



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI**

**PERİNATAL DÖNEMDEKİ FARKLI YETİŞTİRME
KOŞULLARININ MOTOR BECERİLER VE CEREBELLAR
MORFOLOJİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

**TEZ TİPİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

BİRCE ERÇELEN

**DANIŞMAN
PROF. DR. EMEL ULUPINAR**

2019



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI**

**PERİNATAL DÖNEMDEKİ FARKLI YETİŞTİRME
KOŞULLARININ MOTOR BECERİLER VE CEREBELLAR
MORFOLOJİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

**TEZ TİPİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

BİRCE ERÇELEN

**DANIŞMAN
PROF. DR. EMEL ULUPINAR**

KABUL VE ONAY SAYFASI

Birce ERÇELEN 'in Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "Perinatal Dönemdeki Farklı Yetiştirme Koşullarının Motor Beceriler Ve Cerebellar Morfoloji Üzerindeki Etkileri" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "**KABUL**" edilmiştir.

Tarih
... / ... / 2019

Üye: Prof. Dr. Emel ULUPINAR

Üye: Prof. Dr. Nedim ÜNAL

Üye: Prof. Dr. Meltem BAHÇELİOĞLU

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ... / ... / 2019 tarih ve ... / ... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. İbrahim Özkan ALATAŞ
Enstitü Müdürü

Özet

Perinatal Dönemdeki Farklı Yetiştirme Koşullarının Motor Beceriler ve Cerebellar Morfoloji Üzerindeki Etkileri

Giriş ve Amaç:

Cerebellum merkezi sinir sisteminde gelişimine embriyonik (E) olarak en erken dönemde başlayıp, postnatal (P) dönemde en geç olarak tamamlayan yapılardan biridir. Bu tez çalışmasında, farklı çevresel koşullarda yetiştirilen sıçanların motor davranışlarında ve cerebellum'larında meydana gelen morfolojik değişikliklerin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem:

Sprague-Dawley cinsi sıçanlar (her iki cins ve grup için sekiz adet olmak üzere), E14-P44 günleri arasında standart, zenginleştirilmiş veya öngörülemez tekrarlı stres ortamı koşullarında yetiştirilmiştir. Deney hayvanlarının motor becerileri ve koordinasyon düzeylerinde meydana gelen değişiklikler erken (P27-P29) ve geç (P42-P44) evrede uygulanan modifiye grip ve rota-rod testleri ile değerlendirilmiştir. Daha sonra uygun anestezi koşulları altında kardiyak perfüzyonla sakrifiye edilen hayvanların sağ serebellar hemisfer ve vermis bölgelerinden alınan histolojik kesitlerde stereolojik yöntemlerle sayımlar yapılmıştır. Sol serebellar hemisferler ise Golgi-Cox metodu ile boyanarak, Purkinje hücrelerindeki dendritik dikensi çıkıntı yoğunlukları ve tipleri analiz edilmiştir.

Bulgular:

Zenginleştirilmiş koşullarda yetiştirilen yavruların modifiye grip testindeki skorları diğer gruplara göre daha yüksek bulunmuştur. Bu gruptaki hayvanların adrenal bez ağırlığının vücut ağırlığına oranlarında ise anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. Morfometrik analizlerde granüler tabakanın (GT) moleküler tabaka (MT) hacmine oranı vermis bölgesinden alınan histolojik kesitlerde benzerlik gösterirken, serebellar hemisferden alınan kesitlerde, zenginleştirilmiş veya stres ortamında yetiştirilen erkeklerde kontrol gruplarınıninkine kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Öte yandan birim mesafeye düşen Purkinje hücre sayısı kontrol gruplarındaki erkeklerde daha yüksek bulunmuştur. Derin serebellar çekirdeklerden nucleus fastigii'de optik parçalama yöntemiyle hesaplanan toplam nöron sayısında gruplar arasında fark görülmemesine rağmen, cinsiyetler arasındaki karşılaştırmalarda dişilerin lehine bir artış olduğu gözlenmiştir. Nucleus dentatus'ta ise zenginleştirilmiş ortamda yetiştirilen erkeklerdeki toplam nöron sayısı kontrol ve stres

gruplarına göre anlamlı artış göstermiştir. Purkinje nöronlarındaki dikensi çıkıntıların yoğunlukları her iki cinsiyette de zenginleştirilmiş ortamda yetiştirilen hayvanlarda daha yüksek bulunmuştur. İki yönlü varyans analizi sonuçları dikensi çıkıntı yoğunluğu ile yetiştirme koşulları arasında anlamlı bir etkileşim olduğunu göstermiştir.

Sonuç ve Öneriler:

Purkinje hücrelerinin aksine postnatal dönemde de gelişimlerine devam eden granüler hücreler periferden ve kortikal merkezlerden gelen liflerle çok sayıda sinaptik bağlantılar kurmaktadır. Bu süreçte maruz kalınan farklı çevresel koşullar kortikal tabaka hacimlerinde, bu tabakalarda yerleşim gösteren nöronların sayısal yoğunluklarında ve dendritik dikensi çıkıntı morfolojileri üzerinde değişikliklere yol açmak suretiyle sinaptik plastisite düzeylerinde, cinsiyet faktörüne de bağımlı olarak, önemli farklılıklara neden olmaktadır. Serebellar kortikal hacim oranlarında meydana gelen değişiklikler filogenetik açıdan değerlendirildiğinde, gelişimini daha erken evrelerde tamamlayan bölgelerin çevresel koşul değişikliklerinden daha az etkilendiği gözlenmektedir. Tam tersine serebellar hemisferlerde ve bu bölgelerle bağlantılı olan derin serebellar çekirdeklerde gözlenen farklılıklar cerebellum'un, motor koordinasyondaki rolüne ilaveten, emosyonel ve bilişsel işlevlerin bütünleştirilmesinde ve düzenlenmesinde de önemli görevler üstlendiğine işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Cerebellum, Nucleus dentatus, Nucleus fastigii, Purkinje hücresi, Golgi-Cox boyaması, Stres, Zenginleştirilmiş ortam.

Summary

Effects of Different Rearing Conditions On Motor Skills And Cerebellar Morphology In The Perinatal Period

Introduction and Aim:

Cerebellum is one of the structures of the central nervous system in which development starts as early as embryonic (E) and completes as late as postnatal (P) periods. In this thesis study, we aimed to compare motor behaviors and morphological changes of the cerebellum in rats raised in different environmental conditions.

Materials and Methods:

Sprague-Dawley rats (eight for both sexes and groups) were grown in standard, enriched or unpredictable repetitive stress conditions between E14-P44 days. Changes in motor skills and coordination levels of experimental animals were evaluated with modified grip and rota-rod tests applied at early (P27-P29) and late (P42-P44) stages. The histological sections obtained from the right cerebellar hemisphere and vermis regions of the animals, sacrificed by cardiac perfusion under appropriate anesthesia conditions, were then counted by stereological methods. Left cerebellar hemispheres were stained with Golgi-Cox method to analyze dendritic spine densities and types in the Purkinje cells.

Results:

In the modified grip test, scores of animals raised in enriched conditions were higher than those of other groups. A significant decrease was observed in the adrenal to body weight ratio of animals in this group. Morphometric analyzes showed similar ratios in the volumes of granular (GL) to molecular layer (ML) in the histological sections taken from the vermis. Whereas in sections taken from the cerebellar hemisphere, this ratio was higher in males raised in enriched or stressed conditions than those raised in control conditions. On the other hand, the number of Purkinje cells per unit distance was higher in the males of control group. Although there was no significant difference in the total number of neurons in the fastigial nucleus, calculated by the optical fractionator method, among the groups; gender comparisons displayed an increase in favor of the females. In the dentate nucleus, the total number of neurons in males grown in enriched conditions increased significantly compared to the control and stress groups. In both genders, the densities of dendritic spines in the Purkinje cells were higher in

animals grown in enriched conditions. Two-way analysis of variance results showed a significant interaction between dendritic spine density and environmental conditions.

Conclusion and Suggestions:

In contrast to the Purkinje cells, granular cells continue to develop in the postnatal period and form numerous synaptic connections with fibers coming from the periphery and cortical centers. Different environmental conditions exposed during this period cause significant differences in the synaptic plasticity levels by causing alterations in the volumes of cortical layers, the numerical densities of the neurons located in these layers, and the dendritic spine morphologies, in a gender-dependent way. When the changes in the cerebellar cortical volume ratios are evaluated from a phylogenetic point of view, it is observed that the regions completing their development at the earlier stages are less affected by the environmental condition changes. On the contrary, differences observed in the cerebellar hemispheres and the deep cerebellar nuclei associated with these regions indicate that the cerebellum, in addition to its role in motor coordination, plays important roles in the integration and regulation of emotional and cognitive functions.

Key Words: Cerebellum, Dentate nucleus, Fastigial nucleus, Purkinje cell, Golgi-Cox staining, Stress, Enriched environment.

İçindekiler

Sayfa

Kabul ve onay sayfası.....	ii
Özet.....	iii
Summary.....	v
İçindekiler.....	vii
Tablo dizini	ix
Şekil dizini	x
Simge ve kısaltmalar dizini.....	xiv
1. Giriş ve Amaç	1
2. Genel Bilgiler	3
2.1. Cerebellum'un Gelişimi.....	3
2.2. Cerebellum'un Fonksiyonel Anatomisi	5
2.2.1. Nucleus Fastigii	8
2.2.2. Nucleus Dentatus	8
2.2.3. Intraserbellar Çekirdek Devreleri	9
2.3. Cerebellum'un Histolojisi	11
2.3.1. Serebellar Korteksteki Hücre Tipleri	12
2.3.2. Serebellar Korteksteki Lif Tipleri	12
2.4. Stres	14
2.5. Dendritik Dikensi Çıkıntılar	15
2.5.1. Dendritik Dikensi Çıkıntı Tipolojisi	15
2.6. Golgi Boyama Yöntemi	16
2.6.1. Golgi Boyama Yönteminin Özellikleri	17
2.7. Stereoloji	18
2.7.1. Cavalieri Yöntemi ile Hacim Hesaplama	18
2.7.2. Optical Fractionator Yöntemi ile Toplam Hücre Sayısının Hesaplanması	18
3. Gereç ve Yöntemler	20
3.1. Deney Hayvanları	20
3.2. Deney ve Kontrol Grupları	20
3.3. Davranış Testleri	21
3.3.1. Rota-rod Testi	26
3.3.2. Modifiye Grip Testi	27
3.3. Deney Hayvanlarının Sakrifikasyonu ve Dokuların Hazırlanması... ..	29
3.4. Histolojik Kesitlerin Hazırlanması ve Boyanması	30
3.4.1. Toluidin Mavisini İle Boyama	31
3.4.2. Golgi-Cox Boyama	32
3.5. Morfometrik Sayımlar	34
3.5.1. Vermis'de Birim Mesafeye Düşen Purkinje Hücre Sayısının Hesaplanması	34
3.5.2. Serebellar Hemisfer ve Vermisde Hacim Hesaplama	36
3.5.3. Derin Serebellar Nükleuslardaki Nöron Sayısının Hesaplanması. ..	37

3.6. Dendritik Analizler	40
3.7. İstatistiksel Analizler	40
4. Bulgular	41
4.1. Modifiye Grip Testi Sonuçlarının Karşılaştırılması	41
4.2. Rota-rod Testi Sonuçlarının Karşılaştırılması	42
4.3. Vücut, Beyin, Adrenal Ağırlıklarının Karşılaştırılması	43
4.3.1. Vücut Ağırlıklarının Karşılaştırılması	43
4.3.2. Beyin Ağırlıklarının Karşılaştırılması	44
4.3.3. Adrenal Ağırlıklarının Karşılaştırılması	45
4.3.4. Adrenal/Vücut Ağırlığı Oranlarının Karşılaştırılması	46
4.4. Vermis'te Birim Mesafeye Düşen Purkinje Hücre Sayılarının Karşılaştırılması	47
4.5. Serebellar Hemisferde Birim Mesafeye Düşen Purkinje Hücre Sayılarının Karşılaştırılması	49
4.6. Serebellar Hemisferdeki Kortikal Tabaka Hacimlerinin Karşılaştırılması	50
4.7. Vermis'te Moleküler Tabaka ve Granüler Tabaka Hacimlerinin Karşılaştırılması	54
4.8. Nucleus Fastigii'deki Toplam Nöron Sayısının Karşılaştırılması	58
4.9. Nucleus Dentatus'taki Toplam Nöron Sayısının Karşılaştırılması ...	60
4.10. Dikensi Çıkıntı Yoğunluğu ve Tiplerinin Karşılaştırılması	62
5. Tartışma	65
6. Sonuç ve Öneriler	75
7. Kaynaklar Dizini	78

Tablo Dizini

	Sayfa
Tablo 2.1. Cerebellum'un efferent ve afferent yolları	7
Tablo 3.1. Tekrarlı ön görülemeyen stres modelinde kullanılan paradigmlar	5
Tablo 4.1. Grupların modifiye grip testindeki skorları	41
Tablo 4.2. Rota-rod testinde rod üzerinde kaldığı süre	42
Tablo 4.3. Kontrol ve deney gruplarının vücut ağırlıkları	43
Tablo 4.4. Kontrol ve deney gruplarının beyin ağırlıkları	44
Tablo 4.5. Kontrol ve deney gruplarının beyin ağırlıkları	45
Tablo 4.6. Kontrol ve deney gruplarının adrenal ağırlığının vücut ağırlığına oranı	46
Tablo 4.7. Vermis'te birim mesafeye düşen Purkinje hücre sayısı	48
Tablo 4.8. Serebellar hemisferde birim mesafeye düşen Purkinje hücre sayısı	49
Tablo 4.9. Serebellar hemisferde moleküler tabaka ve granüler tabaka hacimleri	52
Tablo 4.10. Serebellar hemisferde granüler tabaka/moleküler tabaka hacimlerinin oranı	53
Tablo 4.11. Vermis'teki moleküler tabaka ve granüler tabaka hacimleri	56
Tablo 4.12. Vermis'te granüler tabakanın moleküler tabaka hacmine oranı	57
Tablo 4.13. Nucleus Fastigii'deki toplam nöron sayısı	59
Tablo 4.14. Nucleus Dentatus'taki toplam nöron sayısı	61
Tablo 4.15. Dikensi çıkıntı tiplerinin dağılımı	62

Şekil Dizini

	Sayfa
Şekil 2.1. İnsanlarda serebellar yapılara ait nörogelişimsel zaman çizelgesi	4
Şekil 2.2. Cerebellum'un yüzeyel anatomisi	5
Şekil 2.3. Nuclei cerebelli	6
Şekil 2.4. Serebellar korteks ve derin serebellar çekirdeklerdeki eksitator ve inhibitör bağlantılar	10
Şekil 2.5. Cerebellum'un tabakaları, hücre tipleri ve serebellar lifler	11
Şekil 2.6. Cerebellar glomerulus oluşumu	13
Şekil 2.7. Golgi boyama yöntemiyle işaretlenen nöronlar	16
Şekil 3.1. Deneysel tasarım	22
Şekil 3.2. Kontrol grubu annelerden doğan yavrular	23
Şekil 3.3. Maternal seperasyon uygulaması	24
Şekil 3.4. Zenginleştirilmiş ortam koşulları	25
Şekil 3.5. Rota-rod testi	26
Şekil 3.6. Modifiye grip testi	28
Şekil 3.7. Transkardiyak yolla perfüzyon	29
Şekil 3.8. Beyin diseksiyonu	29
Şekil 3.9. Serebellar hemisfer ve vermis dokusunun agara gömülmesi	30
Şekil 3.10. Vibratom ile seri kesit alınması	30
Şekil 3.11. Vibratom ile alınan (100 µm) seri kesitler	31
Şekil 3.12. Toluidin mavisi ile boyanmış histolojik kesitler	31

Şekil 3.13.	Serebellar hemisferin impregnasyonu	32
Şekil 3.14.	Serebellar hemisferin agara gömülmesi	33
Şekil 3.15.	Golgi yöntemi ile boyanmış kesitler	33
Şekil 3.16.	Sayım yapılan cerebellum foliaları, birim uzunluğa düşen Purkinje hücre sayısının hesaplanması	35
Şekil 3.17.	Moleküler ve granüler tabaka hacim oranlarının hesaplanması	36
Şekil 3.18.	Optik parçalama yönteminin uygulama basamakları	38
Şekil 3.19.	Nucleus dentatus ve nucleus fastigii'deki toplam nöron sayısının hesaplanması	39
Şekil 3.20.	Golgi boyama ile elde edilen serebellar nöronlar ve dikensi çıkıntılarının görüntüleri	40
Şekil 4.1.	Erken ve geç evrede uygulanan modifiye grip testinde dişi ve erkek yavruların aldıkları skorların karşılaştırılması	41
Şekil 4.2.	Erken ve geç evrede uygulanan rota-rod testinde dişi ve erkek yavruların rod üzerinde kalma sürelerinin karşılaştırılması	42
Şekil 4.3.	Vücut ağırlıklarının karşılaştırılması	43
Şekil 4.4.	Beyin ağırlıklarının karşılaştırılması	44
Şekil 4.5.	Adrenal bez ağırlıklarının karşılaştırılması	45
Şekil 4.6.	Adrenal bez ağırlıklarının vücut ağırlığına oranının karşılaştırılması	46
Şekil 4.7.	Vermis'te birim mesafeye düşen Purkinje hücre sayılarının hesaplanmasında kullanılan fotomikrograflar	47

Şekil 4.8.	Vermis’de birim mesafeye düşen Purkinje hücre sayılarının karşılaştırılması	48
Şekil 4.9.	Serebellar hemisferde birim mesafeye düşen Purkinje hücre sayılarının karşılaştırılması	49
Şekil 4.10.	Serebellar hemisferden alınan histolojik kesitlerde granüler tabaka ve moleküler tabakanın görünümü	50
Şekil 4.11.	Noktalı sayım cetveli kullanılarak serebellar hemisfer kesitlerinde kortikal tabaka hacimlerinin hesaplanması	51
Şekil 4.12.	Serebellar hemisferde moleküler tabaka ve granüler tabaka hacimlerinin karşılaştırılması	52
Şekil 4.13.	Serebellar hemisferde kortikal tabaka hacim oranlarının karşılaştırılması	53
Şekil 4.14.	Vermis bölgesinden alınan kesitlerde granüler tabaka, moleküler tabakanın görünümü	54
Şekil 4.15.	Noktalı sayım cetveli kullanarak vermis bölgesinden alınan kesitlerde kortikal tabaka hacimlerinin hesaplanması	55
Şekil 4.16.	Vermis de moleküler tabaka ve granüler tabaka hacimlerinin karşılaştırılması	56
Şekil 4.17.	Vermis’te kortikal tabaka hacim oranlarının karşılaştırılması	57
Şekil 4.18.	Nucleus fastigii’nin görünümü	58
Şekil 4.19.	Nucleus fastigii’deki toplam nöron sayısının karşılaştırılması	59
Şekil 4.20.	Nucleus dentatus’un görünümü	60
Şekil 4.21.	Nucleus dentatus’taki toplam nöron sayılarının karşılaştırılması	61

Şekil 4.22. Tüm gruplardaki dikensi çıkıntı yoğunluğu 63

Şekil 4.23. Purkinje hücrelerindeki dikensi çıkıntı tiplerinin gruplara ve cinsiyete göre dağılımı 64



Simge ve Kısaltmalar Dizini

Ach: Asetilkolin

E: Embriyonik gün

GABA: Gama aminobütirik asit

GFAP: Glial fibriler asidik protein

GT: Granüler tabaka

HADYEK: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

HPA: Hipotalamus-hipofiz adrenal aksı

MSS: Merkezi sinir sistemi

MT: Moleküler tabaka

Nv: Birim hacimdeki sayısal yoğunluk

P: Postnatal gün

TICAM: Tıbbi ve Cerrahi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi

TUNEL: Terminal deoksinükleotidil transferaz dUTP nick end etiketleme

UBC: Tek kutuplu fırça hücresi

Vv: Volum oranı

1- GİRİŞ VE AMAÇ

Cerebellum merkezi sinir sisteminin en erken gelişen bölümlerinden birisidir. Kas tonusunun ve dengenin korunmasında, amaca yönelik hareketlerin hatasız bir şekilde gerçekleştirilmesinde ve yeni motor becerilerin öğrenilmesinde önemli rol oynayan bir merkezdir. Aynı zamanda otonom sinir sisteminin kontrolü, emosyonel durum, ilişkisel öğrenme ve kognitif beceriler de dâhil olmak üzere pek çok işleve sahiptir. Bu kadar geniş bir yelpazede yer alan işlevlerin yerine getirilebilmesi için Cerebellum'a gerek duysal sistemlerden, gerekse MSS'nin farklı bölgelerinden çok sayıda uyarın gelmektedir (Erzurumlu R, 2018). Makroskobik olarak incelendiğinde Cerebellum'un ağırlığı beynin yaklaşık onda biri kadar olmasına rağmen, yüzey alanı beynin beşte biri kadardır. Bu nöronlardan özellikle granüler tabakada bulunan küçük soma çaplı mikronöronlar birbirleriyle temas edecek sıklıkta bulunurlar. Daha büyük çapa sahip olan Purkinje nöronları da granüler ve moleküler tabaka arasında tek sıra halinde dizilmişlerdir. Bu nedenle memelilerde serebellar kortekste bulunan nöron sayısı merkezi sinir sisteminin geri kalan kısımlarındaki nöron sayısından daha fazladır (Ulupinar & Yucel, 2005; Ulupinar, Yucel, & Ortug, 2006). Bu durum Cerebellum'ü beynin diğer bölgelerine kıyasla hem gelişimsel hem de çevresel faktörlere karşı çok daha hassas hale getirmektedir. Mikronöronlar postnatal dönemde gelişirken, makronöronlar prenatal dönemde de gelişmeye başlarlar. Bu nedenle de cerebellum, beynin gerek prenatal gerekse postnatal dönemde maruz kalınan olumsuz çevre koşullarından en fazla etkilenen bölgelerinden birisidir.

Hamilelik esnasında maruz kalınan prenatal stresin cerebellum gelişimi üzerindeki etkileri cinsiyete göre farklılık göstermektedir. Gebelik döneminde maruz kalınan olumlu ve olumsuz yetiştirme koşullarının yavrulardaki etkilerinin ileri dönemlerde de ortaya çıkabileceği gösterilmiştir. Deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda gebelerin maruz kaldığı maternal stresin, cinsiyete bağlı olarak, düşük doğum ağırlığına yol açtığı gösterilmiştir (Baker ve ark., 2008; Mulder ve ark., 2002). Perinatal dönemin farklı evrelerindeki yetiştirme koşullarının motor yetenekler, özellikle de bu faaliyetlerin önemli bir koordinasyon merkezi olan derin serebellar çekirdekler üzerindeki etkisi bilinmemektedir. Literatürde olumsuz çevre koşullarının cerebellum gelişimi üzerindeki etkilerinin morfometrik açıdan incelendiği sınırlı sayıda çalışma vardır. Yine zenginleştirilmiş çevre koşullarının olumlu etkilerini gösteren morfolojik çalışmalar da az sayıda olup, genellikle davranış düzeyindeki etkiler beynin farklı kısımlarında araştırılmıştır (Polat Çorumlu E, 2015).

Stres maruziyetinin kemirgenlerde bulunan nöronların dikensi çıkıntı sayısını azalttığı ve işlev bozukluğuna neden olduğu, Purkinje hücrelerindeki dikensi çıkıntılarının tipolojilerinin yetiştirme koşulları ile değiştiği gösterilmiştir.

Öte yandan zenginleştirilmiş ortam yetiştirme koşullarının dikensi çıkıntı tipolojisini olumlu yönde etkilediği ve dişilerin serebellar öğrenmesinin erkeklere göre daha iyi olduğu analizler ile gösterilmiştir.

Bu çalışmada farklı cinsiyet gruplarında stres maruziyeti ve zenginleştirilmiş ortam yetiştirme koşullarına bağlı olarak cerebellum da meydana gelen değişikliklerin stereolojik yöntemler kullanılarak incelenmesi ve Purkinje hücrelerindeki dikensi çıkıntı tiplerinin karşılaştırılması olarak analiz edilmesi, ayrıca davranış testleri ile de değerlendirilmesi amaçlanmıştır.



2- GENEL BİLGİLER

2.1 – Cerebellum'un Gelişimi

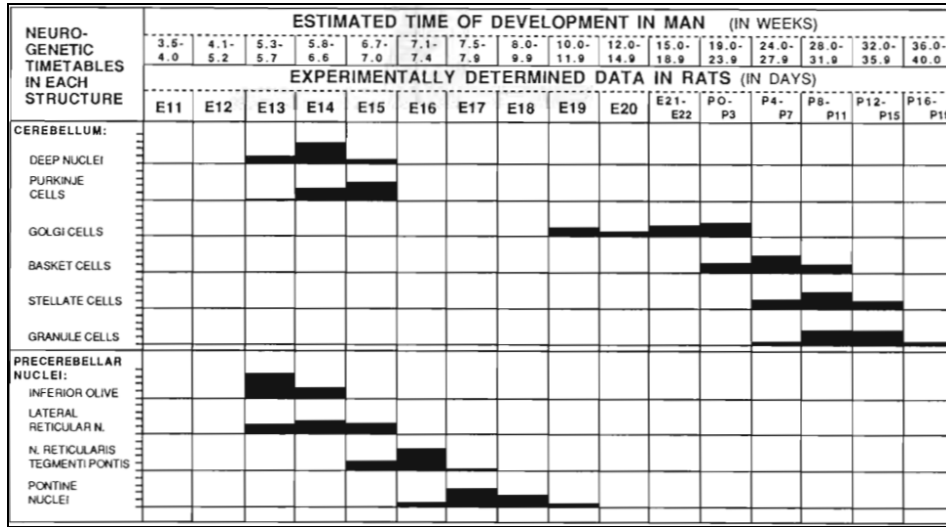
Santral sinir sisteminin yapısal ve fonksiyonel gelişimi nöronal migrasyon evrelerinden itibaren sinaptik bağlantıların düzgün bir şekilde kurulmasına bağlıdır. Bu süreç, bir dizi karmaşık moleküler mekanizmalar tarafından kontrol edilmektedir. Normal gelişim için nöronal göçün olduğu zaman diliminde, hücrelerin diğer hücrelerle uygun ilişkiler içinde olması önemlidir (Marin, Valiente, Ge, & Tsai, 2010). Gelişme sırasında, yenidoğan nöronlar, nöral tüpün proliferatif bir katmanı olan 'nöroepitelyum'u oluşturur. Yeni doğan nöronlar germinal bölgelerinden göç etmeye başlar. Germinal bölgelerinden hedef bölgelerine doğru merkezi sinir sistemi boyunca göç etmeye başlarlar (Cooper, 2013). Beynin diğer bölgelerindeki mekanizmalara benzer şekilde gözlenen bu nöronal migrasyon süreci serebellar gelişim bakımından önem arz eder (Hoshino ve ark., 2005).

Gelişimini tamamlayan cerebellum, beceri gerektiren kas hareketlerinin ayarlandığı ve koordine edildiği bir merkezdır. Merkezi sinir sisteminde (MSS) en erken gelişen bölümlerden biri olan cerebellum filogenetik açıdan gelişim dönemlerine göre üç bölüme ayrılır. Archicerebellum evrimsel süreçte ilk gelişen bölüm olup vücudun dengesi, başın uzaysal konumu ve göz hareketlerinin koordinasyonunu sağlar. Paleocerebellum ikinci sırada gelişen bölgedir; ekstremitelerdeki kas içciklerinden ve proprioseptörlerden gelen uyarıları iç kulak ve gözden gelen uyarılarla eşleştirerek kas tonusu ve hareketlerinin koordinasyonunda görev alır. Neocerebellum ise evrimsel süreçte en son gelişen bölgedir ve beceri gerektiren, ancak otomatik bir şekilde yapılan istemli ve motor aktivitelerin pek çoğunun düzenlenmesinden sorumludur. Böylece cerebellum vücut pozisyonu, kas tonusu, vestibüler duyu ve çevre ile ilgili bilgileri alarak harekete dönüştürür. Hareketin ileriye dönük sonucunu öngörebilir ve devam eden hareketi düzenleyebilir.

Hem insanlarda hem de deney hayvanlarında yapılan anatomik çalışmalar (Stone ve ark., 2019), cerebellum'un hippocampus, corpus amygdaloideum, hypothalamus, bazal ganglionlar, thalamus, beyin sapı ve medulla spinalis dahil olmak üzere pek çok merkezle milyonlarca bağlantıya sahip olduğunu göstermektedir (Reeber, Loeschel, Franklin, & Sillitoe, 2013). Deneysel ve klinik çalışmalar, cerebellum'un santral sinir sistemi ile olan geniş bağlantıları sayesinde çeşitli visseral ve bilişsel işlevlere katılımını göstermiştir (Cavdar, Ozgur, Kuvvet, Bay, & Aydogmus, 2018). Bu kadar geniş bir yelpazede yer alan işlevlerin yerine getirilebilmesi için cerebellum'a gerek duyuşal sistemlerden, gerekse MSS'nin farklı bölgelerinden çok sayıda uyarın gelmektedir. Makroskobik olarak incelendiğinde cerebellum'un ağırlığı beynin yaklaşık onda biri kadar olmasına rağmen, yüzeyinde bulunan

fissuralar sayesinde yüzey alanı beyin beşte biri kadardır. Memelilerde üç tabakalı olarak bulunan cortex cerebelli'deki nöron sayısı MSS'nin geri kalan kısımlarındaki nöron sayısından daha fazladır (Ulupinar, Erol, Ay, & Yucel, 2015; Ulupinar & Yucel, 2005). Cerebellum içinde bulunan nöronlar iki farklı germinal bölgeden gelişirler (Butts, Green, & Wingate 2014). Bu erken gelişim evreleri esnasında serebellar kortekste iki majör hücre grubu vardır. Bunlardan büyük olanlar Purkinje hücreleri ve küçük olanları granüler hücrelerdir. Purkinje hücreleri serebellar korteksin temel nöronlarıdır. Serebellar korteksten MSS'ye giden ana çıktılar Purkinje nöronlarının aksonları tarafından oluşturulur (Butts ve ark., 2014).

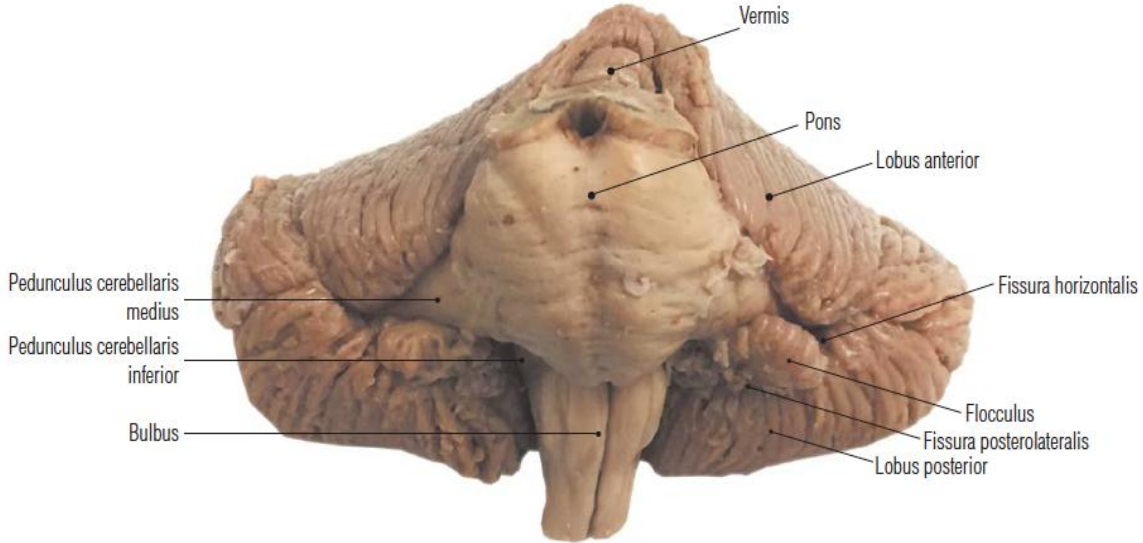
Makronöronlar yani Purkinje nöronları ve nuclei cerebelli'nin GABAerjik nöronları prenatal dönemde ventriküler bölgeden gelişirken; granüler hücreler gibi glutamaterjik mikronöronlar, postnatal yaşamın erken döneminde rhombik dudaklarının lateral kısmından gelişir (Hashimoto & Hibi, 2012) (Şekil 2.1). Makronöron olan Purkinje hücrelerinin zonal devre haritasının moleküler ipuçları, nöronal aktivite ve sinaptik temas kullanılarak üretildiği gösterilmiştir (Sillitoe, 2016). Başka bir çalışmada tek kutuplu fırça hücreleri (UBC), olarak bilinen serebellar korteksin granül tabakasında ve koklear nükleer kompleksin granül hücre alanında bulunan küçük glutamaterjik nöronlar vardır. Son araştırmalar, bu nöronal sınıfın, farklı kimyasal fenotiplerin yanı sıra, sinaptik tepkilerini ve ateşleme şekillerini şekillendirebilen içsel özelliklerle karakterize edilen üç veya daha fazla alt gruptan oluştuğunu göstermektedir. Bu hücrelerden, granül hücreli aksonlar ve paralel lifleri üzerinden Purkinje hücrelerine ulaşacak olan yosunlu liflerin afferent sinyallerinin amplifikasyonunda rol oynadığı düşünülmektedir (Mugnaini, Sekerkova, & Martina, 2011).



Şekil 2.1: İnsanlarda serebellar yapılara ait nörogelişimsel zaman çizelgesi (Bayer, Altman, Russo, & Zhang, 1993).

2.2 – Cerebellum'un Fonksiyonel Anatomisi

Tentorium cerebelli ile beyin hemisferlerinden ayrılan cerebellum fossa cranii posterior'da bulunur. Ventriculus quartus'u arka yüzden çevreler. Cerebellum, sağ ve solda iki adet hemispherium cerebelli ve ikisinin ortasında bulunan vermis cerebelli bölümlerinden oluşur. Cerebellum'da folia cerebelli adı verilen yoğun katlantılar bulunur. Cerebellum üç loba ayrılmıştır. Bunlardan lobus cerebelli anterior ve lobus cerebelli posterior fissura prima ile birbirinden ayrılır. Lobus flocculonodularis ise vermis cerebelli'nin en alt kısmında bulunan nodulus ile hemispherium cerebelli'nin flocculus kısımlarının birleşmesiyle oluşur ve fissura secunda ile lobus cerebelli posterior'dan ayrılır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: Cerebellum'un yüzeyel anatomisi (Erzurumlu R, 2018).

Serebellar korteksteki Purkinje nöronlarından kaynaklanan çıktılar dört adet nuclei cerebelli'de sinaps yaparlar. Bu çekirdekler lateralden mediale doğru; nucleus dentatus, nucleus emboliformis, nuclei globosi ve nucleus fastigii olarak sıralanırlar. Derin serebellar çekirdeklerin en büyüğü nucleus dentatus'tur. Nuclei cerebelli aynı zamanda, cerebellum'a gelen afferent girdileri de alır. Bu durum cerebellum'dan çıkan çıktılarının amaca uygun olarak daha iyi koordine edilmesini ve düzenlenmesini sağlar (Şekil 2.3). Memeli neokorteks'inden kaynaklanan girdiler de pons üzerinden serebellar granül hücrelerine ulaşırlar (Wagner ve ark., 2019).

