

**EPİLEPSİ MODELİ İLE İNDÜKLENEN DENEYSEL BEYİN HASARININ
SUBVENTRİKÜLER ALAN, BULBUS OLFACTORİUS VE OLFAKTÖR
MUKOZADAKİ BAZAL HÜCRE DAVRANIŞINA ETKİSİ**

MELTEM RUKEN YETİŞMİŞ

**CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak hazırlanmıştır.**

**DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ
Prof.Dr.Tuncay VAROL**

**MANİSA
Eylül 2008**

TUTANAK

Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi Meltem Ruken YETİŞMİŞ'in "Epilepsi modeli ile indüklenen deneysel beyin hasarının Subventriküler alan, Bulbus olfactorius ve olfaktör mukozadaki bazal hücre davranışına etkisi" başlıklı çalışma, Jürilerimizce Lisansüstü Eğitim Öğretim Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Tarih

Tez Danışmanı:

Prof.Dr.Tuncay VAROL

Jüri Üyesi

Yrd.Doç.Dr.Enis CEZAYİRLİ

Jüri Üyesi

Doç.Dr.M.İbrahim TUĞLU

.....
Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu.....
tarih ve sayılı karar ile onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

Prof.Dr.Beril ÖZBAKKALOĞLU

YÜKSEKÖĞRETİM KURULU DÖKÜMANTASYON MERKEZİ
TEZ VERİ RAPORU

TEZ NO:

KONU NO:

ÜNİV. KODU:

Tez Yazarının

Soyadı: YETİŞMİŞ

Adı: Meltem Ruken

Tezin Türkçe Adı:

Epilepsi modeli ile indüklenen deneysel beyin hasarının Subventriküler alan, Bulbus olfactorius ve olfaktör mukozadaki bazal hücre davranışına etkisi

Tezin Yabancı Adı:

The Effects of Experimental Brain Damage Induced by Epilepsy Model on the Behaviour of Basal Cells in the Subventricular Zone, Olfactory Bulb and Olfactory Mucosa

Tezin Yapıldığı

Üniversite: Celal Bayar

Enstitü: Sağlık Bilimleri

Yılı:2008

Tezin Türü 1- Yüksek Lisans*
2- Doktora
3- Tıpta Uzmanlık
4- Sanatta Yeterlilik

Dil: Türkçe
Sayfa Sayısı:82
Referans Sayısı: 97

Tez Danışmanı

Ünvanı: Prof.Dr.

Adı: Tuncay

Soyadı: VAROL

Türkçe Anahtar Kelimeler

- 1- Status epileptikus
- 2- Subventriküler alan
- 3- Bulbus olfactorius
- 4- Erişkin nörogenezi
- 5- Çinko sülfat
- 6- Olfaktör epitel

Yabancı Anahtar Kelimeler

- 1- Status epilepticus
- 2- Subventricular zone
- 3- Olfactory bulb
- 4- Adult neurogenesis
- 5- Zinc sulphate
- 6- Olfactory epithelium

Tarih :10/09/2008

İmza:

T.C.
YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
Yayın ve Dokümantasyon Dairesi Başkanlığı
Tez Merkezi

TEZLERİN ÇOĞALTILMASI VE YAYIMI İÇİN İZİN BELGESİ
(Telif Hakkı Tez Yazarma ait olan tezler için)

Tez Yazarının

Adi: Meltem Ruken Soyadı: YETİŞMİŞ
Uyruğu : T.C. T.C. Kimlik No:34444338610
Diğer : Belirtiniz

Sürekli Adresi:186/7 sk No:4 Ali Timur Sitesi B Blok D:10 Buca / İZMİR

Telefon No:05058370394 Faks: E-Posta:meltemruken@mynet.com

Üniversite Adı :Celal Bayar Üniversitesi

Enstitü / Eğitim Hastanesi Adı :Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Fakülte, Bölüm/Yüksekokul:Anatomi AD

Tez Türü: Doktora Yüksek Lisans Tıpta Uzmanlık Sanatta Yeterlik

Mezuniyet Tarihi:/...../..... (Gün/Ay/Yıl)

Tezin Başlığı: Epilepsi Modeli ile İndüklenen Deneysel Beyin Hasarının Subventriküler Alan, Bulbus Olfactorius ve Olfaktör Mukozadaki Bazal Hücre Davranışına Etkisi

Tez yazarı aşağıdaki seçeneklerden birini işaretleyerek imzalamalıdır.

Not: Yükseköğretim Kurulu'nun kabul ettiği ilke tüm tezlerin, makul gerekçeler dışında (patent başvurusu, yayınlanma sürecinde oluşu vb.) hiçbir kısıtlama olmaksızın tüm araştırmacıların erişimine açık olmasıdır. (Tezin kopyalanması endişesi, tezin erişime açılmasının engellenmesi için bir gerekçe olarak kabul edilemez.)

X a)Yukarıda başlığı yazılı olan tezimin, ilgilenenlerin incelemesine sunulmak üzere Yükseköğretim Kurulu Tez Merkezi tarafından arşivlenmesi, kağıt, mikroform veya elektronik formatta, internet dahil olmak üzere her türlü ortamda tamamen veya kısmen çoğaltılması, ödünç verilmesi, dağıtımı ve yayımı için, tezimle ilgili fikri mülkiyet haklarım saklı kalmak üzere hiçbir ücret (royalty) ve erteleme talep etmeksizin izin verdiğimi beyan ederim.

İmza

Tarih: 10.09.2008

b)Tezimin Yükseköğretim Kurulu Tez Merkezi tarafından çoğaltılması veya yayımınıntarihine kadar ertelenmesini talep ediyorum. Bu tarihten sonra (a) maddesindeki koşulların geçerli olacağını kabul ve beyan ederim. (Erteleme süresi formun imzalandığı tarihten itibaren en fazla 3 (üç) yıldır.)

İmza:

Tarih:

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET

İNGİLİZCE ÖZET

TEŞEKKÜRLER

ŞEKİLLER DİZİNİ

ÇİZELGELER DİZİNİ

KISALTMALAR DİZİNİ

1.GİRİŞ	1
1.1. Erişkin memeli Önbeyin Anatomisi ve Histolojisi	2
1.1.1.Subventriküler Alan	2
1.1.2.Olfaktör Sistem	9
1.1.2.1.Bulbus olfactorius	18
1.2. Nörogenез	20
1.3. Epilepsi	28
1.3.1. Deneysel Epilepsi Modelleri	30
1.3.2. Lityum-Pilokarpin ile Oluşturulan Deneysel Epilepsi Modeli	31
1.4. Apoptozis	36
2. GEREÇ VE YÖNTEM	40
2.1. ZnSO ₄ uygulaması	40
2.2. Epilepsinin oluşturulması ve değerlendirilmesi	41
2.3. Örneklerin alınması	42
2.4. Işık mikroskobu incelenmesi	42
2.4.1. Hematoksilen-Eozin boyaması	43
2.4.2. Kresyl violet boyama	43
2.5. İmmunohistokimyasal İnceleme	44
2.5.1. TUNEL Yöntemi İle Apoptotik Hücre Ölümünün Belirlenmesi	45
3.BULGULAR	46
4.TARTIŞMA VE SONUÇLAR	67
5.KAYNAKLAR	77

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sekil

- 1.1. Erişkin beynin şematik sagittal görüntüsünde.
- 1.2. SVZ'nin hücresel bileşimi ve organizasyonu.
- 1.3. SVZ/RMS içindeki tanjensiyal göç.
- 1.4. Kemirgen olfaktör sistem anatomisi.
- 1.5. Olfaktör epitelin şematik görüntüsü.
- 1.6. Apoptozis ve nekrozun morfolojik olarak karşılaştırılması.
- 3.1. SE modelinin SVZ-RMS üzerine etkisinin 14. Gün örneklerinde histomorfometrik değerlendirilmesi. En az hasara bağlı hücre yoğunluğu +1 ile en çok hasara bağlı hücre yoğunluğu +4 için seçilen örnek Kresyl Violet (KV) görüntüleri.
- 3.2. ÇS modeli ile OE hasarının 4. Gün örneklerinde histomorfometrik değerlendirilmesi. En az hasardan +1 ile en çok hasar +4 için seçilen örnek görüntüleri.
- 3.3. ÇS ile yapılan OE hasarı modelinde hasarın en fazla olduğu 4. Gün grupların histomorfometrik yöntemde kullanılan OE histolojik görüntüleri.
- 3.4. Grupların karşılaştırılması için hasarın en çok olduğu 4. Gün ile nörogenezin en çok olduğu büyük büyütme 14. Gün OE resimleri.
- 3.5. Grupların karşılaştırılması için hasarın en çok olduğu 4. Gün ile nörogenezin en çok olduğu 14. Gün büyük büyütme HE boyama RMS görüntüleri.
- 3.6. Grupların karşılaştırılması için hasarın en çok olduğu 4. Gün ile nörogenezin en çok olduğu 14. Gün büyük büyütme SVZ resimleri.
- 3.7. Günlerin karşılaştırılması için hasarı birlikte görüldüğü LP+ÇS+ grubunun 4, 7, 14, 21 ve 30. gün büyük büyütme RMS resimleri.
- 3.8. Günlerin karşılaştırılması için hasarı birlikte görüldüğü LP+ÇS+ grubunun 4, 7, 14, 21 ve 30. gün büyük büyütme OE resimleri.
- 3.9. Grupların karşılaştırılması için hasarın en çok olduğu 4. Gün ile nörogenezin en çok olduğu 14. Gün büyük büyütme SVZ Kresyl Violet(KV) resimleri.
- 3.10. Grupların karşılaştırılması için hasarın en çok olduğu 4. Gün ile nörogenezin en çok olduğu 14. Gün büyük büyütme RMS Kresyl Violet(KV) resimleri.

3.11. Grupların karşılaştırılması için nöroenezin en çok olduğu 14. Gün büyük büyütme SVZ-RMS GFAP resimleri.

3.12. Grupların karşılaştırılması için nöroenezin en çok olduğu 14. Gün büyük büyütme SVZ-RMS NSE resimleri.

3.13. Grupların karşılaştırılması için nöroenezin en çok olduğu 14. Gün büyük büyütme SVZ-RMS TUNEL resimleri.

3.14. Grupların karşılaştırılması için nöroenezin en çok olduğu 14. Gün büyük büyütme OB HE ve KV boyama resimleri.

3.15. Grupların karşılaştırılması için nöroenezin en çok olduğu 14. Gün büyük büyütme OB için NSE ve TUNEL boyama resimleri.

ÇİZELGELER DİZİNİ

Tablo

- 1.1. Nekrozis ve apoptozisin karşılaştırılması.
- 2.1. Racine skalası.
- 3.1. Racine skalasına göre LP ile yapılan SE hasarı modelinde başarı değerlendirilmesi.
- 3.2. Histomorfometrik yöntemle göre ÇS ile yapılan OE hasarı modelinde başarı değerlendirilmesi.
- 3.3. LP ve ÇS uygulaması ile SVZ hasarına bağlı hücre yoğunluğunun histomorfometrik değerlendirilmesi.
- 3.4. LP ve ÇS uygulaması ile SVZ hasarına bağlı RMS hücre yoğunluğunun histomorfometrik değerlendirilmesi.
- 3.5. LP ve ÇS uygulaması ile OE hasarının histomorfometrik değerlendirilmesi.
- 3.6. LP ve ÇS uygulaması ile SVZ hasarının GFAP histomorfometrik değerlendirilmesi.
- 3.7. LP ve ÇS uygulaması ile SVZ hasarının NSE histomorfometrik değerlendirilmesi.
- 3.8. LP ve ÇS uygulaması ile SVZ hasarının TUNEL histomorfometrik değerlendirilmesi.
- 3.9. LP ve ÇS uygulaması ile OB hasarının KV histomorfometrik değerlendirilmesi.
- 3.10. LP ve ÇS uygulaması ile OB hasarının NSE histomorfometrik değerlendirilmesi.
- 3.11. LP ve ÇS uygulaması ile OB hasarının TUNEL histomorfometrik değerlendirilmesi.

KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
CA	Cornu Ammonis
ÇS	Çinko sülfat
DG	Dentate gyrus
GBC	Globoz bazal hücre (Globose Basal Cell)
KA	Kainik asit
LP	Lityum Pilocarpin
MS	Multiple Skleroz
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
OB	Bulbus olfactorius (Olfactory Bulb)
OBP	Koku bağlayan proteinler (odorant-binding proteins)
OE	Olfaktör Epitel
OMP	Olfaktör Marker Protein
ORN	Olfaktör Reseptör Nöron
PC	Pilocarpin Hidroklorür
PSS	Periferik Sinir Sistemi
RMS	Rostral göç akımı(Rostral Migratory Stream)
SE	Status epileptikus
SGZ	Subgranüler alan(subgranular zone)
SVZ	Subventriküler alan (Subventriküler Zone,)
aSVZ	Anterior subventriküler alan
TAP	Geçici genişleyen progenitör
TLE	Temporal lob epilepsisi
TUNEL	Terminal deoxynucleotidyl dUTP nick end labelling
VNO	Vomer nazal organ
VZ	Ventriküler alan (Ventricular Zone)

TEŐEKKÖRLER

Tez çalıőmam sırasında değerli bilgileri ile yol gösteren ve bana her türlü desteği sağlayan değerli hocam ve danıőmanım ve Sayın Prof.Dr. Tuncay VAROL'a ve CBÜ Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı ğretim Üyesi Sayın Doç.Dr.M.İbrahim TUğLU'ya teőekkür ederim.

Değerli hocalarım Yrd.Doç.Dr.Enis CEZAYIRLI, Yrd.Doç.Dr.Ceyda HAYRETDAG RS ve Yrd.Doç.Dr.Ertuğrul TATLISUMAK'a,

Çalıőmalarım sırasında yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen çalışma tüm arkadaşlarıma,

Başarım için bana destek olan ve her daim yanımda olan aileme sonsuz teőekkür ve saygılarımı sunarım.

