

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA KRONİK STRESİN HİPOKAMPUS DOKUSU
ÜZERİNE MORFOLOJİK ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Mehmet Deniz YENER

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Anatomi Programı için Öngördüğü BİLİM UZMANLIĞI TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

KOCAELİ
2016

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA KRONİK STRESİN HİPOKAMPUS DOKUSU
ÜZERİNE MORFOLOJİK ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Mehmet Deniz YENER

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Anatomi Programı için Öngördüğü BİLİM UZMANLIĞI TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Prof. Dr. Tuncay ÇOLAK

Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinasyon Birimi Destek Numarası: 2016/032.
Kocaeli Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu Onay Numarası: 2015/ 44

KOCAELİ
2016

EK 1. Kabul ve Onay Sayfası

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(Tez Onay Sayfası)

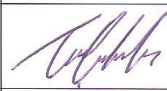


Tez adı: RATLARDA KRONİK STRESİN HİPOKAMPUS DOKUSU ÜZERİNE
MORFOLOJİK ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Tez yazarı: Mehmet Deniz YENER

Tez savunma tarihi: 03.06.2016

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Tuncay GÖLAK

İş bu çalışma Jürimiz tarafından Anabilim Dalı
Anabilim Dalı Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Sınavı jüri üyeleri Ünvanı Adı Soyadı		İmzası
Üye	Prof. Dr. Tuncay GÖLAK	
Üye	Prof. Dr. Belgin BAMAÇ	
Üye	Doç. Dr. Gülşay YEEİNOĞLU	

ONAY

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

...../...../20

Prof. Dr. Mustafa Yıldız
Enstitü Müdürü

ÖZET

Ratlarda Kronik Stresin Hipokampus Dokusu Üzerine Morfolojik Etkisinin İncelenmesi

Çalışmamızda, sıçanlarda hipokampus'un kronik strese karşı oluşturduğu morfolojik yanıtın dokunun boyutlarına ve dokunun alt birimlerindeki hücre sayılarına etkisini göstermeyi amaçlamaktayız.

Stres etkeni olarak, çalışmamızda kronik öngörülemez stres modeli kullanılmıştır. Kontrol grubunda 8 adet ve deney grubunda 9 adet olmak üzere toplam 17 adet Wistar albino türü sıçan kullanılmıştır. Deney grubuna, 8 farklı stres etkeninden oluşan stres protokolü 4 hafta süre ile uygulanmıştır. Perfüzyon işlemi uygulanmış sıçanların beyin dokuları çıkartılmış ve koronal hipokampus doku kesitleri alınmıştır. Sağ ve sol hipokampus morfolojileri ışık mikroskopisi ile histolojik olarak incelenmiştir. Hücre sayısı ve doku kalınlıkları kontrol grubu ve stres grubu arasında karşılaştırılmıştır. İstatistiksel olarak normal dağılıma uygunluk gösteren veriler için parametrik test olan bağımsız iki topluluk ortalamasına dayalı iki örneklem t testi uygulanmıştır.

Sonuç olarak, kontrol grubu ile stres grubu arasında hipokampus'un gyrus dentatus alanlarında bulunan polimorf hücre sayılarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. Sol hipokampus için stres grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında; p. 0,019 değeri ile stres grubundaki hipokampus hücre sayılarında anlamlı fark ve artış bulunmaktadır. Sağ hipokampus alanları için çalışma grupları karşılaştırıldığında; p. 0,021 değeri ile stres grubundaki hayvanların gyrus dentatus bölgesindeki hücre sayıları arasında anlamlı istatistiksel fark bulunmaktadır.

Kronik öngörülemez stres modeli ile hipokampus'un gyrus dentatus bölgesinde bulunan hücre sayıları arasında istatistiksel bir ilişki bulunmaktadır. İlgili stres model, sıçanların hem sağ hem de sol gyrus dentatus bölgelerinde polimorfik hücre sayılarında artışa sebep olmaktadır.

Anahtar kelimeler: stres, hipokampus, hücre sayısı.

SUMMARY

Investigation of Morphological Effects Of Chronic Stress on The Hippocampus Tissue in Rats

In our study, we aim to show the impact of the size of the tissue and the number of tissue subunits cells of morphologic response which generated against chronic stress in the hippocampus of rats.

As a stress factor in our study, chronic unpredictable stress model is used. In the control group 8 pieces and in the experimental group 9 pieces for a total of 17 Wistar albino rats were used. The experimental group was administered with the stress protocol with 8 different stress factors for 4 weeks. The brain tissue of perfusion procedure applied rats was removed and coronal hippocampal tissue sections were taken. The right and left hippocampal morphology were examined histologically by light microscopy. Cell numbers and tissue thickness were compared between the control group and stress group. For data conforming to statistically normal distribution, two-sample t test was performed based on the average of two independent communities parametric test.

In conclusion, the number of polymorphonuclear cells present in the hippocampus gyrus dentate area are statistically significant differences between the control group and the stress group. Compared with the control group and stress group for the left hippocampus; in stress group cell number of hippocampus are significant differences and an increase with p. 0,019 value. Compared working groups for the right hippocampus areas; with p. 0,021 value, animals in the stress group has a statistically significant difference between the number of cells in the gyrus dentate.

Chronic unpredictable stress model is a statistical relationship between with the number of cells located in the hippocampus gyrus dentate. Related stress model, in the number of polymorphic cells in the both right and left gyrus dentate of rats leads to an increase.

Key words: stress, hippocampus, number of cells.

TEŞEKKÜR

Akademisyenlik çalıŐmalarının ilk basamağı olan yüksek lisans eğitimimin sonuna gelmiŐ bulunmaktayım. Anatomi bilimi alanında baŐarılı olabilmek için daha çok çalıŐmam gerektiğinin bilincinde olarak;

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgisinden faydalandığım, insani değerleri ile örnek edindiğim ve tecrübelerinden yararlandığım değerli danışman hocam; sayın Prof. Dr. Tuncay ÇOLAK'a,

Bu günlere ulaŐmamda katkıları olan değerli Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı ğretim yeleri; Prof. Dr. Aydın ÖZBEK'e, Prof. Dr. Belgin BAMA'a ve Doç. Dr. Ali ZEYBEK'e,

ÇalıŐmamızın histoloji aşamasında bilgi ve tecrübelerini paylaŐanan; sayın Prof. Dr. Fatma Süreyya CEYLAN'a ve Arş. Gör. Sema KURNAZ ÖZBEK'e,

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen sayın Doç. Dr. Serap ÇOLAK'a,

Tez sürecindeki destekleri ile her an yanımda olan Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı araştırma görevlisi arkadaŐlarıma ve dostlarıma teŐekkürlerimi sunarım.

Bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan aileme ve kardeŐlerime sonsuz teŐekkürlerimi bir borç bilirim.

EK 2. TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLDİRİSİ

Tezimde başka kaynaklardan yararlanılarak kullanılan yazı, bilgi, çizim, çizelge ve diğer malzemeler kaynakları gösterilerek verilmiştir. Tezimin herhangi bir yayından kısmen ya da tamamen aşırma olmadığını ve bir intihal Programı kullanılarak test edildiğini beyan ederim.

09/06/2016

Mehmet Deniz YENER İmza



İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	iii
ÖZET	iv
İNGİLİZCE ÖZET	v
TEŞEKKÜR	vi
TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLDİRİSİ	vii
İÇİNDEKİLER	viii
BÖLÜM NUMARALANDIRILMASI	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
ÇİZİMLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Hipokampus Anatomisi	2
1.2. Santral Sinir Sistemi ve Hipokampus Embriyolojisi	13
1.3. Hipokampus Histolojisi	16
1.4. Limbik Sistem ve Hipokampus	19
1.5. Hipokampus Nörobiyolojisi	22
1.6. Hipokampus ve Stres	27
2. AMAÇ	33
3. YÖNTEM	34
4. BULGULAR	49
5. TARTIŞMA	70
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	73
KAYNAKLAR DİZİNİ	76
ÖZGEÇMİŞ	79
KATILDIĞI ÇALIŞMALAR	xiv
ETİK KURUL ONAYI	xv
TEZ DENETLEME LİSTESİ	xvi

EK 3. BÖLÜM NUMARALANDIRILMASI

1. GİRİŞ

- 1.1. Hipokampus Anatomisi
- 1.2. Santral Sinir Sistemi ve Hipokampus Embriyolojisi
- 1.3. Hipokampus Histolojisi
- 1.4. Limbik Sistem ve Hipokampus
- 1.5. Hipokampus Nörobiyolojisi
- 1.6. Hipokampus ve Stres

2. AMAÇ

3. YÖNTEM

4. BULGULAR

5. TARTIŞMA

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

EK 4. SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

LV: Lateral ventrikül

FH: Formatio hippocampi

DG: Gyrus dentatus

CA: Cornu ammonis

SGT: Subgranüler tabaka

BLA: Bazolateral amigdala

HPA: Hipotalamo-Hipofizo-Adrenal aks

H&E: Hematoxylin-Eosin

EC: Entorhinal korteks

FGF: Fibroblast büyüme faktörü

EGF: Epidermal büyüme faktörü

IGF: İnsülin benzeri büyüme faktörü

VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü

BDNF: Beyin kökenli nörotrofik faktör

ACH: asetil kolin

NSE: Nöron spesifik enolaz

Sitc: Sitokrom c

IL : Interleukin

PG: Prostaglandin

NMDA: N-metil-D-aspartat

NGF: Sinir büyüme faktörü

LC: Lokus seruleus

LTP: Uzun süreli potansiyalizasyon

GABA: Gamma aminobütirik asit

DA: Dopamin

ELISA: Enzim bağlı immün analiz

İ.P: İntra peritoneal

Trk: Tirozin kinaz reseptörleri

NOS: Nitrik oksit sentaz

MAPK: Mitojen aktive protein kinaz12

SHH: Sonic hedgehog

EK 5. ÇİZİMLER DİZİNİ

Çizim 1.1.	Hipokampus anatomisi.	5
Çizim 1.2.	Hipokampus alt birimleri şeması	6
Çizim 1.3.	Hipokampal formasyon organizasyonu	8
Çizim 1.4.	Uzun süreli bellek ve ilgili beyin bölümleri	12
Çizim 1.5.	Primidal hücrenin hipokampus histolojik alt birimlerindeki konumu	18
Çizim 1.6.	Hipokampus affarent ve efferent yolları	27
Çizim 3.1.	Kronik stres uygulama aşamaları	37
Çizim 3.2.	Sıçanlara uygulanan perfüzyon aşaması	40
Çizim 3.3.	Sıçanlara uygulanan dekapitasyon işlemi ve beyin çıkarma aşaması .	40
Çizim 3.4.	Sert parafin aşamasına alınmış beyin dokuları	42
Çizim 3.5.	Parafin kaplı beyin dokusundan seri kesit alım işlemi	43
Çizim 3.6.	Lamlara alınmış doku seri doku kesitleri	44
Çizim 3.7.	Mikroskopik sayım düzeneği ve sayım aşaması	47
Çizim 3.8.	Kontrol grubu 1 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	52
Çizim 3.9.	Kontrol grubu 1 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	52
Çizim 3.10.	Kontrol grubu 2 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	53
Çizim 3.11.	Kontrol grubu 2 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	53
Çizim 3.12.	Kontrol grubu 3 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	54
Çizim 3.13.	Kontrol grubu 3 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	54
Çizim 3.14.	Kontrol grubu 4 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	55
Çizim 3.15.	Kontrol grubu 4 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	55
Çizim 3.16.	Kontrol grubu 5 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	56
Çizim 3.17.	Kontrol grubu 5 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	56
Çizim 3.18.	Kontrol grubu 6 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	57
Çizim 3.19.	Kontrol grubu 6 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	57

Çizim 3.20.	Kontrol grubu 7 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	58
Çizim 3.21.	Kontrol grubu 7 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	58
Çizim 3.22.	Kontrol grubu 8 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	59
Çizim 3.23.	Kontrol grubu 8 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	59
Çizim 3.24.	Stres grubu 1 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	60
Çizim 3.25.	Stres grubu 1 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	60
Çizim 3.26.	Stres grubu 2 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	61
Çizim 3.27.	Stres grubu 2 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	61
Çizim 3.28.	Stres grubu 3 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	62
Çizim 3.29.	Stres grubu 3 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	62
Çizim 3.30.	Stres grubu 4 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	63
Çizim 3.31.	Stres grubu 4 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	63
Çizim 3.32.	Stres grubu 5 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	64
Çizim 3.33.	Stres grubu 5 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	64
Çizim 3.34.	Stres grubu 6 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	65
Çizim 3.35.	Stres grubu 6 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	65
Çizim 3.36.	Stres grubu 7 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	66
Çizim 3.37.	Stres grubu 7 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	66
Çizim 3.38.	Stres grubu 8 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	67
Çizim 3.39.	Stres grubu 8 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	67
Çizim 3.40.	Stres grubu 9 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	68
Çizim 3.41.	Stres grubu 9 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).	68

EK 6. ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1.	Histolojik doku takip serileri	42
Çizelge 3.2.	Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama sıra ve süreleri	45
Çizelge 3.3.	Crystal violet boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri	46
Çizelge 4.1.	Sıçan ağırlıklarının zamana göre değişimi	48
Çizelge 4.2.	Gruplara göre hayvanların ortalama ağırlıklarının zamana göre değişimleri	49
Çizelge 4.3.	Gyrus dentatus bölgesindeki hücre sayıları.....	50
Çizelge 4.4.	Gruplara göre sağ ve sol hipokampus kalınlıkları.....	50
Çizelge 4.5.	Sağ ve sol gyrus dentatus hücre sayıları ve istatistik verileri.....	51
Çizelge 4.6.	Sağ ve sol hipokampus kalınlığı ve istatistik verileri.....	51

1. GİRİŞ

Homeostazis, canlının çevresel etkenlere karşı hücre sel dengesini düzenleyip korumasıdır. Stres, homeostazis'i bozan bir faktör olarak kabul edilmektedir. Stres faktörleri vücutta çeşitli hücreler arası refleks iletişim yolları değişikliklerine sebep olmaktadır. Kronik stres durumlarında; hormonlar, nörotransmitterler ve sitokinlerde oluşan değişimler beyin arterleri ve dokularında morfolojik doku farklılaşmalarına yol açabilmektedir. Beyin hastalıklarında predispozan etkenlerin de varlığı ile etkilenen doku alanlarına göre çeşitli beyin hastalıklarının sıklığı artabilmektedir (Fleshner ve diğ. 2011). Hipokampus, temporal lobda bulunan ve ventriculus lateralis'in cornu inferior'larına komşu karakteristik bir hücre dizilimine sahip olan limbik sistem ile de yakın ilişkisi bulunan bir beyin alt birimidir. Hipokampus beynin yer-yön ve hafıza fonksiyonlarında görev almaktadır. Hipokampusun doku ve hücre düzeyinde oluşan patolojik değişikliklerinde; alzheimer hastalığı, demans gibi rahatsızlıklar oluşmaktadır (Duyckaerts ve diğ. 2015). Kronik stres süreci organizmanın hemostazisini sağlaması için adaptasyonlara sebep olur. Bu adaptasyonlar strese karşı oluşacak yanıtı düzenleyen hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) aksın düzenlenmesini sağlar. Bu yolaklardan salınan aracı biyolojik etkenler hücre düzeyinde birçok biyolojik yapının yeniden düzenlenmesini ve organizmanın fizyolojik yapısının stres ortamına uygun adaptasyon gerçekleştirmesini sağlar. Uygulanan stres ile birlikte zamana karşı yapılan çalışmalar, kortikosteroid salınımının gen ifadelerinde olan artışları ve bunun sonucu olarak etkilenen stres yolaklarının hipokampus'te reseptör düzeyinde değişimleri tetiklemektedir (Ostrander ve diğ. 2009). Bu değişimler, akson terminallerinde oluşan plastisite değişimlerine ve nöron hücrelerinin yeniden organize olmasına yol açar. Bu sayede; hipokampusun, diğer beyin alanları ile olan iletişimini ve fonksiyon değişimlerini etkilemektedir. Bu değişiklikler hafıza kayıpları ve yer-yön bulma gibi beynin işlevsel özelliklerinin zayıflamasına sebep olmaktadır (Radley ve diğ. 2011). Stres faktörleri bu bozulmalarda bir etken olarak araştırma konusu olarak çalışılmaktadır. Çalışmamızda deney grubunda bulunan sıçanlara; stres etkeni olarak, öngörülemeyen kronik stres modeli uygulanmıştır. Öngörülemeyen stres modelinde sıçanlara 28 gün süresince her defasında farklı bir stres faktörü uygulanmıştır. Bu sayede farklı etkenlerle karşılaşan hayvanların stres faktörüne alışmaları ve stres etkeninin derecesini öğrenmelerinin önüne geçilmiştir. Deney grubunda bulunan hayvanlarda oluşan bu kronik stresin biyolojik olarak etkilediği değişikliklerin, morfolojik olarak hipokampusun alt birimlerine olan etkilerini göstermeyi

amaçlamaktayız. Bu çerçevede hipokampusun strese karşı oluşturduğu morfolojik yanıtın, dokunun boyutlarına ve alt birimlerinde bulunan nöron hücre sayılarına olan etkisi değerlendirilmiştir. Bu aşamada sıçan beyinlerinden alınan koronal kesitler üzerinden; deney grubu olarak oluşturduğumuz, öngörülemez kronik stres modeli uygulanan hayvanlarla kontrol grubu arasındaki histolojik değişimler istatistiksel olarak kıyaslanmıştır. Hipokampus'un iki ekseninde olan boyutları ölçülüp değişiklikler iki grup arasında kıyaslanmıştır. Sağ ve sol hemisferlerde bulunan hipokampus dokuları kendi içerisinde ve gruplar arasında değerlendirilmiştir. Ayrıca histolojik rat atlası (Paxinos, Watson) kullanılarak beynin aynı noktalarından alınan kesitler arasında; gyrus dentatus bölgesinde bulunan polimorf hücre tabakası ile hipokampusun cornu ammonis bölgelerine ait CA1, CA2 ve CA3 bölgelerinde bulunan histolojik doku tabakaları arasındaki morfolojik değişimler gruplar arasında kıyaslanmıştır. Hipokampus birimlerinde bulunan nöron hücre sayılarının olası değişimlerini belirlemeyi ve bu sayede ilgili stres modelinde hipokampusun ne oranda etkilendiğini ve bu etkilerin organın alt birimlerinde oluşturacağı değişikliklerin hangi bölgelerde daha yoğun olduğunu nöronların sayılarını ve morfolojik değişikliklerini inceleyerek göstermeyi amaçlamaktayız.

1.1. Hipokampus Anatomisi

Hipokampus filogenetik olarak eski beyin kısımlarından birisi olarak kabul edilir. İnsan anatomisinde ventriculus lateralis'in alt boynuzunda bulunan bir çift beyin doku katlantısıdır. Beyin kesitlerinde C harfi şeklinde olan bu yapı ortalama 5 cm uzunluğundadır. Yunanca etimolojisi; (*ἵππος*, hippos = at, *κάμπος*, kampos = deniz) denizati anlamına gelir (Gray 2008). Lateral ventriküle uygun oblik bir ekseninde uzanan hipokampus beynin temporal lobları boyunca uzanır. Başlangıç kısımlarından itibaren koçboynuzu şeklinde oluşan kemer, beynin ventral ve temporal loblarında sona erer. Bu eksen, hipokampus'un uzun eksenidir ve septo-temporal eksen olarak da adlandırılır. Anatomik olarak hipokampus, cornu ammonis ve gyrus dentatus alt birimlerinden oluşur. Histolojik olarak birbiri içerisine geçmiş piramidal hücre dizilerinden oluşur. Entorhinal korteks ve rhinocephalon gibi beyin bölgeleri ile yakın fonksiyonel ilişkisi bulunmaktadır. Bazı kaynaklarda işlevselliği göz önünde bulundurularak subiculum da hipokampus'un bir parçası olarak kabul edilmektedir. Hipokampus corno ammonis, gyrus dentatus ve subiculum bölgelerinden oluşur. Hipokampus'un morfolojik yapısının denizatına benzemesi nedeni ile, 1500'lü yılların sonuna doğru anatomist Arantius tarafından latince bu anlama gelen 'Hippocampus' olarak adlandırmıştır. Daha sonralarında

mısırlı anatomistler tarafından 'Ammon's horn' ya da 'Cornu Ammonis' olarak tekrar isimlendirme yapılmıştır.

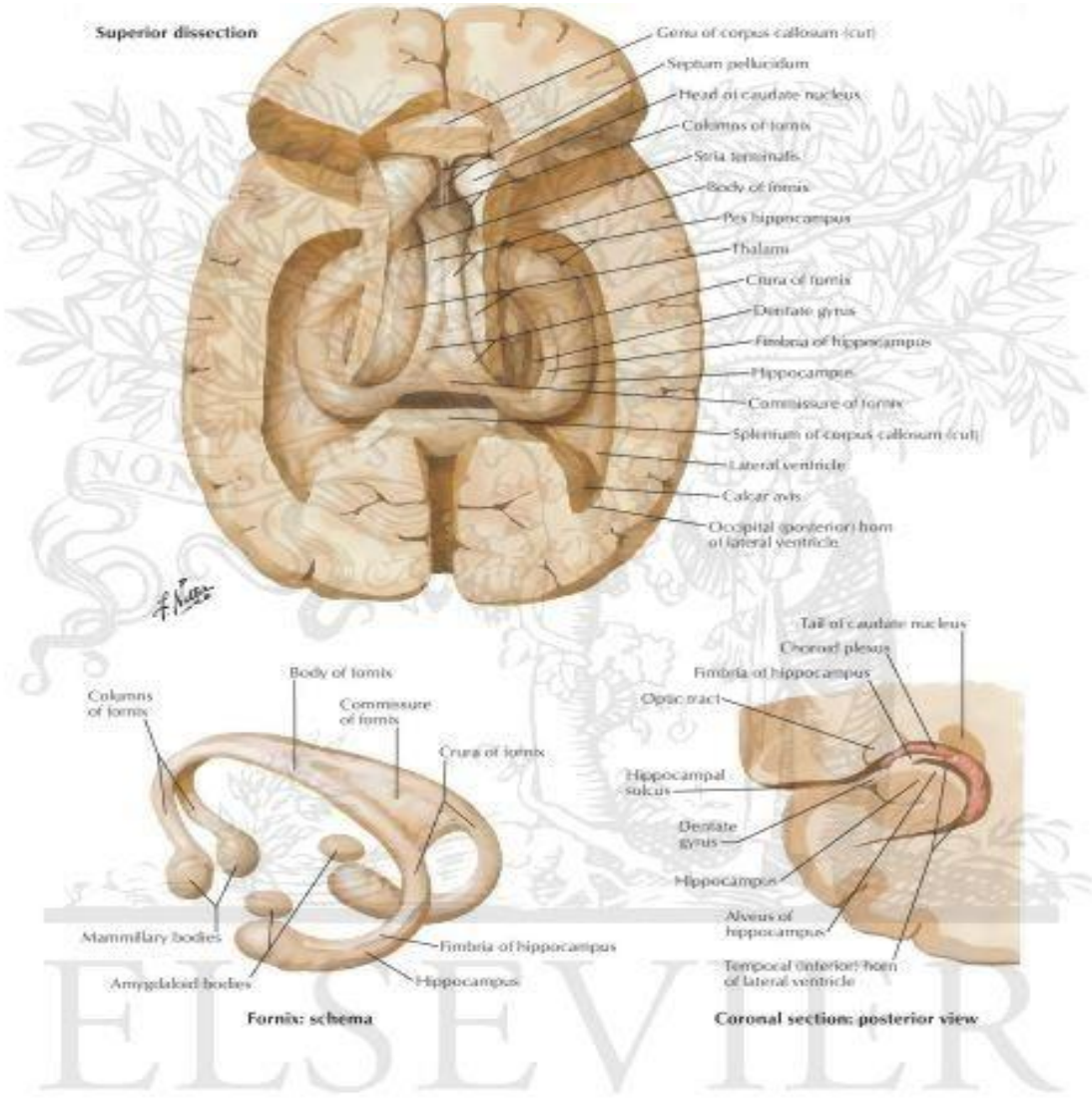
Her bir hipokampus kendi eksenini boyunca kıvrılırken verdiği aksonal lifler ile forniks yapısını oluşturur. Forniks, hipokampus ile corpus mamillare arasında bağlantı sağlayan yapılardır. Forniks lifleri üç ekseninde de ilerleyen bir yay gibi hipokampus ile corpus mamillare'ye ulaştıktan sonra talamus'un ön çekirdekleri ile bağlantı kurarlar. Hipokampus'un dışında forniks'in her bir ayağını oluşturan crus fornicis'ler arasında da akson lifleri çaprazlaşarak commissura fornicis'i oluşturur. Bu çaprazlaşma her bir beyin hemisferinde bulunan hipokampus doku çiftinin uyumlu olarak çalışmasını sağlamaktadır. Forniks'lerde oluşan yapısal bozuklukların demans, şizofreni gibi beyin hastalıklarının temelinde rol oynadığı bilinmektedir. Hipokampus hacmi ile epizodik hafızanın yakın ilişkili olduğu ve hipokampus anomalilerinin bu hafıza türünde olan bozukluklar üzerinden şizofreni hastalığının bir etkeni olarak değerlendirilebileceği ileri sürülmektedir (Thoma ve diğ. 2009). Yapısal konumu sebebiyle hipokampus birçok beyin rahatsızlığı ile ilişkisi olan bir beyin bölgesidir.

Gyrus parahippocampalis ve dış alanındaki fonksiyonel birim formatio hippocampalis'i oluşturur. Beyin gelişim embriyolojisinde bu alana korteksin nöral progenitor hücreleri göç ederler ve uygun hücre tiplerine farklılaşarak proliferasyon olurlar. Bu gibi değişimler erişkin beyinde belirli bölgelerde devam etmektedir. Etkilerin çeşidine göre progenitor hücreler olarak bilinen bölünüp farklılaşabilen özelleşmiş hipokampal hücreler, farklılaşma sırasında Nuclear factor one X (NFIX) isimli proteini üreterek bu süreci başlatırlar. Böylece hemisferin duvarı kalınlaşır ve ventriculus lateralis'in medial tarafına projekte olan bir kabarıklık oluştururlar (Henk ve diğ. 2014). Anatomik olarak beyin hemisferinin medial yüzünde yüzeysel bir oluk formatio hippocampalis'i baştan başa geçmektedir. Bu oluğun adı sulcus hippocampalis'tir. Makroskopik olarak hipokampus baş (caput hippocampi), gövde (corpus hippocampi) ve kuyruk (cauda hippocampi) olmak üzere üç bölüme ayrılır. Hipokampus'un ventral kısmı içe ve dışa doğru enine katlanmalar ile karakterize, kalınlaşmış ve kavisli bir yapı gösterir. Bu kısım önde amigdala ve ventriculus lateralis'in temporal boynuzu'nun uncal recessus'u tarafından sınırlandırılır. Hipokampus gövdesi; histolojik olarak, gyrus dentatus'un içini çevreleyen cornu ammonis'in nöron hücre gövdeleri tarafından oluşmaktadır. Gövdesinin üst ve yan fibrilla'nın sebep olduğu beyaz cevher liflerini de içeren alveus tarafından sarılır. Hipokampus'un kuyruk kısmı ise gyrus dentatus ve cornu ammonis yapıları ile devam eder ve tabakalı bir yapıya sahiptir. Kuyruk kısmı subsplenial gyrus ile sonlanır ve orta kısımdan cisterna ambiens'in kanatlarıyla çevrilidirler. Yan sınırları ise ventriculus lateralis'in temporal boynuzu tarafından oluşturulur. Hipokampus'un yoğun olarak paketlenmiş ince piramidal

hücre tabakası belirgin olarak iki alana ayrılabilir; bu alanlar geniş hücreli proksimal alan ve küçük hücreli distal alanlardır. Cajal bu iki alanı sırasıyla regio superior ve regio inferior olarak tanımlamıştır. Primatlarda yapılan çalışmalarda hipokampus'un ventral kısmı stres ve emosyonel yanıtlarla ilgili bağlantılarda daha aktifken dorsal kısımlarında ise bilgi işleme ve korteks bağlantıları daha aktiftir (Fanselow ve Dong 2011).

Hipokampus'taki hücrelerin efferent lifleri dokunun medial kenarları boyunca bir araya gelirler ve fissura choroidea'nın hemen üzerinde ileri doğru kıvrım oluştururlar. Bu efferent hipokampal lifler fimbria hippocampi'yi ve forniks yapısını oluştururlar. Daha sonra iki hipokampus yapısı forniks'in her iki bacağından birbirlerine doğru çaprazlaşan lifler aracılığı ile bağ kurarlar. Bu lifler iki crus fornicis arasındaki commissura fornicis yapısını oluşturmaktadır (Çizim 1.1).

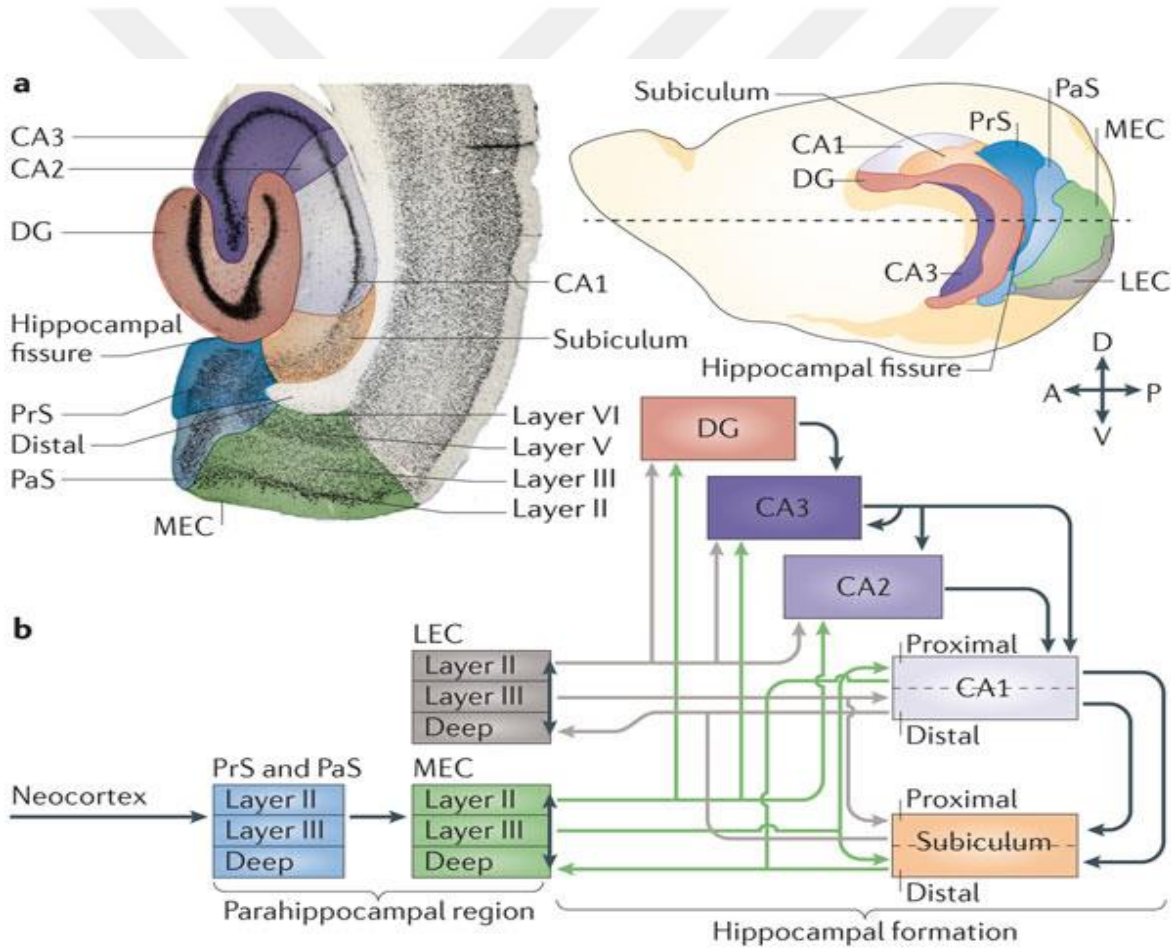
Gyrus dentatus; fimbria hippocampi ile gyrus parahippocampalis arasında yer alan üç katmanlı dar, çentikli bir bölümdür. Bu katmanlarda bulunan hücreler hipokampus'ten (HC) impulslar alarak; subiculum ve hipokampus'un intrensek yollarına uyarılar göndermektedir.



Çizim 1.1. Hipokampus anatomisi (Kaynak: Netterimages, Elsevier)

Hipokampus histolojisi dokunun korteks yapısı, polimorfik hücre yapılarından oluşmuş; stratum oriens, stratum pyramidale ve stratum moleculare olmak üzere üç ana katmandan oluşmaktadır. Hipokampus'un piramidal tabakasındaki hücrelerin çeşitli bölgelerde farklı görünüşleri dikkate alınarak; doku CA1, CA2, CA3 ve CA4 alanlarına ayrılmıştır. İnsanlarda en büyük alan subiculum'dur ve CA1 alanı hipokampus'un (HC) lateral kıvrım alanı boyunca bulunmaktadır. Bu alanların her birinin özelleşmiş işlevlerinin ve patolojilerinin mevcut olduğu bilinmektedir. Entorhinal korteks (Broadman'ın 28. alanı) rostralde amigdala'nın ön sınırına kadar uzanır. Hipokampus dokusu içerisinde birçok internal aksonal yolak mevcuttur. Ventral CA1 alanı koku yolları ile yoğun akson ağlarına ve bağlantılarına sahiptir. Hipokampus'un; formatio hippocampi'nin temel elemanı olarak çevre birçok korteks alanla komşuluğu bulunmaktadır. Koku yolları ve bilişsel aktivitelerin bulunduğu entorhinal korteks ile de sıkı

bağlantısı olan dokuda özelleşmiş nöron hücre grupları bulunmaktadır. Entorhinal korteks'te bulunan grid hücrelerinin özel dizilimleri sayesinde beyin yer-yön bulma özelliğini kullanmaktadır. Bu hücreler place cell (alan hücreleri) adı verilen nöron hücreleri ile ortak çalışarak yer ve yön duyusunun oluşmasına aracılık etmektedir.. Limbik sisteminde bir üyesi olan hipokampus'un koku duyusu ile önemli bağlantıları bulunmaktadır. Entorhinal korteks'in daha primitif kabul edilen düzeyleri (amygdala'nın alt kısmı) bulbus olfactorius'tan afferent lifler alırken, daha kaudaldeki alanları ise genel olarak primer olfaktor uyarımlar almazlar. Hipokampus; amigdala'dan, priform korteks'ten, temporal ve frontal lobların assosiasyon alanlarından afferent lifler alır. Hızlı yer öğrenme fonksiyonlarında intermediate hipokampal hücre grupları işlev görmektedir. Histolojik olarak altı tabakalı bir yapıya sahiptir fakat diğer neokortikal alanlardan oldukça farklı bir anatomik yapı gösterirler (Bast ve diğ. 2009).



Çizim 1.2. Hipokampus alt birimleri şeması (Kaynak: Nature, neuroscience).

Hipokampus anatomisinde pes hippocampi denilen geniş dokunun ön kısmında 3-4 adet oval çıkıntı şeklinde yapılar bulunur. Bu çıkıntılara digitationes hippocampi denilmektedir.

