Subventriküler Zon

Yetişkin memelilerde lateral ventriküllerin lateral duvarı boyunca bulunan germinal zon tabakasına ventriküler zon adı verilir (Alvarez- Buylła, 2002). Yalancı çok katlı silindirik epitel hücre yapısında olan ventriküler zon mitotik olarak aktif bir özellik göstermektedir. Ventriküler zon (VZ) beyin merkezi sinir sisteminin, ya doğrudan veya dolaylı olarak sadece parankimasına değil aynı zamanda destek hücrelerine de kaynaklık etmektedir. Çünkü VZ'da multipotent psödostratifik hücre kümeleri bulunmaktadır (Alvarez- Buylła, 2002).

Ratlar üzerinde yapılan çalışmalarda gestasyonun 12. gününde ortaya çıkmaya başlayan ventriküler zon'un yüzeyel tabakası çok kısa bir süre içinde diğer tabakalardan ayırt edilecek bir görünüm kazanmaktadır. Gelişmekte olan beyinde dört major proliferatif populasyonun varlığı bildirilmekte olup bunlardan ilki ventriküler zon'da gözlenen hücrelerdir (Nowakowski, 2005). Yapılan araştırmalarda yukarıda sözü edilen bu hücre dizileri üzerinde gelişimin biraz daha geç evrelerinde ortaya çıkan hücre bölgesine subventriküler zon (SVZ), hücre tipine ise subventriküler hücreler adı verilmektedir. Embriyonal dönemde ventriküler ve subventriküler zonda proliferasyonun başlaması gestasyonun 13.-18. günlerine tekabül etmektedir (Takahashi, 1995). Diğer iki proliferatif populasyon serisi ise beyin spesifik lokalizasyonlarına kaynaklık edecek seriye ait hücre dizileri olup, bunlardan ilki serebellumun granüler tabakasının oluşumuna, diğeri ise dental girusun subhilar bölgesine kaynaklık etmektedir. Yapılan araştırmalarda, gelişme periyodunun sonunda, sözü edilen bu proliferatif populasyon hücrelerinin erişkin beyninin tüm hücrelerine kaynaklık ettiği belirtilmiştir.

İlk zamanlarda VZ ve SVZ'daki hücrelerin kökenleri ve fonksiyonları hakkındaki bilgiler oldukça yetersizdi. Çünkü yetişkin beyinde yeni nöronların nasıl oluştuğu ve nereden kaynaklandığı sinir sisteminin en girift konularından birini oluşturmaktaydı. Fakat son yıllarda yapılan çalışmalar VZ ve SVZ'daki progenitör hücrelerin nöronların kökenini oluşturduklarını ortaya koymuştur. Bu progenitör hücreler ise embriyonik kök hücrelerden köken almaktadırlar. Nöral embriyonik kök hücreleri memeli beyinde yedi bölgede yerleşik olup bunlardan en önemlilerini VZ ve SVZ'daki hücreler oluşturmaktadır. Çünkü bu

bölgelerde bulunan hücreler nöral kök hücrelerin işaretçisi olan nestin içermektedirler (Tarlacı, 2012).

VZ'da yoğun mitotik faktörlerin olması bu alanın "bir germinal merkez" olduğunun açık bir göstergesidir. Buradaki hücreler ilgili zonun daha üst bölgelerine göç ederek postmitotik nöroblastlara, bu nöroblastlar da merkezi sinir sisteminin çeşitli tipteki nöronlarına dönüşmektedirler. Ayrıca ventriküler zonun geri kalan progenitör hücreleri gelişimin sonraki aşamalarında bir spongioblast sınısityumu oluşturmak suretiyle destek hücrelerine yani glioblastlara, glioblastlar ise sonraki aşamalarda astrosit ve oligodendrositlere dönüşebilmektedirler.

Ventriküler zondaki hücrelerin çekirdeklerinin büyüklük ve görünüşleri birbirlerinden farklıdır. Bu hücrelerin her biri silindirik şekilde olmaları dışında hem ventriküler hem de pial yüzeyle bağlantılara sahiptirler.

Nükleer göç, embriyoloji literatüründe "interkinetic nuclear migration" olarak adlandırılmakta olup tüm silindirik ve yalancı çok katlı silindirik epitellerde görülmesi konuyu bir başka açıdan teyit etmektedir (Karacan, 2008).

Türler ve farklı beyin bölgeleri arasında dikkat çekici orandaki farklılıklar esas itibariyle ikinci proliferasyon zonunda (SVZ) gözlenmektedir. Arşikorteks olarak sınıflandırılan hipokampus'un büyük bir bölümünü içine alan parçası ventriküler zon'dan köken alırken, neokorteks olarak adlandırılan beyin bölgesi ikinci proliferasyon zon'undan (SVZ) kaynaklanmaktadır. Zonlar arasındaki bu ilişki zamanlama farklılığından ileri gelmektedir. Yani önce birinci zondaki aktivite sonucunda serebral korteks tabakalarının oluşumu tamamlanmakta, ardından ikinci proliferasyon zonundaki aktiviteyle ilgili yapılar ortaya çıkmaktadır (Keleş, 2007).

SVZ morfolojisinde endodimal bölgede en az dört farklı hücre grubu bulunmaktadır. Tip A hücreleri uzun zincirler oluşturarak genç göç eden nöron özelliğinde iken, Tip B hücreleri (astrositler) bu zincirlerin etrafını sararlar. Tip A hücrelerinin yakınında yer alan Tip C hücreleri de şekil itibariyle daha küresel olup yüksek oranda proliferatif özelliğe sahip prekürsörlerdir. En son hücre grubu ise Tip E hücreleri olup VZ ile SVZ arasında bulunan endodimal hücre grupları olarak adlandırılırlar (Şekil 1.3). Morfolojik olarak Tip B hücreler yani astrositler embriyonik progenitör hücrelerine benzer kısa ve tek silyalara sahip iken Tip E hücreler yani endodimal hücreler ise uzun ve çok sayıda silyalara sahiptir. A hücreleri

kendi kendine bölünerek çoğalabilme kapasitesine sahiptirler. B ve C hücreleri ise A hücrelerinin üretimine ciddi oranda katkı sağlayan gruplar oluştururlar.



Şekil 1.3. Lateral ventrikül'ün lateral duvarı ve hücre hareketlenmeler. Bu bölgedeki kök hücreler sol kesitte, ön kısma doğru gösterilen büyük ok yönünde göç ederler. Ependimal tabakadaki (E) kök hücreler hızlı bölünen progenitör hücreleri meydana getirirler (oval hücreler). Bunlar yeni doğan nöronlara farklılaşırlar (koyu mavi hücreler). Astrositler (yıldız hücre) ependimal ile progenitör hücre tabakası arasında bağımsız hücreleri oluşturabilirler. V: Ventrikül, E:ependimal tabaka, SVZ: Subventriküler zon

SVZ'da yerleşik hücrelerin bir diğer önemli özelliği ise bu hücrelerin ventriküler yüzeye yapışma özelliği göstermeleridir.. Bu özellikleri onların glia hücre oluşumuna katılmaları açısından önemli bir avantaj sağlamaktadır. Glia hücrelerinin ikinci proliferasyon zonundan (SVZ) kaynaklandığı bu tabakanın nöron gelişiminin ardından glia hücrelerine kaynaklık ettiği ifade edilmektedir (Tarlacı, 2012).

Son yıllarda ratlar üzerinde yapılan bazı çalışmalarda postnatal dönemde meydana gelen göçten hücrelerin proliferasyonlarının ventriküler zon ile bulbus olfactorius ve hipokampus gibi dinamik bazı merkezlerde yaygın olarak gerçekleştiği bildirilmektedir. İnsanlarda ve ratlarda ventriküler zondaki hücreler derin tabakadan yüzeyel tabakaya doğru gelişim gösterirken neokortekste altı lamina ayırt edilir. Gestasyonun ilk günlerinde ilk oluşan hücreler önce bu laminalara, daha sonra da ventriküler zona göç ederler. Bu göçlerin belirlenmesinde sadece kortikal laminalar değil hücre yoğunlukları, ekstraselüler matriks, glioneogenez, miyelinizasyon ve nöral dokunun farklılaşması gibi faktörler önemli rol oynar. Miyelinleşme zamanının yanı sıra proliferasyon süresinin bozulması da göç olayını etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Ratlarda miyelinizasyon olayı postnatal 2. haftada en yüksek seviyeye ulaşır. Ancak bu esnada ontolojik gelişimi etkileyecek nörotoksik ajanlar ve

beslenme gibi dış faktörler miyelinleşmeyi ve doğal olarak da VZ'daki hücre proliferasyonunu ciddi oranda etkilerler.

VZ ve SVZ içerdikleri hücre davranışları bakımından farklıdırlar. VZ'daki progenitörler stereotipik tarzda (interkinetik nükleer migrasyon) proliferer olur. Yani DNA derin bölgede replike olurken hücre bölünmesi daima lateral ventrikülün yüzeyinde olur. SVZ'daki hücreler ise bölünürken hareket göstermezler. Sadece nükleer translokasyon olmaksızın in situ proliferer olurlar. Ayrıca VZ temelde geçici bir embriyonal yapıdır. Yani nörogenез sonunda bu bölge tamamen ependim tabakası ile kaplanır. SVZ (postnatal olarak subependimal zon) ise tamamen proliferatif zon olarak devam eder. Özetle söylemek gerekirse VZ'daki progenitörler nöronları oluştururken SVZ'daki progenitörler glial hücreleri oluştururlar (Keleş, 2007).

1.5. Sinir Sistemi Hücreleri

Sinir sistemi hücreleri, sinir sisteminin motor ve duysal fonksiyonlarından sorumlu olan nöronlar ve nöronları koruma ve desteklemeden sorumlu olan nöroglialar diye iki kategoriye ayrılmaktadır (Şekil 1.4).

1.5.1. Nöron ve özellikleri

Sinir sisteminin fonksiyonel ve yapısal ünitesi olan nöronlar; bir *hücre gövdesi*, *dendritler* ve *akson* olmak üzere üç bölümden oluşur. *Dendritler*, diğer sinir hücrelerinden uyarıyı alan hücre gövdesinden çıkan çok sayıdaki uzantılardır. Akson ise hücre gövdesinden çıkan ve dendritten daha uzun olan tek bir uzun uzantıdır. Aksonlar, bezler ve kas hücreleri gibi hedef yapılara veya diğer nöronlara uyarıların iletilmesinde rol oynarlar. Nöronlar uzantılarının şekil ve büyüklüklerine göre multipolar, bipolar ve psödounipolar nöronlar olmak üzere üç sınıfta incelenebilir. Vücutta çok yaygın olan multipolar nöron bir akson ve birden fazla dendrite sahiptir. Cochlea ve ggl. vestibulare'de, retina ve koku mukozasında bulunan bipolar nöronlar bir akson ve bir dendrite sahiptir. Spinal sinirlerin arka köklerinde yerleşik ggl. spinale'lerde ve kranial gangliyonlarda bulunan psödounipolar nöron tek bir uzantıya sahiptir ve bu uzantı gövdesinden çıktıktan kısa bir süre sonra iki dala ayrılır. Bu iki daldan biri periferik uca giderken diğeri merkezi sinir sistemine gider.

1.5.2. Nöroglia ve özellikleri

Progenitör hücreler nöroblastları oluşturduktan sonra glioblastların oluşuma katkı sağlarlar. Bu tabakada meydana gelen glioblastlar sonraki zamanlarda manto ve marjinal tabakalara

(stratum marginale) göç ederler. Manto tabakasında (stratum palliale) protoplazmik ve fibröz astrositlere ayrılırlar. ayrıca bu hücreler erişkinlerde de kendilerini yenileyebilme özelliğine sahiptirler (Gartner ve Hiatt, 2001).

Nöroglia hücreleri, merkezi sinir sistemine yerleşmiş olan astrositler, oligodendrositler, mikroglial hücreler, ependimal hücreler ve periferik sinir sistemine yerleşmiş olan Schwann hücrelerinden oluşur (Moor ve persuade, 2003).

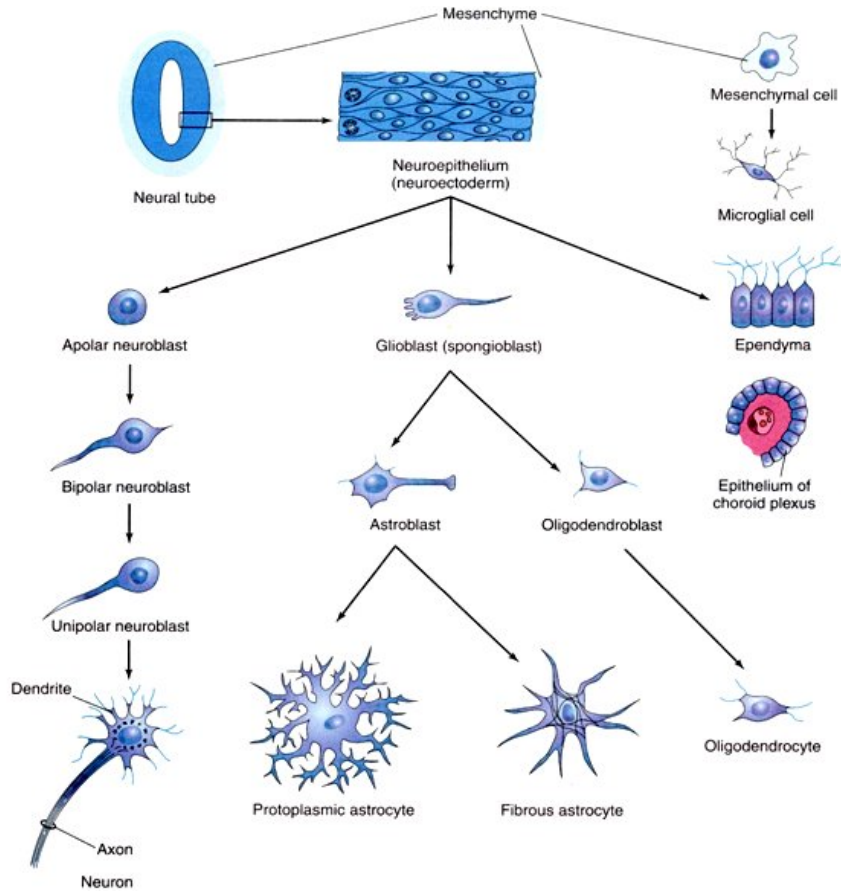
1. Oligodendrositler: Glioblastlardan köken alan oligodendroglial hücreler daha çok marjinal tabakada bulunurlar ve aksonlar etrafında miyelin kılıfı oluştururlar. Merkezi sinir sistemindeki nöronların elektriksel yalıtımında rol oynayan *miyelinin* üretiminde ve sürekliliğinde rol oynayan hücrelerdir. Oligodendrositlerin ışık mikroskopundaki görünümü astrositlerle karşılaştırıldıklarında, uzantıları daha az olan küçük hücreler oldukları görülür.

2. Astrositler: Nöroglial hücrelerin en büyükleridir. Glioblast'ların ventriküler tabakadan intermediet ve marjinal tabakalara göç etmesinden sonra bazılarının farklılaşması sonucu oluşurlar. Ayrıca yapılan çalışmalarda SVZ'daki astrositlerin nöral kök hücre gibi davrandıkları hatta bazılarının nörosfer olarak adlandırılan hücre tiplerine farklılandıkları gösterilmiştir. Nöronal kök hücre gibi davranmalarının dışında merkezi sinir sisteminin çevresine yerleşmiş olan astrositler, kan damarlarının üzerinde devamlı bir tabaka şekillendirerek kan beyin bariyerinin sürdürülmesine yardımcı olurlar (Gartner, 2005).

Mikroglialar: Gelişimin ikinci yarısında 3.tip glial hücre olan mezenşimden köken alan fagositik bir hücre olan mikroglial hücreler, MSS'de gri ve beyaz madde içerisinde tamamen dağılmış olarak bulunan yoğun ve uzun şekilli çekirdekleri ile kısa uzantıları olan küçük hücrelerdir. Bu hücreler fagositik hücreler olup, mononükleer fagositik sisteme dahildirler ve kemik iliğinden oluşurlar. Aktive edildiklerinde antijen üreten hücreler gibi rol oynarlar ve sitokin salgırlar (Ross, 2003).

Ependimal Hücreler: Nöroepitel hücreleri nöroblastları ve glioblastları oluşturmayı sonlandırdığında canalis centralisi döşeyen ependimal hücrelere ayrılırlar. Ependimal hücreler, beyin ventriküllerini ve omuriliğin merkezi kanalını döşeyen ve serebrospinal sıvı ile ilişkili olan hücrelerdir. Her bir ependim hücresi küçük oval ve bazal bir çekirdekli ve çoğu sillidir. Hücreler baskın desmozomal bitişmeler tarafından her biri diğeri ile sıkı bağlantılı ve silyalara ek olarak apikal mikrovillüslara sahiptir. Elektron mikroskopik görüntülerde bazal hücrelerin, astrosit uzantılarıyla birbirine bağlanmış, çok sayıda katlantıya sahip olduğu görülür. Beyin ventrikül sisteminde serebrospinal sıvıyı absorbe eden apikal

yüzey, kapillerden gelen materyallerin sekresyonunu ve transportunu yapan serebrospinal sıvıyı üretebilmek için daha fazla gelişmiştir. Bu apikal yüzeyi oluşturan ependimal hücreler ve kapillerle birlikte plexus choroideus'u oluşturur. Üçüncü ventriküldeki özelleşmiş ependim hücrelerine ise tanisit denir.



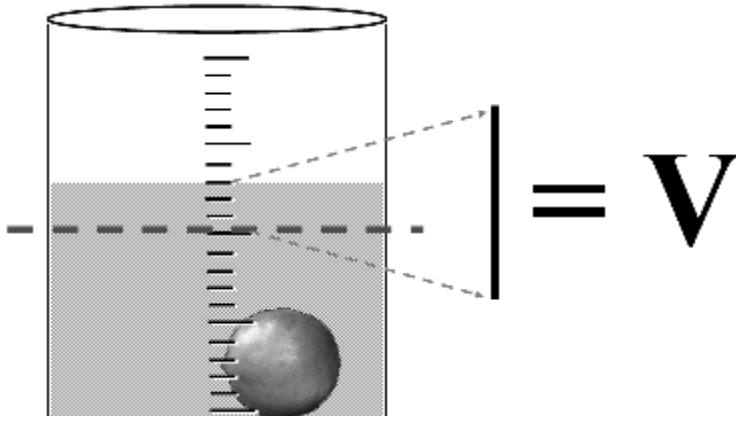
Şekil 1.4. Merkezi sinir sistemindeki hücrelerin şematik gösterimi (Moore ve Persaud, 2002)

Schwann Hücreleri: Oligodendrositler gibi işleve sahip olan hücrelerdir ve periferik sinir sisteminde aksonların yalıtımından sorumlu olan miyelini oluştururlar. Bir oligodendrosit birden fazla aksona miyelin kılıf oluşturma yeteneğine sahipken, bir schwann hücresi sadece bir aksona miyelin kılıf oluşturur.

1.6. Suya Daldırma Metodu (SDM)

Suya daldırma metodunun temellerini Archimedes prensipleri oluşturmaktadır. Archimedes prensibi, sıvı içine daldırılmış bir katının sıvı içinde askıdaki kuvvetinin, daldırma sırasında yer değiştirmesine sebep olduğu sıvının ağırlığına eşit olduğunu kabul eder. Buna göre ilgilenilen ve hacmi hesaplanmak istenilen yapı örneğin; karaciğer, akciğer veya dalak gibi çevresindeki diğer organ veya yapılardan izole edilebilecek makroskopik bir yapılanmaya

sahipse, bunun hacmi hesaplanmak yerine doğrudan ölçülebilir. Bu gibi durumlarda sık kullanılan bir yöntem, oluşumu içi su ile dolu dereceli silindir içine atarak, artan su miktarını ölçmektir. Bilinen hacme sahip bir sıvının içine atılan herhangi bir oluşum, sahip olduğu hacim kadar sıvının yer değiştirmesine neden olduğu için bu şekilde, izole bir nesnenin hacmi rahatlıkla ve doğrudan ölçülebilir (Şekil 1.5). Fakat canlı dokular yapı itibariyle büzülme-suyu emme gibi özelliklere sahip oldukları için kesin ve doğru sonuçlar alınmayabilir. Böyle dokuların hacmi SDM ile kolaylıkla hesaplanabilir. Fakat beyin korteksi vb. etrafındaki dokulardan ayrılması mümkün olmayan karmaşık yapıların hacmi ölçülme istendiğinde daha objektif ve hassas yöntemlerin uygulanması gerektiği belirtilmiştir.



Şekil 1. 5. Sıvı yer değiştirmesi yöntemi ile hacim ölçümü (canan ve ark, 2002)

1.7. Stereoloji

Morfometrik çalışmalarda, bir organın veya organ bileşeninin hacmi, bir yapıdaki değişik bileşenlerin hacimleri ve bu bileşenlerin birbirlerine veya yapının tamamına göre hacim payları (oranları) sıklıkla kullanılan önemli parametreler olarak araştırmacıların karşısına çıkar (Gundersen, 1987). Organ veya yapıların toplam hacimlerini veya bileşenlerinin hacimlerini hesaplamak için bir dizi değişik yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden en güvenilir ve tarafsız olanı ise stereolojik yöntemlerdir. Stereoloji; üç boyutlu örneklerin (biyolojik yapılar, metalurjik örnekler vb.) iki boyutlu kesitlerinden elde edilen verilere dayanarak, o örneklerin gerçekteki üç boyutlu özellikleri ile ilgili yorumlar yapılmasını sağlayan bilim dalıdır. Yapıların hacimlerini hesaplamak için her ne kadar değişik yöntemler kullanılmış ise de stereolojik yöntemler daha etkin (daha kısa zamanda daha az hatalı iş yapmayı sağlayan) ve daha tarafsız (gerçek değerden sistematik bir sapmaya sebep olmayan) olmalarından dolayı bu problemleri ortadan kaldırmak için geliştirilmiştir. Hacmi hesaplanmak istenen biyolojik oluşumlar çevre yapılarından izole edilebilecek durumdaysa doğrudan ölçüm yapılabilmektedir.