Meltem Ruken YETIŐMIŐ

Eylül 2008

Epilepsi Modeli ile İndüklenen Deneysel Beyin Hasarının Subventriküler Alan, Bulbus Olfactorius ve Olfaktör Mukozadaki Bazal Hücre Davranışına Etkisi

ÖZET

Erişkin memeli beyninin spesifik 2 bölgesi olan Subventriküler alan ile Gyrus dentatus'ta nörogenezin devamlı olarak meydana geldiğini ve erişkin memeli beyninin diğer bazı bölümlerinde de önemli sayıda multipotent nöral prekürsörlerin bulunduğu bilinmektedir. Çalışmamızın amacı, lityum-pilokarpin kullanılarak oluşturulan deneysel beyin hasarı sonrası; subventriküler alandaki kök hücre karakterindeki progenitor hücrelerin ve olfaktör epiteldeki bazal hücrelerin davranışını ortaya çıkarmaktır. Status epileptikus'un oluşturduğu hasarın nörogenezi arttırdığı ve apoptozisin bu olayda rol oynadığı belirlenmiştir. Çinko sülfatın intranasal uygulaması sonucu olfaktör epiteldeki reseptör nöronlarda meydana gelen hücre ölümü ve ardından bazal hücrelerin çoğalıp farklılaşarak yeni olfaktör reseptör nöronların oluşturduğu bilinmektedir. Hem subventriküler alan hem de olfaktör epiteldeki progenitor hücrelerin aynı anda uyarılmasının bu hücrelerin ayrı ayrı uyarılmalarına göre, bir değişikliğe yol açıp açmadıklarını araştırmayı amaçladık. Epilepsi modeli ile oluşturulan beyin hasarının SVZ'daki nörogenezi arttırdığı ve çinko sülfatın intranasal uygulaması ile olfaktör epitelde meydana gelen değişikliklerin geri dönüşümlü olduğu sonucuna varıldı. Erişkin dönemdeki nörogenezin hasar sonrası durumlarda artması ve bu konudaki mekanizmaların anlaşılması gelecekte bazı nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde kullanılabilecek yeni yöntemlerin geliştirilmesine katkıda bulunabilir.

Anahtar Kelimeler; Status epileptikus, Subventriküler alan, Bulbus olfactorius, erişkin nörogenezi, çinko sülfat, olfaktör epitel.

The Effects of Experimental Brain Damage Induced by Epilepsy Model on the Behaviour of Basal Cells in the Subventricular Zone, Olfactory Bulb and Olfactory Mucosa

SUMMARY

It is known that neurogenesis continues in two specific regions of adult mammalian brain, namely the Subventricular zone and that there is a considerable amount of multipotent neural precursors in other parts of adult mammalian brain. The aim of our study was to establish the behaviours of progenitor cells in the Subventricular zone and basal cells in the olfactory epithelium in a Lithium-Pilocarpine model of experimental brain damage. It is determined that damage caused by status epilepticus increased neurogenesis and that apoptosis played a part in this process. It is known that intranasal administration of zinc sulphate causes cell death in the receptor neurons of the olfactory epithelium and that basal cells subsequently reproduce and differentiate to form new olfactory receptor neurons. We aimed to explore whether concurrent stimulation of the cells in the subventricular zone and the progenitor cells of the olfactory epithelium caused any changes in comparison to separate stimulation of either of them. We found that brain damage induced by epilepsy model increased the neurogenesis in SVZ and that the changes in the olfactory epithelium following intranasal administration of zinc sulphate were reversible. Understanding the mechanisms underlying the increase in neurogenesis following the damage during adulthood will contribute to the development of new methods that can be used in the treatment of neurodegenerative diseases.

Key words; Status epilepticus, Subventricular zone, Olfactory bulb, adult neurogenesis, zinc sulphate, olfactory epithelium.

1.GİRİŞ

Olfaktör sistem sinir gelişimi ve rejenerasyonunun değişik yönlerini çalışmak için yararlı bir modeldir. Bunun nedeni, periferal olfaktör sistemin kolay gösterilmesi ve hasar sonrasında hasarı onarmak için çoğalma yeteneğini hızla sergilemesidir [1]. Erişkin memeli beyinde rejenerasyonun sınırlı olması ve bununla birlikte kök hücre popülasyonunun erişkin beyindeki nöron rejenerasyonunda rol oynadığının gösterilmesi bu konudaki çalışmalara olan ilgiyi arttırmıştır. Yapılan çalışmalar beyindeki kök hücre karakterinde olan hücrelerin yeni nöronları sürekli olarak üretmesinin aynı bölgelerde nörojeneze eşlik eden hücre ölümü tarafından dengelenip dengelenmediği sorusunu akla getirmektedir [2].

Memeli beyindeki nöronların çoğunluğu embriyonik gelişim esnasında oluşur. Bununla birlikte erişkin beyninin belirli alanlarında nöronların çoğalmaya devam ettiği bilinmektedir; ön beyin subventriküler alan (Subventricular zone, SVZ)- Bulbus olfactorius (Olfactory bulb, OB) yolu ve Gyrus dentatus (Dentate gyrus, DG)'un subgranüler alanı (Subgranular zone, SGZ) [3-11]. SVZ'de çoğalan progenitör hücrelerin OB'a doğru olan göç yolu rostral göç akımı (Rostral Migratory Stream, RMS) olarak bilinir ve farklılaşma bu esnada meydana gelir [3-9]. Nöral progenitörler erişkin beyninin RMS'inde sürekli olarak aktiftir [12]. OB'a doğru yol alan bu yeni nöronlar internöronlara farklılaşarak granüler ve progranüler tabakaya radyal olarak göç etmektedir. DG'daki progenitör hücreler de nöronlara farklılaşır ve granüler hücre tabakasına göç eder. Bu bölgesel progenitörler beyin hasarı yanıtında hücre çoğalma ve farklılaşmasının farklı profillerini sergilemektedirler [13, 14]. Erişkin beyninin bu nörojenez bölgeleri üzerinde hasarın etkileri tam olarak anlaşılammıştır. OE hasarı sonrası olfaktör reseptör nöron (ORN) ise olfaktör epiteldeki bazal hücrelerden rejenere olmaktadır [1, 15].

40 adet Wistar cinsi erkek sıçan kullanarak gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada bilinen nörojenik aktivite ile erişkin beyin bölgelerindeki nörojenizin ve programlı hücre ölümünün histolojik olarak analiz edilmesi ve dört farklı grup oluşturarak karşılaştırma yapılması amaçlanmaktadır. Bugüne kadar yapılmış çalışmalarda epilepsi ve inme modellerinde hasarla indüklenmiş nörojenizin varlığı gösterilmiş,

nöronların çoğalma, göç etme ve farklılaşma özellikleri ortaya konmuştur [2]. Önceki çalışmalarda DG'taki nörogenezin mekanizmaları ile ilgili oldukça bilgi edinilmesine rağmen subventriküler alan ile ilgili yeterli bilgi bulunmamaktadır [16]. Ayrıca bu çalışma, çinko sülfat(ÇS) irrigasyonu ile burun mukozasındaki olfaktör nöroepitel hücreleri hasara uğratarak OB'taki hücrelerin bağlantısı kesilecek ve epilepsi modeli ile OB'taki hücreler hasara uğratarak, hem olfaktör mukozadaki bazal progenitör hücrelerin hem de subventriküler alandaki progenitör hücrelerin oluşan hasarı onarmada nasıl rol oynadıkları, iki taraflı hasarda olayın nasıl etkilendiği, iyileşme süreci ile zaman ilişkisini ortaya çıkarmayı amaçlamaktadır. Hasarı teşvik eden krizlerin SVZ nörogenezini yavaşlatıp yavaşlatmadığını belirlemek için sistemik kemokovulsant yöntemi ile erişkin sıçanlarda Status epileptikus (SE)'u oluşturarak, SVZ-OB yolunda çoğalan ve göç eden nöral progenitör örneklerini ve erişkin sıçan önbeyin SVZ'deki hücre artışı ile ilgili uzun süreli krizlerin etkisini inceledik [3]. Epilepsi oluşturulan gruplarda limbik nöbetlerin derecelendirilebilmesi için Racine skalası kullanıldı. Deney sonunda OB'daki hücrelerin regenerasyonunda normal ve epileptik hayvanlarda SVZ'deki hücrelerin davranışı ve hasar sonrası nörogenezin ve hasarın hücre davranışlarına olan etkileri incelendi. Bu mekanizmalar zamana bağlı hücre ölümü, hücre göçü ve çoğalması ile ilişkilendirildi. Nörogenezi kapsamlı olarak hücre ölümü ile kıyaslamak için ve erişkin sıçan beyinde programlı hücre ölümü geçiren ve yeni üreyen nöronların miktarını belirlemek amacıyla immünohistokimyasal teknikler uygulandı [2].

1.1.ERİŞKİN MEMELİ ÖNBİYİN ANATOMİSİ VE HİSTOLOJİSİ

1.1.1.Subventriküler Alan (*Subventricular zone, SVZ*)

SVZ, erişkin memeli beyinde lateral ventriküllerin duvarları boyunca uzanan büyük bir germinal alandır. Beynin tüm yapılarını oluşturmak için göç edecek olan nöronları meydana getiren ventriküler alan (ventricular zone, VZ) hücre çoğalmasının olduğu nöral tüpün ventriküler yüzeyine yönelen nöroepitel parçasıdır [16-18]. Lateral ventrikül (LV)'ün gelişim boyunca oluşan önemli bir germinal tabakası olan SVZ; ventriküler alanın altında embiyogenezisten daha sonra oluşur ve

astrositler, oligodendrositler ve OB'ın nöronlarını meydana getirir. Gliogenezis boyunca, SVZ'de oluşan glial öncüller, oligodendrositler ve astrositlere farklılandıkları corpus callosum ve serebral kortekse radyal olarak göç ederler. Olgun beyinde SVZ'nin en önemli bölümü (anterior SVZ, SVZa) OB'da yeni granüler ve periglomeruler nöronları meydana getiren multipotent progenitör hücreleri içerir [3, 10, 12, 16, 18-26].

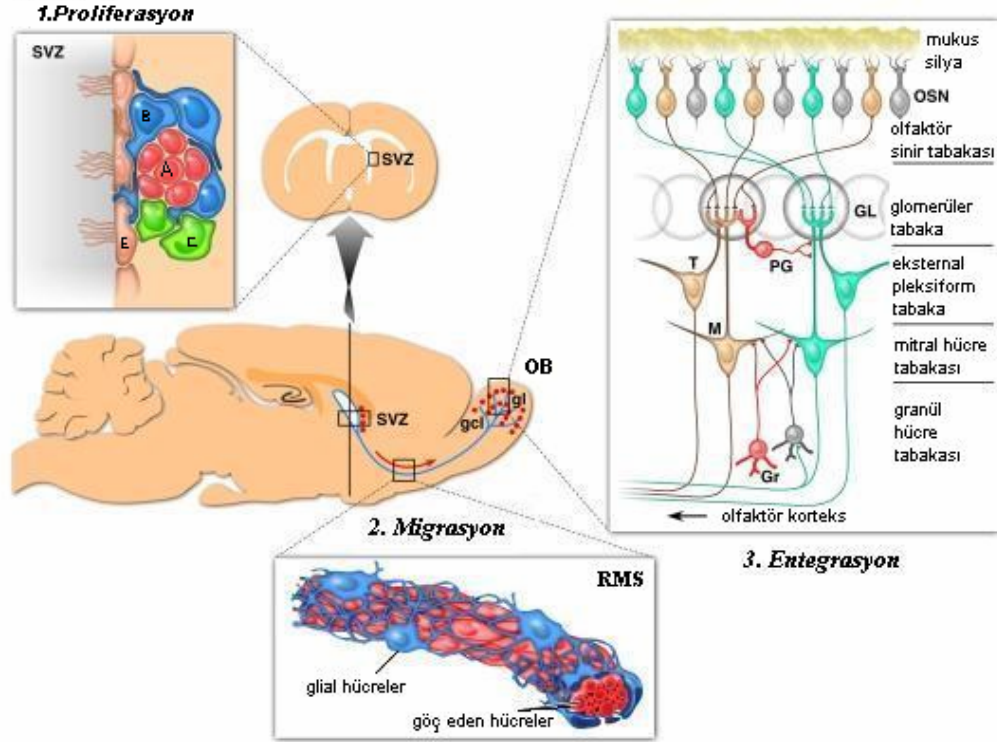
Postnatal SVZ'nin hücresel bileşenleri ve orjinleri; Tüm yaşam boyunca homojen ve stabil bir bölge olmayan erişkin SVZ'deki yeni nöronların sürekli üretimi nöral kök hücrelerin bu germinal tabaka içinde devamlı olarak bulunduğunu gösterir. Genç ve erişkin SVZ'nin hücresel kompozisyonunda hem olgunlaşmamış nöronlar, nöroblastlar, farklılaşmamış prekürsör hücreler, astrositler hem de mikroglialar farklı miktarlarda yer almaktadır. Temel fark genç SVZ'deki major glial komponentte erginde olmayan radyal glialarının bulunmasıdır [4]. Radyal glial hücreler; gelişen korteksin radyal eksenine yayılan ve yeni doğan postmitotik nöronlar için örtü zonu içindeki yollarda prekürsör veya rehber olarak yardımcı olan hücrelerdir [18].