Cerebellum beyin sakına üç adet pedunculi cerebelli aracılığı ile bağlanır. Bunlar pedunculus cerebellaris superior, pedunculus cerebellaris medius ve pedunculus cerebellaris inferior'dur. Cerebellum'a gelen ve giden tüm aksonal lifler bu pedunculi cerebelli içerisinde taşınır. Pedunculus cerebellaris superior mesencephalon ile cerebellum'u birbirine bağlar. Bu yol ile cerebellum'a gelen başlıca afferent yollar tractus spinocerebellaris anterior, cerebellum'dan çıkan efferent yollar ise tractus dentatorubrothalamicus ve tractus dentatothalamicus'tur. Pedunculus cerebellaris medius pons ile cerebellum'u bağlar. Bu yolla gelen afferent yollara tractus corticopontocerebellaris adı verilir ve bu pedunculus içerisinde efferent lif bulunmaz. Pedunculus cerebellaris inferior ise medulla oblongata ile cerebellum'u bağlar. Bu yolla gelen başlıca afferent yollar tractus vestibulocerebellaris, tractus olivocerebellaris ve tractus spinocerebellaris posterior iken; cerebellum'dan çıkan efferent yollar, tractus cerebellovestibularis ve tractus cerebelloolivaris'tir (Erzurumlu R, 2018) (Tablo 2.1).



Şekil 2.3: Nuclei cerebelli. D=Nucleus dentatus, E=Nucleus emboliformis, N=nucleus globosus, F=Nucleus fastigii (Erzurumlu R, 2018).

Tablo 2.1: Cerebellum'un efferent (A) ve afferent (B) yolları (Erzurumlu R, 2018)

BÖLGE A	BAŞLANGIÇ	SONLANMA	PEDUNCULUS CEREBELLI (P.C.)
LATERAL CEREBELLAR HEMİSFER	Nucleus dentatus	Thalamus (nucleus ventrolateralis) → Kortikal motor sahalar Nucleus ruber (pars parvocellularis) → Tr. tegmentalis centralis	PC. superior
PARAVERMIS	Nucleus globosus ve Nucleus emboliformis	Thalamus (Nucleus ventrolateralis) → Kortikal motor sahalar Nucleus ruber (pars magnocellularis) → Tr. rubrospinalis	PC. superior
VERMIS	Nucleus fastigii	Thalamus (nucleus ventrolateralis) → Kortikal motor sahalar Tectum Nuclei vestibulares Formatio reticularis	PC. superior (Fasciculus uncinatus) PC. inferior (Corpus juxtarestiforme)
LOBULUS FLOCCULONODULARIS	Nuclei vestibulares	Fasciculus longitudinalis medialis	PC. inferior (Corpus juxtarestiforme)

TRACTUS B	BAŞLANGIÇ	SONLANMA	PEDUNCULUS CEREBELLI (P.C.)
PONTOCEREBELLAR	Cortex cerebri → Nuclei pontis (Yosunsu lifler)	Nodus hariç tüm kontralateral zonlar	PC. medius
SPINOCEREBELLAR Tr. spinocerebellaris anterior Tr. spinocerebellaris rostralis Tr. spinocerebellaris posterior Tr. cuneocerebellaris	Alt ekstremité → Omurilik gri cevheri Üst ekstremité → Omurilik gri cevheri Alt ekstremité proprioseptörleri → Nucleus dorsalis (Clarke sütunu) Üst ekstremité proprioseptörleri → Nucleus cuneatus accessorius	(çift çapraz) Vermis ve paravermis (genellikle ipsilateral)	PC. superior PC. superior ve inferior PC. inferior PC. inferior
vestibulocerebellar	Nuclei vestibulares	Lobulus flocculonodularis ve vermis	PC. inferior (Corpus juxtarestiforme)
OLIVOCEREBELLAR	Nuclei olivares inferiores (→Tirmanıcı lifler)	Tüm kontralateral zonlar	PC. inferior
TRIGEMINOCEREBELLAR	Nucleus principalis nervi trigemini ve Nucleus spinalis nervi trigemini	Vermis ve paravermis (genellikle ipsilateral)	PC. inferior
RETICULOCEREBELLAR	Nuclei reticulares tegmentalis Nuclei reticulares laterales ve paramedianes	Vermis ve paravermis (genellikle ipsilateral)	PC. superior PC. inferior
TECTOCEREBELLAR	Colliculus superior ve inferior	Lobus anterior ve posterior (genellikle ipsilateral)	PC. superior

Cortex cerebelli'de olduğu gibi, vücut bölgelerinin temsilleri serebellar korteks üzerinde de haritalanabilir. Bu haritada, gövde vermis cerebelli üzerinde orta hatta, ekstremiteler ise hemispherium cerebelli'de yerleşmiş durumdadır. Lobus cerebelli anterior'da da ekstremiteler ve başın temsili vardır. Lobus cerebelli posterior'da ise hem başın hem de ekstremitelerin ayna görüntüsü bulunur.

Proprioseptif bilgiyi alıp yorumlamak cerebellum'un görevidir. Dengenin koordinasyonu Cerebellum'un nuclei vestibulares ile olan bağlantıları sayesinde gerçekleşir. Ön beyin ile olan bağlantıları, ekstremiteler hareketlerinin koordinasyonunun yanı sıra ince hareket ve el-göz koordinasyonunun sağlanmasına katkıda bulunur. Denge bilgileri vestibüler sistemden, proprioseptif bilgiler ise medulla spinalis'den gelir. Aynı zamanda nuclei pontinus aracılığıyla da korteks cerebri'den girdiler alır. Bu bilgiler serebral kortekste bulunan nöronlara yosunsu lifler aracılığı ile taşınır. Nucleus olivaris inferior kompleksinden gelen girdiler ise serebellar kortekste Purkinje hücrelerine ulaşan tırmanıcı lifleri oluşturur. Bu liflerin çoğunluğu kontralateral olarak bazıları ise bilateral olarak cerebellum'da sonlanır ve serebellar korteksin çıktılarının modülasyonunda görev alırlar. Olivocerebellar liflerin büyük çoğunluğu pedunculus cerebellaris inferior'dan geçer (Krebs C, 2011).

2.2.1 – Nucleus Fastigii

Vermis cerebelli'de yer alır. Intraserebellar çekirdekler, basit dallanmış dendritleri olan büyük multipolar nöronlardan meydana gelir. Aksonları pedunculus cerebellaris superior ve inferior'daki serebellar çıktılarını oluşturur (Snell, 2009). Nucleus fastigii, limbik sistem ve prefrontal korteks gibi sosyal davranışlarla ilgili merkezlerle bağlantılara sahiptir (Al-Afif ve ark., 2019). Fastigial vestibular yolak aracılığı ile başlıca ipsilateral ekstensor kas tonusu üzerinde kolaylaştırıcı etki yapar (Snell, 2009). Fastigial retiküler yolak ile spinal segmentlerin motor aktivitesini etkiler (Snell, 2009). Nucleus fastigii, nucleus interpositus ile birlikte spinocerebellum'un iki çıkış çekirdeğini oluşturur. Vücut ve bacak hareketlerinin koordinasyonunda önemli bir rol oynar (He ve ark., 2012). Primatlarda prefrontal-serebellar ağların nöroanatomik temelleri göreceli olarak iyi kurulamadığı için iki yapı arasındaki dinamik fizyolojik etkileşimler hakkındaki bilgiler yetersizdir (Watson, Becker, Apps, & Jones, 2014). Öte yandan nucleus fastigii'nin kardiyovasküler modülasyonda görev aldığı ve kolinerjik aktivitede de doğrudan işlevlere sahip olduğu bilinmektedir (C. Zhang, Luo, Zhou, & Sun, 2016). Nucleus fastigii uyarıcı sinaptik aktarımları baskılayabilir, nükleer nöronal devre aktivitesini modüle edebilir ve cerebellum aracılı motor dengenin ve koordinasyonunun düzenlenmesinde görev alır (Gao, Wang, & Qiao, 2016). Lobulus flocculonodularis'de bulunan hücrelerin aksonları da nucleus fastigii'deki nöronları uyarır (Erzurumlu R, 2018).

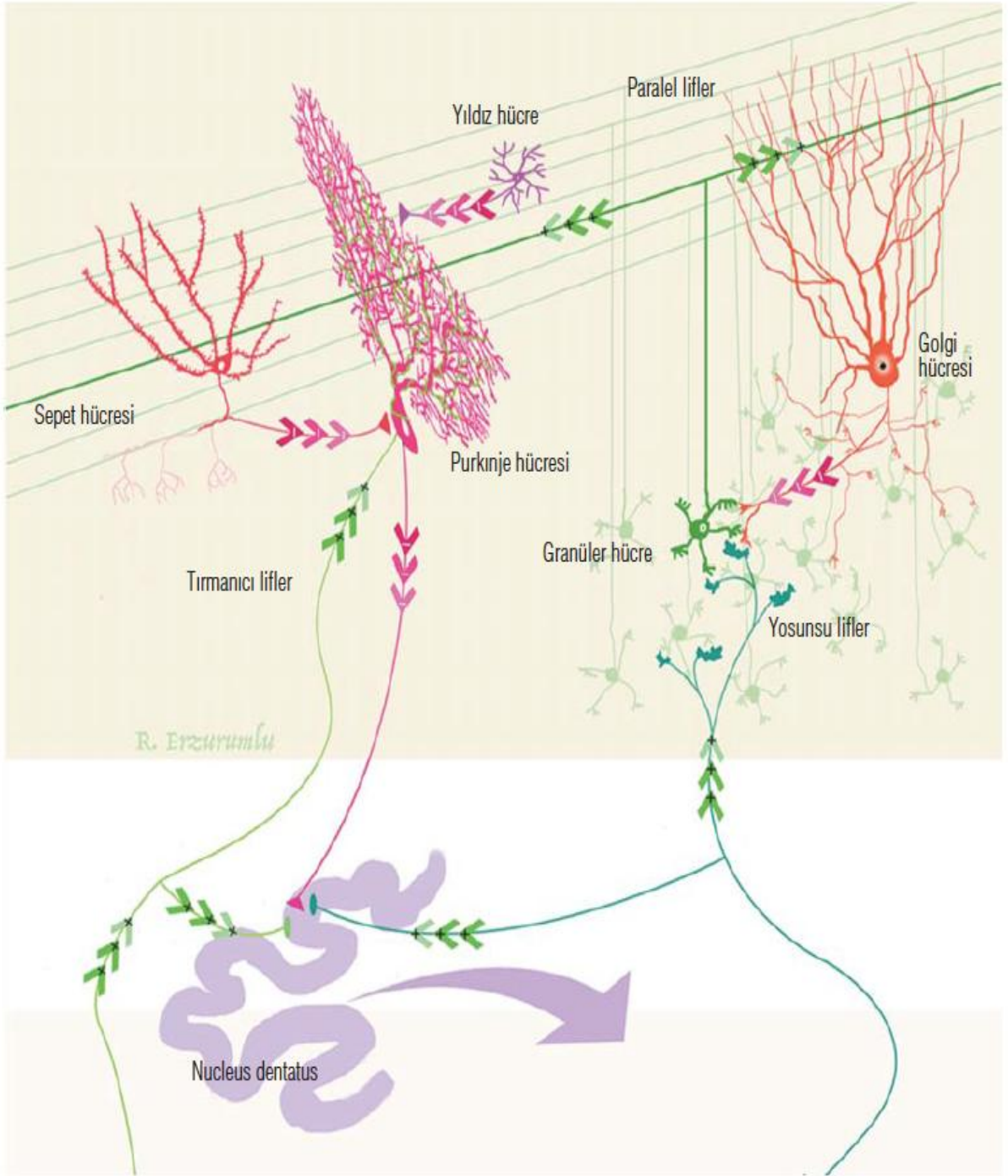
2.2.2 – Nucleus Dentatus

Serebellar çekirdeklerin en büyüğüdür. Çekirdeği hilum kısmından terkeden efferent lifler pedunculus cerebellaris superior'un büyük kısmını oluşturur (Snell, 2009). Dentatotalamik yol ile cortex cerebri'deki primer

motor alan üzerinde etkili olur. Nucleus dentatus vücudun aynı tarafındaki kas aktivitesini kontrol eder (Snell, 2009). Cerebellum'un işlevsel açıdan farklı bölgelerinde yerleşim gösteren Purkinje hücreleri farklı serebellar çekirdeklerdeki nöronları uyarır. Lobus posterior'daki hemisferlerin lateral bölgelerinde bulunan Purkinje hücrelerinin aksonları nucleus dentatus'taki nöronları uyarır (Erzurumlu R, 2018).

2.2.3 – Intraserebellar Çekirdek Devreleri:

Cerebellum'daki derin serebellar çekirdek grupları afferentlerini iki kaynaktan alır. Bu hücreler inhibe edici girdileri (GABAerjik) serebellar kortekste Purkinje hücrelerinden alır. Aynı zamanda nuclei pontini, nucleus olivaris inferiores, formatio reticularis, locus coeruleus ve nuclei raphe dahil olmak üzere Cerebellum'un dışındaki bir çok merkezden de uyarıcı girdiler alır. Aslında tüm girdiler tırmanıcı ve yosunsu lifler tarafından oluşturulur, ancak serebellar kortekse farklı merkezlerden gelen aminojik girdiler derin serebellar nükleuslar uyarıcı girdi oluşturan kolleteral dallar gönderir (Şekil 2.4). Bu düzenlemenin bir sonucu olarak derin serebellar çekirdekler içerisindeki hücreler inhibe edici implusları Purkinje hücrelerinden, uyarıcı girdileri ise diğer kaynaklardan alarak, uyarıcı ve inhibe edici girdiler arasındaki dengeyi kuracak oranlarda tonik olarak harekete geçerler (Waxman, 2002).



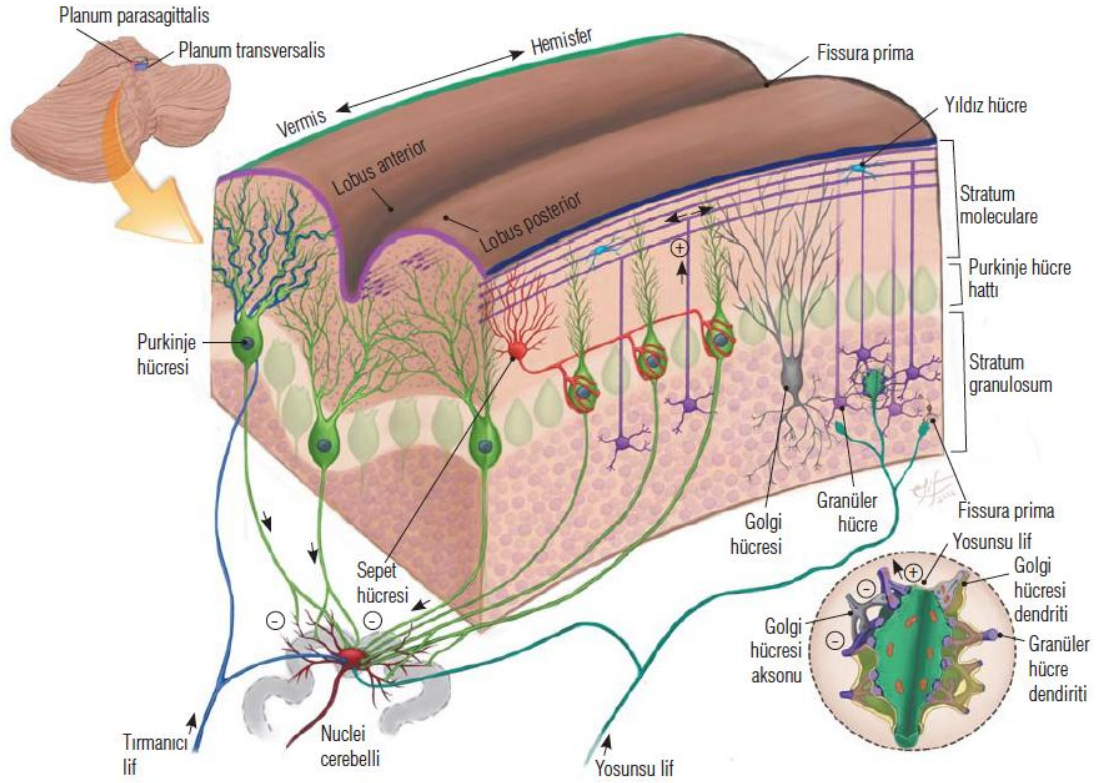
Şekil 2.4: Serebellar korteks ve derin serebellar çekirdeklerdeki eksitator ve inhibitör bağlantılar (Erzurumlu R, 2018).

2.3 – Cerebellum'un Histolojisi

Histolojik kesitlerinde dış kısımlarında korteks adı verilen bir gri cevher tabakası, iç kısımda ise cerebellum'a giren ve çıkan lif demetlerinden oluşan beyaz cevher tabakası ile bu tabakanın içinde yer alan nuclei cerebelli adı verilen nöron kümelerinden oluşur (Şekil 2.5).

Serebellar korteksi oluşturan tabakalar beynin kortikal tabakaları ile karşılaştırıldığında daha basittir. Tabaka sayısı altıdan üçe düşmüştür. Bunlardan en yüzeydeki tabakaya stratum moleculare (moleküler tabaka), derinlerine stratum granulare (granüler tabaka), bu iki tabaka arasındaki bölgeye ise Purkinje hücre hattı denir. Cerebellum'un yosunsu ve tırmanıcı lifler olarak sınıflandırılan afferentleri ve Purkinje hücrelerinden kaynaklanan efferentleri substantia alba boyunca uzanırlar. Nuclei cerebelli ise substantia alba'nın derininde gömülü olarak bulunan 4 çift çekirdekten meydana gelir.

Substantia alba'daki lifler 40:1 oranında olacak şekilde afferent ve efferent lifler tarafından oluşturulur.



Şekil 2.5: Cerebellum'un tabakaları, hücre tipleri ve serebellar lifler (Erzurumlu R, 2018).

2.3.1 – Serebellar Korteksteki Hücre Tipleri

Serebellar kortekste granül, Golgi, Purkinje, sepet ve stellat olmak üzere başlıca beş tip hücre bulunur.

Granül hücresi: Granüler tabakada yerleşmiş olan bu hücreler serebellar korteksteki tek uyarıcı nöronlardır. Yosunsu lifler aracılığı ile gelen girdiler granül hücrelerinin dendritleri ile glomerulus adı verilen özelleşmiş yapılarda sinaps yaparlar. Granül hücrelerinin aksonları yukarıya moleküler tabakaya çıkarak burada T şeklinde çatallanır ve paralel lifleri oluştururlar. Miyelinsiz olan bu paralel lifler Purkinje hücrelerine dik olarak uzanırlar ve bu dendritler üzerinde glutamat nörotransmitterini kullandıkları için uyarıcı tipte sinapslar oluştururlar.

Golgi hücresi: Bu hücreler granüler tabakada yerleşen ara nöronlardır. Paralel, yosunsu ve tırmanıcı liflerinden uyarıcı girdiler alır ve aksonlarını granüler hücreleri inhibe etmek üzere geri gönderirler.

Purkinje hücresi: Merkezi sinir sistemindeki en büyük hücreler arasındadır. İnsan cerebellum'undaki toplam Purkinje sayısı sıçanlara göre 50 kat fazladır (Korbo & Andersen, 1995). Bu hücreler paralel lifler yardımıyla granül hücrelerinden, tırmanıcı lifler yardımıyla nucleus olivaris inferioris kompleksinden girdiler alırlar. Purkinje hücrelerinin aksonları derin serebellar çekirdekler aracılığıyla cerebellum'un ana çıktı yolunu oluşturur. Sagittal düzlemde yaygın olarak dağılmış vaziyette görülebilen dendritleri, moleküler tabakaya ulaşan tırmanıcı lifler ve paralel lifler ile eksitatör tipte sinapslar oluştururlar. Nuclei cerebelli, Purkinje hücrelerinden inhibe edici afferentler alır (Xu, Zhou, & Frazier, 2004). Purkinje hücrelerinin morfolojik özellikleri detaylı dendritik analizlerle ortaya koyulmuştur (Shih ve ark., 2015).

Basket (sepet) ve stellat (yıldız) hücreleri: Moleküler tabakada yerleşen inhibitör tipteki bu hücelere paralel liflerden uyarıcı girdiler ulaşır. Bu hücrelerin dalları yaklaşık 70 kadar Purkinje hücrelerinin dendritleri ile sinaps yapabilir.

2.3.2 – Serebellar Korteksteki Lif Tipleri

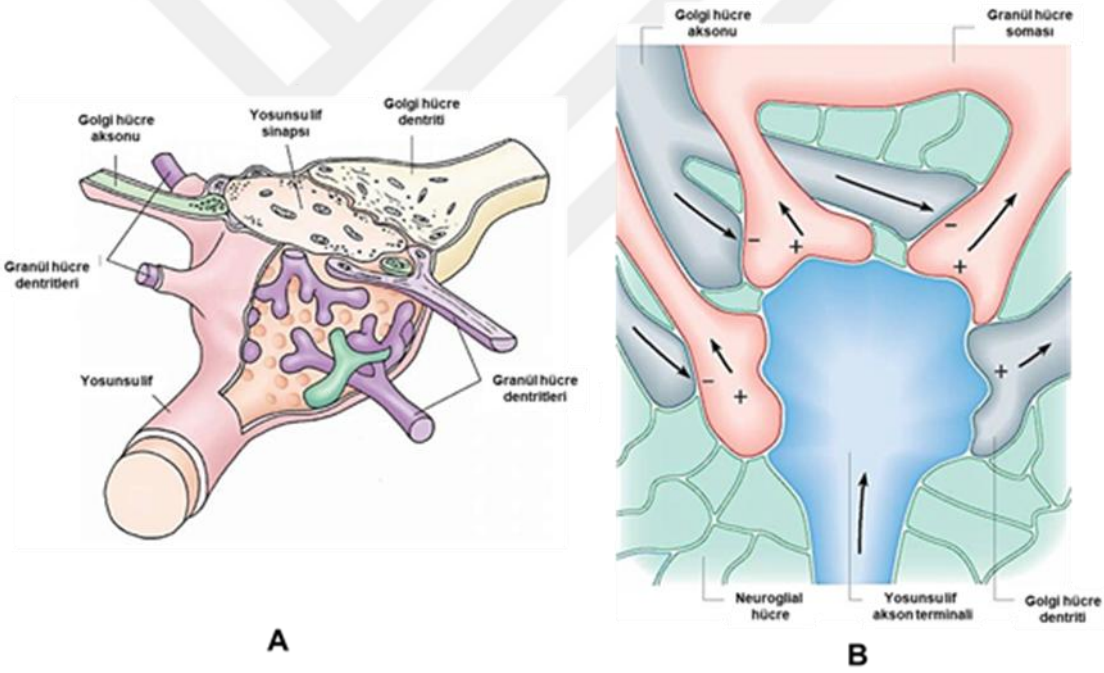
Serebellar kortekse yosunsu ve tırmanıcı olmak üzere iki ana kaynaktan lif gelir.

Yosunsu lifler: Bu lifler nuclei olivares inferiores dışındaki tüm kaynaklardan köken alan serebellar afferentlerdir. Bunlar medulla spinalis'ten, columna posterior çekirdeklerinden, trigeminal sistemden, nuclei pontinus'dan ve

nuclei vestibulares'ten kaynaklanan afferentleri içerir. Serebellar glomerulus da Golgi hücresi ve granül hücre dendritleri ile sinaps yaparlar (Şekil 2.6).

Granül hücrelerinin aksonları ise moleküler tabakaya uzanarak burada 'T' harfine benzer şekilde ikiye ayrılır ve paralel lifleri oluştururlar. Bu lifler Purkinje hücrelerinin dendritik ağacının düzlemine dik olarak uzanarak birçok Purkinje hücresinin dendritleriyle sinaps yaparlar.

Tırmanıcı Lifler: Tırmanıcı lifler nuclei olivares inferiores'ten orjin alır. Her tırmanıcı lif tek bir Purkinje hücresi ile uyarıcı tipte sinaps yapar. Bu bire bir ilişki serebellar döngüde güçlü bir sinaptik uyarım görevi görür. Nuclei olivares inferiores'teki her bir nöron yaklaşık 10 tırmanıcı lif doğurur. Tırmanıcı lifler, hareket esnasında herhangi bir motor bozukluk olması durumunda duyuşal bir geri besleme döngüsü oluştururlar. Bu sinapslar motor öğrenmenin anahtarıdır (Krebs C, 2011).



Şekil 2.6: Cerebellar glomerulus oluşumu. Yosunsu lifler ile granül ve Golgi hücrelerinin aksonlarında meydana gelen eksitator (+) ve inhibitör (-) sinapslar arasındaki etkileşimler (A,B) (Hewitt, 2014).

2.4 – Stres

Stres organizmanın bedensel ve ruhsal sınırlarının, bir başka deyişle homeostazisinin, tehdit edilmesi ile ortaya çıkan bir durumdur. Organizmada stresin tipine, süresine ve dozuna bağlı olarak farklı fizyolojik ve patolojik değişiklikler meydana gelebilir. Otonom sinir sistemi, hipotalamus-hipofiz-adrenal aksı, kardiyovasküler, metabolik ve immün sistemler vücudu strese karşı korurlar. Stresörler oldukça geniş kapsamlıdır; soğuk, sıcak, x ışınları, azalmış oksijen kaynağı, travma, cerrahi ve medikal tedavi, enfeksiyonlar, uzamış egzersizler gibi dış çevrede veya vücudun kendisinde meydana gelen pek çok kimyasal veya fiziksel dengesizlik durumları strese yol açabilir.

Stres maruziyetini taklit eden farklı akut ve kronik hayvan modelleri geliştirilmiştir. Literatürde stres oluşturmak üzere kullanılan başlıca modeller immobilizasyon, öğrenilmiş çaresizlik modelleri, yiyecek kısıtlaması, gürültü-ışık gibi uyaranlara maruziyet, uyku deprivasyonu, sosyal stres, erken yaşam stresi, kronik öngörülemeyen stres modelleridir (Jaggi ve ark., 2011).

Öğrenilmiş çaresizlik modeli (Vaishnav Krishnan, 2009) hayvanlara kapalı bir düzenekte tekrarlı elektrik şoku verilmesi, soğuk maruziyeti veya zorlu yüzme koşullarına maruziyet gibi deney hayvanının kaçma davranışı göstermeyeceği koşullara maruz bırakılması ile oluşturulabilir. Sosyal stres ise deney hayvanlarının istenmeyen sosyal koşullara maruziyeti ile oluşturulur. Örneğin; kafes içerisine farklı kolonilerden hayvanların yerleştirilmesi, aşırı kalabalıklaştırma, evci-yabancı paradigması gibi yöntemler sosyal stres temelli modeller olarak uygulanmaktadır. Erken yaşam stresi modeli ise annenin gebelik döneminde maruz kaldığı farklı stres koşullarını veya yavruların özellikle süttten kesilme dönemine (postnatal 2 ile 21. günler) kadar bir ila daha fazla saat annelerinden izole edilmesi koşullarını (maternal seperasyon) kapsar (Nestler ve ark., 2002). Son yıllarda insanlardaki stres maruziyetini taklit etmek üzere kronik öngörülemeyen stres modeli uygulanmaktadır. Bu amaçla deney hayvanları, 10 ila 40 gün boyunca, birkaç farklı tipteki stresöre beklenmedik bir sıralama ve süre ile maruz bırakılmaktadır (Czeh, Fuchs, Wiborg, & Simon, 2016).

2.5 – Dendritik Dikensi Çıkıntılar

Serebellar nöronlardaki dikensi çıkıntılar on dokuzuncu yüzyılın sonlarında Ramon y Cajal tarafından tarif edilmiştir (Garcia-Lopez, Garcia-Marin, & Freire, 2007). Bu çıkıntılar, nöronal uzantılar üzerinde oluşan membranöz yapılardır. Nörona 0.1 μm 'den küçük çapta bir boyun bölgesi aracılığıyla bağlanırlar. Yaklaşık olarak 0.001-1 μm^3 hacminde olan bir baş kısımdan oluşurlar. Bu nedenle insan beyninde 10^{13} 'den fazla dikensi çıkıntı bulunduğu öngörülebilir (Nimchinsky, Sabatini, & Svoboda, 2002; Patrick & Anderson, 2000).

2.5.1 – Dendritik Dikensi Çıkıntı Tipolojisi

Dikensi çıkıntılar boyun ve baş kısımlarının oranlarına, şekillerine göre morfolojik olarak; mantarimsı, güdük, dallı, ince olmak üzere 4 ana grupta incelenebilir (Harris, Jensen, & Tsao, 1992). Dikensi çıkıntı boynu başına eşit ya da daha küçükse 'ince', mantar benzeri görüntü sergiliyorsa 'mantar', boy ve en yaklaşık eşit uzunluktaysa 'güdük', birden fazla dal verdiyse 'dallı' çıkıntı olarak tanımlanmaktadır (Polsky, Mel, & Schiller, 2004).

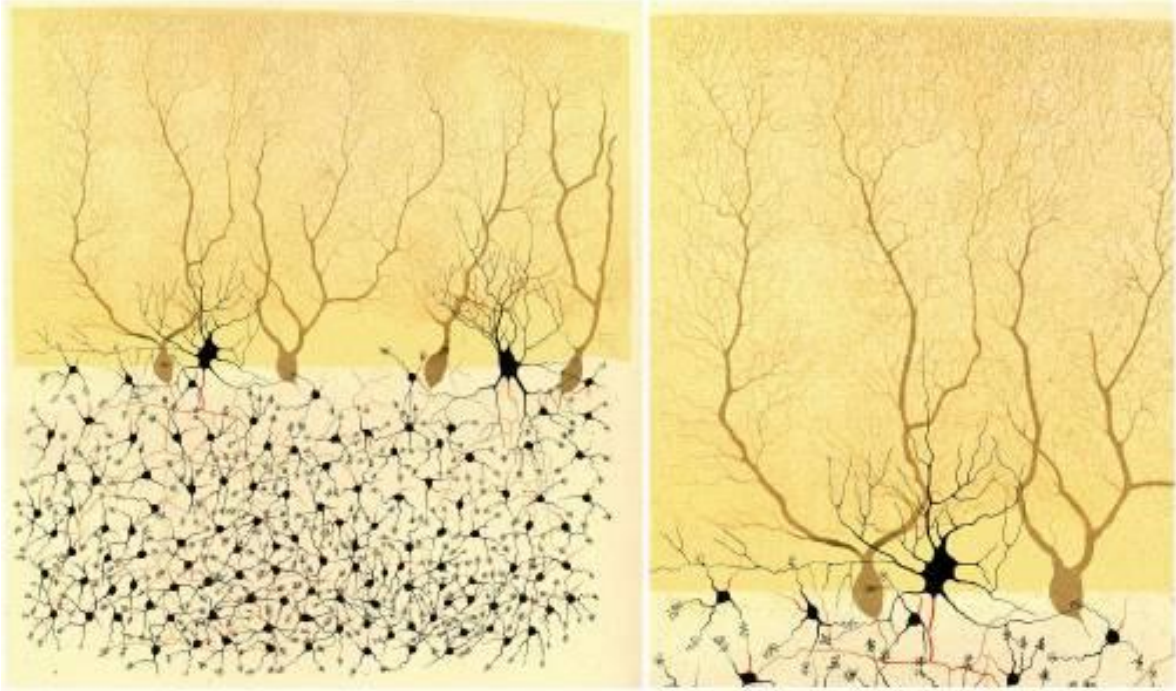
Purkinje hücrelerinin üzerindeki mantarimsı çıkıntılarda motor öğrenme sırasında değişiklikler meydana geldiği gösterilmiştir (Gonzalez-Tapia, Gonzalez-Ramirez, Vazquez-Hernandez, & Gonzalez-Burgos, 2017). Bellek dikensi çıkıntıları olarak da adlandırılan mantarimsı çıkıntılar, plastisite yoluyla güçlenmiş bölgeleri temsil etmektedir. İnce çıkıntılar ise zaman içinde kaybedilme olasılığı daha yüksek olan genç, yeni oluşmuş sinaptik yapıları temsil etmektedirler (Bourne & Harris, 2007). *In vivo* konfokal görüntüleme çalışmalarında dikensi çıkıntılarının yüksek plastisiteye sahip yapılar olduğu kanıtlanmış, sadece dakikalar gibi kısa sürelerde (Parnass, Tashiro, & Yuste, 2000) şekil değiştirdikleri (Matus, 2000; Yasumatsu, Matsuzaki, Miyazaki, Noguchi, & Kasai, 2008), aynı zamanda yaşam boyu aktiviteye bağlı olarak ortaya çıkıp kaybolabildikleri gösterilmiştir (Caroni, Donato, & Muller, 2012; Harms & Dunaevsky, 2007; Holtmaat ve ark., 2005; Lendvai, Stern, Chen, & Svoboda, 2000; Y. Zhang ve ark., 2005) .

Dikensi çıkıntılardaki morfolojik çeşitliliğin hem yetiştirme koşulları, hem de fonksiyonel parametrelerle ilişkili olduğu düşünülmektedir (Struble & Riesen, 1978).

2.6 – Golgi Boyama Yöntemi

Camillo Golgi, 1873 yılında bu yöntem ile nöron ve gliaları görüntüleyebilmiştir. Golgi metodu önceden potasyum ve amonyum dikromat ile sertleştirilen dokunun, 0.50 veya %1.0 gümüş nitrat solüsyonu içinde tutulması olarak tanımlanabilen bir yöntemdir. Sinir sistemi yapılarında çok yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu boyama ile hem serebral hem de serebellar kortekste bulunan nöronlar morfolojik olarak daha ayrıntılı bir şekilde gösterilebilmiştir. Geliştirilen bu yöntem ile aksonların yönelimi, aksonların sonlanması ve dallanması daha iyi bir şekilde görüntülenebilmiştir (Alvarez & Sabatini, 2007). Günümüzde bu yöntem ile yüksek çözünürlükte görüntülemeler yapılabilmektedir (Mancuso, Chen, Li, Xue, & Wong, 2013). Golgi boyama tekniği, diğer yöntemlere göre kontrast performansı ve tüm doku bloğundaki boyama özelliği ile hücrelerin görünür olmasında halen kullanılmaktadır (Czechowska, van Rienen, Lang, Eiberger, & Baader, 2019).

Santiago Ramon y Cajal bu yöntem ile özellikle piramidal ve Purkinje hücrelerindeki dendritik çıkıntı gelişimlerini örneklemiştir (Şekil 2.7) Nöronların bağlantılar kurarak iletişime geçtiğini göstermiş ve sinir hücrelerinin süreklilik oluşturduğunu ileri süren 'Nöron Doktrini'nin gelişmesine büyük katkı sağlamıştır (DeFelipe, 2002, 2015).