Fakat çoğu zaman ölçümü yapılması planlanan yapılar çevre dokulardan izole edilemezler. Bu durumda Cavalieri prensibi denilen ve ilk kez İtalyan matematikçi Bonaventura Cavalieri tarafından XVII. yüzyılda ortaya konmuş olan kurallar uygulanmaktadır. Cavalieri prensibi stereolojik çalışmalarda en sık kullanılan hacim hesaplama yöntemidir. Stereoloji’de hata kaynaklarından etkilenmesi muhtemel olan yöntemler taraflı (biased) metodlar olarak nitelendirilmektedir. Dahası stereolojik metotlar kurallarına uygun bir biçimde uygulandığında, sistematik hatadan bağımsız sonuçlar elde edilmesini sağlar ve örnekleme sayısı arttırıldıkça gerçek değere daha yakın sonuçlar elde edilir (Bilgiç ve ark., 2005).

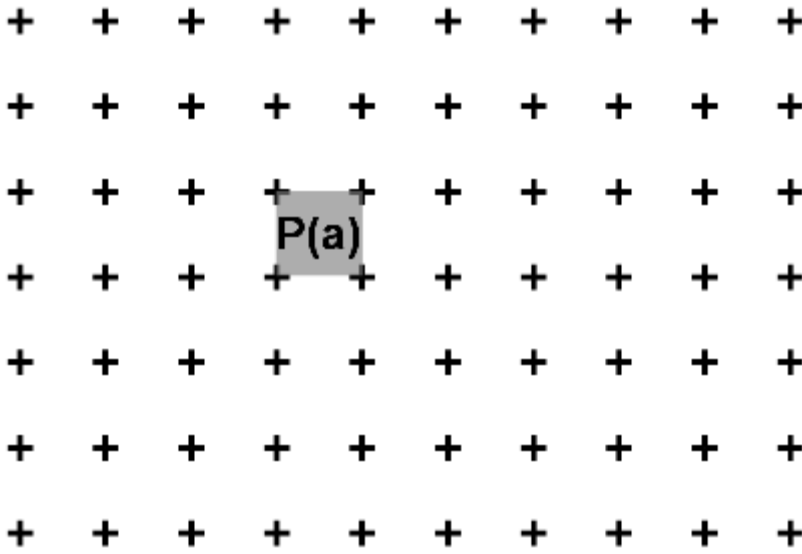
Bütün işlemlerin temelini “Sistematik Rasgele Örnekleme” (SRÖ) oluşturmaktadır. Bu metodun doğru sonuçlar verebilmesi için incelenecek olan organ ya da dokunun her noktasının eşit örnekleme alanına sahip olması gerekmektedir. Diğer bütün yöntemler SRÖ’den yola çıkılarak türetilmektedir. Tanecik sayımı, alan hesaplamaları, alan ve hacim oranları gibi hesaplamalarda, temel prensip çalışılan yapının her aşamada (parçaların seçimi, kesitlerin örnekleme, sayım alanlarının ve alan örneklerinin belirlenmesi vb.) sistematik ve rastgele bir tarzda örnekleme (Şahin ve ark., 2001).

Cavalieri prensibi stereolojik yöntemlerde en sık kullanılan hacim hesaplama yöntemidir. Cavalieri hacim hesaplama yöntemi için ilk aşama, incelenen bölgenin izdüşümlerinin alanlarını hesaplamaktır. Stereolojide en sık kullanılan izdüşüm alanı hesaplanma yolu, “noktalı alan ölçüm cetvelleri (NAÖC)’dir. Alan ölçüm cetvelleri birbirinden eşit aralıklarla ayrılmış noktalardan (şekil artıların kollarının kesişim yeri) oluşan sistematik nokta dizgeleri olup asetatlı kağıt üzerine basılmıştır (Şekil 1.6). Bu asetat, alanı hesaplanması hedeflenen yapının üzerine rastgele olarak atılır ve hesaplanması planlanan yapının alanı üzerindeki asetatin noktaları sayılarak toplanır. Tek bilinmesi gereken cetveldeki noktalar arasındaki uzaklığın, büyütme derecesine göre, doku düzeyindeki gerçek uzunluğudur. Böyle bir dizgede, her bir artı işaretinin orta noktası, cetveldeki bir noktayı temsil eder. Bu noktalardan her biri ise, dört adet noktanın arasında kalan bir birim cetvel alanını temsil etmektedir. Aralarındaki sabit mesafesi bilinen böyle bir noktalı alan ölçüm cetveli, alanı hesaplanmak istenen herhangi bir kesit görüntüsü üzerine rastgele biçimde atılır ve yapının kesitteki izdüşümü üzerine isabet edecek noktaların sayısı, bu izdüşümün kesitte temsil ettiği alan miktarıyla doğru orantılı olacak şekilde hesaplama yapılır. Yani, izdüşümü ne kadar büyükse, içine o kadar fazla sayıda nokta isabet edecektir (Canan, 2002). Bu işlem her bir ardışık kesit için tekrarlanır ve elde edilen nokta sayısı aşağıdaki formülde yerine konularak ilgilenilen yapının toplam hacmi hesaplanır.

İlk kural, kesit kalınlığı mesafesindeki herhangi bir yerden ve eşit aralıklı kesitler alınmalıdır. Elde edilen kesit görüntülerinin kesit yüzey alanları hesaplandıktan sonra her bir kesitin ya da dilimin hacmi hesaplanır ve en sonunda dilimlerin hacimleri toplanarak yapının tüm hacmi denklem 1.1 verildiği gibi hesaplanır (Akbaş, 2004).

$$V = t \times (a_1 + a_2 + \dots + a_n) \text{ cm}^3 \quad (1.1)$$

Formüldeki $(a_1 + a_2 + \dots + a_n)$ n sayıdaki kesitlerin kesit yüzey alanlarının cm^2 cinsinden, t ise n sayıdaki ardışık kesitlerin cm cinsinden kesit kalınlığını ifade etmektedir. Bu yöntemle sınırları belirlenen yapıların hacimleri hesaplanabilir (Royet, 1991; Akbaş, 2004).

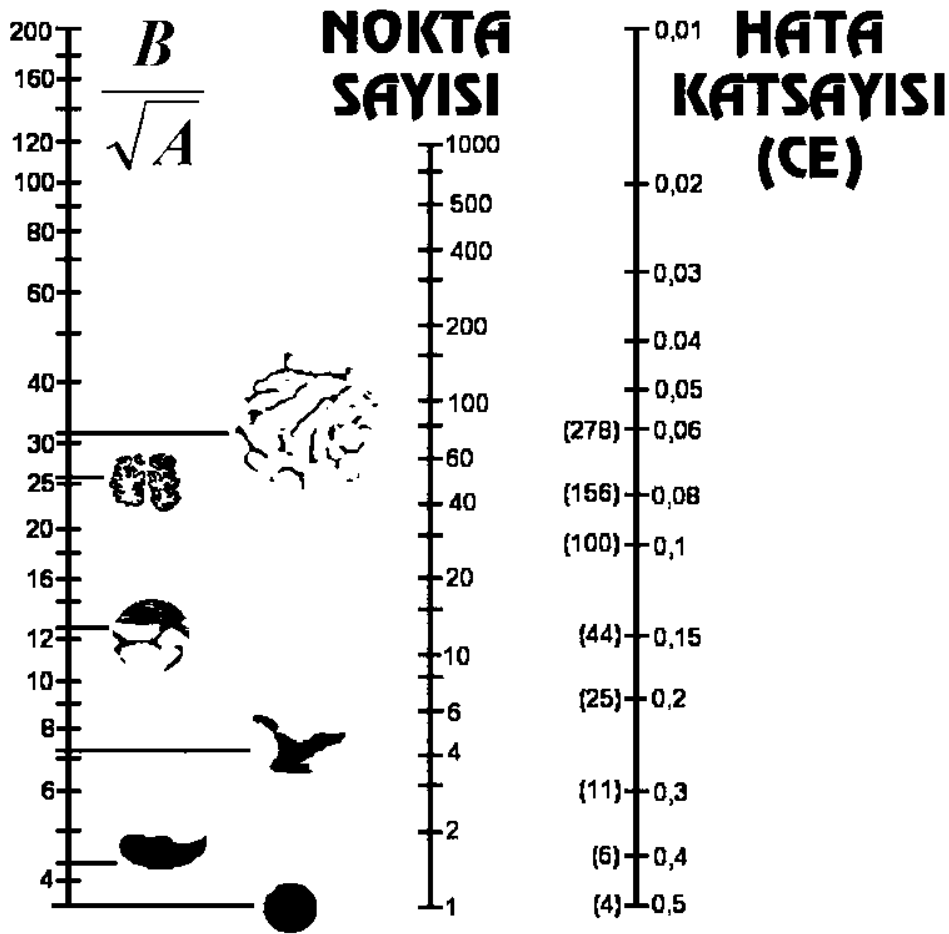


Şekil 1.6. Noktalı alan ölçüm cetveli. Cetvelde artı işaretlerinin merkezleri ile simgelenen her bir nokta P(a) ile gösterilen bir birim alanı temsil eder (Canan ve ark, 2002). Dolayısıyla, böyle bir cetvel rastgele olarak bir kesit yüzeyine atılırsa, kesit yüzeyi içerisine isabet eden noktaların sayısı, o yüzeyin kaç birim kare alana sahip olduğunu gösterecektir.

Bu yöntemle, makroskobik ve mikroskobik olarak etrafındaki yapılarla ilişkilerine bakılmaksızın, sınırları yeterli kesinlikle belirlenebilen her türlü yapının hacmi rahatlıkla hesaplanabilir (Bilgiç, 2005).

Bu şekilde gerçekleştirilebilecek bir alan ölçümü hem uygulamada oldukça basit, hem de istatistiksel olarak çok güvenilir sonuçlar veren bir çözümdür. Noktalı alan ölçüm cetvelleri ile yapılan alan hesaplamalarının, uygun sıklıkta noktalar içeren cetveller kullanıldığı takdirde, görüntü analiz sistemleriyle yapılan hesaplamalar kadar güvenilir ve doğru sonuçlar verdiği ortaya konmuştur. Uygulamadaki basitlik de bu yöntemin bir başka çekici yönünü oluşturur (Gundersen, 1987; Şahin, 2001).

Cavalieri prensibinde önemli olan bir diğer konu ise kullanılan noktalı alan ölçüm cetvelinin nokta sıklığıdır. Genellikle, sınırları karmaşık bir yapılanma gösteren iç içe izdüşümler için daha sık yerleşimli noktalar kullanmak gerekirken, düzgün sınırlara sahip yumuşak hatlı yapılar için daha seyrek noktalar yeterli olmaktadır. Nokta sıklığını artırmak, hesaplamaların daha doğru olmasını sağlasa da, belli bir hata payı dahilinde, mümkün olan en seyrek nokta dizgesini kullanarak bu ölçümleri gerçekleştirmek daha etkin bir yaklaşım olacaktır. Çalışılan yapıya uygun bir noktalı alan ölçüm cetveli seçimi için Gundersen ve Jensen tarafından önerilen ve şekil 1.7.' de gösterilen bir nomogram kullanılarak kesin sonuca varılabilir.



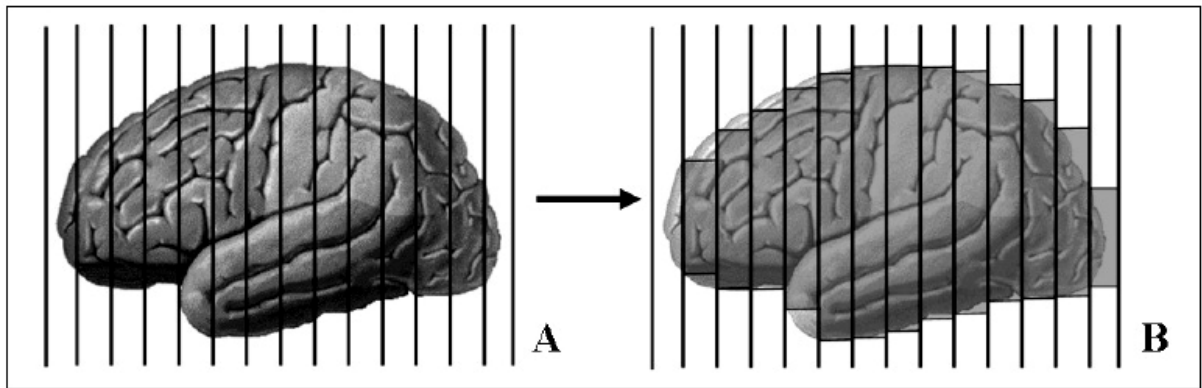
Şekil 1.7. Nokta sayımı ile hacim ölçümü yönteminin uygulanması sırasında, kullanılacak bir normogram örneği. (B/\sqrt{A} incelenen yapıda birim alana düşen nokta sayısı), (Canan ve ark, 2002)

Bu normogramda, sol taraftaki ölçüt çizgisi, incelenen yapının ifade edilen ve izdüşümlerin sınır düzgünlüğünün bir ölçüsü olan değerlerden oluşmaktadır. İncelenen yapı, örneğin; yuvarlak kenar hatlarına sahipse, eksen üzerinde seçilecek nokta daha aşağılarda yer almalıdır. Fakat karmaşık bir yapının kesitleri üzerinde çalışırken, normogramın sol taraftaki

ekseninde belirlenen değer daha yüksekte olmalıdır. Normogramın en sağındaki eksen ise, çalışma için istenen hata katsayısını göstermektedir. Genellikle, kabul edilebilir düzeydeki istatistiksel hata katsayısı 0.05 veya bundan daha düşük değerlerdir. Daha kesin bir alan ölçümü için, daha düşük hata katsayısı değerleri bu eksenenden seçilmelidir. Bu iki değer belirlendikten sonra ise, bu değerlerin ilgili eksenindeki noktaları düz bir çizgi ile birleştirilir. Bu çizginin ortadaki eksenini kestiği noktaya karşılık gelen değer, alan hesaplaması amacıyla örneklenen tüm kesitlerde sayılması gereken toplam nokta sayısını vermektedir. Böylece, yapılacak bir n çalışmada, noktalı alan cetvelinin nokta sıklığını, tüm kesitlerde, bu normogramda bulunan kadar toplam nokta sayacak şekilde ayarladıktan sonra, belirlenen hata oranlarına uygun alan ölçüm sonuçları elde edilebilir (Gundersen, 1987; Gundersen ve ark., 1988).

Toplam Hacmin Hesaplanması

Kesitlerde ilgilenilen bölgenin izdüşümlerinin toplam alanını hesapladıktan sonra, toplam hacmi elde etmek için, bu toplam alan değerini, dilimleri veya kesitleri elde ederken kullanılan ortalama kesit kalınlığı değeriyle çarpmak yeterli olacaktır (şekil 1.7). Bu şekilde yapının toplam hacminin tarafsız bir hesaplaması elde edilebilir. Bir diğer önemli konu, alan hesaplaması yapılan kesit yüzeyleridir. İster makroskopik, ister mikroskopik olsun, belli ve sonlu bir kalınlığa sahip olup iki kesme düzlemi ile oluşturulduklarından ‘‘alt’’ ve ‘‘st’’ olarak nitelendirilen iki yüzden oluşurlar. Cavalieri yöntemi ile hacim hesaplanırken alınan tüm kesitlerin hep aynı tarafa bakan yüzeylerinde nokta sayım işlemleri gerçekleştirilmelidir (şahin ve ark., 2001).



şekil 1.8. Beyinden alınan kesitler

Bu araştırmada, yenidoğan ve erişkin sıçanlarda beyin ve ventrikül gelişiminde nöronal proliferasyonun cinsiyete ve dönemlere bağlı olarak histolojik olarak hesaplanması

amaçlanmıştır. İlâveten, nöronal proliferasyon ile ventriküler ve subventriküler zonların yapısı hakkındaki temel bilgilerin elde edilmesi başta olmak üzere bilişsel sorunların aydınlatılmasına katkı sağlayacağı düşünülerek böyle bir çalışma yapılmasına karar verilmiştir.

Ratlarda postnatal dönemde beyin ve ventriküllerinin gelişiminin incelendiği bu çalışmada aşağıdaki hedeflerin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

- ✓ Ratlarda gelişime paralel olarak yaş-ağırlık ilişkisi (1-7-14-30-60-90-120-150-180 günlük (gr),
- ✓ Ratların baş ve toplam cerebrum ağırlıkları (gr),
- ✓ Ratlarda gelişime paralel olarak cerebrum ağırlık ve yükseklikleri arasındaki ilişki,
- ✓ Cerebrumların suya daldırma metodu (SDM) ile hacimlerinin hesaplanması,
- ✓ Cerebrumların Cavalieri nokta sayım metodu ile hacimlerinin hesaplanması ve SDM ile arasındaki farkları belirlemek.
- ✓ Gelişen yaşa paralel olarak beyin nöron gelişimi, nöronların sayısı, granüler tabakada meydana gelen gelişim histolojik olarak incelenmiştir.
- ✓ Lateral ve üçüncü ventriküllerde endodimal ve subendodimal glia ve nöronal hücrelerdeki proliferasyon indeksleri de incelenmiştir.

Sonuç olarak; bu çalışmanın gerek stereolojik gerekse histolojik olarak elde edilen bilimsel sonuçları ile ileride yapılacak olan bütün beyin nöronal proliferasyon ve hacimsel değer araştırmalarında, anatomik çalışmalar başta olmak üzere, histopatolojik ve stereolojik alanlarda bilimsel olarak kılavuz bir kaynak olması, literatürel veri tabanı ve yeni bir bakış açısı getirmesi amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Altman (1965), rat ve kedi beyinlerinde hücre proliferasyonunu [3H]-thymidin intraventriküler olarak enjekte edip otoradyografik analiz ile belirlemişlerdir. Genç ve yetişkinlerde glial hücrelerin nöronlardan oluşabileceğini ortaya koymuştur.

Kraus ruppert ve ark. (1975), 30 günlük sıçanlara intraperitoneal olarak [3H]-thymidin enjekte ederek serebrospinal dokusundaki glial ve nöronal hücreleri belirlemeye çalışmışlardır.

Chauhan ve Lewis (1979), postnatal 42 günlük ratlarda koroid pleksus ve ependimal tabakadaki proliferasyonu araştırmak amacıyla ratlara [3H]-thymidin enjekte ettikten sonra otoradyografik olarak incelemişlerdir.

Burns EM (1984), ratlarda; beyin hızlı büyüme döneminin tamamı postnatal dönemde olduğundan, bu dönemdeki olumsuz koşullar sinaptogenesis'i, gliogenesis'i, miyelinizasyon'u ve kapillarizasyon'u etkileyebileceğini ifade etmiştir.

Keeps ve Jones (1985), ratlarda lateral ventrikül epitelini, endotel tabakayı ve ventrikül ependimindeki morfometrik değişimleri belirlemek amacıyla 16 gestasyon günü ve postnatal 30 gün arasında bireyler üzerinde çalışmışlardır. Doğumdan sonra da ventrikül ependimindeki mitokondriyal aktivitenin devam ettiğini belirtmişlerdir.

Tan (1987), köpeklerden başka kedi, sıçan ve tavşanda da sağ ve sol hemisferler arasında hem ağırlık farklılığı hem de serebral asimetrinin olduğunu belirtmiştir.

Pakkenberg'e (1989) göre, yaşla birlikte rat beyninde görülen hacimsel değişikliklerin saptanmasında yararlanılan Cavalieri Hacim Hesaplama Yöntemi (The Cavalieri's Volume Estimate Method) pek çok organ ya da yapıların hacimlerinin ölçülmesinde de kullanılmaktadır. Bu yöntemle sıklıkla ölçülmüş olan organ insan beyni ve beyin içi yapılarıdır.

Reff Keep (1990), ratlarda lateral ventriküller ile dördüncü ventrikül arasında koroid pleksusun gelişimi açısından çok önemli bir farklılık olmadığını, ancak mitokondriyal aktivitenin doğumdan sonra hız kazandığını ve koroid pleksusların büyüme gösterdiğini belirtmiştir.

Lois ve Alvarez- Buylla (1992), yetişkin memeli beyninin SVZ'undaki hücrelerin nöron ve glia hücrelerine farklılaşabildiğini göstermek amacıyla in vivo olarak 1-3 ve 8 aylık erkek

farelerde intraperitoneal olarak [3H]-thymidin enjeksiyonu yapmışlardır. İmmunositokimyasal ve otoradyografik inceleme için ise dulbecco's phosphate- buffered saline (DPBS) ile CaCl₂ uygulaması yapmışlardır. İn vitro örneklerde SVZ'daki hücrelerin % 98 oranında nöron ve glialara farklılaştığını ve prekürsör hücre olduklarını belirlemişlerdir.

Doetsch ve ark. (1997), yetişkin memelilerde subventriküler zondaki kök hücrelerin nöron ve glia oluşumuna neden olduğunu ve in vivo olarak buradaki hücrelerin bulbus olfactorius'a doğru göçtüklerini açıklayabilmek amacıyla subventriküler germinal zonun hücre organizasyonunu üç boyutlu olarak elektron mikroskop çalışmalarında belirlemeye çalışmışlardır. Çalışmalarında sitoplazma, nükleus, golgi organı ve mikrotübüller gibi hücre elemanlarını açığa çıkarabilmek amacıyla % 2 paraformaldehit ve % 2,5 glutaraldehit ile fikse ettikten sonra transvers ve sagittal olarak 100 mm kesit kalınlıklarında elektron mikroskop altında incelemişlerdir. Hücre tiplerini (Tip A, B, C), ependimal hücreler, tanisit, nöron ve mikrogliaları belirlemek amacıyla ise intraperitoneal olarak [3H]-thymidin enjekte ederek belirlemişlerdir. Ayrıca lateral ventrikülün lateral duvarındaki SVZ'da bulunan hücre farklılaşmalarını da buradaki hücreleri sayarak belirlemişlerdir.