EM kullanılan erişkin SVZ'nin ultrastrüktürel analizi SVZ- ependimal bölgesinin morfolojileri yapı ve moleküler markerleri tarafından belirlenen en az 4 farklı hücre tipini içerdiğini açığa çıkarmıştır (Şekil 1.1):

- 1- OB boyunca zincirlerde göç eden çoğalan tip A nöroblastlar,
- 2- Yavaş çoğalan B tipi hücreler (Astrositler),
- 3- SVZ boyunca zincirler arasında aralanan kümeler oluşturan C tipi aktif çoğalan hücreler,
- 4- BOS sıvısının dolaşımı ile görevli ventrikül lümeninin önyüzündeki ependimal silyalı hücreler (E tipi hücreler): ventrikül boyunca SVZ'yi kapsayan astrositler, nöroblastlar ve geçici olarak genişleyen progenitör(TAP) hücreler ile birlikte tek bir tabaka oluşturur [19, 27, 28].

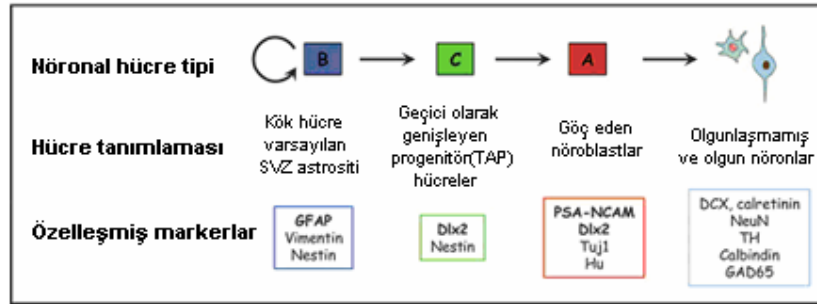
Astrositler nöroblastları çevreler ve geçici olarak genişleyen progenitör(TAP) hücrelerin zincirleri arasında dağılmıştır. SVZ, ependimal hücrelerin (E tipi hücreler) bir tabakasıyla ventrikül boşluğundan ayrılır [19, 24, 27]. Geçmişte yapılan

çalışmalarda SVZ astrositlerinin bölündüğünden bahsedilmemiş fakat bu hücrelerin daha fazla miktarda üretilen glialar olduğu düşünülmüştür. Daha sonra yapılan çalışmalar normal şartlar altında ve rejenerasyon sırasında B hücrelerinin yeni nöronlar için ilk prekürsörler olduğunu ortaya çıkarmıştır [19, 27].



Şekil 1.1. Erişkin beynin şematik sagittal görüntüsünde, ısrarlı nörojenin iki bölgesi olan DG ve SVZ/OB gösterilmektedir. SVZ'daki nöral prekürsör hücreler, granül ve periglomeruler nöronların farklı oldukları yer olan OB'a uzanmak için RMS'de uzun bir mesafede tanjenital göçü gerçekleştirirler. Hipokampal DG'deki prekürsörler dentate granül hücre tabakası içine kısa bir mesafede göç ederler ve dentate granül nöronlarını meydana getirirler. PG: periglomerular cell, T: tufted cell, M: mitral cell, Gr: granule cell [29].

Yeni nöronların ve glial hücrelerin tam sayılarının SVZ’de nasıl üretildiğinin anlaşılması hücre üretiminin dinamiğini belirlemek ve bölünen SVZ kök hücrelerinin tam olarak anlaşılması için gereklidir. Ergin beyindeki nörogenez belirli hücrelerle sınırlanmaktadır. Ergin beyin germinal bölgesini yapanın astrositler mi mikroçevre mi ya da her ikisi mi olduğu merak edilmektedir. Nöral kök hücreler olarak fonksiyon görebileceklerinden terminal olarak farklı astrositleri saptamak için güvenilir moleküler markerlerin belirlenmesi gelecek araştırmalar için önemli bir sorun olarak görülmektedir. SVZ’deki nörogenezi belirlemeye izin veren işaretli moleküllerin çoğu halen keşfedilmemiştir (Şekil 1.2) [27]. Ekstrasellüler sinyallerin ergin SVZ’deki nörogenez, gliogenez ve kök hücre yenilenmesinin karışık dengesini nasıl düzenledikleri ile ilgili öğrenilmesi gereken çok şey bulunmaktadır. Kök hücre yenilenmesi ve nörogeneze katkı sağlayan düzenleyici mekanizmalarla ilgili araştırmalar ile birlikte hücre spesifik markerlar bu ergin germinal zonun erginde nasıl ısrar ettiğini açığa çıkaracaktır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar nöral kök hücrelerin astrositlerin bazı özelliklerine sahip olduğu iddiasını desteklemektedir. Tüm astrositlerin nöral kök hücre olması olanaksızdır, bu yüzden nöral kök hücreler olan SVZ astrositlerinin alt popülasyonunu ayırt etmek önemlidir [24].



Şekil 1.2. SVZ’nin hücresel bileşimi ve organizasyonu [27, 28].

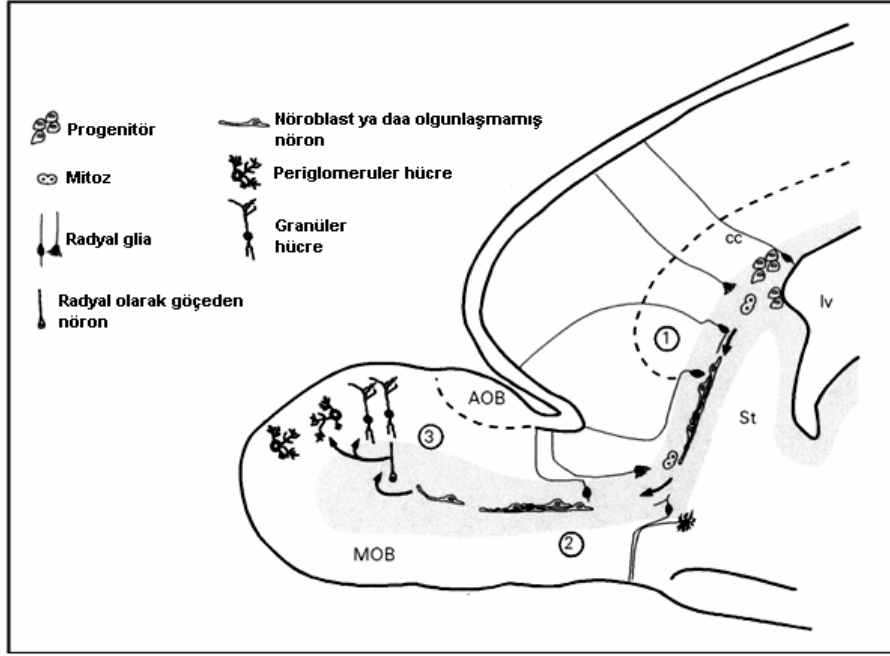
Postnatal SVZ’deki hücre göçü; Hücre göçü çoğu MSS bölgesinin gelişimi sırasında zorunlu bir gereksinimdir. Yeni üretilen nöronlar germinal tabakalardan ayrılmak zorundadır ve son hedeflerine ulaşmak için bazen büyük bir mesafe

kateder. Gelişim sırasındaki nöronların uygun olarak göçü ve yerleşimi beyindeki fonksiyonel döngünün yapısı için gereklidir. Gelişen MSS’de nöronların çoğu belli bölgelerde doğar ve farklılaşır. Beynin gelişimi sırasında predominant göçün iki temel tipi vardır; radyal (ışınsal) ve tanjensiyel (teğet) [4, 18]. Nöronların ve nöroblastların tanjensiyel göç hareketi direk olarak SVZ’deki postnatal olarak meydana gelen OB internöronlarının nörogeneziyle ilgilidir. Yeni nöronlar sürekli olarak doğumdan erişimine kadar kemirgenlerin OB’ına eklenir. Bu ilave sadece uzun süreli nörogeneze bağlı değildir aynı zamanda OB’a kortikal ve strial SVZ’den kaynaklanan nöroblastların ve olgunlaşmamış nöronların da göçüne bağlıdır [4].

Ergin kemirgen SVZ’deki nöral progenitörler OB’a uzun bir mesafe boyunca göç eder ve OB granül ve periglomerul nöronlara farklıdır. OB’a ulaşmak için göç eden SVZ nöroblastlarının bu düzenli akımı RMS’i oluşturur. Nöroblastlar RMS olarak bilinen bu sınırlı yolda uzun mesafe boyunca tanjensiyel olarak göçe uğrar (Şekil 1.3). RMS olarak bilinen bu uzun teğet halindeki yol boyunca olan göç, olgunlaşmamış nöronların klasik radyal göçüne karşı daha hızlı, daha uzun bir mesafeye yayılan, radyal glial yol göstermeye ihtiyaç olmayan çok yolu vardır. Nöroblastlar RMS’e göç edene kadar zincir benzeri yapıları oluşturur ve zincirler astrositik ‘tüpler’ tarafından kuşatılır [3, 4, 8-13, 16, 18, 19, 22, 24, 26, 30-33]. Ergin farelerde SVZ, OB’dan mm’lerce uzaklardadır; bu 10-30 µm uzunlukta olan bir hücre için uzun bir yolculuktur. SVZ’nin farklı seviyelerinden kaynaklanan yeni üretilen hücreler OB’a ulaşmak için kemirgenlerde 5mm, maymunlarda 20 mm’e kadar rostral zincirlerde göç ederler. Hergün 30000’den daha fazla nöroblast RMS için kemirgen SVZ’sinde meydana gelir. Kemirgenlerde RMS denilen bu göç için 2-6 gün gerekir [11, 19, 21, 27]. Olgunlaşmamış nöronların OB’a doğru uzanmasının ardından internöronlara farklılaşmaları ve yeni doğan granül hücrelerin ve periglomerular nöronların OB döngüsüne katılması ve olfaktör uyarıya cevap vermesi 15-30 gün içinde gerçekleşir [11].

Kısacası SVZ’den ayrılan yeni nöronlar OB’a doğru uzun bir mesafe göç eder. Olgun sinir dokusunu istila eder ve mevcut nöronlar ile yeni fonksiyonel devreler kurar. Bu tam olarak yedek olarak kullanılan nöron kaybında kullanılabilecek olan yeni nöronların kaynağından istenen bir davranıştır. SVZ’den sağlanan hücrelerin

göç mekanizmalarını anlamak önemli olduğu gibi bu bölgenin tüm erişkin süreçteki sürekli devam eden nörogenezi nasıl desteklediğini anlamak da önemli olabilmektedir [4].



Şekil 1.3. SVZ/RMS içindeki tanjensiyal göç. SVZ/RMS yolu koyu gösterilmiştir. Nöroblastların ve SVZ de üretilen yeni nöronların göçü yaştan bağımsız olarak üç faza ayrılabilir. 1- İlk hücreler göç ettikleri faz boyunca giderler fakat hala bölünebilme yeteneğine sahiptirler. SVZ bölgelerinde meydana gelen mitoz daha sık meydana gelmektedir. 2-RMS içindeki hazır bulunan hücelere bir hız verildiğinde hücre siklusu durur ve OB a doğru göç devam eder. 3- Hücreler OB'a uzandığında tanjansiyelden radyale doğru göç değişir ve granül ve periglomerüler hücelere farklılıklarını tahrik eden OB parankimasına hücum eder. OB'daki glial hücrelerin bu SVZ/RMS den türeyen hücrelerin yön anahtarı için gerekli olan sinyalleri sağlaması olasıdır. Erken postnatal yaşamda radyal glialar bu yol için bir iskelet oluşturur. Hücre bölünmesi çoğunlukla LV nin üzerine yatan bölgeyle sınırlandırıldığında bu geçişin yaş ile sınırlı olduğu görülür. AOB; aksesuar OB, cc;corpus callosum, lv;lateral ventrikül, MOB; asıl OB, st;striatum [4, 19].

SVZ-OB arasında uzun bir mesafe olması göç için önemli bir problem yaratmaktadır. OB'da kemoattraktlar salgılanmasına rağmen bu faktörler rostral göç için gerek olmadığından OB'ın varlığı A hücrelerinin rostral göçü için gerekli değildir. Hücreler bir defa OB'ın ortasına uzanır ve onlar zincirlerden ayrılarak daha yüzeyel tabakaya ayrı ayrı göç ederek granül ve periglomeruler nöronlara farklanır. Göç materyalinin bu değişimini teşvik eden OB'daki sinyallerle ilgili bilgi yoktur. Bulb içindeki radyal göçün mekanizması da bilinmemektedir. Ergin OB'da radyal glianın mevcut olmaması ilginçtir ve bu OB'ın göbeğinden daha yüzeyel tabakaya bu yeni nöronlara neyin yol gösterdiği sorusunu arttırır [27].

Ergin kemirgen SVZ ve RMS'de A hücreleri zincirler oluşturarak birbiri boyunca hareket eder. A hücreleri göze çarpan bir yol gösterici metota sahip uzamış bir morfolojiye sahiptir. İn vitro olarak yeniden oluşturulan zincirlerde nöroblastlar ortalama 120 µm/saat hızda çoğalan adımlarla hareket eder. Göç eden A hücrelerinin zincirleri astrositler(B hücreleri) tarafından sıraya konur. Glial tüplerin fonksiyonu bilinmemektedir. Astrositler zincir göçü için gerekli değildir fakat astrositler tarafından salgılanan faktörler SVZ nöroblastlarının göçünü arttırdığını göstermektedir. Bu dizilen astrositlerin önemli rol oynadıkları muhtemeldir. Göçün artmasına ek olarak, zincirlerin etrafındaki glial hücreler hayatta kalmayıda destekleyebilir ve/veya A hücrelerine direk olarak bilgi de sağlayabilir. Ek olarak bu tüpler olgunlaşmamış normal göç rotalarının çıkan A hücrelerini koruyabilir [27].

Üretilen nöron popülasyonunun hedeflerine nasıl göç ettikleri hayvanların yaşına göre değişebilir çok sayıda yeni nöron üretilir. Bunun yanı sıra TAP hücre popülasyonu artan yaş ile birlikte azalır. Hem SVZ nöral prekürsör benzeri astrositler hem de bitişik ependimal hücrelerin sayısı stabil kalmasına rağmen ilişkilerin değiştiği görülür. OB'da erken yaşta postnatal granül nöronlar erginde daha sonradan üretilenlerden morfolojik ve fonksiyonel olarak farklıdır [18].