Şekil 2.7: Golgi boyama yöntemiyle işaretlenen nöronlar, tavşanın sol serebellar hemisferindeki Purkinje hücrelerinin görüntüleri (DeFelipe, 2015).

2.6.1 – Golgi Boyama Yönteminin Özellikleri

Golgi boyama metodu ile nöron, glia, internöron gibi sinir hücrelerini boyayan Camillo Golgi sinir sistemi hücrelerinin görüntülenmesinde çığır açmıştır. Yüksek kontrastlı, seçici boyama özellikleri, tam nöronal morfolojinin tanımlanmasını sağlamıştır. Gümüş kromat kristalleri nöronun içine girerek bütün hücreye dağılır ve koyu renk boyanmış nöronları, aksonal uzantıları ve dendritik çıkıntıları rahatlıkla görülüp analiz edilebilmesine olanak sağlar (Koyama, 2013).

Golgi yönteminin seçici boyama özelliği Shankaranarayana ve arkadaşlarına hücre içindeki stabil durum ve Golgi boyama için kullanılan ağır metaller arasındaki etkileşimlerin boyama düzeyini önemli ölçüde etkileyebileceğini düşündürmüştür. Bundan dolayı, primer kültür ortamında büyütülen nöronların boyanmasında kullanılan modifiye Golgi yönteminin, seçici boyama özelliğine sahip olmadığı gösterilmiştir (Shankaranarayana Rao, 2004).

Orijinal Golgi boyama yöntemi, gümüş kromat ve lipoproteininin dengesiz çökeltisinin hücre zarında görülmesi ile oluştuğu için boyama tekrarlanamaz şekilde uygulanmaktadır. Bu nedenle, Cajal tarafından geliştirilen Rapid Golgi yönteminde potasyum dikromat çözeltisine osmiyum tetraoksit eklenmiştir (De Carlos & Borrell, 2007). Osmiyum hücre zarları stabil olduğu için, çok sayıda sinir hücresinin boyanmasına izin vermiştir (Millhouse, 1981; Spacek, 1992)

Daha sonra yapılan çalışmalarda bu metodun fikse edilmiş yetişkin beyin dokularında başarılı boyama sağladığı gösterilmiştir (Buell, 1982; Marin-Padilla, 1995; Williams, 1983). Bu yöntemde Golgi-Kopsch ismi verilmiştir. Bu tekniğin, formalinle sabitlenmiş dokuların boyanması için de uygun olduğu anlaşılmıştır (D'Amelio, 1983; Glantz & Lewis, 2000; Rosoklija ve ark., 2000). Ayrıca, bu yöntemi kullanarak boyanan, yaşlı hayvanların örnekleri genç hayvanlarınkinden daha iyi boyanmıştır. Bu durum deney hayvanlarının yaşının boyamada önemli bir kriter olduğunu ortaya koymuştur (Riley, 1979).

Cox tarafından geliştirilen Golgi-Cox yöntemi, bir potasyum dikromat ve civa klorür karışımı ile boyanan doku örneklerini içerir (Buell, 1982). Arka plan boyaması Rapid Golgi yönteminden daha az yoğun olduğu için nöronların dendritik analizleri ve aksonal uzunluk analizleri için idealdir.

Her bir Golgi boyama yönteminin hem avantajı hem de dezavantajı olduğu için boyama yapılırken fiksasyon, deney hayvanının yaşı, boyanılan bölge yapısı göz önünde bulundurulmalıdır.

2.7 – Stereoloji

Morfometrik çalışmalarda bir dokunun hacmi, dokudaki diğer bileşenlerin hacimleri ve bu hacimlerin oranları araştırmacılar tarafından sıklıkla kullanılan parametrelerdir. Biyolojik yapılardaki taneciklerin toplam sayılarının veya birim hacme düşen sayısal yoğunluklarının (N_v) belirlenmesi, birçok çalışma için vazgeçilmez parametrelerdir. Özellikle sinir sisteminde temel işlevsel elemanlar olan sinir hücrelerinin sayıları, yapı ve fonksiyon arasındaki ilişkilerin önemli bir ifadesi olarak, üzerinde yorumlar yapılan en önemli araştırma verilerinden birisidir. Bu sayısal kavramlar bu kadar önemli olmasına rağmen tanecik sayımlarını kabul edilebilir bir hata payı sınırı içerisinde ölçülebilen bir yöntem, uzun yıllar boyunca ortaya konamamıştır.

Stereoloji, üç boyutlu örneklerin iki boyutlu histolojik kesitlerden elde edilen verilerine dayanılarak gerçekteki özellikleri ile ilgili yorumlar yapılmasını sağlayan bir bilim dalıdır. Stereolojik metotlar, kurallarına uygun bir biçimde uygulandığında, tarafsız (unbiased), yani sistematik hatadan bağımsız sonuçlar elde edilmesini sağlar ve örnekleme sayısı arttırıldıkça da gerçek değere daha fazla ihtimallikle yaklaşmak mümkündür (Agustina, Sofro, & Partadiredja, 2019; Altunkaynak, Akgul, Yahyazedeh, Makaraci, & Akgul, 2019; Cruz-Orive & Weibel, 1990; Fichtl, Buttner, Hof, Schmitz, & Kiessling, 2017; Gundersen, 1986; Gundersen, Bagger, ve ark., 1988; Gundersen, Bendtsen, ve ark., 1988; Mayhew & Gundersen, 1996; Sinan Canan, 2014).

2.7.1 – Cavalieri Yöntemi ile Hacim Hesaplama

Düzensiz şekle sahip olan dokuların hacimlerini hesaplamaya yardımcı olan Cavalieri prensibi ilk kez Bonaventura Cavalieri tarafından ortaya konmuştur (Garcia-Finana, Cruz-Orive, Mackay, Pakkenberg, & Roberts, 2003; Gundersen & Jensen, 1987; Gundersen, Jensen, Kieu, & Nielsen, 1999). Buna göre düzenli geometrik şekli olmayan dokuların hacimlerinin eşit kalınlıkta paralel dilimlere ayrılarak hesaplanabileceği gösterilmiştir.

Yüzey alanını hesaplanmasında, her kesite nokta sayım tekniği kullanılır ve yükseklikle çarpılarak çalışılan alanın hacmi hesaplanır (Gundersen & Jensen, 1987). Bu yöntem uygulama olarak oldukça basit ve aynı zamanda istatistiksel olarak da güvenilir sonuçlar vermektedir.

2.7.2 – Optical Fractionator Yöntemi ile Toplam Hücre Sayısının Hesaplanması

İlgilenilen bölgedeki hücrelerin sayısı belirlemek için bir dizi yöntem kullanılmaktadır. Bunlardan birisi olan parçalama (fraksiyonlama) stereolojide en çok kullanılan tanecik sayma yöntemidir. Bu yöntemin esası herhangi bir yapıdan sistematik rastgele örnekleme ile seçilen nispeten küçük bir doku parçasında tanecik sayımı (N_v : birim hacimdeki sayısal yoğunluk) yapmaktır. Sayım için örneklenen doku miktarının orijinal yapıya oranı bilindiği takdirde toplam tanecik sayısına ulaşılabilir. Bu amaçla kullanılacak dokulardan eşit aralıklarla kalın kesitler alınmalıdır ve hücrelerin toplam sayısını belirleneceği kısımlarda derinlik ayarı tarafsız olarak yapılmalıdır (Alahmari ve ark., 2019; Elozory ve ark., 2012; Mouton ve ark., 2017). Parçalama yöntemi aslında bir tanecik sayım yöntemi olmaktan çok bir örnekleme planıdır. Parçalama yöntemi ile örneklenen dokuda disektör sayım metodu kuralları uyarınca sayım yapmayı içeren bu yöntem sayesinde, tarafsız ve etkin bir şekilde sayım yapılması mümkün olmaktadır. Bu yöntem dokuda meydana gelen hiçbir şekil değişikliğinden etkilenmemesi, kesit kalınlığı, büzüşme-şişme miktarı gibi değerlere ihtiyaç göstermemesi nedeniyle nöroanatomik çalışmalarda en çok tercih edilen yöntemlerin başında gelmektedir.

3- GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1 – Deney Hayvanları

Bu tez çalışmasında yapılan deneyler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) tarafından 2017/601 numaralı karar ile onaylandı. Tüm çalışma süresince uluslararası hayvan hakları yönergelerine bağlı kalındı. Çalışmada kullanılan deney hayvanlarının temini ve bakımı Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi (TICAM) tarafından sağlandı. Dölden kaynaklanan hata payını ve bireysel farklılıkları en aza indirmek için deney ve kontrol grupları en az 3 farklı anneden doğan yavrulardan oluşturuldu. Her bir deney grubu, cinsiyete bağlı farklılık olup olmadığını araştırmak amacıyla 16 adet sıçan (8 dişi, 8 erkek olmak üzere) içermektedir. Çalışmada üç grup yer aldığı için toplamda 48 adet yavru Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanıldı.

3.2 – Deney ve Kontrol Grupları

Stres protokolü uygulamaları dışında hayvanlar araştırma süresince $19\pm 2^{\circ}\text{C}$ sabit sıcaklıkta, 12 saat aydınlık/karanlık periyodunda, nemi (%45-65) otomatik olarak ayarlanmış odalarda barındırıldı. Deney boyunca pellet yem ve çeşme suyuna sınırsız erişim sağlandı.

Kontrol grubu embriyonik dönemden itibaren postnatal 44. güne kadar hiçbir işleme maruz kalmamış yavrulardan oluşturuldu. Bu yavrular sakrifikasyon işlemine kadar her kafeste 4 adet olacak şekilde cinsiyetlerine göre ayrı kafeslerde barındırıldı.

Stres grubundaki yavruların annelerine hamileliklerinin 14. gününden itibaren doğuma kadar, 'tekrarlı ön görülemeyen stres modeli' uygulandı. Buna göre anneler aşağıda belirtilen stres paradigmalarından 1-3'üne Tablo 3.1 de yer aldığı şekilde maruz bırakıldı:

- a) İyi havalandırılan silindirik pleksiglas materyalden hazırlanan bir düzenek içerisinde 1 saat süreyle hareketsiz bırakma (immobilizasyon stresi).
- b) $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ ısıda 6 saat bekletme
- c) Gece boyunca açlık
- d) Oda sıcaklığındaki suyun içinde 15 dakika yüzme
- e) 24 saat boyunca aydınlıkta barındırma
- f) Karanlık evre boyunca, kalabalık barınma koşullarında bırakma

Tablo 3.1: Tekrarlı ön görülemeyen stres modelinde kullanılan paradigmlar

Embriyonik Günler	Sabah	Gün ortası	Öğleden sonra
14	İmmobilizasyon 60 dakika	Yüzme 15 dakika	İmmobilizasyon 60 dakika
15	Soğuğa maruziyet 6 saat		
16	Yüzme 15 dakika	İmmobilizasyon 60 dakika	Yüzme 15 dakika
17	Açlık	Yüzme 15 dakika	24 saat boyunca aydınlıkta barındırma
18	Karanlık fazda 12 saat sosyal stres - kalabalık barınma		
19	İmmobilizasyon 60 dakika	Yüzme 15 dakika	İmmobilizasyon 60 dakika
20			Soğuğa maruziyet 6 saat
21	Yüzme 15 dakika	İmmobilizasyon 60 dakika	Yüzme 15 dakika

Hamilelik döneminde prenatal strese maruz bırakılan annelerden doğan erkek ve dişi yavrular (n=8), postnatal 1. günden itibaren ve postnatal 44. gün de dahil olmak üzere anneden ayırma (maternal seperasyon stresine) maruz bırakıldı. Postnatal 45. günde sakrifiye edildi.

Zenginleştirilmiş ortam grubundaki anne sıçanların kafesine gebeliğin 14. gününden itibaren üçer adet farklı tiplerde objeler yerleştirildi. Ayrıca deney hayvanının kafesine kendisini güvende hissetmesini sağlamak amacıyla yuva işlevi gören bir obje de koyuldu. Bu annelerden doğan yavrular doğumlarından itibaren postnatal 44. güne kadar zenginleştirilmiş ortamda büyütüldü. Birbirine tünellerle bağlantılandırılan geniş kafelerde sıçanların hem hareketlerinin arttırılması hem de arama ve merak davranışlarının uyarılması amaçlandı. Bu amaçla kafeslere dönen çark, saklanabilecekleri yuva tarzı kutular, merdiven vb. objeler koyuldu ve bu objeler 2 günde bir değiştirildi.

3.3 – Davranış Testleri

Davranış testleri tüm gruplarda aynı zaman aralıklarında ve aynı ekipman kullanılarak TICAM’da gerçekleştirildi.

Kontrol Grubu

Stres Grubu

E14-21'de Öngörülemez Tekrarlı Stres;

P1-44'de Maternal Seperasyon

Zenginleştirilmiş Ortam Grubu

• P27 Rota-rod Testi Ağıştırma 1. gün - Grip Testi

• P28 Rota-rod Testi Ağıştırma 2. gün

• P29 Rota-rod Testi (erken evre)

• P42 Rota-rod Testi Ağıştırma 1. gün – Grip Testi

• P43 Rota-rod Testi Ağıştırma 2. gün

• P44 Rota-rod Testi (geç evre)

• P 45 Perfüzyon

Şekil 3.1: Deneysel tasarım (E: Embriyonik gün, P: Postnatal gün).



Şekil 3.2: Kontrol grubu annelerden doğan yavrular P1. gün (A), P10 gün (B).



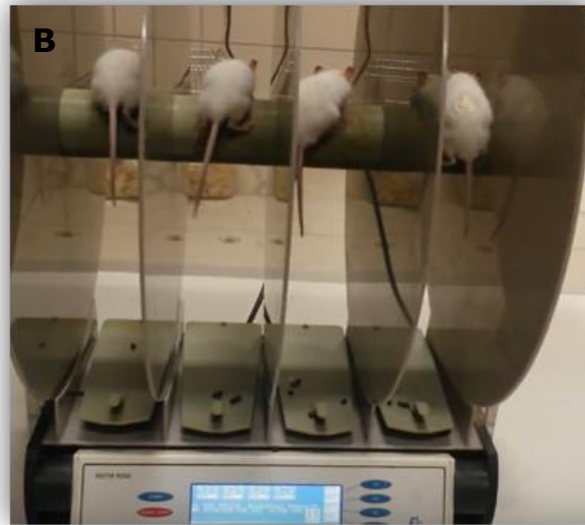
Şekil 3.3: Maternal seperasyon uygulaması. Stres grubundaki annelerden doğan yavrulara P1 (A) ve P10'da (B) uygulanan yöntemler.



Şekil 3.4: Zenginleştirilmiş ortam koşulları. Bu gruptaki annelerden doğan yavruların P1- P44 günler arasında barındırıldıkları kafeslerin farklı açılardan görüntüleri (A-C).

3.3.1 - Rota-rod Testi

Deney hayvanlarının denge ve motor koordinasyon düzeylerini değerlendirmek amacıyla rota-rod testi kullanıldı (Şekil 3.5). Bu test giderek hızlanan (80rpm-150rpm) bir hızda dönen bir çubuk üzerinde deney hayvanının düşmeden kalış süresinin ölçülmesi esasına dayanmaktaydı. Rota-rod cihazı 70 mm çapındaki bir silindir, aynı anda 4 hayvanı test edebilmeyi sağlayacak sert plastik duvar ile bölünmüş dört bölme, düşen hayvanın düşme saniyesini ve rotun hızını gösteren bir panelden oluşmaktaydı (Ugo Basile 47700). Deneyler 3 gün süre ile uygulandı ve ilk iki gün alıştırmaya kabul edildi. Test süresi 600 saniye olarak belirlendi. Üçüncü gündeki testte hayvanların rod üzerinde kalış süreleri kayıt edilerek deney tamamlandı.



Şekil 3.5: Rota-rod testi. Kontrol (A) ve deney (B) gruplarındaki hayvanların test esnasındaki görüntüleri.

3.3.1 - Modifiye Grip Testi

Modifiye grip testi kavrama, direnme gücü ve motor koordinasyon düzeyini belirlemek için kullanıldı. Test düzeneği 50 cm uzunluğunda 3 mm çapında bir ipin yerden 80 cm yükseklikte olacak şekilde sütunlar arasına gerilmesiyle oluşturuldu (Şekil 3.6). Ahşap zemin düşme sırasında yaralanmayı önlemek amacıyla pamuklu örtü ile kaplandı. Sıçanlar, ön pençelerinden ipin ortasına yerleştirilerek kaçma davranışına kadar geçirilen süreler kayıt edildi ve aşağıdaki skora sistemi kullanılarak sıçanların direnme kuvvetleri değerlendirildi.

0= düşme

1= ipin sadece ön ayaklar ile kavranması

2= sadece ön ayaklar ile kavranması ancak tekrar tırmanma hareketi

3= ön ayaklar ve bir ya da iki arka ayakla da ipe tutunma,

4= bütün ön ve arka ayaklar ile ipe tutunma ve kuyruğun ipe dolanması

5= ip üzerinde 150 sn'den fazla kalma ya da 50 sn'den sonra kaçma davranışı gösterme

6= 41 ve 50 sn arasında kaçma davranışı gösterme

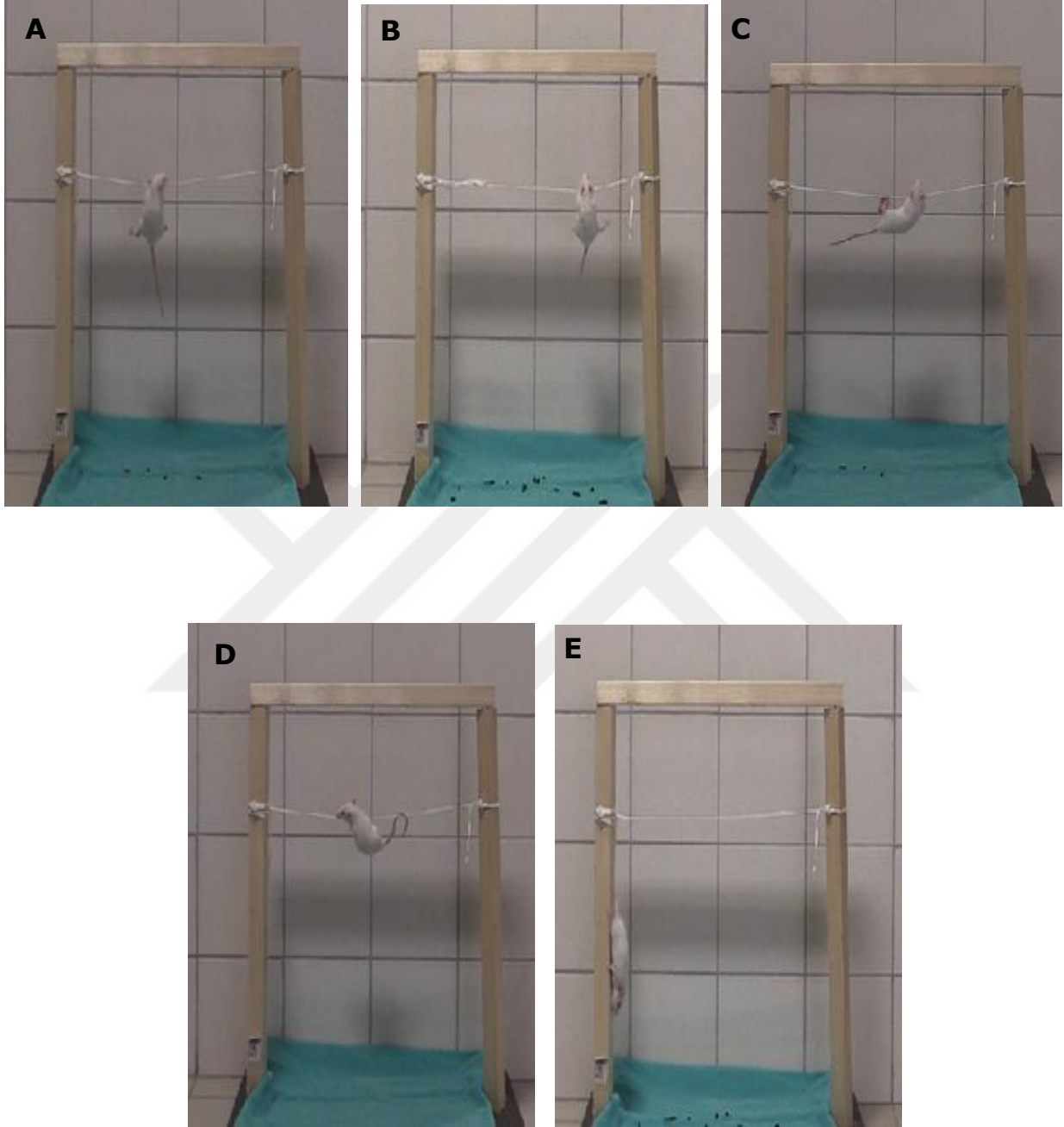
7= 31 ve 40 sn arasında kaçma davranışı gösterme

8= 21 ve 30 sn arasında kaçma davranışı gösterme

9= 11 ve 20 sn arasında kaçma davranışı gösterme

10=ilk 10 sn'de kaçma davranışı gösterme

Skorlama iki deneme sonunda alınan en yüksek puan olarak kayıt edildi (Şekil 3.6).



Şekil 3.6: Modifiye grip testi. İpin sadece ön ayaklar ile kavranması (A), sadece ön ayaklar ile kavranması ancak tekrar tırmanma hareketi (B), ön ayaklar ve bir ya da iki arka ayakla da ipe tutunma (C), bütün ön ve arka ayaklar ile ipe tutunma ve kuyruğun ipe dolanması (D), kaçma davranışı gösterme (E).

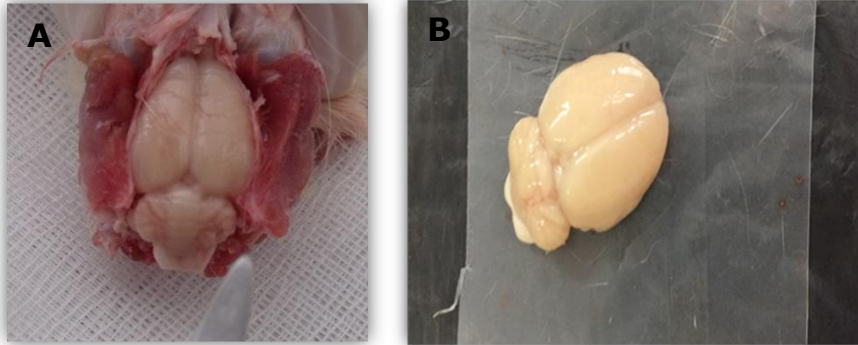
3.3 – Deneş Hayvanlarının Sakrifikasyonu ve Dokuların Hazırlanması

Davranış testleri tamamlandıktan sonra P45. günde sıçanlara 0,9 ml/kg ketamin (%10)+ 0,4 ml/kg xylazin (%2) intraperitoneal olarak uygulanarak anestezileri sağlandı. Transkardiyak yolla önce 100 ml fosfat tamponlu salin (PBS) solüsyonu, sonra da 200-250 ml %4'lük paraformaldehid [0.1M fosfat tamponda (pH=7.4) hazırlanan] solüsyonu perfüzyon pompası (Peristar) yardımıyla sabit hızda verilerek deneş hayvanlarının fiksasyonu sağlandı (Şekil 3.7).



Şekil 3.7: Transkardiyak yolla perfüzyon.

Fikse edilen hayvanların cerebellum'ları dikkatli bir şekilde çıkarıldı (Şekil 3.8). Sağ serebellar hemisfer ve vermis kısmı Toluidin mavisi, sol serebellar hemisfer ise Golgi boyaması için kullanıldı.



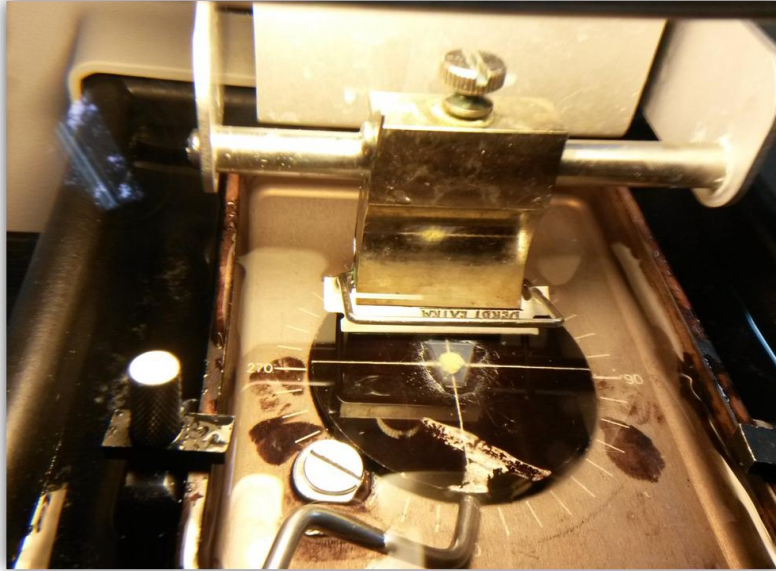
Şekil 3.8: Beyin diseksiyonu. Diseksiyonu yapılan sıçan beyninin diseksiyon esnasında (A) ve cranium'dan çıkartıldıktan sonraki görünümü (B).

3.4 – Histolojik Kesitlerin Hazırlanması ve Boyanması

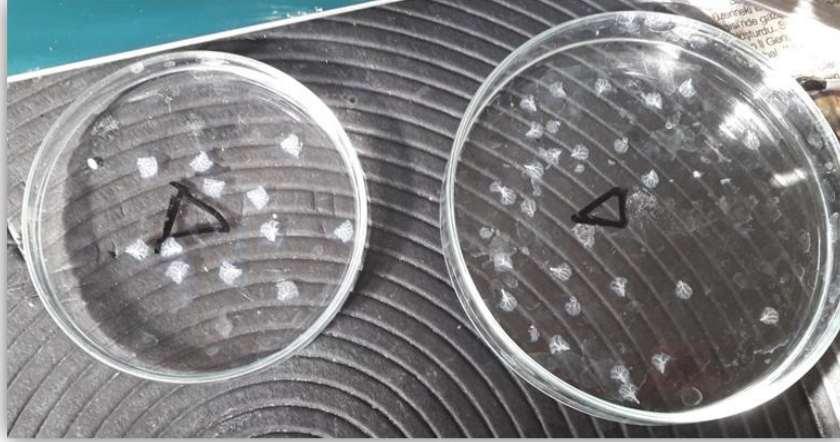
Cerebellum dokusu sağ serebellar hemisfer ve vermis kısmı ile sol serebellar olacak şekilde iki bölüme ayrılarak %4'lük paraformaldehid fiksatifinde 2 gün postfikse edildi. Doku kesiminde hacim kaybı olmaması için dokular %5'lik agara gömüldü (Şekil 3.9). Sağ serebellar hemisfer ve vermis kısmını içeren dokulardan Vibratome (PELCO 10190) ile 100 µm kalınlığında seri kesitler alındı (Şekil 3.10). Alınan kesitler fosfat tampon içeren petri kaplarında toplandı (Şekil 3.11).



Şekil 3.9: Serebellar hemisfer ve vermis dokusunun agara gömülmesi.



Şekil 3.10: Vibratom ile seri kesit alınması.



Şekil 3.11: Vibratom ile alınan (100 µm) seri kesitler.

3.4.1 - Toluidin Mavisi İle Boyama

Serbest yüzen kesitler toluidin mavisi ile 1 dk süreyle boyandı. Boyanan kesitler poli-lizin ile kaplanmış temiz lamlara dizildi. Gece boyu oda sıcaklığında kurutulan lamlar artan yoğunluklu alkol serisinden (%60, %70, %80, %90, %100) geçirildi. Suyu giderildikten sonra (dehidrasyon) ksilol'de 1 dk süreyle şeffaflaştırılan kesitler DPX solüsyonu kullanılarak kapatıldı (Şekil 3.12).

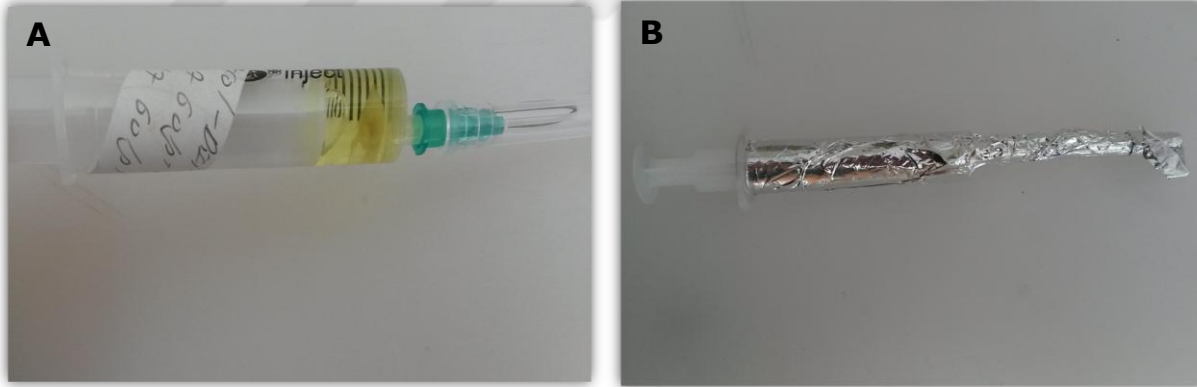


Şekil 3.12: Toluidin mavisi ile boyanmış histolojik kesitler.

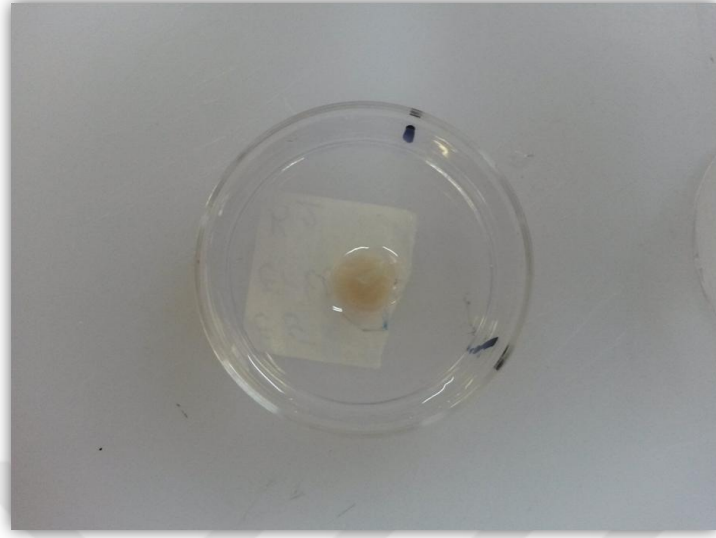
3.4.2 - Golgi-Cox Boyama

Nöronların morfolojik özelliklerini inceleyebilmek için sol serebellar hemisferlerden alınan kesitler Golgi boyama kiti (Rapid Golgi Stain™, FD NeuroTechnologies) ile boyandı.

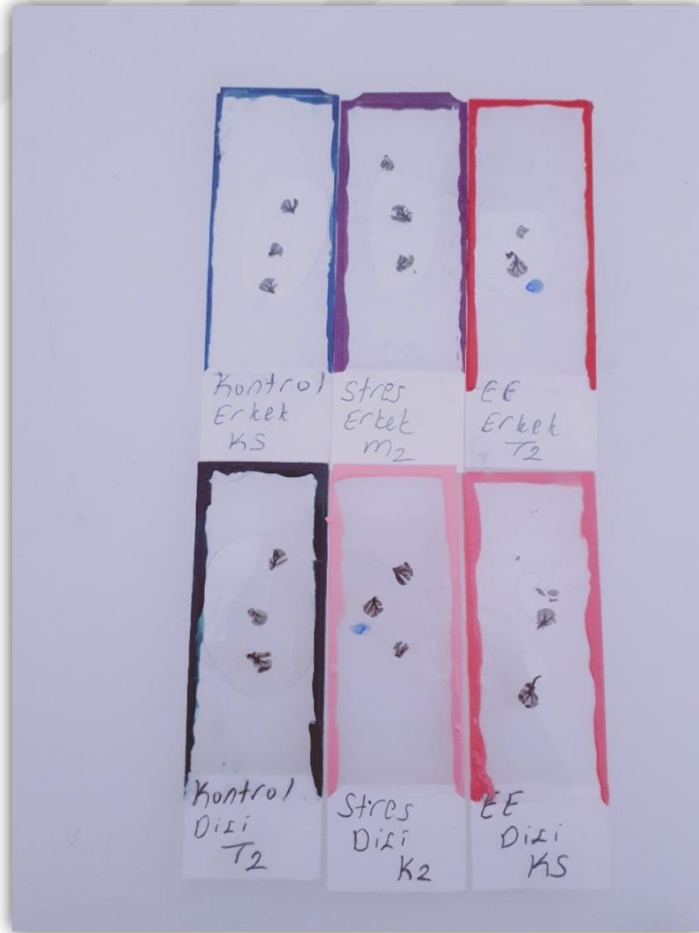
Kit içerisinde potasyum dikromatlı A solüsyonu ile civa kloritli B solüsyonları kullanımdan 24 saat önce eşit miktarlarda koyu renkli cam şişede karıştırılarak impregnasyon solüsyonu hazırlandı. 21 gün süreyle hazırlanan solüsyonda ışık almayacak bir şekilde +4°C de bekletilen dokular, potasyum kromat içeren C solüsyonunda 72 saat bekletildi (Şekil 3.13). Daha sonra doku kesiminde hacim kaybı olmaması için dokular %5'lik ağara gömüldü (Şekil 3.14). Vibratome (PELCO 10190) ile 200 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler, yüzer şekilde cam kapta toplandıktan sonra, distile suda 4 kez beş dakika yıkandı. Daha sonra bir birim D solüsyonu bir birim E solüsyonu ve iki birim distile sudan oluşan karışıma konularak 10 dk karıştırıldı. Tekrar distile su ile dört kez beş dakika yıkanan kesitler, dörder dakika boyunca alkol serisinden (%50, %75, %95, %100) geçirildi. Boyanan kesitler poli-lizin ile kaplanmış temiz lamlara dizildi. Son olarak ksilol'de (4 dk) şeffaflaştırılan kesitler DPX solüsyonu kullanılarak kapatıldı (Şekil 3.15).



Şekil 3.13: Serebellar hemisferin impregnasyonu. Dokuların ışık almayacak şekilde solüsyonda bekletilmesi (A,B).



Şekil 3.14: Serebellar hemisferin agara gömülmesi.