Johansson ve ark. (1999), yetişkin memelilerin santral sinir sistemindeki nöral kök hücreleri belirlemek amacıyla erişkin farelere 2-6 hafta süreyle içme sularına BrdU ekleyerek santral sinir sistemi yaralanmaları da dahil olmak üzere ependimal hücrelerin nöral kök hücre gibi davrandıklarını ortaya çıkarmışlardır.

Lim ve Alvarez- Buylly (1999), subventriküler zondaki astrositler ve prekürsör hücreler arasındaki etkileşimi ortaya koyabilmek amacıyla postnatal 10 ve 16 günlük fareler üzerinde çalışmışlardır. Kültür ortamına alınan beyinler poly-d-lysine ve FCS ile DMEM muamelesine tabi tutulmuştur. Nöroblast ve prekürsörlerin Tip B hücreleri ile yakın ilişkide olduğunu ve astrositlerin nörogenez için tek başlarına yeterli olmadığını ifade etmişlerdir. Ek olarak Tip A hücrelerinin üretilmesi için SVZ'daki B hücreleri ile etkileşime girmeleri gerektiğini belirlemişlerdir.

Gundersen'e (1999) göre, Cavalieri prensibi kısaca, eşit aralıklı ve paralel dilimlere ayrılmış bir yapının hacmini hesaplama yöntemidir. Kesitlerin aynı yöne bakan yüzeylerinde ilgilenilen yapıya ait izdüşüm yüzey alanları hesaplanarak elde edilen "toplam yüzey alanı", ortalama kesit kalınlığı ile çarpılır ve böylece incelenen kesit görüntülerindeki yapının toplam hacminin tarafsız bir hesaplaması elde edilmiş olur.

Sanjay ve ark. (2002), yetişkin fare neokorteksinde nörogenezin nasıl indüklendiği ve buradaki hücrelerin proliferasyon oranlarını belirlemek amacıyla 6 haftalık farelerin içme sularına BrdU ekleyerek korteksteki işaretli hücrelerin belirlenmesine göre proliferasyonun olduğunu kararlaştırmışlardır.

Şahin B ve ark. (2001), Koyun, rat ve kuş beyнинin hemisfer hacmini ve asimetrisini belirlemek amacıyla stereolojik yöntemlerden olan nokta sayım metodunu kullanmışlardır. Bu çalışma için fraksiyon bıçağı kullanarak koyunlardan 6,7 mm'lik kesit kalınlığı, kuş ve ratlardan ise 2,33 mm'lik kesit kalınlığını kullanmışlardır. Gundersan ve Jansen (1987) tarafından ortaya konulan formül ile hata katsayısı hesapladıktan sonra $[V]=\frac{t \cdot a}{p} \times \sum p$ (V =hacim, t =kesit kalınlığı, a/p =noktalararası mesafe) formülü ile de hemisfer hacimlerini hesaplamışlardır. Çalışmalarının sonuçlarında ratların sağ hemisfer hacmini $592,92 \pm 17,41 \text{ mm}^3$, sol hemisfer hacmini ise $604,98 \pm 12,76 \text{ mm}^3$ olarak belirlemişlerdir. Cinsiyetler karşılaştırıldığında ise dişilerin $592,4 \pm 17,2 \text{ mm}^3$, erkeklerin ise $605,5 \pm 17,2 \text{ mm}^3$ hemisfer hacmine sahip olduklarını belirlemişlerdir.

Alvarez-Buylla ve Garcia- Verdiga (2002), yetişkin memelilerde SVZ'un germinal bir tabaka özelliği gösterdiğini, yeni doğanda ise bu bölgeden bulbus olfactorius'a doğru bir göçün olduğunu belirtmişler ve subventriküler tabakadaki nöronların kökenlerini araştırmışlardır. SVZ'nun nörodejeneratif tedavide kullanılmak üzere önemli oranda depo görevi gördüğünü, bu bölgenin morfolojisinin oldukça ilgi çekici olduğunu ve ependim bölgesinde en az dört farklı hücre tipinin varlığından bahsetmişlerdir.

Canan S (2002), son yıllarda stereoloji biliminde yaşanan gelişmelere bağlı olarak stereolojik metodların tarafsız olma özelliğiyle morfolojik çalışmalarda hızla kullanılmaya başlandığını bildirmiştir.

Canan ve ark. (2002), stereolojide yaygın bir uygulama alanı bulan Cavalieri prensibinin, oldukça basit ve ucuz yöntemlerle, gerek makroskobik, gerekse mikroskobik tüm yapıların hacim ve onunla ilişkili ölçümlerinde rahatlıkla kullanılabileceğini ifa etmişlerdir. Cavalieri yöntemi ile hacim hesaplaması yapılırken, kesitlerin hep aynı yöne bakan yüzeylerinin ölçüm için kullanılmasının önemli olduğunu vurgulamışlardır. Nokta sayımı ile hacim ölçümü yönteminin uygulanması sırasında, ilgilenilen yapıya göre sayılması gereken toplam nokta sayısını veya kullanılacak olan noktalı alan ölçüm cetvelinin nokta sıklığını belirlemenin önemli olduğunu belirtmişlerdir.

Yücel ve ark. (2003), yaşa bağlı gelişen farklılıkları incelemek, beyin hacminin nörogenez bittikten sonra da değiştiğini ortaya koyabilmek amacıyla Cavalieri yöntemini kullanmışlardır. 45, 90 ve 280 günlük sprague dawley cinsi ratların beyinlerini çıkarıp beyin ağırlıklarını tarttıktan sonra her bir beyinden 3 mm'lik 5'er dilim alarak hacimlerini hesaplamışlardır. 45 ve 90 günlük ratların total beyin hacimleri arasında, %11,3 (P<0,05), 45 ve 280 günlük ratlar arasında %34,7 (P<0,01), 90 ve 280 günlük ratlar arasında ise %21,0 (P<0,05) oranında bir farklılık saptamışlardır. Ortalama total beyin hacmi 45 günlük ratlarda $0,865 \pm 0,026 \text{ cm}^3$, 90 günlük ratlarda $0,963 \pm 0,022 \text{ cm}^3$, 280 günlük ratlarda ise $1,165 \pm 0,071 \text{ cm}^3$ olarak bulmuşlardır. Deney hayvanları üzerinde, total beyin hacminin yaşla birlikte nasıl değişime uğradığını gösteren bir çalışmaya rastlayamadıklarını, ancak yaşın etkisiyle beyinin değişik bölümlerinin hacimlerini araştıran bazı çalışmalar bulunduğunu bildirmişlerdir.

Ormandhizeva (2003), rat beyinde lateral ve üçüncü ventriküllerin koroid pleksuslarının açık ve koyu epiteliyosit gelişimini incelemişler ve özellikle 17-22 aylar arasında fonksiyonel olarak farklılaşmanın olduğunu belirtmişlerdir.

Tuğcu (2004), Ki- 67 (MIB I)'nin ilk defa 1983 tarihinde Hodgkin lenfoma hücre kültüründen elde edilen nükleer fraksiyon ile immünize edilmiş olan farelerde üretilmiş olan monoklonal bir antikor olduğunu ifade etmiştir. Ki -67, 395 kilodalton ağırlığında non-histon bir proteindir. İndeks (bilimsel çalışmalarda belirleyici özellik olarak) kullanıma girmesi ve parafin kesitlerde kolay kullanılabilir olması ile en yaygın kullanılan proliferasyon göstergesi olarak çalışmalarda kullanıldığını vurgulamıştır. Özellikle beyin üzerindeki Ki-67 çalışmalarının sınırlı olduğunu belirtmiştir.

Faiz ve ark. (2004), ratlarda lezyon oluşturduktan sonra subventriküler ve subgranüler tabakalardaki hücre proliferasyonu ve oranlarını inceleyebilmek amacıyla postnatal 12, 23 ve 49 günlük ratlara BrdU uygulayarak değişimleri incelemişlerdir.

Uysal ve ark. (2004), İntrauterin gelişme geriliğine bağlı olarak fötal sıçan beyinde nörogenezde oluşan değişikliklerin immunohistokimyasal yöntemle araştırabilmek amacıyla wistar albino cinsi ratlar üzerinde çalışmışlardır. Beyin gelişiminde yeni nöron ve nöroglial hücrelerin kaynağı olarak bilinen proliferasyon bölgesi ventriküler ve subventriküler zonun fötal dönemde intrauterin gelişme geriliğinden etkilenmesinin, olumsuz koşullara bağlı olarak postnatal gelişim sürecini de değiştirebileceğini, böylece nöron ve nöroglial hücrelerin mitoz, migrasyon ve maturasyonunu etkileyebileceğini belirlemişlerdir.

Özdemir ve ark. (2005), ratların ventrikül yapısını insanlarınki ile karşılaştırabilmek amacıyla üç boyutlu rekonstrüksiyon çalışmasında ele almışlardır. Çünkü ventrikül yapılarının birçok hastalığın tanı ve tedavisinde çok önemli bir yer işgal ettiğini ve sonuç olarak da insan ve ratların ventrikül yapılarınının aynı olduğunu ifade etmişlerdir.

Xu ve ark. (2005), üçüncü ventrikülün ependimal tabakasında mitoz'un devam edip etmediğini araştırmak amacıyla yetişkin ratlara BrdU uygulayıp immunohistokimyasal olarak ise nestin/ GFAP uyguladıktan sonra üçüncü ventriküldeki bazı tanisitlerin nöronal progenitor olabileceğini belirlemişlerdir.

Martonckiva ve ark.(2006), ratlarda rostral bölge göç dalgalanmasında postnatal birinci ayda proliferatif hücre sayısını, yenidoğan, postnatal 3, 7, 14, 21 ve 28 günlük ratlar üzerinde BrdU uygulayarak belirlemişlerdir. 2 saatlik BrdU uygulamasından sonra beyinler çıkarılıp bir gece fikse edildikten sonra %30 kryptoprotekt (Biyolojik dokuları ve hücreleri donma hasarından korumaya yarayan madde) ve %30 sukroz uygulamışlardır. Sagittal planda 42 µm'lik kesitler alarak ışık mikroskopunda incelemişlerdir.

Pfeifer ve ark. (2006), rodentlerde spinal kordda yaralanma oluşturarak beyin omurilik sıvısı, pleksus koroideusların yapısı ve subventriküler tabakadaki progenitor hücrelerin yaralanması sonrasındaki işlevlerini araştırmışlardır. Subventriküler zondaki bu yetişkin nöral progenitörlerin tamir mekanizmasına katıldığını ortaya çıkarmayı başarmışlardır.

Köktürk ve ark. (2007) erişkin sıçan beynine, lateral ve üçüncü ventriküllerin ventriküler ve subventriküler zonunda mitojenik aktiviteyi belirlemek amacıyla BrdU uygulamışlardır. 13 ve 14 haftalık erişkin sıçanlara intraperitoneal olarak BrdU enjekte edildikten 24 saat sonra anestezi altına almışlardır. % 4 formaldehit tespit solusyonuyla intrakardiyak perfüzyon yöntemiyle tespit edilen beyinleri çıkardıktan sonra 24 saat %4 paraformaldehit'te tespit etmişlerdir. Lateral ve üçüncü ventriküle ait SVZ bölgelerindeki BrdU işaretli nükleus sayılarını tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve post-hoc TUKEY testi ile değerlendirmişlerdir.

Keleş (2007), beynin gelişiminin histolojik ve stereolojik olarak değerlendirilmesi amacıyla, Sprague Dawley cinsi sıçanları intrauterin gruplarda cinsiyet faktörü dikkate alınmadan, 16 günlük ve 20 günlük fetüs, yenidoğan, 1 haftalık yavru ve 5 haftalık erişkin olmak üzere 7 gruba ayırmıştır. Tüm deneklerden elde edilen dokularda stereolojik olarak beyin hacimlerini hesapladıktan sonra aynı kesitleri histolojik açıdan değerlendirmiştir. Beyin hacimleri değerlendirildiğinde ise, intrauterin gruplar arasında (E 16-E 20) ve postnatal ilk iki grup

(yeni doğan ve 1 haftalık) karşılaştırmalarında farklılık tespit etmez iken,,1 haftalık dişi-erkek gruplarıyla 5 haftalık dişi erkek grupları ($p>0.05$) arasında ise farklılık olduğunu belirlemiştir.

Matthev TC (2008), ışık ve elektron mikroskop altında üçüncü ventriküldeki ependimal tabakanın analizini, Hematoksilen- eozin, toludin mavisi ve PAS (periodic acid schiff's reagent) kullanarak yapmıştır. Üçüncü vetrikül duvarındaki hücreleri şekillerine göre (küboidal, yassı, silindirik) ve siliyalı olup olmamalarına göre sınıflandırarak bu hücrelerin beyin yapısında ve serebrospinal sıvının üretilmesinde çok önemli fonksiyonel görevlerinin olduğunu belirtmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Araştırmanın yapıldığı yer

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi, Anatomi Anabilim Dalı ve Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

3.1.2. Deneklerin seçimi

Çalışmamız, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu'nun 11.01.2011 tarih 2011-1 sayılı yazısında belirtilen 11.01.2011 tarihli Etik Kurul raporunun 3 nolu kararı ile onay alınarak yapıldı.

Çalışmamızda toplam 135 adet Sprague Dawley cinsi rat kullanıldı. Tüm hayvanlar 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık deney hayvanları ünitesi ortamında, % 55-60 nem oranı ve $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında bakım ve beslenmeye tabi tutuldu. Tüm gruplardaki hayvanlara, sınırsız yem ve musluk suyu tüketme imkânı (ad-libitum) sağlandı. Hayvanlar arasındaki cinsiyet farkı postnatal birinci günden itibaren dikkate alınarak ayrımları yapıldı.

3.1.3. Deneysel işlemler

Bir haftalık adaptasyona tabi tutulan 4 fertil erkek 16 dişi rat 7 gün süreyle ayrı kafeslere konularak çiftleşmeleri sağlandı. Gebelikleri vaginal smear ile tespit edildi. Smear incelemesinde spermatozoit görülen dişi ratlar döllenmiş kabul edilerek smear takibine son verildi. Gebe ratlar erkeklerinden ayrı kafeslere konuldu ve doğum sonuna kadar normal şartlarda beslenmelerine devam edildi. Ebeveyn ratlara herhangi bir işlem uygulanmadı. Erkek ratlar gebe ratlardan ayrıldıktan sonra, anne ratlar ise doğumdan sonra deney dışı bırakıldı. Doğum gerçekleşikten sonra annelerinden ayrılan yavru ratların gruplandırılabilirmeleri için cinsiyet tayinleri yapıldı. Ratlar gruplarda bahsedilen süreler boyunca anneleri ile birlikte bırakılıp süreleri dolduğunda ayrımları yapıldı. Daha büyükler için ise laktasyon sonrası ratlar cinsiyetlerine göre gruplara ayrıldı. Çalışmaya alınırken bütün bireylerin ayrı ayrı ağırlıkları ölçüldü. Bu çalışmada kullanılan hayvanların yaşları, fizyolojik dağılımları ve oluşturulan gruplar özetle çizelge 3.1'de belirtildiği gibi ayarlandı.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan hayvanların gruplama şeması

Gruplar		Cinsiyet	
		Erkek (n)	Dişi (n)
Grup I	1 Günlük	7	7
Grup II	7 Günlük	7	7
Grup III	14 Günlük	7	7
Grup IV	30 Günlük	7	7
Grup V	60 Günlük	7	7
Grup VI	90 Günlük	7	7
Grup VII	120 Günlük	7	7
Grup VIII	150 Günlük	7	7
Grup IX	180 Günlük	7	7

GRUP I: 1 günlük erkek ve dişi ratlar 60 mg/kg Ketalar (ketamin HCl) ve 5 mg/kg Rompun (xylazin HCL) anestezi ile sakrifiye edilip nötral formalin kullanılarak fikse edildi. Yavru sıçanlardan diseke edilen beyinler, fiksasyonun devamı ve sertleşmeleri için aynı solüsyona bırakılarak bu solüsyonda bir gece (24 saat) bekletildi. Sertleşen beyinlerden bulbus olfactorius ve cerebellumlar uzaklaştırılarak beyinlerin rostral- kaudal uzunlukları alınıp ağırlıkları tartıldıktan sonra suya daldırma metodu ile hacim ölçümleri yapıldı. Ayrıca stereolojik olarak da cerebrum hacimleri hesaplandı. Daha sonra proliferasyon indekslerine bakmak üzere histopatoloji laboratuvarında incelemeye alındı.

GRUP II: 7 günlük erkek ve dişi ratlar 60 mg/kg Ketalar (ketamin HCl) ve 5 mg/kg Rompun (xylazin HCL) anestezi ile sakrifiye edilip nötral formalin kullanılarak fikse edildi. Diğer işlemler ilk gruptaki gibi yapıldı.

GRUP III: 14 günlük erkek ve dişi ratlar 60 mg/kg Ketalar (ketamin HCl) ve 5 mg/kg Rompun (xylazin HCL) anestezi ile sakrifiye edilip nötral formalin kullanılarak fikse edildi. Diğer işlemler ilk gruptaki gibi yapıldı.

GRUP IV: 30 günlük erkek ve dişi ratlar 60 mg/kg Ketalar (ketamin HCl) ve 5 mg/kg Rompun (xylazin HCL) anestezisi ile sakrifiye edilip nötral formalin kullanılarak fikse edildi. Diğer işlemler ilk gruptaki gibi yapıldı.

GRUP V: 60 günlük erkek ve dişi ratlar 60 mg/kg Ketalar (ketamin HCl) ve 5 mg/kg Rompun (xylazin HCL) anestezisi ile sakrifiye edilip nötral formalin kullanılarak fikse edildi. Diğer işlemler ilk gruptaki gibi yapıldı.

GRUP VI: 90 günlük erkek ve dişi ratlar 60 mg/kg Ketalar (ketamin HCl) ve 5 mg/kg Rompun (xylazin HCL) anestezisi ile sakrifiye edilip nötral formalin kullanılarak fikse edildi. Diğer işlemler ilk gruptaki gibi yapıldı.

GRUP VII: 120 günlük erkek ve dişi ratlar 60 mg/kg Ketalar (ketamin HCl) ve 5 mg/kg Rompun (xylazin HCL) anestezisi ile sakrifiye edilip nötral formalin kullanılarak fikse edildi. Diğer işlemler ilk gruptaki gibi yapıldı.

GRUP VIII: 150 günlük erkek ve dişi ratlar 60 mg/kg Ketalar (ketamin HCl) ve 5 mg/kg Rompun (xylazin HCL) anestezisi ile sakrifiye edilip nötral formalin kullanılarak fikse edildi. Diğer işlemler ilk gruptaki gibi yapıldı.

GRUP IX: 180 günlük erkek ve dişi ratlar 60 mg/kg Ketalar (ketamin HCl) ve 5 mg/kg Rompun (xylazin HCL) anestezisi ile sakrifiye edilip nötral formalin kullanılarak fikse edildi. Diğer işlemler ilk gruptaki gibi yapıldı.

3.2. Metod

3.2.1. Beynin diseksiyonu

Xylazine hydrochloride (2-5mg/kg) (Rompun®, Bayer, Türkiye) ve ketamine hydrochloride (40-50 mg/kg) (Alfazyne®, Egevet, Türkiye) adlı anestezikler ile tüm sıçanlara letal doz anestezi uygulandı. Deney aşamasında kullanılan tüm sıçanların kafatasları beyin dokuya zarar vermeden açılarak beyin bütün olarak çıkarıldı. Çıkarılan bu beyin dokuları gruplar halinde ve ayrı ayrı etiketlenip % 10'luk formaldehit tespit solüsyonu içerisine yerleştirildi. Fiksasyonun devamı ve sertleşmeleri için aynı solüsyona bırakılarak bu solüsyonda 24 saat bekletildi.

3.2.2. Suyu daldırma metodu (SDM)

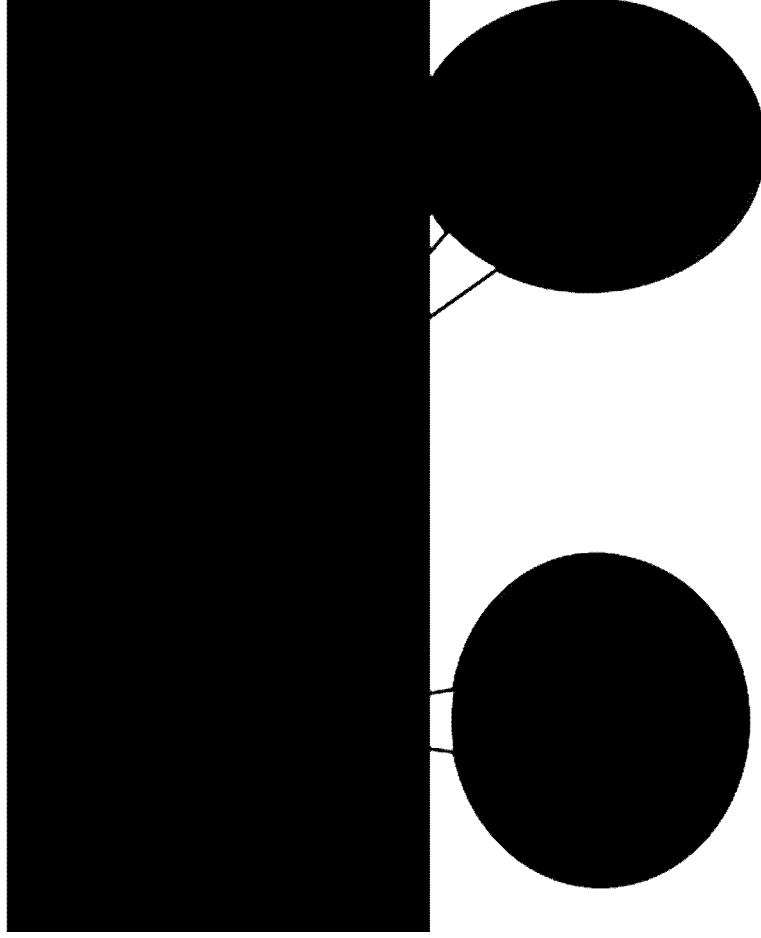
Bu işlem için 10 ml ve 50 ml'lik dereceli mezür kullanıldı. Grup I, II, III ve IV'deki ratların beyinleri 10 ml'lik, diğer gruplardaki rat beyinleri ise 50 ml'lik mezürler kullanılarak hacimleri hesaplandı. Ratlardan çıkarılan beyinlerin hacimleri SDM ile taşırdıkları suyun hacmi esas alınarak ölçüldü (Altunkaynak ve Altunkaynak 2006).