SVZ hücrelerinin fonksiyonu; Genç nöronların binlercesi hergün OB içine göç eder fakat bu hücrelerin yalnızca bir kısmı farklılaşmalarını tamamlamak için hayatta kalır. Bu işlem RMS'nin daha iri olduğu erken postnatal beyinde daha göze çarpar. Tüm bu yeni nöronların neden postnatal yaşamda olfaktör sistem içine dahil edildiği hala merak konusudur. Ergin nöronal bileşimin yaygın olarak çalışıldığı iki

sistem olan ergin hipokampusunda ve ergin kuşların ses kontrol çekirdeğinde, yeni nöronların istenilen şekle konulabilmeye ve öğrenmeye de katıldığı gösterilmiştir. Postnatal hayvanların OB'ndaki yeni nöronların fonksiyonu ile ilgili çok az bilgi bulunmaktadır. Burnu kapatmak OB'a yeni nöronların eklenmesini azaltır. Yalnızca aktif mitral veya kümelenmiş hücrelere bağlı granül hücrelerinin hayatta kalması olasıdır oysaki diğerleri apoptozis geçirir. Son bilgiler yeni granül hücrelerinin OB'daki sinaptik bağlantıları geliştirdikten hemen sonra yoğun hücre ölümü olduğunu gösterir. Granül hücrelerinin devamlı yenilenmesinin ne avantaj sağladığı bilinmemektedir. Granül hücre aktivitesi mitral ve kümelenmiş hücrelerinin aktivitelerini geniş ölçüde şekillendirmektedir [18, 19].

Beyindeki ihtiyaç duyulan nöronların uygun sayı ve tiplerinin nesli ve hedefleri nöral döngünün kuruluşu bakımı ve modifikasyonu için gereklidir. Nöronal pozisyon nöronların fonksiyonunu belirlemede önemli bir role sahiptir. Uygun nöronal konumlanma nöronal doğumun yerinden hedef bölgeye olan göçün aktif bir işlemi vasıtasıyla elde edilir. Her ne kadar memeli beyindeki nöronal göç yığını embriyonik periyod esnasında meydana gelsede nöronların önemli bir miktarı yetişkinde doğumdan sonra göç eder. Postnatal periyod sırasında yeni üretilen nöronların göçünü başlatan, koruyan ve uygun olarak sona erdirilen mekanizmalarını anlamak normal beyin döngüsünün kuruluşunu anlamamızda önemlidir ve işlemdeki değişimlerin nörogelişim hastalıklarına nasıl katkıda bulunacağı saptanabilir [18, 19].

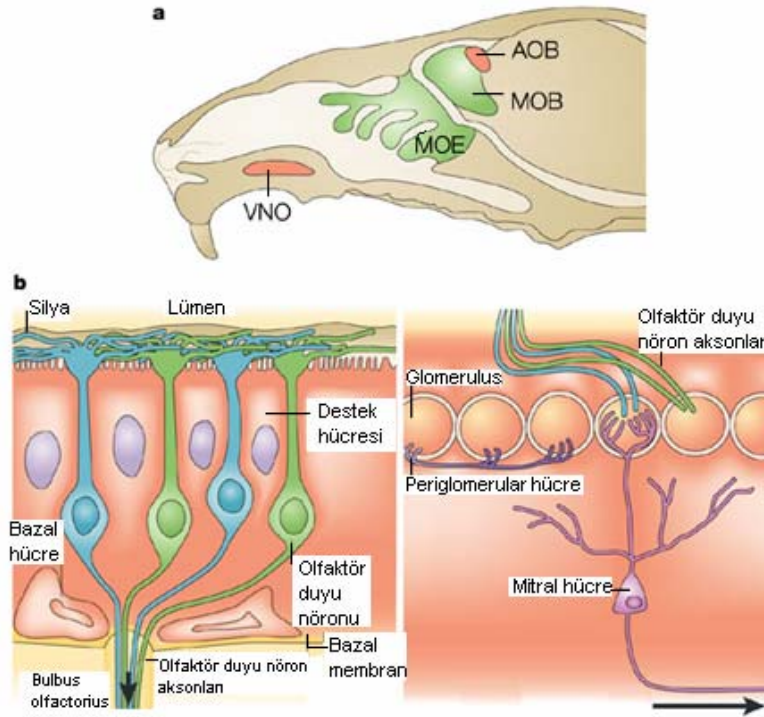
1.1.2.Olfaktör Sistem

Memelilerde Merkezi Sinir Sistemi (MSS)'nde hücre ölümleri ya da hasarlarından sonra iyileşme yeteneğindeki sınırlılık son yıllarda önemli bir çalışma konusu haline almıştır. Olfaktör sistem; nöronal hücre ölümü, nörogenez, nöronal farklılaşma ve göç, genetik ve epigenetik etkilerin temelinde yatan sinyal moleküllerini araştırmak için zengin ve anatomik olarak kolay ulaşılabilir bir model sunmaktadır [34].

Olfaktör sistem, embriyo 5 haftalık olduğunda prosensefalonun bölünmesiyle oluşan telensefalondan gelişir. Olfaktör elemanlar embriyonik olfaktör plaktan gelişir. Bu gelişim nöral tüpün erken ontojenik gelişimi ile birlikte olur. Plak'ın

ektodermal küboid hücreleri derece derece uzanır fakat gelişiminin her devresinde tek bir tabaka halinde kalır. Mitoz öncelikle sadece plak yüzeyin yanında olur. Meydana gelen hücreler kümelenirler daha sonra yeniden epitelyal tabana doğru uzanır. Fakat daha sonraki mitoz epitelin daha derininde olur ve sonunda bazal tabakalarla sınırlanırki burada bölünme hayat boyu devam eder[35].

Burun mukoza regio olfactoria(koku duyusu ile ilgili) ve regio respiratoria olmak üzere iki kısma ayrılır. Regio olfactoria insanda nazal kavitenin çatısına, lateral duvarda concha nasalis superior ve nazal septumun 1/3 üst kısmına karşılık gelir. Sıçanlar gibi makrosmik canlılarda burun mukozasının daha büyük bir alanı regio olfactoria'dan oluşmaktadır. Çevredeki solunum epitelinin pembe rengine karşın olfaktör epiteli sarımsı rengiyle ayırtedilir. Sınırları düzensizdir. Koku mukozası, epitel ve lamina propriya'dan oluşur [34, 36-39].



Şekil 1.4. Kemirgen olfaktör sistemi, AOB;aksesuar olfaktör bulbus, MOB;ana olfaktör bulbus(main olfactory bulb) ,VNO; vomeronazal organ, MOE; ana olfaktör epitelyum [31].

Olfaktör epitel, kendisine yakın olan solunum epiteline göre oldukça kalındır (yüz nanometre) ve tip olarak çok katlı duyu epiteli karakterindedir [35, 36, 38]. Olfaktör epitel bölgesinin alanı türler arasında değişkenlik gösterir. Köpekler ve tavşanlar, insanlardan daha geniş bir olfaktör alana sahiptir. İnsanlarda 200-400 mm²'lik bir duyu epiteli alanı mm² 'ye 5x10⁴ reseptör hücre düşecek kadar bir hüresel yoğunluğa sahiptir [40]. Bu bölgedeki epitel yalancı çok katlı prizmatik kinosilyalıdır. Ancak solunum epiteline karşın çok daha yüksek boyludur. Epitel, psödostratifiye kolumnardır ve vasküler lamina propriaya dayanmıştır [37, 40]. Olfaktör mukoza, epitelindeki hücre çekirdeklerinin yerleşimleri epitel boyunun uzunluğu ve rengi ile kolaylıkla solunum epitelinden ayrılır. Şekil ve işlev yönünden farklı üç tip hücrenin bulunduğu, olfaktör epitel altında çok ince bir bazal lamina vardır. Kollagen ve retiküler tabaka içermeyen ve bu nedenle çok ince olan bu bazal lamina ışık mikroskopunda görünmez [37].

Memelilerde yapılan çalışmalarda olfaktör epitelde 3 farklı hücre tipi bulunduğu gösterilmektedir (Şekil 1.3); silyalı olfaktör reseptör hücreleri, destek (sustentakular) hücreler ve bazal hücreler [1, 35, 38-45]. Olfaktör algının ilk basamağı burundaki olfaktör duyu nöronlarında gelişir [46]. Olfaktör nöronlar, kısa ömürlü olmaları – (ortalama 30-60 gün) - ve sürekli olarak temel kök hücre popülasyonundan rejenere olmalarıyla diğer nöronlardan ayrılırlar [46, 47]. Olfaktör epitelde 3 tip hücre bulunmaktadır;

a.Duyu hücreleri (koku - olfaktör - reseptör hücreler): Destek hücreleri arasında düzenli olarak yerleşmiş oval bipolar hücrelerdir. Bu hücreler primer duyu nöronları olduklarından filogenetik öneme sahiptirler. İnsanlarda her bir burun boşluğunda yaklaşık 25 milyon adet koku hücresi bulunmaktadır. Duyu hücrelerinde bir alıcı apikal kutup bir de iletilici bazal kutup ayırılır. Bu nöronlar olfaktör epitel içinde vertikal yerleşimlidirler. Gövdelerini bazal bölümlerinin üçte ikilik kısmı teşkil eder. Hücrenin büyük ve şişkin olan çekirdeği 2/3 alt bölümde yerleşiktir. Sitoplazmada sinir hücrelerinden farklı olarak granüllü endoplazmik retikulum az gelişkindir. Granülsüz endoplazmik retikulum, golgi kompleksi ve lizozomlar oldukça çoktur. Bu organeller, hücrede yüksek metabolik hız olduğunu gösterir. Çekirdek oval şekilli ve heterokromatiktir. Çekirdek çevresindeki sitoplazmada

nörofibriller bulunur. Sitoplazma çekirdeğin üzerinde epitel yüzeyine doğru inceliyor uzar. Bu bölüme dendrit denir. Dendritlerin şekil ve uzunluğu omurgalılar arasında farklılık gösterir. Memelilerde kalın bir proksimal gövde ve ince bir distal uç vardır. Dendrit sitoplazmasında birkaç mikrotübül bulunur. Ayrıca çok sayıda mitokondri, veziküller, granülsüz endoplazmik retikulum tubulusları, nörofilamentler ve serbest ribozomlar içerir. İnsanda duyu hücrelerinin apikal yüzlerinde 6-20 kadar kinosilya (duyu kılı-cilium) bulunur. Mikrovilluslu hücrelerin, olfaktör reseptör hücrelerinin değişik bir tipi olduğu düşünülmektedir. Bunlar lamina propriaya ilerleyen santral aksonlara sahiptir. Silyalar apikal sitoplazmada bulunan bazal cisimciklerden çıkarlar ve çoğunlukla hareketsizdirler. Hücreler tipik kinosilya yapısı gösterirler. Daha sonra çevrede dokuz çift mikrotubulus kaybolur, yalnızca iki tek mikrotubulus kalır. Silyanın çapı yarıya iner. Silyalar hücreden çıktıktan sonra eğilip, epitel yüzeyine doğru yön alırlar ve diğer hücrelerinkiler ile bir ağ oluştururlar. Hareketsiz olan silyaların çevresindeki zarın yapısında, ipliksi proteinler bulunur. Bu proteinler kokunun algılanmasında işlev görürler ve silyalara reseptör özelliğini kazandırır. Bazal ve destek hücrelerinin bazal laminayı delen çıkıntıları arasında ince intraepitelyal fasiküller içinde diğer aksonlarla birlikte devam eden ve bazal taraftan çıkan her bir reseptörden ayrılan diğer aksonlarla birleşen myelinsiz akson, bazal laminayı deldiğinde schwann hücresi ile sarılır. Bu hücrelerin aksonları 15-50 lif (fila olfactoria) halinde nervus olfactorius'u oluşturarak, os etmoidale'nin lamina cribrosa'sından geçerler. Bu olfaktör lif demetleri, sekonder duyu nöronları ile (mitral hücreler, basket hücreler, periglomeruler hücreler) sinaps yapmak için OB'a girer. Olfaktör aksonlar sinir liflerinin en ince olanları arasındadır. Fila olfactoria içinde aksonlar elli ya da daha fazla aksondan oluşan demetler halinde schwann hücrelerinin yaptığı kılıf ile sarılmış olarak uzanırlar. Bu durum bitişik aksonların elektriksel etkileşimine imkan tanır. Her reseptör hücrenin apikal kutbundan bir adet dallanmamış dendrit yüzeye doğru uzanır. Dendrit apikal bölümde ampul biçiminde genişleme yapar. Bu genişleme sayesinde olfaktör yüzey tam bu bölümde ileri doğru çıkıntı yapar. Sonlanmalar, epiteldeki sıvı tabakasının içine doğru çıkıntı yapan çok sayıda olfaktör silyalara sahiptir. Lipid içeriğine sahip olfaktör silyalar hücre yüzeyinde olfaktif yüzeyi arttırmakla görevlidirler. Lipid içerikleri nedeniyle yağda

eriyeblen ve koku hücrelerinin uzantısında yüksek derecede konsantre olan maddeler daha çok algılanır. OB'da arkaya doğru uzanan aksonlar tractus olfactorius'u oluşturur. OB ve tractus olfactorius, frontal lobun alt y zindeki sulcus olfactorius'ta sonlanır. Tractus olfactorius arka tarafta stria olfactoria lateralis, stria olfactoria medialis ve stria olfactoria intermedia olmak üzere     kola ayrılır [34, 35, 37, 40, 46, 48].