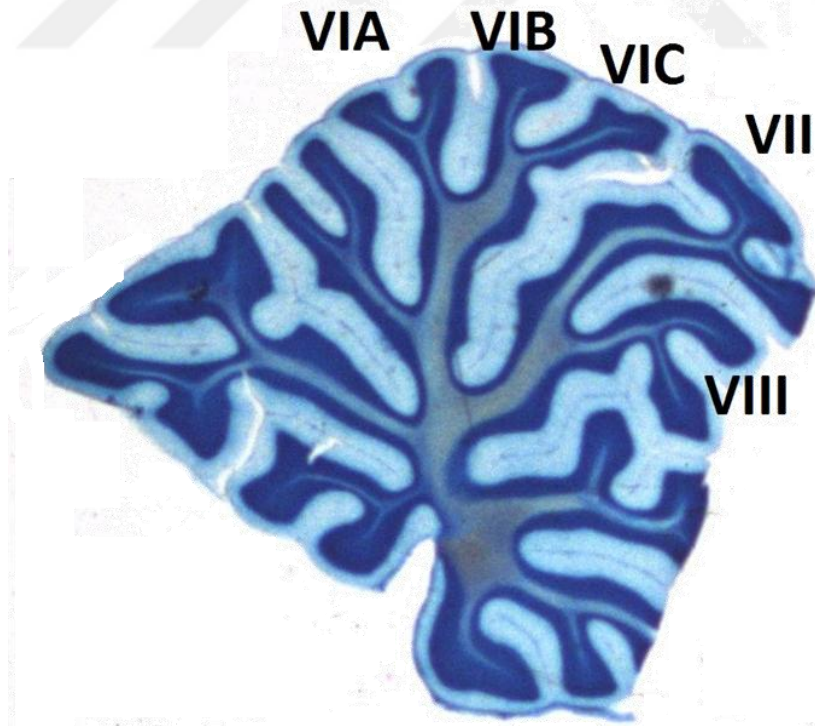
Şekil 3.15: Golgi yöntemi ile boyanmış kesitler.

3.5 – Morfometrik Sayımlar

3.5.1 - Vermis'de Birim Mesafeye Düşen Purkinje Hücre Sayısının Hesaplanması

Her aşamada sistematik randomize örnekleme metodu kullanıldı. Hesaplamalarda mikroskobik kalibrasyon skalası kullanılarak magnifikasyon faktörüne göre belirlenen gerçek uzunluklar ölçüldü. Toluidin mavisi ile boyanmış vermis kesitlerindeki Purkinje hücre nükleuslarının ortasından geçen Purkinje hücre hattı; çizim tüpü ataşmanlı Nikon E400 ışık mikroskobu aracılığı ile çizildi. Cerebellum'un VIA, VIB, VIC, VII, VIII nolu folyolarının en uç kısımlarındaki Purkinje hücre hattından elde edilen görüntüler dijital ortama aktarıldıktan sonra kalibrasyon skalası kullanılarak Purkinje hücre hattının gerçek uzunluğu Image J görüntü analizi programı ile ölçüldü (Şekil 3.16). Bu hat boyunca bulunan Purkinje hücre nükleusları sayılarak birim uzunluğa düşen Purkinje hücre sayısı hesaplandı.

A



B



Şekil 3.16: Sayım yapılan cerebellum foliaları (A), birim uzunluğa düşen Purkinje hücre sayısının hesaplanması (B).

3.5.2 - Serebellar Hemisfer ve Vermisde Hacim Hesaplama

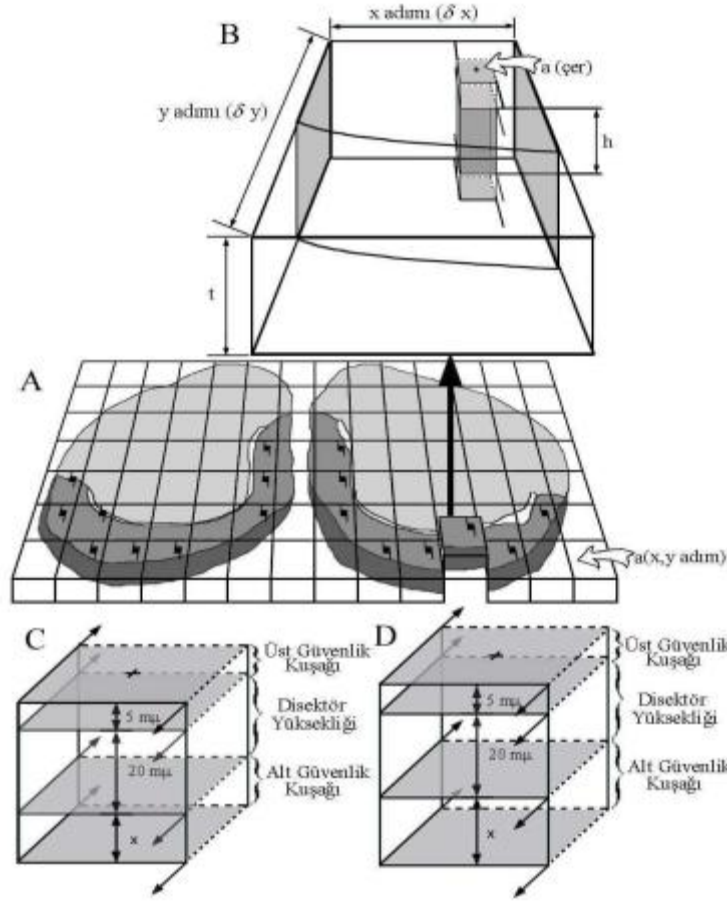
Serebellar hemisfer ve vermis'deki moleküler ve granüler tabakaların hacim hesaplanmasında StereoInvestigator yazılım programının (Micro Bright Field, ABD) Cavalieri estimator probu kullanıldı. Her hayvandan 5 adet kesit seçilerek tüm folyo'lardan elde edilen görüntüler üzerine $100\ \mu\text{m} \times 100\ \mu\text{m}$ boyutlarında grid atıldı. Bu gridlerin moleküler ve granüler tabakaya karşılık gelen noktaları sayılmak ve kesit kalınlığı ile çarpmak suretiyle toplam hacim hesaplandı. Tüm kesitlerde tabakaların kendi içinde ortalaması alındı ve bu değer çerçevedeki toplam nokta sayısına bölünerek tabakaların hacim oranı (Volume proportion= V_v) hesaplandı (Şekil 3.17).



Şekil 3.17: Moleküler ve granüler tabaka hacim oranlarının hesaplanması.

3.5.3 - Derin Serebellar Nükleuslardaki Nöron Sayısının Hesaplanması

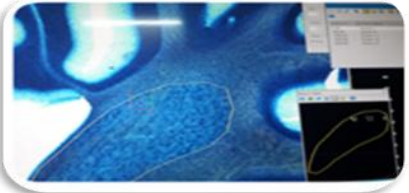
Derin serebellar nükleuslardan nucleus dentatus, nucleus fastigii'deki toplam nöron sayılarının hesaplanmasında Stereo Investigator yazılım programının (Micro Bright Field, ABD) 'Optical fractionator' probu kullanıldı. Optik parçalama yöntemi kullanılarak sayım yapılacak nükleuslardaki toplam hücre sayısının belirlenmesinde, her aşamada, sistematik randomize örnekleme metodu kullanılarak tarafsız bir şekilde sayım yapıldı. Seçilen nükleuslara ait görüntüler her hayvan için, sol serebellar hemisfer ve vermis'ten elde edilen kesitler boyunca, toplam 15-20 kesitte gözlemlendi. Stereo investigator programını içeren mikroskopta önce 5X büyütme de nükleus bölgelerinin sınırları belirlendi. Daha sonra 10X büyütme kullanılarak bilgisayar ekranına aktarılan görüntüler üzerinde tarafsız sayım çerçevesi kullanılarak nöron sayımı yapıldı. Hücre sayım metodu olarak x ve y eksenlerine ve belli bir derinliğe (z) sahip (3 boyutlu) optik disektör sondası kullanıldı. Kesit kalınlığı 100 µm olan dokunun derinindeki ve yüzeyindeki Z tabakasından 10'ar µm kalınlığındaki bölge 'güvenlik kuşağı' olarak programa kayıt edildi. Her sayım alanı için adım aralığı (X:100 µm Y:100 µm olacak şekilde) belirlendi. Disektörün yüksekliği 50 µm, disektör hacmi(XYZ) 500.000 µm³, tarafsız sayım çerçevesinin alanı yaklaşık 10.000 µm², örnekleme grid alanı 40.000 µm² olarak ve örnekleme alan sayısı tüm gruplarda 37 ile 65 arasında olacak şekilde programa girildi. Toluidin mavisi ile boyanan toplam partikül sayısı ve sayımlardaki hata payı kullanılan yazılım tarafından hesaplandı. Tüm ölçümlerde Gundersen ve Schmitz-Hoff'a göre hesaplanan hata katsayısı (CE: Coefficient of Error) değerleri %5'in altında idi (Şekil 3.18, 3.19).



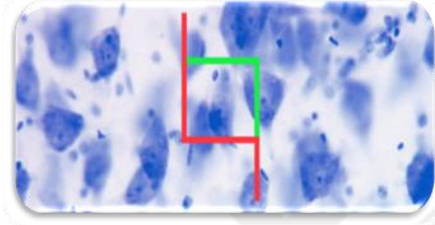
Şekil 3.18: Optik parçalama yönteminin uygulama basamakları. Önce küçük büyütmede sınırları belirlenen alan (A). Tarafsız sayım çerçevesinin ortasında bulunan (+) işaretinin daha büyük büyütmede dokuya isabet eden kısımlarında optik disektör kullanılmaktadır (B). Optik disektör prensibi histolojik kesitlerin alt ve üst yüzelerindeki kayıplardan sakınmak için, güvenlik kuşağı (5 µm) bırakılarak bu mesafenin dışında kalan bölgede (h) sayım yapılmasını önermektedir (C-D). Üst güvenlik kuşağı daima sabit iken, alt güvenlik kuşağı kesitin kalınlığına göre değişebilmektedir (ODACI, 2003).



Stereo investigator
mikroskopta
görüntü eldesi



Optical fractionator probu ile
derin serebellar nükleusların
sınırlarının belirlenmesi

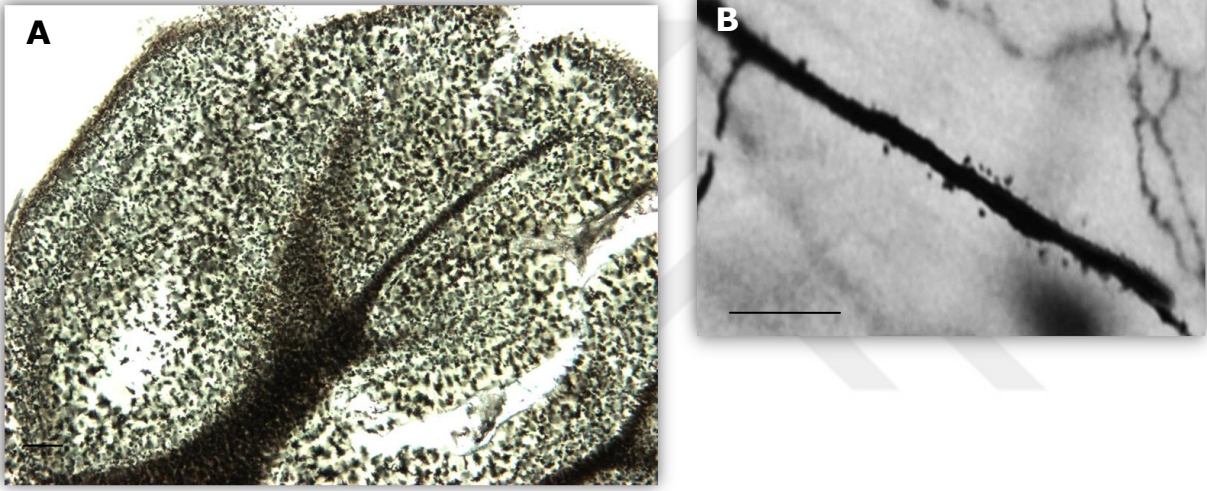


Optical disektör sondası kullanılarak belirlenen
bölgelerde tarafsız sayım çerçevesine denk gelen
nöron sayılarının hesaplanması

Şekil 3.19: Nucleus dentatus ve nucleus fastigii'deki toplam nöron sayısının hesaplanması.

3.6 – Dendritik Analizler

Purkinje nöronlarından dendritik uzantıları net olarak ayırt edilebilenler (her hayvan ve cinsiyet için n=8-10) çizim tüpü ataşmanlı mikroskopun (Nikon E400) 100X büyütme objektifi altında çizildi. Dendritler üzerindeki dikensi çıkıntılarının analizleri ise 2⁰ dallar üzerinde yapıldı. Dikensi çıkıntılar, tipolojilerine göre gruplandırılarak sayıları not edildi (Şekil 3.20).



Şekil 3.20: Golgi boyama ile elde edilen serebellar nöronların (A) ve dikensi çıkıntılarının görüntüleri (B). Skala uzunluğu A'da 1000mikron, B'de 100 mikron.

3.7 – İstatistiksel Analizler

Grupların ortalamaları arasındaki farklılığın anlamlılık dereceleri SPSS (Statistical Package for Social Sciences, 22. sürüm) paket programı kullanılarak hesaplandı.

Verilerin dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildikten sonra normal dağılım gösterenler iki yönlü varyans analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testiyle; normal dağılım göstermeyenler ise Kruskal Wallis testi kullanılarak değerlendirildi. Ayrıca grupların ortalama, \pm standart sapma (ss) ve yüzdelik değerleri verildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

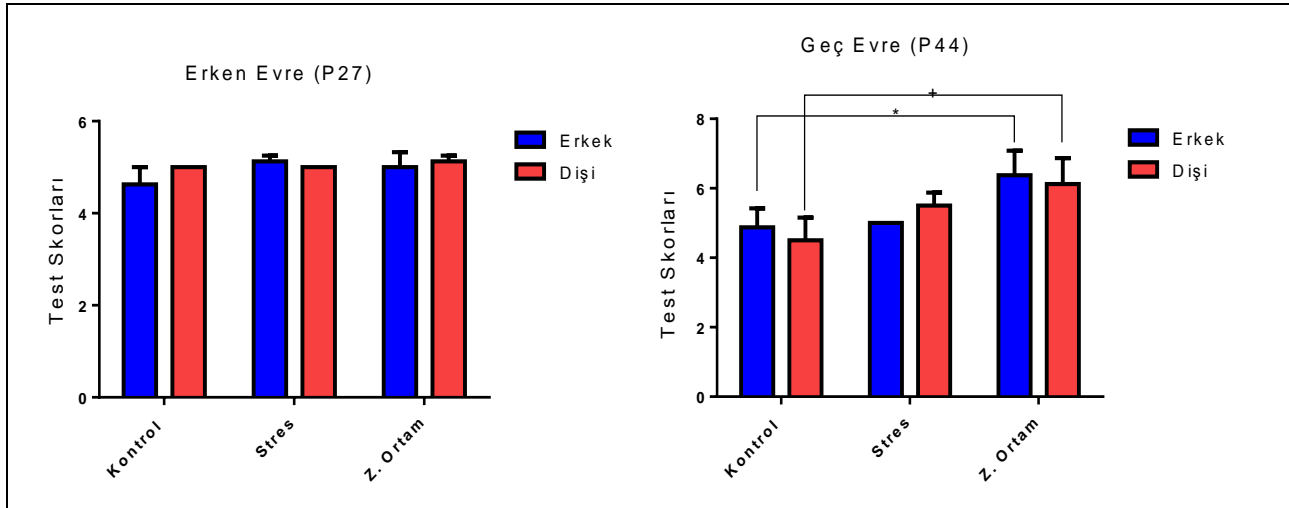
4- BULGULAR

4.1 – Modifiye Grip Testi Sonuçlarının Karşılaştırılması

Hayvanların dayanıklılık ve motor becerilerini ölçmeyi hedefleyen modifiye grip testi uygulanan grupların ortalama±SS değerleri Tablo 4.1’de gösterildi. Grupların skorları iki yönlü varyans analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testi ile incelendiğinde erken evre ölçümleri arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. Geç evre ölçümleri arasında ise zenginleştirilmiş ortamda yetiştirilen yavruların test skorları kontrol gruplarının skorlarına göre anlamlı düzeyde ($p<0,05$) yüksek bulundu (Şekil 4.1). Öte yandan geç evrede ölçümlerinde grup ve cinsiyet faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim gözlenmedi.

Tablo 4.1: Grupların modifiye grip testindeki skorları

Ortalama±SS	Kontrol		Stres		Zenginleştirilmiş Ortam	
	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi
Erken Evre	4,63±1,06	5,0±0	5,13±0,35	5,0±0	5,0±0,93	5,13±0,35
Geç Evre	4,88±1,55	4,5±1,85	5,0±0	5,5±1,07	6,38±2,00	6,13±2,10



Şekil 4.1: Erken ve geç evrede uygulanan modifiye grip testinde dişi ve erkek yavruların aldıkları skorların karşılaştırılması. Grafiklerde verilen değerler ortalama ± SS değerlerini göstermektedir (Her iki cinsiyet ve grup için; n=8).

* $p<0,05$ kontrol erkek ile zenginleştirilmiş ortam erkek grubu arasındaki farklılık.

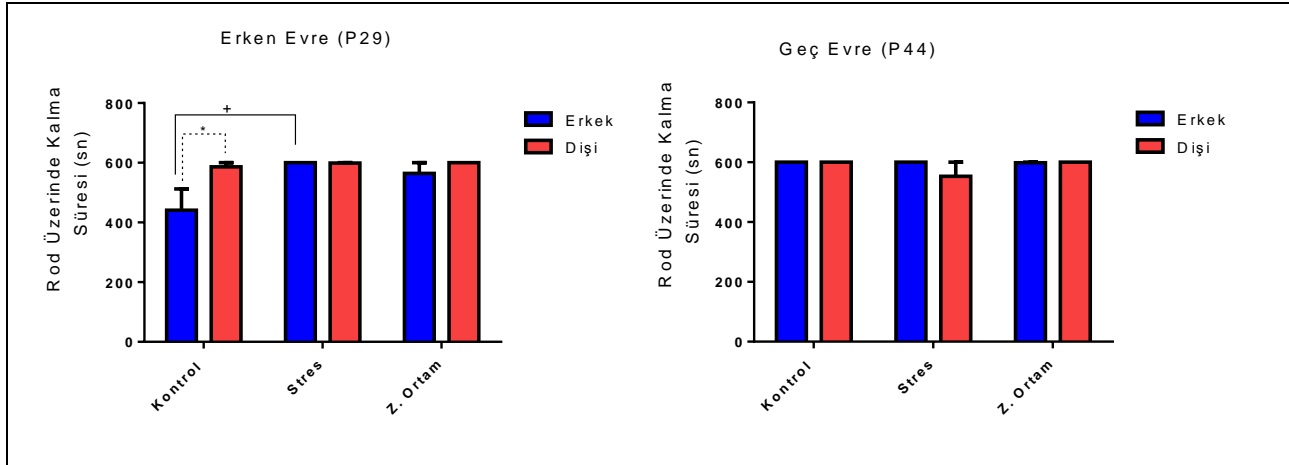
+ $p<0,05$ kontrol dişi ile zenginleştirilmiş ortam dişi grubu arasındaki farklılık.

4.2 – Rota-rod Testi Sonuçlarının Karşılaştırılması

Hayvanların motor becerilerini ölçmeyi hedefleyen rota-rod testinde rod üzerinde kalma sürelerinin ortalama \pm SS değerleri Tablo 4.2’de gösterildi. Grupların verileri iki yönlü varyans analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testi ile incelendiğinde erken evre ölçümleri arasında kontrol grubundaki dişilerin motor performansı erkeklere göre, kontrol grubundaki erkeklerin motor performansı ise stres grubundaki erkeklere göre anlamlı düzeyde ($p<0,05$) yüksek bulundu. Geç evre ölçümleri arasında ise gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 4.2). Ayrıca erken evrede rod üzerinde kalma sürelerinde grup ve cinsiyet faktörleri arasında etkileşim gözlenmedi.

Tablo 4.2: Rota-rod testinde rod üzerinde kaldığı süre

Ortalama \pm SS	Kontrol		Stres		Zengin Ortam	
	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi
Erken Evre	441 \pm 20,86	586,63 \pm 37,83	600 \pm 0	599 \pm 2,83	564,13 \pm 10,47	600 \pm 0
Geç Evre	600 \pm 0	600 \pm 0	600 \pm 0	552,88 \pm 13,29	598,38 \pm 4,60	600 \pm 0



Şekil 4.2: Erken ve geç evrede uygulanan rota-rod testinde dişi ve erkek yavruların rod üzerinde kalma sürelerinin karşılaştırılması. Grafiklerde verilen değerler ortalama \pm SS değerlerini göstermektedir (Her iki cinsiyet ve grup için; n=8).
* $p<0,05$ kontrol grubundaki erkek ve dişiler arasındaki farklılık.
+ $p<0,05$ kontrol erkek ve stres erkek grubu arasındaki farklılık.

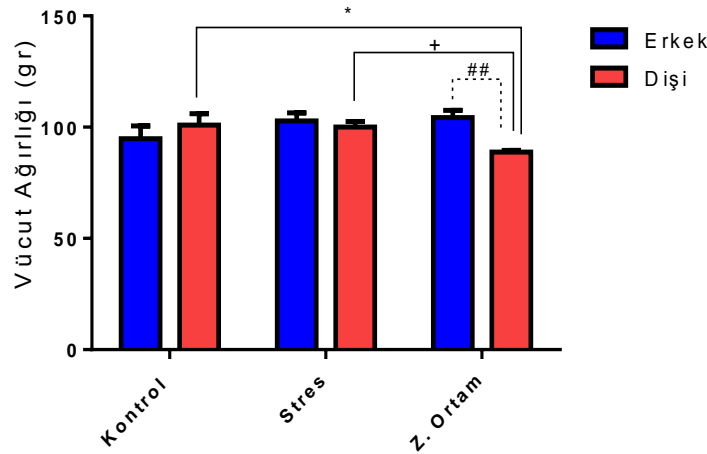
4.3 – Vücut, Beyin, Adrenal Ağırlıklarının Karşılaştırılması

4.3.1 – Vücut Ağırlıklarının Karşılaştırılması

Hayvanların perfüzyon öncesi vücut ağırlıklarının ortalama±SS değerleri Tablo 4.3’de gösterildi. Grupların iki yönlü varyans analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testi ile incelendiğinde zenginleştirilmiş ortamdaki erkeklerin dişilere göre, stres grubundaki dişilerin zenginleştirilmiş ortamdaki dişilere göre, kontrol grubundaki dişilerin zenginleştirilmiş ortamdaki dişilere göre vücut ağırlıkları anlamlı düzeyde ($p<0,05$) yüksek bulundu. Kontrol ve stres gruplarında ise cinsiyetler arasında anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 4.3). Vücut ağırlıklarının analizin de grup ve cinsiyet faktörleri arasında etkileşim gözlenmedi.

Tablo 4.3: Kontrol ve deney gruplarının vücut ağırlıkları

Ortalama±SS	Kontrol		Stres		Zenginleştirilmiş Ortam	
	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi
Vücut Ağırlığı	94,75±16,52	100,88±14,61	102,75±10,47	100±7,09	104,25±9,35	88,75±2,12



Şekil 4.3: Vücut ağırlıklarının karşılaştırılması. Grafiklerde verilen değerler ortalama ± SS değerlerini göstermektedir (Her iki cinsiyet ve grup için; n=8).

* $p<0,05$ kontrol dişi ve zenginleştirilmiş ortam dişi arasındaki farklılık.

+ $p<0,05$ stres dişi ve zenginleştirilmiş ortam dişi arasındaki farklılık.

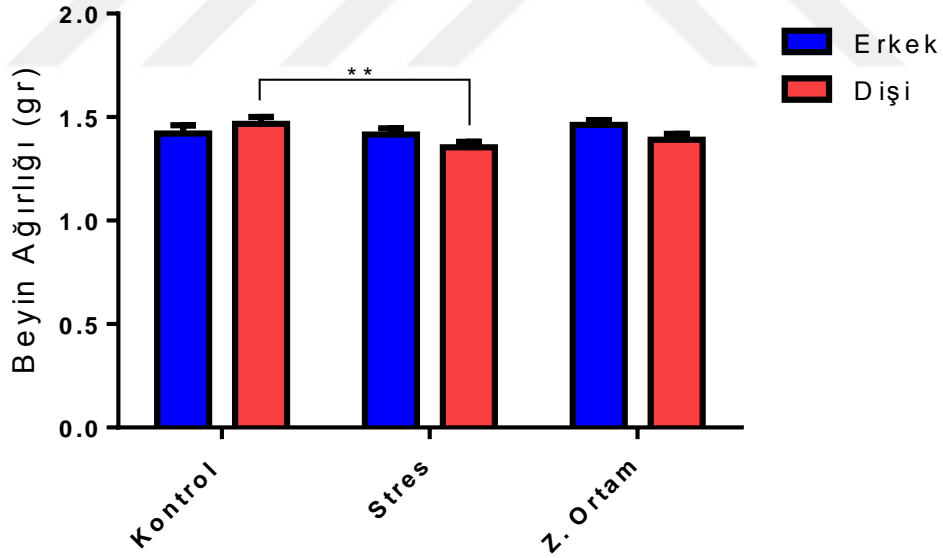
$p<0,01$ zenginleştirilmiş ortamda yetiştirilen erkek ve dişiler arasındaki farklılık.

4.3.2 – Beyin Ağırlıklarının Karşılaştırılması

Hayvanların beyin ağırlıklarının ortalama±SS değerleri Tablo 4.4’de gösterildi. Grupların iki yönlü varyans analizi ile değerlendirildiğinde gruplar ve cinsiyet faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim olduğu [$F_{(2,14)}=4,031$, $p=0,0414$] gözlemlendi. Dunn çoklu karşılaştırma testi ile yapılan incelemelerde bu farklılığın stres grubundaki dişi sıçanlarda beyin ağırlığının kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde ($p<0,05$) düşük olmasından kaynaklandığı gözlemlendi. Erkeklerde ise gruplar arasında anlamlı bir fark gözlemlenmedi (Şekil 4.4).

Tablo 4.4: Kontrol ve deney gruplarının beyin ağırlıkları

Ortalama±SS	Kontrol		Stres		Zenginleştirilmiş Ortam	
	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi
Beyin ağırlığı	1,42±0,11	1,47±0,10	1,42±0,08	1,35±0,08	1,46±0,07	1,39±0,08



Şekil 4.4: Beyin ağırlıklarının karşılaştırılması. Grafiklerde verilen değerler ortalama ± SS değerlerini göstermektedir (Her iki cinsiyet ve grup için; n=8).

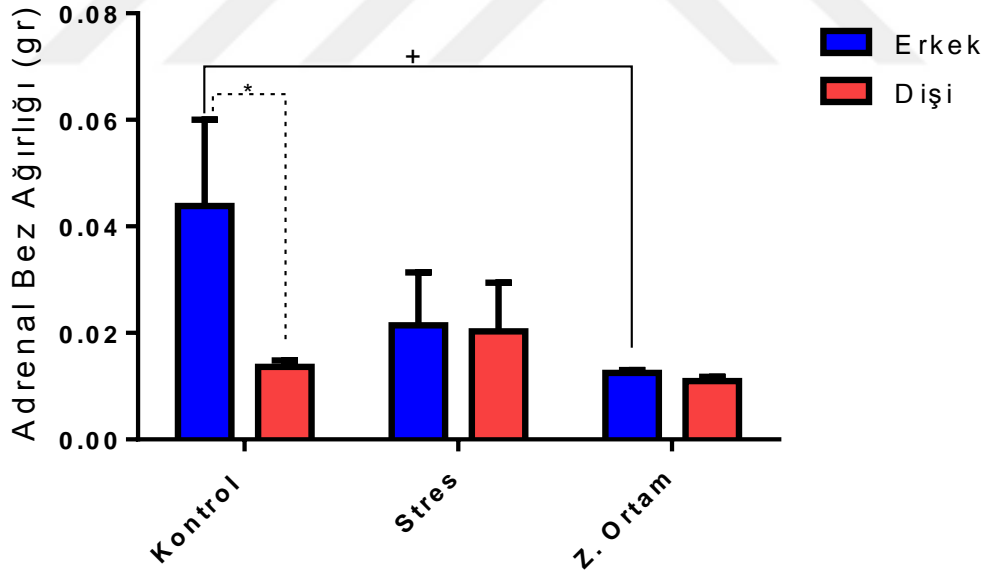
** $p<0,01$ dişilerde kontrol ve stres grubu arasındaki farklılık.

4.3.3 – Adrenal Ağırlıklarının Karşılaştırılması

Hayvanların adrenal bez ağırlıkları ortalama±SS değerleri Tablo 4.5’de gösterildi. Gruplar iki yönlü varyans analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testi ile incelendiğinde adrenal ağırlığının zenginleştirilmiş ortamda yetiştirilen erkeklerde kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde ($p<0,05$) düşük olduğu gözlemlendi. Kontrol grubundaki hayvanlarda da adrenal bez ağırlığı erkeklerde dişilere göre yüksek olmasına rağmen grup ve cinsiyet faktörleri arasında etkileşim gözlemlenmedi (Şekil 4.5).

Tablo 4.5: Kontrol ve deney gruplarının adrenal bez ağırlıkları

Ortalama±SS	Kontrol		Stres		Zenginleştirilmiş Ortam	
	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi
Adrenal Bez Ağırlığı	0,043±0,004	0,013±0,003	0,021±0,003	0,020±0,004	0,012±0,002	0,011±0,002



Şekil 4.5: Adrenal bez ağırlıklarının karşılaştırılması. Grafiklerde verilen değerler ortalama±SS değerlerini göstermektedir (Her iki cinsiyet ve grup için; n=8).

* $p<0,05$ kontrol grubunda erkek ve dişi arasındaki farklılık.

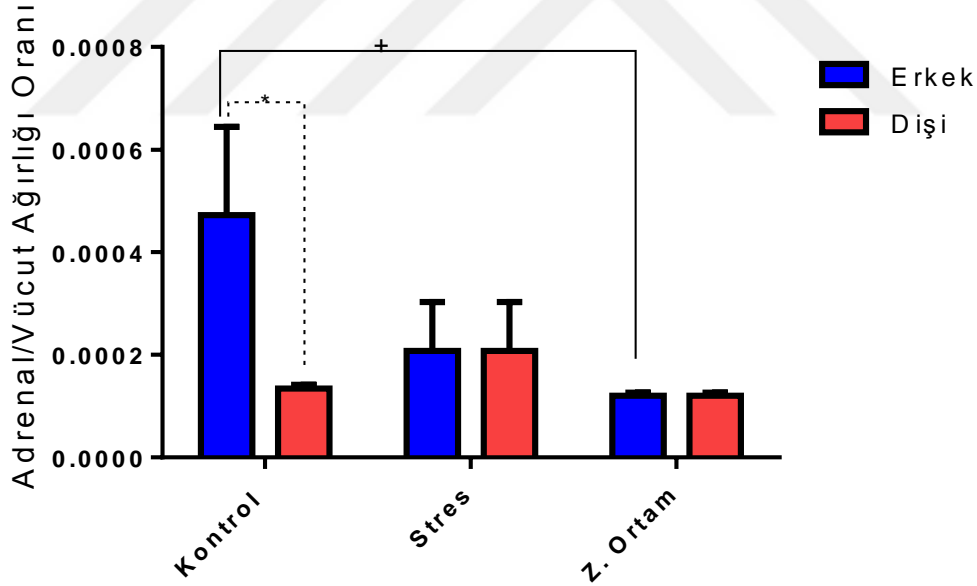
+ $p<0,05$ erkeklerde kontrol ile zenginleştirilmiş ortam grubu arasındaki farklılık.

4.3.4 – Adrenal/Vücut Ağırlığı Oranlarının Karşılaştırılması

Hayvanların adrenal bez vücut ağırlığı oranlarının ortalama±SS değerleri Tablo 4.6’de gösterildi. Gruplar iki yönlü varyans analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testi ile incelendiğinde zenginleştirilmiş ortamdaki erkeklerin adrenal bez ağırlığının vücut ağırlığına oranları kontrol grubundaki erkeklere göre anlamlı düzeyde ($p<0,05$) düşük bulundu (Şekil 4.6). Bu oran kontrol grubundaki dişilerde de erkeklere göre daha düşüktü. Yapılan analizlerden dolayı grup ve cinsiyet faktörleri arasında anlamlı etkileşim [$F_{(2,14)}=3,951$, $p=0,0436$] olduğu gözlemlendi.

Tablo 4.6: Kontrol ve deney gruplarının adrenal ağırlığının vücut ağırlığına oranı

Ortalama±SS	Kontrol		Stres		Zenginleştirilmiş Ortam	
	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi
Adrenal/Vücut Ağırlığı Oranı	0,0005± 0,00004	0,0001± 0,0001	0,0002± 0,00002	0,0002± 0,00002	0,0001± 0,00001	0,0001± 0,00001



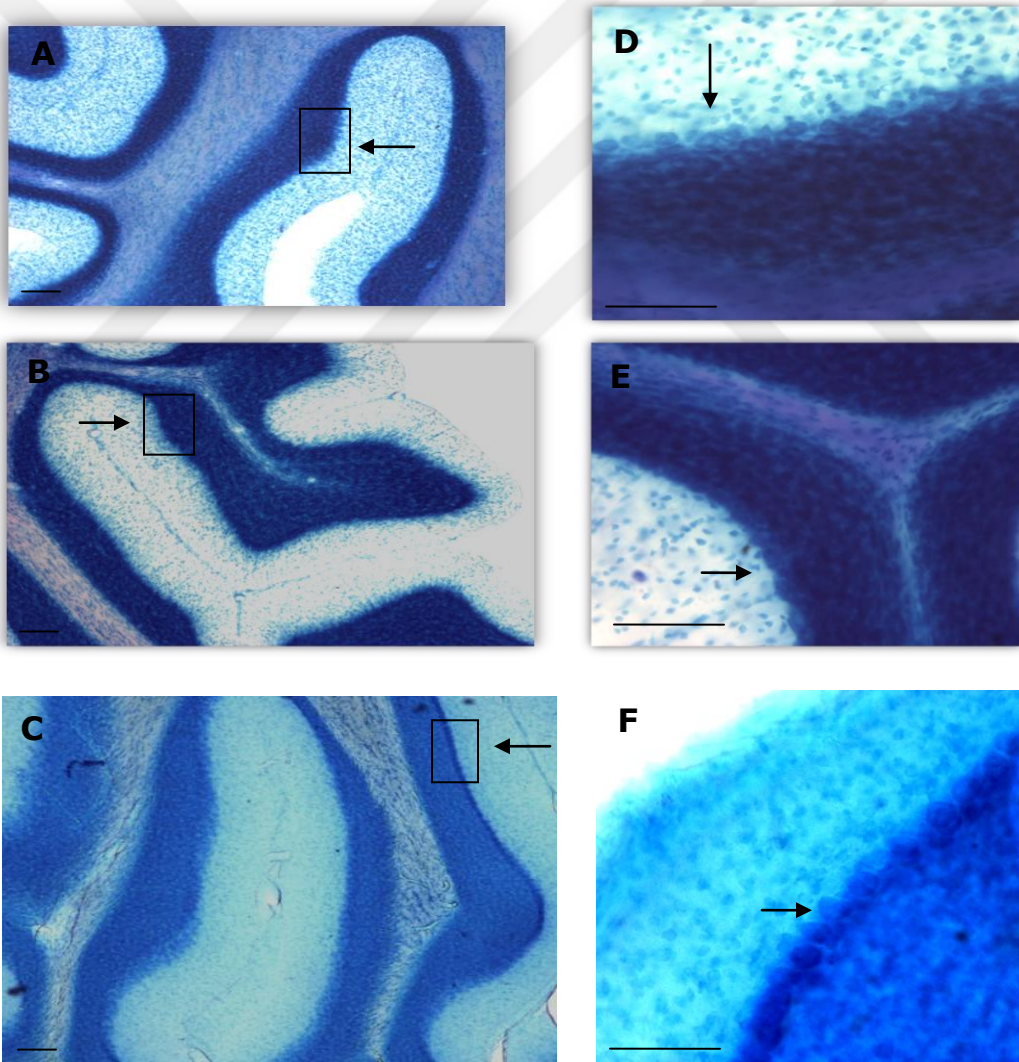
Şekil 4.6: Adrenal bez ağırlıklarının vücut ağırlığına oranının karşılaştırılması. Grafiklerde verilen değerler ortalama ± SS değerlerini göstermektedir (Her iki cinsiyet ve grup için; $n=8$).