Şekil 1.1. SDM'de kullanılan 50 ml VE 10 ml' lik mezür

3.2.3. Stereolojik işlemler

Mikroskobik düzeyde hacim ölçümleri ise Cavalieri hacim ölçüm metoduyla (CM) yapıldı. Bu metodun en önemli kuralına göre, ilgilenilen objenin (beynin) hacmini hatasız olarak hesaplamak için eşit uzaklıkta, paralel ve seri kesitler kullanıldı (Odacı ve ark. 2003). Temeli rastgele örnekleme metoduna dayanan Cavalieri prensibine göre hacim hesaplamak için aşağıda belirtildiği gibi bazı stratejiler belirlendi (Gundersen ve ark.).



Şekil 3.2. 120 günlük rattan 1 mm'lik aralıklarla elde edilen beyin kesiti

Sistemik rastgele bir örnekleme yapılırken dikkat edilmesi gereken en önemli ve temel prensip, uygun bir hata katsayı değerinin (0,05 veya daha az) elde edilmesi olup tüm gerekli işlemler ve süreçler bu kural dikkate alınarak gerçekleştirildi. Yapılan bir ön çalışmayla, beyinden alınacak kesit kalınlığı belirlendi. Bu işlem yine stereolojinin temel prensiplerinden “**hata katsayısı**” (HK) göz önünde bulundurularak gerçekleştirildi. CM için kullanılan noktalı ölçüm cetvelinin nokta yoğunluğuna uygun **HK** da belirlendi. Bu aralık belirlendikten sonra yine kurallar dahilinde fraksiyon bıçağı (Aygün Cerrahi Aletler A.Ş. Türkiye) ile manuel olarak koronal planda önden arkaya (frontal - oksipital) doğru 1 mm. aralıklarla birbirine paralel olacak şekilde beyin dokusu bitene kadar kesitler alındı.

Bu esaslara göre;

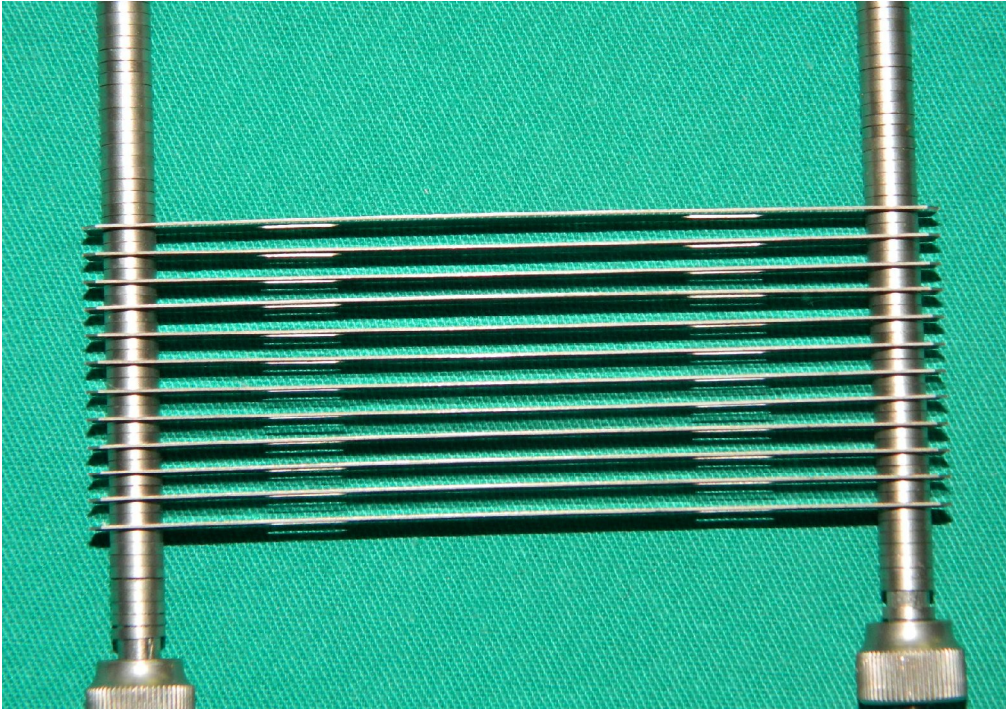
1 günlük erkek yavru olan grup 1'den ortalama 6 kesit

1 günlük dişi yavru olan grup 1'den ortalama 6 kesit

7 günlük erkek yavru olan grup 2'den ortalama 10 kesit

7 günlük dişi yavru olan grup 2'den ortalama 10 kesit

14 günlük erkek olan grup 3'den ortalama 11 kesit
14 günlük dişi olan grup 3'den ortalama 11 kesit
30 günlük erkek olan grup 4'den ortalama 11 kesit
30 günlük dişi olan grup 4'den ortalama 11 kesit
60 günlük erkek olan grup 5'den ortalama 12 kesit
60 günlük dişi olan grup 5'den ortalama 12 kesit
90 günlük erkek olan grup 6'dan ortalama 12 kesit
90 günlük dişi olan grup 6'dan ortalama 12 kesit
120 günlük erkek olan grup 7'den ortalama 12 kesit
120 günlük dişi olan grup 7'den ortalama 12 kesit
150 günlük erkek olan grup 8'den ortalama 13 kesit
150 günlük dişi olan grup 8'den ortalama 13 kesit
180 günlük erkek olan grup 9'dan ortalama 13 kesit
180 günlük dişi olan grup 9'dan ortalama 13 kesit elde edildi.



Şekil 3.3. Dilimlerin elde edildiği fraksiyon bıçağı (Aygün Cerrahi Aletler A.Ş. Türkiye)

3.2.4. Hata Katsayı ve hesaplanması

Beyin preparatlarında yapılan hesaplamaların kesinliği veya ortalama hata katsayısı (HK), aşağıda aşama aşama verilen eşitliklerden yararlanılarak hesaplandı.

1. Aşama:

$$Noise = 0.0724 \times (b / a) \times n \times \Sigma P$$

Noise; beynin kesit yüzey alanlarının karmaşık değerini yansıtır. b/a ; incelenecek yapının kesitlerde ortaya çıkan kenar uzunluğunun yüzey alanının kareköküne bölünmesi ile elde edilir. ΣP ; tüm kesitler üzerine düşen nokta sayısını ifade etmektedir.

2. Aşama:

$$Var_{SRS} \left(\sum_{i=1}^n a \right) = (3 \cdot (A - Noise) - 4 \cdot B + C) / 12 \quad (3.1)$$

Denklem 3.1'deki bu değişkenlik, kesit örneklemesinde uygun bir varyasyon elde etmek için gerekli kesit sayısını verir

3. Aşama:

$$ToplamVar = Noise + Var_{SRS} \quad (3.2)$$

4. aşama:

$$HK(\Sigma P) = \frac{\sqrt{ToplamVar}}{\Sigma P} \quad (3.3)$$

Çalışmada toplam hata katsayısı denklem 3.2 ve denklem 3.3'deki gibi hesaplandı. Hata katsayısı 0.05 den küçük olan değerler bilimsel olarak yeterli kesinlikte olduğunun niceliksel kanıtıdır. Bu çalışma da uygun hata katsayıları esas alınarak yapıldı.

3.2.5. Kesitler üzerinde alan ölçümü ve toplam hacmin hesaplanması

Alınan bütün kesitlerin noktalı alan ölçüm cetveli yardımıyla CM prensibine göre hacim ölçümleri yapıldı (Gundersen ve Jensen.). Bütün kesitler bittikten sonra takiben CM ile elde edilen sonuçlar SDM ile elde edilen sonuçlarla kıyaslandı ve istatistiksel olarak değerlendirildi.

Kesitler üzerinde hesaplar yapılırken seri kesit görüntülerindeki ilgili alanlar üzerine noktalı alan ölçüm cetveli rastgele olarak yerleştirildi ve ilgilenilen objeyi kesen tüm noktalar sabit bir kurala göre hesaplandı (Şahin ve Ark., 2001).

$$\text{Volume} = t \text{ (cm)} \times a/p \text{ (cm}^2\text{)} \times (\Sigma P) \text{ cm}^3 \quad (3.4)$$

Volume: beynin hacmi

t: kesit kalınlığı

a/p: iki nokta arasındaki alan

ΣP : kesitler üzerine düşen toplam nokta sayısı

V kesit planındaki ilgilenilen objenin (beynin) hacmidir, t kesit kalınlığı, a/p noktalar arası alan ve ΣP ise kesitteki beyni üzerine düşen toplam nokta sayısını göstermektedir. Her kesitte ayrı ayrı yukarıdaki formül kullanılarak hacim değerleri hesaplandıktan sonra aşağıdaki formülle toplam beyin hacmine ulaşıldı.

$$\text{Total Volume} = V_1 + V_2 + \dots + V_n$$

Total Volume: toplam hacim

V1: 1. kesitin hacmi

V2: 2. kesitin hacmi

Vn: n. kesitin hacmi

Kesit preparatlarında bütün gruptaki her bireyin beyinlerinin toplam hacimleri ayrı ayrı hesaplandı.

3.2.6. Histolojik işlemler

Örneklerin immünohistokimyasal olarak incelenebilmesi için bütün gruptan örnekler alındı. Çalışmada kullanılan ratların yaşları farklı olduğundan ventrikül duvarlarının immünohistokimyasal yöntemle incelenmesi amacıyla, ventriküllerin en iyi görüldüğü kesitlerin alınmasına ve immünohistokimyasal inceleme için uygun olmasına dikkat edildi.

1. kesitler, Lateral ventriküllerin pars centralis'i ile 3. ventrikül'ün pars anterior'u seviyesinden alınırken,

2. kesitler ise lateral ventriküllerin pars centralis'inin arka bölümü ile cornu inferius'tan geçecek şekilde alındı.

Gruplara göre hangi kesitlerin kullanılacağı ise aşağıda ifade edildiği gibi belirlendi.

1 günlük erkek yavru olan grup 1'den ortalama 4. ve 6. kesitler

1 günlük dişi yavru olan grup 1'den ortalama 4. ve 6. kesitler

7 günlük erkek yavru olan grup 2'den ortalama 5. ve 7. kesitler

7 günlük dişi yavru olan grup 2'den ortalama 5. ve 7. kesitler

14 günlük erkek olan grup 3'den ortalama 5. ve 8. kesitler
14 günlük dişi olan grup 3'den ortalama 5. ve 8. kesitler
30 günlük erkek olan grup 4'den ortalama 5. ve 9. kesitler
30 günlük dişi olan grup 4'den ortalama 5. ve 9. kesitler
60 günlük erkek olan grup 5'den ortalama 6. ve 8. kesitler
60 günlük dişi olan grup 5'den ortalama 6. ve 8. kesitler
90 günlük erkek olan grup 6'den ortalama 5. ve 9. kesitler
90 günlük dişi olan grup 6'den ortalama 5. ve 9. kesitler
120 günlük erkek olan grup 7'den ortalama 5. ve 8. kesitler
120 günlük dişi olan grup 7'den ortalama 5. ve 8. kesitler
150 günlük erkek olan grup 8'den ortalama 6. ve 10. kesitler
150 günlük dişi olan grup 8'den ortalama 6. ve 10. kesitler
180 günlük erkek olan grup 9'den ortalama 6. ve 10. kesitler
180 günlük dişi olan grup 9'den ortalama 6. ve 10. kesitler kullanıldı.

Işık mikroskopik çalışma için kullanılan beyin örnekleri %10'luk formalinde 48-72 saat fikse edildi. Daha sonra dokular dereceli alkol serileri ile dehidrate edilip ksilol serilerinde Őeffaflandırılarak parafinde bloklandı. Parafin bloklardan mikrotom (Jung. AG. Heidelberg, Germany) ile kesilen 4 mikron'luk seri kesitler cam lamlar üzerine alındı. %10 formalin fiksasyonlu doku örneklerinin parafin bloklarından yapılan 4 mikrometre kalınlığında kesitlere Hematoksilen-Eosin histokimyasal boyaları uygulandı. İmmünohistokimyasal olarak hücrelerin KI67 pozitif ve negatif sonucuna göre ventriküllerdeki proliferasyon indeksine bakıldı.

3.2.7. İstatistiksel değerlendirme

Deneylerden elde edilen sonuçlar 'SPSS 15.0 for windows' istatistik programı kullanılarak değerlendirildi. Verilerin analizinde Kruskal- Vallis varyans analizi testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılılık değerlendirmesi için yanılma olasılığı (P değeri) 0,05olarak seçildi. Test sonuçları $P < 0,05$ ise anlamlı kabul edildi. İkili grup karşılaştırmaları için Mann- Whitney U testi kullanıldı ve Benferroni düzeltmesi yapılarak istatistiksel anlamlılık değerlendirildi. İkili grup karşılaştırmalarında deney sonuçları $P < 0,0017$ ise anlamlı kabul edildi. Tüm değerler (ortalama \pm standart sapma(SD)) Şeklinde gösterildi. Deneylerin istatistik sonuçları yapıldıktan sonra Sigma Plot 10.0 Notebook program ile grafiklendirmeler yapıldı.

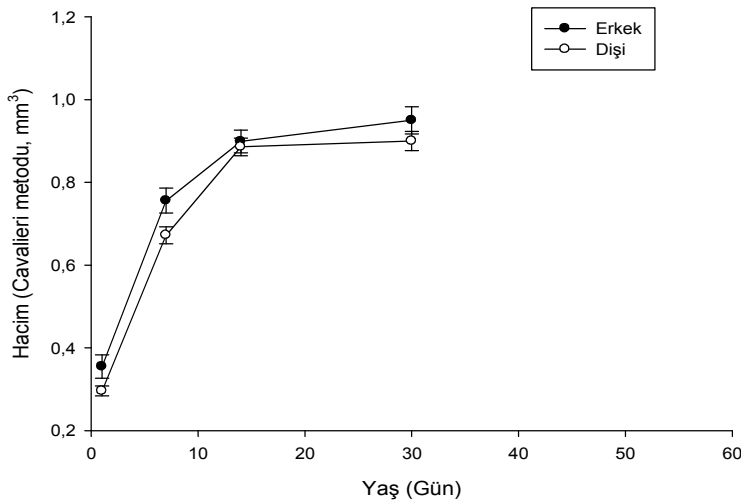
4. BULGULAR

4.1. Stereolojik Bulgular

Bu tez çalışmasında yenidoğan 1 günlük ile postnatal 7, 14, 30, 60, 90, 120, 150, ve 180 günlük ratların beyin hacimleri ve cinsiyetler arası ilişki değerlendirildi. Yeni doğan 1 günlük, 7, 14 ve 30 günlük ratların ortalama beyin hacimleri sırasıyla; 0.32 cm^3 , 0.71 cm^3 , 0.88 cm^3 ve 0.92 cm^3 olarak bulundu.

Cinsiyetlerin karşılaştırılmasında aynı periyotlardaki erkeklerin beyin hacimleri sırayla; 0.35 cm^3 , 0.75 cm^3 , 0.89 cm^3 ve 0.95 cm^3 olarak, dişilerin beyin hacimleri ise sırayla; 0.29 cm^3 , 0.67 cm^3 , 0.88 cm^3 , 0.90 cm^3 olarak bulundu. İlk bir ay boyunca beyin hacimleri hesaplanan ratların beyin hacimlerinin Kruskal Wallis varyans analizine göre karşılaştırılmalarında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü. Özellikle ilk üç grupta yani 1, 7 ve 14 günlük ratların beyin hacimleri hızla artarken, 30 günlük ratlardaki artış devam etmekle birlikte daha az olduğu görülmüştür ($p=0.00$) (Çizelge 4.1).

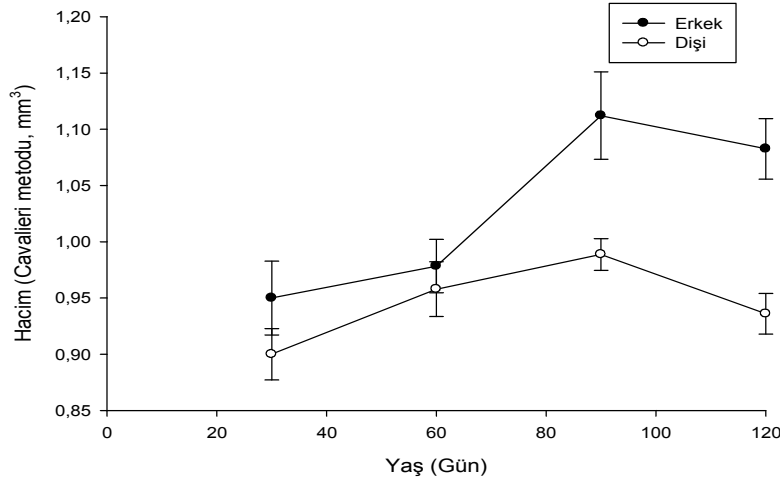
Çizelge 4.1. Postnatal 1, 7, 14 ve 30 günlük ratların Cavalieri metoduna göre beyin hacimleri



60, 90 ve 120 günlük ratların ortalama beyin hacimleri sırayla; 0.96 cm^3 , 1.04 cm^3 ve 1.005 cm^3 olarak bulundu. Cinsiyetler arası karşılaştırmada erkeklerin beyin hacimleri 0.97 cm^3 , 1.11 cm^3 ve 1.08 cm^3 olarak, dişilerin beyin hacimleri ise 0.95 cm^3 , 0.98 cm^3 ve 0.93 cm^3 olarak bulundu. 90 güne kadar düzenli bir artış olurken, 120 günlük ratlarda beyin hacimlerinde bir azalmanın olduğu görüldü (Çizelge 4.2). Bu grupların beyin hacimlerinin

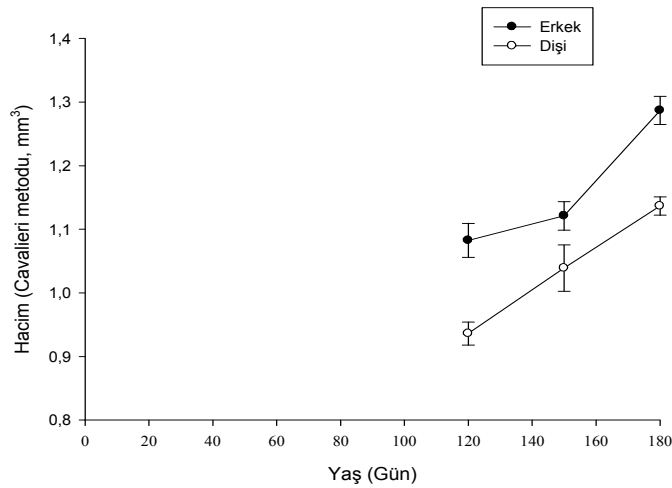
Kruskal Wallis varyans analizine göre karşılaştırılmalarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p=0.00$).

Çizelge 4.2. Postnatal 30, 60, 90 ve 120 günlük ratların Cavalieri metoduna göre beyin hacimleri



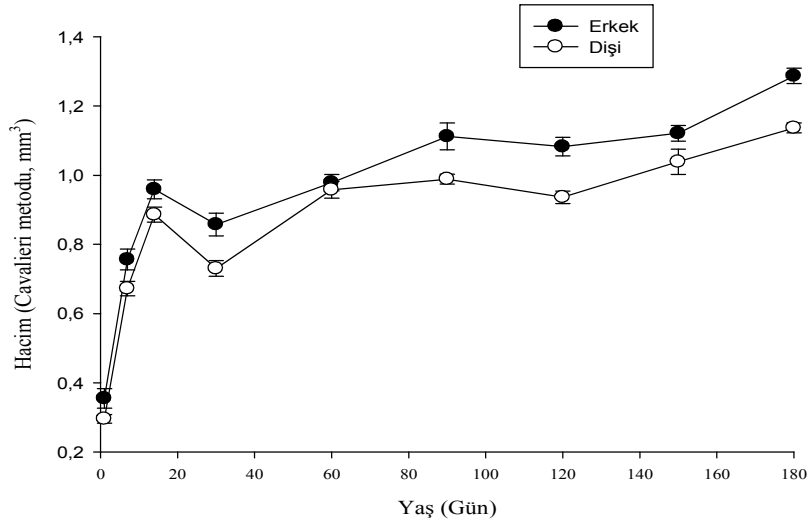
150 ve 180 günlük ratların ortalama beyin hacimleri; 1.07 cm^3 ve 1.20 cm^3 olarak bulundu. Cinsiyetler arası karşılaştırmalarda ise erkeklerin beyin hacimleri 1.12 cm^3 ve 1.28 cm^3 olarak, dişilerinki ise 1.03 cm^3 ve 1.13 cm^3 'dü (Çizelge 4.3). Bu grupların beyin hacimlerinin kruskal wallis varyans analizine göre karşılaştırılmalarında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p=0.00$).