Hipokampus'un ventriküler boşluktaki konveks yüzü alveus denilen ince bir beyaz cevher tabakası ile kaplıdır. Doku cornu ammonis ve gyrus dentatus olmak üzere iki temel bölüme ayrılır (Çizim 1.2). Gyrus dentatus'ta progenitor hücrelerden yaşam boyu yeni beyin hücreleri bölünüp farklılaşmaktadırlar. Astrosit ağırlıklı olan bu nöron göçü gyrus dentatus'u şekillendirmektedir. Alveus'u oluşturan miyelinli lifler, hipokampus'da bulunan sinir hücrelerinin aksonlarından oluşmaktadır (Brunne ve diğ. 2013)

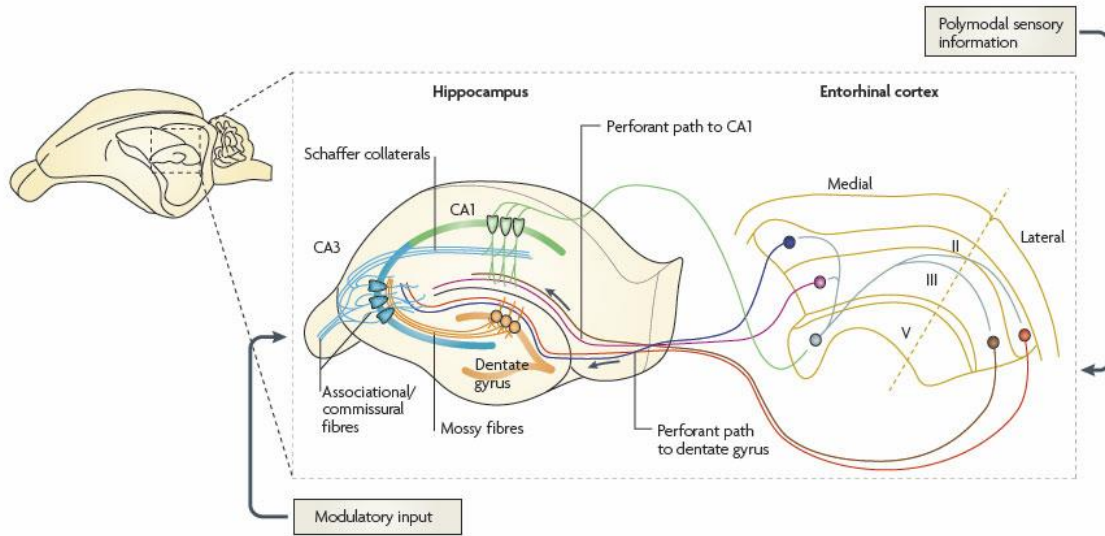
Hipokampus ayrıca beynin algı ve bellek gibi bilişsel işlemlerinde görev almaktadır. Beyinde limbik sistem ile bağlantısı olan hipokampus, beynin birçok bölgesinden duyu lifleri almaktadır. Hipokampus, assosiasyon sahaları ve kendi yapısında bulunan nöron hücrelerinden aldığı duyuları, forniks aracılığı ile önce corpus mamillare'lere; oradan da talamus ve septal sahaya iletmektedir. Ayrıca bir miktar akson demeti de mesencephalon'a iletilmektedir. Bunun yanı sıra, hipokampus subkortikal alanlarla olan bağlantısı sayesinde beynin birçok bölgesi ile de iletişim halindedir. Alzheimer gibi yaşlanma ve nörodejenerasyona bağlı gelişen hastalıklarda ilk etkilenen bölgelerden biri hipokampus dokusudur. Bu sebeple hipokampus patolojilerinde öğrenme-bellek bozuklukları başta olmak üzere motor beceriler ve oryantasyon bozuklukları sık gözlenen rahatsızlıklar arasındadır (Slomianka ve diğ. 2011).

Hipokampus sinaptik bağlantıları ve hücre morfolojileri incelendiğinde mikroskopik olarak dört ana bölgede incelenmektedir. Hipokampus temel olarak iki çeşit nöron yapısı ile organize olmuştur. Temel yapısını oluşturan hücreler piramidal nöronlardan oluşur ve hipokampus'ten daha çok veri çıkışından sorumludurlar. Diğer bir fonksiyonel nöron birimi olarak da intirinsik nöronlar bulunmaktadır. Bu nöronlar düzensiz şekilli, GABAerjik aktivite gösteren nöronlardır ve sayıları piramidal nöronlara göre daha az bulunmaktadır. Hayvan deneylerinde post travmatik stres sonrası artan GABA düzeylerinin hipokampus'te anormal morfoloji ve hücre apaoptozlarına neden olduğu bilinmektedir (Gao ve diğ. 2014).

Gyrus parahippocampalis; formatio hippocampalis'in temel hücre gövdelerini barındırır. Fimbria hippocampi'den çıkan lifler en yakın korteks alanı olan uncus'a giderek sinaps yaparlar. Hipokampus'te bulunan kıvrımların üstü zar şeklinde bir yapı olan alveus hippocampi ile örtü gibi sarılmıştır. Fimbria hippocampi, alveus hippocampi ile devamlılık göstermektedir. Gyrus parahippocampalis'te lokalize olan entorhinal korteks anatomik bağlantıları nedeniyle hipokampal formasyon'un bir parçası olarak değerlendirilir.

Frontal, temporal ve parietal korteks alanlarında bulunan assosiasyon sahaları ile parahipokampal ve perirhinal korteks arasında bağlantılar bulunmaktadır. Bu bağlantıların her biri entorhinal korteks ile de iletişim halinde bulunur. Kaynağı assosiasyon sahaları sayılan ve entorhinal korteksten çıkan ilgili uyarılar; aksonal iletim yolları ile hipokampus'un gyrus

dentatus, subikulum, CA1 ve CA3 alanlarına iletilmektedir. Entorhinal korteks'ten iletilen bu uyarılar dışında hipokampus'un birçok alt ünitesi de birbirlerine impuls yollamaktadır. Bu iletimi; perforant yolaklar, yosunsu lifler yolağı ve schaffer kollateral yolakları gibi aksonal bağlantı yolları ile sağlamaktadır. Gyrus dentatus'un granüler hücreleri; küçük aksonal lifler olan mossy lifleri ile hipokampus'un diğer bir alt birimi olan, CA3'ün piramidal hücreleri ile bağ kurarlar (Çizim 1.3). Hipokampus'un subikulum kısmına iletilen ilgili uyarılar tekrar entorhinal korteks'e iletilerek uyarı devresi sağlanmış olmaktadır (Rolls ve diğ. 2013).



Çizim 1.3. Hipokampal formasyon organizasyonu (Kaynak: Nature reviews, neuroscience)

Entorhinal korteks histolojik olarak altı morfolojik tabakaya ayrılmaktadır ve projeksiyon alanları ve hücre dizilimleri bakımından diğer neokortikal bölgelerden farklılık gösterirler. Bu tabakalar:

1. Hüresel olmayan pleksiform tabaka, bu katmanda iletim yollarına ait yapılar bulunmaktadır.
2. Entorhinal korteksin ayırt edici bir özelliği olan özelleşmiş satellit hücreleri ve büyük piramidal hücre adalarından oluşan dar bir hüresel tabaka. Bu hüresel adalar beyin yüzeyinde küçük yumrular oluştururlar ve entorhinal korteksin sınırlarının belirlenmesini sağlarlar.
3. Orta büyüklükteki piramidal hücrelerden oluşan tabaka.
4. Entorhinal korteksin bir başka özelliği internal granüler tabaka yerine lamina dissecans olarak adlandırılan yoğun liflerden oluşan hüresel olmayan tabaka.
5. Lamina dissecans'ın yüzeyinde beş veya altı hücre kalınlığında büyük piramidal hücrelerden oluşan tabaka.

6. Beyaz cevherden sınırı tam olarak ayrılmamış geniş bir tabaka bulunur.

Hipokampus'un 3 önemli ana aksonal yolağı bulunmaktadır ve bu yolaklar hücre dışı proteoliz gibi çevresel faktörlerin etkisi ile plastisiteye ve sinaps değişikliklerine neden olabilmektedir.

1. Perforant yolak; entorhinal korteks'ten gyrus dentatus'un granüler hücrelerine projekte olan lifler tarafından oluşturulurlar.

2. Yosunsu lifler yolağı; gyrus dentatus'taki granüler hücrelerin hipokampus'un CA3 alanındaki piramidal hücrelere projekte olan aksonlarını içerir.

3. Schaffer kollateral yolağı; hipokampus'un CA3 bölgesindeki piramidal hücrelerin CA1 alanındaki piramidal hücrelerinde sonlanan eksitatör kollateral sinir liflerini içerir.

İlk olarak 1973'te Bliss ve Lomo bu yolaklardan herhangi birisinden çıkan yüksek frekanslı bir stimulusun, hedef hipokampus hücresinin eksitatör postsinaptik potansiyelinde saatlerce hatta günlerce devam eden bir amplitüd artışına neden olduğunu göstermiştir. Yani hipokampus'taki yolların yüksek frekanslı uyarılması sinaptik etkinlikte uzun süreli bir artışa neden olabilmektedir. Bu tür uyarılar sinaptik plastisite değişikliklerinde bir etken olarak değişikliklere sebep olmaktadır. Sinaptik etkinlikteki bu artışa LTP denilir, başka bir deyişle LTP sinaptik yolakların elektriksel stimülasyonuna bağlı olarak sinaptik şiddetin değişmesidir. Uzun süreli stres ile yosunsu liflerin CA3 bölgesindeki yoğunluğunda bir artış olduğu ve bu etkiyle birlikte sinaps değişikliklerinin olduğu gösterilmiştir (Wiera ve Mozrzymas 2015).

Anatomik olarak hipokampus sıçanlarda ön beyinin geniş bir bölümünü oluşturmaktadır. Sıçanlarda hipokampus dorsal ve ventral olmak üzere iki ana kısımdan oluşmaktadır. Dorsal hipokampus yanlardan ventriculus lateralis ile çevrelenmektedir. Frontalden kaudale doğru ilerledikçe iki hipokampal formasyon birleşir. Sıçanlarda gyrus dentatus beyin medialindedir ve geniş bir yer kaplamaktadır. Çalışmalar en gelişmiş gyrus dentatus yapısının primatlar arasında insanda bulunduğunu göstermektedir. Hipokampus'un cornu ammonis alanında bulunan CA4 kısmı insanlarda bulunurken sıçanlarda CA3 olarak devam etmektedir. İnsanlardaki hipokampusun septal ve temporal bölgeleri; kemirgenlerde sırasıyla dorsal ve ventral bölgelere karşılık gelmektedir.

Sıçan hipokampusünde esas olarak granül ve piramidal hücreler bulunur. Sıçanlarda, hipokampal piramidal hücrelerin çoğu prenatal dönemde ortaya çıkar ve postnatal birinci ayda tam anlamıyla fonksiyonel haline farklılaşırlar. Sıçanlar da dahil olmak üzere memeli hipokampusu; ortak yapı olarak subiculum, gyrus dentatus ve entorhinal korteks bölümlerinden meydana geldiği tanımlanmıştır (Gilley 2011).

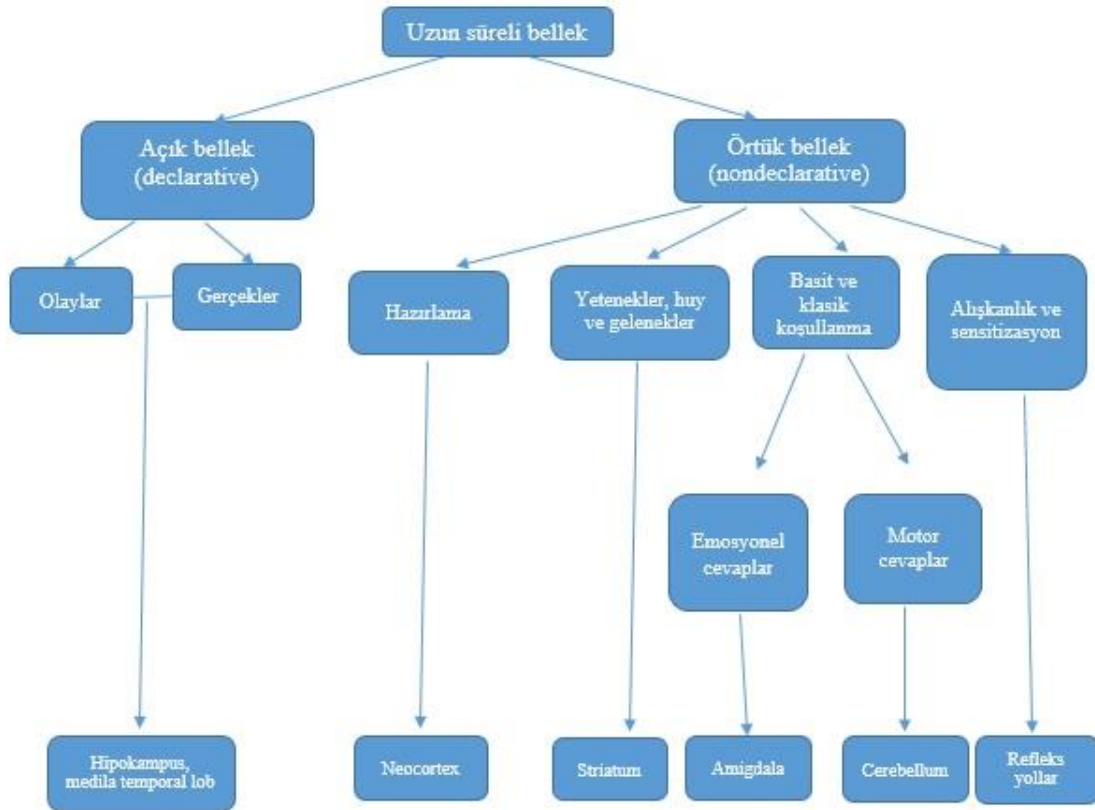
Gyrus parahippocampalis yapısından başlayan lifler, subikulum içerisinde ve alveus'tan geçerek gyrus dentatus'a, buradan da hipokampus'e tekrar ulaşır. Formatio hippocampi'nin esas efferent yolunu oluşturan forniks içerisinde hem projeksiyon lifleri hem de komissural liflere ait aksonal yapılar yer almaktadır. Subikulum ve hipokampus'ten başlayan lifler, alveus hipokampi ve fimbria hipokampi'yi oluşturduktan sonra kalın bir demet şeklinde posteromediale doğru ilerler. Bu lifler, hipokampus'ün arka sınırında ve corpus callosum'un splenium kısmının altında, forniks'in crus kısımlarını meydana getirir. Sağ ve sol taraftan gelen crus fornicis'ler yukarı ve öne doğru yönelerek birbirlerine yaklaşırlar. Bu bölgede, her iki crus içerisindeki liflerin bir kısmı karşı tarafa geçer; bu geçen çapraz aksonal lifler forniks'in commissura hippocampalis yapısını oluşturur. Corpus mamillare'den başlayan ve fasciculus mammillothalamicus'u oluşturan aksonal lifler nuclei anteriores thalami yapısında sonlanırlar. Nuclei anteriores thalami'den başlayan lifler ise ipsilateral gyrus cinguli'ye gider. Gyrus cinguli içerisinde miyelinli liflerin oluşturduğu assosiasyon yoluna aynı zamanda cingulum adı verilmektedir. Gyrus cinguli'den başlayan ilgili akson lifleri cingulum içerisinde seyrederek gyrus parahippocampalis'e, buradan da hipokampus'e ulaşır. Fornix, hippocampus'un en büyük efferent yolunu oluşturur. Hipokampus ve subiculum'dan çıkan miyelinli lifler, alveus yapısından geçerek fimbria hippocampi'yi oluşturur. Hipokampus'ten çıkan uyarılar; buradan crus fornicis, corpus fornicis ve columna fornicis yolunu izler. Her iki crus fornicis arasında çapraz yapan liflere commissura hippocampi adı verilir. Fornix içerisindeki lifler aşağıda belirtilen bölgelere dağılmaktadır (Snell 2000).

- 1- Commissura anterior'un arkasından geçerek nucleus medialis thalami'de sonlanmak üzere corpus mamillare'ye gelirler.
- 2- Nucleus anteriores thalami'de sonlanmak üzere commissura anterior'un arkasından geçerler.
- 3- Tegmentum mesencephali'de sonlanmak üzere commissura anterior'un arkasından geçerler.
- 4- Nuclei septales, lateral preoptik alan ve hipotalamus'un ön bölgelerinde sonlanmak üzere commissura anterior'un önünden geçerler.
- 5- Nuclei habenulares'e ulaşmak üzere stria medullaris thalami'ye katılırlar.

Beyin gelişimi doğum öncesi dönemden başlayıp adolesan dönem sonuna kadar devam eden çeşitli süreçleri içermektedir. Bunlar sinir hücrelerinin oluşumu yani nörogenez, sinir hücrelerinin göçü, sinir hücrelerinin birbiri ile iletişimini sağlayacak akson ve dendritlerin oluşumu, sinaps oluşumu (sinaptogenez), sinapsların artırılması, olgunlaşması, sinir hücrelerinin çevresinde destek dokuların ve etkili iletişimi sağlayacak dokuların (gliogenez ve miyelinizasyon) gelişimini içeren nöroplastik değişimlerdir. Adolesan dönemde hızlı nöroplastik değişimler bilişsel işlevler, karar verme stratejileri ve sosyal davranışlardaki

işlevsel gelişimleri kolaylaştırmaktadır. Yer ve yön öğrenmeyle ilişkili olan spasyal yetenek de adolesan dönemlerde gelişmektedir. Hipokampus'un; gyrus dentatus kısmında bulunan progenitor hücreler, zaman bağımlı değişen etkenler ile otonom olarak değişikliğe uğrayabilmektedir. Bu bölünme yeteneğine sahip progenitor hücrelerin farklılaşma yetenekleri de bulunmaktadır ve hipokampus'un gyrus dentatus bölgesi için hücresel kaynak oluşturmaktadır. Gyrus dentatus hipokampus'un bilişsel işlevi için kritik bir öneme sahip alt birimidir (Drew, Fusi ve Hen 2013).

Farklı hafıza tipleri, beynin farklı bölgelerine yerleşik farklı nöral devrelerde işlenmektedir. Hafıza oluşumunda; frontal, parietal, oksipital ve temporal loblar, hipokampus ve limbik sistemin diğer yapıları arasındaki nöral ağların görev yaptığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalar; hipokampus'un, yeni oluşan bilgilerin kısa süreli hafızadan uzun süreli hafızaya aktarılması aşamasında oldukça önemli bir yapı olduğunu göstermiştir. Dolayısıyla hafıza ile ilişkili mekanizmaların daha iyi anlaşılması için hipokampusteki nöronların yakından incelenmesi önemlidir. Uzun süreli bellek ve ilgili beyin bölümleri için şematik gösterim Çizim 1.4'te verilmiştir. Hipokampus beynin diğer bölgelerinden farklı olarak yaşam boyu süren yeni nöron üretiminin (nörogenez) gerçekleştiği limbik sistemin bir alt ünitesidir.



Çizim 1.4. Uzun süreli bellek ve ilgili beyin bölümleri

Birçok intrensek ve ekstrensek faktör erişkin hipokampal nörogenezin proliferasyon, farklılaşma ve sağkalım fazlarını olumlu ya da olumsuz yönde etkilemektedir. İntrensek faktörler olarak; büyüme faktörleri, nörotrofik faktörler, nörotransmitterler ve hormonlar sayılabilir. Nörogeneze etkili birçok biyolojik faktör bulunmaktadır. Ekstrensek faktörlerden stres ve obezite gibi faktörler olumsuz yönde etki gösterirken; fiziksel aktivite, zenginleştirilmiş çevre, öğrenme gibi faktörler olumlu yönde etki göstermektedir. Yüksek yağlı diyetlerin haptoglobin düzeyini değiştirerek yağ metabolizmasına etkidiği ve bununda beyin hücreleri üzerine düzenleyici bir etkisinin olduğu bilinmektedir (Spagnuolo ve diğ. 2015).

Hipokampus'un gyrus dentatus tabakasına, birçok beyin bölgesinden iletimsel girdiler bulunmaktadır. Nörotransmitter etkili bu yolların afferent akson uçlarından serbestlenen katekolaminler, serotonin, glutamat, GABA ve asetilkolinin nörogeneze etkileri gösterilmiştir. Entorhinal korteks'ten (Entorhinal Cortex; EC) kaynaklanan glutamaterjik lifler perforant yol aracılığı ile DG'de birleşmektedir. Birçok çalışma eksitatör nörotransmitter glutamatın hipokampal nörogenezin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Gilley 2011).

Hipokampus, stres hormonu olan glukokortikoidlere karşı oldukça hassastır. Özellikle DG'de artmış glukokortikoid düzeyine karşı hücreyel yanıt veren glukokortikoid reseptörleri yoğun olarak bulunmaktadır. Gyrus dentatus; EC ve medial septum aracılığı ile bazolateral amigdala'ya (BLA) bağlanmaktadır. Bir limbik sistem elemanı olarak BLA, emosyonel süreçlerde rol alan ve stresin hipokampus üzerindeki etkilerinin önemli bir düzenleyicisi olan beyin bölgesidir. Hem glukokortikoidlerin hem de BLA girdisinin DG'deki nöral progenitör popülasyonu üzerine düzenleyici etkileri bulunmaktadır (Janak ve Tye 2015).

Hipotalamus-hipofiz-adrenal aksın (Hypothalamic Pituitary Adrenal Axis; HPA) strese karşı oluşan yanıt sürecinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Adrenalektomi sonrası oluşan HPA inhibisyonunun hipokampus'te nörogenezi güçlendirmiş olduğu gösterilmiştir. Stres aynı zamanda hipokampus'de hücre düzeyinde glutamat salınımını artırmakta ve güçlü eksitasyon hücre proliferasyonunu azaltmaktadır. Stres etkeni beyin dokusunda bulunan ve nöron hücreleri için mikroçevre oluşturan trofik desteği de azaltmaktadır. Davranışsal boyutta stres hipokampal nörogenezle ilişkili olan öğrenme ve hafıza ile duygu-durum bozukluklarını da olumsuz etkilemektedir. Depresyonda hipokampusta yeni nöron üretiminin azaldığı ve antidepresan tedavisi ile hipokampal nörogenezin belirli oranda artırıldığı bilinmektedir (Zhu ve diğ. 2014).

Hipokampal nörogenezin azalması öğrenme, hafıza bozuklukları ve artan anksiyete davranışları ile ilişkilidir. Birçok intrensek ve ektrensek yolaklarında bağlantı kurduğu bu nöron hücrelerinin sayılarındaki değişimler hipokampus dokusunun sinaps plastisitesini de değiştirir. Yetişkin bireylerde yaşa bağlı bilişsel bozuklukların azalan hipokampal nörogenez hızıyla paralellik gösterdiği bilinmektedir. Embriyolojik süreçte ve hipokampus içerisinde gerçekleşen nörogenez çoklu basamaklardan oluşan bir biyolojik süreçtir. Bu süreç öncül hücrelerin proliferasyonu ile başlayıp, farklılaşarak nöronal değişim kazanma yolu ile devam etmektedir. Yeni nöronların apoptozdan kaçarak (sağkalım) morfolojik ve fizyolojik olgunlaşma gerçekleştikten sonra işlevsel olarak mevcut devrelere sinaptik entegrasyonu ile sona ermektedir. Hayvanlar üzerinde yapılan birçok hafıza çalışmasında memelilerin Radyal Labirent (Radial Maze), Morris Su Labirenti (Morris Water Maze), pasif sakınma gibi hafıza testlerindeki performansları ile hipokampal nörogenez oranları arasındaki ilişkiyi karşılaştırmış. Bu ilişkiden alınan sonuçlar hipokampus'te oluşan nörogenez ile farklı öğrenme-hafıza tiplerinin ilişkisinin değiştiği gösterilmiştir (Mohapel ve diğ. 2013).

1.2. Santral Sinir Sistemi ve Hipokampus Embriyolojisi

Embriyolojik gelişim aşamasında; santral sinir sistemi, üçüncü haftanın başlarında primitif yarığın önünde orta-dorsal bölgede yerleşmiş terlik biçiminde kalınlaşmış ektodermal kökenli bir nöral plak şeklinde belirir. Nöral plağın lateral kenarları, kısa süre sonra nöral kıvrımları meydana getirmek üzere yükselir ve birbirine yaklaşarak nöral tüpü oluşturmak üzere kaynaşır. Baş bölgesini oluşturan mezenşim dokusu ise; paraksiyal ve lateral plak mezoderminden, nöral krestten ve ektodermal plakod olarak bilinen ektodermin kalınlaşmış bölgelerinden köken alırlar. Paraksiyal mezoderm tabakası; baş bölgesi oluşumunda, kafanın tabanını ve oksipital bölgenin küçük bir parçasının oluşumuna kaynak oluşturur. Embriyonun dördüncü haftasında, kafanın tipik görünüm özellikleri mezenşimal doku sütunlarından oluşan ve birbirlerinden faringeal poş ve yarıklarla ayrılan brankial arkuslar tarafından oluşturulur. Nöral krest hücreleri; önbeyin, ortabeyin ve arkabeyin bölgelerinin nöroektoderminden köken alır; öne doğru faringeal arkusların içine ve önbeynin ve optik kadehin çevresinden de yüz bölgesine doğru göç ederler. Bu etkileşimler; moleküler seviyede fibroblast büyüme faktörü (FGF), sonic hedgehog (SHH) ve WNT tarafından sağlanır (Sadler 2005). Beyin gelişiminin düzenlenmesinde eksitator internöronlar ve sinaps plastisitesi önemli görev almaktadır. Bu eksitator nöron hücrelerinin etkisiz olduğu hayvan modellerinde; hipokampus'un gelişim aşamalarında aksamalar olmaktadır. Beyin gelişimi; postnatal 15. günde incelendiğinde,

hipokampus'un CA1 bölgesinde yapısal bozukluklar görülmüştür. CA3 bölgesi ise normal gelişimini tamamlamış olmasına karşın, gyrus dentatus bölgesinde morfolojik değişimler gözlenmiştir (Venkatesh 2015).

Nöral tüpün; sefalik ucunda, primer beyin vezikülleri adı verilen üç dilatasyon bölgesi oluşmaktadır. Bu yapılar embriyo gelişiminin ileri ki dönemlerinde; prosensefalon, mezensefalon ve rhombensefalon yapılarını oluşturmaktadır. Serebral hemisferler beşinci haftanın başında, prosensefalon'un yan duvarlarında bilateral çıkıntılar şeklinde ortaya çıkar. Embriyo gelişiminin ikinci ayının ortalarında, hemisferlerin bazal bölümleri büyümeye başlar. Bunun sonucu olarak; bu bölge lateral ventrikülün lümeni içine ve aynı zamanda foramen monro'nun tabanına doğru kabarıklık oluşturur. Hızlı büyüyen bu bölgenin transvers kesitlerinde çizgili bir görünüm olduğundan bu bölgeye corpus striatum adı verilir. Hemisferlerin duvarı fissura choroidea'nın hemen üzerinde kalınlaşarak hipokampusu oluşturur ve ileri aşamalarda bu yapı ventriculus lateralis yapısının üzerine doğru taşar. Kalınlaşma hücre profilasyonu ile sağlanan bir aşama olarak hipokampusun gyrus dentatus bölgesinde bulunan supragranular alanda yoğun olarak gerçekleşmektedir. Postnatal P.7 ve P.14 günlerde yapılan incelemelerde hücre çoğalması aşamasında; Nestin, Sox2, BLBP, GFAP, Tbr2, Doublecortin, NeuroD1 ve Prox1 gibi genlerin ekspresyonu önemli rol oynamaktadır (Nicola 2015).

Erişkinlerde hemisferlerin sağ ve sol yarıları birbirine orta hattı çaprazlayan lif demetleri olan, commissura fornicis yoluyla bağlanmışlardır. En erken ortaya çıkan aksonal çapraz lif demetleri commissura anterior'dur. Bu komissür içinde, bir hemisferin olfaktor bulbusunu ve ilgili beyin bölgelerini karşı hemisfere bağlayan aksonlardan oluşan lif demetleri yer alır.

Ortaya çıkan diğer komissür ise hipokampal komissür olan commissura fornicis'dir. Hipokampus'tan çıkan lifler lamina terminalis'e katılır. Buradan yollarına devam eden lifler, fissura choroidea'nın hemen dışında bir arkus oluşturarak hipotalamus ve corpus mamillare'ye uzanırlar (Sadler 2005).

Limbik sistemin; neokorteks tarafından geliştirilmesi, ventriculus lateralis'in orta duvarındaki sınır şeklinde uzanan limbik sistem beyin alanlarını bölgelere ayırır. Beyin yarım kürelerinin dönüş hareketinin ardından limbik yapılar beyin merkezi yapısında bulunan; talamus'un, bazal gangliyonların ve insula'nın etrafında bir halka şeklini oluştururlar. Limbik yapılar filogenetik açıdan paleo ve arkikorteks'ten türeyen eski beyin bölgeleridir ve limbik sistem serebrumun geri kalan bölümlerinden ayrı olarak ele alınmaktadır.

Gebeliğin 16. haftasında limbik yapılar hala kapalı bir halka şeklinde foramen interventriculare'yi ve talamus'u sarmaktadır. Rhinensefalon'dan gelişen paleokorteks yapıları ön kısımda yer almaktadır. Bu yapılar, bulbus olfactorius ve önbeynin medial duvarında nucleus

septalis'e geçen olfaktör yolun medial kısmı ile lobus temporalis'in üst seviyesinde bulunan nucleus amigdaloideus'a geçen lateral kısmından oluşmaktadır. Arkada halkayı artikokorteks'in kortikal bölgesi olan hipokampus kapatır.

Serebrumun büyümesi her iki beyin yarım küresinin neokortikal bölümlerini birbirine bağlayan corpus callosum yapısının genişlemesiyle belirginleşir. Beynin yeni oluşan bölümü septal çekirdekler ile hipokampus alanı arasına bir dilim şeklinde yerleşir ve dolayısıyla paleokorteks ve arkikorteks arasında yer alır. Bu aşamada yeni oluşan beyin diliminin büyümesi sonucu hipokampal korteks, lobus temporalis'e doğru itilir. Hipokampal yol olan forniks; ventriculus lateralis'in medial duvarında bir lif demeti şeklinde kalır ve hipokampus ile hipotalamus'un mamiller cisimciğini birbirine bağlar. Forniks'in, foramen interventriculare'nin önünde dallara ayrılan ayağı nuclei septalis'lere geçer. Beynin frontal kısmının genişlemesi sonucu, corpus callosum ile forniks arasındaki ventriculus lateralis'in gerileyerek incelmeyeyle oluşan septum pellucidum ortaya çıkar (Sadler 2005). Embriyogenez aşamasında sinyal yolları beyin gelişimi için önemli denetim mekanizmalarıdır. AKT/MAPK sinyal yolağı nöro-kardiyak gelişimin önemli bir aşamasını oluşturmaktadır. ERK sinyal yolağında oluşan bir bozukluk nöro-kardiyak sendromlar gelişmesine sebep olmaktadır. ERK yolağı gyrus dentatus gelişiminde birincil rol oynamaktadır. Bu yolağın inhibisyonu ilgili hipokampus bölgesinin gelişimini tamamlamasını engellemektedir (Vithayathil ve diğ. 2015).

Hipokampus arkikorteksin kortikal alanını içerir. Embriyoda; hipokampus, ventriculus lateralis'lerin duvarında bulunan ve foramen interventriculare'den temporal loba doğru uzanan kesintisiz bir yapıdır. Hipokampus, neokorteksin ve corpus callosum'un gelişmesiyle tamamen temporal loba doğru yer değiştirir. Yalnızca; forniks ve hipokampus'un lifleri, corpus callosum'un altında kalır. Olgun şeklini almış hipokampus, ventrikülüs lateralis'in tabanında yer alan kıvrımlı, deniz atı şeklinde bir yapıdır. Hipokampus içe girinti yaparken beynin dış yüzünde sulcus hippocampalis ortaya çıkar. Sulcus hippocampalis, fissura choroidea'ya paralel olarak seyreder. Koroid plağın bir bölümü, hipokampal invajinasyon ile birlikte involüsyona uğrayarak içeriye doğru yönelen gyrus dentatus'un kortikal bölgesini oluşturur ve olgunlaşmış hipokampus dokusu tipik yapısını kazanmış olur (Drews 2013).

1.3. Hipokampus Histolojisi

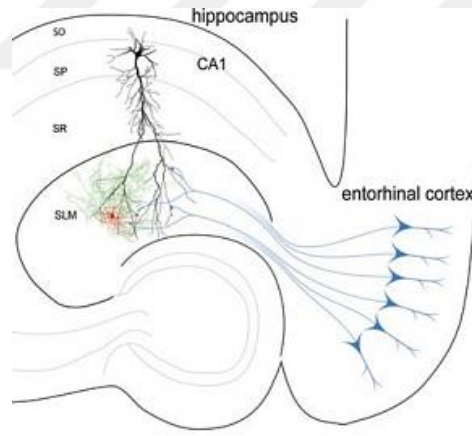
Hipokampus, fissura choroidea kavsinin dış parçasından gelişir. Hipokampus'un gelişimi ilgili bölgede yer alan öncü nöronların çoğalmas ve göç etmesi ile başlamaktadır. Fissura choroidea üzerinde bulunan hemisfer duvarı bir yandan kalınlaşırken, diğer yandan da

ventrikülün medial kenarına doğru bir çıkıntı yapmaktadır. Lateral ventrikül'ün medial kenarına doğru olan bu çıkıntı hipokampus'u meydana getirmektedir. Hipokampus fetal hayatın 13. haftasında gelişmeye başlar ve erişkinlerdeki şeklini alması 18-21. haftalarda olur. Lateral ventrikülün alt boynuz tabanı boyunca uzanan hipokampus'un ventriküle bakan yüzü konveks, hemisferin alt kısmına bakan yüzü ise konkav bir yapı özelliği göstermektedir. Hipokampus'un bütün ventriküler yüzeyi kendi hücrelerinden gelen aksonların oluşturduğu alveus ile örtülüdür. Alveus'u oluşturan bu lifler medialde yassı bir bant şeklinde birbirine yaklaşarak fimbria hippocampi'yi meydana getirir. Fimbria hippocampi arkada alveus ile birlikte crus fornicis'i oluşturur. İki tarafın crus fornicis'i arasında transvers eksende uzanan lifler bulunmaktadır. Commissura fornicis denilen bu lifler iki tarafın hipokampus dokusu arasında bağlantı yolu oluşturmaktadır (Zhang 2005).

Hipokampus, beyinde paleokortikal bir oluşum olarak tanımlanır. Neokorteksin aksine hipokampus esas olarak granül hücrelerinin oluşturduğu iki ve piramidal hücrelerin oluşturduğu bir tabaka olmak üzere üç esas (primer) nöron tabakasından oluşmaktadır. Bu tabakalar stratum poliforme, stratum piramidale ve stratum molekulare olarak adlandırılır. Üç tabakadaki hücrelerin dendrit ve aksonlarının farklı şekilde düzenlenmesiyle birçok sekonder tabaka da bu oluşuma eşlik etmektedir. Primer ve sekonder tabakalar ile birlikte; insan anatomisi ele alındığında, hipokampus stratum poliforme (oriens), stratum piramidale, stratum radiatum, stratum lacunozum ve stratum molekulare tabakalarından oluşur (Çizim 1.5). Hipokampus hücre tabakalarının histolojik ayrımları morfolojik incelemelerde önem arz etmektedir. Özelleşmiş hücrelerin dağılım ve etkileşimleri hücre tabakaları arasında hipokampus'un iç iletişim yollarına katkı sağlamaktadır. CA2 bölgesi hipokampus'te küçük bir alan kaplamasına karşın hücre yapıları ve Schaffer kollateral yolağı ile olan etkileşimi sebebi ile hafıza ile yakın ilişkilidir. Parvoalbumin pozitif interneuronlar açısından sıçan hipokampusleri incelendiğinde stratum piramidale ve stratum oriens tabakaları zengin; stratum molekulare ve stratum radiatum tabakalarında daha azdır. Bu hücre dağılımlarının koordinatlarının tam olarak bilinmesi hastalıkların patogenezinin aydınlatılmasında oldukça önemlidir (Botcher ve diğ. 2014). Histolojik olarak; ventriküler yüzeyden başlayarak derine doğru, hipokampus'a ait tabakalar şu şekilde sıralanır:

1. Stratum poliforme (oriens): Hipokampus'un en dış tabakası olup; stratum oriens olarak da adlandırılan bu tabaka, alveus ile stratum piramidale arasında bulunur. Stratum oriens'lerin içinde ağırlıklı olarak piramidal hücre yapıları bulunur. CA3 piramidal hücrelerin aksonları hem karşıda hemde aynı taraftaki üst piramidal bölgenin aşağı kesimlerinde sona erer.

2. Stratum pyramidale: Tüm katmanlarında piramidal hücreler vardır. Bu nedenle piramidal tabaka olarak adlandırılır. Stratum pyramidale dışındaki hipokampus bölgelerinde de çok miktarda piramidal hücre bulunur.
3. Stratum radiatum: Yoğun olarak akson demetlerinin bulunduğu tabakadır. CA3 piramidal hücrelerinin aksonları, hem karşıda hemde aynı tarafta bulunan üst piramidal bölgenin orta kesimlerinde sona erer. Gyrus dentatus granül hücrelerinin aksonları, yosunsu lifleri, üst piramidal demetlerden meydana gelen bölgenin proksimaldeki çoğu fonksiyonel birimleri içerir.
4. Stratum lacunosum: Diğer tabakalardan gelen zengin bir lif ağı içerir. Ekstrinsik eksitator nöron aksonlarının bulunduğu tabakadır. CA3 ve entorhinal korteksten gelen lifler üst piramidal bölgenin distalinde sona erer ve bu tabakayı oluşturur.
5. Stratum moleculare: En dışta bulunan tabakadır. Granüler ve piramidal hücrelerin dentritleri moleküler tabakaya yayılır. GABAerjik nöron hücrelerinin bulunduğu bir tabakadır. Ayrıca piramidal hücre tabakasında bulunan büyük piramidal hücrelerin dentritleri hem moleküler tabakaya hem iç tabakaya uzantılar verirler (Maccaferri 2011).