b.Destek hücreleri (Epileliocytus sustenans) Olfaktör epiteldeki hücrelerin çoğunluğunu oluştururlar. Olfaktör hücrelerini birbirinden kısmen ayıran düzensiz silindirik elemanlardır. Aksiyon potansiyeli taşımadıklarından koku iletiminde rol oynamazlar. Bazal laminadan yüzeye kadar uzanan, uzun silindirik biçimli olan bu uzun kolumnar hücrelerin geniş, uzun ve ökromatik nukleusları reseptör perikarinasında yüzeysel bir tabaka teşkil eder. Bu hücrelerin yüzeyleri çok sayıda uzun ve düzensiz mikrovilluslar ile kaplıdır. Bu mikrovilluslar olfaktör silya ile birlikte epitel yüzeyindeki mukus içinde karmaşık bir işlem ağını oluştururlar. Sitoplazmaları organelden zengindir ve sitoplazmalarında mitokondri, granülsüz ve granüllü endoplazmik retikulum ve apikal yüzeylerinde göze çarpar şekilde golgi aparatı ve lizozomlar vardır. Epitelyal yüzeyin yakınında desmosomlara bitişik ince mikroflamanların epitele mekanik destek verdikleri sanılmaktadır. Epitel yüzeyinde destek hücreleri ile olfaktör hücreler arasında sıkı bağlantılar bulunur. Komşu destek ve duyu hücreleri arasındaki bu bağlantı birimleri iki hücre arasındaki metabolik madde alışverişinin gerçekleşmesini sağlar. Bu  zellikleri ile destek hücreleri, merkezi sinir sisteminin glia hücrelerine benzerler. Destek hücrelerinin apikal sitoplazmasında sarı renkli pigment granülleri bulunur. Bazen mukus granülleri de görülebilir. Ancak apikal ve bazal sitoplazmada en çok bulunan organel olan lizozomlar, yaşlanan duyu hücrelerinin fagosite edilmelerinde işlev görürler ve içerdikleri enzimler ile duyu hücrelerinin kalıntılarını ortadan kaldırırlar. Bu yapılar lipofuksin pigment granülleri olarak destek hücreleri sitoplazmasında kalırlar. Bütün regio olfactoria'yı sarımsıkahverengi yapan bu doğal yağ cisimcikleri epitele rengini verir [35, 37, 40].

c.Bazal hücreler (Epileliocytus basalis) Bazal hücreler, destek hücrelerinin bazal kısımlarında bulunur ve bu hücrelerden destek ve reseptör hücreleri farklıdır.

Her bir reseptör hücre yaklaşık otuz gün yaşar. Ölen veya zarar gören reseptör hücrelerinin yenilenmesi kök hücre olarak görev yapan bazal hücrelerin sürekli mitoz geçirerek farklılaşması ile olur [34, 36, 37, 44, 45]. Bu yenilenme siklusu yaklaşık 30-40 gün sürer [34, 36, 37]. Bu hücreler oldukça kısa boyludur ve farklılaşmamış hücre yapısındadırlar. En yaşlı olanlar, yani en olgun olanlar daha yüzeysel bölgelerde bulunurken, en genç olanlar proliferatif bazal hücrelerin yakınındaki en derin tabakalarda bulunurlar [34].

Bazal hücre kompartmanı morfolojik olarak iki hücre tipini içerir (Şekil 1.4a); horizontal bazal hücre(HBC) ve globoz bazal hücre(GBC) [44, 45]. İlk tipi düzgün şekilli ve sitokeratin ekspre eden bu hücrelerin, düzensiz heterokromatik çekirdekleri vardır. Sitoplazmalarında çok sayıda tonofibriller bulunur. Komşuluğundaki hücreler ile arasında çok sayıda desmozomlar ve diğer bağlantı birimleri bulunur. Tonofibriller de bu desmozomlar ile bağlantıdadır. Bu hücrelerin işlevi, epitelin bazaline desteklik sağlamaktır [35, 37]. Horizontal bazal hücrelerin erişkin memeli beyninin ventrikül duvarında yerleşmiş ependimal hücrelerin analogu olduğu düşünülmektedir. Morfolojik olarak çok farklı olmasına rağmen ependimal hücreler ve horizontal bazal hücreler birkaç yönden benzerdir; her iki hücre tipide nadiren bölünür ve üretebilme yeteneğine sahiptir [44]. Diğer tipi ise globoz ya da blastema (mitotik bölünmeyle yeni hücrelerin oluşmasına neden olan) hücrelerdir. Blastemal hücreler, epitel yüzeyinde bir bölgeye hapsolmuştur. Özellikle bu hücreler genç memelilerde belirgindir. Mitotik oluşumlar aralarda sık sık görülür ve nukleusları timidinle işaretlenerek otoradiografi ile incelenebilir. Yapısal olarak embriyonik nöroblastların özelliklerinin çoğuna sahiptir. Yine bu hücreler geniş ökromatik nukleuslu ve çok sayıda serbest ribozom, dağınık mitokondri, seyrek olarak sentriyol demeti içeren bazofilik sitoplazmalı yuvarlak hücrelerdir. Bazı bazal hücreler, reseptör organelleri ve gelişen dendritleri ile olfaktör hücrelerine erken dönemde farklılaşırlar. Çeşitli çalışmalar blastemal hücrelerin epitelde yukarı doğru hareket ederek yeni reseptör hücrelerini sürekli olarak meydana getirdiğini göstermiştir (Şekil 1.4b). Reseptör topluluğuna katılım hayat boyunca daha yavaş fakat sürekli şekilde devam eder. Bu durum, mevcut hücrelerin dejenerasyonu ile dengelenir. Bu olay kemiricilerde iki veya üç hafta sürer. Dejenere olan reseptör hücreler bitişik

destek hücrelerince fagosite edilir. Lizozomlarda hidroliz olduktan sonra onların artıkları olfaktör pigmentleri oluştururlar. Olfaktör reseptörlerin yaşam döngüleri dış etkilere göre ayarlanır. Primer duyu nöronları rejenere olma özelliği memeli sinir sisteminde nadir bulunan nörobiyolojik bir olgudur [35, 37].

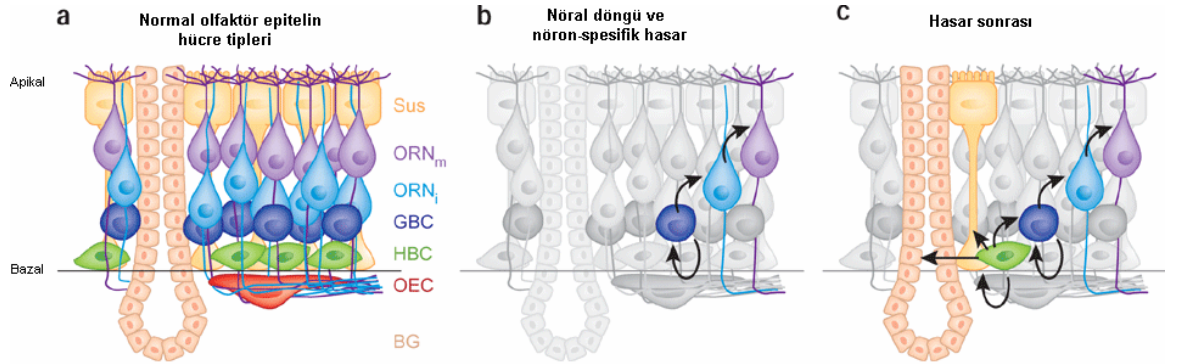
İnsan OE'inde HBC ve GBC arasında morfolojik bir fark yoktur. Orta tabakadaki her iki hücre bazal laminaya bitişiktir ve 'globoz hücre' olarak bilinir. Bu hücre tabakası kemirgenlerde sadece HBC'lerde normal olarak bulunan sitokeratini ekspre eder. İnsan OE'in bazal kompartmanındaki hücreler kemirgenlerdeki hem GBC hem de HBC'nin özelliklere sahip olduğu görülür [44, 45].

ORN, 3 farklı çoğalan hücre tipi içerir; kök hücre, geçici genişleyen hücre ve immediate nöral prekürsör. Olfaktör reseptör nöron progenitörleri OE'in bazal hücre kompartmanında yerleşmiştir ve özellikle globoz bazal hücreler olfaktör reseptör nöronları için nöronal prekürsör olarak belirlenmiştir. OE'in kök hücrelerinin horizontal bazal hücreler ve globoz bazal hücreler olduğunu destekleyen kanıtlar da vardır. Kök hücreleri, mitojenik ve multipotansiyel olan globoz bazal hücrelerin bir altpopulasyonunun temsil ettiği desteklenmektedir. Çoğalan OE'deki nörogenez pikindeki mitotik hücrelerin HBC'lerde çok GBC'ler olduğu bildirilmektedir. HBC'nin kök hücre olduğu düşüncesi onların sabit hücre populasyonu olduğu gerçeği ile ilgilidir. HBC'ler bazal membrana bitişiktir ve kolon ile epidermis gibi diğer non-nöronal sistemlerin kök hücreleri ile aynı hücre adezyon moleküllerini ekspre eder ve OE'in tüm hücre tiplerini oluştururlar. Bu kanıt HBC'lerin kök hücreler ile uyuştuğunu destekler oysaki GBC'ler nöronal prekürsörlerdir. Lezyon sonrası erişkin OE'deki olfaktör reseptör nöronlarının yenilenmesinin globoz bazal hücre ve horizontal bazal hücre ya da her iki kombinasyonda birinin bölünmesine neden olduğu bildirilmektedir (Şekil 1.3b-c) [44, 45, 49].

Globoz bazal hücreler nöronal progenitörleri içermesine rağmen OE'de bazal olarak yerleşimli sabit multipotent nörogial progenitörler ve başka glial progenitörler de olma olasılığı vardır. Olfaktör reseptör hücreleri meydana getiren kök hücreler primer olfaktör yolun 2 glial hücre tipini de oluşturabilir; OE içinde yerleşmiş destek hücreleri(SUS, beyindeki glial hücre analogu) ve olfaktör siniri kuşatan OEC(olfactory ensheating cell). Destek hücreleri nazal kaviteye bitişik

OE'in apikal tabakasını oluştururken kök hücre ve geçici genişleyebilen hücre epitelin bazal laminasını kaplayan bazal kompartmanda bulunur [44]. Mukozadan OB içine doğru aksonların büyümesi özel glial hücreler tarafından desteklenmektedir (OEC). Bu özel hücreler, hem schwann hücre hemde astrositik özellikleri paylaşırlar. Bunlar PSS-MSS sınırını geçtiği bilinen tek glial hücrelerdir ve kültür içinde uygun aksonları myelinize etme kabiliyetine sahiptirler. Olfaktör glial hücreler, yaralanmış aksonlara rejenerasyon için uygun nörotrofik faktörleri sağladıklarından, bu hücrelerin omurilik yaralanması tedavisinde kullanımına yönelik çalışmalar mevcuttur [50].

OE'deki nöronal rejenerasyon; Normal olarak ORN'ların küçük bir bölümünün öldüğü ve yenilerin olduğu OE'de sürekli bir nöronal üretim vardır. Kemirgenlerde olfaktör nöronlar bir yıl ya da daha fazla yaşayabilmektedir [44, 45]. OE'de apoptotik ORN'lar, yaşam sırasında koku alma duyusunu korumak için bazal yerleşimli progenitörlerden elde edilen yeni nöronlar tarafından yenilenirler [49].



Şekil 1.5. Olfaktör epitelin şematik gösterimi. ORN ve non-nöronal destek hücreleri OE'in kök hücreleri tarafından yaşam boyunca yenilenmektedir. (a) OE'de; destek hücreleri (sustentakular hücreler, Sus), olgun (ORN_m) ve olgunlaşmamış olfaktör reseptör hücreleri (ORN_i), olfaktör ensheating hücre (OEC), Bowman bezleri ve iki tip progenitör hücre (globoz bazal hücre, GBC ve horizontal bazal hücre, HBC) bulunmaktadır. (b) GBC normal koşullar altında ve ORN'ların deneysel hasarı sonrası ORN popülasyonunu yenileme kapasitesine sahiptir. (c) Hem nöronal hem de non-nöronal hücre

kaybına neden olan hasarlı koşullarda OE'nin tüm olgun hücre tiplerinin tümüne çoğalan ve farklılaşabilen HBC'ler tarafından yenilenme gerçekleşir. HBC'lerden non-nöronal hücrelerin farklılaşmasının nöronal hattın GBC'lerine analog hücre tiplerini içerip içermediği açıklanamamıştır [51].

Olgun ORN'leri yok eden deneysel hasar hasarın büyüklüğüne bağlı olarak lezyon sonrasındaki birkaç hafta içinde dokunun neredeyse tam bir rejenerasyonu ve fonksiyonel restorasyonu izlenmektedir. ORN hasarlandığında bazal hücre mitoz oranı artar ve bu köken hücreleri OMP ekspre eden olgun nöronlara farklılıklar. Nörogenez yaşam boyu devam ettiğinden dolayı ÇS, metil bromid, TritonX-100, diklobenil, bakır vb yollarla meydana getirilen lezyon sonrası bile hasarlı olfaktör duyu nöronları yenilenme kapasiteli ergin OE'i sağlamaktadır. Kimyasal hasarın olduğu durumlarda OE tam olarak yenilenebilmektedir [44, 45]. Olfaktör epiteli yok etmek ve anosmi oluşturmak amacıyla pek çok çalışmada ÇS kullanılmıştır [1, 41, 52-55]. %1-5' arasında değişen konsantrasyonlarda ÇS'in balık, fare, sıçan ve insanlara intranasal olarak uygulandığında olfaktör epitelin duyu, sustentakular ve bazal hücrelerinde geçici dejeneratif değişiklikler meydana getirdiği bildirilmiştir [1, 41, 52-54, 56]. OB'nin deafferasyonu ÇS uygulamasının uygulamanın ilk olarak 1 saat sonrasında elde edilir ve yaklaşık 1 hafta sürer. Rejeneratif yanıt ise yaklaşık 6-8 haftaya kadar görünür ve devam eder [52, 57].