Çizelge 4.3. Postnatal 120, 150 ve 180 günlük ratların Cavalieri metoduna göre beyin hacimleri

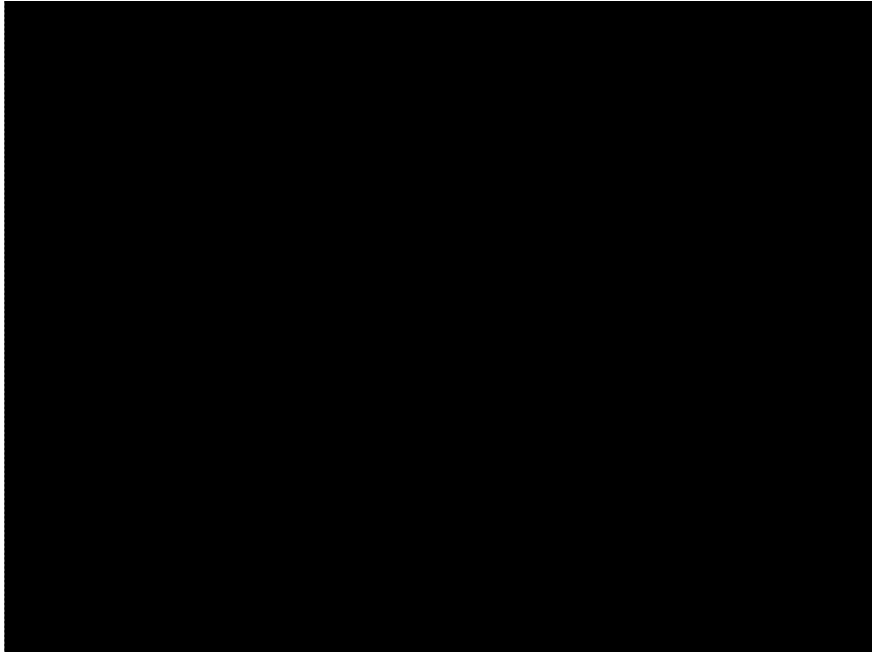


Bütün gruplar toplu olarak değerlendirildiğinde hem erkek hemde dişi 30 günlük bireylerde belirgin bir azalmanın olduğu (Çizelge 4.4. ve çizelge 4.5.) ve bu grupların beyin hacimlerinin, kruskal wallis varyans analizine göre karşılaştırılmalarında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p=0.00$).

Çizelge 4.4. Postnatal 1, 7, 14, 30, 60, 90, 120, 150 ve 180 günlük ratların Cavalieri metoduna göre beyin hacimleri

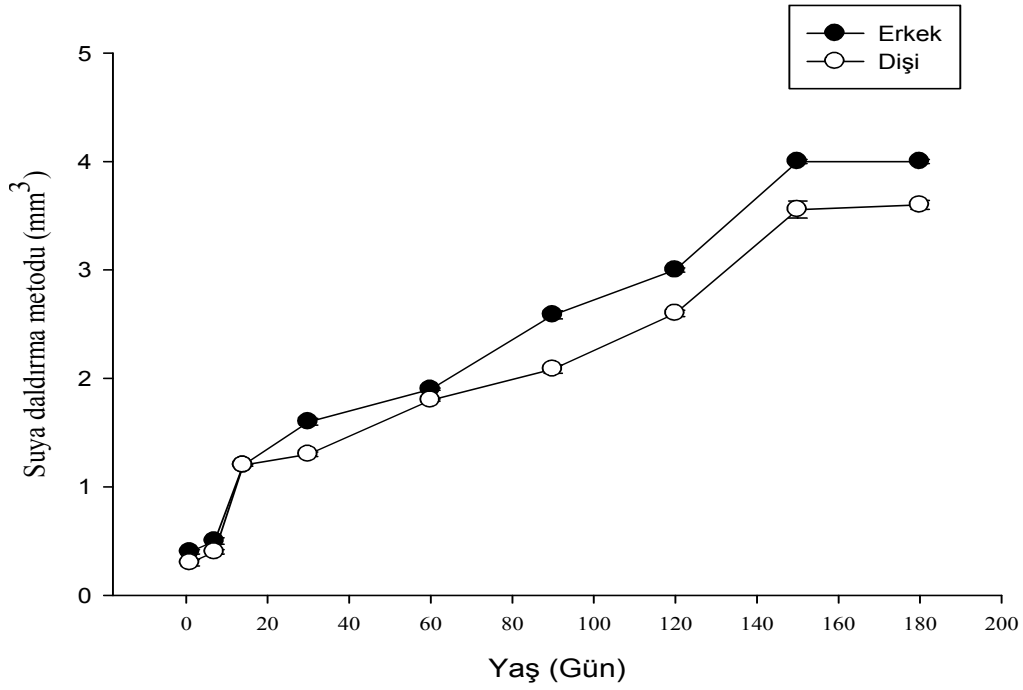


Çizelge 4.5. Postnatal 1, 7, 14, 30, 60, 90, 120, 150 ve 180 günlük ratların Cavalieri metoduna göre beyin hacimleri



SDM’da ise beyin hacimlerinin düzenli olarak arttığı ve erkek bireylerin beyin hacimlerinin dişilerinkinden daha yüksek olduğu görüldü (Çizelge 4.6). Erkek ve dişi bireylerdeki artışın birbirine paralel olduğu ve 60 günlük bireylerde beyin hacimlerinin birbirine en yakın değerlerde olduğu görüldü. Bu grupların SDM ile beyin hacimlerinin Kruskal Wallis varyans analizine göre karşılaştırılmalarında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış olduğu görüldü ($p=0.00$).

Çizelge 4.6. Postnatal 1, 7, 14, 30, 60, 90, 120, 150 ve 180 günlük ratların Suyu daldırma Metoduna göre beyin hacimleri



Cavalieri prensibi ve suya daldırma metoduna göre erkek bireylerin beyin hacimleri dişi bireylerin beyin hacimlerinden yüksek ve beyindeki hacim artışının her iki yöntemde de birbirine paralel olduğu görüldü. Fakat CM'da ölçüm'ün daha hassas olması ve ilgilenilen yapının hesaplanması esnasında araya başka yapıların girmemesinden dolayı CM ile hesaplanan hacim gerçek hacme en yakın değer olarak kabul edilmektedir (Çizelge 4.7).

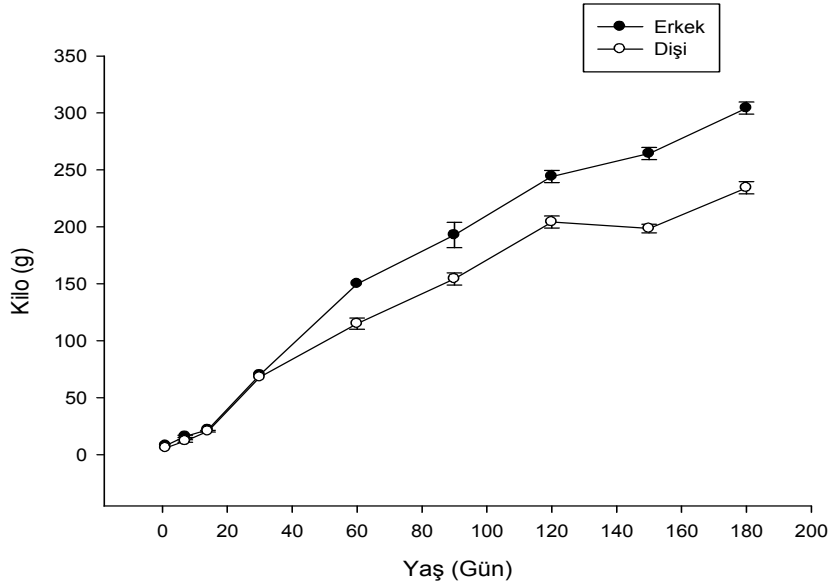
Çizelge 4.7. Bütün grupların Cavalieri ve suya daldırma metoduna göre beyin hacimleri ve karşılaştırmaları

Gruplar	N	CM (cm ³)	SDM (ml)
Postnatal 1 gün erkek	7	0,35 ± 0,02	0,40 ± 0,03
Postnatal 1 gün dişi	7	0,29 ± 0,01	0,30 ± 0,02
Postnatal 7 gün erkek	7	0,75 ± 0,03	0,50 ± 0,02
Postnatal 7 gün dişi	7	0,67 ± 0,02	0,40 ± 0,03
14 günlük erkek	7	0,95 ± 0,02	1,20 ± 0,03
14 günlük dişi	7	0,88 ± 0,02	1,20 ± 0,03
30 günlük erkek	7	0,85 ± 0,03	1,60 ± 0,03
30 günlük dişi	7	0,73 ± 0,02	1,30 ± 0,02
60 günlük erkek	7	0,97 ± 0,02	1,90 ± 0,03
60 günlük dişi	7	0,95 ± 0,02	1,80 ± 0,04
90 günlük erkek	7	1,11 ± 0,03	2,56 ± 0,03
90 günlük dişi	7	0,98 ± 0,01	2,08 ± 0,03
120 günlük erkek	7	1,08 ± 0,02	3,00 ± 0,04
120 günlük dişi	7	0,93 ± 0,01	2,60 ± 0,06
150 günlük erkek	7	1,12 ± 0,02	4,00 ± 0,05
150 günlük dişi	7	1,03 ± 0,03	3,55 ± 0,07
180 günlük erkek	7	1,28 ± 0,02	4,00 ± 0,04
180 günlük dişi	7	1,13 ± 0,01	3,60 ± 0,06

Ortalama ± Standart Sapma N: Gruptaki birey sayısı

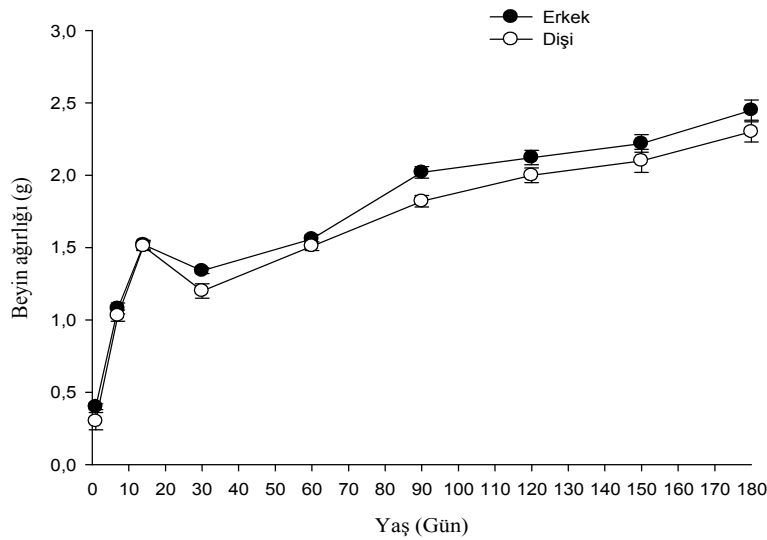
Boy, kilo ve beyin ağırlığı üzerinde yapılan diğer morfometrik ölçümlerde de yaşla birlikte bir artışın meydana geldiği ve her ölçüm için erkek bireylerin boy, kilo ve beyin ağırlıklarının dişilerinkinden daha yüksek olduğu bulundu. Beyin ağırlıklarında genel olarak bir artış söz konusu iken, sadece 30 günlük dişi ve erkek ratlarda bir azalmanın olduğu, daha sonraki bütün gruplarda düzenli ama ilk gruplara göre daha yavaş bir büyümenin olduğu görüldü (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.8. Postnatal 1, 7, 14, 30, 60, 90, 120, 150 ve 180 günlük ratların ağırlıklarının yaşla birlikte değişimi



Ağırlık değişimlerinde yaşla birlikte bir artış söz konusu iken ilk bir aylık gruplarda erkek ve dişi bireylerin ağırlıkları birbirine çok yakın olarak seyretmekteydi. Daha sonraki gruplarda erkeklerin ağırlıkları daha büyük olacak şekilde bir büyümenin olduğu görüldü (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Postnatal 1, 7, 14, 30, 60, 90, 120, 150 ve 180 günlük ratların beyin ağırlıklarının yaşla birlikte değişimi



İstatistiksel olarak yapılan hem ikili karşılaştırmalarda hem de gruplararası karşılaştırmalarda anlamlı olarak ilişki olduğu görüldü ($p=0.00$) (Çizelge 4.10. ve çizelge 4.11)

Çizelge 4.10. Kruskal wallis ile yaş, kilo ve beyin ağırlıklarının p değerleri

	Yaş	Kilo	Beyin ağırlığı
Chi-Square	123,958	119,375	115,509
Df	7	7	7
Asymp. Sig.	,000	,000	,000

Çizelge 4.11. Mann- whitney U ile yaş, kilo, beyin ağırlıkları, suya daldırma metodu ve cavalieri prensiblerinin p değerleri

	Yaş	Kilo	Beyin ağırlığı	Suya daldırma	Cavalieri metodu
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	24,500	,000
Wilcoxon W	105,000	105,000	105,000	129,500	105,000
Z	-5,196	-4,582	-4,652	-3,674	-4,515
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000	,000	,000	,000	,000

4.2. Histolojik Bulgular

Serebral korteks tabakaları ile subventriküler zondaki hücre özellikleri ve buradaki endim hücrelerinin yaşla birlikte gösterdiği değişiklikler incelendi.

Postnatal 1 günlük:

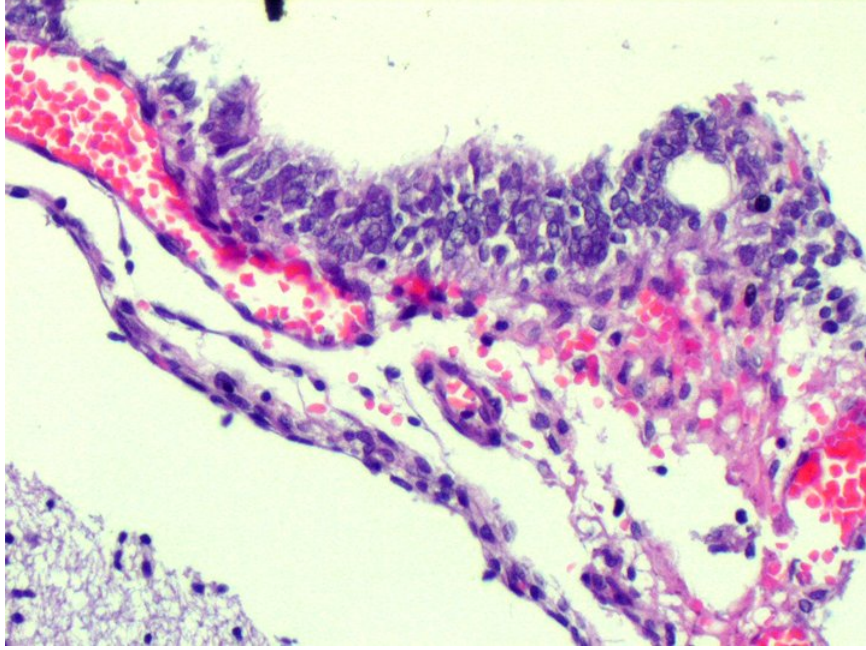
Serebral korteks, özellikle de gangliyonik tabaka (IV.) ve dış granüler tabaka olmak üzere, tabakalarında kalınlaşma gözlemlendi. Epitel ise stratifiye kübik silyalı hücre tabakası şeklindeydi. Ki67 ile elde edilen verilere göre, dişilerdeki mitotik aktivitenin erkeklerden daha yüksek olduğu görüldü.

Postnatal 7 günlük:

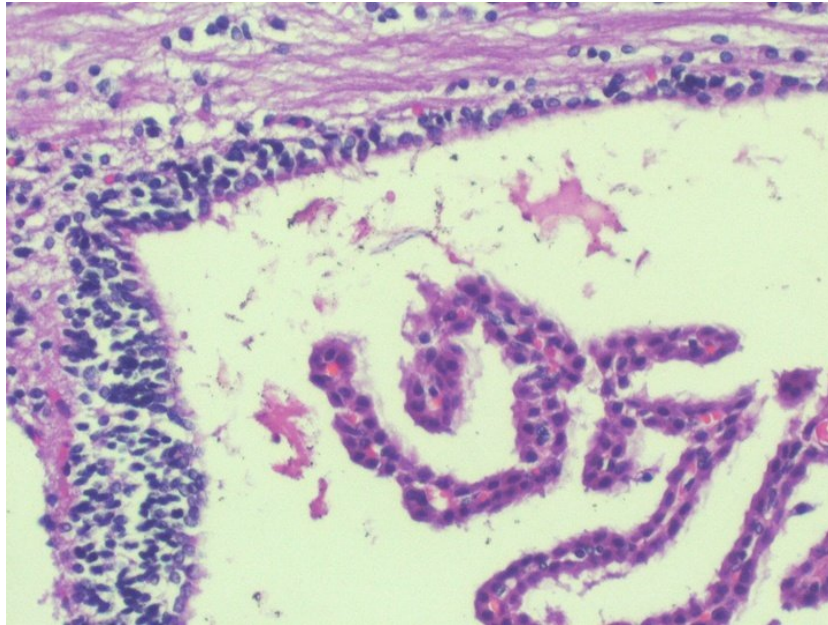
Erkek bireylerin 1. kesitlerindeki hücreler stratifiye silyalı iken 2. kesitlerindeki epitelyum hücrelerinin hem tek sıra hem de stratifiye silyalı kübik hücreler şeklinde olduğu görüldü. Dişilerin 1. kesitleri tek sıralı, kübik silyalı hücre tabakası şeklinde iken, 2. kesitler ise stratifiye kübik silyalı hücre tabakası şeklindeydi. Proliferasyon indeksleri incelendiğinde erkeklerin 1. kesitlerindeki ki67 indeksi % 2 iken 2. kesitlerdeki indeks %12 oranındaydı. Dişilerde ise kesitler arasında herhangi bir fark bulunmadı (Ki67-%2).

Postnatal 14, 30, 60, 90 ve 120 günlük:

Erkek ve dişi bireylerin 1. ve 2. kesitlerinde tek katlı- stratifiye silyalı kübik hücre tabakası belirlendi. Her iki grupta da 2. kesitlerinde proliferasyon indekslerinde bir azalmanın olduğu görüldü.



Şekil 4.1. 1 günlük ratlar'a ait histolojik görüntü kübik silyalı ve stratifiye hücre

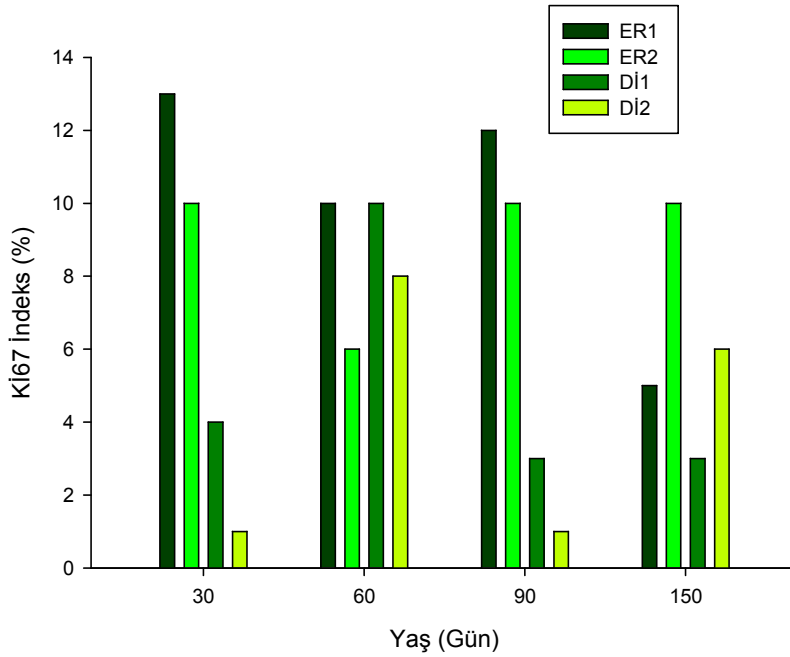


Şekil 4.2. 30 günlük ratlar'a ait histolojik görüntü kübik silyalı, stratifiye ve tek sıralı hücre tabakası

Postnatal 150 ve 180 günlük:

Erkek ve dişi bireylerin 1. ve 2. kesitlerinde tek katlı- stratifiye silyalı kübik hücre tabakası gözlemlendi. Her iki grubun 2. kesitlerinde proliferasyon indekslerinde bir artışın olduğu görüldü (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Postnatal 30, 60, 90 ve 150 günlük ratlardaki SVZ'daki proliferasyon indeksleri



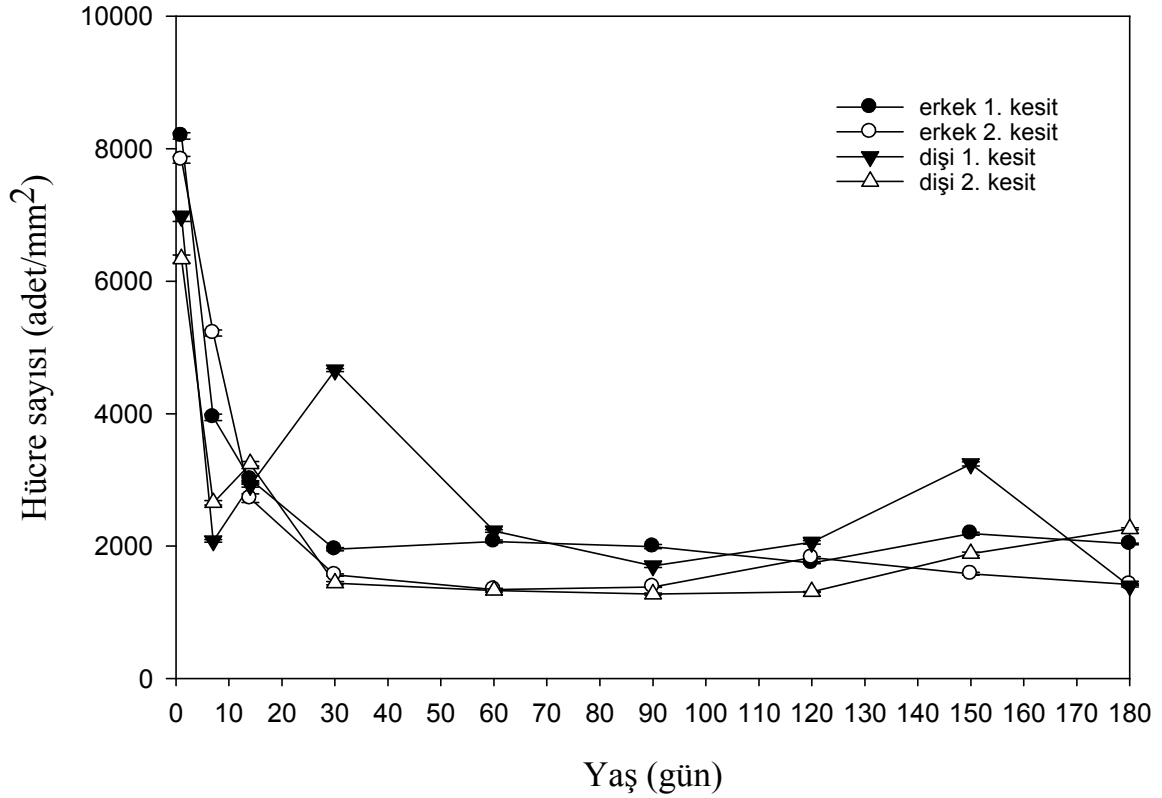
Subventriküler zondaki endim hücreleri incelendiğinde ise erkek bireylerde en fazla hücrenin postnatal 1 günlüklerde olduğu daha sonra yaşla birlikte hücre sayılarında bir azalma gözlemlendi. 14 günlük ratlarda KI67 ile boyanan (kırmızı hücreler) hücreler daha fazla (şekil 4.3) iken 150 günlük ratlarda çok daha az hücrenin boyanma gösterdiği görüldü (şekil 4.4). 1. ve 2. kesitler karşılaştırıldığında ise 1. kesitlerdeki endim hücre sayılarının 2. kesitlerden daha yüksek olduğu sadece 120 günlük ratlarda bir çakışmanın olduğu görüldü (Çizelge 4.12). 120 günlük ratlar hariç, gruplararası istatistiksel anlamlılık bulunurken ($p < 0.05$) 120 günlük grupta ise herhangi bir anlamlılık bulunmadı ($p > 0.05$).