Çizim 1.5. Piramidal hücrenin hipokampus histolojik alt birimlerindeki konumu (Kaynak: www.kenhub.com).

Sıçan hipokampus'unun histolojik özelliklerinde de esas olarak granül ve piramidal hücreler bulunur. Sıçanlarda, hipokampal piramidal hücrelerin çoğu prenatal dönemde ortaya çıkar ve postnatal birinci ayda hipokampus tam anlamıyla fonksiyonel hale gelmektedir. Sıçanlar da dahil olmak üzere memeli hipokampus'unun; subiculum, gyrus dentatus ve entorhinal korteks'den meydana geldiği tanımlanmıştır. Subikulum, presubikulum ve parasubikulum

olmak üzere üç ana alt bölümden oluşur. Anatomik olarak subikulum'un bir ucu hipokampusun CA1 bölümü ile komşu iken diğer ucu presubiculum ile devam etmektedir. CA1 ile subikulum arasındaki sınır piramidal hücre tabakasının genişlemesiyle ayırt edilebilir. Subikulum bölgesi entorhinal korteks ve CA1 alanı arasındaki intirinsik yolda fonksiyonel önem kazanmaktadır. Subikulum histolojik olarak üç tabakaya bölünebilir: Bu tabakalar; piramidal hücrelerin apikal dendritlerini içeren yüzeysel moleküler tabaka, yaklaşık otuz hücre kalınlığında olabilen bir piramidal hücre tabakası ve onun derininde polimorfik hücre tabakasıdır. Presubiculum, subikulumun medialinde bulunurken; parasubiculum, entorhinal korteks ile subikulum arasındaki sınırı belirler. Gyrus dentatus (GD) bölgesinde granüler hücreler, CA bölgesinde piramidal hücreler bulunur. GD bölgesindeki granüler hücreler, CA bölgesindeki piramidal hücrelere kaynak oluşturmaktadır. GD bölgesinde yeni oluşan hücreler CA bölgelerine doğru göç etmektedirler (Xu ve diğ. 2015).

Sıçanlarda hipokampus dokusu Lorente de No tarafından kendi içinde; CA1, CA2 ve CA3 olmak üzere üç ayrı bölgeye ayrılmıştır. Bu tanımlamadaki CA2 ve CA3 alanları Ramon Cajal'ın yaptığı tanımlamadaki büyük hücreli "regio inferior" bölgesine, CA1 bölgesi ise küçük hücreli "regio superior" bölgesine karşılık gelmektedir. CA1 ve CA3 bölgelerindeki piramidal hücrelerin büyüklük farklılıklarına ek olarak bağlantı farklılıkları da mevcuttur. CA1 bölgesinde bulunan piramidal hücreler birbirlerine benzer morfolojideki hücreler tarafından oluşturulur. Fakat histokimyasal incelemelerde bu hücrelerin birbirinden farklı tiplerinin olduğu gösterilmiştir. Hipokampusun CA1 alanında 7-8 hücre kalınlığında ve birbirine paralel dizilen hücre sıraları bulunmaktadır. Bu alanda yüzeysel ve derindeki piramidal hücrelerin morfolojik yapılarının birbirinden farklı olduğu bilinmektedir (Fanselow ve Dong 2010). CA3 piramidal hücreleri gyrus dentatus'tan yosunsu liflerden uyarı alırken, CA1 piramidal hücreleri almazlar. Hipokampus'un CA2 alanı ise tartışmalı olup, CA3 ve CA1 arasında bulunur, bu iki alanın birbirine karıştığı dar bir geçiş yapısını oluşturmaktadır. CA2 alanı, CA3'teki gibi büyük hücre gövdeleri içerir; fakat CA1 hücreleri gibi yosunsu lif innervasyonu almazlar. CA2 bölgesi, çeşitli bakımlardan CA3 alanının uç parçası olarak kabul edilir (J.A. Gilley 2011).

1.4. Limbik Sistem ve Hipokampus

Limbik kelimesinin anlamı latince sınır veya kenar anlamlarına gelmektedir. Hipokampus'un limbik sistemin bir parçası olması ve beyinde bulunan bir çok bölge ile yakın ilişkisi fonksiyonunun tanımını zorlaştırmaktadır. Merkezi sinir sisteminin bazı yapısal birimleri duygu durum ile ilgili emosyonel reaksiyonlardan daha fazla sorumludur. Bu yapılar

limbik terimi adı altında sınıflandırılmaktadır. Bu yapılar merkezi sinir sisteminin en az anlaşılabilen ve en karmaşık yapılarından. Limbik sistem emosyonel hareketlerimizden ve içgüdülerimizden sorumlu olan özelleşmiş bir alandır. Limbik sistemin öğrenme, emosyonel davranış ve yakın hafıza ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Limbik sistem yapısını lobus limbicus ve ilişkili olduğu subkortikal yapılar oluşturmaktadır. Limbik sistem beyindeki subkortikal yapılar içerisinde sayılan; talamus, hipotalamus, hipokampus, pineal bez, hipofiz ve amigdala gibi nöroanatomik oluşumları içermekte olup bellek ile beraber duygudurum değişikliklerinden sorumlu bir bölgedir. Limbik sistemin bir parçası olarak hipokampus'un en önemli görevlerinden birisi emosyonel ve fonksiyonel davranışları düzenleyici rolüdür. Yapılan çalışmalar hipokampusun öğrenme ve hafıza sürecinde çok önemli rolü olduğunu göstermektedir. Hipokampusun kısa süreli belleğin uzun süreli belleğe çevrilme fonksiyonunu sağladığı ve bu süreçte önemli bir yerinin olduğu bilinmektedir. Bir başka ifadeyle, hipokampusun yeni bilginin kalıcı olmasına kadar zihnin onu tekrarlamasını gerektiren durumlarda; ilgili emosyonel durumlar için sinyaller üretip iletmediği ileri sürülmüştür (Sokolowski ve Corbin 2012).

Hipokampus'un bilinen diğer fonksiyonlarından biri de anıları depolama ve depolanan anıları tekrar hatırlamaktır. Hipokampus dokusunun CA3 ve CA1 bölgelerinin duyusal anıların depolanması için işlev gördüğü yapılan hayvan deneylerinden yola çıkılarak ileri sürülmüştür. Hipokampus nöronları arasında oluşan mikrodevreler, nöronların bilgiyi depolaması ve belli bir uyum içinde çalışması için oluşmuş devrelerdir. Bu mikrodevrelerin baskın uyarıcı hücreleri; piramidal hücre, granül hücresi ve yosunsu hücrelerdir. Bu hücreler arasında iletişim ağları vardır ve bu ağlar hipokampusun temel bilgi işleme yapılarıdır. Hipokampus her bir hemisferin mediotemporal lobunda bulunan önemli ve birçok özelleşmiş fonksiyonu bakımından eşsiz bölgelerdir. Hipokampus sağ ve sol hipokampus olmak üzere ikiye ayrılır ve her bir bölümün işlevselliği birbirinden farklıdır. Çoğu bireyde, baskın olan sol hipokampus öncelikle sözel öğrenme ve bellekte aracılık görevi görür. Ancak baskın olmayan sağ hipokampus sözel olmayan bellekte aracıdır. Yapılan çalışmalarda dorsal hipokampus uzaysal bellek işlemlerinden sorumlu tutulurken, ventral hipokampus amigdala ile olan anatomik ilişkisi nedeni ile anksiyete de rol oynamaktadır. Sıçanlardaki fonksiyonlarına bakılacak olunursa; hipokampus diğer memelilerde olduğu gibi kemirgenlerde de çeşitli hafıza görevleri için kritik bir öneme sahiptir (Lee ve Hynds 2013). Hipokampus'un öğrenme ve hafızadaki önemi kemirgenlerde iyi tanımlanmıştır. Kemirgenlerdeki hipokampus özellikle uzaysal öğrenme ile ilişkilidir. Hipokampus'un, 1948 yılına kadar sadece koku ile ilgili olduğu sanılıyordu. Daha sonra koku yollarının gelişmediği insanlarda, hipokampus'un normal

geliştiği izlenmiş olup; anatomistlerin bu konu üzerinde yaptıkları çalışmalarda da hipokampus gelişiminin bulbus olfactorius'un gelişiminden farklı olduğu gösterilmiştir.

Yapılan elektrofizyolojik çalışmalar sonucu; çoğu duysal uyarı (görme, işitme, koku, dokunma, iç organ duyuları), küçük bir hipokampal hücre grubu dahi olsa, hipokampus dokusunda elektrokimyasal aktivitelere sebep olur. Hipokampus; ventral talamus, hipotalamus ve limbik sistemin diğer bölgelerine uyarılar gönderir. Böylece, hareketlerin davranış şekline dönüşmesinden önce; limbik sistemi etkileyen hipokampus, davranışların şekillenmesine katkıda bulunmuş olur. Bu sebeple, hipokampusun, limbik sistem içerisinde gelen duysal sinyalleri içerisinde geçiren ek bir kanal rolü oynadığı düşünölmektedir.

Anatomik olarak geniş bir bölgeye yayılmış olan limbik sisteme ait yapıların arasında bağlantı sağlayan birçok anatomik yolak bulunmaktadır. Bu yolların önemli bir kısmı limbik sistem ve hipotalamus arasında afferent ve efferent bağlantı sağlayarak bazı emosyonlar ile ilgili visseromotor cevapların düzenlenmesini sağlayan aksonal liflerdir.

Limbik sistemin duygulanım üzerine önemi literatürde ortaya konulmakla birlikte, limbik sisteme katılmış ve fonksiyonları halen tam anlamı ile ortaya konmamış birçok yapı mevcuttur. Limbik sisteme ait yapıların bazı fonksiyonları birbiriyle kesişme gösterirken bazı fonksiyonlar da spesifik yapılara özeldir. Genel olarak bakıldığında hafıza, duygulanım, öğrenme, emosyonel davranış, motivasyon ve ödüllendirme duyuları gibi fonksiyonlardan sorumludur. Limbik sistemin anatomik yapılarının fonksiyonel özellikleri ile ilgili bilgiler genelde elektriksel stimulasyon, kayıt ve ablasyon deneyleri sonucu elde edilmiştir. Örneğin; hipotalamus'un emosyonel uyarı üzerine olan etkileri ile ilgili ortaya konmuş bilgiler, deney hayvanlarında tüm cortex cerebri, nuclei basales ve thalamus'un büyük bir kısmının çıkarılması sonucu deneysel olarak gösterilmiştir. Gyrus cinguli'nin bilateral olarak çıkarıldığı maymunlarda, bu hayvanların aşırı derecede uysallaştığı gözlemlenmiştir. Gyrus cinguli'nin korteksin assosiasyon bölgelerinden afferent lifler aldığı bilinmektedir. Papez halkası, cerebral korteksin; gyrus cinguli aracılığı ile hipokampus'u, hipokampus'un da hipotalamus'u etkileyerek bazı emosyonların dışı vurulmasında ortaya çıkan otonom aktivitenin düzenlenmesini sağlayan bir devre oluşturduğu bilinmektedir (Varela ve diğer. 2014).

Papez'in önermesinde duygulanımın; yüksek kortikal bölgelerle de ilintili olduğu ve bu sebeple hipotalamus, duygulanım merkezlerinin üst kortikal alanlarla resiprokal olarak haberleştiğini vurgulanmıştır. Hipoteze göre; hipotalamus duysal enformasyonu corpus mamillare aracılığıyla gyrus cinguli'ye, tractus mamillothalamicus ile de nuclei anteriores thalami'ye iletmektedir. Korteks ise forniks üzerinden hipotalamus ile bağlantısı olan

hipokampus aracılığıyla hipotalamik fonksiyonu düzenlemektedir. Halen kabul gören bu hipoteze bilim ilerledikçe; asosiyasyon korteksi, gyrus cinguli ve entorhinal korteks de dahil olmuştur. Hipokampus, entorhinal korteks'ten subiculum içerisinde seyreden perforant yollar ile ileti alır. Subiculum ise hipokampus'tan uyarılar alan ve neokorteks ile resiprokal innervasyonları bulunan bir kortikal alan olarak karşımıza çıkmaktadır.

Broadmann'ın tarifleriyle, limbik sistem şu yapılardan oluşmaktadır:

1- Prepiriform ve periamigdal korteksler olarak isimlendirilen paleokortikal yapılar uncus'taki ambiens ve gyrus semilunaris'te yerleşmişlerdir. Filogenetik olarak bakıldığında bunlar beynin daha eski yapılarıdır, başlıca koku fonksiyonu ile ilgili anatomik birimlerdir ve amigdala ile yakın ilişkileri bulunmaktadır. Kokudan başka emosyonel olarak beslenme ve cinsellik gibi davranışlarda da rol oynarlar.

2- Hipokampus hafıza ile ilişkili olup, beynin hatırlama fonksiyonu ile ilgilidir. Aslında 1937'de Papez'in tanımladığı; papez halkası olarak bilinen, hipokampo-mamillo-talamo-singulo-hipokampal yolağın önemli bir bileşenidir. Getirici yolların çoğu gyrus parahipokampalis (T5)'ten gelir. Götürücü yolağı ise; hipokampus'u, corpus mamillare'ye ve nuclei septalis'lere bağlayan forniks tarafından oluşmuştur.

3- Amigdala iki işlevsel gruba ayrılabilir. Filogenetik açıdan en eski grup, anterior, kortikal ve bazal nukleus'un yarı kısmında yer alan bazal aksesuar nukleuslar tarafından oluşturulurlar.

Getirici yollar sıklıkla olfaktör yollardan ve karşı amigdaladan gelir. Başlıca projeksiyonları hipotalamus'a, septal nukleus'lara ve habenula'ya doğru seyreder. Getirici yolları, gyrus cinguli ve hipokampus'tan gelir. Diğer projeksiyonları talamus'un dorsomedial çekirdeğine ve sonra da neokortekse olur. İşlevine bakıldığında hipotalamus tarafından oluşan bazı duygusal davranışların şekillendirilmesinde rol oynamaktadır (Vann 2013).

Hipokampus'un, özellikle kısa süreli hafıza fonksiyonu ile ilgili olduğu bilinmektedir. Hipokampus'un endokrin fonksiyonu üzerinde de durulmaktadır. Örneğin; hipokampus'un ön bölgesinde östradiolü konsantre eden nöronlar saptanmıştır. Sıçan deneylerinde ise hipokampusun uyarılması ile ovulasyonda inhibisyon meydana geldiği gösterilmiştir. Ayrıca forniks'in kesilmesi ile oluşan durumlarda, hayvanların ACTH hormonu salınımında bozukluk saptanmıştır. Hipokampus'un heyecan uyandıran reaksiyonlar veya heyecanın kontrolü, iç organlara ait aktivitenin düzenlenmesi ve serebral korteks üzerine olan retiküler aktivitenin ayarlanması gibi fonksiyonlara da katıldığı kabul edilmektedir (Scharfman ve Maclusky 2006).

1.5. Hipokampus Nörobiyolojisi

Hipokampus dokusu temel limbik sistem bölgeleri içinde birçok diğer yapı ile bağlantı içindedir. Hipokampus; amigdala, hipotalamus, septal bölge ve mamiller cisimler ile çok sayıda dolaylı akson bağlantıları bulunmaktadır. Limbik sistemin önemli bir parçası olan hipokampus; duygulanım, öğrenme ve hafıza fonksiyonları üzerine önemli rol oynamaktadır. Hipokampus iletim yolları arasında en büyük çıkış yolu olarak forniks aracılığı ile ön talamus, hipotalamus ve limbik sistemin diğer bölgelerine sinyaller gönderir. Hipokampus, yeni elde edilen bilgilerin depolanması ve anıların kısa süreli hafızadan uzun süreli hafızaya geçirilmesinde frontal korteks ile önemli bağlantı fonksiyonu bulunmaktadır. Hücre bağlantı araştırmalarında bir yöntem olarak kullanılan tract-tracing metodu ile yapılan çalışmalarda medial temporal lobun; prefrontal korteks (PFC), cingulate korteks ve posterior parietal korteks ile bağlantılı olduğu bilinmektedir. (Nee ve Jonides 2014).

Bazı patolojik durumlarda da hipokampal nörogenez etkilenebilmektedir. Alzheimer, parkinson, huntington hastalığı ve şizofreni gibi hastalıklarda nöral hücre proliferasyonunun ve yeni doğan nöronların sağkalımının azaldığı bildirilmiştir. Hipokampus'un fonksiyonel özelliklerine bakılırsa; hafıza oluşturma görevinin yanı sıra diğer limbik yapılarla da oluşturduğu önemli bağlantılar sebebiyle duygulanım ve visseral görevlerinin de olduğu bilinmektedir. Hafıza oluşumunda hipokampus'un gyrus parahippocampi gibi çevre yapılarla beraber çalıştığı da yaptığı bağlantılar sonucunda ortaya konulmuştur (Chen ve diğ. 2015).

Status epilepticus'ta DG'da hücre proliferasyonunun güçlü bir şekilde uyarıldığı, daha ciddi nöbetlerde ise yeni doğan nöronların hayatta kalma oranının artan nöbet ciddiyeti ile birlikte azaldığı gösterilmiştir. Epilepside uzun süreli nöbetler gyrus dentatus'ta bulunan granül hücre öncüllerinin göçünü bozmaktadır ve ektopik granül hücrelere neden olmaktadır. Hipokampusu de içeren iletim yollarında oluşacak dejenerasyonlar nöron homeostazisini etkileyerek hücre fonksiyon kayıplarına sebep olur. Ektopik granüler nöronlar hipokampal devreye anormal bir şekilde girmekte ve ağın aşırı uyarılabilir olmasına neden olmaktadır. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar, iskemi ve travma gibi dejeneratif faktörlerin nöral progenitör hücrelerin proliferasyonunu uyardığını göstermektedir. Nöral progenitör hücrelerin işlevsel devrelere entegre olabilen yeni nöronlar oluşturabilme yeteneğine sahip olması iskemi, travma ve dejeneratif beyin hastalıkları için yeni bir araştırma konusu oluşurmaktadır (Althaus ve diğ. 2016).

Birer mediatör olarak beyin nörotrofik faktörleri; nöronların hayatta kalmasını, gelişmesini, farklılaşmasını ve korunmasını sağlayan nöropeptidlerdir. Nöronlar, sinaps oluştururken aksonların yönlenme hareketleri de nörotrofinlerce düzenlenir. Bu mekanizmada rol oynayan moleküller "semaforinler"dir. "Uzaklaştırıcı nörotrofik faktörler", aksonların kendilerine zıt yönde uzamasını sağlarken; "çekici nörotrofik faktörler" akson uzamasını kendi doğrultusunda destekler. Bu durumda, aksonlarca oluşturulacak sinapsların karakteri de nörotrofik faktörlerce belirlenmiş olur. Nöronların oluşturduğu dendrit sayıları, nöronlar ve destekleyici glia hücreleri tarafından sağlanan nörotrofik faktörlerle artırılabilir. Bunun sonucunda da sinaptik bağlantılar şekillendirilir. Nörotrofik faktör varlığı; dendrit miktarında artış sağlarken, yokluğu da azalmayı getirir. Erişkin yaşamda nöronlar arası iletişimde rolleri bulunmaktadır (Shi ve diğ. 2010). Nörotrofik faktör salınımı çoğu kez sinaps sonrası nörondan, sinaps öncesi nörona iletilen bir tür pozitif geri bildirim olarak değerlendirilebilir. Nöron hücre dengesinin devamı için biyolojik geri bildirimler homeostazis'in korunmasında önemlidir. Bu şekilde doğru hedefe ulaşan uyarıların devamı sağlanırken hedef hücrede karşılık bulmayan uyarılar da ortadan kaldırılmış olur. Akson ucundan salınan nörotrofik faktörler bulunabildiği gibi, bazı nörotrofik faktörler hem nöronlarda hem de glia hücrelerinde sentezlenirler. Stres glial hücreler aracılığı ile nöromodülatörler salınmasına sebep olur ve bu tür etkiler sinaptik disfonksiyonlara sebep olmaktadır. Belirli biyolojik durumlar karşısında hücrel cevap olarak salınan nörotrofik faktörler sinaps plastisitesinde de önemlidir (Rial ve diğ. 2016).

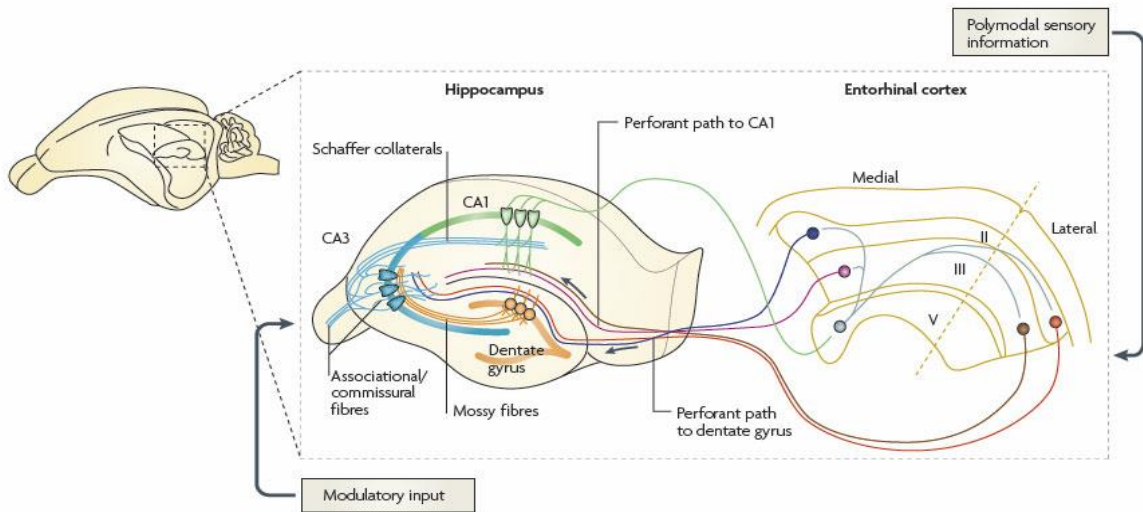
Stres; fizyoloji-psikoloji-psikiyatri ve tıp bilimlerinin tümünü kapsayan hipotetik bir kavramdır. Yirminci yüzyılın erken dönemlerinde Cannon homeostazis'e karşı "kaç ya da savaş" tanımını (flight or fight) kullanmıştır, bedenin yararlı olan homeostazis'ini yeniden kurmak için harcadığı çabayla stres tepkilerini göstermiştir. Daha sonra stres, Selye tarafından 1936'da canlı organizmaya yönelen ve genellikle zararlı olan nonspesifik bir uyarı ya da homeostatik süreçlerde değişikliklere neden olan herhangi bir durum olarak tanımlanmıştır. Stres tepkilerinin çekirdeğini adrenokortikal aks ve sempatik sinir sistemin aktivasyonu oluşturmaktadır. Strese karşı ilk değişimler saniyeler içinde meydana gelmektedir, böbrek üstü bezinin medullasından adrenalin ve sempatik sinir sistemi nöronlarının uçlarından noradrenalin gibi nörotransmitterler salgılanmaktadır. İç ve dış etkenler, kortikotropin serbestleyici faktör (CRF) başta olmak üzere nörobiyolojik mekanizmaları etkileyerek ön hipofizi uyarır ve hipofizde adrenokortikotropik hormon (ACTH) salgılanmasına neden olurlar. ACTH'da adrenal korteksi uyararak GC'lerin salgılanmasına yol açar. Bu yolak temel olarak strese karşı homeostazisin uyarana karşı olan yanıtını ve derecesini belirleyen endokrin yanıtları oluşturur (Campbell ve diğ. 2015).

Strese karşı oluşan tepkilerde nöron ve dolaylı olarak etkilenen immun sistem hücrelerinden salınan sitokinler de aktif rol oynamaktadır. Hücreler arası haberleşme ve reseptörler üzerinden hücre içi denge korunmasında sitokinlerin önemi bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda; normal bireylerle depresyonlu bireyler karşılaştırıldığında, enflamasyonun çoğu temel belirtileri depresyonlu bireylerde de gözlenmiştir. Depresyonda sitokinlerin, akut faz proteinleri, kemokinler ve adhezyon molekülleri ile prostaglandinler gibi enflamatuvar mediyatörlerin plazmada arttığı gösterilmiştir. Özellikle astrositler ve mikroglia hücrelerinin interlökin (IL), interferon (IFN), tümör nekrozan faktör (TNF) başta olmak üzere bir çok proinflatuar ve antiinflatuar sitokin, nitrik oksit (NO), prostoglandinler (PG) gibi endojen aktif maddelerin salınımına katkıları olmaktadır. Bu etkiler sonucunda; organizmada immünolojik, nörokimyasal, nöroendokrin ve davranışsal değişimler gösterilmiştir. Sitokinlerin beyinde nörotransmitter ve nöropeptidlerin hem sentezini hem de salınımını düzenleyici etkileri bulunmaktadır. Proinflatuar sitokinlerin (IL-1beta, IL-6, TNF alfa, PG'ler) artması astrosit ve mikroglia hücrelerinde de sitokin oluşumunu artırır u durum nörotoksik etki oluşmasına neden olur. Mikroglia hücreleri periferik enflamatuvar sinyalleri alırlar (Handley ve diğ. 2012). Bu şekilde aktive olan mikroglia hücreleri sitokinler, kemokinler, enflamatuvar mediyatörler ve reaktif oksijen bileşiklerinin artırılmasıyla enflamatuvar kaskadı başlatırlar. Sonuç olarakta damar endotel hasarları, vazokonstriksiyon sonucu oluşabilecek iskemik sonuçlar doğurarak nöron dejenerasyonları oluşabilmektedir. Mediatör olarak immun sistem elemanlarının nöron sağkalımında önemli görevleri bulunmaktadır.

Nörotrofik faktörler hücre sel işlevlerini hücre membranında bulunan reseptörlerine bağlanıp hücre içi sinyal ileti döngülerini düzenleyerek gerçekleştirmektedirler. Nörotrofik faktörler temel olarak iki tip reseptör aracılığı ile etkilerini göstermektedir; bunlar tirozin kinaz reseptörleri (Trk) ve pan-nörotrofik reseptör (p75)'lerdir. Trk reseptörleri; TrkA, TrkB ve TrkC olmak üzere üç tiptir. Sinir büyüme faktörü (NGF), Trk A reseptörüne bağlanırken; beyin kökenli nörotrofik faktör (BDNF) ve nörotrofin-4 mediatörleri Trk B reseptörüne; Nörotrofin-3 ise Trk C reseptörüne daha yüksek afiniteyle bağlanmaktadır. Nörotrofinlerin Trk proteinleri membranda yer alır. Bu reseptörlerin ekstraselüler kısmında nörotrofin ve diğer ligandların bağlanma bölgesi, intraselüler bölgesinde ise "kinaz" kısmı yer almaktadır. Hücre yüzeyinde bulunan reseptörlere bağlanan etkenler transmembran proteinleri vasıtasıyla hücre içi kaskatları etkilemektedir. Stres ile yakın ilişkisi bulunan nörotrofik faktörler nöron hücre homeostazisi için önemlidir (Moosavi ve diğ. 2015).

Hipokampus, bilgilerin hafızaya kaydedilmesi için önemli bir beyin bölgesi olduğundan hipokampus'de yeni üretilen nöronların yeni anıları kodladığı düşünülmüştür. Nöron göçü ve

progenitör kök hücrelerden türeyen yeni hücreler organın plastisitesini değiştirmektedir. Hipokampus'deki sinaptik plastisitenin anıların kazanılmasına ve saklanmasına katkıda bulunduğu kabul edilmektedir. Plastisitenin altında yatan yapısal değişiklikler dendritik dikenler, dendritler ve aksonlar düzeyinde meydana gelmektedir. Erişkin dönemde üretilen nöronların öğrenmedeki rolü ilk defa Goldman ve Nottebohm tarafından kanaryaların yeni ötüş şekillerini öğrenmeleri göz önüne alınarak çalışılmıştır. Daha sonraki çalışmalarında tohum arama davranışı ile hipokampus'un kuşlardaki homologu olan bölgeyi ilişkilendirmişlerdir. Böylece erişkin nörogenezin spasyal öğrenme ve hafıza için önemli olduğu fikri ortaya çıkmıştır. Öğrenme ve hafızanın oluşturulmasının erken döneminde hipokampal nörogenezin önemli rolü olabileceği düşünülmüştür. Hipokampus uzaysal hafıza için esastır. Entorhinal korteks hipokampus'e spasyal bilgiyi sunmaktadır. Mekanizmanın şematik gösterimi Çizim 1.6'da verilmiştir. Çalışmalar, hipokampal DG'de spasyal hafıza engramlarının kodlandığını göstermiştir. Bilginin kazanılması ve son öğrenilenlerin geri çağırılmasında hipokampus birincil öneme sahiptir. Öğrenilmiş bilginin uzun süreli hafızaya aktarılmasında yani konsolide edilmesinde de hipokampus gereklidir. Konsolidasyon uzun süreli hafızayı oluşturmak için hipokampus ile medyal prefrontal korteks, orbitofrontal ve anterior singulat korteks gibi neokortikal yapılar arasında zamana bağlı olarak etkileşimi ifade etmektedir. Devam eden nörogenezin, bilgilerin hipokampus dışında kortikal yapılarda depolandıkça hipokampustaki eski bilgilerin silinmesi ve böylece hipokampusta yeni bilginin depolanmasına olanak sağlayan aktif bir süreç olduğu düşünülmektedir. Hipokampal DG'de erişkin nörogenezin işlevsel önemi, nörogenezin eski anıların silinerek yeni anıların kaydedilmesi için yer açılmasını sağlayan bir işlev olarak tanımlanmasıyla açıklanmıştır (Brandalise ve Gerber 2014).



Çizim 1.6. Hipokampus affarent ve efferent yolları (Kaynak: <http://www.course.sdu.edu.cn>).

Hipokampus’de CA3 alanında bulunan hücrelerin en önemli özelliği, gyrus dentatus ve granüler hücrelerinden gelen mossy lifleri’ni almasıdır. Buradaki piramidal hücrelerin boyutu diğer alanlardaki hücelere göre daha büyük olarak gözlenmektedir. Piramidal hücrelerin en yoğun olduğu alan ise CA2 alanıdır ve bu alanda mossy lifleri’nin kaybolduğu görülür. Supramamillar bölge ve hipotalamus’tan CA2 alanına yoğun lifler gelmektedir. Hipokampus’un en karmaşık bölgesi CA1 alanıdır. Büyüklükleri birbirinden farklı piramidal hücrelerin bulunduğu bu alandaki nöronların %10’nu internöronlar tarafından oluşturulmaktadır (Zhenzhong ve diğ. 2013).

Hipokampal sklerozisteki morfolojik değişiklikler ile ilgili detaylı çalışmalar bu durumla ilgili epilepsi gelişiminin mekanizması hakkında bazı hipotezler ortaya koymuştur. En iyi tanımlanmış olan değişiklik dentat granül hücrelerinden “mossy” lif aksonlarının oluşmasıdır. Normalde hipokampus’e eksitator uyarılar komşu entorhinal korteksten doğrudan hipokampal dentat granül hücrelerine gelmekte, inhibitör uyarılar ise lokal olarak iç moleküler katmandaki internöronlardan kaynaklanmaktadır. Dentat granül hücrelerinden kaynaklanan “mossy” liflerinin oluşturduğu aksonlar hipokampal çıkış yolağının bir parçası olan piramidal nöronlara uzanım gösterirler. Bahsedilen bu morfolojik değişimlere ek olarak, moleküler düzeyde oluşan değişiklikler de önemlidir. Bu değişimlerin en önemlisi hipokampal dentat granül hücrelerinin yüzeylerinde GABAA reseptörlerinin kompozisyonundaki ve ekspresyonundaki değişimlerdir. Normalde erişkinlerde GABA reseptörleri beş alt ünite içerir ve inhibitör görevleri vardır. Aktive olduklarında Cl⁻ iyonlarının hücre içine geçişine izin vererek nöronda hiperpolarizasyona sebep olurlar (Sancho ve diğ. 2012).

1.6. Hipokampus ve Stres

Stres etkenleri ile hücrel homeostazis düzenleyici sistemleri değişikliğe uğramaktadır. Düzenleyici bu yolların etkisi ile hücre reseptör regülasyonları farklılaşarak morfolojik değişiklikler oluşabilmektedir. Hipotalamik-pitüiter-adrenokortikal (HPA) ve sempato-adrenomedüller akslar stres maruziyeti sürecinde homeostazın sürdürebilmesinde birincil rol oynayan sistemlerdir. Bu yapılar salgıladığı nöromediatörler, hormonlar ve sitokinler ile kendilerinden sonra devreye giren morfolojik değişiklikleri etkilemektedir (Zhu ve diğ. 2014).

Stres aşamasının ilk etaplarında torakolumbal spinal kordun intermedialateral bölgesindeki preganglionik sempatetik nöronlarda aktivasyon oluşmaktadır. Bu preganglionik hücrelerin

aktivasyonu prevertebral ya da paravertebral ganglionlara ve bu da sırasıyla uç organlara ve adrenal medullanın kromafin hücrelerine iletilir. Bu aktivasyon Walter Canon'un ilk olarak tanımladığı "savaş ya da kaç" tepkisinin oluşmasını sağlar. Dokular ve organlarda stresin yol açtığı biyolojik hasar ve bozukluklara iskemi de eklenebilir (McLachlan 2007).

İskemi etkisi ile hücrelerden sentezlenen ve salınan hormonlar, interlökinler, prostoglandinler ve peptitler aracılığı ile kan akımının doku, organ beslenmesi ve oksijenasyonu için yetersiz düzeye inmesidir. Bu dokularda perfüzyon hasarlarına yol açabilmektedir. İskemik koşullar nedeniyle beyine yeterince kan akımının olmaması sonucu enerji metabolizmasında düşme, mRNA ve protein sentezinde azalma meydana gelir ve iskemik alanlar oluşur. Bunun sonucunda hedef alanlarda akut ve masif nöron ölümü meydana gelebilmektedir. Beyin iskemisi sadece iskemi alanındaki nöronlarda değil çevre alanlarda ki nöronlar üzerinde de etkilidir. Beyinde oluşan iskemik stres, komşu alanlarda da gecikmeli nöron ölümü diye adlandırılan süreci başlatmaktadır. İskemik alanlarda pectinl artışı sonrasında mikrotübül ile ilişkili proteinlerde değişimler görülmüştür. Daha sonra bu alanlarda ani ve yoğun hücre dejenerasyonuna ve buna bağlı etkilenen dokudaki fonksiyon kaybına sebep olurlar. Nöronlar en duyarlı hücrelerdir ve bunları astrositler, oligodendroglialar ve endotelial hücreler takip eder. Bir beyin bölgesi içerisindeki farklı nöron tipleri de iskemik hasara farklı duyarlılık gösterirler. Örneğin; hipokampus'un CA1 bölgesi, gyrus dentatus, dorsolateral striatum ve purkinje hücreleri iskemiye daha çok hassastırlar. Merkezi sinir sistemindeki hücrelerin iskemi süresine göre de duyarlılıkları farklıdır. Çalışmalar; hipokampusta CA1 piramidal nöronların geçici ön beyin iskemisini takiben yaklaşık 2-3 günde canlılıklarını yitirdiklerini, CA3 piramidal nöronlarının ve gyrus dentatus'un granül hücrelerinin ise canlı kaldığını göstermiştir. Ancak sinir hücrelerinin iskemiye olan duyarlılık farklılıkları ve seçici gecikmiş nöronal hasar mekanizmaları yoğun olarak araştırılmasına rağmen henüz tam olarak mekanizmaları açıklanamamıştır (Sheng ve diğ. 2015).

Nöronal plastisite; çevresel zorluklara karşı oluşan yanıt ve adaptasyonunu ifade eden, nöronal olarak yeniden yapılanmaya, yeni sinapsların ve nöronların oluşumuna neden olan bir dizi fonksiyonel ve yapısal mekanizmayı içine alan bir terimdir. Bununla birlikte, daha geniş anlamda, farklı çevresel taleplere karşı oluşan hücresel yanıtın nöronal kapasiteye göre farklılık göstermesinden de söz edilebilir. Bu mekanizmadaki bozukluklar, stres gibi çevresel zorluklarla mücadelede hassasiyete ve bir takım psikopatolojilere neden olmaktadır.