Olfaktör mukozadaki tübüloalveoler bezlere **olfaktör bezler (Bowman bezleri-Glandula olfactoria)** adı verilir. Bu bezler kollajen, elastik lifler ve bağ dokusu hücrelerini içeren gevşek bağ dokusu olan lamina propria'da yer almaktadır. Yüzeye doğru uzanan dar vertikal kanallar vasıtası ile salgı yaparlar. Seröz yapıdaki salgıları koku partikülleri için eritici rol oynar [36]. Reseptör hücrelere pozisyon veren ve birbirlerinden ayıran destek hücreleri ve Bowman bezleri tarafından mukus oluşturulur ve salgılanır. Bu, gerekli moleküler ve iyonik ortamı sağlar. İçinde, çözünebilir koku bağlayan proteinler (odorant-binding proteins -OBP) bulunur. Molekül yoğunlaştırma, membrandan taşıma veya uzaklaştırma işlevi görürler [35].

1.1.2.1. Bulbus olfactorius (Olfactory bulb, OB)

Fossa cranii anterior'da os ethmoidale'nin lamina cribrosa'sının lateral kenarına komşu, frontal kemiğin facies orbitalis'inin üst bölümündeki sulcus olfactoris'un ön ucunun altında yerleşmiş yassılaştırmış oval şekilli, kırmızımsı gri renkli bir yapıdır [1, 34, 35, 37, 38, 40].

OB başlıca 4 tip sinir hücresi içerir (Şekil 1.1). Bu hücreler; mitral hücreler, tufted hücreler, granüler hücreler ve periglomerular hücrelerdir. Mitral hücreler bulbusun primer iletim nöronlarıdır. Mitral hücreler regio olfactoria'dan başlayan ve lamina cribrosa'daki deliklerden geçen koku lifleri (fila olfactoria=1.nöron) ile sinaps yaparak, glomerul olarak isimlendirilen yuvarlak yapıları oluşturur. Mitral hücreler, daha küçük olan granüler ve silyalı hücrelerle de sinaps yapar. OB'da granüler ve periglomerular hücreler mitral ve tufted hücrelere oranla daha çok sayıdadır. Granüler hücreler bulbusta çok sayıda hücre topluluğu meydana getirirler. Bu hücrelerin aksonu yoktur. Mitral ve tufted hücrelerin uzantılarıyla bağlantı kurmak için dış pleksiform tabakaya uzanan bol miktarda apikal dendrite sahiptirler. Üzerlerindeki geniş çıkıntılarla karakterizedirler. Granüler hücre popülasyonu gelişim sırasında şekillenen son hücre grubudur. Sıçanda bunların %90'ından fazlası postnatal periyotta meydana gelir ve proliferasyon yetişkinliğe kadar devam eder [1, 34, 35, 37, 40].

OB histolojik olarak, oldukça iyi düzenlenmiş 7 tabakadan oluşur (Şekil 1.1). En dıştaki tabaka olfaktör nöronların miyelinsiz aksonlarından meydana gelen dış olfaktör sinir lifi tabakası(olfactory nerve layer)'dır. Afferent olfaktör sinir fibrillerinden oluşur. İkinci tabaka glomerular tabaka(synaptic glomeruluslar ve interglomerular boşluk olan tabaka)'dır. Afferent olfaktör sinir fibrilleri bu tabakaya geçerler. Burada dallara ayrılarak glomerul adı verilen yuvarlak şekilli bölgeleri meydana getirirler ve OB nöronlarının dendritleriyle sinapslaşırlar. Bu glomerullardan faredede her bulbusta yaklaşık 2000 adet vardır. Glomerul'da duyu aksonları üç tip nöronla sinaptik bağlantılar yapar. Bunlar olfaktör kortekse aksonlarını gönderen mitral nöronlar, tufted nöronlar ve glomerülü çevreleyen periglomerular internöronlardır. Her bir olfaktör duyu nöronunun aksonu yalnızca bir glomerulusta sinapslaşır. Üçüncü tabaka mitral ve tufted hücrelerin ana sekonder

dendritlerini içeren dış pleksiform tabakası(moleküler ve dış granüler tabaka)dır. Dördüncü tabaka mitral hücre tabakasıdır. Mitral nöronlardan oluşur. Beşinci tabaka iç pleksiform tabaka(iç granular tabaka)dır. Mitral ve tufted hücrelerinin aksonlarını içerir. Altıncı tabaka granül hücre tabakasıdır. Mitral ve tufted hücrelerinin uzantılarından ve küçük granül nöronlarından oluşur. OB'ın yedinci ve en derin tabakası periventriküler veya subependimal tabakadır [1, 34, 35, 37, 40, 43]. Nöronların izdüşümü prenatal olarak üretilmesine rağmen granül hücre ve glomeruler tabakanın internöronları doğum sonrası dönemde SVZ'den meydana çıkmaya devam etmektedir [58].

Duyunun OB'a gidişi, işlenişi ve sonlanması; Duyu bilgileri burundan beynin OB'ına iletilir. OB, olfaktör yolların ana iletim istasyonudur. OB ve tractus olfactorius primitif hemisfer tabanında çukur divertikül olarak gelişir. Bunun bazal kısmı tractus olfactorius'u oluşturmak için uzanır. Bazal tractus yanında insan embriyosunda OB kavitesini oluşturur [35]. OB, telensefalondan bir çift evaginasyon olarak çıkar. Her biri asıl ve aksesuar bulbus olfactorius olarak 2 ayrı bölgeye bölünür [34]. Tractus'un uzaması derece derece duvarlarının kaynaşmasıyla ortadan kalkar. Asıl kavitenin yeri bazen değişime uğramış ependimal hücrelerin görev yapmayan grupları ile doldurulur. Böylece OB birbiri üstüne yerleşmiş tabakalardan meydana gelen radyal bir organizasyona sahiptir. Bu tabakalı durum insan hariç diğer memelilerde ve insan fetusunda iyice tarif edilebilmiştir [35].

OB'un hemen arka bölümünde nuc. olfactorius anterior denilen bir grup küçük hücre kümesi bulunur. OB'daki mitral ve silyalı hücrelerin aksonlarının kollateral dalları, bu çekirdeklerde sonlanır. Buradan çıkan lifler ise stria olfactoria medialis içinde uzanır, commissura anterior'dan karşı tarafa geçerek o tarafın tr.ofactorius'undan geri dönerek OB'da sonlanır. Böylece iki tarafın OB'u arasında bağlantı kuruluş olur [34, 37, 40].

OB olgunlaşması ve yeni doğan hücrelerin farklanması; OB maturasyonunda afferent aktivitenin önemi büyüktür. Doğumdan sonra OB'ın bir yarısı (bir taraf burun deliği hava almayacak şekilde kapatılarak) normal stimuluslar engellenerek deprime edildiğinde kapatılan taraf OB' da erken dönemde glukoz alımında azalma (ilk 1 saat içerisinde) ve protein sentezinde azalma

(ilk 24 saat içerisinde) meydana gelmektedir. Daha uzun dönemlerde ise (20-30 gün) OB boyutunda makroskopik olarak dramatik (%25) bir azalma meydana gelmektedir. Kayıp başlangıcından 2 hafta sonra OB' nun hemen hemen tüm katmanlarında küçülmeler gözlenmiştir. Bu değişimlerin nedeni, hücresel proliferasyonda azalma veya subventriküler bölgeden OB'a hücre migrasyonunda azalmaya bağlı değil, bu bölgedeki hücre ölümünde meydana gelen artıştan kaynaklanmaktadır. Buna karşın diğer taraf OB' da aynı bulguların meydana gelmemesi, bu olayların olfaktör aktivite düzeyi tarafından kontrol edildiğini ortaya koymaktadır. Daha önce kapatılan burun delikleri cerrahi operasyonla tekrar açılarak normal çevresel stimülasyonlara tekrar maruz bırakıldığında, kapatılıp tekrar açılan burun deliği tarafındaki OB hacmi kapatılmayan taraf ile aynı hacime ulaşmıştır. İncelemeler sonucunda OB hacmini artıran yeni nöronların burun tıkaçlarının çıkarılmasından sonra oluştuğu ve başka bir bölgeden transfer olmadığı görülmüştür [34].

OB'da yeni doğan hücrelerin farklılıkları; yeni doğan hücreler temel olarak dendrit ağaçları büyüyen ve intrabulbar internöronların iki tipi içine farklılaşan nöronlara ayrılır. Yetişkin –yeni doğan granül hücrelerin farklı olgunlaşma aşamaları SVZ'deki prekürsörlerin retroviral işaretleme kullanılmasıyla elde edilmektedir. Yetişkin –yeni doğan hücrelerin 5 farklı sınıfı onların morfolojileri ve yerleşimlerine göre belirlenmiştir:

- 1- RMS'nin rostral uzantısındaki nöroblastların göçü (2-7 gün)
- 2- Radyal olarak göç eden nöroblastlar (5-7 gün)
- 3- Göç hücre tabakasının ötesinde uzanmayan dendritik süreçli granül hücreleri (9-13 gün)
- 4- Eksternal pleksiform tabakasındaki dikensiz dendritik arborizasyonlu granül hücreleri (11-22 gün)
- 5- Uzayan dendritik arborizasyonlu olgun granül hücreleri (15-30 gün) [19].

1.2. NÖROGENEZ

Nörogenez terimi nöronal gelişimin hücresel seviyesi için kullanılan bir terimdir [59]. Nörogenez; primer olarak embriyonik yaşamda gerçekleşir. Günümüzde nörogenezin ve nöronal devrelerin oluşumunun erken yaşlara kadar

devam ettiği bilinmektedir. Erişkin memeli MSS’de yeni nöronların doğuşu ya da nörogenez büyük oranda embriyonik süreçte sınırlanır. Bununla birlikte toplanan deliller belli germinatif alanlarda yaşam boyunca devam ettiğini ve özel beyin bölgelerindeki nöron ve gliaların çoğalmayı sürdürdüğünü gösterir [26, 59, 60].

Nörogenez üç dönemde incelenmekte olup, hücre proliferasyonu, migrasyonu ve farklılaşmasını içermektedir. Hücre proliferasyonu nöron oluşturmak üzere prekürsör hücrelerin bölünerek çoğalmasındır. Hücre migrasyonu nöronun köken aldığı bölgeden kortekste son olarak yerleşeceği bölgeye hareketidir. Hücre differansiasyonu olgun nöron oluşumu için farklılaşma sürecini içerir. Nöroblastların bir nöronun şekilsel yapısını ve diğer karakteristik özelliklerini alması hücre differansiasyonu olarak tanımlanır. Nöronun akson, dendrit yapısını oluşturması, nörotransmitter salgılama ve sinaps oluşturma gibi karakteristiklerini kazanması da differansiasyondur [19, 59].

Nörogenez tüm yaşam boyunca meydana gelir ve kök hücreler memelilerde olgun MSS’de yerleşmiştir. MSS’nin progenitor hücreleri nöral hücreler veya makroglia hücreleri(astrosit, oligodendrosit) içine farklılaşabilen yüksek bölünme kapasiteli nöroektodermal orjinin farklılaşmayan hücrelerinin bir popülasyonudur. MSS’de yaşam boyu çoğalabilen nöron ve gliaların bu progenitorleri en az 3 germinal zonda yerleşmiştir; SVZ, OB ve hipokampal DG’un subgranüler zonu [3, 4, 9-11, 14, 17, 19, 23, 25, 26, 31, 32, 61]. Ergin nörogenezi olfaktör reseptör nöronların sürekli olarak yenilediği OE’de de meydana gelmektedir [11, 44, 62]. Progenitorlerin kaderi çoğunlukla onların nerede olduğuna bağlıdır. SGZ’nin progenitor hücreleri hipokampusun granül hücre tabakası içine göç eder. SVZ progenitorleri OB’a doğru RMS’e biçim veren astrositik tüp yapıları tarafından çevrili zincirlerde tanjensiyel olarak göç eder. Daha kısıtlı olan kader progenitorleri in vitro olarak serebral korteks içine yerleşmiş ve yeni nöronların lokal bir kaynağını sağlamak için tanımlanmaktadır. Bunun yanı sıra multiple beyin bölgeleri beyin prekürsör hücrelerinin depoları olarak işlenebilir [14, 26, 61].

Nörogenez nöral progenitor hücreler ile başlar. Progenitor hücreler kortikal gelişime direkt katılımlarının yanı sıra tedavi edici stratejilerde kullanımları ile de yoğun ilgi çekmektedirler. SSS’nin major hücresel elemanları nöron ve

oligodendrositler nöral tüpün iç tabakasındaki özelleşmiş germinatif bölgeden meydana gelir. Erken embriyonik yaşamda nöral hat potansiyeli olan progenitor hücreler burada bulunur. Psödostratifiye epitelden oluşan bu subventriküler bölge germinatif matriks veya germinatif zon olarak bilinir. Germinatif matriks telensefalon'da periventriküler yerleşimlidir. Bu yapılanma aynı amaç ile spinal kordun santral kanalı çevresinde de vardır. Bu bölge erişkin beyininde lateral ventrikülün subependimal bölgesinde sınırlı bir zon olarak kalır. Nöron ve radial glia hücreleri erken embriyonik dönemde ventriküler zon içinde oluşan ilk hücre tipleridir. Aksine, astrositler ve oligodendrositler SVZ içinde geç embriyonik dönem ve erken doğum sonrası dönemde oluşur. Ayrıca, geç posnatal ve erişkin yaşamda nörogenezis OB'da, hipokampusun DG'sinde ve serebellumun purkinje hücre tabakasında devam etmektedir [59].