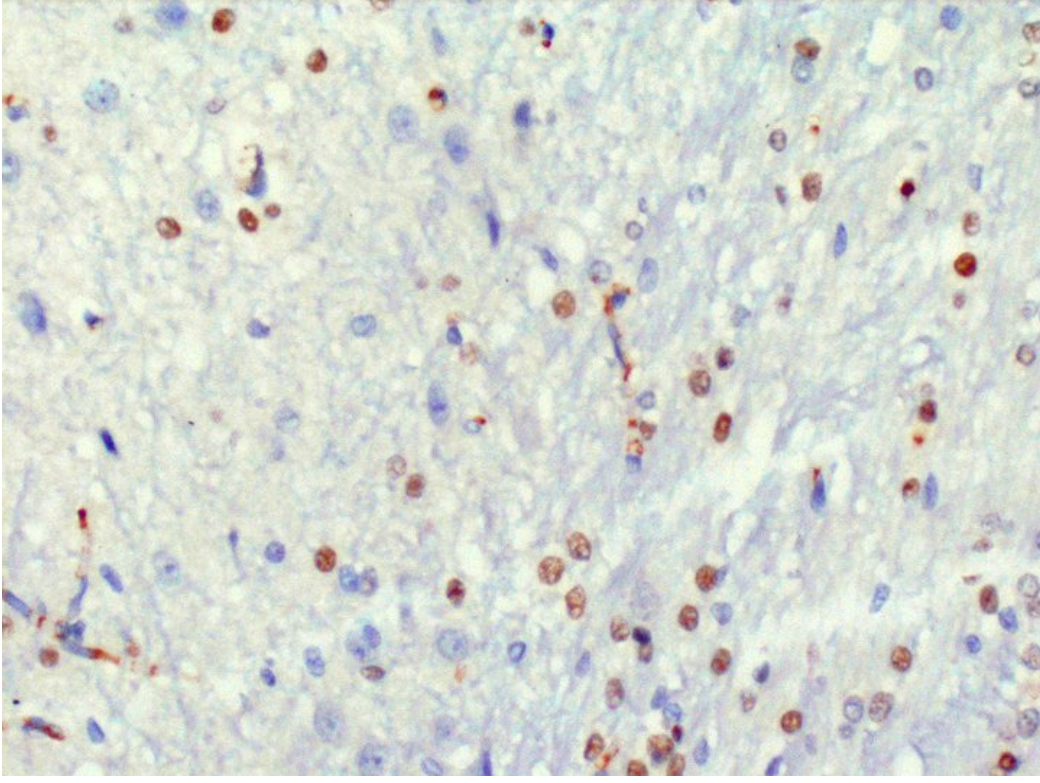
Genel olarak dişilerdeki endim hücre sayıları erkeklerden daha düşük seviyede idi. Dişilerde de erkeklerde olduğu gibi yaşla birlikte bir azalma olduğu görüldü. Fakat ilginç olan 30 günlük bütün ratlar'da endim hücre sayılarında bir azalma söz konusu iken sadece dişi bireylerin 1. kesitlerinde keskin bir şekilde artışın olduğu ve aynı grup içinde en fazla değere ulaşılmış olduğu gözlemlendi (Çizelge 4.13). 30 günlük erkeklerin 1.

kesitlerinde 1952 hücre sayısı/mm², 2. kesitlerde 1564 hücre sayısı/mm² olarak bulundu. Dişi bireylerde ise 1. kesitlerde 4656 hücre sayısı/mm², 2. kesitlerde ise 1308 hücre sayısı/mm² hücre sayıldı.

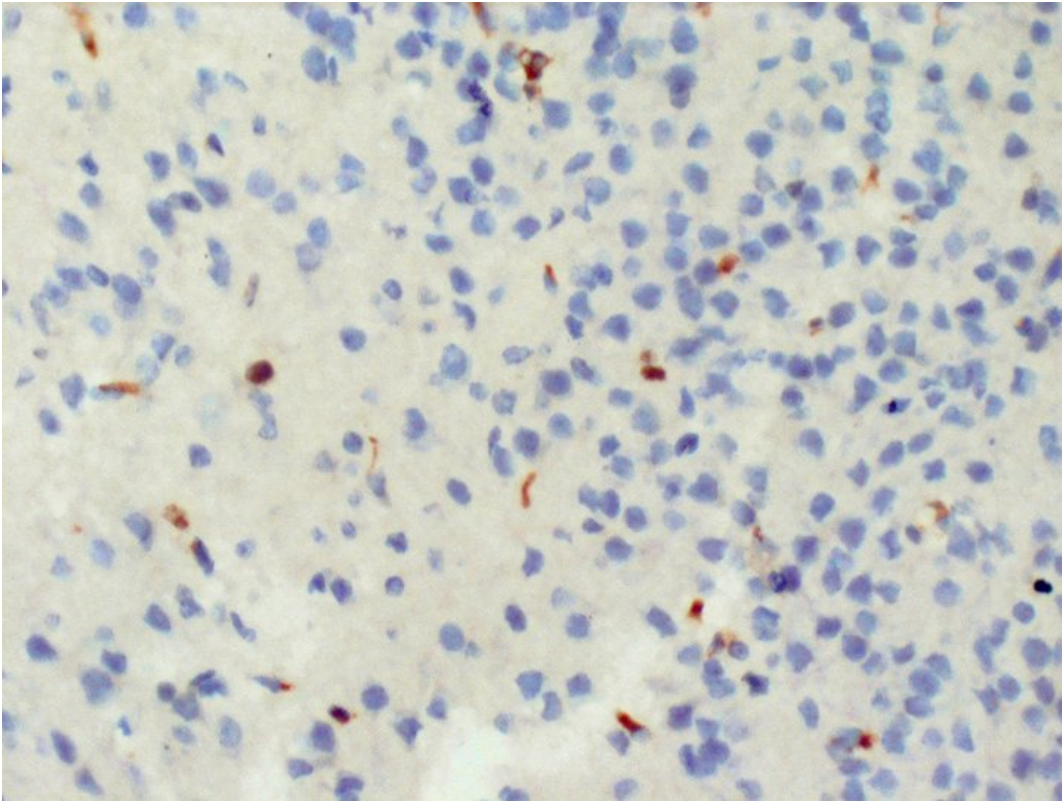
Benzer farklılık 150 günlük dişi rat gruplarında da görüldü. Bu grupta sadece 1. kesitlerde değil 2. kesitlerde de hücre sayımında bir artışın olduğu gözlemlendi. Hücre sayılarındaki bu artış ve 1.kesit ile 2. kesit arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0.05).

Çizelge 4.13. Bütün grupların SVZ'daki ependim hücre sayılarının yaşla ilişkisi





Şekil 4.3. 14 günlük ratlarda KI67 ile boyanan hücreler (kırmızı ile boyananlar)



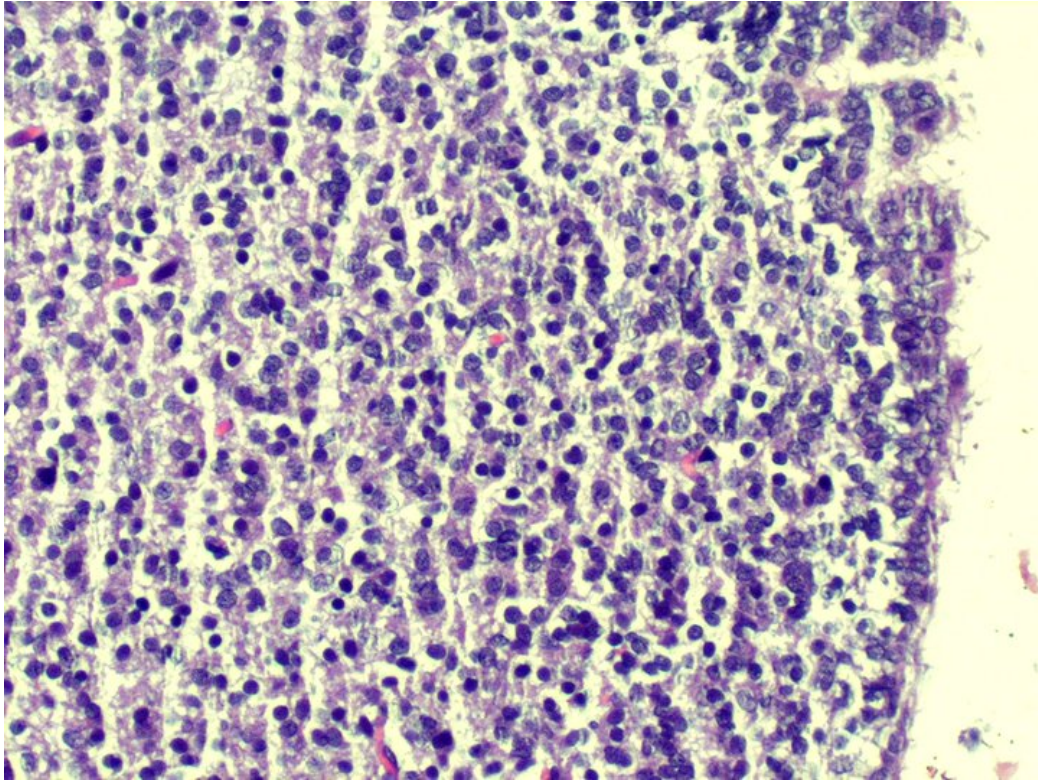
Şekil 4.4. 120 günlük ratlarda KI67 ile boyanan (kırmızı ile boyananlar)

Çizelge 4.14. Bütün gruplardaki SVZ'da bulunan ependim hücre ortalamaları

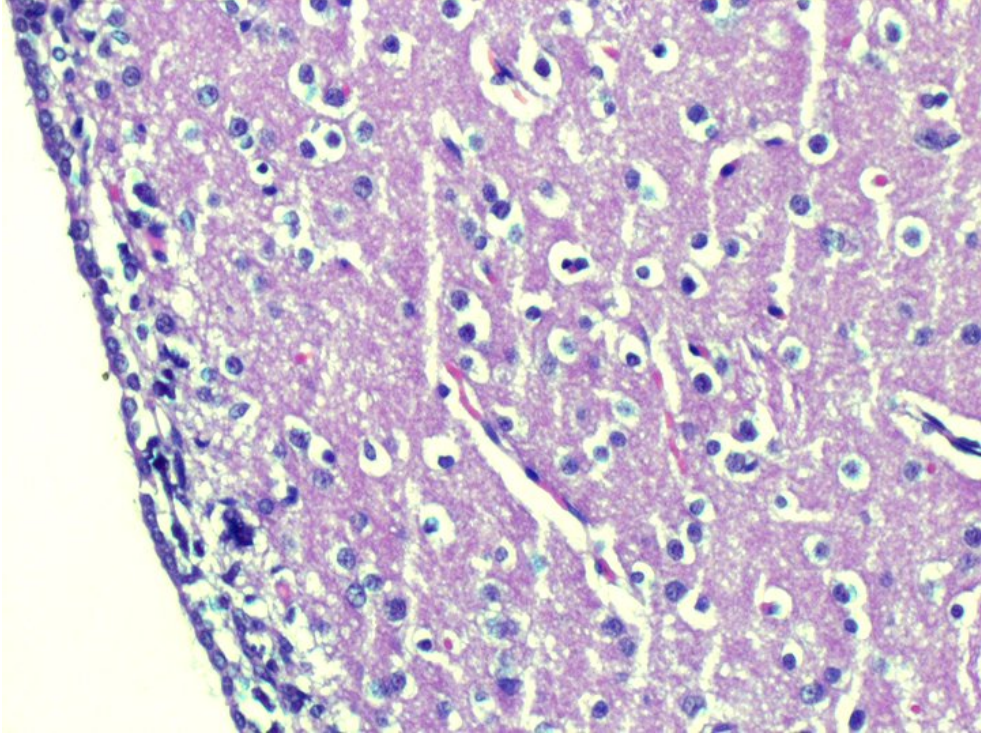
Gruplar	Erkek 1. kesit (Hücre sayısı/mm ²)	Erkek 2. kesit (Hücre sayısı/mm ²)	Dişi 1. kesit (Hücre sayısı/mm ²)	Dişi 2. kesit (Hücre sayısı/mm ²)
Postnatal 1 gün	8192 ±48,4	7832 ±52,5	6976 ±74,6	6336 ±60,4
Postnatal 7 gün	3944 ±49,5	5216 ±46	2076,8 ±20,2	2652 ±30,6
14 günlük	3008 ±53,5	2720 ±65,4	2912 ±21,7	3240 ±33,1
30 günlük	1952 ±23,8	1564 ±15,5	4656 ±22,1	1440 ±26,1
60 günlük	2068 ±22,2	1344 ±18,4	2228 ±19,2	1328 ±22,3
90 günlük	1992 ±32,8	1384 ±7,11	1700 ±25,8	1276 ±14,2
120 günlük	1744 ±12,9	1824 ±14,7	2056 ±25,3	1308 ±6,7
150 günlük	2188 ±20,5	1580 ±20,7	3240 ±33	1884 ±25
180 günlük	2032 ±10,1	1420 ±9,8	1396 ±12,2	2260 ±15,4

Ortalama ±Standart sapma

Bütün gruplar periyodik olarak incelendiğinde yaşla birlikte hücre yoğunluğunda bir azalmanın olduğu görüldü. Histolojik görüntülerde yeni doğanlarda yoğun bir boyanma söz konusu iken 90 ve daha sonraki gruplarda hücre yoğunluğunda ciddi bir azalmanın olduğu görüldü (Şekil 4.5. ve şekil 4.6).



Şekil 4.5. 1 günlük ratlarda hücre yoğunluğu



Şekil 4.6. 150 günlük ratlarda hücre yoğunluğu

5. TARTIŞMA

Beynin yapısı ve gelişimi ile ilgili olarak yapılan binlerce çalışma gibi, bu araştırmanın amacı da ‘ratlarda beynin volumetrik açıdan hacmi ve ventriküler yapısının’ anlaşılmasına katkı sağlamaktır. Çalışmamızda, rat beyninin ışık mikroskopik düzeyde gelişiminin Suya Daldırma Metodu ve Stereolojik incelenmesine ek olarak histolojik araştırılması hedeflenmiştir.

Ratlarda adölesan dönem 21. günden itibaren başlar ve 60 güne kadar sürer. Tirelli ve ark. (2003) adölesan dönemi postnatal 21-34 günler arası prepuberte/erken adölesan, postnatal 34-46. güne kadar olan dönem orta-adölesan ve postnatal 46-59 günler arasını da geç adölesan olarak üç döneme ayırmışlardır. Sıçanlar üreme fonksiyonlarının gerçekleşmesiyle doğumdan sonraki 60. günden itibaren erişkin kabul edilirler. Kemirgen beyni adölesan dönem boyunca önemli gelişme geçirirken hacmi adölesan dönem boyunca artar. Hücre proliferasyon hızı ve dendrit yoğunluğu ise adölesanlarda erişkinlerden daha fazla olmaktadır. Reseptör ekspresyonu, dendritik dallanma ve sinaptogenezis de adölesan dönem boyunca devam eder, ancak postnatal dönemdeki miyelinizasyona ek olarak çevresel faktörler gibi birçok süreç beyin yapısını etkiler. İnsan beyninin gelişim süreci gebeliğin ilk başlangıcından sonra yaklaşık 15 yıl boyunca sürer. Büyüme oranı intrauterin yaşam ve ilk postnatal aylarda oldukça hızlıdır. 2 yaşında beyin yetişkin hacminin % 75’ine erişir ama beyin yapısındaki ve fizyolojisindeki değişiklik ömür boyu sürer (Yücel ve ark., 2003). Rice ve Barone’a göre ratlarda beyin total hacmi postnatal ilk aylarda büyük bir hızla gelişirken insanlarda 3 yaş civarında yetişkin beyin hacminin % 80’i kadar olmaktadır. Bu konuda yapılan başka çalışmalarda ise insanlarda beyin hacminin % 95’inin tamamlanmasının Giedd’e (Giedd J. 1999) göre 5 yaşında, Rhosel’e (Lenroot RS, 2006) göre 6 yaşında ve Caviness’e (Caviness VS, 1996) göre de 9 yaşında olduğu ifade edilmiştir. Her iki türde de genellikle miyelinizasyon gösteren beyaz madde yaşla artarken gri maddenin azaldığı belirtilmiştir.

Konunun daha iyi ve net olarak anlaşılabilmesi için sonuçlar üzerinde yapılan yorumlar iki grup altında toplandı:

Beyin gelişiminin volumetrik değerlendirilmesi:

Konunun ayrıntısına girmeden önce beyin hacminin belirlenmesinin üzerinde neden bu kadar ısrarla durulduğunu açıklamak gerekmektedir. Beyin hacmi gerek çocuklarda gerekse de yetişkinlerde sadece gelişimsel açıdan değil aynı zamanda birçok hastalığın tanı

ve tedavisinde önemlidir. Otizm, hiperaktivite bozukluğu, şizofreni, klinefelter sendromu, epilepsi, preterm doğum ve ileri yaşlarda da alzheimer gibi birçok hastalık üzerinde yapılan çalışmalarda beyin hacmindeki değişimler vurgulanmıştır. Araştırmalar adölesan dönemde PFC, hipokampus veya diğer limbik bölgelerde gelişim dönemindeki çeşitli etkilerle şizofreni, alkol ve madde bağımlılığı gibi hastalıkların başlamasının mümkün olduğunu göstermektedir (Wolfer DP ve ark. 1995). Aynı zamanda bu çalışmalarda beyin hacmi ve lateral ventrikül arasındaki negatif bir geri dönüşün olduğu da vurgulanmıştır. Yani beyin hacmindeki artış ventrikül hacminde azalmaya, beyin hacminde azalış ise ventrikül hacminde artmaya neden olmaktadır (Nowakowski ve ark. 2005).

Volumetrik açıdan yapılan çalışmalarda birçok farklı metot ve teknikler kullanılmakta, bunların kendi aralarında birbirlerine üstünlükleri olup olmadığı tartışılmaktadır. İlk zamanlarda ‘suya daldırma metodu’ kullanılıyor iken son 10–15 yıldır biyolojik yapıların morfolojik yönden değerlendirilmesinde stereolojik metotlar olarak bilinen özel yeni yaklaşımlar kullanılmaktadır (Bilgiç ve ark., 2005). Histolojik materyallerden elde edilen iki boyutlu kesit görüntülerinin, değişik teknik ve metotlar kullanılarak, onların gerçekteki üç boyutlu yapısal özellikleri ile ilgili bilgilerin ve yorumlarının elde edilmesini sağlayan stereolojik metotlar sayesinde hacim, yüzey alanı, sayı, uzunluk gibi sayısal morfolojik değerler araştırılarak istenilen doku hakkında büyük ölçüde fikir elde edilebilmektedir (Şahin ve ark., 2003).

İlgilenilen ve hacmi hesaplanmak istenen yapı, sözgelimi karaciğer ve dalak gibi çevresindeki diğer organ veya yapılardan izole edilebilecek makroskopik bir yapılanmaya sahipse, bunun hacmi hesaplanmak yerine doğrudan ölçülebilir. Bu gibi durumlarda sık kullanılan bir yöntem, yapıyı içi su ile doldurulmuş dereceli bir silindir içine atarak, artan su miktarını ölçmektir. İlgilenilen organ akciğer gibi doğal iç boşluklar (kaviteler) içeriyorsa, böyle yapılarda sıvı yer değiştirme yöntemini uygulamak için, organın boşluklarının girişleri (örneğin akciğerlerde primer bronşlar) su geçirmeyecek bir biçimde tılandıktan sonra hacim ölçümü yapılmalıdır (Şahin ve ark., 2001). Aksi takdirde, organın boşluklarına su dolması sonucu, hacim gerçek hacimden daha küçük olarak ölçülebilir (Gundersen ve ark. 1988, Gundersen ve ark. 1987). Çoğu zaman ilgilendiğimiz yapılar, çevrelerindeki bileşenlerden izole edilemezler. Örneğin, beynin gri maddesi, beyin çekirdekleri, dalaktaki beyaz pulpa, kemik iliği, akciğer kesecikleri gibi yapılar, çevrelerindeki diğer yapılarla girift bir ilişki içerisindedirler ve böyle yapıları izole ederek doğrudan bir hacim ölçümü yapılması çoğu kez olanaksız olduğu için Bonoventur

Cavalieri tarafından ortaya konulan prensipler uygulanmaktadır. Stereolojik yöntemler bu prensiplerin uygulanmasıyla ortaya çıkmıştır (Canan ve ark. 2002).