Kronik strese maruziyet, fiziksel olarak HPA eksenini ve sempatik sisteminin stres yanıtını kontrol eden beyin bölgelerinde yapısal ve fonksiyonel değişiklikler meydana getirir. Hipokampus ve prefrontal kortekste kronik stresin, apikal dendritlerin azalmasına ve piramidal

hücrelerdeki dallanmanın baskılanmasına neden olduğu gösterilmiştir. Buna karşın; bazolateral amigdala da dendritik dallanmada artış gözlemlendiği gösterilmiştir. Ayrıca, kronik stresin PVN'de de CRH ve vazopresin mRNA ekspresyonunu artırması gibi değişikliklere neden olduğu bilinmektedir (Geerling ve diğ. 2010).

Stres üzerine yapılan deneysel çalışmalar sonucunda; sıçanlara zararlı bir etkenin akut olarak uygulanması sonucu "genel adaptasyon sendromu" olarak adlandırılan bir tablo ortaya çıktığı gösterilmiştir. Bu sendrom da gözlenen belirtilerin, zararlı etkenin yapısından bağımsız olarak ortaya çıktığı iddia edilmiştir. "Genel adaptasyon sendromu" ya da "biyolojik stres sendromu" üç aşamayı içermektedir.

Strese yanıtta birinci aşama ilk 24 saati kapsar ve alarm evresi olarak tanımlanır. Bu evrede; vücut stres ile ilk kez karşı karşıya kalmanın karakteristik yanıtlarını oluşturmaktadır. Bu yanıtlar; endokrin organların hacimlerindeki ani azalma, gastrointestinal sistemde erozyonlar, adrenokortikal lipid ve kromafin maddelerin kaybı ile lakrimasyon ve salivasyon gibi otonom bulguları içermektedir (Tasker ve Herman 2011).

Eğer aynı stres etmeni ile karşı karşıya kalma durumu devam ederse alarm reaksiyonları kaybolur, adrenal bezlerin büyüdüğü, gonadların atrofiye olduğu, vücut gelişiminin durduğu adaptasyon enerjisi yardımı ile vücudun direncinin arttığı ikinci aşama olan direnme evresine geçilir. Bu evrede adaptasyon enerjisi stres hormonlarındaki değişiklik ile adrenal bezden kortizol ve adrenalin salgısının artması ile sağlanır. Bu süreçte canlının Hipotalamo-Hipofizo-Adrenal (HPA) aksı aktiftir, vücut kronik stres ile başa çıkmaya çalışmaktadır.

Bu evreler sırası ile akut stres reaksiyonu, kronik başa çıkılabilir stres ve kronik başa çıkılamayan stres olarak da tanımlanabilir. İlk iki aşama strese verilen fizyolojik yanıtlardır, üçüncü tükenme evresi ise stresin patolojik sonucudur. Tarif edilen genel adaptasyon sendromunun en önemli özelliklerinden biri, bir çok stres faktörü tarafından oluşturulabilen bu fonksiyonel değişimlerin, uygulanan stres uyaranlarının yapısal ve genel özelliklerinden bağımsız olmasıdır. Bundan dolayı da stres nonspesifik bir yanıt olarak tanımlanmış ve bu nonspesifik yanıtların ortaya çıkmasını sağlayan uyaranların tümüne birden stresör denmiştir (Radley ve diğ. 2011).

Lazarus, stres ve onunla baş etme üzerine oluşturduğu transaksiyonel modelinde, eğer stresli bir olay algılanırsa, stres yanıtı ortaya çıkar. Bunu takiben birey olayı ikinci bir değerlendirmeye tabi tutar ve algılanan stresle olan mücadele stratejilerinin yeterli olup olmayacağını anlamaya çalışır. İkinci değerlendirmeden sonra birey bu stres etkeni ile duygusal, bilişsel, davranışsal ve fizyolojik olarak mücadele eder.

Stresin tipi, hangi koşulda meydana geldiği, bireyin genetik yapısı, yaşı ve cinsiyetine ek olarak stresin ortaya çıktığı ana denk gelen sirkadyen ritm evresi gibi faktörler de göz önünde bulundurulduğunda ortaya oldukça zengin ve kompleks bir yolaklar ağı çıkmaktadır. Her bir stresli durum, merkezi sinir sisteminde bulunan nöronal topluluklar tarafından ortaya konulacak etkili bir yanıt ve işbirliğine ihtiyaç duymaktadır. Bu işbirliği ise stres yanıtına dahil olan moleküllerin farklı zaman, konum ve koşullarda bir arada görev almasıyla farklı stresli durumlara özgü yanıtların oluşmasına neden olmaktadır. Her bir stres aracısının kendi sınıfına özgü, konuma ve zamana bağlı bir etki alanı bulunmaktadır. Bu stres araçları genel olarak üç ana sınıfta toplanmaktadır: Monoaminler, nöropeptidler ve steroidlerdir (Yuan ve diğ. 2009).

Stres sonrası artmış monoamin salınımı, hipokampus, amigdala, prefrontal korteks ve nukleus acumbens gibi beyin bölgelerinde gösterilmiştir fakat bu bölgelerle sınırlı kalmadığı düşünülmektedir. Buna karşın, bu salınımın sonuçlarının uzamsal dağılımı, monoamin reseptör alt tiplerinin afiniteleri ve beyindeki konumlarına bağlı olarak değişmektedir. Bu yüzden her bir stres aracısının salındığı beyin bölgesi ile bağlandığı reseptöre afinitesinin ve beyindeki konumunun kombinasyonu, ona pek çok farklı uzamsal etki alanı ve işlev kazandırmaktadır.

Stres nedeni ile belirli nöronal popülasyonlardan salınan bir dizi nöropeptid, pek çok reseptörün aktivasyonu yoluyla stres yanıtına dahil olmaktadır. Kortikotropin salıverici hormonun (CRH), strese yanıt olarak hipotalamik akson terminallerinden salındığı ve hipofizdeki reseptörlerde etkinlik gösterdiği bilinmektedir. Bununla birlikte, amigdala, hipokampus ve locus ceruleus (LC)'taki nöronal popülasyonlarda da eksprese edildiği gösterilmiştir. Bu peptid, salınımından itibaren birkaç saniye içerisinde lokal etkinliğini G protein kenetli reseptörler olan CRHR-1 ve CRHR-2 üzerinden göstermeye başlar.

CRH reseptör konumunun, CRH dozuna bağlı olarak elektrofizyoloji, gen ekspresyonu ve davranış üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir. Buna, akut stres sırasında amigdala'nın santral çekirdeğindeki CRH salınımının bellek konsolidasyonunu artırması, orta şiddetteki stres nedeni ile hipokampal internöronlardan salındığı gösterilen CRH'nun uzun süreli potansiyalizasyona öncülük etmesi ve bellek işlevini iyileştirmesine yönelik çalışmalar örnek olarak gösterilebilir. Bununla birlikte, şiddetli strese cevaben salınan yüksek miktarlardaki hipokampal CRH'nun hipereksitabiliteye ve CA3 piramidal hücrelerdeki dendritik uzantıların ani kaybına neden olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Aguilera ve diğ. 2012).

Stresin beyin üzerindeki etkileri stresin düzeyine bağlı olarak açıklanmaktadır. Ağır veya uzun süreli stres zararlı iken, kısa ya da orta süreli stres nöral işlevi arttırabilmektedir.

Kemirgenlerde hafıza işlevi üzerine yapılan davranışsal çalışmalar da ılımlı stresin hafıza işlevini güçlendirdiğini, ciddi stresin ise zayıflattığını göstermiştir.

Kronik stresin hipokampal nörogenezi azalttığı gösterilmiş olsa da bunun altında yatan biyolojik mekanizma tam olarak bilinmemektedir. Hipotalamus-hipofiz aksının (Hypothalamic Pituitary Adrenal Axis; HPA) bu süreçte önemli rol oynadığı bilinmektedir.

Stres aynı zamanda hipokampus'de glutamat salınımını artırmakta ve güçlü eksitasyon hücre proliferasyonunu azaltmaktadır. Stres, beyindeki trofik desteği de azaltmaktadır. Davranışsal boyutta stres hipokampal nörogenezle ilişkili olan öğrenme ve hafıza ile duygudurum bozukluklarını etkilemektedir. Kronik stres, sıçanlarda hipokampusun CA3 piramidal nöronlarının apikal dentritlerinde yapısal değişikliklere neden olmaktadır. Çalışmalar, sıçanlara 21 gün boyunca 6 saat immobilizasyon stresi uygulanmasının, hipokampusun CA3 bölgesindeki piramidal nöronlarda dendritik atrofiye yol açtığı ve bu bölgedeki nöronların uzamalarını ve dallanmalarını engellediğini göstermiştir. Kronik stres nedeni ile hipokampus'de ortaya çıkan yapısal değişikliklerin geriye döndüğünü bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. Sözü edilen yapısal değişiklikler hipokampus'un önemli işlevlerinden olan uzaysal belleğin bozulması ile sonuçlanmaktadır (Radley ve diğ. 2011).

Kortikosteroid (CORT)'ler normal şartlarda sirkadyen ritme uygun olarak belirli periyotlarda ve miktarda salınmaktadır. Bununla birlikte, stres ile salınan CORT miktarında paralel bir artış meydana geldiği bilinmektedir. Hem normal şartlarda salınan hem de stresle salınımı indüklenen CORT, stres yanıtının periferik ve santral etkilerinin entegrasyonunu sağlayacak şekilde hipokampus tarafından yönetilir. CORT'lerin beyine erişiminin regülasyonu konusunda P-glikoprotein'in etkin bir rol oynadığı düşünülmektedir.

CORT'ler salındıktan sonra reseptöre bağlanmadan önce pek çok safhadan geçerler. CORT, kanda %90 oranında kortikosteroid bağlayıcı globuline bağlı bulunur ve yalnızca serbest CORT kan – beyin bariyerini ve hücre zarını geçebilir; sitoplazmaya girdikten sonra MR ve GR'ye bağlanır ya da 11-beta hidroksisteroid dehidrogenaz enzimiyle indirgenirler. CORT'ler reseptörlere bağlandıktan sonra gen transkripsiyonunun regülasyonu için hücre çekirdeğine taşınır. Bu sebeple, nöronal fonksiyon üzerindeki steroid etkisi, en az bir saat içerisinde ortaya çıkar ve saatlerce hatta günlerce sürebilir (Hodes ve diğ. 2012).

Hipokampal bölgeye olan projeksiyonların temel kaynağı, entorhinal kortekstir. EC'ye gelen kortikal girdilerin yaklaşık üçte ikisi bitişik parahipokampal korteks ve perirhinal kortekslerden gelir. Entorhinal korteks aynı zamanda orbitofrontal korteksten, insular korteksten, singular korteksten ve superior temporal girustan girdiler de alır. Bu projeksiyonların tümü resiprokaldir. BLA ve EC arasındaki bağlantı, anıların yalnızca nesnel

içerikleri değil emosyonel içerikleri ile de hatırlanabilmesi açısından önemlidir (Varela ve diğ. 2014).

Plastisite açısından nöronun en dinamik bölümü dendritlerdir ve sinaptik plastisiteye bağlı olarak pek çok değişiklik meydana gelebilir. Dendritlerde kırılma, dallanmalarında azalma veya artma, boylarında uzama olabilir. Duruma göre yeni sinapslar oluşabilir, yeni nöron oluşabilir veya bazı sinaptik bağlantılar kaldırılabilir. Bu nedenle hem nörojenesis hem de nöron ölümü plastisitede önemli birer faktördür. Örneğin stres faktörlerinin neden olduğu depresyon gibi durumlarda; dendritik işlevler, sinaps sayısı, aksonal dallanma, uzun süreli potansiyalizasyon (LTP) ve nörojenesis açısından değişiklikler önemlidir. Özellikle HPA ekseninin aktive olduğu stres durumlarında hipokampus'de nörojenestide azalma, nöronal atrofi ve apoptozisin görüldüğü bunun da depresyona yatkınlık oluşmasını tetiklediği gösterilmiştir (Huang ve diğ. 2014).



2. AMAÇ

Çalışmamızda kronik öngörülemez stresin hipokampus dokusu üzerine olan morfolojik etkilerini incelemeyi amaçlamaktayız. Stres beyin işleyişi için önemli düzenleyici bir etkidir. Beynin nörobiyolojisinde bir çok stres bağımlı biyolojik yolak bulunmaktadır. Kronik stres; hormonlar, nörotransmitterler ve sitokinlerde oluşan değişim yolu ile beyin arterleri ve dokularında morfolojik doku farklılaşmalarına yol açabilmektedir. Beyin hastalıklarında predispozan etkenlerin de varlığı ile doku alanlarına göre çeşitli beyin hastalıklarının insidansı artabilmektedir (Fleshner ve diğ. 2011). Kronik stres süreci organizmanın hemostazisini sağlaması için adaptasyonlara sebep olur. Bu adaptasyonlar strese karşı oluşacak yanıtı düzenleyen hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) aksın düzenlenmesini sağlar. Bu yollardan salınan aracı biyolojik etkenler, hücre düzeyinde birçok biyolojik yapının yeniden düzenlenmesini ve organizmanın fizyolojik yapısının stres ortamına uygun hale gelmesini sağlar. Çalışmamızda kontrol ve stres protokolü uygulanmış hayvanların hipokampusleri uygun histolojik metodlarla incelenecek ve gruplar arası morfolojik yapıları karşılaştırılacaktır. Hipokampus'un cornu ammonis ve gyrus dentatus bölümlerini; gruplara göre kendi içerisinde değerlendirip, özel hücre dizilim morfolojilerinde ve hücre sayılarındaki farkları karşılaştırılacaktır. Bu karşılaştırma ile kronik stresin hipokampus dokusuna ne ölçüde etki ettiği ve bu etkilerin organın hangi alt biriminde ne ölçüde olduğu belirlenecektir.

3. MATERYAL ve METOD

Çalışmanın etik onayı Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'ndan 2015/44 sayılı proje numarası ve 11/1-2015 karar numarası ile 12.11.2015 tarihinde alınmıştır.

Hayvan seçiminde Wister albino türü dişi sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar 4 aylık dişilerden seçilmiştir. Sıçanlar, Kocaeli Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi'nin (DETAB) hayvan yetiştirme laboratuvarında üretilmiş ve yetiştirilmiştir. Deneylein uygulama ve cerrahi aşaması da DETAB bünyesinde bulunan cerrahi operasyon odalarında yapılmıştır.

Deneyle hayvanı yetiştirme odalarında; oda şartları standartlara uygun, ısısı ortalama 20 °C ve nem oranı %20-40 arasında klimalı sistemlerle sağlanmaktadır. Sıçanlar deneyle süresince standart kafeslerde dörderli gruplara ayrılarak muhafaza edilmiştir. Yemleri sıkıştırılmış ticari sıçan yemleri ile sağlanmıştır. Sulukları çeşme suyu ile doldurulup içmeleri sağlanmıştır. Gece gündüz döngüleri 12 saat olarak ayarlanmış ve uygulanmıştır. Kontrol grubundaki sıçanların bu şartlar altında yaşamasına ve dışardan herhangi bir uyarana yada işleme maruz kalması engellenmiştir.

Çalışmamızda uygulanan stres modeli olarak; kronik öngörüleemeyen stres protokolü uygulanmıştır. Stres modeli oluşturmak amacı ile sıçanlara literatürde daha önce Willner P. tarafından tanımlanmış stres modeli protokolü uygulanmıştır.

Willner P. tarafından uygulanan modelde deneyle süresince çeşitli stres etkenleri uygulanmaktadır. Bu sürecin amacı; sıçanların, stres faktörüne alışmasını engellemek ve ilgili stres etkenlerinin etkisini kaybetmemesini sağlamak olarak tanımlanır.

Çalışmamızda deneyle grubu ve kontrol grubu olmak üzere iki grup oluşturulmuştur. Deneyle grubunda 9 adet wister albino dişi sıçan ve kontrol grubunda da 8 adet wister albino dişi sıçan kullanılmıştır. Herbir sıçanın durum takibi ve ayrımının yapılabilmesi için kuyruklarından farklı renklerde boyanmışlar ve hayvanların deneyle süresi boyunca takipleri yapılmıştır. Deneyle grubuna, kronik stres sürecini oluşturmak için 28 gün (4 hafta) boyunca hergün bir tanesi ve farklı bir etken olması şartıyla stres süreci uygulanmıştır. Kontrol grubuna herhangi bir işlem uygulanmadan çalışma süresi boyunca standart yaşamlarını sürdürmeleri sağlanmıştır.

Bu süreçte; deneyle grubuna, 8 farklı stres etkeni hergün bir adet olmak üzere uygulandı. İlgili stres sürecinde uygulanan farklı stres etkenleri aşağıda sıralanmıştır.

Kronik öngörüleemeyen stres modeli faktörleri:

1. Kafes eğimlendirme 45°/24 saat
2. Kuyruktan asma 1 dakika
3. Soğuk suda yüzdürme 4 °C/ 5 dakika
4. Sıcak suda yüzdürme 45 °C/ 5 dakika
5. Gece gündüz döngüsü değiştirme
6. Kafes sallama 10 dakika
7. Kafes ıslatma 200 mL/24 saat
8. Kafesler arası talaş/eş değiştirme/24 saat

Stres etkenlerinin deney süresince hayvanlara uygulanmasında, etkenlerin günlere göre dağılımları rastgelelik esasına göre belirlenmiştir. Herbir stres etkeni hayvanlara 2 veya 3 kere uygulanmıştır. Uygulama protokolündeki sıra, rastgelelik esasına göre deney başlamadan önce belirlendi.

Kafes eğimlendirilmesi, literatür taramalarında da belirtildiği gibi kendi başına hayvanların strese girmesini tetikleyen bir etkidir. Hayvanlar doğası gereği düz rahat edebilecekleri bir yüzeyi tercih etmeye yönelik bir içgüdüye sahiptir. Protokolün bu aşamasında hayvan kafesinin 45° 'lik bir açıda kalması sağlanarak hayvanlara bir stres unsuru uygulanmıştır. Bunun için kafesin alt kısmına istenilen açıyı sağlaması için destek yerleştirilip, 24 saat boyunca bu oluşturulan eğimli ortamda kalmaları sağlanmıştır. Bu stres etkeni deney protokolünün bir aşamasını oluşturmuştur.

Protokolün ikinci aşamasında stres uygulanan deney grubundaki hayvanların tümüne kuyruktan asma stres modeli uygulandı. Bunu sağlarken sıçanların kuyruğuna zarar vermeyecek yumuşak ve kalın materyalden yapılmış iplikler kullanıldı. Kuyruk uçlarından yaklaşık 3 cm yukarıdan düğümlenen sıçanlar uygun uzunluktaki askılıklara 1 dakika boyunca asılmışlardır.

Uygulanan diğer bir stres unsuru ayrı ayrı soğuk ve sıcak su havuzlarında yüzdürme yöntemleridir. Bu aşamada hayvanların boyundan uzun olmak şartıyla dereceleri daha önce termometre ile ölçülmüş 4 °C ve 45 °C 'lik suyla doldurulmuş iki kova hazırlanıp sıçanlar içine bırakılarak hayvanların stres altına girmeleri sağlanmıştır. Hayvanlar sıcaklıkları ayarlanmış bu havuzlara tek tek alınarak herbiri için 5 dakikalık süre tutulmuştur. Bu iki aşamada farklı günlerde herbiri bir defa olmak koşulu ile uygulanmıştır.

Sırası daha önce tarafımızdan rastgele belirlenen stres aşamalarından bir diğeri de gece/gündüz döngüsünün değiştirilmesidir. Hayvanlar sakin bir odaya alınıp 24 saat beyaz ışık altında kalmaları sağlanmıştır. Bu metod'ta sıçanların biyolojik ritimlerindeki bozulma daha

önce literatürde gösterilmiş olup, hem hormonal hemde biyomediatörler açısından hayvanlar üzerinde stres yarattığı bilinmektedir.

Hareketli zemin oluşturma bir başka kullanılan stres yöntemidir. Bunu sağlamak için kafeslere alınan sıçanlar 10 dakika boyunca sabit bir frekansla sallanmıştır.

Stres protokolünün bir başka gün ve aşamasında da kafes ıslatma metodu kullanılmıştır. Bunun için 200 mL su hayvanların üzerinde bulunduğu kafeslere döküldü ve 24 saat boyunca deney grubuna ait sıçan grubunun bu ıslak talastan oluşan zemin üzerinde yaşamaları sağlandı. 24 saatin sonunda hayvanlar sıradaki aşamaya alınmak üzere kafesleri ve talaşları yenilenmiştir.

Hayvan davranış deneylerinde koku duyularını oldukça aktif kullandığı bilinen kemirgenler, yemek bulmak ve eş aramak için bu duyularını kullanırlar. Bu duyuları korku endişe gibi duygusal değişikliklere de sebep olmaktadır. Bu özelliklerinden yararlanılarak, protokolde de belirtilen; deney grubu içerisinde, farklı kafeslerden eş değiştirme ve diğer kafese ait talaş değiştirme protokolü uygulanmıştır. Bu aşamada deney grubundaki hayvanlara ait dörderli kafeslerde yaşayan daha önceden renkli boya ile işaretlenmiş sıçanlar birbirleri ile karıştırıldı. Karşılıklı kafeslere ait ve hayvan kokuları bulaşmış birer miktar talaş birbirlerine karıştırılıp 24 saat yaratılan koşullarda yaşamaları sağlanmıştır. Bu da farklı ortam ve bir durumla karşılaşan hayvanların strese girmesini sağladığı yapılan çalışmalarda daha önce belirlenmiştir. Willner P. tarafından oluşturulan kronik öngörülemeyen stres modelinin bir parçası olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda da Willner P.'nin oluşturduğu bu model kullanılmıştır. Stres protokolünde kullanılan basamakların bir kısmı Çizim 3.1'de gösterilmiştir.



Çizim 3.1. Kronik stres uygulama aşamaları.

Deney grubundaki sıçanlara 28 gün (4hafta) süresince uygulanan bu modelde stres etkenlerinin uygulanma sayısı ve sırası aşağıda çizelge olarak gösterilmiştir.

Hayvanlara uygulanan kronik öngörülemez stres protokolü aşağıda belirtilmiştir.

1. Kafes ıslatma 200 mL/24 saat
2. Kafes sallama 10 dakika
3. Kuyruktan asma 1 dakika
4. Kafes eğimlendirme 45°/24 saat
5. Kuyruktan asma 1 dakika
6. Soğuk suda yüzdürme 4 °C/ 5 dakika

7. Sıcak suda yüzdürme 45 °C/ 5 dakika
8. Gece gündüz döngüsü değiştirme
9. Kafes sallama 10 dakika
10. Kafes ıslatma 200 mL/24 saat
11. Kuyruktan asma 1 dakika
12. Sıcak suda yüzdürme 45 C°/ 5 dakika
13. Kuyruktan asma 1 dakika
14. Kafes sallama 10 dakika
15. Kafes eğimlendirme 45°/ 24 saat
16. Kafes ıslatma 200 mL/24 saat
17. Kuyruktan asma 1 dakika
18. Soğuk suda yüzdürme 4 C°/ 5 dakika
19. Kafes sallama 10 dakika
20. Kafes eğimlendirme 45°C/ 24 saat
21. Gece gündüz döngüsü değiştirme/ 24 saat
22. Kafes ıslatma 200 mL/ 24 saat
23. Kuyruktan asma 1 dakika
24. Kafes eğimlendirme 45°/ 24 saat
25. Kafes sallama 10 dakika
26. Kafes ıslatma 200 mL/24 saat
27. Kuyruktan asma 1 dakika
28. Gece gündüz döngüsü değiştirme.

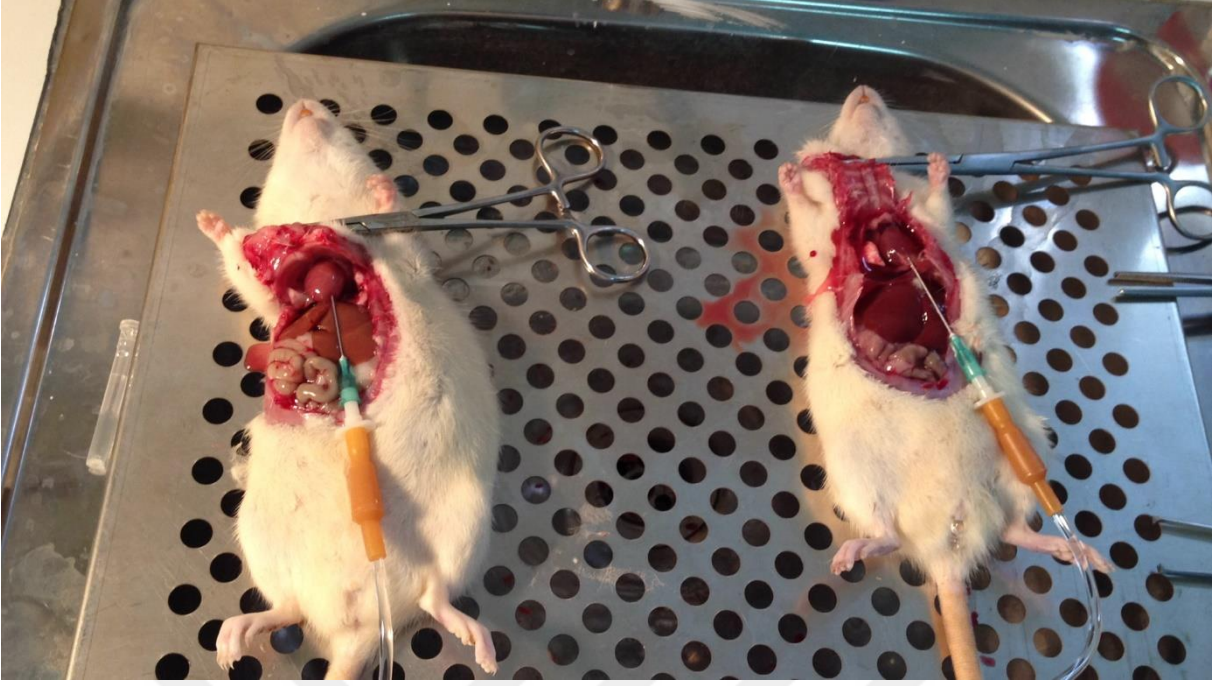
Kronik öngörülemeyen hafif stres protokolün uygulandığı deney grubundaki hayvanlar; çalışma süresince dikkatle incelenmiş olup belirli zaman aralıkları ile video çekimleri yapılmış, fotoğraflanmış ve yeme içme düzenleri takip edilmiştir. Tarafımızdan da görsel olarak tespit edilmiş sıçanlara özgü stres davranışları gözlenmiştir. Hayvanların öz bakımlarında bir azalma olduğu tüylerinde dökülme, yemek yemelerinde azalma, hareketlerinde azalış ve birbirine sokularak sürekli sabir bir köşede kalma gibi stresi düşündüren stereotipik hareketlerinin olduğu gözlenmiş ve kayıt altına alınmıştır.

Modele bağlı olarak gelişen stresin tespitinde sükroz tercih testi kullanılmıştır. Stresin temel belirtilerinden biri olarak kabul edilen anhedoni davranışının değerlendirilmesi amacı ile sıçanlara sükroz tüketim testi uygulanmıştır. Stres yaşayan hayvanların hormonal ve emosyonel durumlarından kaynaklanan, yeme-içme bozuklukları sık karşılaşılan bir durum olarak

bilinmektedir. Bu amaçla çalışmanın; 4. haftasında, 6 gün boyunca kafeslere iki adet su şişesi yerleştirilmiştir. Bu şişelerin birinde 200 mL %20'lik sükröz çözeltisi diğerinde 200 mL çeşme suyu konulmuştur. İlk 5 gün sıçanların alışma süreci olarak değerlendirilmiş ve 6. gün sükröz çözeltisi tüketimi incelenip kayıt altına alınmıştır. Sükröz tüketimi sıçanların tercih ettiği bir gıda tüketim yönelimi olduğu bilinmesine karşı stres grubundaki hayvanlarda bu tüketimin azaldığı gözlemlenmiştir. Bu bağlamda, görsel olarak da stres ile ilişki tipik davranış hareketleri sergileyen sıçanların anhedoni davranışları gözlemlenmiştir. Deney grubundaki sıçanlarda yaratılan bu stres modeli; literatürde, kronik hafif stres grubunda değerlendirilmektedir.

Çalışmanın sonunda; her iki grupta bulunan toplam 17 sıçana, uygun olarak seçilen anestezi tekniği uygulanıp hayvanlara dekapitasyon işlemi yapıldı ve beyin dokuları çıkartıldı. Anestezi işlemi sırasında 30mg/kg ketamine hydrochloride (Ketalar, Parke-Davis, İstanbul, Türkiye), 6 mg/kg %2'lik xylazine hydrochloride (Rompun, Bayer, İstanbul, Türkiye) kombinasyonu intraperitoneal (i.p.) olarak uygulandı ve genel anestezi sağlandı.

Genel anesteziye alınmış sıçanlar sakrifiye edilip perfüzyon işlemi için göğüs boşlukları açıldı. Perfüzyon işleminden önce herbir hayvan için intrakardiyak kan alımı gerçekleştirildi. Bu aşamada; sıçanların sağ ventrikülüne enjektör ile girilip kardiyak kanları toplandı. Daha sonra serum seti sol ventriküle takılarak, sağ atriuma makasla küçük bir kesi atıldı. Herbir sıçan için yaklaşık 350 mL serum fizyolojik sistemik dolaşıma verilip vücut içerisinde kalan kanın sağ atriümden dışarı çıkması sağlandı. Kalp atım süreci devam ettikçe ve sağ atriümden gelen sıvının beraklaşmasının izlenmesine kadar geçen sürede perfüzyon işlemine devam edildi. Bu aşama Çizim 3.2'de gösterilmiştir. Böylece beyin dokusu, kan hücrelerinden arındırılmış olup mikroskopi aşaması için uygun hale getirilmiştir.



Çizim 3.2. Sıçanlara uygulanan perfüzyon aşaması.

Perfüzyon işlemi tamamlanmış sıçanlara dekapitasyon işlemi uygulandı. Bu uygulama sırasında geyotin makası kullanıldı. Uygun cerrahi set kullanılarak beyin dokusu bir bütün olarak kafa kemiklerinden ayrılıp; tespit solüsyonu olarak %10'luk formaldehit kaplarının içerisine alındı (Çizim 3.3).



Çizim 3.3. Sıçanlara uygulanan dekapitasyon işlemi ve beyin çıkarma aşaması.

Beyin dokularının tespit aşamasında organlar %10'luk tamponlanmış formaldehit içerisinde 48 saat bekletildi ve fiksasyonunun gerçekleşmesi sağlandı. Fiksasyon sonrası çeşme suyu ile yıkama işlemi yapıldı. Fiksatörlerde bekletilen ve tespit edilen organlar histolojik takip protokolüne alındı. Bu protokol aşamasında beyin dokuları sırasıyla; etanol, ksilol gibi tespit aşamalarından geçirilip, yumuşak ve sert parafin bloklara alınma işlemleri gerçekleştirildi.

Histolojik takip serileri gerçekleştirilirken; doku içerisinde bulunan su ve kalan fiksatörlerin çözücü ile yer değiştirmesi sağlandı. Bunun için organ sırası ile %70'lik etanol çözeltisine alındı ve 1 saat bu solüsyonun içerisinde bekletildi. İkinci aşamada bu işlem tekrar 1 saat olmak koşulu ile tekrarlanıp, %70'lik etanol çözeltisinde bekletildi. Daha sonra etanol çözeltisinin derişimi arttırılarak %80'lik solüsyonda 1 saat beklenmesi sağlandı ve bu işlem taze etanol hazırlanarak tekrarlandı. İleri ki aşamada bu işlem %90'lık etanol ile iki aşamada tekrarlandı. Son olarak saf etanol solusyonundan herbir doku için birer saat olmak koşulu ile iki defa geçirilip, histolojik takip serisinin ilk aşaması tamamlandı.

Histolojik tespit serisinin ikinci aşamasında; dokuya işlemiş etanolün, ksilol ile yer değiştirmesi sağlandı. Bunun için üç ayrı kap hazırlanıp, dokular ilk ksilol solüsyonunda yaklaşık olarak 2 dakika çalkalandı. Sonrasında 30 dakika ikinci ksilol dolu kaba alınıp dokular bekletildi ve bu son aşama yeni hazırlanmış ksilol solüsyonu ile tekrarlandı.

Ksilol'den geçirilmiş dokular parafin aşamasına geçmeden önce 30 dakika süresince yumuşak parafin ve ksilol karışımı ile muamele edildi. Sonraki aşamada beyin dokuları sadece yumuşak parafinde 1 saat kalması sağlandı. Sert parafin aşamasından önce; beyin dokularının herbiri, sert ve yumuşak parafin karışımında 90 dakika bekletilip, 3 saat süresince sert parafin ile kaplanması sağlanıp histolojik takip serisi her doku için tamamlandı (Çizim 3.4).



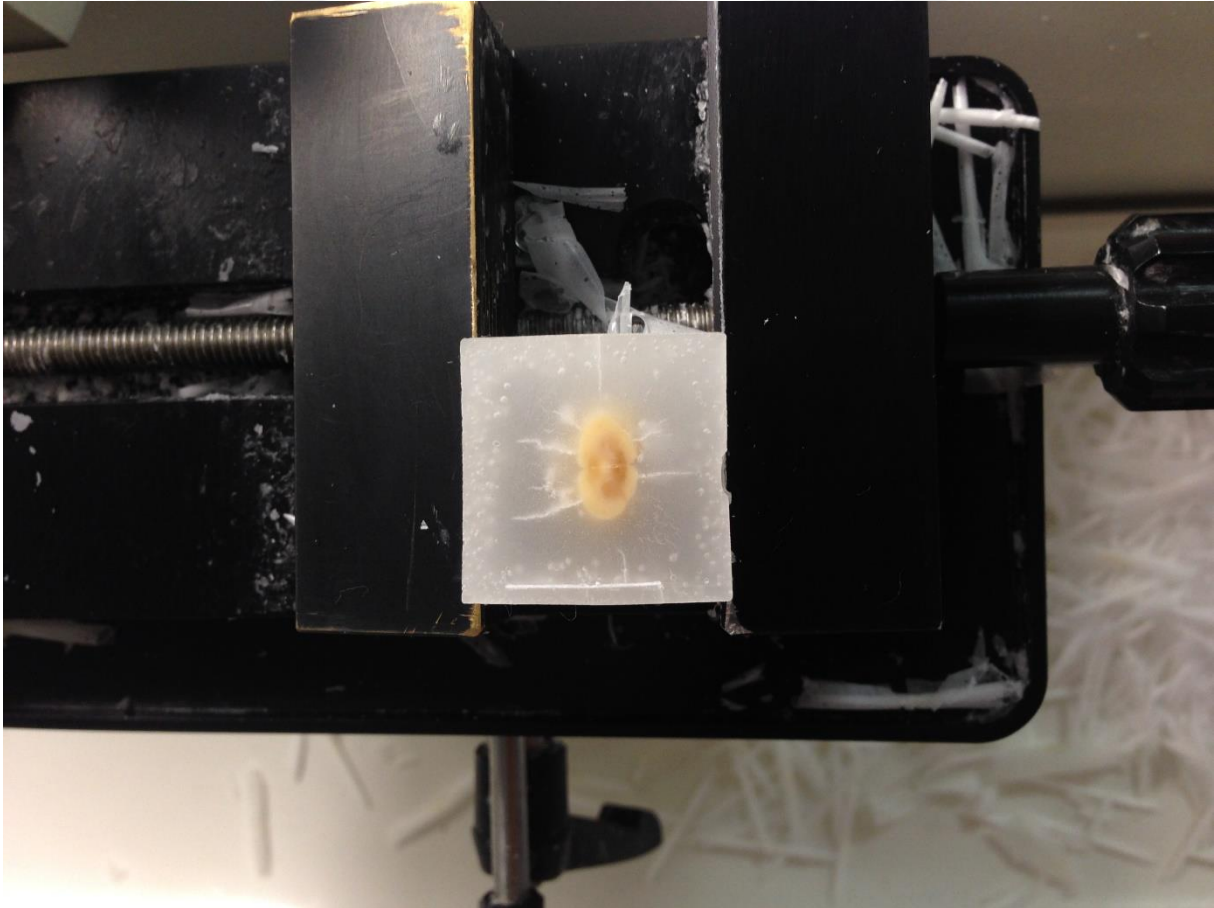
Çizim 3.4. Sert parafin aşamasına alınmış beyin dokuları.