* $p<0,05$ kontrol grubunda dişiler ve erkekler arasındaki farklılık.

+ $p<0,05$ kontrol grubundaki erkekler ve zenginleştirilmiş ortamdaki erkekler arasındaki farklılık.

4.4 – Vermis'te Birim Mesafeye Düşen Purkinje Hücre Sayılarının Karşılaştırılması

Vermis bölgesinden alınan histolojik kesitlerden elde edilen fotomikrograflar da, özellikle büyük büyütmede Purkinje hücre hattındaki hücre sayılarında farklılık görülmekteydi (Şekil 4.7). Vermis'te birim mesafeye düşen Purkinje hücre sayısının ortalama \pm SS değerleri Tablo 4.7'de gösterildi. Gruplar iki yönlü varyans analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testi ile incelendiğinde stres ve zenginleştirilmiş ortamda yetiştirilen erkeklerdeki Purkinje hücre sayısı grubu kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde ($p < 0,05$) düşük bulundu. Gruplar ve cinsiyetin ortak etkisi ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Şekil 4.8).

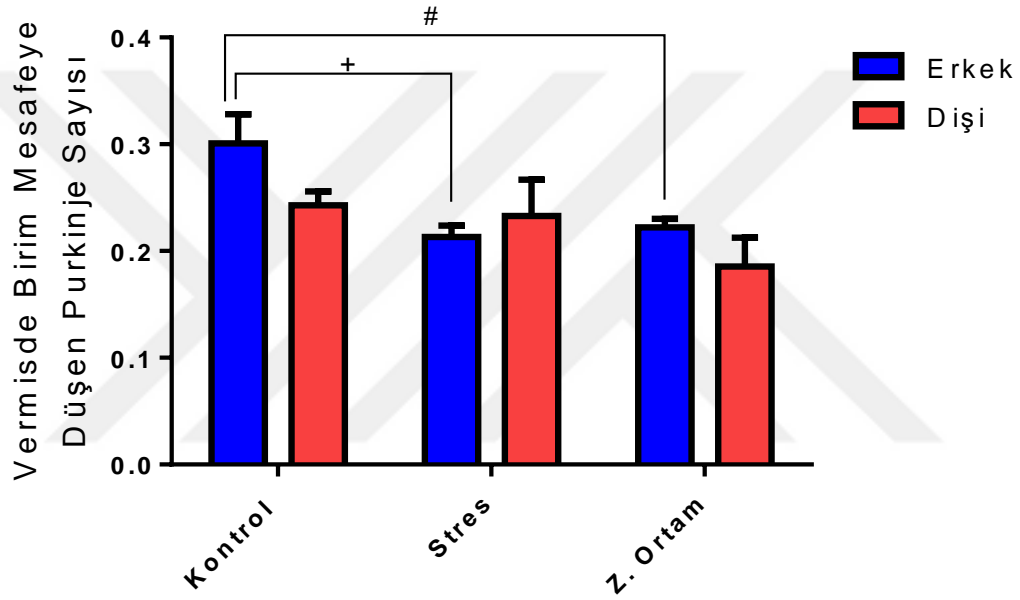


Şekil 4.7: Vermis'te birim mesafeye düşen Purkinje hücre sayılarının hesaplanmasında kullanılan fotomikrograflar.

Kontrol (A,D), Stres (B,E), Zenginleştirilmiş ortam (C,F)
Toluidin mavisi, Büyütme 10x (A,B,C) ve 40x (D,E,F).

Tablo 4.7: Vermis'te birim mesafeye düşen Purkinje hücre sayıları

Ortalama±SS	Kontrol		Stres		Zenginleştirilmiş Ortam	
	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi
Vermis'te Birim Mesafeye Düşen Purkinje Hücre Sayıları	0,301±0,07	0,243±0,03	0,213±0,03	0,233±0,10	0,222±0,02	0,185±0,08



Şekil 4.8: Vermis'te birim mesafeye düşen Purkinje hücre sayılarının karşılaştırılması. Grafiklerde verilen değerler ortalama ± SS değerlerini göstermektedir (Her iki cinsiyet ve grup için; n=8).

+ p<0,05 erkeklerde kontrol ile stres grupları arasındaki farklılık.

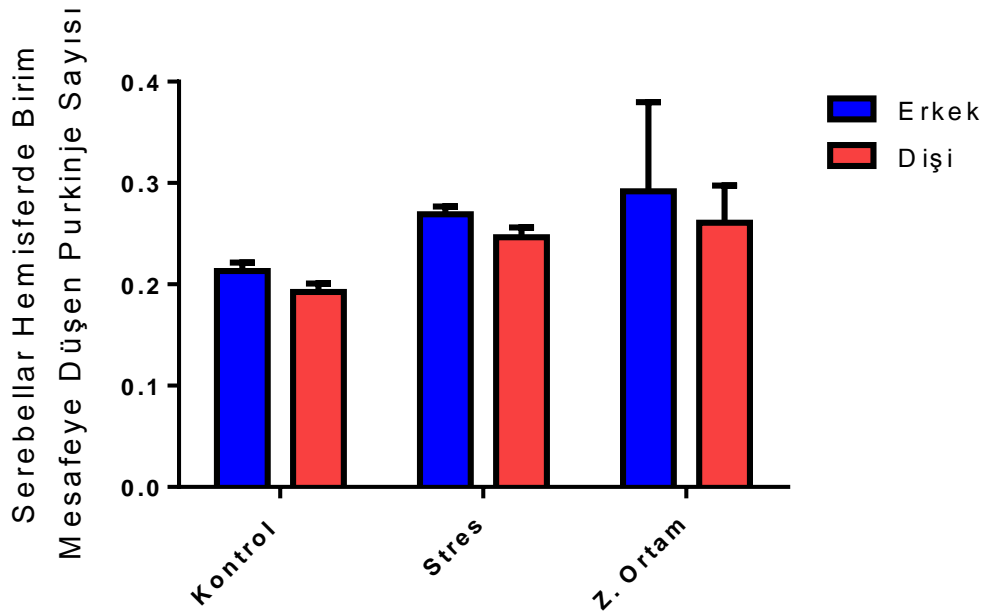
p<0,05 erkeklerde kontrol ile zenginleştirilmiş ortam grupları arasındaki farklılık.

4.5 – Serebellar Hemisferde Birim Mesafeye Düşen Purkinje Hücre Sayılarının Karşılaştırılması

Serebellar hemisferde birim mesafeye düşen Purkinje hücre sayısının ortalama \pm SS değerleri Tablo 4.8’de gösterildi. Gruplar iki yönlü varyans analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testi ile incelendiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 4.9). Ayrıca gruplar ve cinsiyet faktörleri arasında da etkileşim gözlenmedi.

Tablo 4.8: Serebellar hemisferde birim mesafeye düşen Purkinje hücre sayıları

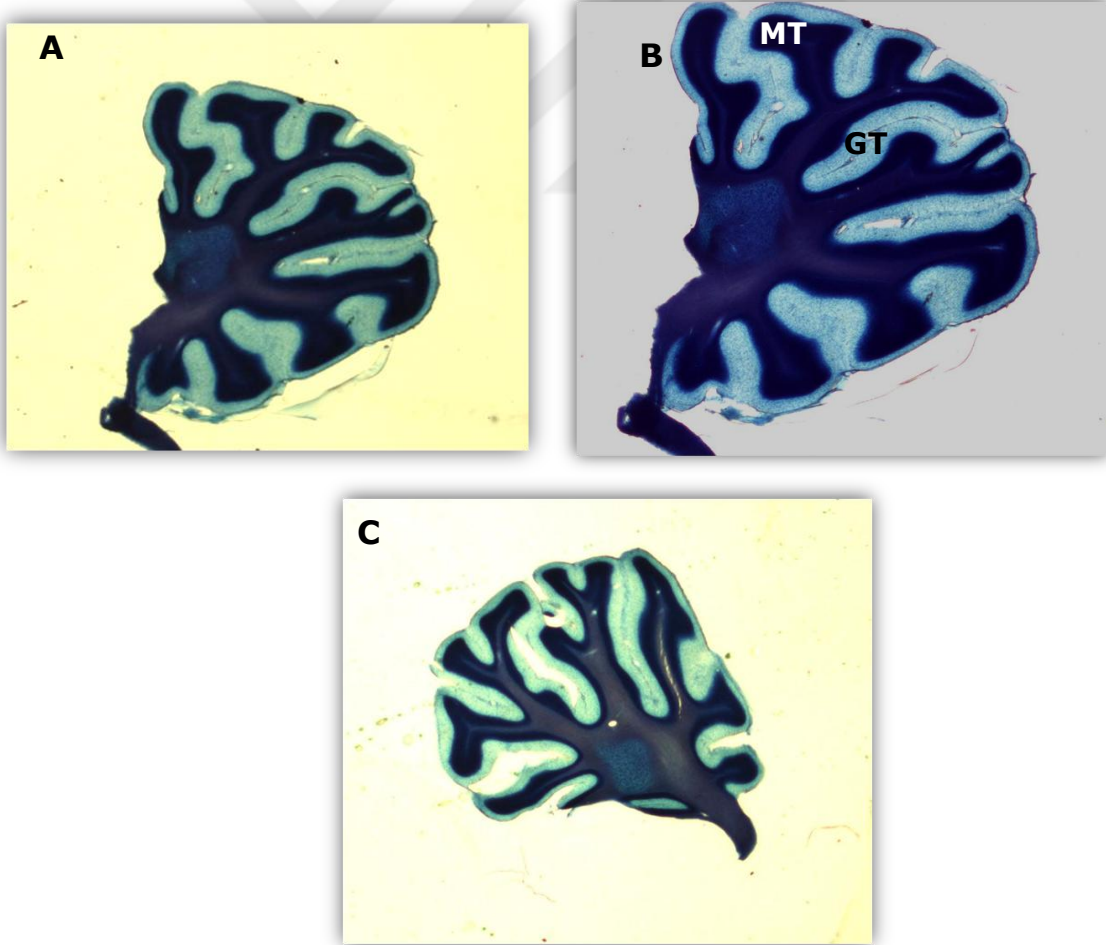
Ortalama \pm SS	Kontrol		Stres		Zenginleştirilmiş Ortam	
	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi
Serebellar Hemisferde Birim Mesafeye Düşen Purkinje Hücre Sayıları	0,213 \pm 0,02	0,193 \pm 0,02	0,269 \pm 0,02	0,246 \pm 0,02	0,292 \pm 0,02	0,261 \pm 0,03



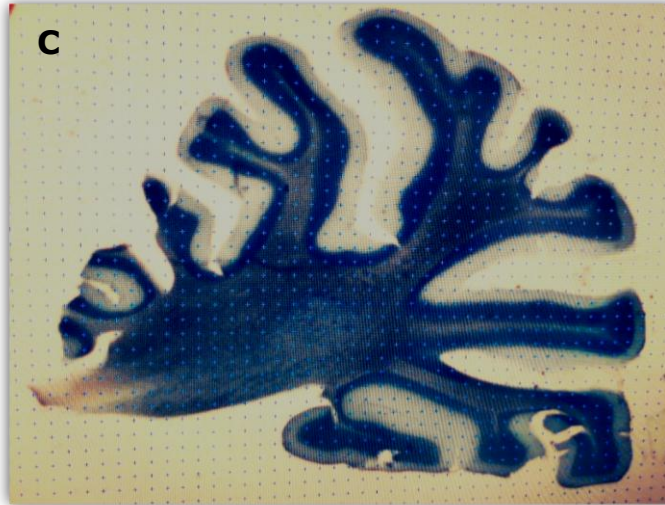
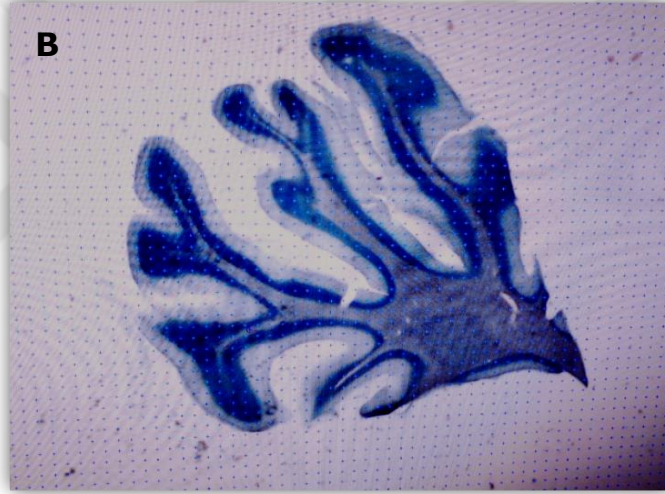
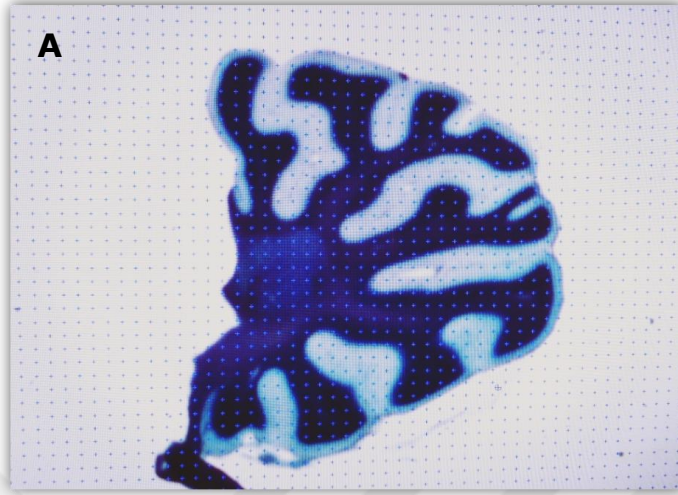
Şekil 4.9: Serebellar hemisferde birim mesafeye düşen Purkinje hücre sayılarının karşılaştırılması. Grafiklerde verilen değerler ortalama \pm SS değerlerini göstermektedir (Her iki cinsiyet ve grup için; n=8).

4.6 – Serebellar Hemisferdeki Kortikal Tabaka Hacimlerinin Karşılaştırılması

Kontrol ve deney gruplarında, serebellar korteksten alınan histolojik kesitlerde granüler ve moleküler tabaka (Şekil 4.10) hacimleri nokta sayım yöntemi (Şekil 4.11) ile hesaplandı (Tablo 4.9 ve Şekil 4.12). Serebellar hemisferde korteksin granüler tabaka hacminin moleküler tabaka hacmine oranlarının ortalama \pm SS değerleri Tablo 4.10'da gösterildi. Gruplar arasındaki farklılıklar iki yönlü varyans analizi ile incelendiğinde grup ve cinsiyet faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim olduğu gözlemlendi [$F_{(2,14)}=4,661$, $p=0,0281$]. Dunn çoklu karşılaştırma testi ile incelendiğinde kortikal tabaka hacim oranları stres ve zenginleştirilmiş ortamda yetiştirilen erkeklerde kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde ($p<0,05$) yüksek bulundu (Şekil 4.13). Aynı zamanda stres ve zenginleştirilmiş ortamda yetiştirilen hayvanlardaki hacim oranlarında da cinsiyetler arasında erkekler lehine anlamlı bir farklılık olduğu gözlemlendi.



Şekil 4.10: Serebellar hemisferden alınan histolojik kesitlerde granüler tabaka (GT) ve moleküler tabakanın (MT) görünümü. Kontrol (A), stres (B), zenginleştirilmiş ortam (C).

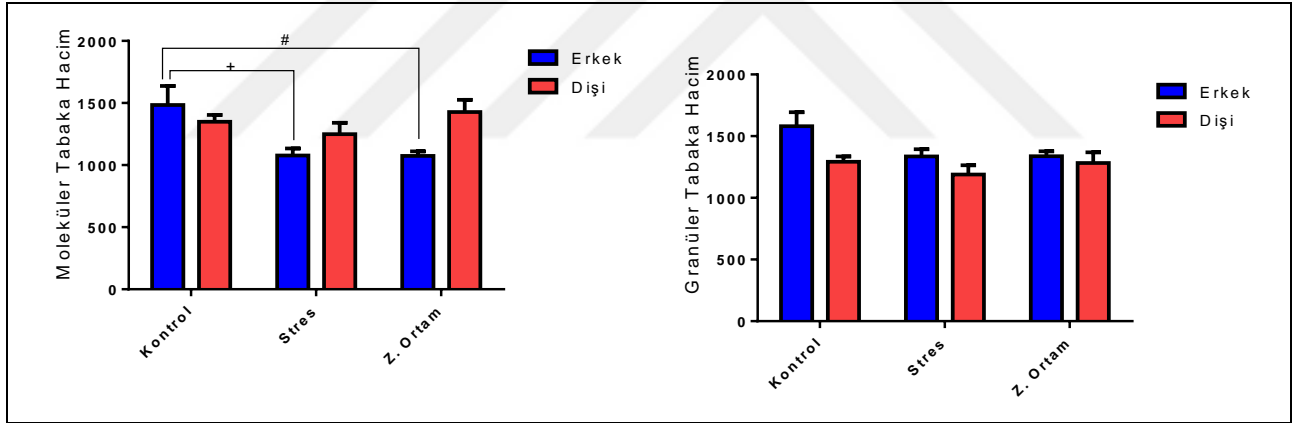


Şekil 4.11: Noktalı sayım cetveli kullanılarak kontrol (A), stres (B), zenginleştirilmiş ortam (C) grubundaki hayvanların serebellar hemisfer kesitlerinde kortikal tabaka hacimlerinin hesaplanması.

Kontrol ve deney grubu hayvanlarının moleküler ve granüler tabaka hacimlerinin ortalama \pm SS değerleri Tablo 4.9'de gösterildi. Gruplar iki yönlü varyans analizi ve Dunn oklu karşılaştırma testi ile incelendiğinde; moleküler tabaka hacimlerinin stres ve zenginleştirilmiş ortamda yetiştirilen erkeklerde kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde ($p < 0,05$) düşük olduğu bulundu. Dişilerde gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi (şekil 4.12).

Tablo 4.9: Serebellar hemisferde moleküler tabaka ve granüler tabaka hacimleri

Ortalama \pm SS	Kontrol		Stres		Zenginleştirilmiş Ortam	
	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi
Moleküler Tabaka	1483,75 \pm 433,06	1349,5 \pm 156,06	1078 \pm 156,64	1248,63 \pm 259,83	1074,75 \pm 103,54	1428,25 \pm 275,81
Granüler Tabaka	1581,38 \pm 317,21	1292,25 \pm 125,60	1336,63 \pm 162,41	1188,63 \pm 215,57	1337,88 \pm 109,78	1282,13 \pm 248,40



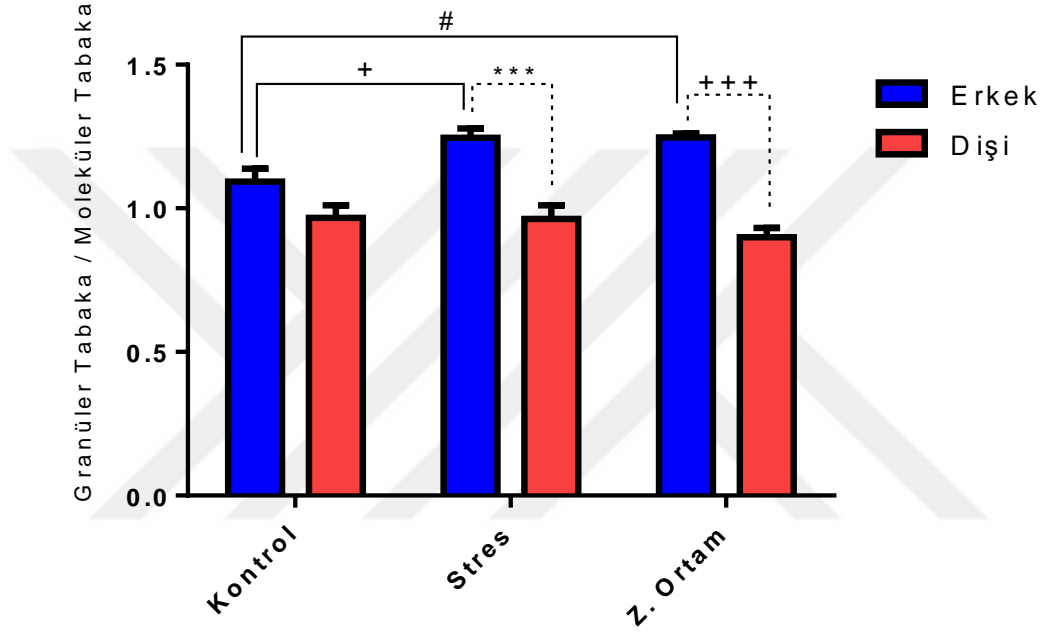
şekil 4.12: Serebellar hemisferde moleküler tabaka ve granüler tabaka hacimlerinin karşılaştırılması. Grafiklerde verilen değerler ortalama \pm SS değerlerini göstermektedir (Her iki cinsiyet ve grup için; n=8).

+ $p < 0,05$ erkeklerde kontrol ve stres grubu arasındaki farklılık.

$p < 0,05$ erkeklerde kontrol ve zenginleştirilmiş ortam grubu arasındaki farklılık.

Tablo 4.10: Serebellar hemisferde granüler tabaka/moleküler tabaka hacimlerinin oranı

Ortalama±SS	Kontrol		Stres		Zenginleştirilmiş Ortam	
	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi
Granüler Tabaka/ Moleküler Tabaka	1,09±0,12	0,97±0,12	1,25±0,09	0,96±0,13	1,25±0,04	0,90±0,09



Şekil 4.13: Serebellar hemisferde kortikal tabaka hacim oranlarının karşılaştırılması. Grafiklerde verilen değerler ortalama ± SS değerlerini göstermektedir (Her iki cinsiyet ve grup için; n=8).

+ p<0,05 erkeklerde kontrol ve stres grubu arasındaki farklılık.

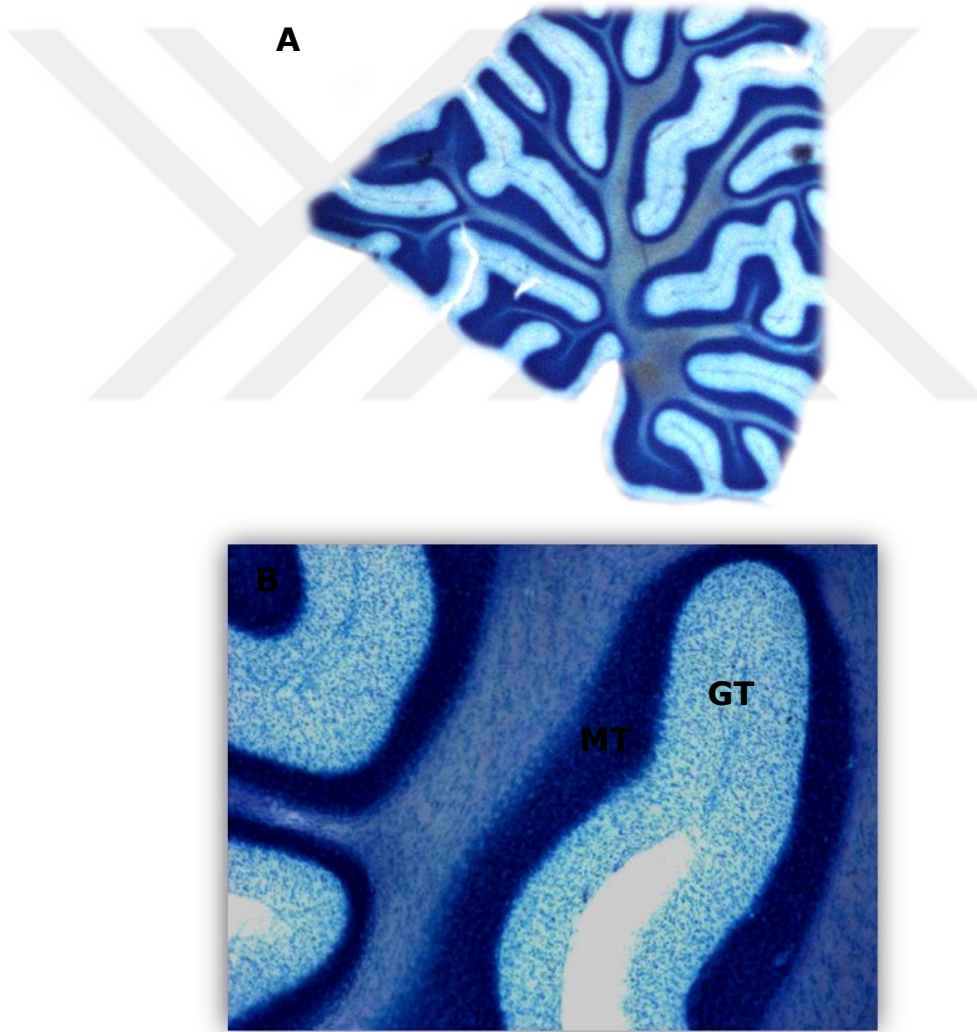
p<0,05 erkeklerde kontrol ve zenginleştirilmiş ortam grubu arasındaki farklılık.

*** p<0,001 stres grubundaki dişi ve erkekler arasındaki farklılık.

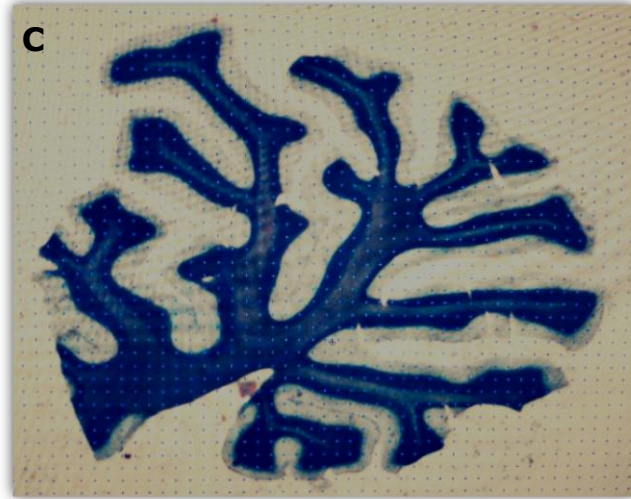
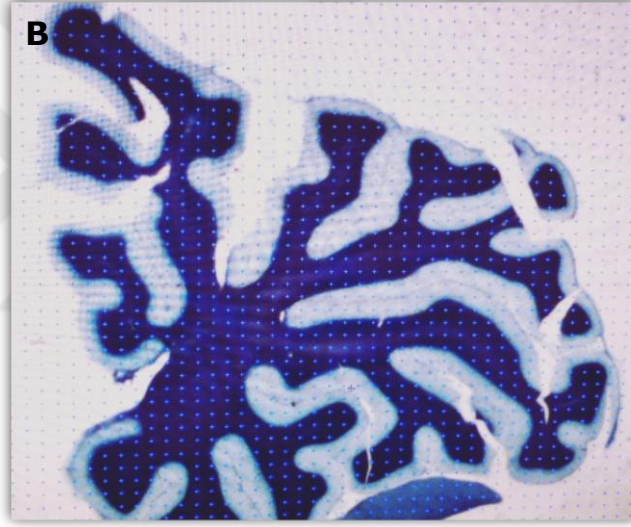
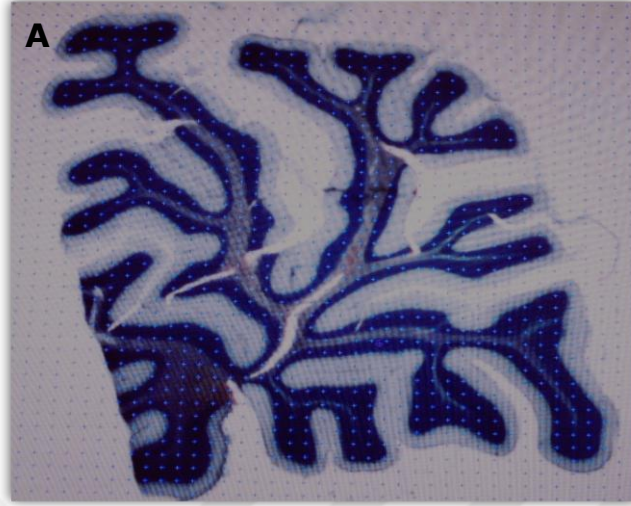
+++ p<0,001 zengin ortam grubundaki dişi ve erkekler arasındaki farklılık.

4.7 – Vermis’te Moleküler Tabaka ve Granüler Tabaka Hacimlerinin Karşılaştırılması

Vermis bölgesinden alınan histolojik kesitlerde granüler ve moleküler tabaka hacimleri nokta sayım metodu ile hesaplandı (Şekil 4.14 ve Şekil 4.15). Vermis’de granüler ve moleküler tabakaların ortalama hacimleri Tablo 4.11’de gösterildi. Gruplar iki yönlü varyans analizi ile karşılaştırıldığında hem moleküler tabaka [$F_{(2,14)}=7,984$, $p=0,049$] hem de granüler tabaka hacimleri [$F_{(2,14)}=8,643$, $p=0,0036$] açısından gruplar ve cinsiyet faktörleri arasında anlamlı farklılıklar olduğu gözlemlendi (Şekil 4.16).



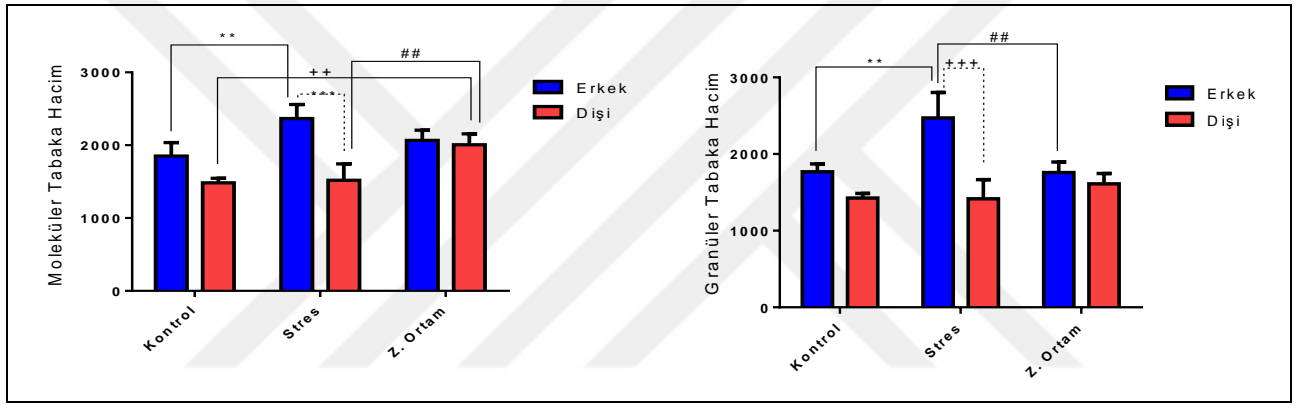
Şekil 4.14: Vermis bölgesinden alınan kesitlerde granüler tabaka (GT), moleküler tabakanın (MT) küçük (A) ve büyük büyütmedeki (B) görünümü.



Şekil 4.15: Noktalı sayım cetveli kullanarak kontrol (A), stres (B), zengin ortam (C) grubundaki hayvanların vermiş bölgesinden alınan kesitlerde kortikal tabaka hacimlerinin hesaplanması.

Tablo 4.11: Vermis'teki moleküler tabaka ve granüler tabaka hacimleri

Ortalama±SS	Kontrol		Stres		Zenginleştirilmiş Ortam	
	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi
Moleküler Tabaka	1483,13± 178,32	1851± 521,67	1518,5± 638,59	2366,5± 545,41	1612± 425,42	2065± 401,04
Granüler Tabaka	1769,88± 287,14	1425,25± 175,50	2470,5± 493,19	1416,38± 405,85	1757,88± 390,02	1612,13± 379,04



Şekil 4.16: Vermis'te moleküler tabaka ve granüler tabaka hacimlerinin karşılaştırılması. Grafiklerde verilen değerler ortalama ± SS değerlerini göstermektedir (Her iki cinsiyet ve grup için; n=8).

Moleküler tabaka için;

** p<0,01 erkeklerde kontrol ve stres grubu arasındaki farklılık.

++ p<0,01 dişilerde kontrol ve zenginleştirilmiş ortam grubu arasındaki farklılık.

p<0,01 dişilerde stres ve zenginleştirilmiş ortam grubu arasındaki farklılık.

*** p<0,001 stres grubunda erkek ve dişi arasındaki farklılık.

Granüler tabaka için;

** p<0,01 erkeklerde kontrol ve stres grubu arasındaki farklılık.

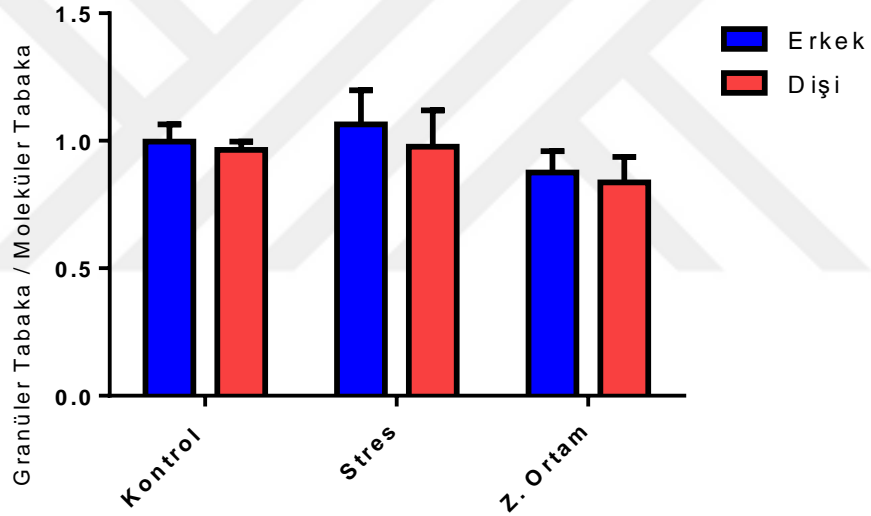
p<0,01 erkeklerde stres ve zenginleştirilmiş ortam grubu arasındaki farklılık.