Altunkaynak ve Altunkaynak (2006), farklı fiksasyon işlemlerinin karaciğer dokusu üzerine olan etkilerini araştırdıkları çalışmalarında bizim çalışmamızdaki gibi SDM ile stereolojik metodu karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak SDM’de karaciğer hacimlerini daha yüksek olarak bulmuşlardır. Bizim bulduğumuz sonuçlarda da SDM ile ölçülen sonuçlar CM’na göre daha yüksek bulundu. SDM ölçümlerinde dokuların ayrıntılı bölümlerinin ölçülmesi çok zor olduğu için ölçüm sonucu çok doğru olmayabilir.

Şahin ve ark., (2001) 4-5 aylık koyun, 8 haftalık rat ve kuş beyinleri üzerinde, sağ-sol hemisfer asimetrisini araştırdıkları çalışmalarında, ratlarda sağ hemisfer hacmini 592.92 mm³, sol hemisfer hacmini ise 604.9 mm³ olarak bulmuşlardır. Cinsiyetler arası karşılaştırmalarında ise bizim bulgularımıza paralel olarak dişilerin ortalama hemisfer hacmini (592.4 mm³) erkeklerinkinden (605.5 mm³) daha küçük bulmalarına karşılık hemisferler arasında herhangi bir asimetrinin olmadığını belirtmişlerdir. Aynı yaş gruplarındaki bizim sonuçlarımız da daha düşük olarak bulundu. Biz de 60 günlük erkek ratların total beyin hacmini 0,97 cm³, dişilerin total beyin hacmini 0,95 cm³ olarak ölçtük.

Yücel ve ark., (2003) 45, 90 ve 280 günlük ratlar üzerinde beyinlerindeki hacim değişikliklerini hesaplamak amacı ile Cavalieri prensibini kullanmışlardır. Total beyin ağırlıklarında 45 ve 90 günlük ratlar arasında herhangi bir istatistiksel fark bulunmamasına karşın, 90 ve 280 günlük bireyler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulmuşlardır. Yücel ve ark. çalışmalarında beyinleri 3 mm’lik toplam 5 sistematik dilime bölerek nokta sayımı yapıp ortalama hacimlerini 0.96 cm³ olarak, total beyin ağırlığını ise 2.3 gr olarak bulmuşlardır. Cavalieri prensibinin temelinde ise kesit kalınlığı ne kadar ince olursa alınacak sonuçların o derece hassas olduğu ve hata katsayısını da o oranda düşüreceği için çalışmamız 1 mm’lik kesitler alınarak yapıldı. Bahsedilen çalışmada deney hayvanları üzerinde total beyin hacminin yaşla birlikte nasıl değişime uğradığını gösteren çalışmalara rastlayamadıkları, sadece beyin çeşitli bölümlerinin hacimlerinin araştırıldığı belirtilmiştir. Biz de bu eksikliği giderebilmek amacıyla yenidoğan ilk günden başlayarak erişkin sonrası dönem 180. güne kadar beyin ağırlığını ve hacmini hem stereolojik metot hem de suya daldırma metodu kullanarak araştırdık. Çalışmamız periyodik gruplardan olduğundan dolayı 30 günlük erkek ve dişilerin beyin hacimleri sırasıyla 0,85 cm³ ve 0,73 cm³ olarak, 90 günlük bir rattan ortalama 12 kesit alınıp nokta sayımı yapılarak ortalama beyin hacmi 0.95 cm³, total beyin ağırlığı ise 1.7 gr olarak bulunmuştur.

Hem bizim bulgularımıza göre hem de yapılan literatür taramasında ratların beyinin genç ergin (90. gün) olduktan sonra da büyümeye devam ettiği belirlenmiştir. Çünkü araştırmalarda ratların beyinleri ya da beyinlerinin değişik bölümlerinin 90. günden sonra da sürekli olarak ağırlık artışı gösterdiği ifade edilmektedir. Beyinde gözlenen bu ağırlık artışı nöron artışı olmaksızın, glia hücresi, miyelin, kolesterol, fosfolipit ve glikolipit miktarındaki artıştan kaynaklanabilir. Nitekim, miyelin beyinin kuru ağırlığının yaklaşık yarısını oluşturmakta olup, oligodendroglia hücreleri tarafından oluşturulmaktadır (Yücel ve ark., 2003).

İnsanlardan farklı olarak ratlarda beyin gelişimi daha çok postnatal dönemde olduğu için bu dönemlerdeki olumsuz çevre koşulları beslenmedeki yetersizlik direkt olarak sinaptogenesis, miyelinizasyon ve kapillarizasyon olaylarını insanlardan daha fazla etkileyebilmektedir.

Peinado ve ark., (1997), 4-6 ve 30-32 aylık ratlarda kortikal hacim, nöral densite ve glial hücre yoğunluğunu araştırdıkları çalışmalarında korteks hacminin ve nöral densitenin yaşla birlikte değişmediğini ancak yaşlı ratlarda glial densitenin bütün tabakalarda yaklaşık % 17 oranında arttığını belirtmişlerdir.

Kantitatif analizlerde yaşla birlikte nöronal ve glial popülasyonun nasıl değişime uğradığı, beyin hacminin bu durumdan nasıl etkilendiği daima tartışılan konulardan biri olmuştur. Yapılan ilk çalışmalarda beyin gelişim sürecinde yaş ile hücre kayıpları arasında sıkı bir ilişki olduğu belirtilmiştir (Karacan, 2008). Daha sonraki çalışmalarda ise bu nöronal kayıpların sadece substantia nigra ve hippocampus gibi spesifik bölgelerde olduğu belirtilmiştir. Ayrıca yaşa paralel kortikal nöronlardaki bu azalmanın aslında nöronal kayıp olarak değil de akson, dentrit ve nükleuslardaki dejenerasyondan kaynaklandığı belirtilmiştir. Perikaryondaki dejenerasyonun da beyindeki küçülmeye sebep olacağı çeşitli çalışmalarda tartışmalı olarak ifade edilmiş olsa bile Peinado ve ark., (1997) ratlarda parietal kortekste morfolojik değişiklikleri inceledikleri çalışmalarında yaşla birlikte perikaryonda ve korteks hacminde azalmanın nöronal kayıp ya da azalmaya bağlı olmadığını belirtmişlerdir.

SVZ ve endodimal tabakanın değerlendirilmesi.

Elektron mikroskopunun kullanılmaya başlanması ile birlikte son yıllarda yapılan çalışmalarda erişkin memeli beyinin belirli bölgelerinde nörogenezin devam ettiği, embriyonik dönemde yaklaşık yedi bölgede progenitor hücre bulunurken yetişkin

bireylerde ise özellikle hipokampus ile subventriküler zonda bulunan hücrelerin mitotik aktivite gösterdiği üzerinde durulmuştur.

Embriyonal dönemde sinir sisteminde tüm makroglia (OG ve astrositler) ve nöronlar, ventriküler tabakada yerleşen progenitor (öncül, prekürsor) hücrelerden gelişmektedirler. Lateral ventriküllerin rostral ucundan spinal kanalın kaudal ucuna kadar uzanan hücrelerin oluşturduğu tabakaya ventriküler zon, bu tabakaya hemen bitişik olarak bulunan ve özellikle erişkinlerdeki glial öncül hücrelerin oluşturduğu tabakaya ise subventriküler zon adı verilmektedir.

Doetsch ve ark. (1997), SVZ'da astrositler, immatur hücreler ve hızlı proliferasyon özelliğine sahip hücreler olmak üzere üç tip hücre bulunduğunu, Louis ve Alvarez Buyla (1993) ise SVZ'daki hücrelerin kök hücre özelliği gösterdiklerini ifade etmişlerdir.

Altıntaş ve Benbir'in (2005) bulgularına göre multipotent ve kendini yenileyebilme özelliğine sahip olan nöronal kök hücreler gelişim esnasında subventriküler zonda bulunan progenitor hücrelerden köken alırlar. Nöral kök hücreler ise daha sonra nöron, astrosit ve oligodentrositlere dönüşebilmektedir.

SVZ'daki ependimal hücrelerin progenitor hücre olarak bulunmasının belirli nedenleri vardır. Morschaw ve ark. (1999) hızla çoğalan progenitor (öncül) hücreler beyinden izole edilen kök hücrelerden etkilenmedikleri için, Weiss ve ark.(1996) ise ventriküler sistemin beynin birçok yerine uzantılar göndermesinden dolayı SVZ'daki hücrelerin izole edilmesinin daha kolay olabileceğini bildirmişlerdir.

Saghatelyan A. (2012) nörogenezis'in düzenlenmesinde hücre dışı faktörlerin önemli rol oynadığını ancak bunların altında yatan nedenlerin tam olarak anlaşılmadığını, gelişimsel çalışmaların nöron ve nöroglial kaynağın subventriküler zon olduğunu gösterdiğini ifade etmiştir. Çünkü bu mekanizmaların ortaya çıkarılması hem embriyolojik defektlerin belirlenmesine hem de birçok hastalığın tedavisine kaynaklık edecektir. İlgili bölgedeki hücrelerin ayrıntılı haritalanması sadece postnatal dönemde değil prenatal dönem açısından da büyük önem arz etmektedir. Uysal ve ark. (2004) beyin gelişiminde yeni nöron ve nöroglial hücrelerin kaynağı olarak bilinen proliferasyon bölgesi ventriküler ve subventriküler zonun fetal dönemde intrauterin gelişme geriliğinden etkilenmesinin, olumsuz koşullara bağlı olarak postnatal gelişim sürecini de değiştirebileceğini, böylece nöron ve nöroglial hücrelerin mitoz, migrasyon ve maturasyonunu etkileyebileceğini belirtmişlerdir.

Kraus Ruppert ve ark. (1975) 30 günlük sıçanların serebrospinal dokusundaki glial ve nöronal hücreleri thymidin 3 kullanarak araştırdıkları çalışmalarında ön beyindeki ependimal hücrelerin % 22 kadarında işaretlenme meydana geldiğini belirtmişlerdir.

Lewis ve ark. (1993), ratlarda SVZ'un mitotik olarak aktif, tek tabakalı ependim hücrelerinden oluştuğunu ve yaklaşık olarak % 15 oranında oligodendrosit –astrosit hücreleri içerdiğini belirtmişlerdir. Doetsch ve ark. (1997) da yeni oluşan hücrelerin serebral korteks nöronlarına farklılıklarını ve rostral kısımlarına doğru göç ettiklerini ileri sürmüşlerdir.

Louis ve Alvarez (1992), ön beyindeki ventriküler zonda bulunan nöronların çoğalma özelliklerinin olduğunu, ilginç olan noktanın ise embriyonik gelişim aşamasında glia ve nöronların oluştuğu bölgenin lateral ventriküllerin lateral duvarında lokalize olduğunu belirtmişlerdir. Son yapılan çalışmalarda yetişkin sıçan beyninin in vitro koşullarda uyarılmasıyla kültür ortamında EGF ve Bfgf eklenmesiyle buradaki hücrelerin nöron ve glialara diferansiye oldukları belirtilmiştir. Yetişkin kuşlar üzerinde Alvarez ve ark. (1990)'larının yaptıkları bir çalışmada memelilerin SVZ'u ile topografik aynı özelliğe sahip olan lateral ventrikülün lateral duvarındaki nöronların proliferasyona devam ettikleri ortaya konmuştur. Bizim çalışmamız da grupların yaşları artmasına rağmen SVZ'daki hücrelerin proliferere olduklarını ortaya koymaktadır.

Johanson ve ark. (1999), 2-6 hafta süreyle erişkin farelerin içme suyuna BrdU eklediklerinde, lateral ventrikülün lateral duvarını döşeyen ependimal hücrelerin tek tabakadan oluştuğunu ve bu hücrelerde işaretlenme olduğunu saptamışlardır. Sonuç bölümünde spinal kord ile santral sinir sistemi yaralanmalarında ependimal hücrelerin hızlı bir şekilde artışa geçerek astrositlere dönüştüklerini, skar dokuyu oluşturmak üzere göç ettiklerini ve bu hücrelerin yavaş proliferere olan nöral kök hücre olabileceklerini ileri sürmüşlerdir.

Köktürk ve ark. (2008), lateral ventriküllerin VZ'da ependimal hücrelerde BrdU işaretli hücreler olmadığını fakat SVZ'da BrdU işaretli nükleuslar olduğunu ve bu durumun mitotik aktivitenin varlığını desteklediğini belirtmişlerdir.

Bizim sonuçlarımızda da Ki67 ile proliferasyon indeksine dayalı olarak SVZ'da mitotik aktivitenin varlığını belirledik. Bu aktivite 1, 7, ve 14 günlük olan ratlarda fazla iken daha ileri yaş gruplarında bir miktar azalma olduğu, ancak mitotik aktivitenin 150 ve 180 günlük

ratlarda bile mevcut olduğu gözlemlendi. SVZ'deki hücre proliferasyonunun 150 ve 180 günlük ratlarda ikinci kesiterde (lateral ventriküllerin cornu inferius'undan geçen kesitler), diğer gruplarda ise birinci kesitlerde (lateral ventriküllerin pars centralis'i ile üçüncü ventrikül'ün pars anterior'undan geçen kesitler) daha fazla olduğu belirlendi. Bu bulgulardan yola çıkarak, genç ve erişkin yaş gruplarında daha frontaldeki SVZ bölgelerinin aktif olarak proliferasyona devam ettiği, yaşlı gruplarda ise temporal lob derinliklerindeki SVZ bölgelerinde proliferasyonun devam ettiği anlaşıldı.

Çalışmamızdaki bulguların ışığında, erişkin dönemde beyin gelişiminin hacimsel olarak değişmese bile hücresel düzeyde devam ettiği değerlendirildi. Bu sebeple, SVZ'deki yavaş proliferere olan hücrelerin sadece beynin aktif gelişim periyodunda değil ileri yaş gruplarında da fonksiyonlarına devam ettikleri görülmüştür. Dolayısıyla santral sinir sistemi ve omuriliği etkileyen felç ve travma gibi beyin hasarlarının tedavisinde ve ayrıca Alzheimer, Parkinson gibi hastalıkların tedavisi amacıyla SVZ'da ömür boyu çoğalmakta olan hücreler üzerinde daha ileri araştırmalar yapılmasının faydalı veriler sağlayabileceği sonucuna varılmıştır.

6. KAYNAKLAR

- Abrous, D.N., Koehl, M., Moal L.M., 2005. Adult Neurogenesis: From Precursors to Network and Physiology. *Physiol Rev*, 85 (10) : 523–569.
- Akbaş, H., Sahin. B., Eroglu, L., et al., 2004. Estimation of the breast prosthesis volume by the Cavalieri principle using magnetic resonance images. *Aesth Plast Surg*; 28:275-280
- Altman, J., 1963. Autoradiographic Investigation of Cell Proliferation in the Brains of Rats and Cats. Reprinted from *The Anatomical Record*, 145 (4) : 573-591.
- Altıntaş, A., Benbir, G., 2005. Miyelinizasyon, Demiyelinizasyon Ve Remiyelinizasyon Mekanizmaları. *Türk Nöroloji Dergisi*. 12 (2): 32-39.
- Altunkaynak, B.Z, Altunkaynak, M.E. 2006. Farklı Fiksasyon İşlemlerinin Karaciğer Boyutu Üzerine Etkisi: Stereolojik Bir Çalışma. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 13(3) 151-156.
- Alvarez-Buylla, A., Jose- Manuel, G.V., 2002. Neurogenesis in Adult Subventricular Zone. *The Journal of Neuroscience*, 22(3): 629–634.
- Anne, L.L., Sive, H., 2009. Totally Tubular: The Mystery Behind Function and Origin of the Brain Ventricular System. *Bioessays*, 31(4): 446–458. doi:10.1002/bies.200800207.
- Arıncı, K., Elhan. A., 2001. *Anatomi 2*. Cilt. 2. baskı. Güneş Kitabevi Ankara.
- Arıcı, S., Kıvanç, S., Özer, H., Ölmez R., , Elagöz Ş., 2006. Mide Adenokarsinomlarında CD44 ve ki67 Ekspresyonu (Klinikopatolojik Parametrelerle Korelasyon). *Türk Patoloji Dergisi*, 22(1) : 26-31.
- Bayer, S.J., Altman J., 1991. Neocortical. Chapter 2: Neocortical Morphogenesis and Histogenesis. 11-30.
- Bayer, S.J., Altman, j, Russo, R J., Xin, Z. 1993. Timetables of Neurogenesis in the Human Brain Based on Experimentally Determ'ined Patterns in the Rat. *NeuroToxicology* ~ 14(1): 83-144.

- Bilgiç, S., Sahin, B., Sonmez, O.F., et al., 2005. A new approach for the estimation of intervertebral disc volume using the Cavalieri principle and computed tomography images. *Clin Neurol Neurosurg* ; 107:282-288.
- Burns, EM., 1984. Some effects of malnutrition on synaptic systems: An intergration of morphologic neurochemicaland neurophysiologic data. In: D.Gareth Jones (ed). *Current Topics in Research on Synapses*. Alan R Liss, Inc., New York. 2; 59-91.
- Bölük, A., 2012. Serebral korteks embriyolojisi. URL (erişim tarihi: 03.02.2012). http://ayhanboluk.com/index.php?option=com_content&view=article&id=81&Itemid=116
- Canan, S., Şahin, B., Odacı, E., Ünal. B, Aslan. H, Bilgiç, S., Kaplan, S. 2002. Toplam hacim, hacim yoğunluğu ve hacim oranlarının hesaplanmasında kullanılan bir stereolojik yöntem; Cavalieri prensibi. *Türkiye Klinikleri Tıp Dergisi*. 22; 7-14
- Caviness, V. S., Jr, D., Kennedy, N., Richelme, j., Rademacher, j., Filipek P.F., 1996. The Human Brain Age 7-11 Years: A Volumetric Analysis Based on Magnetic Resonance Images. *Cerebral Cortex Scp*. 6 (6): 726-736.
- Clancy, B, Finlay L.C., Darlington, R.B., Anand, K.J.S., 2007. Extrapolating brain development from experimental species to humans. *NeuroToxicology*, 1-7. doi:10.1016/j.neuro.2007.01.014
- Dağ, E., 2006. Sıçanlarda Maternal Dönemde Lamotrigine ve Topiramate Kullanımının Yavrularda Beyin Gelişimi ve Bilişsel Fonksiyonlara Etkisi. Uzmanlık Tezi. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı. Elazığ. 96s.
- Dere, F., 2000. Nöroanatomî-Fonksiyonel Nöroloji Atlası ve Ders Kitabı. Adana. Nobel Tıp Kitap Evi; 1-14.
- Daniel, A. L., Alvarez-Buylla A., 1999. Interaction Between Astrocytes And Adult Subventricular Zone Precursors Stimulates Neurogenesis. *Neurobiology. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96 (6) : 7526-7531.
- Dobbing, J., 1970. Undernutrition and the developing brain: The relevance of animal models to the human problem. *Am J Dis Child*. 120: 411.
- Dobbing, J., Saends, J., 1973. Quantitative growth and development of human brain. *Archives of Disease in Childhood*, 48 : 757-767.

- Dobbing, J. The later development of the brain and its vulnerability. In: Davis JA, Dobbing J (eds). *Scientific Foundations of Pediatrics* (2nded). London, Heinemann 1981, pp 744-759.
- Doetsch, F., Caille, I., Lim, A.D., Garcia-Verdugo, G.M., Alvarez-Buylla, A. 1997. Cellular Composition and Three-Dimensional Organization of the Subventricular Germinal Zone in the Adult Mammalian Brain. *The Journal of Neuroscience*, 17(13):5046–5061.
- Doetsch, F., Caille, I., Lim, A.D., Garcia-Verdugo, G.M., Alvarez-Buylla, A. 1999. Subventricular Zone Astrocytes Are Neural Stem Cells in the Adult Mammalian Brain. *SVZ Astrocytes Give Rise to Neurons cells*, 97 (12) : 703-716.
- Faiz, M., Acarin, M., Castellano B.,Gonzalez, B., 2005. Proliferation dynamics of germinative zone cells in the intact and excitotoxically lesioned postnatal rat brain. *BMC Neuroscience*, 6:26. <http://www.biomedcentral.com/1471-2202/6/26>.
- Fujii, K., Lenkey, C., Rhoton, A.L., 1980. Jr.: Microsurgical anatomy of the choroidal arteries: lateral and third ventricles. *Journal of neurosurgery*; 52:165-188.
- Gartner, L.P., Hiatt JL., 2005. *Color Atlas of Histology*. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 170–210.
- García-Verdugo, J.M, Doetsch, F., Wichterle, H., Lim, D.A., Alvarez-Buylla, A., 1998. Architecture and Cell Types of the Adult Subventricular Zone: In Search of the Stem Cells. *J Neurobiol.*, 36(2) : 234-48.
- Giedd, J., 1999. Hippocampal Function during Adolescence: A Unique Target of Ethanol Effects. *Human Brain Growth. Am J Psychiatry*, 156: 1.
- Gonzalez, A.M., Podvin, S., Lin, S.Y., Miller, C.M., Botfield, H., Leadbeater, W.E., Robertson, A., Dang, X., Knowling, S., Cardenas-Galindo, E., Donahue, J.E., Stopa, E., Johanson, E., Coimbra, R., Eliceiri P.B., Baird P. 2011. *Egr4 Expression and Its Product Augurin in the Choroid Plexus: Impact on Fetal Brain Development, Cerebrospinal Fluid Homeostasis and Neuroprogenitor Cell Response to CNS Injury. Fluids and Barriers of the CN*, 8 (2): 1-17.
- Gundersen, H.J.G., 1987. *Stereological Methods and Their Use in Pathological Research and Diagnosis. APMIS*, 96 (1) : 379-394.