Histolojik seri takip işlemlerinin ardından bloklama ve seri kesit alma aşamasına geçildi.

Çizelge 3.1. Histolojik doku takip serileri.

SIRA NO	KULLANILAN MADDE	UYGULAMA SÜRESİ
1	%70 Etanol-I	1 saat
2	%70 Etanol-II	1 saat
3	%80 Etanol-I	1 saat
4	%80 Etanol-II	1 saat
5	%90 Etanol-I	1 saat
6	%90 Etanol-II	1 saat
7	%100 Etanol-I	1 saat
8	%100 Etanol-II	1 saat
9	Ksilol çalkalama	1-2 dakika
10	Ksilol-I	30 dakika
11	Ksilol-II	30 dakika
12	Ksilol + Yumuşak Parafin	30 dakika
13	Yumuşak Parafin	1 saat
14	Yumuşak Parafin + Sert Parafin	1,5 saat
15	Sert Parafin	3 saat
16	Bloklama	

Histolojik seri kesit alma aşamasına geçmeden önce beyin dokuları tam bir bütün olarak çıkarılan hayvanların, hipokampus bölgeleri rat beyin atlası (Paxinos, Watson) kullanılarak bregma bölgesine göre istenilen kesit alanının kordinatları belirlendi. Daha sonra; her bloktan 20 µm trim aralığı ile 4 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Her lam üzerine 1 kesit olacak şekilde ve kesitin alınma sırasına göre lamlar numaralandırıldı. Lam üzerine alınma aşamasında, sağ ve sol hipokampus de işaretlenip belirlendi. Her bloktan alınan 4 µm kalınlığındaki seri kesitlerden oluşan 2 adet lam ışık mikroskobunda ön inceleme için Hemotoksilen-Eozin (H&E) ile boyandı. Belirlenen kordinatlardan alınan kesitlerin doğruluğunun belirlenmesi için hızlı boyama ile ışık mikroskopisinde incelenip, hipokampus'un tipik cornu ammonis bölgeleri belirlenip seri kesitler bu bölgelerde yoğunlaştırıldı.



Çizim 3.5. Parafin kaplı beyin dokusundan seri kesit alım işlemi.

Hematoksilen-Eozin boyama aşamasında; ilk etapta ksilol de 20 dakika bekletildi ve bu aşama iki defa tekrarlandı. Sonraki aşamada; %100'lük etanol solüsyonundan % 70'lik etanol tamponuna doğru basamak basamak azalacak şekilde alkolden geçirildi. Bu aşamalar 5'er

dakika olmak koşulu ile taze hazırlanmış ikinci bir alkol tamponu ile her basamak için tekrarlandı. Ksilol ve alkol aşamalarının ardından her bir beyin dokusu distile su ile yıkandı. Boyamanın ilk aşamasında; beyin doku kesitleri, hematoksilin'de 5'er dakika bekletildi. Sonrasında; boyanmış doku kesitleri, akan çeşme suyunda 10 dakika yıkandı. Histolojik kesitler, asit alkol (glasiyal asetik asit+%70 etanol) çözeltisine 2 kez daldırılıp çıkartıldı. Bu aşamadan sonra alkol çözeltisinin giderilmesi için tekrar akan çeşme suyunda 10 dakika tutuldu. Her bir histolojik kesit taze hazırlanmış ve sırası ile; %70-%80-%90 ve %100'lük etanol solüsyonlarına 5'er dakika maruz bırakıldı. Son aşamada; doku kesitleri, ksilol ile 20 dakika muamele edildi ve bu işlem her bir doku kesitine iki kez uygulandı. Bu aşamada uygulanan histolojik seriler Çizelge 3.2'de verilmiştir. Hematoksilin-Eozin için boyama aşaması tamamlanan lamların üzeri entellanla kapatıldı.



Çizim 3.6. Lamlara alınmış doku seri doku kesitleri.

Çizelge 3.2. Hematoksilin-Eozin boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama sıra ve süreleri.

KİMYASAL MADDE	UYGULAMA SÜRESİ (dk)
Ksilol I	20
Ksilol II	20
% 100 Etanol-I	5
% 100 Etanol-II	5
% 90 Etanol-I	5
% 90 Etanol-II	5
% 80 Etanol-I	5
% 80 Etanol-II	5
% 70 Etanol-I	5
% 70 Etanol-II	5
Distile Su	10
Hematoksilen	5
Akan Çeşme Suyunda Yıkama	10
Asit alkol (glasiyal asetik asit+%70 etanol)	1-2 kez daldırıp çıkarma
Akan Çeşme Suyunda Yıkama	5
Eozin	3
Akan Çeşme Suyunda Yıkama	10
% 70 Etanol	5
% 80 Etanol	5
% 90 Etanol	5
% 100 Etanol	5
Ksilol-I	20
Ksilol-II	20
Lamların Entellanla Kapatılması	

Her beyin dokusunun histolojik kesitlerinde, gyrus dentatus bölgesinde polimorfik hücre tabakası sayımı yapıldı ve boya olarak crystal violet kullanılmıştır. Bu aşamada; doku bloklarından, 20 µm trim aralığı ile 4 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Her lam üzerinde 1 kesit olacak şekilde ve kesitin alınma sırasına göre lamlar numaralandırıldı. Her iki hemisferdeki hipokampus dokusu için lamların üzerlerine sağ-sol yön işaretleri konuldu. Rat beyin atlası yardımı ile referans olarak alınan bregma noktasına göre hipokampus'un bulunduğu koordinatlardan koronal kesitler alındı. Her bloktan alınan 4 µm kalınlığındaki seri kesitleri içeren lamlar; 57 °C'de 2 saat etüvde bekletilerek, hipokampusun gyrus dentatus bölgesinde bulunan polimorfik hücre tabakasını ışık mikroskopunda inceleyebilmek amacı ile crystal violet boyası ile boyandı (Çizim 3.6).

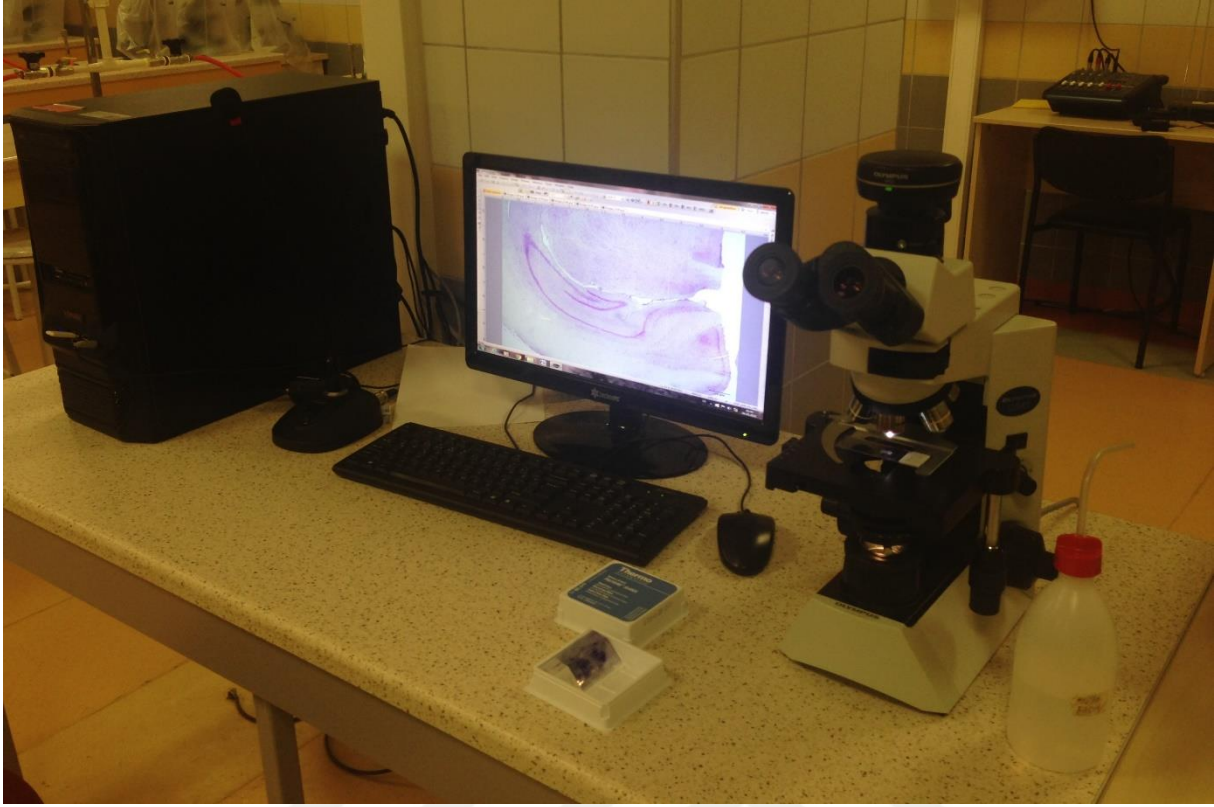
Crystal violet ile nöron hücresi boyama aşamasında; histolojik kesitlerin herbiri, öncelikle ksilen ile 5 dakika süresince muamele edildi ve bu işlem iki defa tekrarlandı, sonrasında, 2'şer dakika deiyonize su'da bekletildi. İleriki aşamasında; %70 olarak hazırlanmış taze etanol çözeltisinde 2 dakika süresince beklemesi sağlandı. Sonraki aşamada %70'lik etanol çözeltisinde 2 dakika bekletilen lamlar, tekrar %80'lik etanol çözeltisine alınıp 2 dakika

bekletildi. Alkol banyosu daha sonra %90, %95 ve %100'lük derecelerde harılanan etanol ile sürdürüldü. Dokulara uygulanan alkol bonyalarının sonrasında beyin kesitleri deiyonize su ile 2 dakika boyunca yıkanıp alkolün uzaklaştırılması sağlandı. Bu aşamadan sonra da histolojik kesitler, crystal violet boyası ile 3 dakika boyunca muamele edildi. Dokulardan fazla boyanın arındırılması aşamasında, lamalar deiyonize suda 2 dakika boyunca bekletildi. İleri ki evrede kesitler tekrar derişimi gitgide arttırılan etil alkol solüsyonlarından geçirilip boya tespiti sağlandı. Kesitler %70'lik etanolde 2 dakika bekletildi. Ardından; dokuların, % 95 Etanol+3 mL glasiyal asetik asit karışımında 3'er dakika süresince beklemesi sağlandı. Bu aşamadan sonra; kesitler %95'lik etanol'de 2'şer dakika bekletilip, saf etanol aşamasında 2 dakika kalması sağlandı. Saf etanol aşamasında bekletme 3 defa tekrarlandı. Boyama aşaması sonrası lamalar entellanla kapatıldı (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Crystal violet boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri.

KİMYASAL MADDE	UYGULAMA SÜRESİ (dk)
Ksilen	5x2
Distile su	2
% 70 Etanol	2
% 80 Etanol	2
% 90 Etanol	2
% 95 Etanol	2
% 100 Etanol	5
Distile su	2
Crystal violet	3
Distile su	2
% 70 Etanol	2
% 95 Etanol+3 mL glasiyal asetik asit	3
% 95 Etanol	2
% 100 Etanol	2 dk x 3
Ksilen	10 dk x 3
Lamların Entellanla Kapatılması	

Histolojik rat atlasının (Paxinos, Watson) yardımı ile koordinatları belirlenen beyin dokularından alınan koronal kesitler boyandıktan sonra ışık mikroskopi yöntemi ile nöron hücre sayım aşamasına geçilmiştir (Çizim 3.7). Sayım alanı olarak hipokampus dokusu içerisinde CA3 bölgesinde bulunan piramidal hücre tabakasının bitiş sınırı belirlenip bu noktada doku eksenine dik bir sınır çizilmiştir. Bu eksen ile gyrus dentatus bölgesinin granül hücre tabakası arasında bulunan bölgede hücre sayımı yapılmıştır. Bu aşamada histojik hücre sayım metodu olarak H skorlama yöntemi kullanılmıştır.



Çizim 3.7. Mikroskobik sayım düzeneği ve sayım aşaması.

Hücre sayım aşamasında; hipokampus dokusunun yapısal farklılıkları, rat beyin atlası kullanılarak belirlendi. Dokuların görüntüsü alınırken ayrı ayrı 5X, 10X, 20X ve 40X'lik objektifler kullanılmıştır. Sayımlar her bir hipokampus dokusu için ilgili sayım alanı içerisinde 200X'lik büyütme kullanılarak yapılmıştır. Gyrus dentatus bölgesi üç ana tabakadan oluşmaktadır. Bu yapılar iç içe geçmiş; moleküler, piramidal ve polimorfik hücre tabakalarıdır. CA3 bölgesinin gyrus dentatus içerisindeki sınırı belirlenip ilgili alanın polimorf hücre tabakalarındaki hücreler sayılmıştır. Polimorf hücre tabakasında boyanan hücreler ışık mikroskopisi yöntemi ile sayılmıştır.

4. BULGULAR

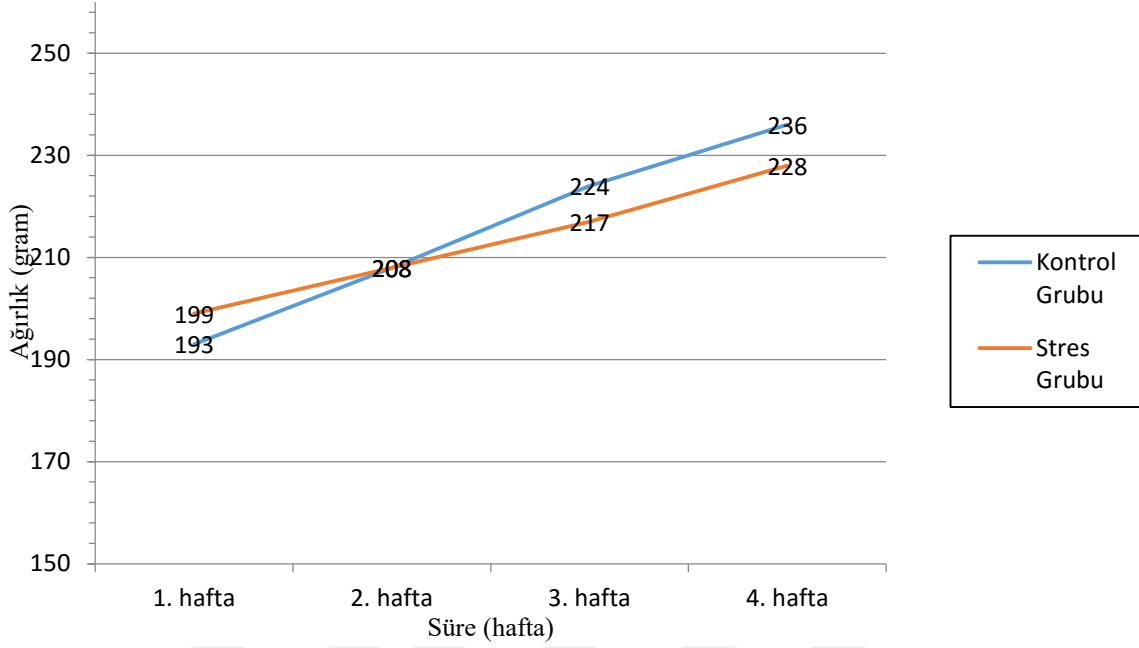
Çalışmada Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 2015/44 sayılı proje numarası ve 11/1-2015 karar numarası ile toplam 17 adet 4 aylık dişi wister albino türü sıçan kullanılmıştır. Sıçanların ağırlıkları deney süresince kontrol edilmiş olup. Deney başlangıcında ortalama ağırlıkları kontrol grubu için 193 gr ve stres grubu için 199 gr'dır. Çalışma başlarken sıçanlar gruplar arasında rastgelelik esasına göre dağıtılmış olup kontrol grubu ile deney grubunun ortalama ağırlıkları arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Her iki gruba ait sıçanlarda da vücut kütle artışı gerçekleşmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında; kronik stres protokolü uygulanan sıçanlarda vücut kütle artışı daha az görülmüştür. Çizelge 4.1.'de sıçanların ağırlık değişimleri bulunmaktadır.

Çizelge 4.1. Sıçan ağırlıklarının zamana göre değişimi

Stres Grubu (gram)					Kontrol Grubu (gram)				
	1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta		1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta
1	178	191	221	229	1	181	193	217	235
2	204	216	224	208	2	186	204	218	223
3	184	192	198	277	3	181	196	217	236
4	215	219	225	223	4	191	214	237	250
5	198	202	232	241	5	206	216	228	241
6	204	212	230	227	6	201	217	234	243
7	206	218	221	201	7	195	208	222	232
8	200	204	214	230	8	208	217	221	237
9	207	226	194	223					

Çalışmada kullanılan kronik stres modeli daha önce Willner P. tarafından hazırlanan kronik öngörülemez stres protokolünü içermektedir. Bu stres modelinde deney grubundaki sıçanlara her defasında farklı bir stres unsuru uygulanmıştır. Bu aşamadaki amaç sıçanın deney süresince stres etkenini öğrenmesini ve alışmasını engellemektir. Bu sebeple sıçanların öngörememesi sağlanarak farklı stres faktörleri kullanılmıştır. Deney grubunda bulunan sıçanlar deney süresince aralıklarla kayıt altına alınmış ve davranışları gözlemlenmiştir. Hayvan ağırlıklarının gruplara göre alınan ortalamalarının zamansal değişim grafiği Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Gruplara göre hayvanların ortalama ağırlıklarının zamana göre değişimleri



Hipokampus'un histolojik değerlendirilmesi sağ ve sol doku için ayrı ayrı yapılmıştır. Moleküler, piramidal ve polimorfik alan kalınlıkları gruplar arasında incelenmiştir. Vertikal aks'ta her iki grup için hipokampus kalınlıkları ölçülmüş ve kendi arasında istatistik olarak kıyaslanmıştır. Gruplara göre sağ ve sol hipokampus kalınlıkları Çizelge 4.5'te verilmiştir. Kontrol grubunda bulunan sıçan hipokampuslerinde; sol hipokampuslerinin ortalama kalınlığı 1581 μm 'dir. Stres grubu sıçanlarda sol hipokampus kalınlığı 1466 μm olarak bulunmuştur. Sağ hipokampus kalınlığı ise; stres grubunda ortalama 1490 μm ve kontrol grubunda da 1544 μm 'dir.

Deney ve kontrol gruplarındaki sıçanların hipokampus kalınlıkları kendi içerisinde istatistiksel olarak kıyaslandığında kalınlıkları açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

Gyrus dentatus'ta bulunan polimorf hücre tabakası incelendiğinde; ilgili alan için ortalama hücre sayısı, kontrol grubunda sol gyrus dentatus 20 adet ve sağ gyrus dentatus 17 adet hücre olarak bulunmuştur. Deney grubunda ise; gyrus dentatus'un polimorf hücre tabakasında, ilgili alan için sol 26 ve sağ 23 adet hücre olarak bulunmuştur. Hipokampus'un gyrus dentatus bölgesinde bulunan polimorf hücre tabakasında bulunan polimorf hücre sayıları toplu olarak Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Gyrus dentatus bölgesindeki hücre sayıları

Stres Grubu (Adet)			Kontrol Grubu (Adet)		
	Sol Hipokampus	Sağ Hipokampus		Sol Hipokampus	Sağ Hipokampus
1	37	28	1	20	22
2	30	24	2	20	19
3	24	18	3	15	13
4	20	22	4	16	18
5	31	16	5	24	23
6	22	21	6	26	16
7	24	22	7	22	13
8	21	24	8	17	15
9	27	34			

Çizelge 4.4. Gruplara göre sağ ve sol hipokampus kalınlıkları

Stres Grubu (μm)			Kontrol Grubu (μm)		
	Sol Hipokampus	Sağ Hipokampus		Sol Hipokampus	Sağ Hipokampus
1	1741	1841	1	1777	1560
2	1578	1653	2	1824	1517
3	1339	1189	3	1572	1367
4	1366	1057	4	1460	1516
5	1370	1521	5	1366	1519
6	1414	1358	6	1487	1663
7	1310	1586	7	1438	1505
8	1546	1586	8	1725	1706
9	1535	1623			

Veriler normal dağılıma uygunluk gösterdiği için parametrik test olan bağımsız iki topluluk ortalamasına dayalı iki örneklem t testi uygulanmıştır. %95 güven aralığında, 0.05 anlamlılık oranında spss 18.00 versiyonunda analizler yapılmıştır. Gyrus dentatus bölgeleri incelendiğinde polimorf hücre tabakasında bulunan hücre sayıları, kontrol ve stres grubu sıçanlarda karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($p < 0,05$). Sol hipokampus için stres grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında; $p = 0,019$ anlamlılık değeri ile stres grubunda bulunan ilgili alandaki hücre sayılarında kontrol grubuna göre anlamlı fark ve artış bulunmaktadır. Sağ hipokampus alanları için çalışma grupları karşılaştırıldığında; $p = 0,021$ anlamlılık değeri ile stres grubundaki hayvanların gyrus dentatus bölgesindeki hücre sayıları arasında anlamlı istatistiksel fark bulunmaktadır (Çizelge 4.3).

Her iki grup kendi içerisinde istatistiksel olarak kıyaslandığında; sağ ve sol hemisferlere ait gyrus dentatus bölgelerindeki hücre sayıları arasında herhangi bir anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Çizelge 4.5. Sağ ve sol gyrus dentatus hücre sayıları ve istatistik verileri

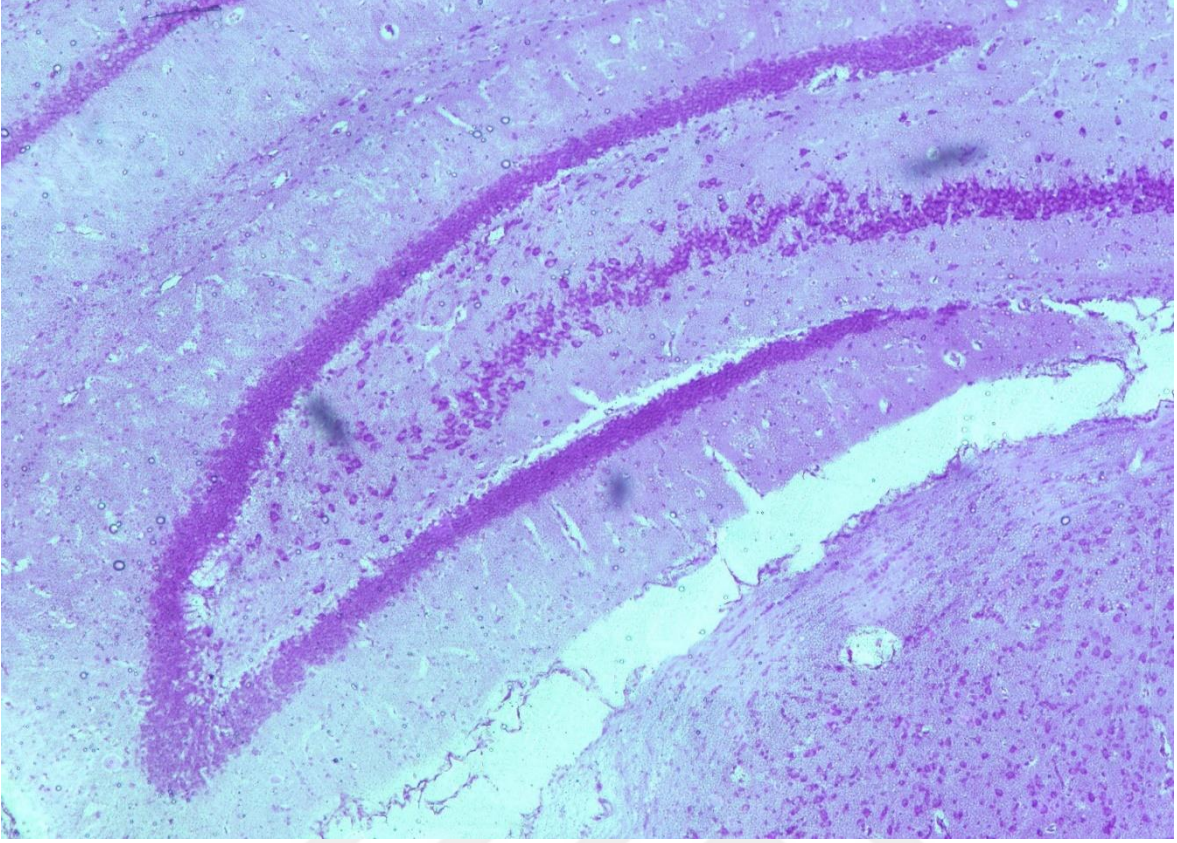
Hücre sayıları (Adet)	Sayı	Ortalama	Standart sapma	Standart hata	P değeri
Sol hipokampus kontrol	8	20,0000	3,89138	1,37581	0,019
	9	26,2222	5,56277	1,85426	
Sağ hipokampus kontrol	8	17,3750	3,81491	1,34878	0,021
	9	23,2222	5,33333	1,77778	

Hipokampus ile stres grubu arasında hipokampus'un gyrus dentatus alanlarında bulunan polimorf hücre sayılarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. Farklı iki grup için sağ ve sol hipokampus kalınlıkları istatistik olarak kıyaslandığında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Sol hipokampus için p değeri 0,154 ve sağ hipokampus için p değeri 0,562 ile anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Çizelge 4.4).

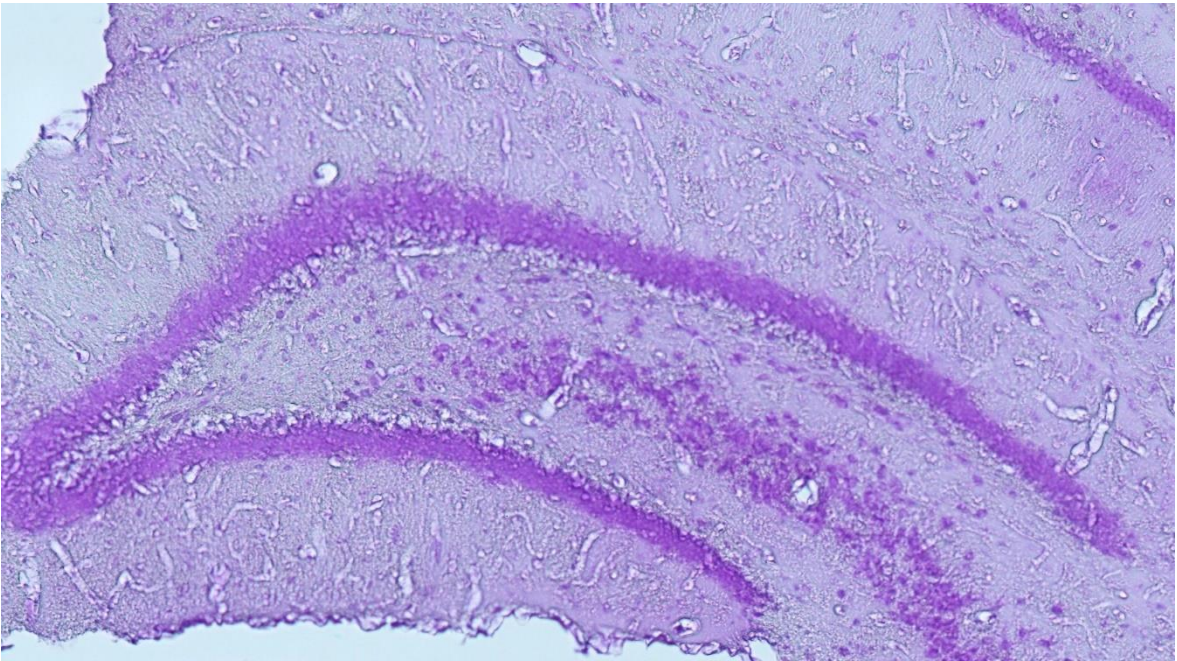
Çizelge 4.6. Sağ ve sol hipokampus kalınlığı ve istatistik verileri

Hipokampus Kalınlığı (μm)	Sayı	Ortalama	Standart sapma	Standart hata	P değeri
Sol hipokampus kontrol	8	1581,1250	172,55760	61,00832	0,154
	9	1466,5556	142,17605	47,39202	
Sağ hipokampus kontrol	8	1544,1250	103,95664	36,75422	0,562
	9	1490,4444	245,55148	81,85049	

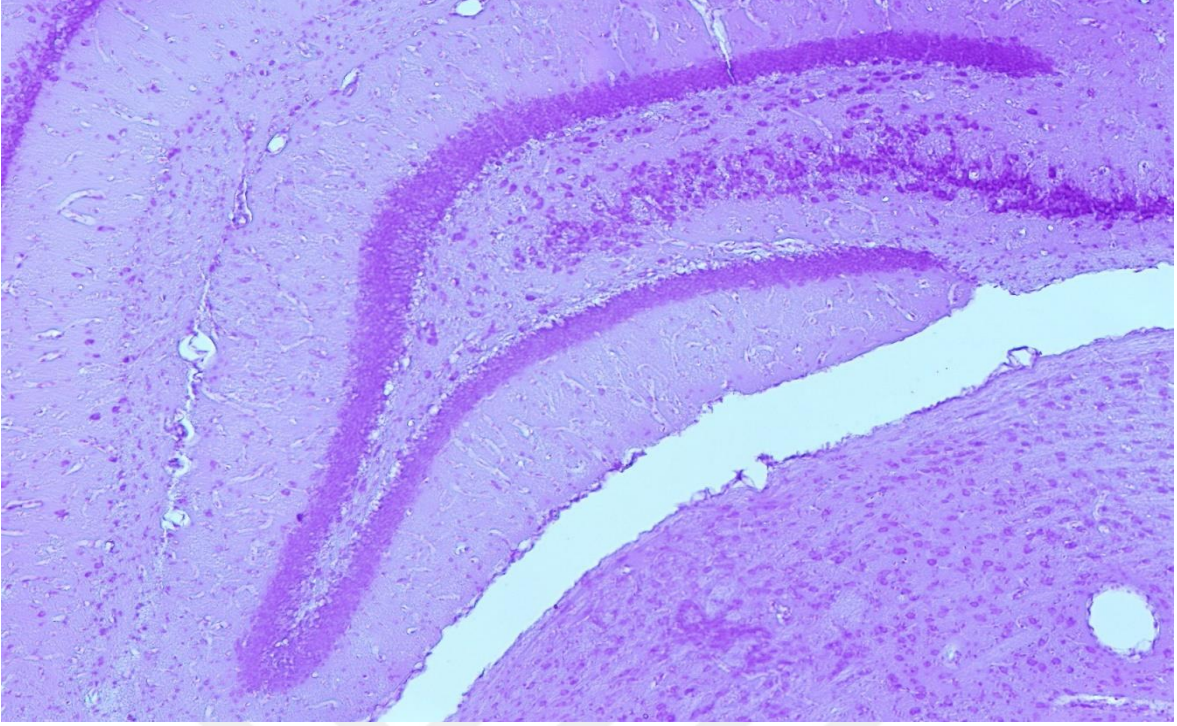
Çalışmada bulunan stres (n=9) ve kontrol (n=8) gruplarına ait sıçan beyinlerinin koronal kesitlerine ait sağ ve sol hipokampus görüntüleri aşağıda verilmiştir.