+++ p<0,001 stres grubunda erkek ve dişi arasındaki farklılık.

Kontrol ve deney gruplarında vermiş hacim oranlarının ortalama değerleri Tablo 4.12’de gösterildi. Bu değerler iki yönlü varyans analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testi ile incelendiğinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Şekil 4.17).

Tablo 4.12: Vermis’te granüler tabakanın moleküler tabaka hacmine oranı

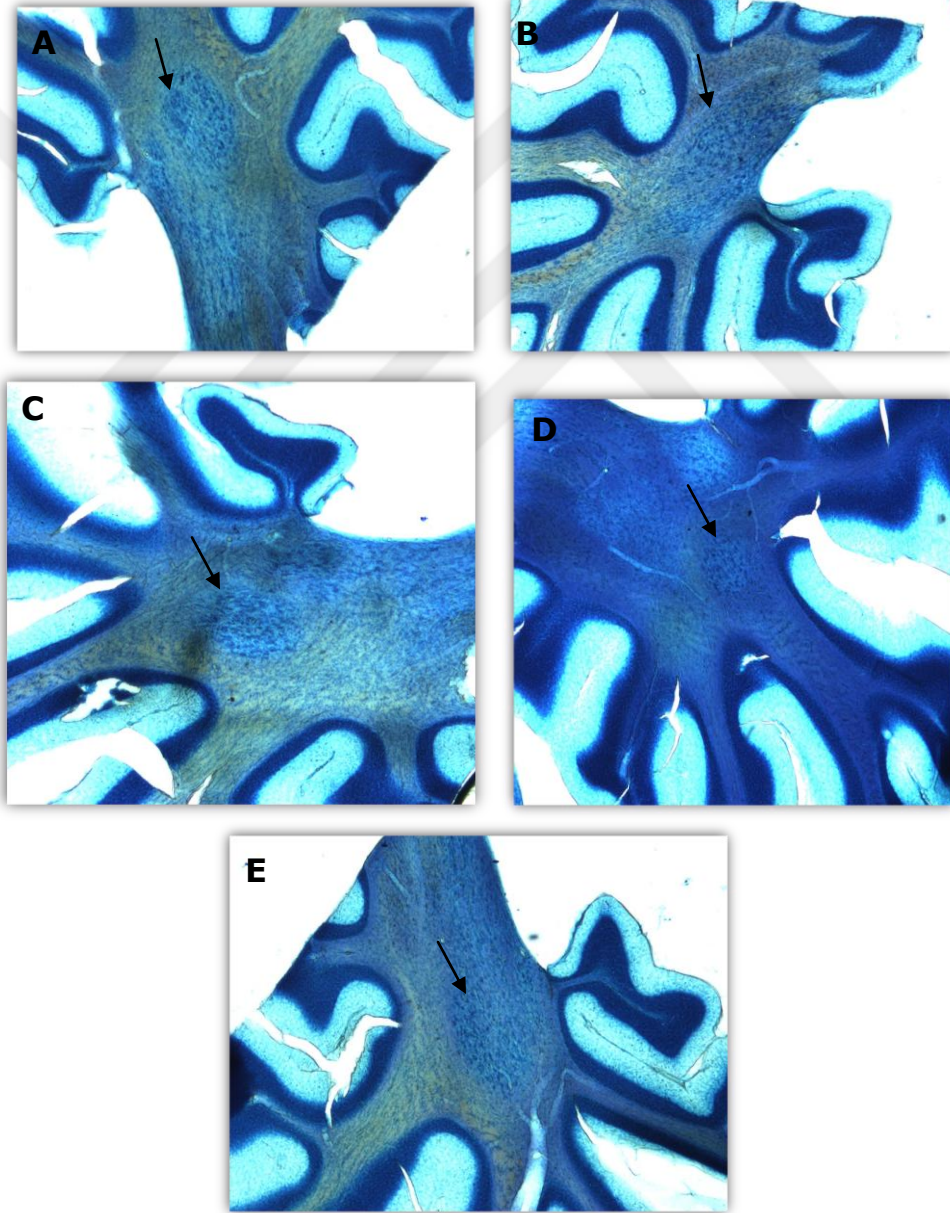
Ortalama±SS	Kontrol		Stres		Zenginleştirilmiş Ortam	
	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi
Granüler Tabaka / Moleküler Tabaka	1,00±0,19	0,96±0,09	1,06±0,38	0,98±0,40	0,86±0,24	0,84±0,28



Şekil 4.17: Vermis’te kortikal tabaka hacim oranlarının karşılaştırılması. Grafiklerde verilen değerler ortalama ± SS değerlerini göstermektedir (Her iki cinsiyet ve grup için; n=8).

4.8 – Nucleus Fastigii'deki Toplam Nöron Sayısının Karşılaştırılması

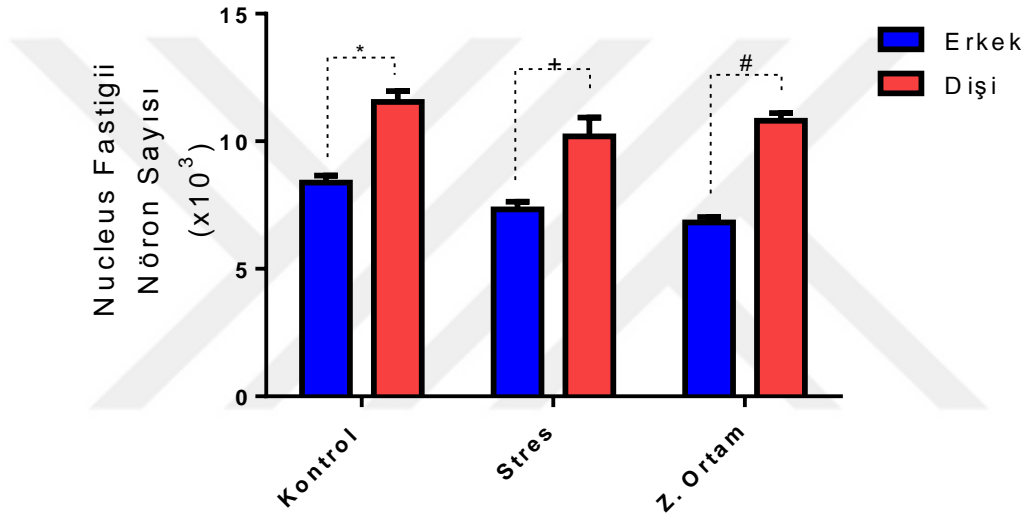
Nucleus fastigii'nin vermis'deki lokalizasyonu Şekil 4.18'de gösterilmiştir. Nucleus fastigii'deki toplam nöron sayısının ortalama \pm SS değerleri Tablo 4.13'de gösterilmiştir. Grupların verileri iki yönlü varyans analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testi ile incelendiğinde tüm gruplarda dişilerin nöron sayılarının erkeklere göre anlamlı düzeyde ($p<0,05$) yüksek olduğu, ancak gruplar arasında etkileşim olmadığı gözlemlendi (Şekil 4.19).



Şekil 4.18: Nucleus fastigii'nin görünümü. Ok işareti vermis'ten farklı seviyelerde alınan kesitlerde (A-E) nucleus fastigii'yi göstermektedir.

Tablo 4.13: Nucleus Fastigii'deki toplam nöron sayısı

Ortalama±SS	Kontrol		Stres		Zenginleştirilmiş Ortam	
	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi
Nucleus Fastigii'deki Toplam Nöron Sayısı (X10³)	8,39±0,77	11,54±1,22	7,33±0,84	10,19±2,10	6,82±0,61	10,81±0,86



Şekil 4.19: Nucleus fastigii'deki toplam nöron sayısının karşılaştırılması. Grafiklerde verilen değerler ortalama ± SS değerlerini göstermektedir. (Her iki cinsiyet ve grup için; n=8).

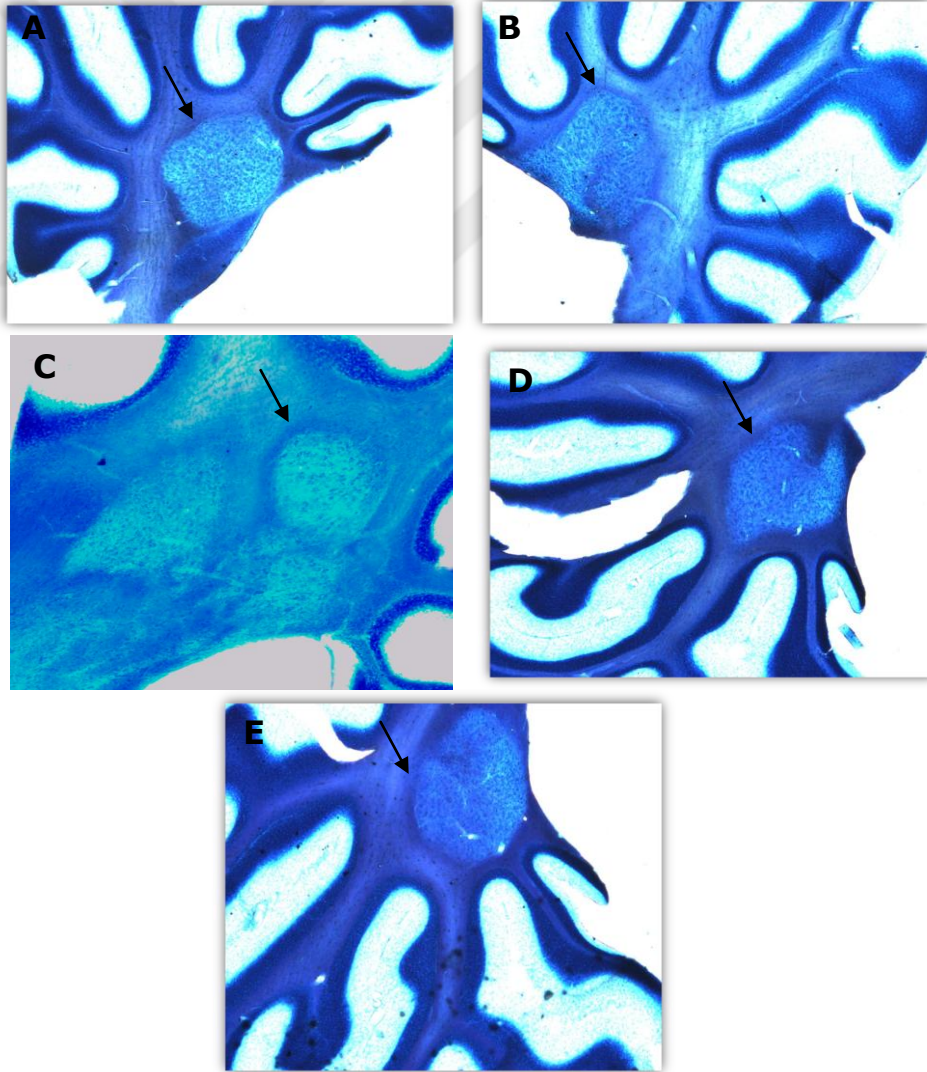
* p<0,05 kontrol grubundaki dişi ve erkekler arasındaki farklılık.

+ p<0,05 stres grubundaki dişi ve erkekler arasındaki farklılık.

p<0,05 zenginleştirilmiş ortam grubundaki dişi ve erkekler arasındaki farklılık.

4.9 – Nucleus Dentatus'taki Toplam Nöron Sayısının Karşılaştırılması

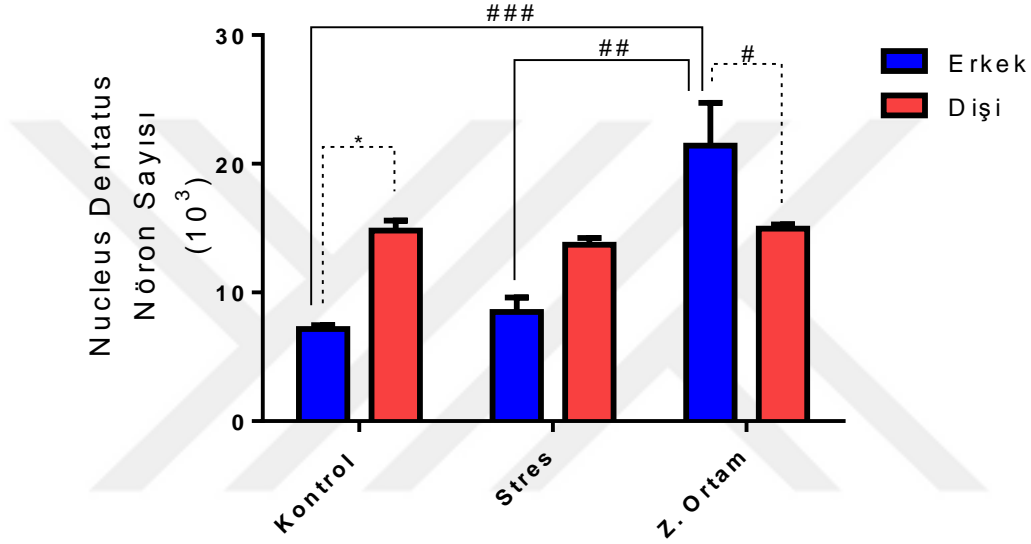
Nucleus dentatus'un serebellar hemisferdeki lokalizasyonu Şekil 4.20'de gösterilmiştir. Nucleus dentatus'taki toplam nöron sayısının ortalama \pm SS değerleri Tablo 4.14'de verilmiştir. Nucleus dentatus'taki toplam nöron sayısı iki yönlü varyans analizi ve Dunn çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldığında kontrol grubunda dişiler; zenginleştirilmiş ortam grubunda ise erkekler lehine anlamlı bir artış ($p<0,05$) gözlemlendi (Şekil 4.21). Zenginleştirilmiş ortamda yetiştirilen erkeklerin nucleus dentatus'taki toplam nöron sayıları diğer gruplardan anlamlı düzeyde daha fazlaydı. Grup ve cinsiyet faktörlerinin ortak etkisi de anlamlı bulundu [$F_{(2,14)}=11,38$, $p=0,0012$].



Şekil 4.20: Nucleus dentatus'un görünümü. Ok işareti vermiş'ten farklı seviyelerde alınan kesitlerde (A-E) nucleus dentatus'u göstermektedir.

Tablo 4.14: Nucleus Dentatus'taki toplam nöron sayısı

Ortalama±SS	Kontrol		Stres		Zenginleştirilmiş Ortam	
	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi
Nucleus Dentatus Nöron Sayısı (X10³)	7,15±0,88	14,82±2,17	8,49±3,15	13,72±1,48	21,41±9,39	14,95±0,94



Şekil 4.21: Nucleus dentatus'taki toplam nöron sayılarının karşılaştırılması. Grafiklerde verilen değerler ortalama ± SS değerlerini göstermektedir (Her iki cinsiyet ve grup için; n=8).

* p<0,05 kontrol grubunda dişiler ve erkek arasındaki farklılık.

p<0,05 zenginleştirilmiş ortam grubunda dişiler ve erkek arasındaki farklılık.

p<0,01 erkeklerde stres ve zenginleştirilmiş ortam grubu arasındaki farklılık.

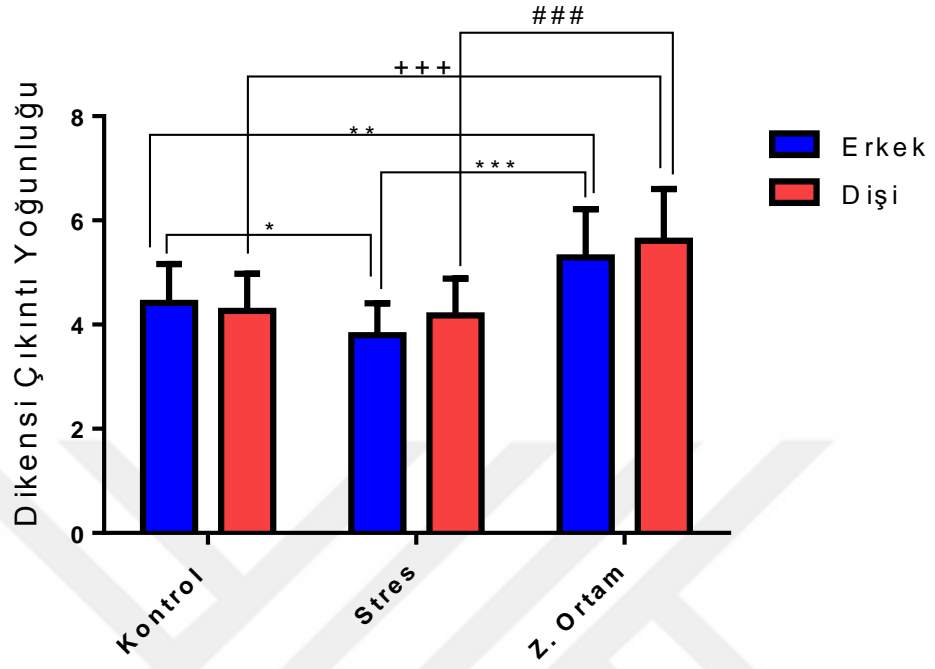
p<0,001 erkeklerde kontrol ve zenginleştirilmiş ortam grubu arasındaki farklılık.

4.10 – Dikensi Çıkıntı Yoğunluğu ve Tiplerinin Karşılaştırılması

Hem dişi hem de erkeklerde zenginleştirilmiş ortamda yetiştirilen hayvanların Purkinje hücrelerindeki dendritik dikensi çıkıntı yoğunlukları kontrol ve stres gruplarına göre anlamlı düzeyde yüksek bulundu (Şekil 4.22). Bu dikensi çıkıntılar farklı morfolojik özelliklerine göre incelendiğinde, mantarimsı, güdük, dallı ve ince tiplerdeki dikensi çıkıntılarının gruplara göre farklı oranlarda dağılım gösterdiği tespit edildi (Tablo 4.15). Mantarimsı tipteki çıkıntılar en fazla zenginleştirilmiş ortamda yetiştirilen hayvanlarda bulunurken, güdük tipteki çıkıntılar kontrol gruplarında, dallı çıkıntılar ise stres grubundaki hayvanlarda gözlemlendi (Şekil 4.23). Tüm gruplardaki dikensi çıkıntı sayılarının oranları cinsiyete göre karşılaştırıldığında dişilerdeki yüzdelerin erkeklere göre daha yüksek olduğu gözlemlendi. Ancak yapılan analizlerde grup ve cinsiyet faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim gözlemlenmedi.

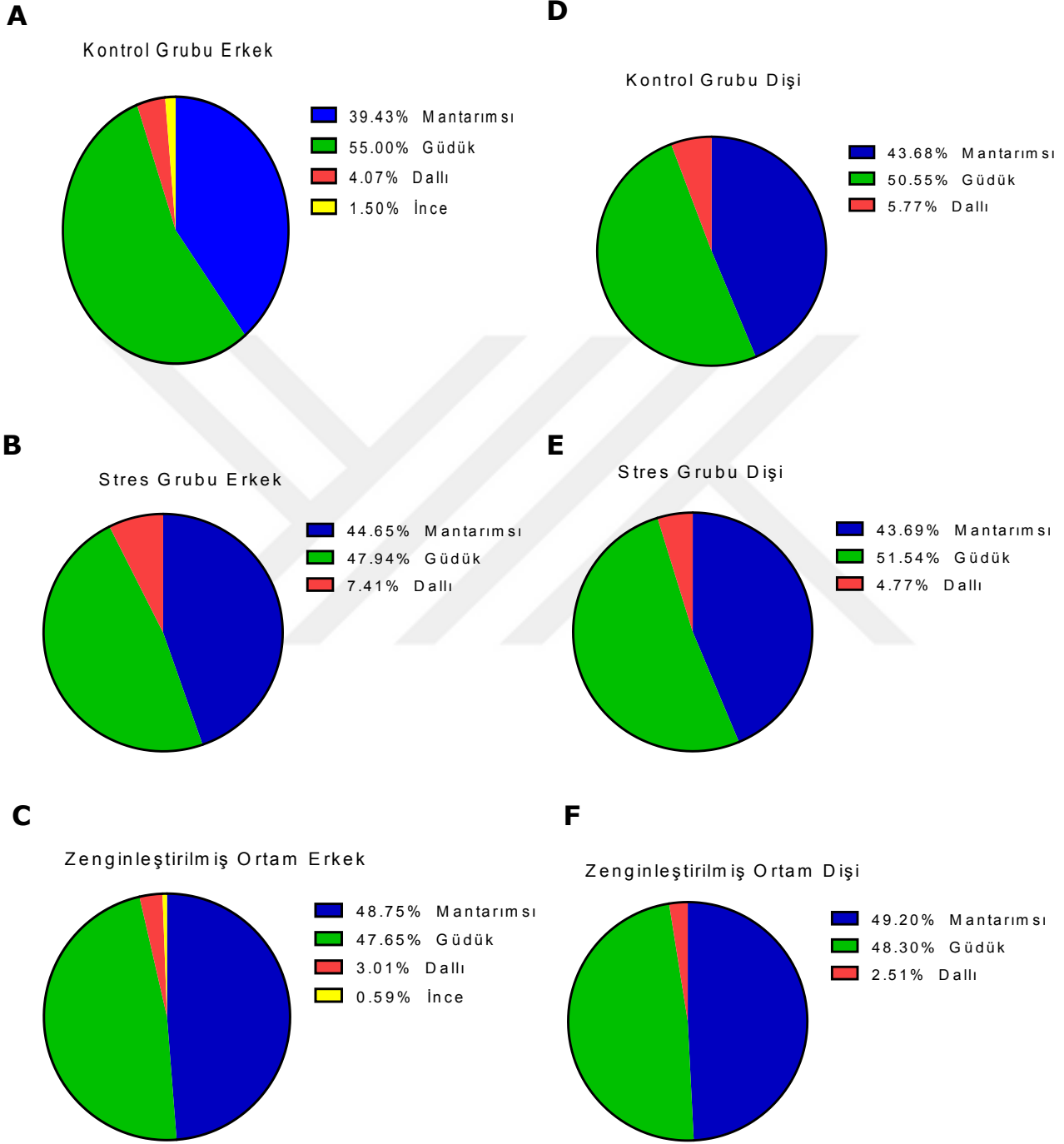
Tablo 4.15: Dikensi çıkıntı tiplerinin dağılımı

Oran (%)		Mantarimsı	Güdük	Dallı	İnce
Kontrol Grubu	Erkek	39,43	55,00	4,07	1,50
	Dişi	43,68	50,55	5,77	0
Stres Grubu	Erkek	44,65	47,94	7,41	0
	Dişi	43,69	51,54	4,77	0
Zenginleştirilmiş Ortam Grubu	Erkek	48,75	47,65	3,01	0,59
	Dişi	49,20	48,30	2,50	0



Şekil 4.22: Tüm gruplardaki dikensi çıkıntı yoğunluğu. Grafiklerde verilen değerler ortalama \pm SS değerlerini göstermektedir (Her iki cinsiyet ve grup için; n=8).

- * $p < 0,05$ erkeklerde kontrol ve stres grubu arasındaki farklılık.
- ** $p < 0,01$ erkeklerde kontrol ve zenginleştirilmiş ortam grubu arasındaki farklılık.
- +++ $p < 0,001$ dişilerde kontrol ve zenginleştirilmiş ortam grubu arasındaki farklılık.
- ### $p < 0,001$ dişilerde stres ve zenginleştirilmiş ortam grubu arasındaki farklılık.



şekil 4.23: Purkinje hücrelerindeki dikensi cıkıntı tiplerinin gruplara ve cinsiyete göre dağılımları (A-C Erkek, D-F Dişi).

5- TARTIŞMA

Merkezi sinir sistemi büyüme ve gelişme düzeyinin en fazla hız kazandığı intrauterin dönem süresince yetiştirme koşullarına karşı oldukça duyarlıdır. Nörogenezisi takiben gelişimin erken dönemlerinde kurulan sinaptik bağlantılar erişkin dönemde de gelişmeye devam ettiği için prenatal ve postnatal dönemdeki çevresel koşullar bireyin davranışsal özelliklerinin ve motor becerilerinin gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Hamilelik döneminde yavrunun yetiştirildiği ortam koşulları gelişimlerini farklı yönlerde etkileyebilmektedir (Karim & Arslan, 2000). Bu tez çalışmasında, deney hayvanları olumlu veya olumsuz çevresel koşulları modellemek üzere; E14-21 günler arasında öngörülemeyen stres paradigmasına maruziyeti takiben P1-44. günler arasında maternal seperasyon stresine veya aynı günler arasında zenginleştirilmiş ortam koşullarına maruz bırakılmıştır. Yavruların serebellar nöronlarında meydana gelen morfolojik ve motor becerilerinde meydana gelen davranışsal değişiklikler, cinsiyet faktörü de göz önünde bulundurularak, karşılaştırmalı olarak analiz edilmiş ve gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu ortaya çıkarılmıştır.

Deney gruplarında motor fonksiyonları ve koordinasyon düzeylerini ölçmeye yönelik olarak, erken ve geç evrelerde olmak üzere, iki farklı zamanda iki farklı davranış testi uygulanmıştır. Dayanıklılık ve motor beceri gerektiren bir test olan modifiye edilmiş grip testinde erken evrede yapılan ölçümlerde gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmezken, geç evrede zenginleştirilmiş çevrede yetiştirilen erkek ve dişi yavruların kontrol gruplarına göre daha yüksek skorlar elde ettiği gözlenmiştir. Motor koordinasyon düzeyini değerlendirmede kullanılan rota-rod testinde ise erken evrede, kontrol grubundaki erkek yavruların motor performansları dişilere göre daha düşük bulunmasına rağmen geç evredeki ölçümlerde gruplar veya cinsiyetler arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Deneysel bir süreç olarak "zenginleştirilmiş çevre" terimi, ilk kez 1940'ların sonunda Donald Hebb tarafından tanıtılmakla birlikte, bu zenginleştirme paradigmasının hangisinin en ideal modeli oluşturduğu konusunda halen kesin bir fikir birliği bulunmamaktadır (Nithianantharajah, 2006). Bazı çalışmalar zenginleştirilmiş ortam koşullarında bulunduran dönen tekerlek gibi aletlere erişim yoluyla arttırılan fiziksel aktivite ve motor stimülasyonun zenginleşmenin anahtar bir faktörü olduğunu öne sürmektedir. Bazı çalışmalarda ise sosyal etkileşim ve gruplar halinde yetiştirilmenin zenginleştirmede daha etkili olduğu öne sürülmektedir. Madronal ve arkadaşlarının yetişkin fareler üzerinde yaptıkları bir çalışmada, farklı zenginleştirilmiş ortamlarda yetiştirme koşullarının motor fonksiyonlar ve öğrenme kapasiteleri üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla, deney hayvanları bir ay boyunca fiziksel olarak zenginleştirilmiş bir ortamda tek

başlarına veya gruplar halinde barındırılmıştır. Bu hayvanlarda kafeslerde sadece koşu tekerleğinin kullanımı ile oluşturulan fiziksel aktivitenin rota-rod testinde performansı arttırdığı, ancak klasik koşullandırma gibi işlevler üzerinde anlamlı bir farklılığa yol açmadığı gösterilmiştir. Öte yandan sosyal etkileşimin hippokampal hücre proliferasyonunu ve nörogenezisi arttırmasına rağmen hayvanların öğrenme yetenekleri üzerinde etkili olmadığı gösterilmiştir. Bu nedenle, ortamın sadece fiziksel açıdan zenginleştirilmesi hayvanların motor performanslarını olumlu yönde etkileyebilirken, çevre koşullarına sosyal etkileşimin de eklenmesinin ilave bir pozitif etkiye neden olmadığı anlaşılmaktadır. Prenatal dönemde strese maruz kalan Wistar cinsi sıçanlarda yapılan bir çalışmada süttten kesme periyoduna kadar uygulanan standart, zenginleştirilmiş ve sosyal izolasyon koşullarının motor performans üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde dişi sıçanların rota-rod ve modifiye grip testlerinde erkeklere göre daha yüksek skorlar aldığı bulunmuştur (Ulupınar, 2015). Görüldüğü üzere, çevresel koşulların davranış deneyleri sonuçlarına etkileri yorumlanırken, ortamdaki stimulan objelerdeki varyasyonlara ek olarak, deney hayvanlarının yaş ve cinsiyetinden kaynaklanan farklılıklar mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır (Bailey, Rustay, & Crawley, 2006; Mitchell & Redfern, 2005). Bununla birlikte davranış testlerinde, gerek kontrol gerekse deney gruplarındaki hayvanların testlere verdikleri cevaplarda görülen bireysel farklılıklar çevresel koşulların etkisinin yorumlanmasında ve gruplar arası farklılıkların karşılaştırılmasında güçlüğe neden olmaktadır. Bu nedenle, deney ve kontrol gruplarındaki hayvan sayısının artırılması bireysel farklılıktan doğan hata payını daha aza indirgeyerek, daha objektif bir şekilde karşılaştırılmasına katkı sağlayacaktır.

Huntington veya amyotrofik lateral skleroz gibi motor sistemleri etkileyen bazı hastalıkları taklit eden transgenik fare modelleri üzerinde uygulanan zenginleştirilmiş çevre koşullarının da motor ve/veya bilişsel işlevlerde cinsiyete bağlı olarak artışa neden olduğu ve bu artışın dişiler lehine geliştiği gösterilmiştir (Stam ve ark., 2008; Wood ve ark., 2010). Bir başka çalışmada da rotenon adı verilen bir kimyasal ajan uygulanarak Parkinson hastalığı modeli oluşturulan sıçanlarda, koşu bandında egzersiz şeklinde uygulanan zenginleştirilmiş ortamın serebellar hücreler üzerindeki etkileri moleküler düzeyde incelenmiştir. Bu hayvanlarda egzersiz uygulamasının Bax ifade edilimi ve TUNEL-pozitif hücre sayısını, yani apoptotik hücre miktarını, baskımlarken; Bcl-2 ifade edilimini arttırdığı gösterilmiştir (Lee, Kim, Park, Han, ve ark., 2018). Aynı zamanda GFAP ve Iba-1 immünohistokimyası sonucu elde edilen bulgular cerebellum dokusunda Parkinson hastalığına bağlı olarak gelişen reaktif astrogliozis ve mikroglia aktivasyonunun da egzersiz uygulaması sonrasında gerilediğini göstermiştir. Bu sonuçlar zenginleştirilmiş çevresel koşullara bağlı olarak motor işlevlerdeki gözlenen artışın altında yatan moleküler mekanizmaların aydınlatılması açısından önem taşımaktadır.

Farklı koşullarda yetiştirilen deney hayvanlarının vücut, beyin ve adrenal ağırlıkları üzerinde yapmış olduğumuz karşılaştırmalarda; vücut ağırlıklarının gruplar arasında anlamlı bir farklılığa yol açmadığı, ancak zenginleştirilmiş ortamda yetiştirilen dişi sıçanların erkek sıçanlara göre daha düşük vücut ağırlığına sahip oldukları gözlenmiştir. Buna karşılık beyin ağırlıklarında strese maruz kalan dişi yavrularda kontrol gruplarına göre anlamlı bir düşüş olduğu gözlenmiştir. Gruplar adrenal ağırlıkları bakımından karşılaştırıldıklarında ise zenginleştirilmiş ortamda yetiştirilen erkek sıçanların adrenal ağırlıklarının kontrollere göre daha düşük olduğu bulunmuştur. Literatürde stres maruziyetinin bir göstergesi olarak kullanılan adrenal bez ağırlığının vücut ağırlığına oranı hesaplandığında, stres grubundaki dişi ve erkek yavrularda bu oranın artmış olduğu görülmüştür. Ulrich-Lai ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada kronik öngörülemez stres maruziyetinin adrenal ağırlığını arttırdığı ve bu artışın zona fasciculata'daki hücresel hipertrofi ve hiperplazi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Yvonne M. Ulrich-Lai, 2006). Bu literatür bilgileri ışığında, tez çalışmamızda kullanılan kronik öngörülemez stres paradigmasının yavruların hipotalamo-hipofizer-adrenal (HPA) aks aktivitesi üzerinde olumsuz bir etkiye yol açtığı anlaşılmaktadır. Bhatnagar ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yaptığı bir başka çalışmada akut veya tekrarlanan stres sonrasında HPA aksı aktivitesinde ve metabolik parametrelerde meydana gelen değişiklikler değerlendirilmiştir. Bu çalışma sonuçlarına göre akut stresin hem adrenokortikotrofik hormon hem de kortikosteron'da belirgin bir artışa neden olduğu, aynı zamanda yiyecek ve su alımındaki artışa paralel olarak vücut ağırlığında ve ısısında artışa neden olduğu gösterilmiştir. Oysa tekrarlanan stresin metabolik parametrelerde farklı şekillerde etkili olabileceği ve yine HPA aktivitesindeki değişikliklerin de varyasyonlar gösterebileceğine dikkat çekilmektedir (Bhatnagar S, 2006). Bu nedenle vücut ve organ ağırlıkları üzerinde meydana gelen değişiklikler çevresel etkilerin süresi ve dozuna göre değişkenlik gösterebilmektedir.

Çevresel koşullarının yavruların motor davranışlarında ve makroskobik düzeyde oluşturdıkları etkiler incelendikten sonra merkezi sinir sisteminde mikroskobik düzeyde meydana gelen değişikliklerin araştırılması amacıyla cerebellum dokusu üzerine odaklanılmıştır. Çünkü insanlarda ve sıçanlarda beynin gelişim sürecindeki kritik periyodlar karşılaştırıldığında, merkezi sinir sisteminde nörogenез periyodunun en uzun süre devam ettiği yapıların başında cerebellum gelmektedir (Rice & Barone, 2000). Bu süreç insanda hamileliğin 4. haftasından itibaren 40. haftaya kadar sürmekte ve cerebellum hacmi özellikle 20-31. haftalar arasında 7 kat artış göstermektedir. Cerebellum'un granüler tabakasındaki hücrelerin migrasyonunun postnatal dönemde ilk bir yıl boyunca sürdüğü, sinaptogenezin prenatal 7. ay ile postnatal 2. yıl gibi uzun bir süre devam ettiği gösterilmiştir (Scott ve ark., 2012). Bu gelişimsel süreçlere sıçanlarda karşılık gelen dönemler

incelendiğinde; nörolasyonun E7-E11 günleri arasında, proliferasyon ve migrasyonun E7-P15 arasında, farklılaşma ve sinaptogenezin ise E12'de başlayıp postnatal dönemde uzunca bir süre devam ettiği gösterilmiştir (Rice & Barone, 2000). Cerebellum'un bu uzun süren gelişimsel periyodu göz önünde bulundurularak, bu tez çalışmasında deney hayvanlarının farklı çevresel koşullara maruziyeti embriyonik dönemin son haftasından itibaren başlatılmış ve serebellar nöronlarda meydana gelen sinaptik değişiklikler postnatal 45. günde sakrifiye edilen hayvanlarda incelenmiştir. Bu amaçla, serebellar afferentlerin ana sonlanma bölgesi olan granüler tabakada meydana gelen değişiklikler hacimsel oran hesaplamalarıyla; cerebellum'un gelişimini erken evrede tamamlayan makronöronları olan Purkinje hücrelerinde meydana gelen değişiklikler nöronal yoğunluk ve dendritik çıkıntı tipoloji karşılaştırmalarıyla; son olarak da cerebellum'daki en önemli çıktı kaynağını oluşturan derin serebellar çekirdeklerdeki toplam nöron sayıları stereolojik yöntemlerle değerlendirilmiştir.