- Gundersen, H.J.G., Jensen, E.B., 1987 The Efficiency of Systematic Sampling in Stereology and its Prediction. *J Microsc*, 147: 229-263.
- Gundersen, H.J.G., Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, Sorensen FB, Vesterby A, West MJ. 1988. Some new, simple, and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS*, 96, 379–394.
- Habgood, M.D., Dnottt, G.WA., Dziegielewska, K.M., Saunderst, N.R. 1993. The Nature of the Decrease in Blood Cerebrospinal Fluid Barrier Exchange During Postnatal Brain Development in the Rat. *Journal of Physiology*, 468 (2) : 73-83.
- Haydar T.F., Wang, F., Schwartz M.L., Rakic P. 2000. Differential Modulation of Proliferation in the Neocortical Ventricular and Subventricular Zones. *The Journal of Neuroscience*, 20(15) : 5764–5774.
- He, J., Crews, F.T. 2007. Neurogenesis decreases during brain maturation from adolescence to adulthood. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 86 (9) 327–333.
- Johansson, C.B., Momma, S., Clarke, D.L., Risling, M., Lendahl, M., Frisen, L. 1999. Identification of a Neural Stem Cell in the Adult Mammalian Central Nervous System. *Cell*. 96 : 25–34.
- Johanson, C., Stopa, E., Mcmillan, P., Roth, D., Funk, J., Krinke, J.G. 2011. The Distributional Nexus of Choroid Plexus to Cerebrospinal Fluid, Ependyma and Brain: Toxicologic/Pathologic Phenomena, Periventricular Destabilization, and Lesion Spread. *Toxicologic Pathology*, 39: 186-212. DOI: 10.1177/0192623310394214.
- Kalkan, Y., 2009. Sıçan Yenidoğan ve Erişkinlerde Hippokampus Gelişiminde Nöron Sayısının Cinsiyete ve Dönelmlere Bağlı Olarak Hesaplanması (Bir Stereolojik ve Histolojik Çalışma). Doktora Tezi. Cumhuriyet Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Sivas. 81s.
- Karacan, K., 2008. Çocuklarda Lateral Ventrikul ve Beyin Hacminin Manyetik Rezonans İnceleme Yöntemi Kullanılarak Sereolojik Metotla Belirlemesi. Yüksek Lisans Tezi. Cumhuriyet Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Sivas. 56s.

- Keleş, O.N., 2007. Sıçan Fetüs, Yenidoğan ve Erişkinler Cerebrum Gelişiminin Volumetrik Açından İncelenmesi (Bir Stereolojik ve Embriyolojik Çalışma. Yüksek lisans tezi. Atatürk Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 122s.
- Keep R.F, Jones, H.C,. 1985. A morphometric study on the development of the lateral ventricle choroid plexus, choroid plexus capillaries and ventricular ependyma in the rat. *Brain Res Dev Brain Res*, 56(1) : 47-53.
- Keep, R., 1990. A morphometric study on the development of the lateral ventricle choroid plexus, choroid plexus capillaries and ventricular ependyma in the rat. *Brain Res Dev Brain Res*. 1;56(1): 47-53.
- Kimberly, L., Simpson, T.M., Fisher, M., Barry, D. Waterhouse, Rick, C.S. 1998. Projection Patterns From the Raphe Nuclear Complex to the Ependymal Wall of the Ventricular System in the Rat. *The Journal Of Comparative Neurology*. 399: 61-72.
- Kolb, B., Sutherland, R.J., Nonneman, A., J, Wisham, I.Q., 1982. Asymmetry in the cerebral hemispheres of the rat, mouse, rabbit and cat. The right hemisphere is longer. *Exp Neurol* 78: 348-359
- Korkmaz, A., 1996. Sıçanlarda İlk Bir Aylık Dönemde Nukleus Olivarius Inferior'daki Gelişimin Stereolojik Metodla Araştırılması. Doktora Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Samsun. 129s.
- Köktürk, S., Alkan, F., Dağıstanlı, F.K., Sezgin, .M., Uzunalanı M., Uruluer B. 2007. Bromodeoksiuridin Uygulamasını Takiben Erişkin Sıçan Beyninde Lateral ve Üçüncü Ventriküllerin Ventriküler ve Subventriküler Zonunda Mitojenik Aktivitenin İncelenmesi. *Genel Tıp Derg*, 17(2): 77-80.
- Kraus-Ruppert, R., Laissue, J., Burki, H., Odartchenko, N., 1975. Kinetic studies on glial, Schwann and capsular cells labelled with [3H] thymidine in cerebrospinal tissue of young mice. *J Neurol Sci*, 26:555-563.
- Lamendola, N.P., Bever, T.G. 1997. Peripheral and Cerebral Asymmetries in the Rat. *Science*, 278 : 482- 486.
- Lenroot,R.S., Giedd, J.N. 2006. Brain development in child and adolescents: Insights from anatomical magnetic resonance imaging. *Neuroscience and biobehavioral review*. 30: 718-729, 2006.

- Lie, D.C., Song, H., Colamarino, S.A., Ming, G.L., Gage, F.H. 2004. Neurogenesis In The Adult Brain: New Strategies for Central Nervous System Diseases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol*, 44 (1) : 399–421.
- Lois, C., Alvarez-Buylla A. 1993. Proliferating Subventricular Zone Cells in the Adult Mammalian Forebrain Can Differentiate Into Neurons and Glia. *Neurobiology. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 90 (1) : 2074-2077.
- Lu J., Kaur C., Ling E.E., 1993. Intraventricular Macrophages In The Lateral Ventricles With Special Reference To Epiplexus Cells: A Quantitative Analysis And Their Uptake Of Fluorescent Tracer Injected Intraperitoneally In Rats Of Different Ages. *J. Anat*, 183 (23) :405-414.
- Lewison, S.W., Goldman, C.E., 1992. Both Oligodendrocytes and Astrocytes Develop From Progenitors in the Subventricular Zone of Postnatal Rat Forebrain. [Http://dx.doi.org/10.1016/0896-6273\(93\)90311-e](http://dx.doi.org/10.1016/0896-6273(93)90311-e).
- Lowery, L.A., Sive, H.E. 2009. Totally Tubular: The Mystery behind Function and Origin of the Brain Ventricular System. *Bioessays*, 31(4): 446–458. doi:10.1002/bies.200800207.
- Martoncikova, M., Oracekova, E., Orendacova J. 2006. The Number of Proliferating Cells in the Rostral Migratory Stream of Rat During the First Postnatal Month. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 26 (7) : 1453-1461. DOI: 10.1007/s10571-006-9039-7.
- Mathew T.C. 2008. Regional analysis of the ependyma of the third ventricle of rat by light and electron microscopy., *Anat Histol Embryol*. 37(1) :9-18.
- Mathew T.C. 2007. Diversity in the surface morphology of adjacent epithelial cells of the choroid plexus: an ultrastructural analysis. *Moll cell biochem*. 301 (7): 235-239.
- Moore, K.L., Persaud, TVN., 2002. *Before We Are Born: Essentials of Embryology and Birth Defects* Saunders. 37–61.
- Moore, K.L, Persaud, TVN., 2003. *The Developing Human Clinically Oriented* (Editörler, Yıldırım, M., Okar, İ., Dalçık, H.). Nobel tıp Kitabevleri, 6.baskıdan çeviri, s. 454-456. 2002.
- Moore, K.L, Persaud, TVN., 2003. *The Developing Human Clinically Oriented Embryology*. Pennsylvania. Elsevier Science. 59–76.

- Nagata S, Rhoton AL, Jr., Barry M., 1988. Microsurgical anatomy of the choroidal fissure. *Surgical neurology*;30:3-59.
- Nicholas, P., La Mendola, A. 1997. Peripheral and cerebral asymmetries in the rat. *Science* 278: 31-34.
- Nowakowski, S., Hayes, L. 2005. Cell Proliferation in the Developing Mammalian Brain in Rao MS, Jacobson M. *Developmental Neurobiology*; Fourth Edition. New York. Plenum Publishers, 21–41.).
- Odaci, E., Sahin, B., Sonmez, O.F., 2003. Rapid Estimation of the Vertebral Body Volume: a Combination of the Cavalieri Principle and Computed Tomography Images. *Eur J Radiol*, 48(3):316-26.).
- Ormandzhieva, VK., 2003. Morphometric analysis of epitheliocytes in the choroid plexus of brain ventricles in rat ontogenesis. *Morfologija*. 124(6): 30.
- Özdemir, M.B., Akdoğan, I., Adıgüzel E., Yonguç, N., 2005. Three dimensional (3D) reconstruction of the rat ventricles. *Neuroanatomy*, 4 (5) : 49–51.
- Paxinos, G., 2004. *The Rat Nervous System*. Elsevier Academic Pres. USA. 697-699.
- Rice, D., Barone S.Jr., 2000. Critical Periods of Vulnerability for the Developing Nervous System: Evidence from Humans and Animal Models. *Environmental Health Perspectives*, 108 (3) : 511-533.
- Rodrigo, J., Riveros-Moreno, V., Bentura, M.L., Uttenthal, L.O., Higgs, E.A., Fernandez, A.P., Polak, J.M., Moncada, S., Martinez-Murillo, R. 1997. Subcellular Localization of Nitric Oxide Synthase in the Cerebral Ventricular System, Subfornical Organ, Area Postrema, and Blood Vessels of the Rat Brain. *The Journal Of Comparative Neurology*, 378 : 522–534.
- Royet, J.P., 1991. Stereology: A method for analysing images. *Progress Neurobiol*; 37:433-74.
- Ross, M.H., Pawlina. W., Kaye, G.I., 2003. *Histology A Text and Atlas*. Baltimore. Lippincott Williams & Wilkins; 282–324.
- Saghetalyan A., *Molecular And Cellular Mechanisms Of Adult Neurogenesis*. URL. (Erişim tarihi 08.07.2012). <http://www.crulrg.ulaval.ca/fr>.

- Sadler, TW., 2005. Langman's Medical Embryology. Tercüme: Başaklar AC. Langman Medikal Embriyoloji. Ankara. Palme Yayıncılık. 31–51.
- Scott, D., 2001. Ventricular system. Encyclopedia of the Human Brain. Elsevier Science (USA). 2 : 661-664.
- Skipor, J., Thiery, J. C. The choroid plexus . cerebrospinal fluid system: Undervaluated pathway of neuroendocrine signaling into the brain. Acta Neurobiol Exp, 68: 414.428.
- Spassky, N., Merkle, F.T., Flames, N., Tramontin, A.D., Garcia-Verdugo, J.M., Alvarez-Buylla, A., 2005. Adult Ependymal Cells Are Postmitotic and Are Derived from Radial Glial Cells During Embryogenesis. The Journal of Neuroscience, 25(1):10–18.
- Suzuki, H., Sawada, Y., Sugiyama, Y., Iga, T., Hanano, M., 1986. Comparative uptake of cimetidine by rat choroid plexus between the lateral and the 4th ventricles. J Pharmacobiodyn, 9(3) : 327-9.
- Sahin, B, Emirzeoglu, M., Uzun. A., 2003. Unbiased Estimation of the Liver Volume by the Cavalieri Principle Using Magnetic Resonance Images. Eur J Radiol; 32: 37-48.
- Şahin, B., Aslan, H., Unal, B., Canan, S., Bılgıç, S., Kaplan, S.,Tumkaya, L., 2001. Brain Volumes of The Lamb, Rat and Bird do not Show Hemispheric Asymmetry: A Stereological Study. Image Anal Stereol, 20 (g) : 9-13.
- Seftalioğlu, A., 1998. Genel & Özel insan embriyolojisi. 3. baskı. Ankara. Tıp&Teknik yayıncılık.
- Takahashi, T., Nowakowski, Ft. S., Caviness, Jr.V S., 1995. Early Ontogeny of the Secondary Proliferative Population of the Embryonic Murine Cerebral Wall. The Journal of Neuroscience, 15(9): 6058-6068.
- Tan, Ü., Çalışkan S, 1987. Alimetry and symentry in the dog brain; right hemispher is heaver regardless of paw preference. İnf J Neurosci. 35: 189-194.
- Tan Ü, Çalışkan S. 1987. Asymmetries in the cerebral dimensions and fissures of the dogs.Int J Neurosci 32: 943-952.
- Taner, D. 2002., Fonksiyonel Nöroanatomi. Ankara. Metu Pres, 67–89.

Tarlacı, S., Nöral Kök Hücreler. URL. (Erişim tarihi 04.02.2012).
www.kuantumbeyin.com/40-popueller-bilim-biyolojik-simya-noer

Tramontin, A.D., García-Verdugo, J.M., Lim D.A., Alvarez-Buylla, A. 2003. Postnatal Development of Radial Glia and the Ventricular Zone (VZ): a Continuum of the Neural Stem Cell Compartment. *Cerebral Cortex*,13:580–587; 1047–3211/03/\$4.00.

Urgun, K., 2010. Lateral ve üçüncü ventriküllerin nöroendoskopik anatomisinin morfolojik değerlendirilmesi. Uzmanlık tezi. Marmara üniversitesi Tıp Fakültesi. Nöroşirürji Anabilim Dalı. İstanbul. 105s.

Weiss, S., Dunne, C., Hewson, J., Wohl, C., Wheatley, M., Peterson A, C., Reynolds, A, B.,1996. Multipotent CNS Stem Cells Are Present in the Adult Mammalian Spinal Cord and Ventricular Neuroaxis. *The Journal of Neuroscience*, 16(23):7599–7609

Wolfer, D.P., Lipp, H.P., 1995. Evidence for physiological growth of hippocampal mossy fiber collaterals in the guinea pig during puberty and adulthood. *Hippocampus*, 5: 329-340.

Wu, G., Bazer, F.W., Cudd, T.A., Meininger, C. J., Spencer T.E. 2004. Maternal Nutrition and Fetal Development. *American Society for Nutritional Sciences*, 3166 (14) : 2168-2172.

Yücel, F., Ünal, N, Erçakır., M, Güven, G., 2003. Rat beynindeki yaşa bağlı hacim değişikliklerinin cavalieri yöntemiyle saptanması. *Erciyes Tıp Dergisi*. 25 (4). 179-185.

Urgun, K., 2010. Lateral Ve Üçüncü Ventriküllerin Nöroendoskopik Anatomisinin Morfolojik Değerlendirilmesi Uzmanlık Tezi. İstanbul.

Uysal, A., Aktuğ H., Yurtseven H., Aktaş, S., Yılmaz, S. 2004. İntrauterin Gelişme Geriliğine Bağlı Olarak Fötal Sıçan Beyninde Nörogenezisde Oluşan Değişikliklerin İmmun Dokukimyasal Yöntemle Araştırılması. *Türkiye Ekopatoloji Dergisi*, 10 (1-2): 5-11.

Uysal, N., Dayı, A., Özbal S., Çetin, F., Aksu İ., Yalaz, G., Tugyan, K., Gönenç, A. 2010. Sıçanlarda Spasyal Belleğin Adölesan Dönem Süresince Gelişimi. *Journal of Neurological Sciences [Turkish]*, 27(4) : 25; 407-413.

Zoran, B., Redzic, Jane E., Preston, John A. D., Adam C, Joanna, S.C. 2005. The Choroid Plexus Cerebrospinal Fluid System: From Development to Aging. *Current Topics in Developmental Biology*, 71 (2): 1-52.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Berin TUĞTAĞ
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 05.01.1988. ELAZIĞ
Medeni hali : Bekar
Telefon : 0 (424) 237-04-006
e-posta : berrintugtag@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Tarihi
Yüksek lisans	KSÜ /Anatomi	2010- 2012
Yüksek lisans	İnönü Ü./Anatomi	2009-2010
Tezsiz Yüksek L.	Fırat Ü.Fen bilimleri eğitimi	2008-2009
Lisans	Fırat Ü./ Biyoloji	2004-2008

İş Denevimi

Yıl	Yer	Görev
2010-2012	KSÜ	Araştırma Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce

KATILDIĞI KONGRELER:

1. XIII. Uluslararası katılımlı Ulusal Anatomi kongresi, 28 Ekim 1 Kasım 2010, Kıbrıs
2. Joint Meeting of Anatomical Societies, 19-22 May 2011, Bursa.

3. 14. Ulusal Anatomi ve Klinik Anatomi Kongresi, 28 Haziran-1 Temmuz, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2012.
4. 4. ISCAA Uluslararası Kongresi, 28 Haziran-1 Temmuz, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2012.
5. Türk İmmünoloji Derneği Bölgesel Sempozyumları VIII, 10-12 Mayıs, Kahramanmaraş, 2012

KATILDIĞI KURSLAR:

1. VII. Klinik ve deneysel araştırmalar kursu, İnönü üniversitesi (2009)
2. Hacettepe Üroanatomi Günleri – I Teorik ve Cerrahi Uygulamalı Kadavra Diseksiyon Kursu 24-25 Aralık 2010
3. 14. National Anatomy congress and 4. International Symposium of Clinical and Applied Anatomy Congress. Radyolojik görüntülerin stereolojik olarak işlenmesi kursu 27 haziran 2012, Ankara
4. 14. National Anatomy congress and 4. International Symposium of Clinical and Applied Anatomy Congress. Klinik Anatomi uygulamalarında standart fotoğraf çekimi için öneriler kursu 27 haziran 2012, Ankara

KONGRE BİLDİRİLERİ (POSTER ve SÖZLÜ BİLDİRİLER):

1. Özbağ D, Yüksel Z, Kayıran IS, Sayar H, Okumuş M, Gümüşalan Y, **Tuğtağ B**. Histopathological Investigation of Systemic Effects of Nicotine and Alcohol Administered to the Pregnant Rats on Their Rats on Their Fetuses. *XIII. Uluslararası katılımlı Ulusal Anatomi kongresi*, 28 Ekim 1 Kasım 2010, Kıbrıs (Sözlü sunum)
2. Özbağ D, Gümüşalan Y, Çıralık H, **Tuğtağ B**, Geçkil E, Aksakal E, Yamaç E, Kaçar E, Tüfekçi M. Investigation of morphological and morphometric features of ischiadic nerve in rat. *XIII. Uluslararası katılımlı Ulusal Anatomi kongresi*, 28 Ekim 1 Kasım 2010, Kıbrıs
3. Özbağ D, Gümüşalan Y, Çıralık H, Sayar H, **Tuğtağ B**, Aksakal E, Yamaç E, Geçkil E, Tüfekçi M. Kaçar E. Morphometric and Morphological Examination of Optic Nerve in Rat. *XIII. Uluslararası katılımlı Ulusal Anatomi kongresi*, 28 Ekim 1 Kasım 2010, Kıbrıs

4. Diber C, Özbağ D, Arslan S, Mutlugün A, **Tuğtağ B**. The comparison of brain monozygot twin girls with rett syndrome with age matched healthy girls and boys with stereological methods. *XIII. Uluslararası katılımlı Ulusal Anatomi kongresi*, 28 Ekim 1 Kasım 2010, Kıbrıs
5. Diber C, Korkmaz U, Özbağ D, **Tuğtağ B**, Geckil E. Evaluation of the ventricle volumes and the projection area of corpus callosum with stereological method in children with cerebral palsy. Joint meeting of anatomical societies, 19-22 May 2011, Bursa
6. Özbağ D, Yüksel Z, Senoğlu M, Gümüştalan Y, Altun I, **Tuğtag B**. The stereological investigation of brain ventricular volumes of children with hydrocephalus on preoperative and postoperative tomographic images. Joint meeting of anatomical societies, 19-22 May 2011, Bursa.
7. Özbağ D, Diber C, Gümüştalan Y, **Tuğtag B**. Development of corpus callosum, cerebrum, cerebellum, and lateral ventricles by using stereological method on MR images in children. Joint meeting of anatomical societies, 19-22 May 2011, Bursa.
8. Dilber C, Korkmaz Ü, Özbağ D, **Tuğtağ B**, Geckil E, Şahin B, Investigation of the relation between the projection area of corpus callosum and ventricular volumes with the motor and cognitive functions in children with periventricular leukomalacia, international journal of experimental and clinical anatomy, 6 : 82, 2012, 28 Haziran 1 Temmuz, 4.ISCAA, Ankara
9. **Tuğtağ B**, Gümüştalan Y, Özbağ D, Çıralık H, Investigation of development of the brain and ventricles in the postnatal period of rats by stereological methods, international journal of experimental and clinical anatomy, 6 : 34, 2012, 28 Haziran 1 Temmuz, 4.ISCAA, Ankara (Sözlü sunum)

YAYINLAR

1. Ozbag D; Gumusalan Y; **Tugtag B.** Bilateral Tendon Variation of Extensor Hallucis Longus Muscle: Case Report. Turkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi. Volume: 32 Issue: 1 Pages: 285-289 **DOI:** 10.5336/medsci.2011-22500 Published: FEB 2012

2. Ozbag D; Gumusalan Y; **Tugtag B.** A Case of Three Tendon Insertion of Bilateral Abductor Pollicis Longus Muscle. Turkiye Klinikleri J Med Sci 2012;32(5):1448-52.

3. Günay M, Alkan A, Özkan F, Özbağ D, **Tuğtağ B.** Corpus Callosum Kesit Yüzey Alanının Komşuluk Takibi Yöntemiyle Segmentasyonu. Elektrik-Elektronik ve Bilgisayar Sempozyumu, Fırat Üniversitesi, (Tam metin) 264-268, 2011.

Hobiler

Fotoğraf çekmek, Yürüyüş yapmak, Tiyatroya gitmek.