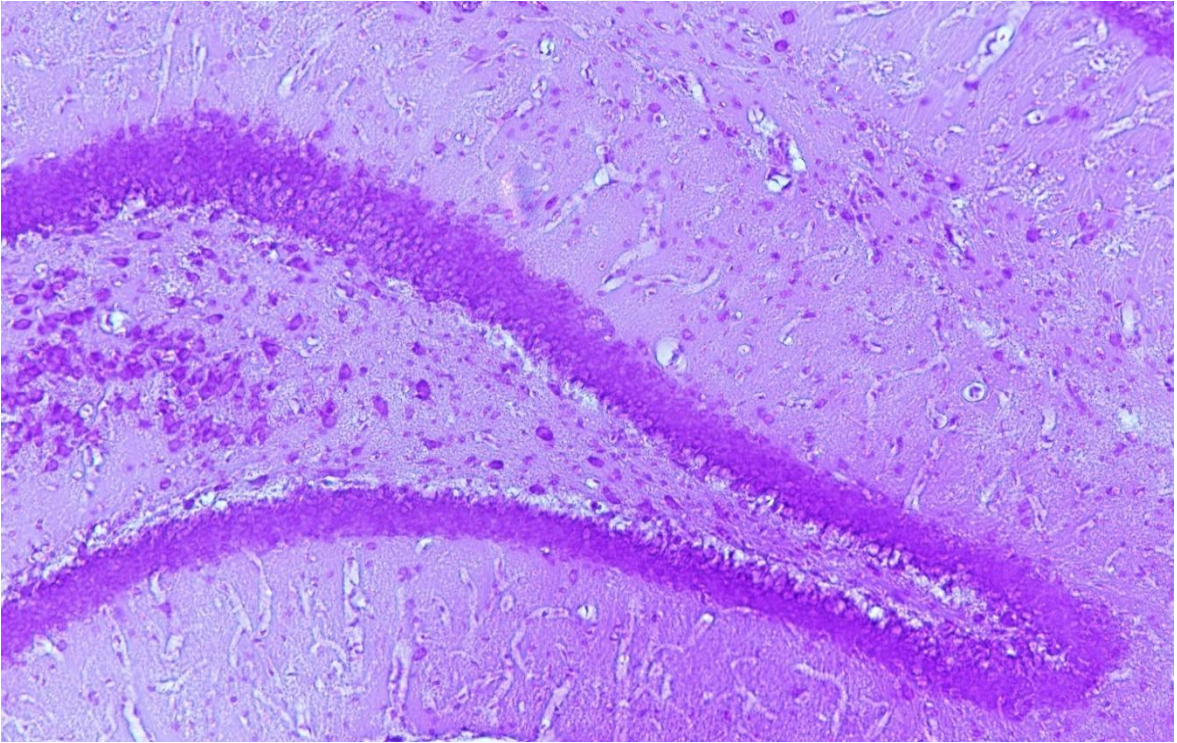
Çizim 3.8. Kontrol grubu 1 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



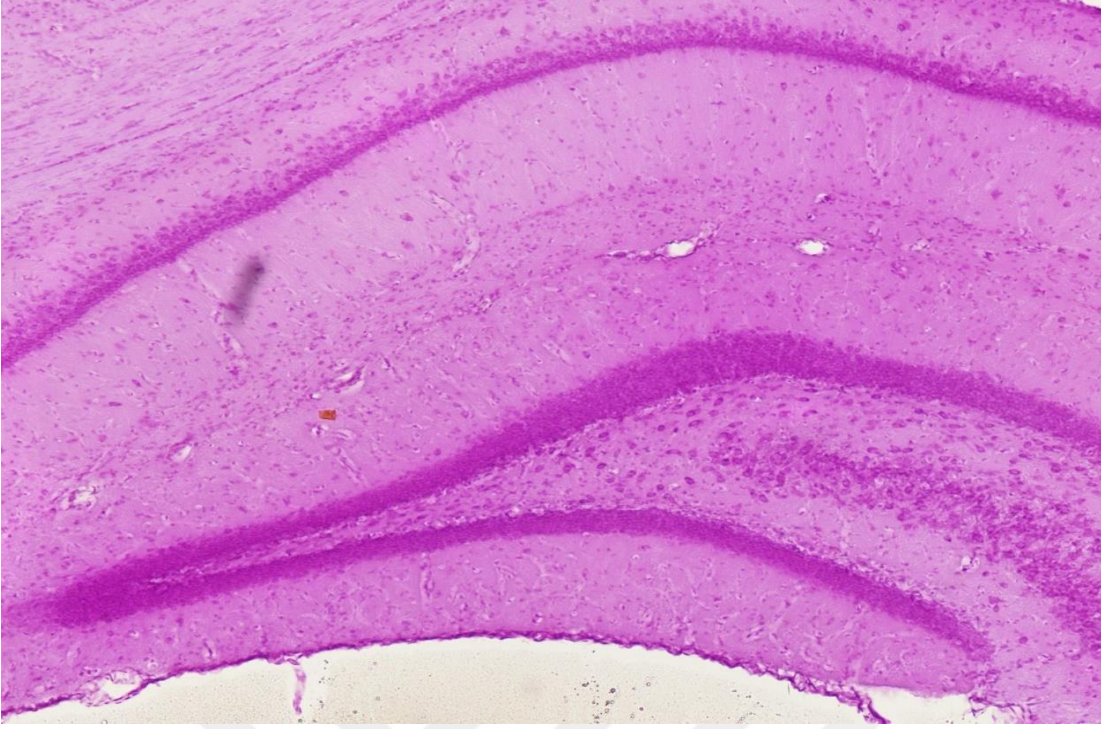
Çizim 3.9. Kontrol grubu 1 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



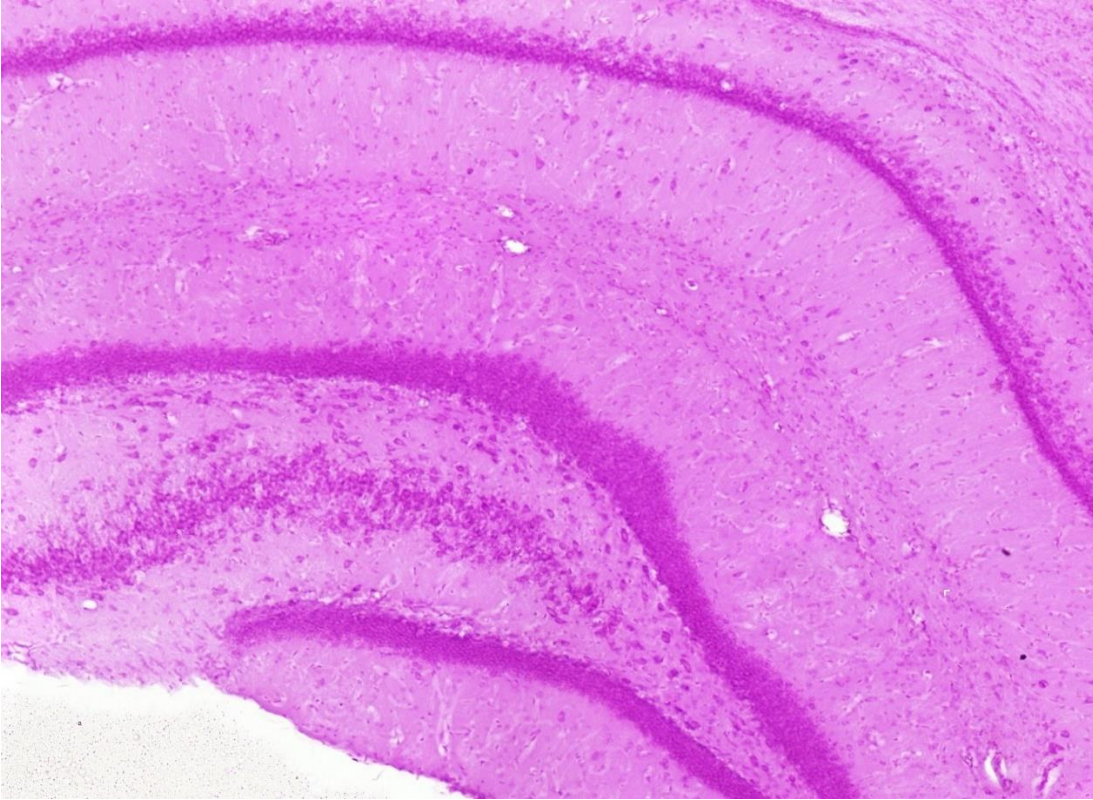
Çizim 3.10. Kontrol grubu 2 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



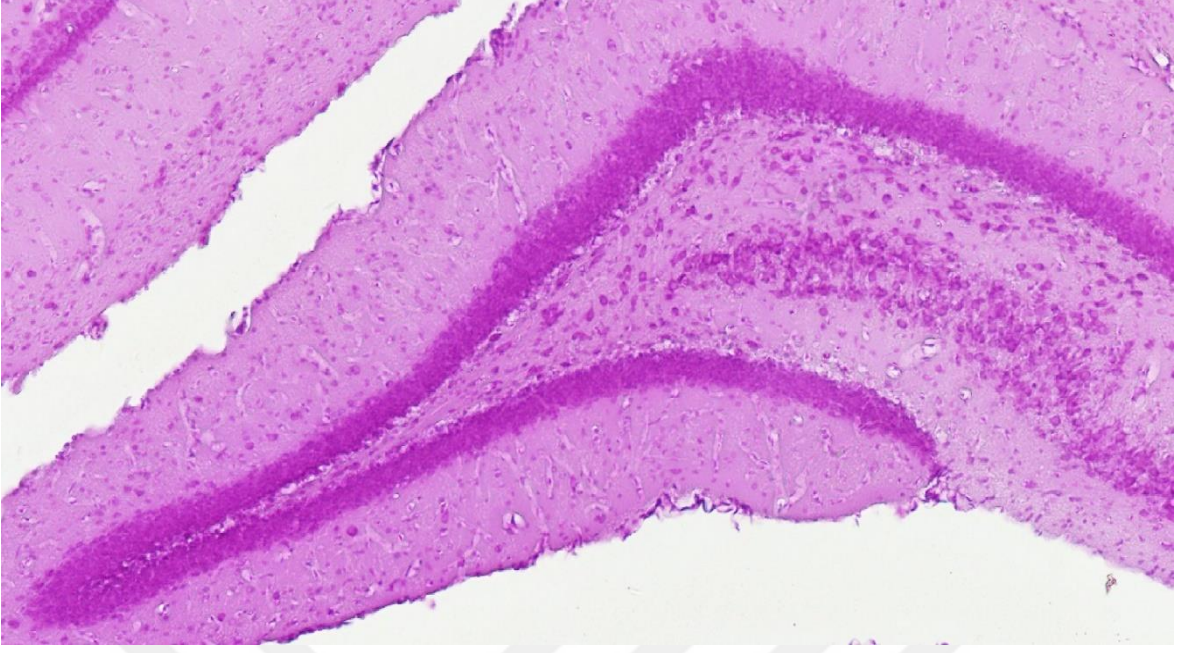
Çizim 3.11. Kontrol grubu 2 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



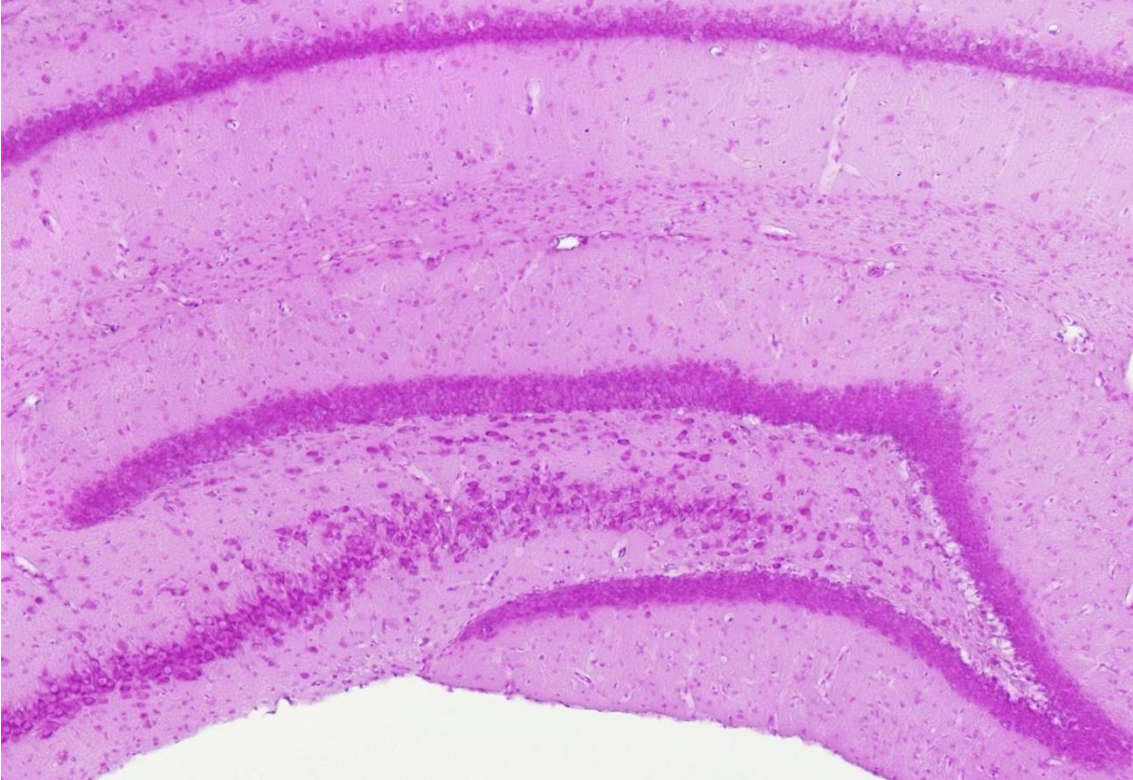
Çizim 3.12. Kontrol grubu 3 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



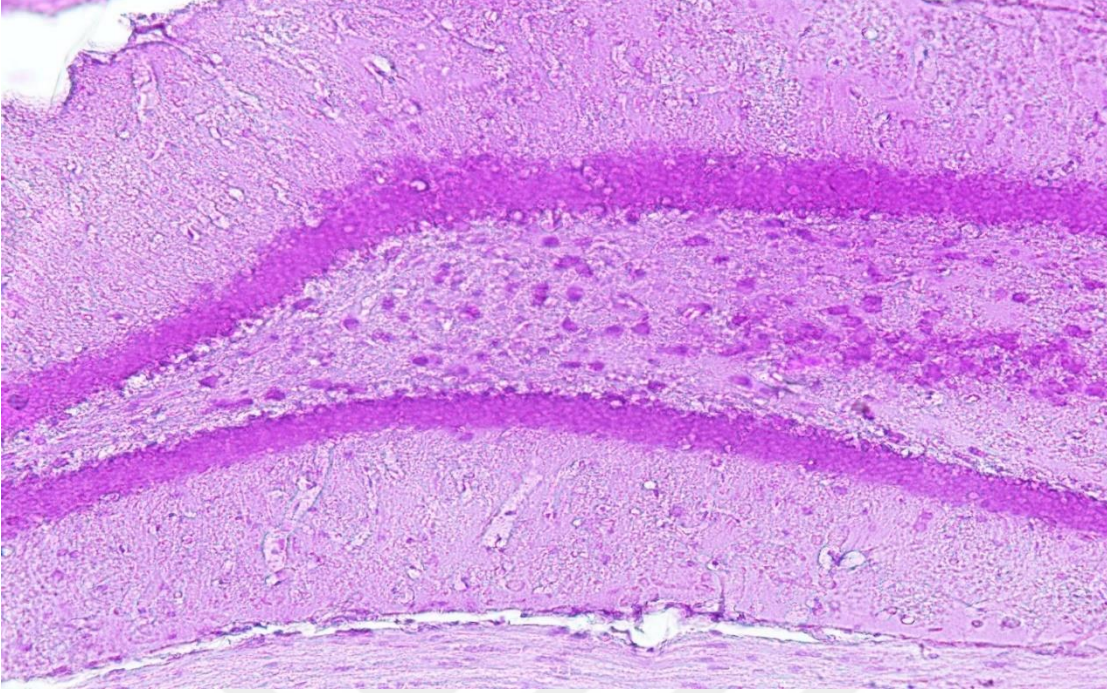
Çizim 3.13. Kontrol grubu 3 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



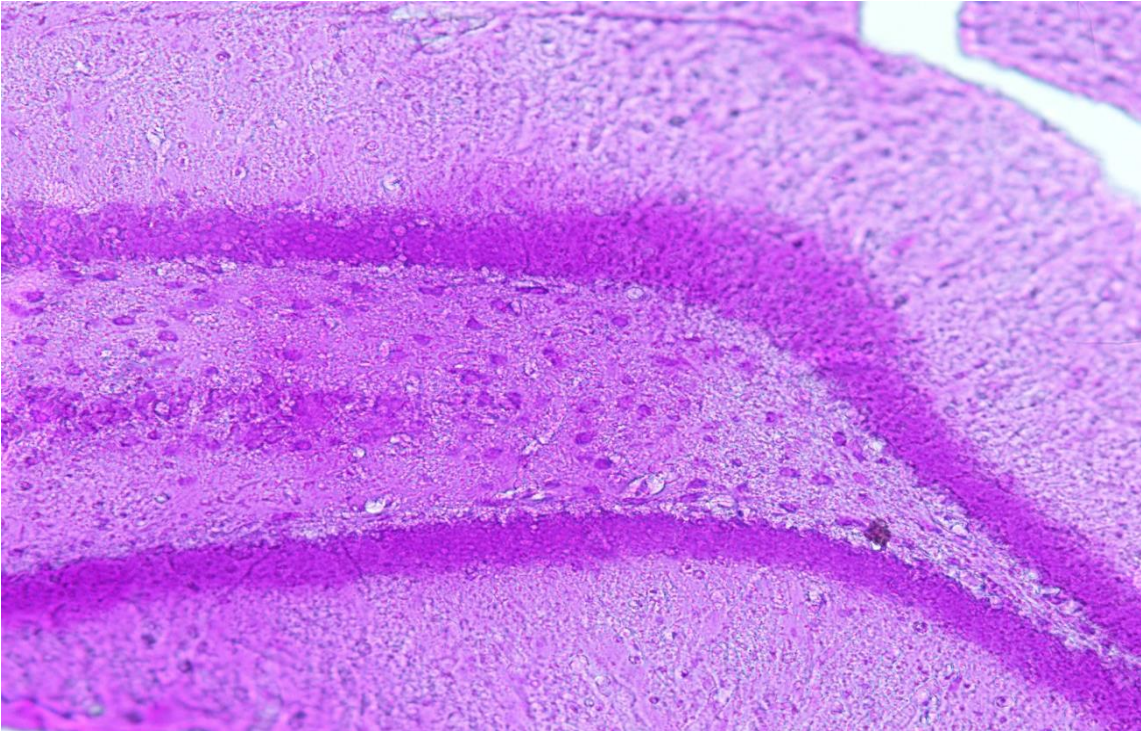
Çizim 3.14. Kontrol grubu 4 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



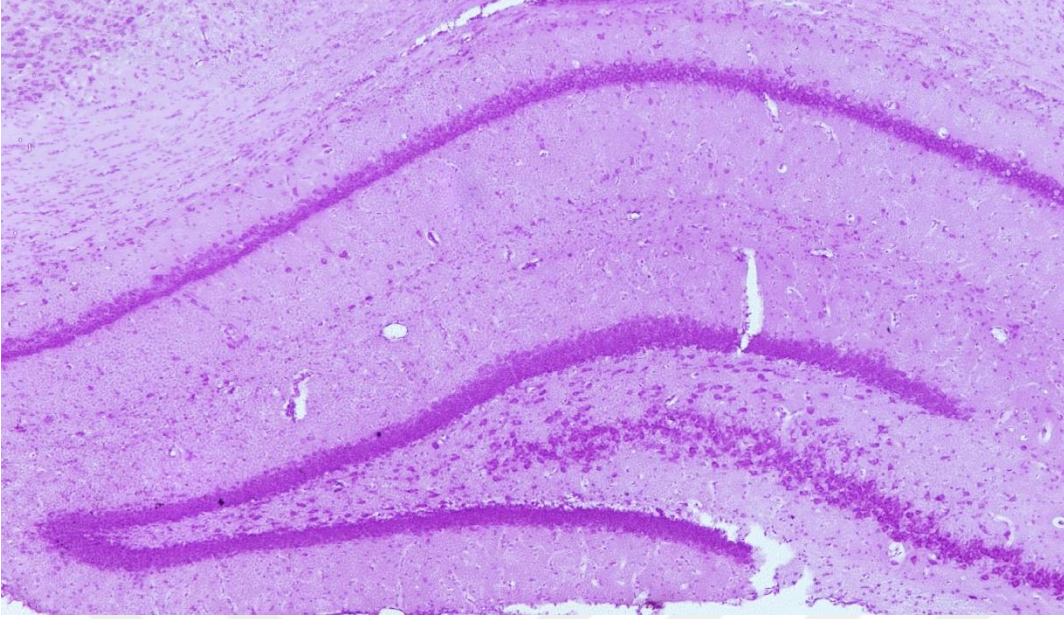
Çizim 3.15. Kontrol grubu 4 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



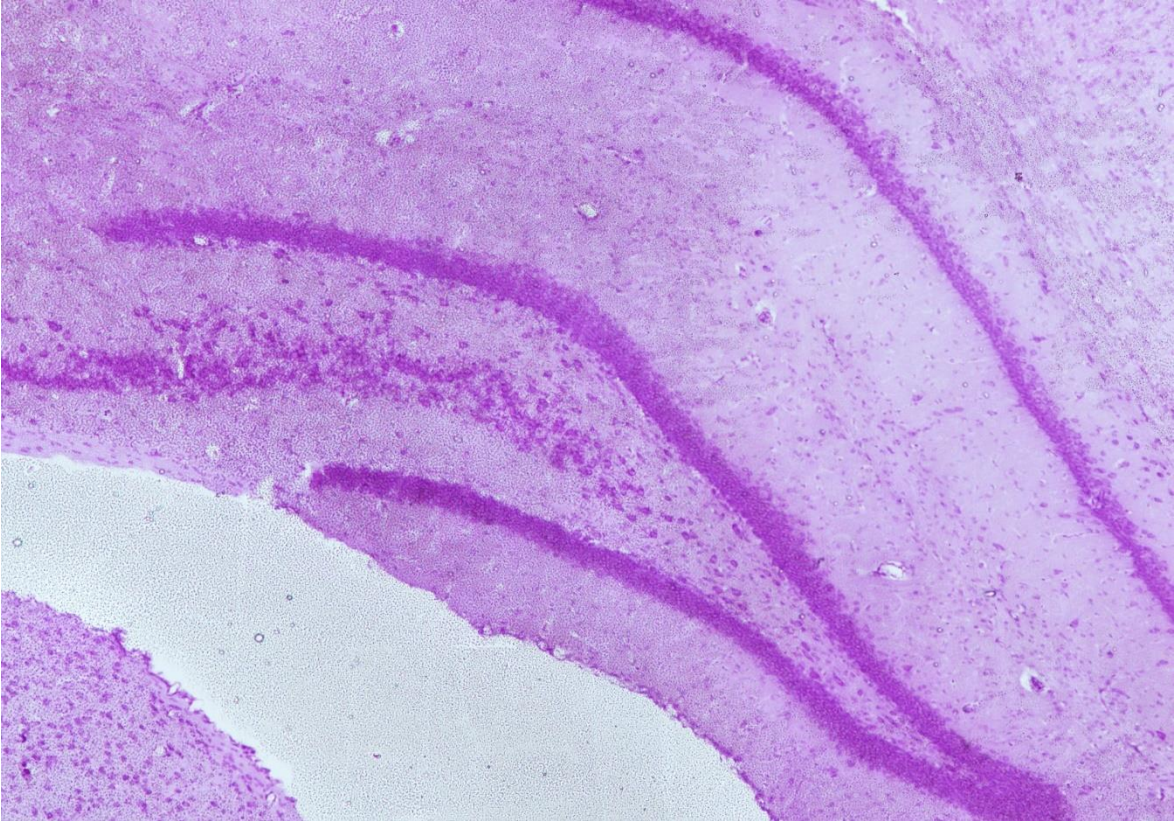
Çizim 3.16. Kontrol grubu 5 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



Çizim 3.17. Kontrol grubu 5 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



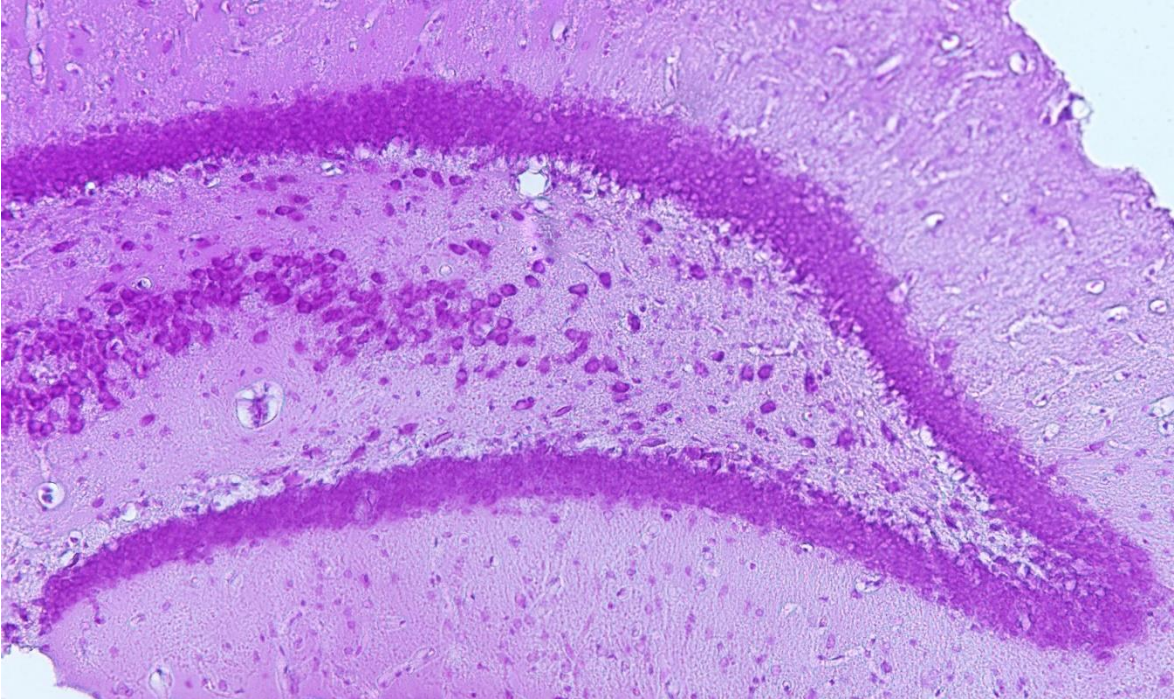
Çizim 3.18. Kontrol grubu 6 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



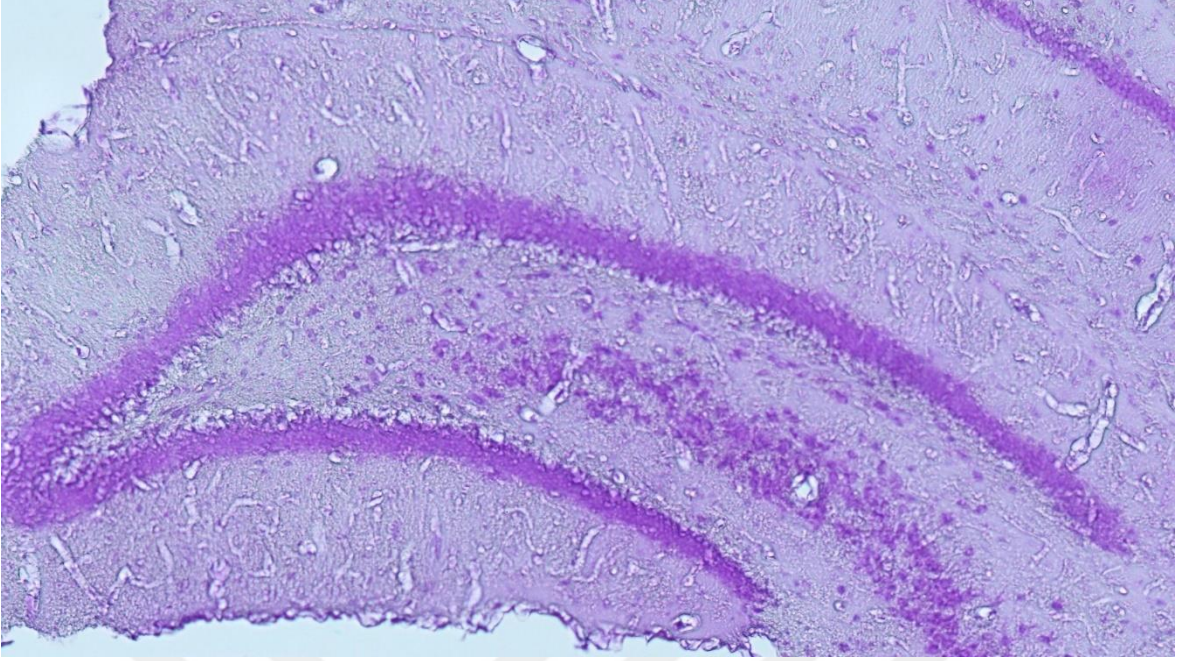
Çizim 3.19. Kontrol grubu 6 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



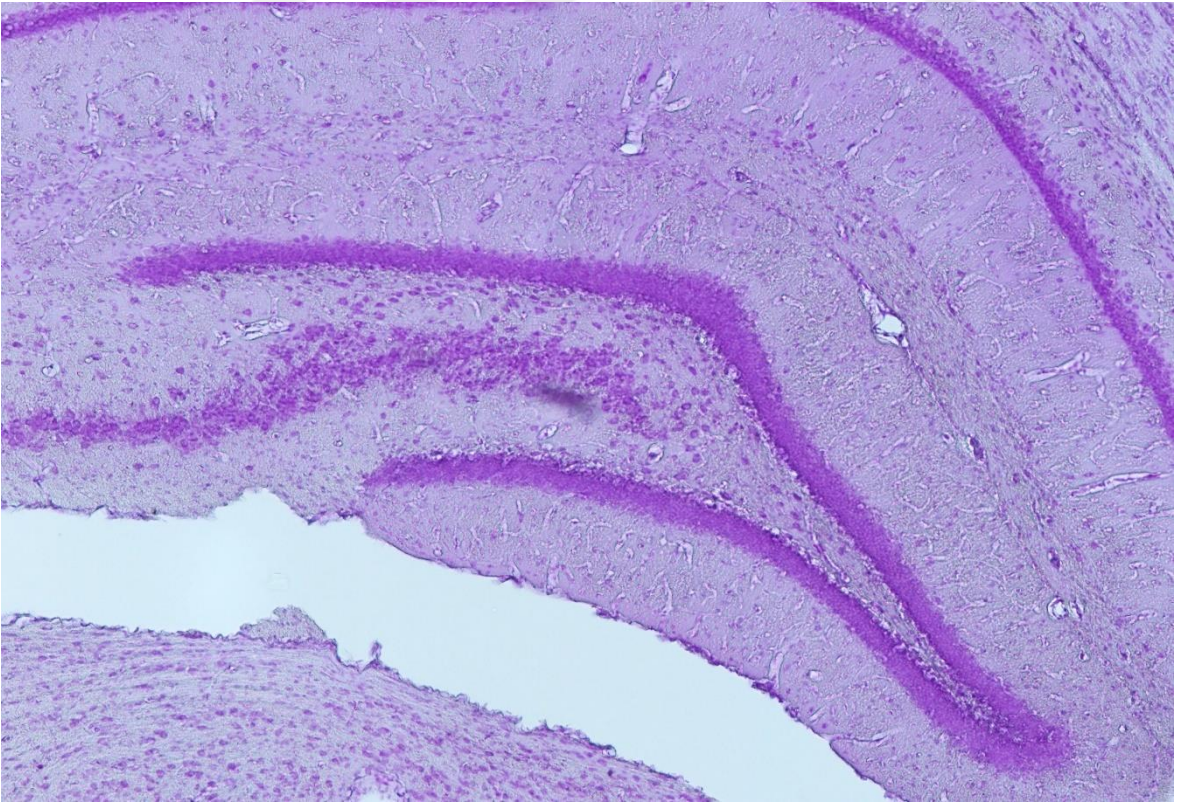
Çizim 3.20. Kontrol grubu 7 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



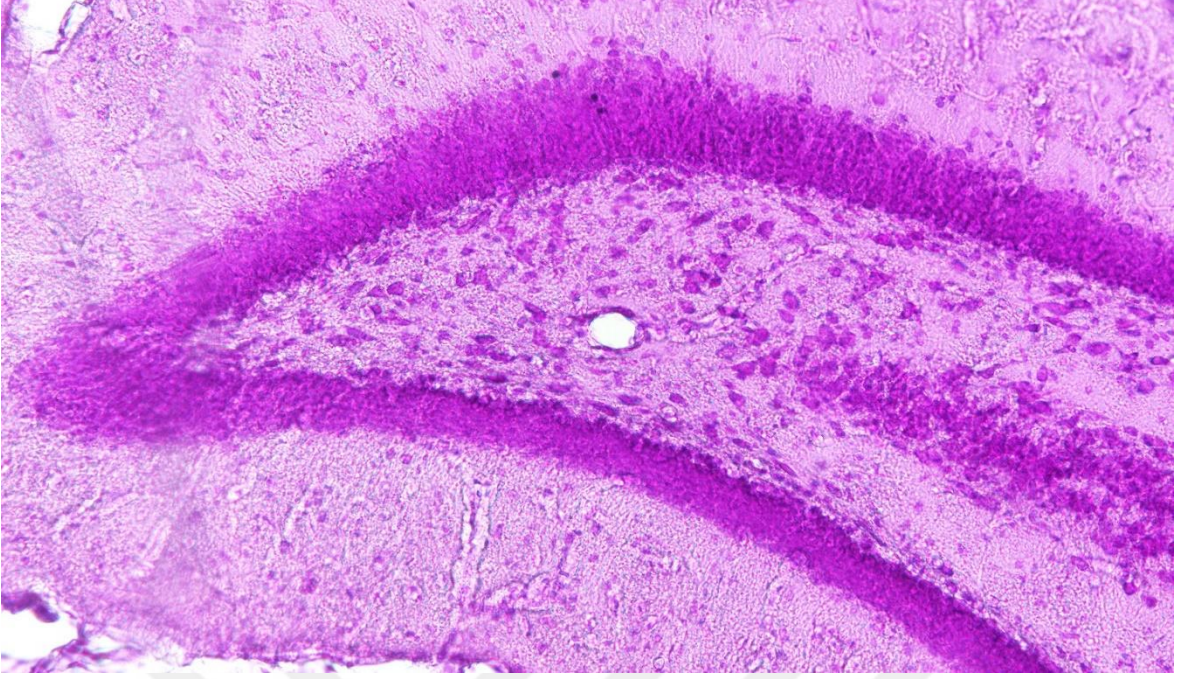
Çizim 3.21. Kontrol grubu 7 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



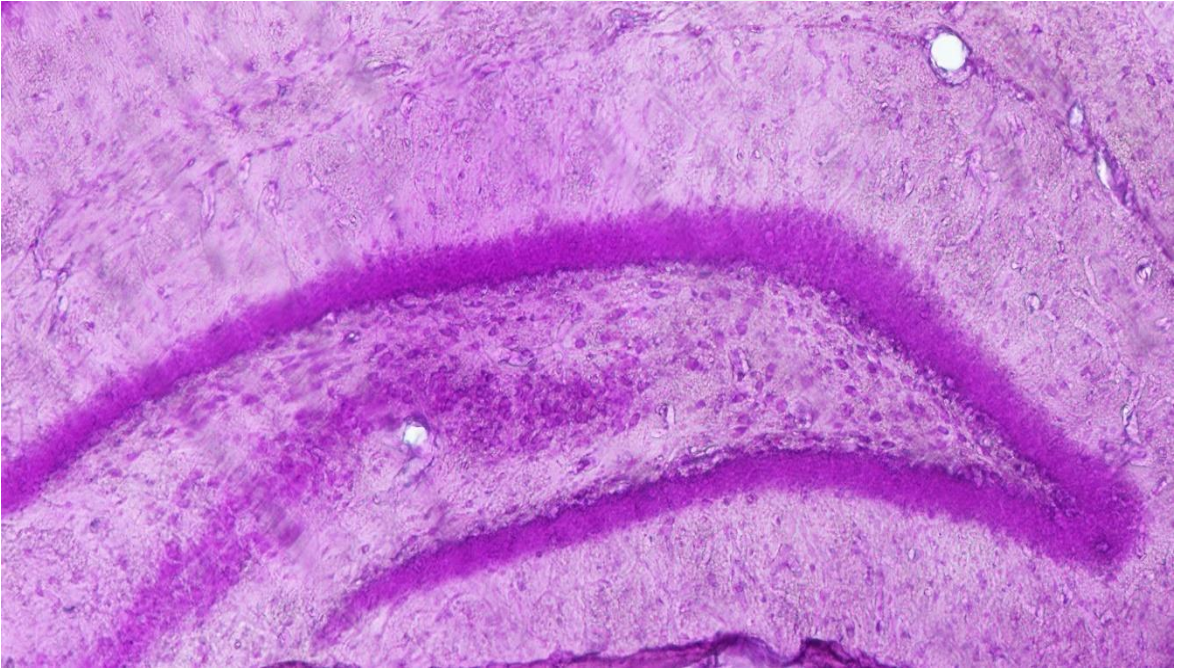
Çizim 3.22. Kontrol grubu 8 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



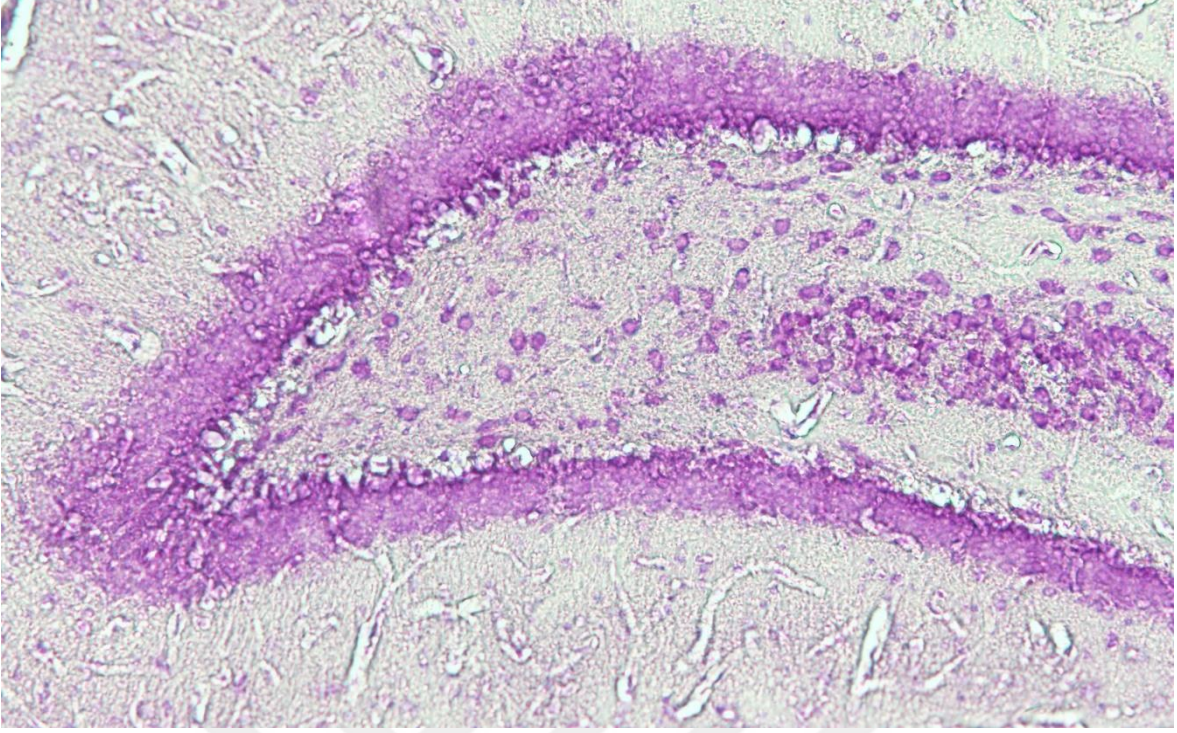
Çizim 3.23. Kontrol grubu 8 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