Vermis bölgesinden alınan histolojik kesitlerde yapılan morfometrik analizlerde granüler tabakanın moleküler tabakaya hacimsel oranlarında, gruplar arasında ve cinsiyetlere göre anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Öte yandan serebellar hemisferden alınan kesitlerde stres veya zenginleştirilmiş ortam koşullarında yetiştirilen erkek yavrularda granüler tabakanın moleküler tabakaya oranında kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gözlenmiştir. Serebellar korteks tabaka oranlarında gözlenen bu farklılık granüler tabaka hacminin değişmemesine rağmen moleküler tabaka hacmindeki anlamlı düzeyde azalmadan kaynaklandığı dikkati çekmektedir. Vermis ve serebellar hemisfer bölgelerindeki hacimsel değişiklikler filogenetik açıdan değerlendirildiğinde, gelişimini daha erken evrelerde tamamlayan vermis bölgesindeki kortikal tabaka hacimlerinin çevresel koşullardan daha az etkilendiği gözlenmektedir. Öte yandan daha kompleks bağlantılara ve yüksek kortikal işlevlere sahip hemisfer bölgelerinin gelişimi geç evrelere dek sürdüğünden bu bölgelerin, özellikle erkeklerde, çevresel koşullarda meydana gelen değişikliklere karşı daha hassas olduğu gözlenmektedir. Serebellar hemisferlerde gözlenen hacimsel değişiklikler, çevresel koşullardaki değişikliklerin bu bölgelerde bulunan nöronların yüksek kortikal merkezlerle olan sinaptik bağlantılarında azalmaya neden olmak suretiyle farklı işlevlerde bozukluklara sebep olabileceğini düşündürmektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda cerebellum'un bilişsel, dil ve davranış gibi üst düzey işlevlerde de önemli rol oynadığı ortaya çıkarılmıştır. Cerebellum'un fonksiyonel özelliklerinin medio-lateral ekseninde meydana gelen topoğrafik bir organizasyona sahip olduğu bilinmektedir. Serebellar malformasyon tanısı konan 1-6 yaş arası çocuklarda, gelişimsel yetersizliklerin toplam veya bölgesel serebellar hacimsel değişikliklerle ne derece ilişkili olduğunu araştırmak üzere yapılan bir kantitatif manyetik

rezonans taraması çalışmasında; cerebellum, bölgesel hacim analizi için yedi medio-lateral bölgeye (her yarım küre için üçer ve bir de vermis bölgesi olmak üzere) ayrılarak incelenmiştir. Serebellar malformasyonları olan çocuklarda gözlenen gelişme geriliği, ifade dili, bilişsel işlevler, kaba ve ince motor fonksiyonlardaki bozuklukların azalmış toplam serebellar hacim ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Özellikle sağ lateral serebellar hemisferdeki hacim azalmasının bozulmuş bilişsel fonksiyonlar, ifade dili ve kaba motor hareketlerde bozukluk ile ilişkili olduğu; vermis bölgesi hacmindeki azalmanın ise daha ziyade genel bir gelişim geriliği, kaba ve ince motor becerilerde bozukluk, davranış problemleri ve otizm spektrum bozukluğu tarama testlerindeki yüksek oranlar ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur (Bolduc ve ark., 2012).

Yaşları 2-10 arasında değişen 26 otizm spektrum bozukluğu olan hasta ile akran kontrolleri arasında yapılan bir başka radyolojik morfometri çalışmasında ise serebral korteksteki gri ve beyaz cevher değişikliklerine ek olarak, özellikle cerebellum ve hippocampus bölgelerinde hacim azalması olduğu gösterilmiştir. İlginç bir şekilde, kortikal gri cevher hacmindeki azalma ile cerebellum hacmindeki azalmanın korelasyon gösterdiği ortaya koyulmuştur. Bu bulgular cerebellum'un motor koordinasyondaki önemli işlevlerine ilaveten duygusal ve bilişsel işlevlerin bütünleştirilmesinde ve düzenlenmesindeki kritik işlevlerinin de önemini göstermektedir (Riva ve ark., 2013).

Şiddet maruziyeti sonrasında post-travmatik stres bozukluğu teşhisi koyulan 42 vaka üzerinde yapılan bir manyetik rezonans görüntüleme çalışmasında, vermal hacim ile depresif semptomların görülme sıklığı arasında negatif bir korelasyon olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar cerebellum'un emosyonel modülasyonda da önemli rol oynadığını ve serebellar hacimde meydana gelen azalmanın strese bağlı duygu-durum bozuklukları ve anksiyete belirtileri ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Baldacara ve ark., 2011). Bu nedenle yaşamın erken evrelerinde maruz kalınan travmatik yaşam deneyimleri özellikle cerebellum'da, özellikle de vermal bölge hacminde azalmaya yol açarak, ileri yaşlarda emosyonel bozukluklarının gelişiminde önemli bir risk faktörü oluşturabilir.

Serebellar vermis bölgesindeki kortikal tabakaların hacimsel oranlarında anlamlı bir farklılık tespit edilmemesine rağmen Purkinje hücre hattında birim uzunluğa düşen nöron sayıları hesaplandığında, stres ve zenginleştirilmiş ortamda yetiştirilen erkek yavrularda Purkinje hücre yoğunluğunun kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük olduğu bulunmuştur. Dişilerde ise gruplar arasında bir fark gözlenmemiştir. Bu bulgular hem olumlu hem de olumsuz çevresel koşulların cerebellum'un ana çıktı kaynağı olan Purkinje hücrelerinin yoğunluğu üzerinde benzer şekilde ve

cinsiyete bağımlı olarak negatif bir etkiye neden olduğuna işaret etmektedir. Cerebellum'un gelişimlerini embryonik dönemde tamamlayan makronöronları olan Purkinje hücrelerinin prenatal dönemde maruz kalınan stres koşullarından nasıl etkilendiğini araştıran önceki çalışmalarımızda, bu hücrelerin sayısal yoğunluklarının ve BrdU işaretlemesiyle gösterilen proliferasyon oranlarının artış göstermesine paralel olarak granüler hücreler ile Purkinje hücrelerinin sayısal yoğunlukları arasındaki oranların bozulduğu gösterilmiştir (Ulupinar & Yucel, 2005; Ulupinar ve ark., 2006).

Gebelik esnasında geçirilen enfeksiyonlar ve buna bağlı olarak meydana gelen maternal immün aktivasyonun yavrularda otizm spektrum bozuklukları da dahil olmak üzere çeşitli nöropsikiyatrik bozuklukların yaşam boyunca gelişme riskini arttırdığı bilinmektedir. Otizm erkeklerde kadınlara göre 3 kat fazla sıklıkta görülen bir nörogelişimsel bozukluktur. Otizm modeli fareler üzerinde yapılan bir çalışmada motor gelişim koordinasyon bozukluklarının erkeklerde daha fazla görüldüğüne ve cerebellum'un genelinde görülen Purkinje hücre sayısındaki azalmanın erkeklerde dişilere göre daha fazla olduğuna dikkat çekilmektedir. İlginç olarak motor korteksteki nöron sayısında azalmanın ise sadece erkeklerle sınırlı olduğu bildirilmektedir (Haida ve ark. 2019).

Cerebellum'un özellikle beyin iskemisine karşı da oldukça hassas olduğu bilinmekle birlikte, inme sonrasında serebellar Purkinje hücrelerinde meydana gelen kayıpların moleküler mekanizması hakkında çok az şey bilinmektedir. Serebral kortekste iskemiye bağlı olarak kan akımında ve metabolizmasında meydana gelen azalma sonrasında kontralateral serebellar hemisferde oluşan deafferensiasyonun bu kayıplarda rol oynayabileceği düşünülmektedir. Zira serebral korteksten kaynaklanan kortiko-ponto-serebellar afferent lifler pedunculus cerebellaris medius'dan geçerek çapraz serebellar hemisferdeki Purkinje hücrelerinde sonlanırlar. Farelerde yapılan bir deneysel çalışmada, orta serebral arter tıkanıklığı modeli ile oluşturulan çapraz serebellar yetmezlik fenomeninden kaynaklı serebellar hasarı azaltmak amacıyla nucleus dentatus'a düşük yoğunluklu odağa yönelik ultrasonik uyarı uygulanmıştır. Bu tedavinin uygulandığı hayvanlarda kortekste beyin ödeminin azaldığı ve iskemik dokudaki nöroimmün reaktivitedeki azalmaya paralel olarak iyileşmenin hızlandığı gösterilmiştir. Bu çalışmalar, olumsuz koşullar karşısında serebellar modülasyonda meydana getirilen değişiklikler sayesinde, Purkinje hücrelerinde nöroprotektif bir etkinin oluşturulabileceğine kanıt oluşturmaktadır (Baek ve ark., 2018).

Benzer şekilde kronik serebral hipoperfüzyona bağlı olarak mekansal navigasyon performansında gözlenen azalma ile Purkinje hücre sayısındaki düşüş arasında da anlamlı bir korelasyon olduğu bildirilmiştir. Wistar cinsi sıçanların arteria carotis communis'lerinde bilateral olarak oluşturulan bir tıkanıklık modelinde, günde bir kez 30 dakika olmak üzere 8 hafta boyunca

koşu bandı egzersizi uygulanan bir çalışmada hayvanların mekansal öğrenme düzeyleri Morris su labirent testi ile değerlendirilmiştir. Cerebellum'da meydana gelen apoptotik değişiklikler ise TUNEL (terminal deoksinükleotidil transferaz dUTP nick end etiketleme) ve kaspaz-3 boyanmasıyla, ayrıca kalsiyum bağlayıcı proteinlerin ifade edilimi calbindin ve parvalbumin ile ve son olarak da reaktif astrogliazis düzeyi glial fibril asidik protein (GFAP) immünohistokimyası ile analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, koşu bandı egzersizinin mekansal navigasyonu geliştirdiğini, serebellar vermis'te ve lobus posterior'da gözlenen Purkinje hücre kaybını önlediğini ve glial ve mikrogliyal aktivasyonu baskıladığını göstermektedir (Lee, Kim, Park, Song ve Kim, 2018).

Çevresel olumsuz koşulların bir başka sık görülen nedeni olan toksik ajan maruziyetinin cerebellum üzerindeki etkileri üzerine de çok sayıda araştırmalar yapılmıştır. Altunkaynak ve arkadaşlarının (2019) yapmış oldukları oldukça yeni bir çalışmada deney grubundaki sıçanlar, 45 gün boyunca 9 saat süreyle civa buharına maruz bırakılmıştır. Yapılan stereolojik analizlerde, cerebellum'un toplam hacminin azaldığı ve fiziksel disektör yöntemi kullanılarak hesaplanan toplam Purkinje hücre sayısının anlamlı bir düşüş gösterdiği bulunmuştur.

İçme suyuna, çeşitli gıda maddelerine ve dış macunlarına sıklıkla eklenen florür desteğinin de yüksek konsantrasyonda uygulandığı takdirde, merkezi sinir sisteminde eksitoksisiteye ve oksitatif strese neden olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Erişin Wistar sıçanlarda yapılan bir çalışmada içme suyuna farklı dozlarda (5-20 mg/vücut ağırlığı) 30 gün süreyle eklenen sodyum florür uygulamasının sıçanların cerebellum'undaki Purkinje hücre sayısı ve motor koordinasyon düzeylerindeki etkileri araştırılmıştır. Rota-rod testi sonuçlarında gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmazken, özellikle yüksek dozlardaki uygulamanın, fiziksel parçalama yöntemi ile hesaplanan Purkinje hücre sayısında anlamlı bir düşüşe neden olduğu gösterilmiştir (Agustina ve ark., 2019).

Yine bir başka nörotoksik ajan olan akrilamid'in gebeliğin 7. gününden itibaren, tek başına veya serbest radikalleri giderici ve antioksidan özellikleri iyi bilinen C vitamini ile birlikte, uygulandığı bir çalışmada, Wistar cinsi dişi yavrularda kortikal tabaka, beyaz cevher ve serebellum'daki Purkinje hücrelerinin gelişimi üzerindeki etkiler araştırılmıştır. Akrilamid uygulanan yavru sıçanların serebellar ağırlığının, granüler ve moleküler tabaka hacimlerinin ve Purkinje sayılarının azaldığı buna karşın beyaz cevher hacimlerinin arttığı gözlenmiştir. C vitamini uygulanan grupta ise sadece beyaz cevherde gözlenen değişikliklerin geri döndürülebildiği gösterilmiştir. Bu bulgulara dayanarak, hamilelikte maruz kalınan nörotoksik maddelerin serebellar gelişimi etkilediği ve prenatal dönemde maruz kalınan bu gibi

ajanların postnatal dönemde de etkilerini devam ettirdiği anlaşılmaktadır (Dortaj, Yadegari, Hosseini Sharif Abad, Abbasi Sarcheshmeh, & Anvari, 2018).

En sık maruz kalınan olumsuz çevresel koşulların başında gelen sigara ve alkol kullanımının da cerebellum'daki etkileri üzerine araştırmalar yapılmıştır. Erişkin Wistar cinsi erkek sıçanlara 57 gün boyunca değişken dozlarda uygulanan seyreltilmiş alkol ve sigara dumanının beyaz cevherde apoptozis ve astrogliozisi doza bağımlı olarak arttırırken, Purkinje sayısını azalttığı gösterilmiştir (Wallauer ve ark., 2018).

Visseral ve duysal merkezlerle oldukça yaygın bağlantılara sahip olan nucleus fastigii'de yapılan toplam nöron sayımlarında, tüm gruplarda, dişilerin nöron sayısı erkeklere göre yüksek bulunmuştur. Öte yandan ince motor hareketlerin düzenlenmesinde ve koordinasyonun sağlanmasında görev alan merkezlerle bağlantılı olan nucleus dentatus'ta yapılan stereolojik analizlerde, zenginleştirilmiş ortamda yetiştirilen erkeklerdeki toplam nöron sayıları hem kontrol hem de stres gruplarına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar yetiştirme koşulların, derin serebellar çekirdeklerdeki nöron sayıları üzerinde, cinsiyete ve filogenetik gelişime göre farklı etkiler doğurabileceğini göstermektedir.

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, nucleus fastigii'nin motor koordinasyon dışındaki farklı işlevlerinden de söz edilmektedir. Örneğin, Zhang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, nucleus fastigii'nin kardiyovasküler modülasyonda rol aldığı gösterilmektedir. Sıçanlarda nucleus fastigii'ye projekte olan kolinerjik girdi miktarı düştükçe, toplam nöron sayısındaki azalmayla bağlantılı olarak, kan basıncında da düşme olduğu bildirilmektedir (C. Zhang ve ark., 2016). Nucleus fastigii'de Sheng-Jie Ni ve arkadaşları tarafından "Reeler" adı verilen mutant fareler kullanılarak yapılan çalışmalarda serebellar korteks yapılarının tabakalaşmasında ve nöronal morfolojilerinde görülen bozukluklara paralel olarak immüno-modülasyon düzeylerinde de anormallikler olduğu gösterilmiştir (Ni, Qiu, Lu, Cao, & Peng, 2010). Anatomik takipleme çalışmaları nucleus fastigii'den kaynaklanan serebello-hipotalamik projeksiyonların (Cavdar, San, Aker, Sehirli, & Onat, 2001; Dietrichs, Haines, Roste, & Roste, 1994; Haines, Dietrichs, Mihailoff & McDonald, 1997) immünomodülasyonda etkili olduğunu göstermiştir (Hirokawa ve ark., 2001). Bu bağlantılar sayesinde nucleus fastigii bağışıklık sistemi ile ilgili işlevlerin düzenlenmesinde rol oynayabilmektedir (Ni ve ark., 2010).

Cao ve arkadaşlarının nucleus fastigii'nin serebello-hipotalamik projeksiyonları üzerinde yaptıkları araştırmalarında glutamaterjik ve GABAerjik projeksiyonların bağışıklık sistemindeki etkileri incelenmiştir. Bu amaçla lateral hipotalamik alana enjekte edilen retrograd floresan

işaretleyicilerle serebellar immünomodülasyondaki aktivite değişiklikleri değerlendirilmiştir. GABA'nın inaktivasyonu sonucunda T lenfosit hücrelerindeki proliferasyonun oranının arttığı, tam tersine GABA aktivasyonunda ise bağışıklık sistemindeki hücrelerde azalma olduğu gösterilmiştir (Cao, Huang, Jiang, Qiu, & Peng, 2015; Cao ve ark., 2013).

Nucleus fastigii'deki anormalliklerinin otizmde görülen sosyal davranış bozukluklarıyla ilişkili olup olmadığını araştırmak amacıyla deney hayvanlarına bazı sosyal etkileşim testleri de uygulanmıştır. Deney gruplarına nucleus fastigii'yi geçici olarak etkisiz hale getiren bupivakain uygulandığında, gruplar arasında lokomotor aktivitede bir değişiklik olmaksızın sosyal etkileşim düzeyinde anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir (Behnke, Stevenson, & Swain, 2018).

Golgi-Cox boyama yöntemi ile yaptığımız morfolojik analizler değerlendirildiğinde, Purkinje hücrelerindeki dikensi çıkıntı oranının, tüm gruplarda, dişilerde erkeklere kıyasla daha fazla olduğu görülmektedir. Öğrenme çıktısı olarak da adlandırılan dendritik çıkıntı tipleri arasında en kalıcısı olan mantarimsı tipteki dikensi çıkıntıların yoğunluğunun zenginleştirilmiş ortamda yetiştirilen sıçanlarda artış gösterdiği tespit edilmiştir. Mantarimsı çıkıntılar sinaptik plastisite ile güçlendirilmiş bağlantı bölgelerini temsil etmektedir (Bentivoglio ve ark., 2019). İnce çıkıntılar ise zaman içinde kaybedilme olasılığı daha yüksek olan genç, yeni oluşmuş sinaptik yapıları temsil etmektedir. İnce çıkıntılar kontrol grubunda diğer gruplara göre daha fazla bulunmuştur. Dalı çıkıntılarının stres grubunda daha fazla bulunması ve güdük çıkıntılarının kontrol grubunda fazla bulunması yetiştirme koşullarının dikensi çıkıntı tipleriyle ilişkili olduğunu göstermektedir (Ferdman, Murmu, Bock, Braun, & Leshem, 2007).

Literatürde prenatal stres modeli kullanılarak yapılan önceki çalışmalarda Purkinje hücrelerindeki dendritik dallanmaların azaldığı, ancak zenginleştirilmiş ortamda yetişen hayvanlarda bu uzantıların arborizasyon paterninin genişlediği gösterilmiştir (Pascual, Valencia, & Bustamante, 2015). Yine bir başka zenginleştirilmiş ortam çalışmasında da Purkinje hücrelerinin dendritik çıkıntı yoğunluğunda ve büyüklüklerinde artış olduğuna dikkat çekilmektedir (De Bartolo, Florenzano, Burello, Gelfo, & Petrosini, 2015). Gonzales ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada da erişkin erkek sıçanlarda uygulanan 6 günlük akrobatik motor öğrenme eğitimini takiben Purkinje hücrelerinde dendritik çıkıntı sayılarında artış ve çıkıntı tiplerinde dinamik değişiklikler gerçekleştiği gösterilmiştir (Gonzalez-Tapia D. ve ark., 2017). Bu nedenle çevresel koşullardaki değişimlere bağlı olarak modülasyon düzeyi sürekli olarak değişen uyarıcı tipteki sinaptik stimülasyonun Purkinje hücrelerinde plastik değişikliklere yol açtığı gözlenebilmektedir.

Tez çalışmamızda kullanılan Cavalieri hacim hesaplama ve optik parçalama ile toplam nöron hesaplama yöntemleri sayesinde cerebellum'da meydana gelen hacimsel ve sayısal değişiklikler hata katsayıları ile birlikte ölçülerek tarafsız bir şekilde değerlendirilmiştir. Ayrıca, toplam hacim hesaplama yöntemi için gerekli olan seri kesitlerin elde edilmesi esnasında kesit yüzeylerindeki düzensizliklerden kaynaklanabilecek hataların bertaraf edilmesi sağlanmıştır. Bu yöntemin kullanımı aynı zamanda kalın kesitlerdeki boyanma problemlerinin ve derinlikle ilgili ölçüm hatalarının da en aza indirgenmesini sağlamıştır.

Özetle, bu tez çalışmasında uygulanan erken yaşam stres modellerinin deney hayvanlarının motor davranışları üzerinde ve serebellar hücrelerin farklı morfolojik parametrelerinde cinsiyete de bağımlı olarak olumsuz etkilere yol açtığı ve zenginleştirilmiş ortam koşullarının bu etkiler üzerinde restoratif etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Cinsiyet faktörüne bağlı değişikliklerin altında yatan sebeplerin araştırılabilmesi için özellikle dişilerde farklı östrus evrelerinde yapılacak morfolojik çalışmalarla hormon düzeylerindeki farklılıkların elde edilen sonuçlar üzerinde etkili olup olmadığının teyit edilmesi gereklidir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda hedefimiz, tarafsız stereolojik yöntemler kullanılarak elde ettiğimiz bu sayısal verilerle bağlantılı moleküler mekanizmaların aydınlatılması olacaktır.

6- SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, perinatal dönemde farklı çevresel koşullarında yetiştirilen sıçanların motor becerilerinde meydana gelen değişiklikler davranış testleri ile cerebellum'daki morfolojik değişiklikler ise stereolojik analizler ile cinsiyet farklılığı da göz önünde bulundurularak değerlendirilmiştir.

Deney hayvanlarının motor koordinasyon düzeylerini değerlendirmek amacıyla uygulanan rota-rod testinde gruplar ve cinsiyetler arasında gerek erken gerekse geç evrede yapılan ölçümlerde anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Öte yandan modifiye grip testinde erken evrede gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmezken, geç evrede elde edilen veriler zenginleştirilmiş çevresel koşullarda yetiştirilen yavruların motor becerilerinin kontrol ve stres gruplarına göre daha gelişmiş olduğunu göstermiştir. Bu veriler, davranış testleri sonuçlarının değerlendirilmesinde motor beceri gerektiren parametrelerin farklı testlerle incelenmesinin ve yaş faktörünün önemine işaret etmektedir. Ayrıca davranış testlerinde bireysel farklılıklara bağlı olarak sonuçlarda meydana gelebilecek hata payının en aza indirgenmesinde denek sayısının arttırılmasının gerekliliğini göstermektedir.

Farklı koşullarda yetiştirilen deney hayvanlarının vücut, beyin ve adrenal ağırlıkları üzerinde yapılan karşılaştırmalarda da zenginleştirilmiş ortamda yetiştirilen dişi sıçanların erkek sıçanlara göre daha düşük vücut ağırlığına sahip oldukları gözlenmiştir. Buna karşılık strese maruz kalan dişi yavruların beyin ağırlıklarının kontrol gruplarına göre daha düşük olduğu gözlenmiştir. Literatürde stres maruziyetinin bir göstergesi olarak kullanılan adrenal bez ağırlığının vücut ağırlığına oranı hesaplandığında, stres grubundaki dişi ve erkek yavrularda bu oranın artmış olduğu görülmüştür. Bu sonuçlardan, çalışmamızda uygulanan stres paradigmasının yavruların hipotalamo-hipofizer-adrenal (HPA) aks aktivitesi üzerinde olumsuz bir etkiye yol açtığı anlaşılmaktadır.

Çevresel koşullarının makroskobik etkileri incelendikten sonra merkezi sinir sisteminde mikroskobik düzeyde meydana getirdiği değişiklikler cerebellum üzerine odaklanılarak araştırılmıştır. Zira cerebellum hem insanlarda hem de sıçanlarda nörogenez periyodunun en uzun süre devam ettiği yapıların başında gelmektedir. Morfometrik analiz sonuçları farklı ortam koşullarının Purkinje hücre hattında yer alan nöron sayılarında cinsiyete bağlı anlamlı değişiklikler oluşturduğunu göstermiştir. Gelişimlerini prenatal dönemde tamamlayan makronöronlar sınıfında olan Purkinje hücrelerinin vermis'te birim uzunluğa düşen sayısal yoğunlukları hem stres hem de zenginleştirilmiş ortam koşullarında yetiştirilen erkeklerde kontrol grubunda

göre anlamlı bir düşüş göstermiştir. Serebellar hemisferde yapılan ölçümlerde de moleküler tabaka hacimlerinin kontrol grubundaki erkeklerde stres ve zenginleştirilmiş ortam gruplarına kıyasla daha yüksek olduğu bulunmuştur. Dişilerde ise gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Vermal ve serebellar hemisfer bölgelerindeki hacimsel değişiklikler filogenetik açıdan değerlendirildiğinde, gelişimini daha erken evrelerde tamamlayan vermis bölgesindeki kortikal tabaka hacimlerinin çevresel koşullardan daha az etkilendiği; ancak kompleks bağlantılara ve yüksek kortikal işlevlere sahip hemisfer bölgelerinin, özellikle erkeklerde, çevresel koşullarda meydana gelen değişikliklere karşı daha hassas olduğu gözlenmektedir.

Son yıllarda otizm gibi nörogelişimsel bozukluğu olan bireylerde yapılan radyolojik görüntüleme analizleri hippocampus ve kortikal gri cevher hacmindeki azalma ile cerebellum hacmindeki azalmanın korelasyon gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. Bu bulgular cerebellum'un motor koordinasyondaki önemli işlevlerine ilaveten duygusal ve bilişsel işlevlerin bütünleştirilmesinde ve düzenlenmesindeki kritik işlevlerinin de önemini göstermektedir. Bu nedenle bundan sonra yapılacak çalışmalarda beynin prefrontal korteks, hippocampus ve motor korteks gibi diğer merkezlerinde meydana gelen değişikliklerin de incelenerek cerebellum'da gözlenen değişiklikler ile korelasyon gösterip göstermediğinin araştırılması öngörülmektedir.

Visseral ve duyuşsal merkezlerle oldukça yaygın bağlantılara sahip olan nucleus fastigii'de, oldukça güncel ve tarafsız stereolojik sayım yöntemlerin başında gelen optik parçalama yöntemi kullanarak yapılan toplam nöron sayımlarında, tüm gruplarda, dişilerin nöron sayısı erkeklere göre yüksek bulunmuştur. Öte yandan ince motor hareketlerin düzenlenmesinde ve koordinasyonun sağlanmasında görev alan merkezlerle bağlantılı olan nucleus dentatus'ta yapılan stereolojik analizlerde, zenginleştirilmiş ortamda yetiştirilen erkeklerdeki toplam nöron sayıları hem kontrol hem de stres gruplarına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar yetiştirme koşulların, derin serebellar çekirdeklerdeki nöron sayıları üzerinde, cinsiyete ve filogenetik gelişime göre farklı etkiler doğurabileceğini göstermektedir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda, farklı koşullarda yetiştirilen yavruların yaşamlarının ileri evrelerinde serebral iskemi, inflamasyon, yüksek yağlı diyet, sigara ya da alkol gibi çok farklı tiplerdeki olumsuz koşullarla karşılaşması durumunda, özellikle Purkinje hücrelerinde ve derin serebellar çekirdeklerdeki nöronlarında ne gibi ilave değişikliklerin görülebileceğinin araştırılması planlanmaktadır.

Son olarak, Golgi-Cox boyama yöntemi kullanılarak dendritik çıkıntı analizlerinde, serebellar hemisferdeki Purkinje hücrelerinin dikensi çıkıntı oranının, tüm gruplarda, dişilerde erkeklere kıyasla daha fazla olduğu görülmektedir. Öğrenme çıktısı olarak da adlandırılan dendritik çıkıntı tipleri arasında en kalıcısı olan mantarimsı tipteki dikensi çıkıntıların yoğunluğunun zenginleştirilmiş ortamda yetiştirilen sıçanlarda artış gösterdiği tespit edilmiştir. Mantarimsı çıkıntılar sinaptik plastisite ile güçlendirilmiş bağlantı bölgelerini temsil etmektedir. Zaman içinde kaybedilme olasılığı daha yüksek olan genç, yeni oluşmuş sinaptik yapıları temsil eden ince tipteki çıkıntılar ise kontrol grubunda diğer gruplara göre daha fazla bulunmuştur. Çalışmamızda dallı çıkıntıların stres grubunda, güdük çıkıntıların kontrol grubunda daha fazla bulunması; çevresel koşullardaki değişimlere bağlı olarak modülasyon düzeyi sürekli olarak değişim gösteren uyarıcı tipteki sinaptik stimülasyonun Purkinje hücrelerinde plastik değişikliklere yol açtığı bir göstergesidir.

Özetle, bu tez çalışmasında kullanılan gerek davranışsal testler, gerekse Cavalieri hacim hesaplama ve optik parçalama ile toplam nöron hesaplama gibi yöntemler sayesinde cerebellum'da meydana gelen morfolojik ve sayısal değişiklikler, hata katsayıları ile birlikte ölçülerek, hassas ve tarafsız bir şekilde değerlendirilmiştir. Sonuçlarımız erken yaşam stres modellerinin deney hayvanlarının motor davranışları üzerinde ve serebellar hücrelerin farklı morfolojik parametrelerinde cinsiyete de bağımlı olarak, olumsuz etkilere yol açtığını, ancak zenginleştirilmiş ortam koşullarının bu etkiler üzerinde restoratif etkilere sahip olduğunu göstermiştir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Agustina, F., Sofro, Z. M., & Partadiredja, G. (2019). *Subchronic Administration of High-Dose Sodium Fluoride Causes Deficits in Serebellar Purkinje Cells But Not Motor Coordination of Rats*. *Biological Trace Element Research*, 188(2): 424-433.
- Al-Afif, S., Krauss, J. K., Helms, F., Angelov, S., John, N., Schwabe, K., & Hermann, E. J. (2019). *Long-term impairment of social behavior, vocalizations and motor activity induced by bilateral lesions of the fastigial nucleus in juvenile rats*. *Brain Structure and Function*. DOI:10.1007/s00429-019-01871-3
- Alahmari, S. S., Goldgof, D., Hall, L., Phoulady, H. A., Patel, R. H., & Mouton, P. R. (2019). *Automated Cell Counts on Tissue Sections by Deep Learning and Unbiased Stereology*. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 96: 94-101.
- Altunkaynak, B. Z., Akgul, N., Yahyazedeh, A., Makaraci, E., & Akgul, H. M. (2019). *A stereological study of the effects of mercury inhalation on the cerebellum*. *Biotechnic & Histochemistry*, 94(1): 42-47.
- Alvarez, V. A., & Sabatini, B. L. (2007). *Anatomical and physiological plasticity of dendritic spines*. *Annual Review of Neuroscience*, 30: 79-97.
- Baek, H., Sariev, A., Kim, M. J., Lee, H., Kim, J., & Kim, H. (2018). *A neuroprotective brain stimulation for vulnerable serebellar Purkinje cell after ischemic stroke: a study with low-intensity focused ultrasound*. *Engineering in Medicine and Biology Society*, 2018, 4744-4747.
- Bailey, K. R., Rustay, N. R., & Crawley, J. N. (2006). *Behavioral phenotyping of transgenic and knockout mice: practical concerns and potential pitfalls*. *Ilar Journal*, 47(2): 124-131.
- Baker, S., Chebli, M., Rees, S., Lemarec, N., Godbout, R., & Bielajew, C. (2008). *Effects of gestational stress: 1. Evaluation of maternal and juvenile offspring behavior*. *Brain Research*, 1213: 98-110.
- Baldacara, L., Jackowski, A. P., Schoedl, A., Pupo, M., Andreoli, S. B., Mello, M. F., Bressan, R. A. (2011). *Reduced serebellar left hemisphere and vermal volume in adults with PTSD from a community sample*. *Journal of Psychiatric Research*, 45(12): 1627-1633.

KAYNAKLAR DİZİNİ DEVAM EDİYOR:

- Bayer, S. A., Altman, J., Russo, R. J., & Zhang, X. (1993). *Timetables of neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat*. *Neurotoxicology*, 14(1): 83-144.
- Behnke, V. K., Stevenson, M. E., & Swain, R. A. (2018). *Inactivation of the serebellar fastigial nuclei alters social behavior in the rat*. *Behavioral Neuroscience*, 132(6), 552-560.
- Bentivoglio, M., Cotrufo, T., Ferrari, S., Tesoriero, C., Mariotto, S., Bertini, G., Mazzarello, P. (2019). *The Original Histological Slides of Camillo Golgi and His Discoveries on Neuronal Structure*. *Frontiers in Neuroanatomy*, 13, 3. DOI:10.3389/fnana.2019.00003
- Bhatnagar S, V. C., Iyer V, Kinni V (2006). *Changes in hypothalamic-pituitary-adrenal function, body temperature, body weight and food intake with repeated social stress exposure in rats*. *Journal of Neuroendocrinology*, 18(1):13-24.
- Bolduc, M. E., du Plessis, A. J., Sullivan, N., Guizard, N., Zhang, X., Robertson, R. L., & Limperopoulos, C. (2012). *Regional serebellar volumes predict functional outcome in children with serebellar malformations*. *Cerebellum*, 11(2): 531-542.
- Bourne, J., & Harris, K. M. (2007). *Do thin spines learn to be mushroom spines that remember?*. *Current Opinion in Neurobiology*, 17(3): 381-386.
- Buell, S. J. (1982). *Golgi-Cox and rapid golgi methods as applied to autopsied human brain tissue: widely disparate results*. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 41(5): 500-507.
- Butts, T., Green, M. J., & Wingate, R. J. (2014). *Development of the cerebellum: simple steps to make a 'little brain'*. *Development*, 141(21): 4031-4041.
- Cao, B. B., Huang, Y., Jiang, Y. Y., Qiu, Y. H., & Peng, Y. P. (2015). *Serebellar fastigial nuclear glutamatergic neurons regulate immune function via hypothalamic and sympathetic pathways*. *Journal of NeuroImmune Pharmacology*, 10(1): 162-178.