Stem yani kök hücreler kendilerinin bir benzerini yapabilen ve farklılaşarak (differansiasyon) insan vücudundaki organlar veya dokulardaki hücreleri oluşturan farklılaşmamış multipotent hücrelerdir. Kök hücreler gelişim esnasında nöral kök hücreler sinir sisteminin oluşumuna katılır. Yeni nöronlar kök hücre veya progenitor hücre olarak bilinen bölünen hücreler tarafından tüm yaşam boyu üretilirler. Santral sinir sistemindeki bir hücreye kök hücre diyebilmek için o hücrenin nöron, astrosit veya oligodendrosit'e farklılaşma potansiyeline sahip olması ve beyin için gereken hücreyi sağlayabilecek oranda kendini yenileyerek çoğalabilme potansiyeline sahip olması gerekir [9-11, 23, 59, 61].

Ergin MSS 'kök hücreleri' belli başlı 3 özellik gösterir; kendi kendini yenilerler, çoğalabilirler ve farklı nöral ve glial çok sayıda alt tiplerini içeren MSS'nin farklı nöroektodermal nesilleri için multipotenttirler. Ergin beyin multipotent progenitorları, en az iki farklı hücre nesline farklılaşabilen sınırlı kendi kendini yenileme özelliğine sahip proliferatif hücrelerdir. MSS kök hücreleri ve tüm prekürsör/ progenitor tipler genel olarak 'prekürsörler' olarak tanımlanırlar. Hem kök hemde progenitor hücreler için 'prekürsör hücre' terimi kullanılabilir. Ergin nörogenezi, entegre olacak olan fonksiyonlu yeni nöronların prekürsör hücrelerinin bölünmesi ile başlayan ve bir olgunun var olmasının yanı sıra hayatta kalması ile sonlanan nöral gelişim olaylarının bütünüdür [9, 10, 23, 59].

Prekürsör hücre çoğalması nörogenezi önceden haber vermektedir. Doğru nöral entegrasyon, birkaç kompleks değişken ve aşamalı olaylara bağlıdır. Tam olarak ayrıntılı bir moleküler karakterizasyon olmadığında bile ergin beyninin nöral prekürsör hücreleri açıkça MSS hücresel tamirinin hedefleri için son derece umut verici olarak bu hücrelerin bir görüntüsü haklı çıkararak özelliklere sahiptir. Farklanmamaktadırlar ve sık sık olumlu bir şekilde hareket eden hücreler hipoksiye ve diğer hasar, çoğalabilme aktivitesine uygun nöron ve glia oluşturma yeteneğine göreceli olarak karşı çıkarlar. En önemli uyarı ergin memeli beynindeki prekürsör hücrelerinin heterojen olduğu ve tüm bu kriterlerin çoğu durumda uygulanırken ve nöral prekürsör biyolojisinde ne kadar ender alanda olduğu ve spesifik gözlemlerin ne kadar üretilebileceği ve belli beyin bölgelerinin veya belli koşulların ayrıntılarını ne kadar yansıttığı açık değildir [10, 23].

Kök hücreler, hastalık veya hasara cevap olarak yeni hücreler meydana getirebilirler [59]. Erişkin nöron progenitör çoğalması ve farklılaşması büyüme faktörleri ya da diğer çevresel değişimler sonucu önemli derecede değişebilmektedir [63]. SSS’de hücrelerin gelişimindeki süreçlerin tanımlanması geleceğin planlanması, doku kültürü ve transplantasyon şeklinde üç geleneksel metod ile yapılır. Omurgalılarda nöronal prekürsörlerin geleceklerinin hem nöron hem de glia için prekürsör olan multipotensiyel hücrelerden oluştuğu gösterilmiştir. Nöroepitelial hücrelerin birçok beyin bölgesine entegre olma potansiyeli vardır. Transplante edilen hücreler ile bu gösterilmiştir. Örnek olarak kültür ortamında genetik olarak manipüle edilen insan kök hücreleri Tay-Sach hastalığına sebep olan yetersizliği düzeltilebilmiştir. Bu durum insan kök hücrelerinin tek gen seviyesinde kalıtılan beyin hastalıklarında hatalı proteini yerine koyma amacı ile kullanılabilineceğini göstermiştir. Yine, serebellar granüler nöronlarında gelişme kusuru olan anomalili farede kök hücre tedavisi ile düzelme elde edilmiştir [59].

Erişkin Beynindeki Nörogenik Bölgeler; Erişkin memeli beynindeki nörogenez nöronların erişkin kemirgen rostral önbeyin SVZ-OB yolu ve hipokampal DG’da üretilmeye devam ettiğini öne süren çalışmalar 30 yıldan daha uzun bir zamana dayanmaktadır [2, 9, 11, 30, 31, 60, 64-67]. Bilimin her geçen gün ilerlemesi ile bu bulgular doğrulanmış ve ısrar eden nörogenez insan ve diğer primatlar dahil

tarihte incelenen her tür erişkin memeli türünde sonradan bulunmuştur [2, 24, 30, 31, 60, 64, 65].

Erişkin OB nörogenezi çoğunlukla kemirgenlerde çalışılmış olmasına rağmen insan olmayan primatlarda da birkaç çalışma yürütülmüştür. SVZ'deki progenitörlerin mevcudiyetine karşın bu hücreler insanlarda RMS boyunca zincir göçüne maruz kalmayabilir. İnsanlarda bu kanıt zorlandığı halde henüz alternatif bir mekanizma önerilmemiştir ve direk karşılaştırmaların fare ve insanlar arasında ya da insan olmayan primatlar ile insanlar arasında bile daima yapılamayacağıının altı çizilmelidir. İnsan beyninin karmaşıklığı kemirgenlerinkinden oldukça fazladır ve ilk meydana gelen kompleks bir sistem içine yeni nöronların girişi insanlarda kemirgenler veya insan olmayan primatlardan daha karmaşık ve zor olabilmektedir [10, 23].

SVZ ve DG'u ileri yaşlarda sürekli olarak yeni nöronları üretecek olan bölünen kök hücre ve progenitörleri barındırır [2, 31, 64]. SVZ nöral kök hücreleri OB'a göç eden granül ve periglomerular nöronlara farklı nöroblastlara yol açar [2, 13, 16, 31, 67] oysaki DG yeni granül hücrelerinde hilus ve granül tabakası arasında sınırlı bir lokalizasyonda meydana gelir [2, 16]. Nörogenezin erişkin yaşam boyunca DG ve SVZ-OB yolunda olan ısrarına karşın nöronlaşma oranı yaş ile azalır [31]. Ergin nörogenezi SVZ'de hergün yaklaşık 30000 yeni nöronun doğmasına neden olur [19]. Yaşa bağlı olarak genç erişkin sıçanların DG'da hergün 3000-9000 yeni nöral hücrenin oluştuğu (her ay yaklaşık %3,3 ya da hergün granül hücre popülasyonunun yaklaşık %0,1'inin devam ettiği tahmin edilmektedir [19, 64, 65]. DG'daki ergin nörogenezi SVZ'deki nörogenez ile karşılaştırıldığında, SVZ'de yeni doğan hücreler hedef bölge olan OB'a uzun bir mesafe boyunca RMS'deki astrositik tüpler tarafından çevrilmiş zincirlerde yüzeysel göç eder [11, 16]. Astrositik tüpler vasıtasıyla nöroblast zincir göçünün RMS yapısal düzenlemesi astrositlerin SVZ'den OB'a nöroblastların göçüne yol gösterdiğini öne sürmektedir [30, 31]. RMS'deki göç boyunca progenitör hücreler olgunluğa ulaşır ve sonuç olarak OB'daki granül hücreler ve periglomerular hücrelere gelmektedir. Granül hücreler granül hücre tabakasında, periglomerular hücreler ise OB'daki glomerular tabakada yerleşir. Bu nöral hücreler ana OB'daki mitral ve kümelenmiş inhibitör nöronlar olarak hareket

eder ve OB'daki olfaktör bilginin işlenmesini düzenler [68]. Retroviruslerin, tritiated thymidine, canlı boyaların veya viral işaretli SVZ hücrelerinin postnatal hayvanların aSVZ'e mikroenjeksiyon yapıldığında, işaretli hücreler OB'da bulunmuştur. OB'a uzandığında bu işaretli nöronlar OB ve olfaktör granül nöronlara spesifik internöronlara ve daha az bir mesafede periglomerular internöronlara farklanır. Olgunlaşmamış nöronlar OB'a uzanmak için OB içine RMS vasıtasıyla tanjensiyel zincir gücüne maruz kalır. OB'da nöronlar internöronlara farklanmadan önce RMS'den uzağa bir kez radyal olarak göç eder. SVZ 'de doğan hücrelerin çoğu onların nöronlar içine tam olarak olgunlaşmadan ölür. Embriyonik gelişimin bir ilkesi burada tekrarlanır; yeni nöronlar fazla miktarda üretilir ve onların yalnızca bir alt kümesi olgunlaşma ve fonksiyonel entegrasyon için hayatta kalır. OB'daki nörogenezin hem yenilemeyi hem de yeni nöron eklemeyi içerdiği görülür. Hipokampusun aksine, hem nöronal eksilme hem de OB'daki nöronlarda net bir artış vardır [10, 23].

SVZ-OB sistemi; nöral kök hücreleri, nörogenez, genç nöronların göçü, farklılaşmaları ve ölümünü çalışmak için ilgi çekici bir deneysel modeli oluşturmaktadır [27]. Erişkin memeli MSS'deki 2 nörogenik bölgeden biri olan SVZ yeni nöronların çok büyük bir bölümü üretir ve bunlar OB'a yönelir. OB nörogenezine katkıda bulunan hücreler anterior SVZ'den orjinlenir ve OB'da son yerlerine göç ederler [10, 23]. Ergindeki OB nörogenezi bağımsız düzenlenen 3 farklı işlemi gerektirir: hücre çoğalması, OB'a SVZ'den nöroblast göçü, nöral farklılaşma ve hayatta kalma [69].

Gelişen MSS'de apoptozis nöronal çemberin normal organizasyonunda önemli bir rol oynar. Hücre ölümünün ergin nörogenez bölgelerinde yaygın bir durum olduğu önceden ispat edilmiştir. Normal ergin sinir sisteminde apoptozis olfaktör epitel, vomeronasal epitel, OB ve hipokampusun DG'da rutin olarak meydana gelir; nörogenezis de yaşam boyu bu dokularda meydana gelir. Son zamanlardaki çalışmalar sadece RMS'nin değil aynı zamanda OB'ın da kök hücreler içerdiğini ve sadece yaşlı nöronların değil aynı zamanda genç nöronların da OB'da apoptozis geçirdiğini destekler [68]. Embriyonik ve postnatal periyot esnasında sıçan OB'da apoptotik hücrelerin tanımı ve sayısındaki değişiklikleri saptamak için TUNEL

boyama yaygın olarak kullanılır [58, 68]. Ergin nörogenezinin olmadığı kontrol bölgelerindeki ölen birkaç hücre ile karşılaştırıldığında ölen hücrelerin büyük bir çoğunluğu OB içinde gösterilmiştir [58].

Olgun çoğalan DG hücreleri ile ısrarlı OB nörogenezinin işlemi tam olarak bilinmemektedir fakat artan deliller olfaktör hafıza veya koku ayırımında yeni nöronların rolünü doğrular [31]. SVZ içinde üretilen nöronların glomerul ve granül hücre tabakası içine bağlantı kurarak OB içine sadece sinaps yapmadığı aynı zamanda kokuların bir karışımına cevap verdiği gösterildi. Bunun yanı sıra ergin hipokampal DG'da üretilen yeni nöronların olgun dentat granüler hücreleri olarak benzer elektrofizyolojik özellikler gösterdiği de bildirilmiştir [69]. Davranışsal sonuçların değerlendirilmesi ise daha çok hipokampal formasyonunda incelenmektedir [19]. Ergin hayvandaki nörogenez modifiye olabilen seksüel davranışlarda gerekli beyin devrelerine izin verebilir. Kuşlarda, steroid hormonlar ses kontrol çekirdeğinde yeni üretilen nöronların hayatta kalmasını düzenlemede önemli roller oynamaktadır. Benzer olarak ergin hipokampusundaki östrojenin subgranül tabakadaki bölünen hücrelerin sayısını artırdığını gösterir. Yeni internöronlar seksüel davranışlarla ilgili olfaktör bilgiyi işlediği bilinen bir bölge olan aksesuar OB'a da eklenir [27]. Bu sonuçlar yeni üretilen nöronların ergin beyni için fonksiyonel olarak bütünlediğini gösterir [69].

MSS'de yeni progenitör hücreler ve nöronların devamlı üretimi ya da bu beyin bölgelerini genişletir ya da bir eleme mekanizması sürekli hücre döngüsüne neden olabilir [2]. Normal SVZ prekürsör göçüne katkı sağlayan faktörlerin anlaşılması beynin hasarlı ya da dejeneratif bölgelerine göç eden bazı prekürsörlere indüklemeye, gelişen yaklaşımlar için önemli olacaktır [10, 23]. Erişkin kemirgen DG ve SVZ'deki nörogenez çalışmaları sonucunda radyal glial hücreler ya da radyal glia gibi astrositlerin kök hücre davranışı gösterdiği düşünülmüştür. Diğer elde edilen veriler benzer hasarların hem SVZ hemde hipokampal DG germinatif zonlarında karşılaştırmalı etkileri ürettiğidir. Örneğin travma, krizler yada fokal iskemi tarafından oluşturulan hasar erişkin kemirgenlerde hem DG hemde SVZ-OB yolundaki hücre çoğalmalarını hızlandırmaktadır [30, 31]. Son zamanlardaki çoğu

çalışma mekanik travma veya kimyasal demiyelinizasyon tarafından tetiklenen beyin hasarı sonrası SVZ öncüllerinin gliaları oluşturabileceğini göstermektedir [3].