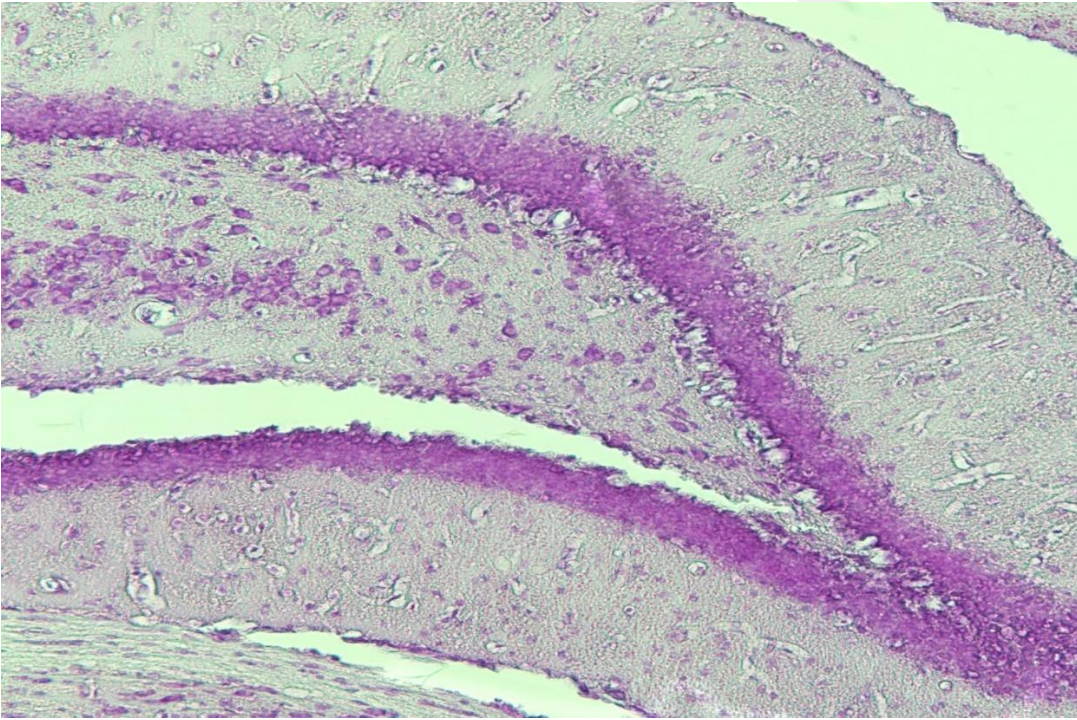
Çizim 3.24. Stres grubu 1 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



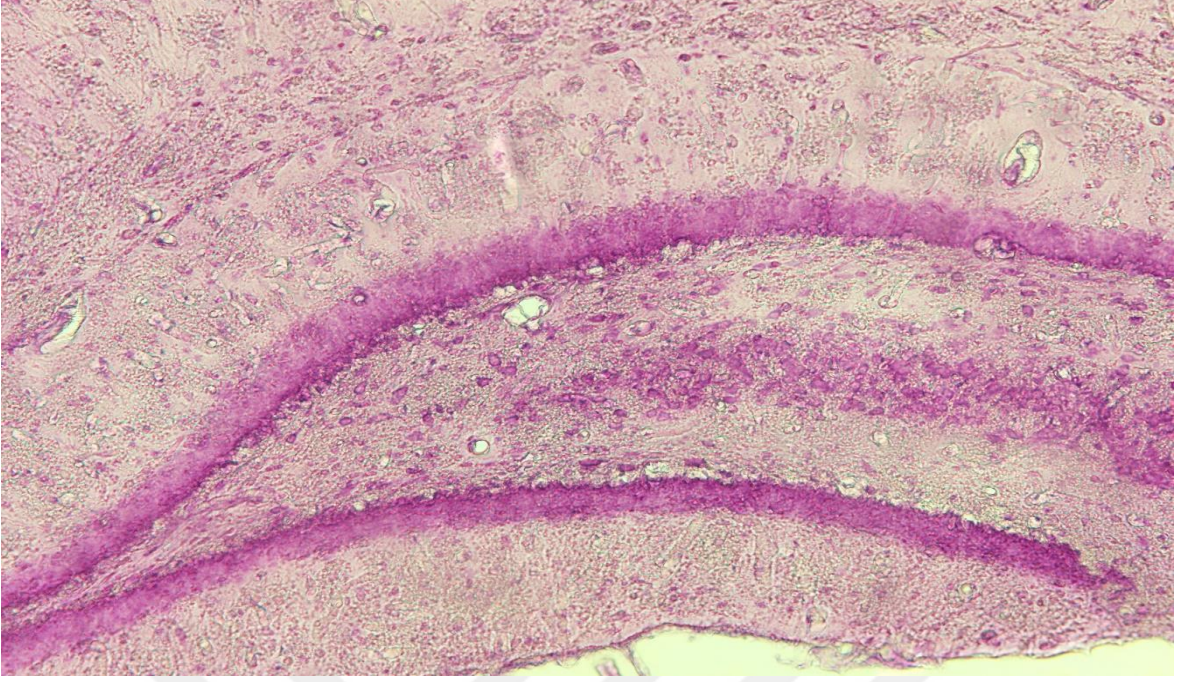
Çizim 3.25. Stres grubu 1 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



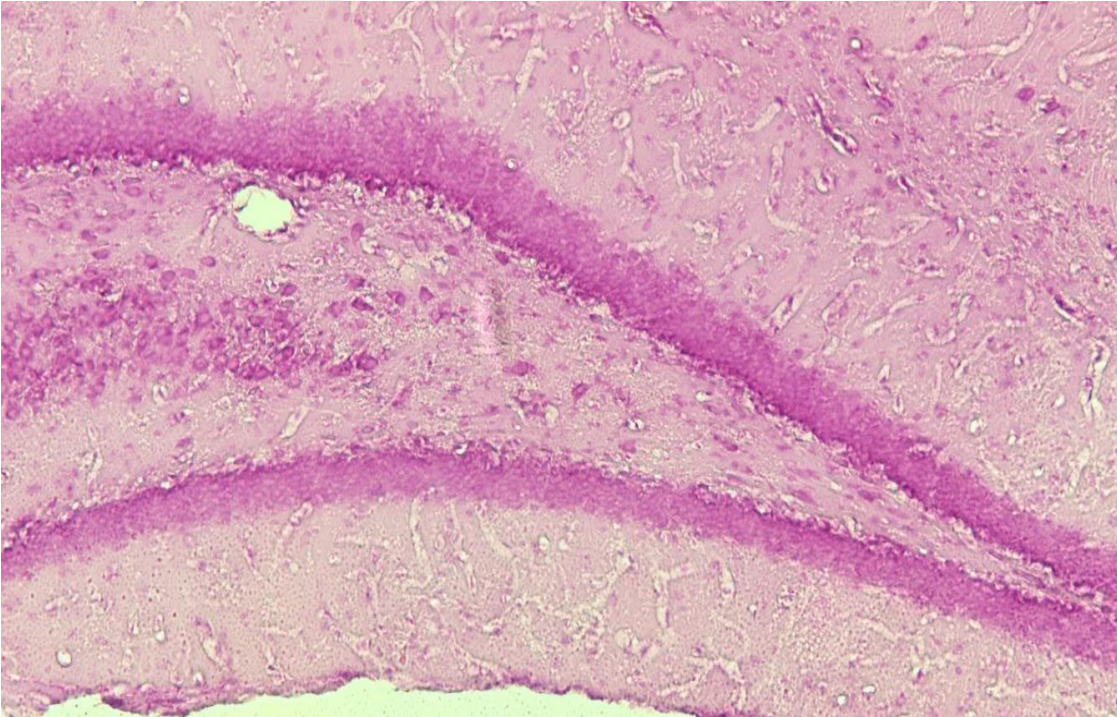
Çizim 3.26. Stres grubu 2 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



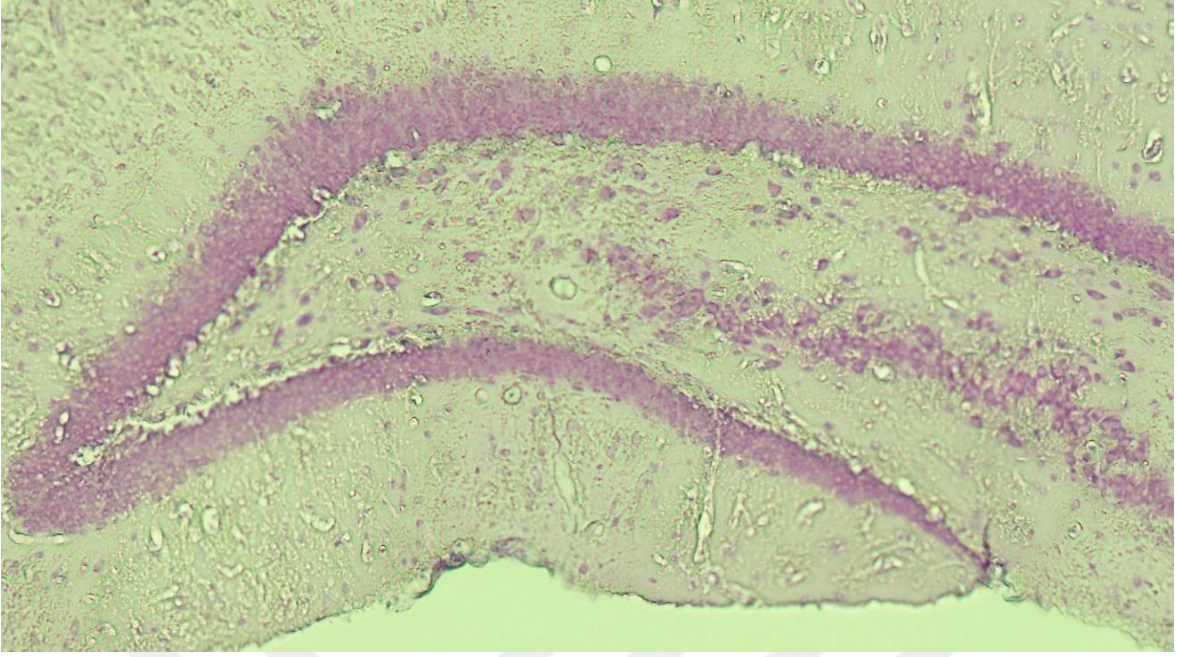
Çizim 3.27. Stres grubu 2 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



Çizim 3.28. Stres grubu 3 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



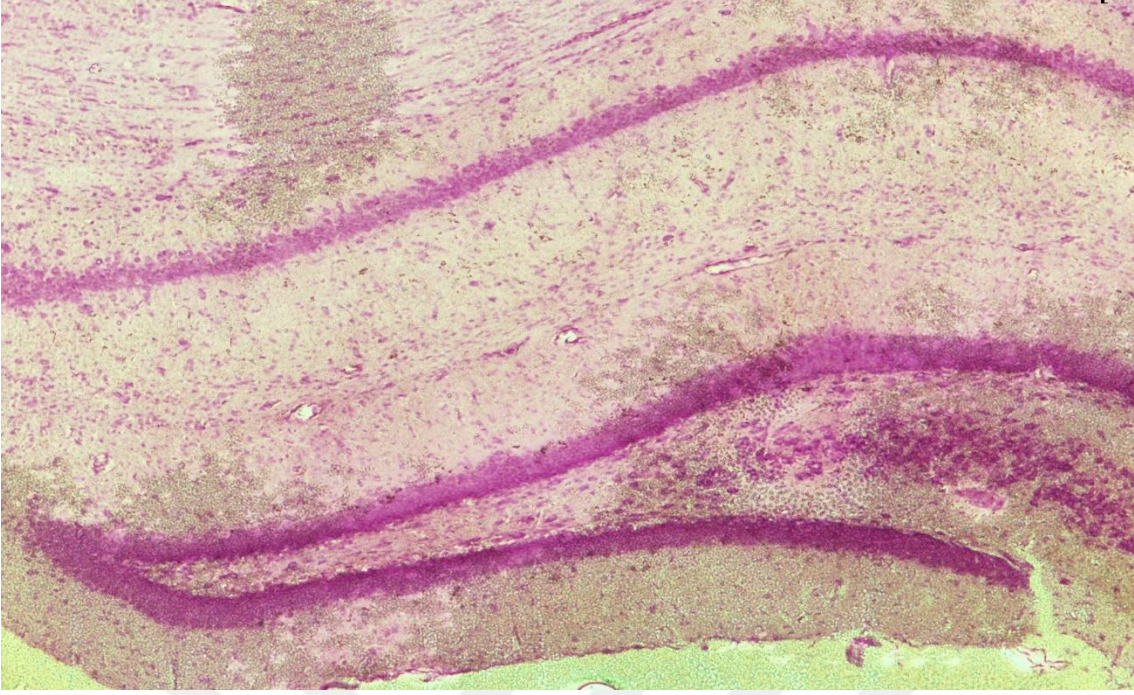
Çizim 3.29. Stres grubu 3 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



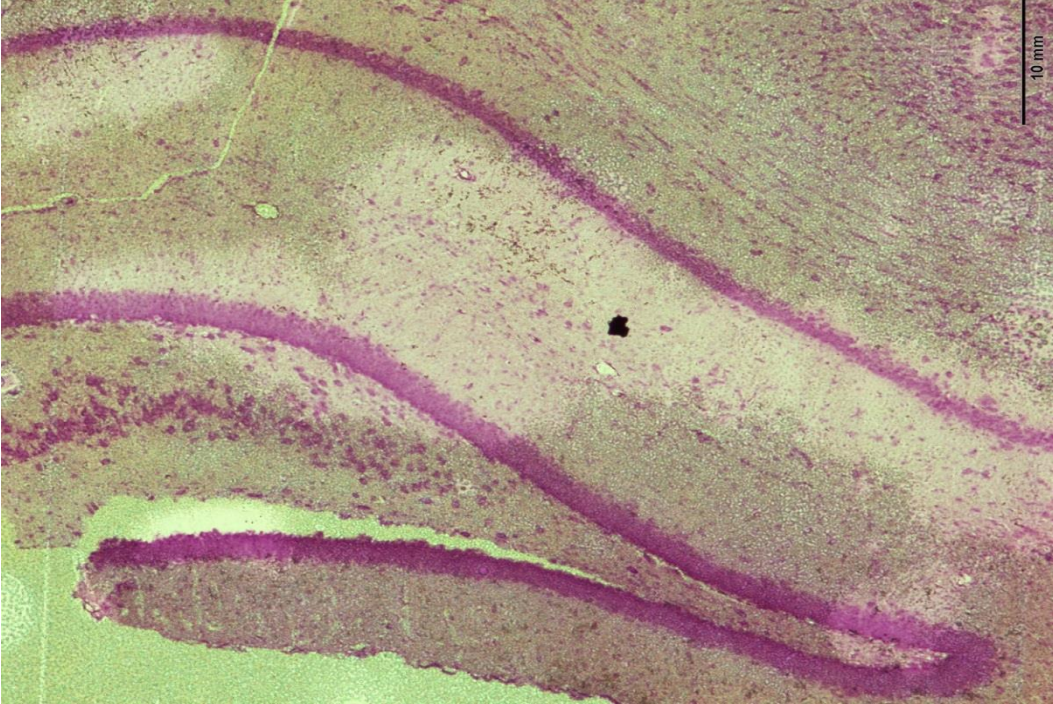
Çizim 3.30. Stres grubu 4 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



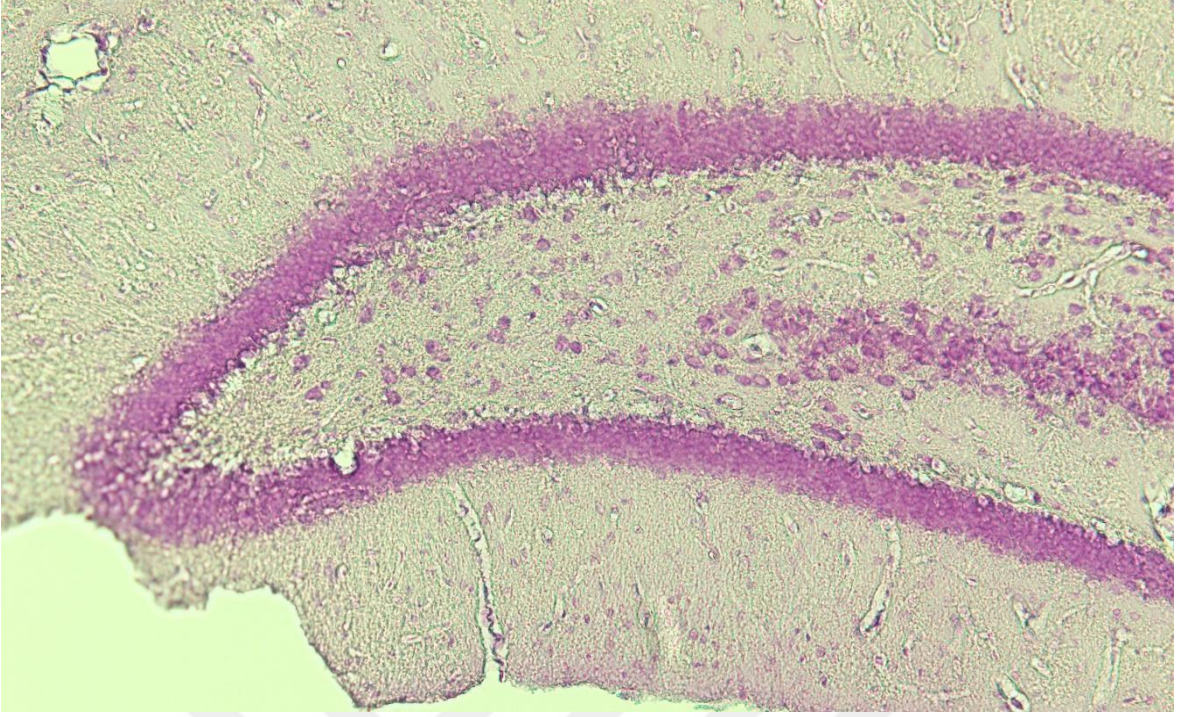
Çizim 3.31. Stres grubu 4 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



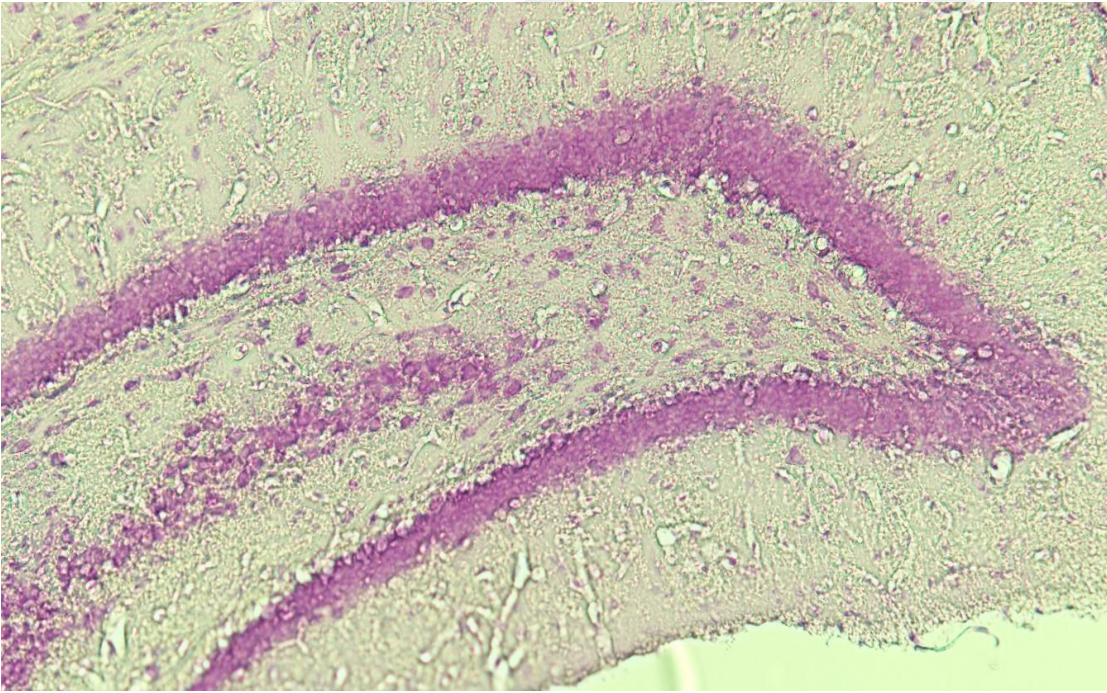
Çizim 3.32. Stres grubu 5 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



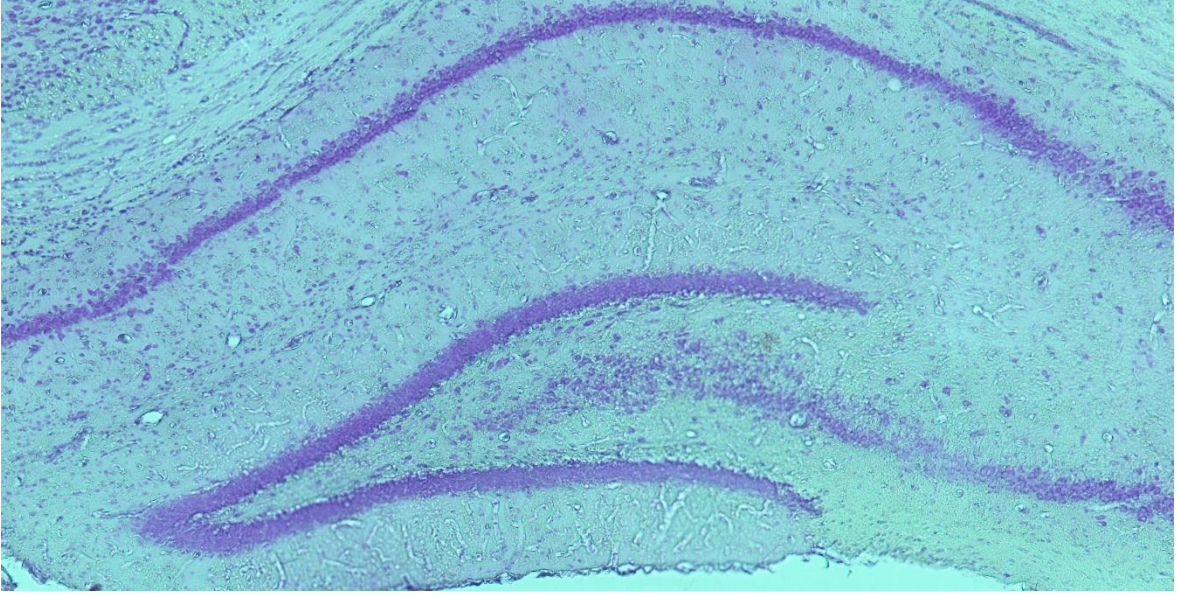
Çizim 3.33. Stres grubu 5 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



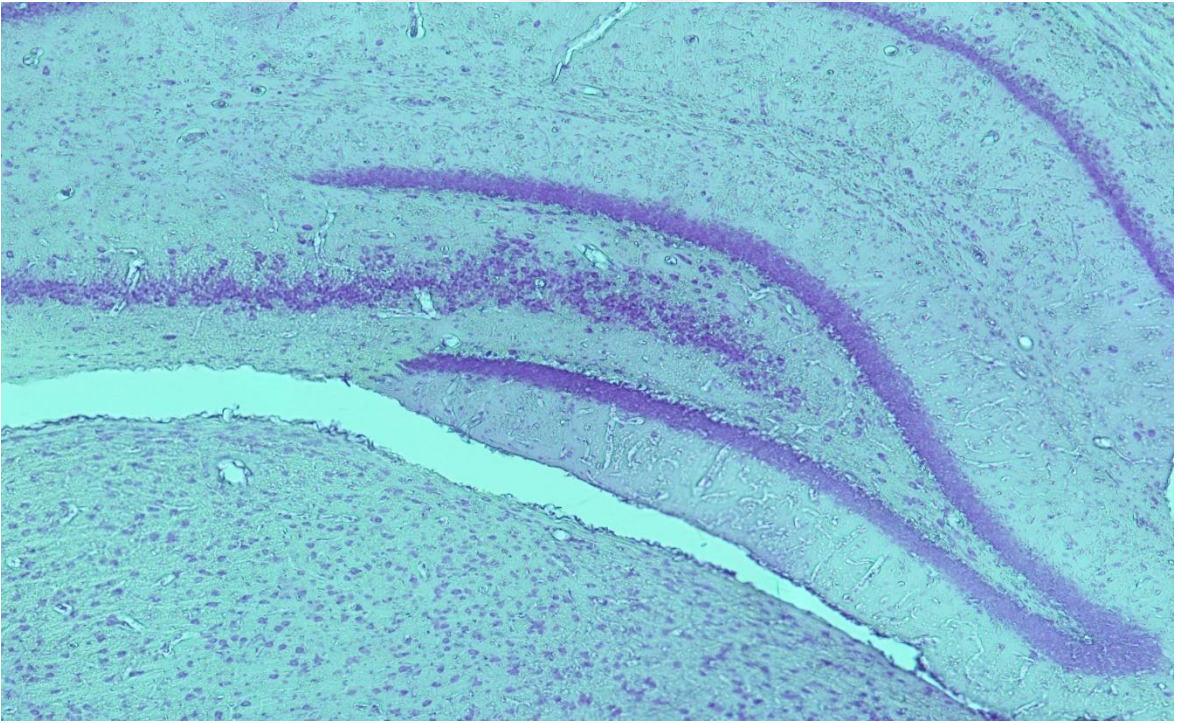
Çizim 3.34. Stres grubu 6 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



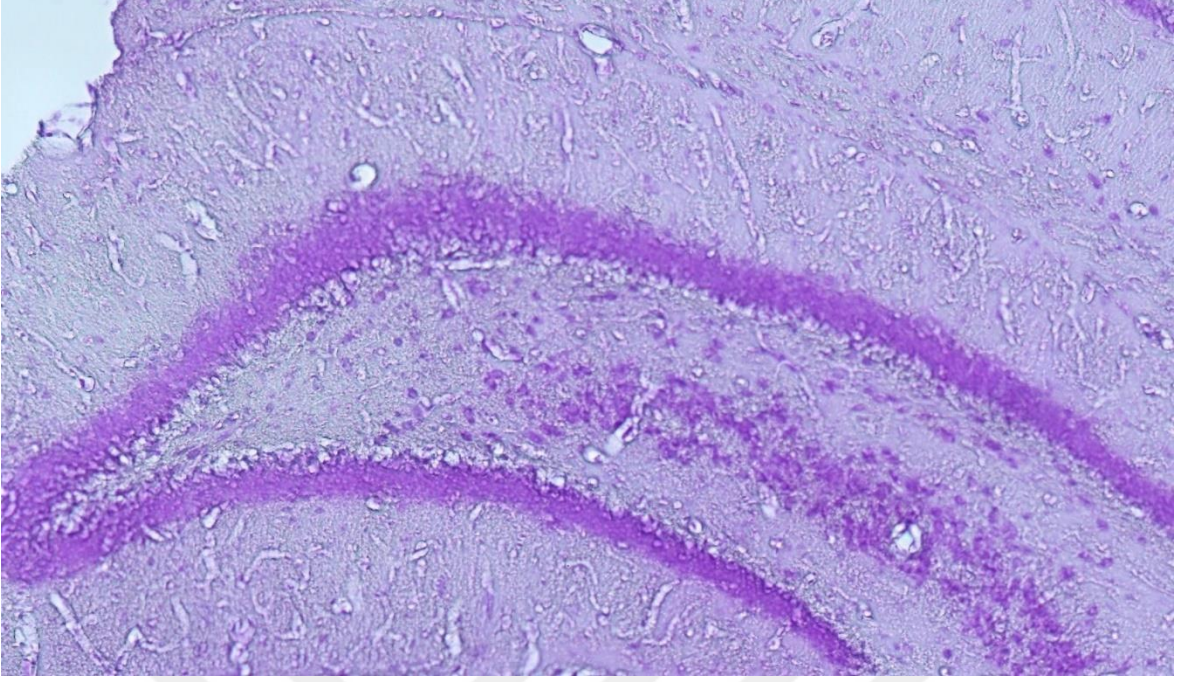
Çizim 3.35. Stres grubu 6 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



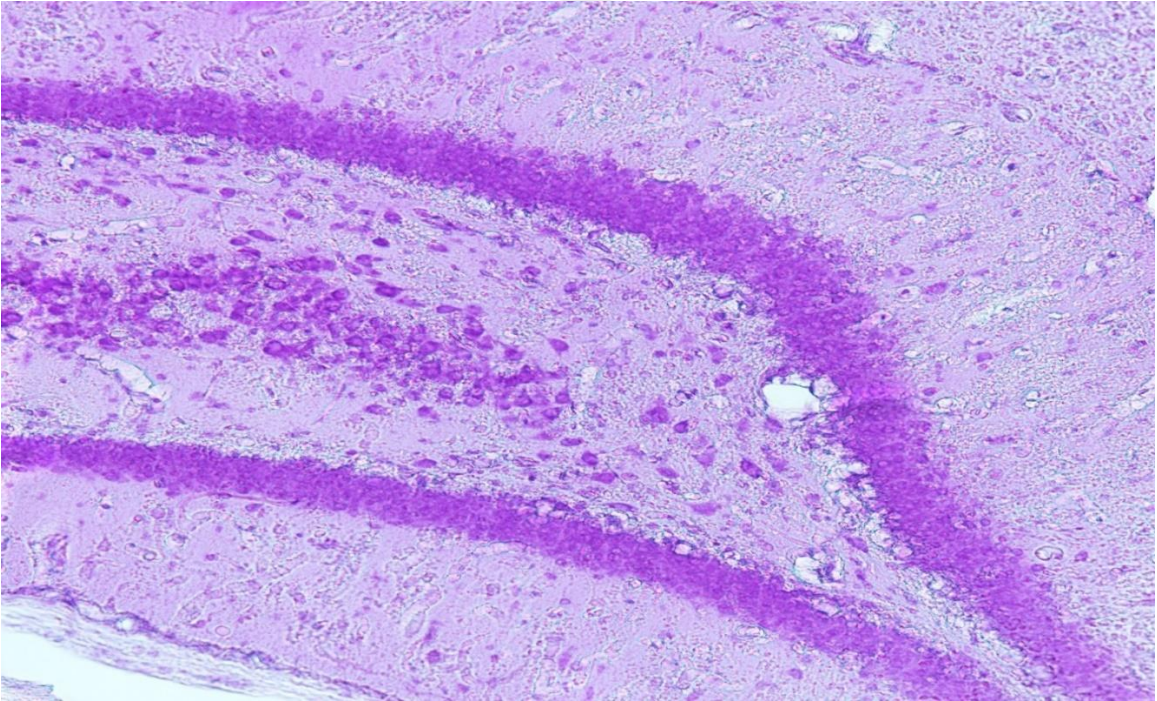
Çizim 3.36. Stres grubu 7 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



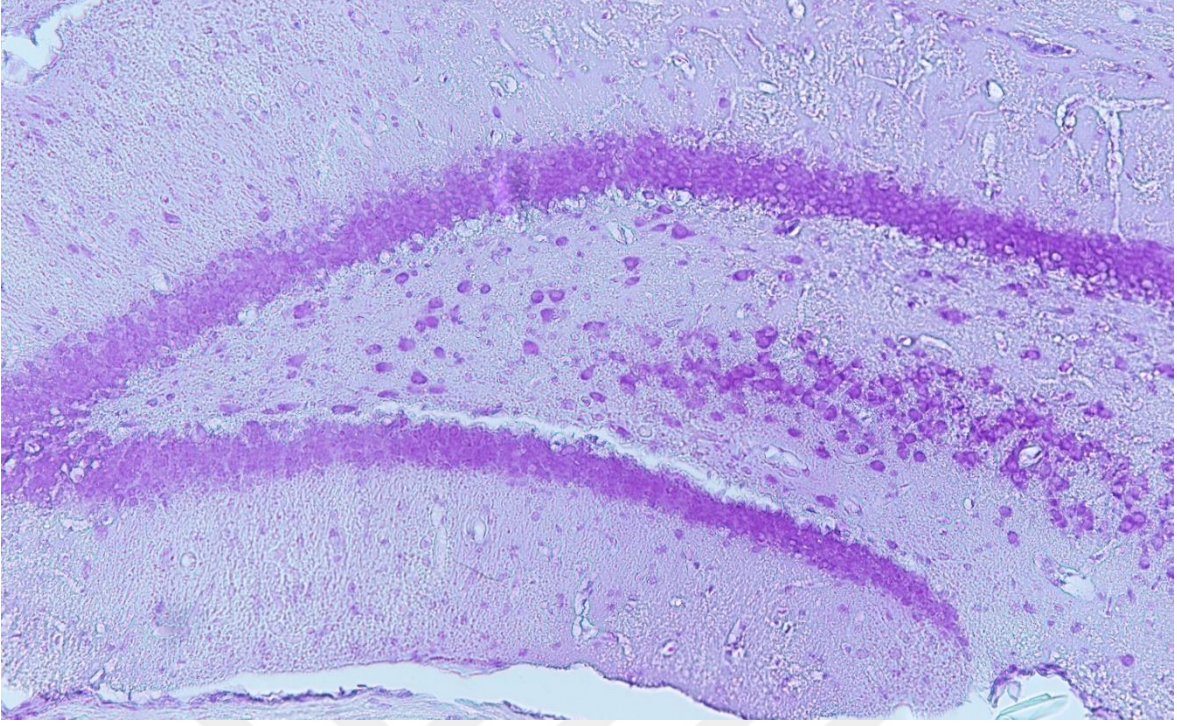
Çizim 3.37. Stres grubu 7 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



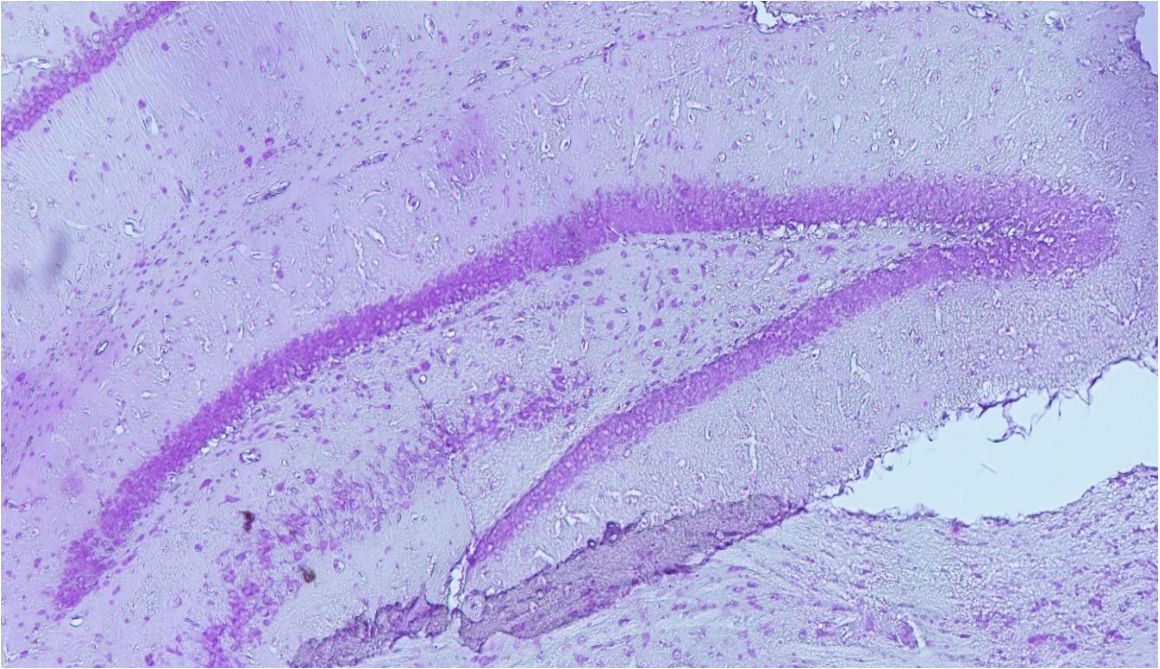
Çizim 3.38. Stres grubu 8 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



Çizim 3.39. Stres grubu 8 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



Çizim 3.40. Stres grubu 9 no'lu sıçan sol hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).



Çizim 3.41. Stres grubu 9 no'lu sıçan sağ hipokampus mikroskopi görüntüsü (200X büyütme).

5. TARTIŞMA

Stres beyin işleyişi için önemli düzenleyici bir etkidir. Beynin nörobiyolojisinde birçok stres bağımlı biyolojik yolak bulunmaktadır. Bu kontrol mekanizmalarında sinaps reseptörlerine etki edebilecek çeşitli ligandlar, stres hormonları ve nöropeptidler gibi düzenleyici faktörler rol almaktadır. Stres etkenine karşı oluşan stres hormonları hipokampus hücreleri üzerinde morfolojik etkiler oluşturmaktadır. Organizma öncelikle hücre düzeyinde strese karşı bir reaksiyon oluşturma yoluna gitmektedir. Yapılan çalışmalarda; akut stresin hipokampusun dorsal kısmında bulunan progenitor hücrelerin artışına sebep olduğu gösterilmiştir, aynı etki ventral hipokampus'te görülmemiştir. Akut stres hipokampus'te bulunan astrositlerde özellikle dorsal alanlarında FGF2 ekspresyon artışına sebep olmaktadır. FGF2 büyüme faktörü protein ailesinden olması sebebi ile hücre döngü yolağına doğrudan etki etmektedir. FGF2'ye karşı kullanılan antikorlar ile nötralize edilmiş *invivo* çalışmalarda progenitor hücrelerin sayılarında azalma görülmüştür. İlgili progenitor hücreler bölünme yeteneğine sahip olup, hipokampusun gyrus dentatus bölgesinde, granüler hücre tabakasında yoğun olarak bulunmaktadır (Kirby ve diğ. 2013).