KAYNAKLAR DİZİNİ DEVAM EDİYOR:

- Cao, B. B., Huang, Y., Lu, J. H., Xu, F. F., Qiu, Y. H., & Peng, Y. P. (2013). *Serebellar fastigial nuclear GABAergic projections to the hypothalamus modulate immune function*. *Brain, Behavior, and Immunity*, 27(1): 80-90.
- Caroni, P., Donato, F., & Muller, D. (2012). *Structural plasticity upon learning: regulation and functions*. *Nature Reviews Neuroscience*, 13(7): 478-490.
- Cavdar, S., Ozgur, M., Kuvvet, Y., Bay, H., & Aydogmus, E. (2018). *Cortical, subcortical and brain stem connections of the cerebellum via the superior and middle serebellar peduncle in the rat*. *Journal of Integrative Neuroscience*, 17(3-4): 609-618.
- Cavdar, S., San, T., Aker, R., Sehirli, U., & Onat, F. (2001). *Serebellar connections to the dorsomedial and posterior nuclei of the hypothalamus in the rat*. *Journal of Anatomy*, 198(Pt 1): 37-45.
- Cooper, J. A. (2013). *Cell biology in neuroscience: mechanisms of cell migration in the nervous system*. *The Journal of Cell Biology*, 202(5): 725-734.
- Cruz-Orive, L. M., & Weibel, E. R. (1990). *Recent stereological methods for cell biology: a brief survey*. *American Journal of Physiology*, 258(4 Pt 1): L148-156.
- Czechowska, N., van Rienen, A., Lang, F., Eiberger, B., & Baader, S. L. (2019). *An update on the Golgi staining technique improving serebellar cell type specificity*. *Histochemistry and Cell Biology*, 151(4): 327-341.
- Czeh, B., Fuchs, E., Wiborg, O., & Simon, M. (2016). *Animal models of major depression and their clinical implications*. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, (64): 293-310.
- D'Amelio, F. E. (1983). *The Golgi-Hortega-Lavilla technique, with a useful additional step for application to brain tissue after prolonged fixation*. *Stain Technology*, 58(2): 79-84.
- De Bartolo, P., Florenzano, F., Burello, L., Gelfo, F., & Petrosini, L. (2015). *Activity-dependent structural plasticity of Purkinje cell spines in serebellar vermis and hemisphere*. *Brain Structure and Function*, 220(5): 2895-2904.

KAYNAKLAR DİZİNİ DEVAM EDİYOR:

- De Carlos, J. A., & Borrell, J. (2007). *A historical reflection of the contributions of Cajal and Golgi to the foundations of neuroscience*. Brain Research Reviews, 55(1): 8-16.
- DeFelipe, J. (2002). *Sesquicentenary of the birthday of Santiago Ramon y Cajal, the father of modern neuroscience*. Trends in Neurosciences, 25(9): 481-484.
- DeFelipe, J. (2015). *The dendritic spine story: an intriguing process of discovery*. Frontiers in Neuroanatomy, 9: 14.
- Dietrichs, E., Haines, D. E., Roste, G. K., & Roste, L. S. (1994). *Hypothalamocerebellar and cerebellohypothalamic projections-circuits for regulating nonsomatic cerebellar activity?*. Histology and Histopathology 9(3): 603-614.
- Dortaj, H., Yadegari, M., Hosseini Sharif Abad, M., Abbasi Sarcheshmeh, A., & Anvari, M. (2018). *Stereological Method for Assessing the Effect of Vitamin C Administration on the Reduction of Acrylamide-induced Neurotoxicity*. Basic and Clinical Neuroscience, 9(1): 27-34.
- Elozory, D. T., Kramer, K. A., Chaudhuri, B., Bonam, O. P., Goldgof, D. B., Hall, L. O., & Mouton, P. R. (2012). *Automatic section thickness determination using an absolute gradient focus function*. Journal of Microscopy, 248(3): 245-259.
- Erzurumlu R, Şengül. G., Ulupınar E. (2018). *Nöroanatomi*, (1. Baskı), Güneş Tıp Kitapevi.
- Ferdman, N., Murmu, R. P., Bock, J., Braun, K., & Leshem, M. (2007). *Weaning age, social isolation, and gender, interact to determine adult explorative and social behavior, and dendritic and spine morphology in prefrontal cortex of rats*. Behavioural Brain Research, 180(2): 174-182.
- Fichtl, A., Buttner, A., Hof, P. R., Schmitz, C., & Kiessling, M. C. (2017). *Delineation of Subregions in the Early Postnatal Human Cerebellum for Design-Based Stereologic Studies*. Frontiers in Neuroanatomy, 11: 134.
- Gao, W., Wang, N., & Qiao, H. (2016). *The effects of 5-HT_{1B} receptor subtypes on motor behaviors mediated by cerebellar fastigial nucleus*. Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi 32(6): 550-554.

KAYNAKLAR DİZİNİ DEVAM EDİYOR:

- Garcia-Finana, M., Cruz-Orive, L. M., Mackay, C. E., Pakkenberg, B., & Roberts, N. (2003). *Comparison of MR imaging against physical sectioning to estimate the volume of human cerebral compartments*. *Neuroimage*, 18(2): 505-516.
- Garcia-Lopez, P., Garcia-Marin, V., & Freire, M. (2007). *The discovery of dendritic spines by Cajal in 1888 and its relevance in the present neuroscience*. *Progress in Neurobiology*, 83(2): 110-130.
- Glantz, L. A., & Lewis, D. A. (2000). *Decreased dendritic spine density on prefrontal cortical pyramidal neurons in schizophrenia*. *Archives Of General Psychiatry*, 57(1): 65-73.
- Gonzalez-Tapia, D., Gonzalez-Ramirez, M. M., Vazquez-Hernandez, N., & Gonzalez-Burgos, I. (2017). *Motor learning induces plastic changes in Purkinje cell dendritic spines in the rat cerebellum*. *Neurologia*. doi:10.1016/j.nrl.2017.10.007
- Gundersen, H. J. (1986). *Stereology of arbitrary particles. A review of unbiased number and size estimators and the presentation of some new ones, in memory of William R. Thompson*. *Journal of Microscopy*, 143(Pt 1): 3-45.
- Gundersen, H. J., Bagger, P., Bendtsen, T. F., Evans, S. M., Korbo, L., Marcussen, N. (1988). *The new stereological tools: disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis*. *Apmis*, 96(10): 857-881.
- Gundersen, H. J., Bendtsen, T. F., Korbo, L., Marcussen, N., Moller, A., Nielsen, K. (1988). *Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis*. *Apmis*, 96(5): 379-394.
- Gundersen, H. J., & Jensen, E. B. (1987). *The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction*. *Journal of Microscopy*, 147(Pt 3): 229-263.
- Gundersen, H. J., Jensen, E. B., Kieu, K., & Nielsen, J. (1999). *The efficiency of systematic sampling in stereology-reconsidered*. *Journal of Microscopy*, 193(Pt 3): 199-211.

KAYNAKLAR DİZİNİ DEVAM EDİYOR:

- Haida, O., Al Sagheer, T., Balbous, A., Francheteau, M., Matas, E., Soria, F., Jaber, M. (2019). *Sex-dependent behavioral deficits and neuropathology in a maternal immune activation model of autism*. *Translational Psychiatry*, 9(1): 124.
- Haines, D. E., Dietrichs, E., Mihailoff, G. A., & McDonald, E. F. (1997). *The serebellar-hypothalamic axis: basic circuits and clinical observations*. *International Review of Neurobiology*, 41, 83-107.
- Harms, K. J., & Dunaevsky, A. (2007). *Dendritic spine plasticity: looking beyond development*. *Brain Research*, 1184: 65-71.
- Harris, K. M., Jensen, F. E., & Tsao, B. (1992). *Three-dimensional structure of dendritic spines and synapses in rat hippocampus (CA1) at postnatal day 15 and adult ages: implications for the maturation of synaptic physiology and long-term potentiation*. *Journal of Neuroscience*, 12(7): 2685-2705.
- Hashimoto, M., & Hibi, M. (2012). *Development and evolution of serebellar neural circuits*. *Development, Growth & Differentiation*, 54(3), 373-389.
- He, Y. C., Wu, G. Y., Li, D., Tang, B., Li, B., Ding, Y., Wang, J. J. (2012). *Histamine promotes rat motor performances by activation of H(2) receptors in the serebellar fastigial nucleus*. *Behavioural Brain Research*, 228(1): 44-52.
- Hewitt, J. (2014). *Ultrafast spikes carry supra-kilohertz signals in the cerebellum*. *Medical Xpress*. <https://medicalxpress.com/news/2014-09-ultrafast-spikes-supra-kilohertz-cerebellum.html>.
- Holtmaat, A. J., Trachtenberg, J. T., Wilbrecht, L., Shepherd, G. M., Zhang, X., Knott, G. W., & Svoboda, K. (2005). *Transient and persistent dendritic spines in the neocortex in vivo*. *Neuron*, 45(2): 279-291.
- Hoshino, M., Nakamura, S., Mori, K., Kawauchi, T., Terao, M., Nishimura, Y. V., Nabeshima, Y. (2005). *Ptf1a, a bHLH transcriptional gene, defines GABAergic neuronal fates in cerebellum*. *Neuron*, 47(2): 201-213.
- Jaggi, A. S., Bhatia, N., Kumar, N., Singh, N., Anand, P., & Dhawan, R. (2011). *A review on animal models for screening potential anti-stress agents*. *Neurological Sciences*, 32(6): 993-1005.

KAYNAKLAR DİZİNİ DEVAM EDİYOR:

- Karim, A., & Arslan, M. I. (2000). *Isolation modifies the behavioural response in rats*. Bangladesh Medical Research Council Bulletin, 26(1): 27-32.
- Korbo, L., & Andersen, B. B. (1995). *The distributions of Purkinje cell perikaryon and nuclear volume in human and rat cerebellum with the nucleator method*. Neuroscience, 69(1): 151-158.
- Koyama, Y. (2013). *The unending fascination with the Golgi method*. OA Anatomy. <http://www.oapublishinglondon.com/article/848>
- Krebs C, A. E., Weinberg J, Dilli E. (2011). *Lippincott's Illustrated Review of Neuroscience*. 1. Wolters Kluwer.
- Lee, J. M., Kim, C. J., Park, J. M., Song, M. K., & Kim, Y. J. (2018). *Effect of treadmill exercise on spatial navigation impairment associated with serebellar Purkinje cell loss following chronic cerebral hypoperfusion*. Molecular Medicine Reports, 17(6), 8121-8128.
- Lee, J. M., Kim, T. W., Park, S. S., Han, J. H., Shin, M. S., Lim, B. V., Kim, K. H. (2018). *Treadmill Exercise Improves Motor Function by Suppressing Purkinje Cell Loss in Parkinson Disease Rats*. International Neurourology Journal, 22(3): S147-155.
- Lendvai, B., Stern, E. A., Chen, B., & Svoboda, K. (2000). *Experience-dependent plasticity of dendritic spines in the developing rat barrel cortex in vivo*. Nature, 404(6780): 876-881.
- Mancuso, J. J., Chen, Y., Li, X., Xue, Z., & Wong, S. T. (2013). *Methods of dendritic spine detection: from Golgi to high-resolution optical imaging*. Neuroscience, 251, 129-140.
- Marin-Padilla, M. (1995). *Prenatal development of fibrous (white matter), protoplasmic (gray matter), and layer I astrocytes in the human cerebral cortex: a Golgi study*. Journal of Comparative Neurology, 357(4): 554-572.
- Marin, O., Valiente, M., Ge, X., & Tsai, L. H. (2010). *Guiding neuronal cell migrations*. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2(2): a001834.
- Matus, A. (2000). *Actin-based plasticity in dendritic spines*. Science, 290(5492): 754-758.

KAYNAKLAR DİZİNİ DEVAM EDİYOR:

- Mayhew, T. M., & Gundersen, H. J. (1996). *If you assume, you can make an ass out of u and me': a decade of the disector for stereological counting of particles in 3D space*. *Journal of Anatomy*, 188 (Pt 1): 1-15.
- Mitchell, P. J., & Redfern, P. H. (2005). *Animal models of depressive illness: the importance of chronic drug treatment*. *Current Pharmaceutical Design*, 11(2): 171-203.
- Mouton, P. R., Phoulady, H. A., Goldgof, D., Hall, L. O., Gordon, M., & Morgan, D. (2017). *Unbiased estimation of cell number using the automatic optical fractionator*. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 80, A1-a8.
- Mugnaini, E., Sekerkova, G., & Martina, M. (2011). *The unipolar brush cell: a remarkable neuron finally receiving deserved attention*. *Brain Research Reviews*, 66(1-2): 220-245.
- Mulder, E. J., Robles de Medina, P. G., Huizink, A. C., Van den Bergh, B. R., Buitelaar, J. K., & Visser, G. H. (2002). *Prenatal maternal stress: effects on pregnancy and the (unborn) child*. *Early Human Development*, 70(1-2): 3-14.
- Nestler, E. J., Gould, E., Manji, H., Buncan, M., Duman, R. S., Greshenfeld, H. K., Zalcman, S. (2002). *Preclinical models: status of basic research in depression*. *Biological Psychiatry*, 52(6): 503-528.
- Ni, S. J., Qiu, Y. H., Lu, J. H., Cao, B. B., & Peng, Y. P. (2010). *Effect of serebellar fastigial nuclear lesions on differentiation and function of thymocytes*. *Journal of Neuroimmunology*, 222(1-2): 40-47.
- Nimchinsky, E. A., Sabatini, B. L., & Svoboda, K. (2002). *Structure and function of dendritic spines*. *Annual Review of Physiology*, 64: 313-353.
- Nithianantharajah, J., & Hannan, A. J. (2006). *Enriched environments, experiencedependent plasticity and disorders of the nervous system*. *Nature Reviews Neuroscience*. 7(9):697-709.
- ODACI, E. (2003). *Yeni Stereolojik Yöntemlerin Olası Hata Kaynakları ve Çözüm Yolları*. *Temel Klinik Tıp Bilimleri*. 24 (2): 95-100

KAYNAKLAR DİZİNİ DEVAM EDİYOR:

- Heimer L., Robards M.J. (1981). *Neuroanatomical Tract-Tracing Methods*. New York: Plenum Press, p311-343.
- Parnass, Z., Tashiro, A., & Yuste, R. (2000). *Analysis of spine morphological plasticity in developing hippocampal pyramidal neurons*. *Hippocampus*, 10(5): 561-568.
- Pascual, R., Valencia, M., & Bustamante, C. (2015). *Purkinje cell dendritic atrophy induced by prenatal stress is mitigated by early environmental enrichment*. *Neuropediatrics*, 46(1): 37-43.
- Patrick, G. W., & Anderson, W. J. (2000). *Dendritic alterations of serebellar Purkinje neurons in postnatally lead-exposed kittens*. *Developmental Neuroscience*, 22(4), 320-328.
- Polat Çorumlu, E., Aydın, Ö., Aydın E.G., Ulupinar E. (2015). *Effects of single-dose ketamine infusion on behavioral parameters and neuronal activation in the medial prefrontal cortex of juvenile rats exposed to prenatal stress*. 9,(3): 146-200
- Polsky, A., Mel, B. W., & Schiller, J. (2004). *Computational subunits in thin dendrites of pyramidal cells*. *Nature Neuroscience*, 7(6): 621-627.
- Ramadoss, J., Lunde, E. R., Chen, W. J., West, J. R., & Cudd, T. A. (2007). *Temporal vulnerability of fetal serebellar Purkinje cells to chronic binge alcohol exposure: ovine model*. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 31(10): 1738-1745.
- Reeber, S. L., Loeschel, C. A., Franklin, A., & Sillitoe, R. V. (2013). *Establishment of topographic circuit zones in the cerebellum of scrambler mutant mice*. *Frontiers in Neural Circuits*, 7, 122.
- 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.
- Riley, J. N. (1979). *A reliable Golgi-Kopsch modification*. *Brain Research Bulletin* 4(1): 127-129.

KAYNAKLAR DİZİNİ DEVAM EDİYOR:

- Riva, D., Annunziata, S., Contarino, V., Erbetta, A., Aquino, D., & Bulgheroni, S. (2013). *Gray matter reduction in the vermis and CRUS-II is associated with social and interaction deficits in low-functioning children with autistic spectrum disorders: a VBM-DARTEL Study*. *Cerebellum*, 12(5): 676-685.
- Rosoklija, G., Toomayan, G., Ellis, S. P., Keilp, J., Mann, J. J., Latov, N., Dwork, A. J. (2000). *Structural abnormalities of subicular dendrites in subjects with schizophrenia and mood disorders: preliminary findings*. *Archives Of General Psychiatry*, 57(4): 349-356.
- Scott, J. A., Hamzelou, K. S., Rajagopalan, V., Habas, P. A., Kim, K., Barkovich, A. J., Studholme, C. (2012). *3D morphometric analysis of human fetal serebellar development*. *Cerebellum*, 11(3): 761-770.
- Shankaranarayana Rao, B. S., Raju, T.R. (2004). *The Golgi techniques for staining neurons*. *Brain and Behavior*, 108-111.
- Shih, E. K., Sekerkova, G., Ohtsuki, G., Aldinger, K. A., Chizhikov, V. V., Hansel, C., Millen, K. J. (2015). *The Spontaneous Ataxic Mouse Mutant Tippy is Characterized by a Novel Purkinje Cell Morphogenesis and Degeneration Phenotype*. *Cerebellum*, 14(3): 292-307.
- Sillitoe, R. V. (2016). *Mossy Fibers Terminate Directly Within Purkinje Cell Zones During Mouse Development*. *Cerebellum*, 15(1): 14-17.
- Sinan Canan. (2014). *Stereoloji nedir?*. *Journal of Medical Sciences*. 24:672-680
- Snell, R. (2009). *Clinical Neuroanatomy*. (1. Baskı), *Wolters Kluwer*.
- Solveig Walløe, B. P., Katrine Fabricius. (2014). *Stereological estimation of total cell numbers in the human cerebral and serebellar cortex*. *Frontiers in Human Neuroscience*. 15 (8):508
- Soztutar, E., Colak, E., & Ulupinar, E. (2016). *Gender- and anxiety level-dependent effects of perinatal stress exposure on medial prefrontal cortex*. *Experimental Neurology*, 275 (2): 274-284.
- Spacek, J. (1992). *Dynamics of Golgi impregnation in neurons*. *Microscopy Research and Technique*, 23(4): 264-274.

KAYNAKLAR DİZİNİ DEVAM EDİYOR:

- Stam, N. C., Nithianantharajah, J., Howard, M. L., Atkin, J. D., Cheema, S. S., & Hannan, A. J. (2008). *Sex-specific behavioural effects of environmental enrichment in a transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis*. *European Journal of Neuroscience*, 28(4): 717-723.
- Stone, V., Crestani, M. S., Saccomori, A. B., Marino Dal Magro, B., Maurmann, R. M., August, P. M., Matte, C. (2019). *Gestational caloric restriction improves redox homeostasis parameters in the brain of Wistar rats: a screening from birth to adulthood*. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 67: 138-148.
- Struble, R. G., & Riesen, A. H. (1978). *Changes in cortical dendritic branching subsequent to partial social isolation in stump-tailed monkeys*. *Developmental Psychobiology*, 11(5): 479-486.
- Ulupinar, E. (2009). *Effects of prenatal stress on developmental anatomy of the brain and adult behavioural pathology*. *Anatomy*. DOI: 10.2399/ana.09.034
- Ulupinar, E., Erol, K., Ay, H., & Yucel, F. (2015). *Rearing conditions differently affect the motor performance and cerebellar morphology of prenatally stressed juvenile rats*. *Behavioural Brain Research*, 278: 235-243.
- Ulupinar, E., & Yucel, F. (2005). *Prenatal stress reduces interneuronal connectivity in the rat cerebellar granular layer*. *Neurotoxicology and Teratology* 27(3), 475-484.
- Ulupinar, E., Yucel, F., & Ortug, G. (2006). *The effects of prenatal stress on the Purkinje cell neurogenesis*. *Neurotoxicology and Teratology*, 28(1): 86-94.
- Vaishnav Krishnan, E. J. N. (2009). *The molecular neurobiology of depression*. *Nature*. 455(7215): 894-902.
- Wagner, M. J., Kim, T. H., Kadmon, J., Nguyen, N. D., Ganguli, S., Schnitzer, M. J., & Luo, L. (2019). *Shared Cortex-Cerebellum Dynamics in the Execution and Learning of a Motor Task*. *Cell*. doi:10.1016/j.cell.2019.02.019

KAYNAKLAR DİZİNİ DEVAM EDİYOR:

- Wallauer, M. M., Huf, F., Tortorelli, L. S., Rahmeier, F. L., Carvalho, F. B., Meurer, R. T., & da Cruz Fernandes, M. (2018). *Morphological changes in the cerebellum as a result of ethanol treatment and cigarette smoke exposure: A study on astrogliosis, apoptosis and Purkinje cells*. *Neuroscience Letters*, 672: 70-77.
- Watson, T. C., Becker, N., Apps, R., & Jones, M. W. (2014). *Back to front: cerebellar connections and interactions with the prefrontal cortex*. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 8, 4.
- Waxman, S. G. (2002). *Correlative Neuroanatomy*.1. International Edition.
- Williams, R. S. (1983). *Golgi's method of staining nerve cells*. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 42(2): 210-212.
- Wood, N. I., Carta, V., Milde, S., Skillings, E. A., McAllister, C. J., Ang, Y. L., Morton, A. J. (2010). *Responses to environmental enrichment differ with sex and genotype in a transgenic mouse model of Huntington's disease*. *Public Library of Science*, 5(2): 9077.
- Xu, F., Zhou, T., & Frazier, D. T. (2004). *Purkinje cell degeneration elevates eupneic and hypercapnic ventilation in rats*. *Cerebellum*, 3(3): 133-140.
- Yasumatsu, N., Matsuzaki, M., Miyazaki, T., Noguchi, J., & Kasai, H. (2008). Principles of long-term dynamics of dendritic spines. *J Neurosci*, 28(50), 13592-13608. doi:10.1523/jneurosci.0603-08.2008
- Yvonne M. Ulrich-Lai, H. F. F., Michelle M. Ostrander, Dennis C. Choi. (2006). *Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner*. *AJP Endocrinology and Metabolism*. 291,5.
- Zhang, C., Luo, W., Zhou, P., & Sun, T. (2016). *Microinjection of acetylcholine into cerebellar fastigial nucleus induces blood depressor response in anesthetized rats*. *Neuroscience Letters*, 629, 79-84.
- Zhang, Y., Bo, X., Schoepfer, R., Holtmaat, A. J., Verhaagen, J., Emson, P. C., Anderson, P. N. (2005). *Growth-associated protein GAP-43 and L1 act synergistically to promote regenerative growth of Purkinje cell axons in vivo*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*, 102(41): 14883-14888.

Ekler Dizini

EK – 1. Etik Kurul Kararı



Özgeçmiş

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı :Birce ERÇELEN
Doğum tarihi ve yeri :08.03.1990 Eskişehir
Uyruğu :TC
Medeni durumu :Bekar
İletişim adresleri :ercelenbirce@gmail.com
:Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp
Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Meşelik kampüsü, Odunpazarı,
Eskişehir

Eğitim Durumu:

- 2004 - 2008 YUNUSEMRE YABANCI DİL AĞIRLIKLILİSESİ, Diploma
Numarası: 1009 Ağırlıklı Genel Not Ortalaması: 85.93 / 100

-2009 – 2014 Lisans, Anadal/Normal Öğretim, ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ,
FEN-EDEBİYAT FAKÜLTESİ, BİYOLOJİ BÖLÜMÜ Diploma Numarası:
2014-13919 Ağırlıklı Genel Not Ortalaması: 2.51 / 4.0

-2014 - 2015 Lisans, Anadal/Normal Öğretim, ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ,
EĞİTİM FAKÜLTESİ, EĞİTİM BİLİMLERİ BÖLÜMÜ, FORMASYON EĞİTİMİ
Diploma Numarası: 2133 Ağırlıklı Genel Not Ortalaması: 2.74 / 4.0

-2016 – 2019 Yüksek Lisans, Tezli Program, ESKİŞEHİR OSMANGAZİ
ÜNİVERSİTESİ, SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, ANATOMİ (YL) Ağırlıklı
Genel Not Ortalaması: 3.67 / 4.0

-İNGİLİZCE (Okuma: Orta, Yazma: Orta, Konuşma: Orta)

Üye Olunan Bilimsel Kuruluşlar:

-FENS (Federation Of European Neuroscience Societies)
-TÜBAS (Türkiye Beyin Araştırmaları Ve Sinir Bilimleri Derneği)

Ulusal/Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler:

1. B. ERCELEN, J. BRENT, P.H. OZDINLER, E. ULUPINAR, Investigation of motor behaviors and density of lower motor neurons in rats following transfer of transgenes encoding TDP-43 using in utero electroporation, Poster ve Blitz Sunumu, Federation Of European Neuroscience Societies Regional Meeting (FENS-RM), Belgrad, 10 Temmuz 2019, 13 Temmuz 2019.

2. E. ULUPINAR, B. ERCELEN, H. A. KAPKAC, E. POLAT CORUMLU, M. ARSLANYOLU, Motor behavioral outcomes of targeted delivery of TAR-DNA binding protein-43 (TDP-43) in upper motor neurons, Poster Sunumu, Federation Of European Neuroscience Societies Regional Meeting (FENS-RM), Belgrad, 10 Temmuz 2019, 13 Temmuz 2019.

3. S. AYDIN, B. ERCELEN, Z. G. SANLI, C. KILIC, F. S. KILIC, Effects of topiramate on learning and memory in rats exposed to chronic unpredictable mild stress, Poster Sunumu, Federation Of European Neuroscience Societies Regional Meeting (FENS-RM), Belgrad, 10 Temmuz 2019, 13 Temmuz 2019.

4. F. S. KILIC, S. AYDIN, E. POLAT CORUMLU, B. ERCELEN, B. KAYGISIZ, E. ULUPINAR, Anxiety and prepulse inhibition levels of adult rats exposed to diverse rearing conditions, Poster Sunumu, Federation Of European Neuroscience Societies Regional Meeting (FENS-RM), Belgrad, 10 Temmuz 2019, 13 Temmuz 2019.

5. B. ERÇELEN, H. A. KAPKAÇ, E. POLAT ÇORUMLU, M. ARSLANYOLU, E. ULUPINAR, Viral Aracılıklı Gen Transfer Yöntemi İle Nöronlarda Proteinopatik Değişikliklere Yol Açan Bir Hayvan Modelinin Oluşturulması, Sözlü Sunum, Karadeniz Teknik Üniversitesi 17. Ulusal Sinirbilim Kongresi (USK), Trabzon, 4 Nisan 2019, 7 Nisan 2019

6. B. ERÇELEN, H.A. KAPKAÇ, M. ARSLANYOLU, E. POLAT ÇORUMLU, E. ULUPINAR, Motor Nöronlarda Hasar Oluşturmayı Hedefleyen Bir Viral Vektör Tasarımının Oluşturulması, Poster Sunumu, Karadeniz Teknik Üniversitesi 17. Ulusal Sinirbilim Kongresi (USK), Trabzon, 4 Nisan 2019, 7 Nisan 2019

7. İ. BÜYÜKGÜDÜK, E. POLAT ÇORUMLU, B. ERCELEN, E. ULUPINAR, Aşırı Şeker Tüketiminin Uzamış Strese Maruz Kalan Sıçanlardaki Sosyal Tanıma Davranışı Üzerindeki Etkileri, Poster Sunumu, Karadeniz Teknik Üniversitesi 17. Ulusal Sinirbilim Kongresi (USK), Trabzon, 4 Nisan 2019, 7 Nisan 2019

8. B. ERCELEN, Mazhar Osman: A Distinguished Scientist Who Sheded Light On The History And Future Of Neuropsychiatry In Turkey, Poster Sunumu, Karadeniz Teknik Üniversitesi 17. Ulusal Sinirbilim Kongresi (USK), Trabzon, 4 Nisan 2019, 7 Nisan 2019

9. B. ERCELEN, J. BRENT, P. H. OZDINLER OZYURT, E. ULUPINAR, A Unique Rat Model For Investigating The Motor Behavior Properties Of A Single Point Mutation In The Gene Encoding Tardna Binding Protein-43, Introduced By In Utero Electroporation, Poster Sunumu, National Neuroscience Society Of Romania (SNN), Bükreş, 18 Ekim 2018, 20 Ekim 2018.

10. B. ERCELEN, E. ULUPINAR, Effects Of Diverse Environmental Conditions On Motor Skills And Serebellar Morphology Of Rats, Sözlü Sunum, International Mediterranean Anatomy Congress (IMAC), Konya, 06 Eylül 2018, 09 Eylül 2018, 12, 2, 166 - 166.

11. B. ERCELEN, E. POLAT ÇORUMLU, E. ULUPINAR, Effects Of Postnatal Rearing Conditions On Organ Weights In Rats, Poster Sunumu, International Mediterranean Anatomy Congress (IMAC), Konya, 06 Eylül 2018, 09 Eylül 2018, 12, 2, 191 - 191.

12. N. SEMİZ, B. ERCELEN, E. ULUPINAR, Hippocampal Volume Changes Observed In Diabetic Rats, Poster Sunumu, International Mediterranean Anatomy Congress (IMAC), Konya, 06 Eylül 2018, 09 Eylül 2018, 12, 2, 220 - 220.

13. S. AYDIN, E. POLAT ÇORUMLU, B. ERCELEN, B. KAYGISIZ, F. S. KILIÇ, E. ULUPINAR, Anxiety And Prepulse Inhibition Levels Of Adult Rats Exposed To Diverse Rearing Conditions, Poster Sunumu, Federation Of European Neuroscience Societies (FENS), Berlin, 07 Temmuz 2018, 11 Temmuz 2018.

14. B. ERCELEN, E. POLAT ÇORUMLU, E. ULUPINAR, Comparison Of The Purkinje Cell Morphology Of Rats Raised In Different Environments, Poster Sunumu, Federation Of European Neuroscience Societies (FENS), Berlin, 07 Temmuz 2018, 11 Temmuz 2018.

15. S. RAGHIB, E. POLAT ÇORUMLU, B. ERCELEN, E. ULUPINAR, Effects Of Repeated Combined Stress On The Hippocampal Cells Of Rats Reared In Diverse Conditions, Poster Sunumu, Federation Of European Neuroscience Societies (FENS), Berlin,07 Temmuz 2018, 11 Temmuz 2018.

16. E. ULUPINAR, S. RAGHIB, B. ERCELEN, E. POLAT ÇORUMLU, Optimization Of The Site-directed Gene Transfer In Rats By Using In Utero Electroporation Technique, Poster Sunumu, Federation Of European Neuroscience Societies (FENS), Berlin, 07 Temmuz 2018, 11 Temmuz 2018.

17. B. ERÇELEN, E. POLAT ÇORUMLU, E. ULUPINAR, , Doğum Öncesi Ve Sonrası Koşulların Sıçanların Motor Beceri Ve Serebellar Morfolojilerine Etkileri, Poster Sunumu, İstanbul Teknik Üniversitesi 16. Ulusal Sinirbilim Kongresi (USK), İstanbul, 20 Mayıs 2018, 23 Mayıs 2018, 12, 1, 79 - 79.

18. B. ERCELEN, E. POLAT ÇORUMLU, E. ULUPINAR, Experimental Diabets Affects The Number Of Neurons In The Fastigial Nucleus Of The Rat Cerebellum, Poster Sunumu, 7th Congress Of The Serbian Neuroscience Society, Belgrad, 25 Ekim 2017, 27 Ekim 2017, 18 - 18.

19. S. RAGHIB, B. ERÇELEN, E. ULUPINAR, Sıçanlarda Hippokampal Hacimlerin Hesaplanmasında Kesit Yönteminden Kaynaklanan Farklılıkların Karşılaştırılması, Poster Sunumu, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Uluslararası Katılımlı 17. Ulusal Anatomi Kongresi, Eskişehir, 05 Eylül 2016, 09 Eylül 2016, 10, 1, S171 - S171.

Bilimsel Etkinlikler

Projeler:

-2017-2020 TÜBİTAK 1001, ARAŞTIRMACI BURSİYER, Kortikal Motor Nöronlarda Proteinopatik Hasara Neden Olan Yeni Bir Hayvan Modelinin Geliştirilmesi, Yürütülen Kuruluş: ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ (Devam ediyor) .

-2016-2019 KURUMSAL (BAP V.B.), ARAŞTIRMACI, Viral Aracılıklı Gen Transfer Yöntemi İle Sıçanlarda Oluşturulan Proteinopatik Değişikliklerin Kortikal Motor Nöronlar Üzerindeki Etkileri, Yürütülen Kuruluş: ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ.

Burslar:

-2017-2020 TÜBİTAK 1001, BURSİYER, Kortikal Motor Nöronlarda Proteinopatik Hasara Neden Olan Yeni Bir Hayvan Modelinin Geliştirilmesi, Yürütülen Kuruluş: ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ

Ödüller:

-Uluslararası, IBRO-PERC travel award for attendance to FENS-RM 2019 meeting in Serbia, Belgrad, SIRBİSTAN, 7 Nisan 2019.

-Ulusal, İkincilik, 17. Ulusal Sinir Bilim Kongresi, Poster Sunumu, Türkiye Beyin Araştırmaları ve Sinirbilimleri Derneği (TÜBAS), Trabzon, TÜRKİYE, 7 Nisan 2019.

-Uluslararası, IFAA registration fees award for attendance to in London 2019 IFAA Congress, Londra, İNGİLTERE 5 Nisan 2019.

-Uluslararası, Üçüncülük, A Unique Rat Model For Investigating The Motor Behavior Properties Of A Single Point Mutation In The Gene Encoding Tardna Binding Protein-43, Introduced By In Utero Electroporation, Poster Sunumu, National Neuroscience Society of Romanya, Bükreş, ROMANYA, 20 Ekim 2018.

Kurslar ve Eğitim Programları:

-İnsan ve Sıçan Beyninin Karşılaştırılmalı Nöroanatomi, KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

-2019 İngilizce Akademik Yazma Teknikleri, Yaşamboyu Öğrenim Uygulama ve Araştırma Merkezi (YÖMER), ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

-2019 Mavig Konfokal Mikroskop Eğitimi, GAZİ ÜNİVERSİTESİ

-2018 Gazi-Ege Bings, GAZİ ÜNİVERSİTESİ

-2017 Beyin Dokusunda Şeffaflaştırma (Clarity) ve Kompakt Organ Elektroforez Sistemi (CORES), PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ

-2016 Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ

EK – 1. Etik Kurul Kararı



T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(HADYEK)

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 20. 06. 2017
TOPLANTI SAYISI : 112
DOSYA KAYIT NUMARASI : 601
KARAR NUMARASI : 601
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ : Prof. Dr. Emel ULUPINAR
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR : Yüksek Lisans Öğrencisi Birce ERÇELEN
HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI : Spraque-Dawley (48 adet Dişi ve erkek)

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, Disiplinlerarası Sinirbilimler Anabilim Dalı Öğretim üyesi Prof. Dr. Emel ULUPINAR'ın araştırma yürütücüsü olduğu 601/2017 kayıt numaralı ve " Perinatal Dönemdeki Farklı Yetiştirme Koşullarının Motor Beceriler ve Serebellar Morfoloji Üzerindeki Etkileri " konulu çalışma; Deney Hayvanları Etik Kurulu Yönergesi'ne göre değerlendirilmiş ve gerekçede belirtildiği şekilde yapılması uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Keyser EROL (Başkan)

Prof. Dr. Kubilay UZUNER (Üye)

Prof. Dr. Hasan GÜNEŞ (Üye)

Prof. Dr. Emel ULUPINAR. (Üye)

Doç. Dr. Engin YILDIZ (Üye)

Yrd. Doç. Dr. Unal ÖZELMAS (Üye)

Yrd.Doç.Dr.Nurdan KIRIMLIOĞLU (Üye)

Vet.Hek .Yrd.Doç.Dr.Oya ERALP İNAN (Üye)

Vet. Hek. Refik ARTAN (Üye)

Avukat Şükrü KIRDEMİR (Üye)

Adres: Meşelik Yerleşkesi
26480 Eskişehir

Tel : 0 222 239 29 79 (4563)
Fax: 0 222 239 10 74