Çalışmamızda nöronal sistem üzerine etkili faktör olan stresin hipokampusteki doku morfolojisini ne derecede etkilidiğini araştırmayı amaçladık. Bu amaçla ratlarda stres ve kontrol grupları oluşturulup hipokampus doku kalınlığı, histolojik katmanların morfolojik durumu ve hücre sayıları incelenmiştir. Stres grubu ile kontrol grubunda bulunan sıçanların gyrus dentatus bölgesinde bulunan hücre sayıları karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık saptanmıştır ($p<0,05$).

Gyrus dentatus bölgesi birbiri içerisine kıvrılmış üç ana histolojik tabakadan oluşmaktadır. Bu tabakalarda hipokampal yolaklar ve karakteristik dizilime sahip hücresel yapılar bulunmaktadır. Bu tabakalar sırasıyla; moleküler, piramidal ve polimorfik hücre tabakalarıdır. Polimorfik hücre tabakasında bulunan hücrelerin hafıza ile yakın ilişkisi bulunmaktadır. Bu tabakada bulunan hücre sayılarındaki değişimler hipokampus'u etkileyen demans gibi birçok nörolojik hastalığın etyopatolojisinde rol oynamaktadır. Polimorf hücrelerin kaynağı, piramidal tabakada bulunan progenitor hücrelerdir. Bu hücreler çoğalıp farklılaşma özelliğine sahip hücrelerdir. Bu hücrelerin yapısında oluşacak değişimler fonksiyonel özelliklerini kaybetmelerine sebep olabilir (Myers ve Scharfman 2009).

Stres bağımlı nöral hücre yolları kortikotropin gibi stres hormonlarının varlığında değişikliğe uğramaktadır. Homeostazis'i bozulan hücreler anormal morfolojik paternler gösterebilmektedirler. Hipokampus'te progenitor hücrelerden kaynaklanan yeni hücrelerin doku içerisinde hücre göçleri oluşmaktadır. Bu dinamik değişimin hipokampus hücrelerinde sinaptik plastisite değişikliklerine neden olmaktadır. Stres bir etken olarak hipokampus'te bulunan progenitor hücrelere çeşitli düzeylerde etkimektedir. Stresin bu hücrelerde yarattığı değişimler ilgili doku alanlarında morfolojik farklılaşmaya sebep olmaktadır. Stresin yarattığı etki mekanizmasının tam olarak anlaşılması, hipokampus'u ilgilendiren nöron hücre dejenerasyonu gibi hastalıkların tedavisinde etkili bir yol oluşturabilir.

Embriyonik beyin gelişiminde ve erişkin beyinlerinde nöral progenitor hücreler sıkı kontrol altındadır ve sınırlı olarak nöronlara ve glia hücrelerine farklılaşabilmektedir. Embriyonik hipokampus dokusunda bulunan progenitor hücrelerde ve hücre farklılaşması aşamasındaki beyin hücrelerinde Nuclear factor one X (NFIX) olarak bilinen, hücre döngüsüne etkisi olan genin ekspresyonu artmaktadır. Yapılan çalışmalarda bu genin susturulması postnatal hipokampus morfolojisini bozmakta ve beyin gelişim bozukluklarına sebep olmaktadır. NFIX faktörünün ekspresyon artışı SOX9 olarak isimlendirilen yapısal genin ifadesini baskılamaktadır. Bu faktörlerin hipokampus gelişiminde ana faktörler olduğu düşünülmektedir. Bu tür moleküler faktörler; hipokampus'te glial hücre popülasyonunu etkilemekte ve nöral formasyonun değişmesine sebep olmaktadır (Heng ve diğ. 2014). Stresin de dolaylı olarak etkilediği bu hücre yolaklar nöron biyolojisinde oldukça önemlidir.

Hipokampus hacim azalması ile demans ve hafızayı ilgilendiren hastalıklar arasında ilişki bulunmaktadır. Yaşlı bireyler ile yapılan deneylerde; ağır egzersizlerin hipokampus hacmini arttırdığı gösterilmiştir. İçinde bulunan çevresel şartlar ve yaşayış biçimleri, ekstrasellüler bir alan gibi organizmamızı etkileyerek homeostazisi etkilemektedir. Ağır egzersiz yapılmasıyla artış sağlanan hipokampus hacmi ile aynı deneklerin spatial hafızaları arasında bağlantı kurulmuştur (Erickson 2009).

Çalışmamızda histolojik verilerin istatistiksel olarak karşılaştırılmasında kontrol grubu ve stres grubu arasında gyrus dentatus bölgesinde hücre sayıları açısından anlamlı bir farklılık varken ($p < 0,05$); hipokampus kalınlıkları açısından ise istatistiksel olarak herhangi bir anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0,05$).

Ateşli nöbetlerin hipokampus üzerine etkilerini inceleyen çalışmalarda konvülsif atakların hipokampus üzerine olumsuz etkileri olduğu ve hücre yapısında bozukluklara sebep olduğu gösterilmiştir. İlgili hastalıkların hücrelerde endoplazmik retikulum stresine sebep olduğu ve

stresin nöron üzerinde haberleşme yollarını etkileğini göstermiştir. Hipokampus hücrelerinde oluşan endoplazmik retikulum stresi; TRIP3 (Tribbles-related protein 3) ve GRP78 proteinlerinin artışına ve bu proteinlerin de AKT sinyal yolağının fosforilasyonuna sebep olarak inhibisyonuna sebep olduğu gösterilmiştir (Zhaoa ve diğ. 2016). Stres gibi homeostazi bozarak hipokampusun nöronal aktivitesine negatif yönde etki gösterebilecek birçok etken bulunmaktadır. Bu etkenler hipokampusun hücre yapısında bozukluklara neden olup hafıza ve yön bulma gibi beyin fonksiyonlarını negatif yönde etkileyebilmektedir. Stres ile ilgili biyolojik çalışma alanları gün geçtikçe genişlemekle birlikte, nöron biyolojisine olan negatif etkileri belirlenerek tedavi olanaklarının artırılabilceğini düşünmekteyiz.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Canlılar yaşamları boyunca buldukları çevreye biyolojik yanıtlar verir. Bu dinamik süreçte çevresel etkenlerin türü ve şiddeti ile değişken olmakla birlikte canlılar üzerinde çeşitli stres faktörleri oluşabilmektedir.

Stres insanlarda hemen hemen bütün organ ve dokuları etkileyen ve homeostazis'i bozan bir faktör olarak kabul edilmektedir. Homeostazis değişikliklerine karşı hücre ve dokular morfolojik farklılıklara gidebilir. Bu farklar hücresel işleyişi bozacak düzeyde ve şiddette ise doku ve organlarda fonksiyon bozuklukları görülebilmektedir. Hipokampus'u etkileyen hastalıklarda fonksiyon kaybına bağlı olarak demans ve yer-yön duyu kayıpları gibi rahatsızlıklar yaşanabilmektedir. Stres etkenlerine maruz kalmış canlılarda öncelikle hücreler arası iletişim yolları etkilenip; buna bağlı olarak doku ve organlar dejenerasyona uğrayabilmektedir. Yoğun stres durumlarında; hormonlar, nörotransmitterler ve sitokinler gibi hücreler arası etkileşimi sağlayan faktörlerde değişimler oluşabilmektedir. Bu biyolojik değişime bağlı olarak sinir sistemi yapısında morfolojik ve buna bağlı fonksiyonel bozulmalar oluşabilmektedir.

Çalışmamızda, sıçanlarda hipokampus'un kronik strese karşı oluşturduğu morfolojik yanıtın; dokunun boyutlarına ve dokunun alt birimlerindeki hücre sayılarına etkisini göstermeyi amaçlamaktayız. Stresin yarattığı biyolojik etkiler bir çok biyolojik yolağı etkilemektedir. Nöron hücreleri için önemli iletişim yollarından biri olan AKT yolağının stres faktörlerinden etkilendiği bilinmektedir. Çevresel stres, hücre reseptörleri ve transkripsiyon faktörleri yolu ile endoplazmik retikulum stresine (ERS) sebep olabilmektedir. Bu etkide; stresin hücrede yarattığı uyarılar GRP78 gibi fosforilasyon yapan protein artışlarına sebep olmaktadır. Bu protein etkileşimi ile nöron hücrelerinin kullandığı önemli bir yolak olan AKT yolağının inhibe olduğu bilinmektedir (Zhaoa ve diğ. 2016). Bu tür moleküler değişimler hücrede homeostazisi sağlayamayacak düzeyin üzerine çıktığı zaman hücrelerde apoptozis yada hücre fonksiyon kayıpları görülebilmektedir.

Hipokampus kalınlıkları superoinferior aks'ta ölçüldüğünde, deney ve kontrol gruplarındaki sıçanların hipokampus kalınlıkları kendi içerisinde istatistiksel olarak kıyaslanmış ve kalınlıkları açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Hipokampus'un gyrus dentatus bölgesinde çoğalıp farklılaşma özelliğine sahip progenitor hücreler bulunmaktadır. Bu bölgede bulunan progenitor hücreler polimorfik hücre tabakasının kaynağını oluşturan bir alandır. Stres faktörünün progenitor hücreler üzerine etkisi bulunmaktadır. Stres bu hücrelerin çevresini saran astrositleri etkileyerek FGF2 büyüme faktörü gibi hücre döngüsüne etkisi olan faktörlerin fazla salınmasına sebep olmaktadır. Bu büyüme faktörleri hücrelerde çoğalma ve farklılaşmayı etkilemektedir (Kirby ve diğ. 2013). Stres bu biyolojik farklılaşmanın ilk basamağını oluşturmaktadır.

Koronal beyin kesitlerinde histolojik olarak gyrus dentatus bölgesi üç ana hücre tabakasından oluşmaktadır. Dıştan içe doğru; moleküler hücre tabakası, piramidal hücre tabakası ve polimorf hücre tabakası'dır. Polimorf hücreler iki piramidal hücre tabakası arasında kalan alanda bulunmakta ve birçok interensek hipokampal yolağa katılmaktadır (Sancho ve diğ. 2012). Polimorf hücre yapılarında ve sayılarındaki herhangi bir değişiklik ilgili olduğu yolakta değişimlere sebep olabilir. Bu bağlamda stresin hücrelerde yarattığı morfolojik değişimlerin ne şekilde olduğu ve biyolojik etmenlerinin net belirlenmesi biyolojik olarak stres ile mücadelede oldukça önemlidir. Bu etkinin azaltılması başta hipertansiyon, fonksiyonel doku hasarları ve nörolojik rahatsızlıkların oluşma sıklığını ve etkisini azaltabilir. Bu sebeple stres ve etkilediği hücre hasarları önemli bir çalışma alanı oluşturmaktadır.

Çalışmada; deney ve kontrol olmak üzere iki farklı grup oluşturularak, kronik öngörülemeyen stres modeli uygulanmış sıçanların hipokampus dokuları morfolojik olarak incelenmiştir. Sıçan rat atlası ile belirlenen referans noktalarından alınan histolojik kesitlerde sağ ve sol hipokampus hücre sayıları karşılıklı gruplar arasında istatistiksel olarak kıyaslanmıştır.

Gyrus dentatus bölgeleri incelendiğinde polimorf hücre tabakasında bulunan hücre sayıları, kontrol ve stres grubu sıçanlarda karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p < 0,05$). Sol hipokampus için stres grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında; $p = 0,019$ anlamlılık değeri ile stres grubunda bulunan ilgili alandaki hücre sayılarında kontrol grubuna göre anlamlı fark ve artış bulunmaktadır. Sağ hipokampus alanları için çalışma grupları karşılaştırıldığında; $p = 0,021$ anlamlılık değeri ile stres grubundaki hayvanların gyrus dentatus bölgesindeki hücre sayıları arasında anlamlı istatistiksel fark bulunmaktadır. Hipokampus ile stres grubu arasında hipokampus'un gyrus dentatus alanlarında bulunan polimorf hücre sayılarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. Bu bağlamda; kronik öngörülemeyen stres modeli ile hipokampus'un gyrus dentatus bölgesinde bulunan hücre sayıları arasında istatistik olarak bir ilişki bulunmaktadır ve ilgili stres modeli sıçanların hem

sağ hem de sol gyrus dentatus bölgelerinde polimorfik hücre tabakasındaki polimorf hücre sayılarında artışa sebep olmaktadır.

Her iki grup kendi içerisinde istatistiksel olarak kıyaslandığında; sağ ve sol hemisferlere ait gyrus dentatus bölgelerindeki hücre sayıları arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Hipokampus'un gyrus dentatus alanı cornu ammonis olarak isimlendirilen CA3 bölgesi ile doğrudan bağlantı halinde bulunmaktadır. Bu bağlantıyı yoğun akson lifleri ile sağlamaktadır. Bu morfolojik yakınlık hafıza ve gyrus dentatus arasındaki bağlantıyı güçlendirmektedir. Stres etkenlerinin; birçok nörolojik hastalıkla doğrudan yada dolaylı ilişkisi bulunmaktadır. İleriye dönük olarak; beyin hastalıklarının patogenezinin aydınlatılmasında, stres faktörlerinin nöron hücreleri ile olan etkileşiminin tam olarak anlaşılması önem taşımaktadır. Benzer şekilde stres aracılı hücre yolaklarının çok yönlü çalışılması ile etkili tedavi olanaklarının da sağlanabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

Aiqin Chen, Chengjia Bao, Ying Tang, Xiaoqing Luo, Lixia Guo, Bin Liu. Involvement of protein kinase ζ in the maintenance of hippocampal long-term potentiation in rats with chronic visceral hypersensitivity. *J Neurophysiol.* 2015 May; 113(9): 3047–3055.

Althaus A., Zhang H., Parent J. Axonal plasticity of age-defined dentate granule cells in a rat model of mesial temporal lobe epilepsy. *Neurobiol Dis.* 2016 Feb;86:187-96.

Bianka Brunne, Santos Franco, Elisabeth Bouché, Joachim Herz, Brian W. Howell, Jasmine Pahle, Ulrich Müller, Petra May, Michael Frotscher, Hans H. Bock. Role of the postnatal radial glial scaffold for the development of the dentate gyrus as revealed by Reelin signaling mutant mice. *Glia.* 2013 August; 61(8): 1347–1363.

Brandalise F., Gerber U. Mossy fiber-evoked subthreshold responses induce timing-dependent plasticity at hippocampal CA3 recurrent synapses. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014 Mar 18;111(11):4303-8.

C. Varela, S. Kumar, J. Y. Yang, M. A. Wilson. Anatomical substrates for direct interactions between hippocampus, medial prefrontal cortex, and the thalamic nucleus reuniens. *Brain Struct Funct.* 2014 May; 219(3): 911–929.

Campbell S., Zhang C., Monte L., Roe A., Rice K., Taché Y., Masliah E., Rissman R. Increased tau phosphorylation and aggregation in the hippocampus of mice overexpressing corticotropin-releasing factor. *J Alzheimers Dis.* 2015;43(3):967-76.

Catherine E. Myers, Helen E. Scharfman. A Role for Hilar Cells in Pattern Separation in the Dentate Gyrus: A Computational Approach. *Hippocampus.* 2009 April; 19(4): 321–337.

Charles Duyckaerts, Heiko Braak, Jean-Pierre Brion, Luc Buée, Kelly Del Tredici, Michel Goedert, Glenda Halliday, Manuela Neumann, Maria Grazia Spillantini, Markus Tolnay, Toshiki Uchihara. Part is part of Alzheimer disease. *Acta Neuropathol.* 2015; 129(5): 749–756.

Derek Evan Nee, John Jonides. Frontal–Medial Temporal Interactions Mediate Transitions among Representational States in Short-Term Memory. *The Journal of Neuroscience*, June 2014. 34(23):7964–7975.

Edmund T. Rolls. A quantitative theory of the functions of the hippocampal CA3 network in memory. *Front Cell Neurosci.* 2013; 7: 98.

Elizabeth D Kirby, Sandra E Muroy, Wayne G Sun, David Covarrubias, Megan J Leong, Laurel A Barchas, Daniela Kaufer. Acute stress enhances adult rat hippocampal neurogenesis and activation of newborn neurons via secreted astrocytic FGF2. *eLife.* Apr 16 2013.

Elsbeth M. McLachlan. Diversity of sympathetic vasoconstrictor pathways and their plasticity after spinal cord injury. *Clin Auton Res.* 2007 February; 17(1): 6–12.

FENG Yuan, CHAO Dongman, HE Xiaozhou, YANG Yilin, KANG Xuezhi. A novel insight into neuroprotection against hypoxic/ischemic stress. *Sheng Li Xue Bao.* 2009 December 25; 61(6): 585–592.

Francisco J. Sancho-Bielsa, Juan D. Navarro-Lopez, Gregori Alonso-Llosa, Asuncion Molowny, Xavier Ponsoda, Javier Yajeya, Carlos Lopez-García. Neurons of the Dentate Molecular Layer in the Rabbit Hippocampus. *PLoS One.* 2012; 7(11).

Georgia E. Hodes, Bethany Brookshire, Tiffany E. Hill-Smith, Sarah L. Teegarden, Olivier Berton, Irwin Lucki. Strain Differences in the Effects of Chronic Corticosterone Exposure in the Hippocampus. *Neuroscience.* 2012 October 11; 222: 269–280.

Gianmaria Maccaferri. Modulation of hippocampal stratum lacunosum-moleculare microcircuits. *J Physiol.* 2011 April 15; 589: 1885–1891.

Greti Aguilera, Ying Liu. THE MOLECULAR PHYSIOLOGY OF CRH NEURONS. *Front Neuroendocrinol.* 2012 January; 33(1): 67–84.

Grzegorz Wiera, Jerzy W. Mozrzymas. Extracellular proteolysis in structural and functional plasticity of mossy fiber synapses in hippocampus. *Front Cell Neurosci.* 2015; 9: 427.

Handley R., Mondelli V., Zelaya F., Marques T., Taylor H., Reinders A., Chaddock C., McQueen G., Hubbard K., Papadopoulos A., Williams S., McGuire P., Pariante C., Dazzan P. Effects of antipsychotics on cortisol, interleukin-6 and hippocampal perfusion in healthy volunteers. *Schizophr Res.* 2016 Apr 21. pii: S0920-9964(16)30131-1.

Helen E. Scharfman, Neil J. MacLusky. Estrogen and brain-derived neurotrophic factor in hippocampus: complexity of steroid hormone-growth factor interactions in the adult CNS. *Front Neuroendocrinol.* 2006 December; 27(4): 415–435.

Henry Gray, Susan Standring. *Gray's Anatomy. The Anatomical Basis of Clinical Practice.* 41st edition. Elsevier, 2016.

Hua-Tai Xu, Zhi Han, Peng Gao, Shuijin He, Zhizhong Li, Wei Shi, Oren Kodish, Wei Shao, Keith N. Brown, Kun Huang, Song-Hai Shi. Distinct lineage-dependent structural and functional organization of the hippocampus. *Cell.* Author manuscript; available in PMC 2015 June 19.

Jason J. Radley, Mohamed Kabbaj, Lauren Jacobson, Willem Heydendael, Rachel Yehuda, James P. Herman. Stress risk factors and stress-related pathology: neuroplasticity, epigenetics and endophenotypes. 2011 September; 14(5): 481–497.

Jeffrey G. Tasker, James P. Herman. Mechanisms of rapid glucocorticoid feedback inhibition of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis. *Stress.* 2011 July; 14(4): 398–406.

Jennifer A. Gilley, Cui-Ping Yang, Steven G. Kernie. Developmental profiling of postnatal dentate gyrus progenitors provides evidence for dynamic cell-autonomous regulation. *Hippocampus.* 2011 January; 21(1): 33–47.

Jennifer A. Gilley, Cui-Ping Yang, Steven G. Kernie. Developmental profiling of postnatal dentate gyrus progenitors provides evidence for dynamic cell-autonomous regulation. *Hippocampus.* 2011 January; 21(1): 33–47.

Jie Gao, He Wang, Yuan Liu, Ying-yu Li, Can Chen, Liang-ming Liu, Ya-min Wu, Sen Li, Ce Yang. Glutamate and GABA imbalance promotes neuronal apoptosis in hippocampus after stress. *Med Sci Monit.* 2014; 20: 499–512.

Joana Gil-Mohapel, Patricia S. Brocardo, Will Choquette, Russ Gothard, Jessica M. Simpson, Brian R. Christie. Hippocampal Neurogenesis Levels Predict WATERMAZE Search Strategies in the Aging Brain. *PLoS One.* 2013; 8(9).

Joel C. Geerling, Jung-Won Shin, Peter C. Chimenti, Arthur D. Loewy. Paraventricular hypothalamic nucleus: axonal projections to the brainstem. *J Comp Neurol.* 2010 May 1; 518(9): 1460–1499.

Johnson-Venkatesh EM, Khan MN, Murphy GG, Sutton MA, Umemori H. Excitability governs neural development in a hippocampal region-specific manner. *Development.* 2015 Nov 15;142(22):3879-91.

Jonathan L. C. Lee, Robert E. Hynds. Divergent cellular pathways of hippocampal memory consolidation and reconsolidation. *Hippocampus.* 2013 March; 23(3): 233–244.

Katie Sokolowski, Joshua G. Corbin. Wired for behaviors: from development to function of innate limbic system circuitry. *Front Mol Neurosci.* 2012; 5: 55.

Kirk I. Erickson, Ruchika S. Prakash, Michelle W. Voss, Laura Chaddock, Liang Hu, Katherine S. Morris, Siobhan M. White, Thomas R. Wójcicki, Edward McAuley, Arthur F. Kramer. Aerobic Fitness is Associated With Hippocampal Volume in Elderly Humans. *Hippocampus*. 2009 October; 19(10): 1030–1039.

Langman medikal embriyoloji. 9. Baskı. T.W. Sadler. Palme yayıncılık, Ankara, 2005.

Liam J. Drew, Stefano Fusi, René Hen. Adult neurogenesis in the mammalian hippocampus: Why the dentate gyrus? *Learn Mem*. 2013 December; 20(12): 710–729.

Li-Juan Zhu, Meng-Ying Liu, Huan Li, Xiao Liu, Chen Chen, Zhou Han, Hai-Yin Wu, Xing Jing, Hai-Hui Zhou, Hoonkyo Suh, Dong-Ya Zhu, Qi-Gang Zhou. The Different Roles of Glucocorticoids in the Hippocampus and Hypothalamus in Chronic Stress-Induced HPA Axis Hyperactivity. *PLoS One*. 2014; 9(5).

Lippincott. Histoloji Kitabı. Gulyunn Zhang ve Bruce A. Fenderson. İstanbul Tıp Kitabevi, İstanbul 2005.

Li-Tung Huang. Early-life stress impacts the developing hippocampus and primes seizure occurrence: cellular, molecular, and epigenetic mechanisms. *Front Mol Neurosci*. 2014; 7: 8.

Lorente de No R. Studies of the structure of the cerebral cortex. Continuation of the study of the ammonic system. *J Psychol Neurol*. 1934;46:113–177.

Lutz Slomianka, Irmgard Amrein, Irene Knuesel, Jens Christian Sørensen, David P. Wolfer. Hippocampal pyramidal cells: the reemergence of cortical lamination. *Brain Struct Funct*. 2011 November; 216(4): 301–317.

M.M. Ostrander, Y.M. Ulrich-Lai, D.C. Choi, J.N. Flak, N.M. Richtand, J.P. Herman. Chronic stress produces enduring decreases in novel stress-evoked c-fos mRNA expression. *Stress*. 2009 November; 12(6): 469–477.

Maria Stefania Spagnuolo, Maria Pina Mollica, Bernardetta Maresca, Gina Cavaliere, Carolina Cefaliello, Giovanna Trinchese, Rosaria Scudiero, Marianna Crispino, Luisa Cigliano. High Fat Diet and Inflammation Modulation of Haptoglobin Level in Rat Brain. *Front Cell Neurosci*. 2015; 9: 479.

Michael S. Fanselow, Hong-Wei Dong. Are The Dorsal and Ventral Hippocampus functionally distinct structures? *Neuron*. Available in PMC 2011 January 14.

Michael S. Fanselow, Hong-Wei Dong. Are The Dorsal and Ventral Hippocampus functionally distinct structures? *Neuron*. 2010 January 14; 65(1): 7.

Monika Fleshner, Steven F. Maier, David M. Lyons, Murray A. Raskind. The neurobiology of the stress-resistant brain. *Stress*. 2011; 14(5): 498–502.

Moosavi F., Hosseini R., Saso L., Firuzi O. Modulation of neurotrophic signaling pathways by polyphenols. *Drug Des Devel Ther*. 2015 Dec 21;10:23-42.

Nicola A. Botcher, Joanne E. Falck, Alex M. Thomson, Audrey Mercer. Distribution of interneurons in the CA2 region of the rat hippocampus. *Front Neuroanat*. 2014; 8: 104.

Nicola Z, Fabel K, Kempermann G. Development of the adult neurogenic niche in the hippocampus of mice. *Front Neuroanat*. 2015 May 7;9:53.

Nim Tottenham, Margaret A. Sheridan. A Review of Adversity, The Amygdala and the Hippocampus: A Consideration of Developmental Timing. *Front Hum Neurosci*. 2009; 3: 68.

Patricia H. Janak, Kay M. Tye. From circuits to behaviour in the amygdala. *Nature*. 2015 January 15; 517(7534): 284–292.

Renkli embriyoloji atlası. Ulrich Drews. Nobel tıp kitabevi, İstanbul 2000.

Rial D., Lemos C., Pinheiro H., Duarte JM., Goncalves FQ., Real J., Prediger RD., Gonçalves N., Gomes C., Canas PM., Agostinho P., Cunha R. Depression as a Glial-Based Synaptic Dysfunction. *Front Cell Neurosci.* 2016 Jan 22;9:521.

Richard S. Snell. *Clinical neuroanatomy* 7th edition. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2010.

Robert J. Thoma, Mollie Monnig, Faith M. Hanlon, Gregory A. Miller, Helen Petropoulos, Andrew R. Mayer, Ron Yeo, Matt Euler, Per Lysne, Sandra N. Moses, Jose M. Cañive. Hippocampus volume and episodic memory in schizophrenia. *J Int Neuropsychol Soc.* 2009 March; 15(2): 182–195.

Rui Sheng, Zheng-hong Qin. The divergent roles of autophagy in ischemia and preconditioning. *Acta Pharmacol Sin.* 2015 April; 36(4): 411–420.

Seralynne D Vann. Dismantling the Papez circuit for memory in rats. *eLife.* 2013; 2: e00736.

Shou-Sen Shi, Shu-hong Shao, Bang-ping Yuan, Fang Pan, Zun-Ling Li. Acute Stress and Chronic Stress Change Brain-Derived Neurotrophic Factor and Tyrosine Kinase-Coupled Receptor Expression in Both Young and Aged Rat Hippocampus. *Yonsei Med J.* 2010 September 1; 51(5): 661–671.

Tobias Bast, Iain A Wilson, Menno P Witter, Richard G. M Morris. From Rapid Place Learning to Behavioral Performance: A Key Role for the Intermediate Hippocampus. *PLoS Biol.* 2009 Apr; 7(4).

Vithayathil J, Pucilowska J, Goodnough LH, Atit RP, Landreth GE. *J Neurosci.* Dentate Gyrus Development Requires ERK Activity to Maintain Progenitor Population and MAPK Pathway Feedback Regulation. 2015 Apr 29;35(17):6836–48.

Yang Zhaoa, Ying Hana, Ding-Fang Bua, Jing Zhanga, Qin-Rui Lia, Hong-Fang Jina, Jun-Bao Dua, Jiong Qinq. Reduced AKT phosphorylation contributes to endoplasmic reticulum stress-mediated hippocampal neuronal apoptosis in rat recurrent febrile seizure. *Life Sciences.* Volume 153, 15 May 2016, Pages 153–162.

Yee Hsieh Evelyn Heng, Robert C. McLeay, Tracey J. Harvey, Aaron G. Smith, Guy Barry, Kathleen Cato, Céline Plachez, Erica Little, Sharon Mason, Chantelle Dixon, Richard M. Gronostajski, Timothy L. Bailey, Linda J. Richards, Michael Piper. NFIX Regulates Neural Progenitor Cell Differentiation During Hippocampal Morphogenesis. *Cereb Cortex.* 2014 January; 24(1): 261–279.

Yee Hsieh Evelyn Heng, Robert C. McLeay, Tracey J. Harvey, Aaron G. Smith, Guy Barry, Kathleen Cato, Céline Plachez, Erica Little, Sharon Mason, Chantelle Dixon, Richard M. Gronostajski, Timothy L. Bailey, Linda J. Richards, Michael Piper. NFIX Regulates Neural Progenitor Cell Differentiation During Hippocampal Morphogenesis. *Cereb Cortex.* 2014 January; 24(1): 261–279.

Zhenzhong C., Charles R., Young W. S. Hypothalamic and Other Connections with the Dorsal CA2 Area of the Mouse Hippocampus. *J Comp Neurol.* 2013 June 1; 521(8): 1844–1866.

ÖZGEÇMİŞ

1. Bireysel Bilgiler

Adı soyadı: Mehmet Deniz YENER

Doğum yeri ve tarihi: Mersin, 26/03/1983

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu: Bekar

İletişim adresi ve telefonu: Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı,
Umuttepe Kampüsü, İzmit-KOCAELİ. 0262.3037046

2. Eğitim Bilgileri

İlk okul: Kocatepe ilk okulu, Samsun.

Orta okul: Sebati Güneç ilk öğretim okulu, Hatay.

Lise: İskenderun Lisesi, Hatay.

Lisans: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü,
İstanbul.

Yüksek lisans: Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı.

3. Mesleki Deneyimi

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kan Bankası (2002-2004).

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Acil Biyokimya Laboratuvarı (2004-2006).

Özel Bilim Tıbbi Laboratuvarları Mikrobiyoloji/Genetik laboratuvarı (2008-2010).

Gülhane Askeri Tıp Akademisi Mikrobiyoloji Laboratuvarı (2010-2011).

Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı (2011-2013).

4. Aldığı Kurslar

Deney hayvanları kursu, Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi (DETAB), Kocaeli
Üniversitesi.

EK 7. KATILDIĞI ÇALIŞMALAR

1. “The effect of excessive number of lumbar vertebra to static and dynamic of vertebral column” Tasdemir R., Aksu E., Sertel S., Yener D., Colak T., Bamac B. Anatomische Gesellschaft, 109 th Annual Meeting ,P 171. Salzburg 24-27 September 2014.
2. “High MN1 expression increases the in vitro clonogenic activity of primary mouse B-cells” Masashi Numata, Mehmet Deniz Yener, Sema Sırma Ekmekçi, Müge Aydın, Gerard Grosveld, Monica Cardone, Sabrina Terranova, Ramon Klein Geltink, Ugur Özbek, Emrah Özçelik , Çağrı Güleç, Sema Anak, Serap Karaman, Gülyüz Öztürk, Meral Akbıyık, Ayten Kandilci. Leukemia Research. 11 May 2015.
3. “Before and After the Committee Of Anatomy, Students Of Medicine’s Metaphors About Anatomy Education” Rabia TASDEMİR, Belgin BAMAC, Mehmet Deniz YENER, Elif AKSU, Aydın OZBEK. ANATOMİ GÜNLERİ 2015, GAZİANTEP, 26-28 Şubat 2015.
4. “Metaphors about Computer Education of First Year Nursing Students” Colak S., Guzelordu D., Yener M.D., Tasdemir R., Topal A., Bamac B., Colak T. Educational Researches and Publications Association, ERPA. 4-7 June 2015.
5. “The Nursing Students’ Metaphors About Education of Anatomy” Colak T., Bamac B.A., Tasdemir R., Yener D., Guzelordu D., Sivri I., Aksu E., Ozbek A. Educational Researches and Publications Association, ERPA. 4-7 June 2015.
6. “The Comparison of Self-Efficacy Beliefs of Anatomy Between The First and The Second Class Students In Medical School” Rabia Tasdemir, Serap Colak, Ismail Sivri, Mehmet Deniz Yener, Dilsat Guzelordu, Tuncay Colak, Belgin Bamac, Gazmend Rahova. International Conference On New Horizons In Education, INTE 2015. 10-12 June 2015.

EK 8. ETİK KURUL ONAYI



T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



PROJE NO: 2015 /44 BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	Ratlarda Kronik Stresin Hipokampus Dokusu Üzerine Morfoljik Etkisinin İncelenmesi
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI KURUMU	Prof. Dr. Tuncay ÇOLAK/ KOÜ Tıp Fak Anatomi Anabilim Dalı
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Arş. Gör. Mehmet Deniz YENER, Prof. Dr. Süreyya CEYLAN, Arş. Gör. Sema KURNAZ

DEĞERLENDİRİLEN BELGE	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ ve EKLERİ	x
------------------------------	--------------------------------------	---

KARAR BİLGİLERİ	Yukarıda başvuru bilgileri bulunan araştırma projesi Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine dayanarak gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler açısından incelenmiş olup, araştırmanın yürütülmesinin etik açıdan uygun olduğu kararına varılmıştır.	
	KARAR NO: KOÜ HADYEK 11/1-2015	KARAR TARİHİ: 12.11.2015

ETİK KURUL ÜYELERİ			
UNVANI/ADI SOYADI ETİK KURUL GÖREVİ	BİRİMİ	TOPLANTIYA KATILMA	KARARA KATILMA İMZA
Prof. Dr. Hüsnü EFENDİ Başkan	Kocaeli Üniversitesi (KOÜ) Tıp Fakültesi Nöroloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>[Signature]</i>
Doç. Dr. Mine ŞEHİRALTI Başkan Vekili, Raportör	KOU Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Deontoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>[Signature]</i>
Prof. Dr. Tijen UTKAN Üye	KOU Deney Hayvanları Araştırma Birimi, Tıp Fakültesi Farmakoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>[Signature]</i>
Doç. Dr. Ülkem CİLASUN Üye	KOU Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>[Signature]</i>
Yrd. Doç. Dr. Fevzi UÇKAN Üye	KOU Fen-Edebiyat Fakültesi Genel Biyoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Güner ULAK Üye	KOU Tıp Fakültesi Farmakoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>[Signature]</i>
Prof. Dr. Zafer CANTÜRK Üye	KOU Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>[Signature]</i>
Prof. Dr. Melda YARDIMOĞLU YILMAZ Üye	KOU Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>[Signature]</i>
Doç. Dr. Murat KASAP Üye	KOU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>[Signature]</i>
Veteriner Hekim Cüneyt Özer Üye	KOU Deney Hayvanları Araştırma Birimi	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>[Signature]</i>
Veteriner Hekim Akın Ziya ÜNAL Üye	Hayvan Hakları Derneği Veterinerler Odası	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Asiye ASLAN Üye	Emekli Öğretmen	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>[Signature]</i>

EK 9. Tez Denetleme Listesi

Tez, aşağıdaki denetimler yapılarak tamamlanmıştır.

- Kapak ve iç kapak sayfalarında BİLİM UZMANLIĞI ya da DOKTORA şeklinde elde edilen unvanlar yazıldı (Kapak sayfasına danışman adı yazılmamalıdır).
- Kapak sayfasına mezun olunan PROGRAMIN (Anabilim dalının değil) adı yazıldı.
- Tez kapağı sırt kısmına kılavuzda belirtilen çizimde (yazının yönüne dikkat!) ad, program,yıl yazıldı.
- Onay sayfası uygun çizimde hazırlandı (kazanılan unvanlar BİLİM UZMANLIĞI ya da DOKTORA olmalıdır) imzalatıldı (Enstitü Müdürünün imzası da gereklidir, imzaların aynı renk kalemle atılmasına dikkat edilmelidir).
- Dizinler kılavuzda belirtildiği gibi sıralandı. n sayfalara i, ii, iii şeklinde Roma rakamları konuldu. Sayfa numaraları kılavuzda belirtildiği şekilde konuldu.
- Sayfa düzeni kılavuzda belirtildiği şekilde yapıldı.
- Ana metin yazı boyutu 12 olacak biçimde basıldı.
- Dipnot yazı boyutu 10 olacak şekilde basıldı.
- Ana metin satır aralığı 1.5 olacak şekilde yazıldı.
- Kaynaklar abecesel sıralamaya göre yazıldı.
- Kaynak gösterme ilkelerine ve yazım kurallarına uyuldu.
- Ekler kılavuzda belirtildiği gibi verildi.

..09 / 06 / 2016

Danışman İmza