Erişkin memeli beyinde nörogenezin ısrarı, hasar veya nörogenezin nöronal yenilenmesi için potansiyel bir kaynak olabilen endogenez habercilerine işaret eder. Bununla birlikte erişkindeki nörogenezin normal işlevi ve beyin hasarı tarafından değişimi hakkında sınırlı bilgi vardır. Nöronal haberciler memeli önbeyin SVZ-OB yolu ve hipokampal DG'da yaşam boyu nöronlar oluşturur. Erişkin kemirgenlerdeki beyin hasarı modeli olan deneysel epilepsi ve inme modeli özellikle nörogenez ile indüklenen hasarın sonuçlarının içyüzünü kavramayı sağlar. Erişkin kemirgenlerde epilepsi modellerinde DG nörogenezinin çalışmaları ısrar eden hipokampal hiperaktivite oluşturabilen, kriz indüklü nörogenezin anormal nöroblast göçü ve entegrasyonu gerektirdiği öne sürülmektedir [13, 30, 70].

Uzun süreli krizler SVZ-OB yolundaki nöron popülasyonunu arttırmaktadır. SE olfaktör yoldaki nöral prekürsör göçünü arttırmakta ve RMS nöroblastlarının bir kısmının diğer ön beyin bölgelerine plansız bir şekilde göç etmesine ve erken dönemde olgunlaşmadan yoldan çıkmasına neden olmaktadır. Kemirgen ön beyin SVZ'de yeni hücreler üretilse de bu prekürsörler SVZ'den OB'a kadar günler içinde göç etmekte ve göç ederken de RMS'de bölünmeye devam etmektedir. SE; SVZ ve RMS tek başına veya kombinasyonlu birçok mekanizmayla oluşan nöroblast popülasyonunu geliştirebilmektedir. Bunlar nöral prekürsör jenerasyon oranının artmasına delil olmak üzere, kısa dönem yaşam sürelerini yükseltmek ve ya nöroblast göçünü kaudal SVZ den rostral e doğru hızlandırmaktır [3].

Sonuç olarak; SVZ ve DG ergin nörogenezini barındırır. DG, OB ile karşılaştırıldığında nörogenez daha kısadır. Primatlarda daha düşük olan başlangıç oranları halen bilinmemektedir [19]. Beynin diğer bölümleri için bu durum hala açığa kavuşmamıştır. Kemirgenlerde CA1 alanı, striatum ve üçüncü ventrikül, insan olmayan primatlarda ise neokorteksi içeren bazı beyin bölgelerinde ergin nörogenezin son raporları mevcuttur [24, 64]. Bu alandaki yeni nöronların sayısı hipokampus ve OB için belirtilenlerden her zaman daha azdır. Bununla birlikte yeni nöronların fonksiyonel bir role sahip olması olasılığını reddetmeye zemin

olmamalıdır; nöronların küçük bir sayısının bile davranışı etkileyebileceğinin oldukça kanıtı vardır [24].

1.3. EPİLEPSİ

Epilepsi kelimesi; Yunanca nöbet geçirmek, tutulmak gibi anlamları olan "epilambabein" fiilden türemiştir [71]. Önceleri dinsel bir anlam ifade ederek bir çeşit cezalandırma yöntemi gibi algılanmıştır. M.S. 5. yüzyılda kelime günümüzdekine yakın bir anlam kazanmıştır. Latince kökenli "ietus" kelimesi de, günümüzde epilepsi nöbetini tanımlamak için kullanılmaktadır [72]. Epilepsi; beyindeki sinir hücrelerinin artmış uyarılabilirliğinden (nöronal hiperekstabilite) kaynaklanan bir klinik durumdur. Epilepsi nöbeti gri maddedeki artmış, hızlı ve lokal elektriksel boşalımlardan köken alır ve klinikte belli bir süreyle sınırlı olarak, bilinç, davranış, duyu, hareket veya algılama fonksiyonlarına ilişkin stereotipik bir bozukluk gözlenmektedir. Nöbetler zaman içinde her hasta için belli bir paternde, genellikle spontan olarak veya bazı tetikleyen faktörler zemininde tekrarlamaktadır. Nöbetler arasında hasta genellikle normal yaşantısını sürdürür. Nöbet aralıkları ve tipleri son derece değişken olmakla birlikte aynı hastada genellikle aynı bir veya belli birkaç nöbet tipi tekrarlama eğilimi göstermektedir [73].

En sık görülen ve önemli nörolojik hastalıklardan biri olan epilepsi, tüm yaş gruplarında görülen tedavi edilebilir ve dünya nüfusunun % 1 kadarını etkileyen önemli bir nörolojik hastalık grubunun genel adıdır [74, 75]. Epilepsi genellikle tekrarlayan nöbetlerle karakterize bir hastalık olarak tanımlanır. Beyinde oluşan anormal elektriksel deşarjlar klinik belirtilere sebep olmaktadır. Epilepsi, hücresel düzeyde pek çok mekanizmanın yer aldığı ve birçok faktörün rol oynadığı karışık bir süreç olması nedeniyle tam olarak aydınlatılamamıştır [30, 59]. Epileptojenik odakta bulunan hücrelerin iki önemli özelliği vardır: birincisi, her bir hücre normalden daha yüksek elektrik potansiyeli doğurur. İkincisi, aynı anda potansiyel değişikliği gösteren hücre sayısı normalden çok fazladır. Bu duruma "hipersenkronizasyon" denir. Epileptojenik odaklarda oluşan güçlü elektrik deşarjlarına, "epileptik deşarj" adı verilir [76]. Tüm epilepsi tiplerinin genel özelliği, sinir hücre gruplarının eş zamanlı ve kontrolsüz deşarjlarıdır. Bu deşarjları başlatan ve sürdüren mekanizmalar

ise epilepsi tiplerine göre farklılıklar gösterir ve mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır [75]. Normalde, sinir dokusunda oluşan elektriksel deşarjların komşu hücre gruplarına yayılmasını engelleyen inhibitör mekanizmalar vardır. Bunlardan biri güçlü bir inhibitör nörotransmitter olan GABA'dır. Ancak bu nörotransmitter bile anormal derecede güçlü olan bu epileptik deşarj karşısında etkisiz kalır. Epileptik deşarj doğduğu odak ve ulaşabildiği yerdeki hücreleri uyarır ve onları aktive eder böylece nöronların normal görevlerini yapmalarını engeller. Epileptik deşarj beynin hangi bölgesini etkilerse, o bölgenin fonksiyonuyla ilgili klinik bulgular ortaya çıkar [76].

Uluslararası Epilepsi ile Savaş Birliği'nin (International League Against Epilepsy, ILAE) 1981 yılında yayınladığı sınıflandırma sistemine göre epileptik nöbetler parsiyel ve jeneralize olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır [75]. Parsiyel nöbetler beyinde belli bir odaktan kaynaklanan epilepsidir. Basit parsiyel bir nöbette bilinç korunurken, kompleks parsiyel nöbetlere bilinç bozukluğu eşlik eder. Kompleks parsiyel nöbetler sıklıkla temporal lobdan kaynaklanırlar. Jeneralize nöbetler ise başlangıçtan itibaren her iki hemisfer korteksinin tutulumu vardır. Absans, myoklonik, tonik, klonik, tonik-klonik ve atonik nöbetler jeneralize nöbetlerdir.

Erişkinlerde en sık görülen epileptik nöbet tipi parsiyel nöbetlerdir ve bu nöbetlerin %50'sinden fazlası temporal lob kaynaklı nöbetlerden oluşmaktadır [72, 75, 76]. TLE yaygın görülen tekrarlayıcı, şiddetli, aniden ortaya çıkan kendiliğinden geçen nöbet tarzındaki bozukluklar olup hipokampus ve temporal lobdaki diğer limbik yapılarda elektrofizyolojik ve nöropatolojik anomalilerle ilişkilidir. En sık görülen ortak nöropatolojik bulgu, hipokampal veya ammon boynuzu sklerozu olarak bilinen, hipokampusta nöron kaybı ve gliozistir [76].

Epilepsi ile beyin hasarı arasındaki ilişki uzun zamandır bilinmektedir. Deneysel ve klinik çalışmalar uzamış nöbetlerin veya SE durumunun beyinde nöronal kayba yol açtığını göstermektedir. Beynin diğer bölgelerinde (serebral korteks, serebellum) de nöronal hasar görülmekle birlikte gözlenen en sık patolojik bulgu hipokampusun Cornu Ammonis (CA) sektörlerindeki hücre kaybıdır [77].

TLE'nin oldukça sık görülmesi ve konvansiyel ilaç tedavisine sıklıkla dirençli olması nedeniyle deneysel çalışmalar bu konu üzerinde yoğunlaşmış ve insan TLE özelliklerini taklit eden çeşitli deneysel modeller ileri sürülmüştür [72, 75]. Farmakolojik SE modelleri (PC ya da kainat asit) TLE'nin özelliklerine benzer özellikler gösterir ve epilepsinin temel mekanizmalarını anlamak için kullanılabilir [70, 78].

1.3.1.Deneysel Epilepsi Modelleri

Epilepsi fizyolojisi ve patolojisinin anlaşılması, tedavi yöntemlerinin belirlenmesi, daha etkili ve yeni antiepileptik ilaçların bulunması amacıyla hayvanlarda deneysel epilepsi modelleri geliştirilmiştir. Özellikle temel mekanizmaları üzerine yapılan deneysel araştırmalarda, insanların denek olarak kullanılamıyor olması, deneysel epilepsi modellerinin ve hayvan çalışmalarının önemini artırmaktadır. Hayvan modelleri çalışmaları kriz ile ilgili beyin hasarını ve miktarının tanımlanması, süresi ve davranışın uzun süreli sonuçları, öğrenme ve hafıza işlemlerini anlamamızda önemli katkılar sağlar. Hayvan modellerinin başka bir avantajı krizin zamana bağlı değişikliklerini farklı seviyelerde açıklamayı mümkün kılmasıdır. Bununla birlikte hayvan verilerinden insan sonuçlarının tahmininin dikkatli yapılması gerekir. Çeşitli yaş gruplarındaki deney hayvanlarının kullanıldığı epilepsi krizinin indüklendiği çalışmalarda, beyin hasarının değerlendirilmesi, insanlardaki olası sonuçları ile ilgili önemli ipuçları sağlar [75, 76].

LP ile oluşturulan deneysel epilepsi modeli, hayvanların beyinde nöropatolojik değişikliklere neden olur. Hücre ölümü nöropatolojik değişikliklerden biridir. Hücre ölümü iki mekanizma ile gerçekleşir: nekroz ve apoptozis. Programlı hücre ölümü olarak tanımlanan apoptozis, epilepsi sonrası tetiklenmekte ve hücre hasarında rol oynamaktadır [76, 79]. Bu nedenle son zamanlarda apoptozisi farklı basamaklarda etkileyen antiapoptotik ajanlar geliştirilmesi önem kazanmıştır. Bunlardan özel kaspaz inhibitörlerinin apoptozise bağlı hücre hasarını engellediği gösterilmiştir [76].

Hücresele ve moleküler düzeyde oldukça karmaşık epileptogenez mekanizmaları, farklı nöbet tipleri için deney hayvanlarında geliştirilen model sistemler üzerinde çalışılarak araştırılmaktadır. Deneysel epilepsi modeli oluşturulacak klinik nöbet çeşitlerinin çokluğu ve geliştirilen yeni yöntemler nedeniyle epilepsi çalışmalarında kullanılan deneysel modellerin sayısı oldukça fazladır. İdeal bir epilepsi modeli aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır; Spontan olarak tekrarlayan nöbetleri olmalıdır. Nöbetler insan epilepsi nöbetlerine benzemelidir. Modeldeki EEG'nin biçimi, ilgili epilepsi çeşidindeki EEG'ye benzemelidir. Nöbetlerin frekansı, antiepileptik ilaçların etkisini akut veya kronik olarak test etmeye yetecek ölçüde olmalıdır. Bu özelliklerin tümünü karşılayan tek bir model şimdiye kadar ortaya konamamıştır. Çünkü deneysel modellerin hiçbirisi insandaki klinik epilepsiyle tamamen aynı değildir [55].

1.3.2.Lityum Pilokarpin ile Oluşturulan Deneysel Epilepsi Modeli

Status epileptikus(SE), önemli bir hastalık ve ölüm riski ile birleşen yaygın nörolojik bir durumdur [20, 56, 80]. Kolinerjik sistemin nöbet aktivitesini tetiklediği ve nöbet aktivitesinin sürdürülmesinde rol oynadığına inanılmaktadır [70, 81, 82]. Kolinerjik agonistlerin sıçanlarda uzun süreli limbik nöbetlere ve beyin hasarına yol açtığı ilk defa *Turski ve ark.* tarafından 1982 yılında karbakol ve betanekolün amigdalyaya yada dorsal hipokampusu mikroenjeksiyonu ile gösterilmiştir. Diğer bir kolinerjik muskarinik agonist olan PC'nin sistemik uygulanmasının da konvulzif aktiviteye ve yaygın beyin hasarına neden olduğu gösterilmiştir. LiCl verilen sıçanlara küçük dozlarda PC uygulanması sekonder jeneralize olan ve statusa dönüşen limbik nöbetlere neden olur [70, 81, 82]. PC'in sistemik yönetimi sıçanlarda SE'nin deneysel bir modeli olarak kullanılmaktadır. Daha da önemlisi PC kriz modeli TLE çalışmaları için kullanılmaktadır. Çünkü benzeyen anatomik değişiklikler SE'un ilk teşviki sonrası insan medial temporal sklerozundaki gibi görünürler ve spontan olarak tekrarlayan ve sekonder gelişen krizler SE'nin latent bir periyodu ile yeniden teşvik edilen sinaptik krizler meydana getirir. PC tarafından SE'nin başlaması kolinerjik sistemin aktivasyonundan kaynaklanırken, histopatolojisi, nöronal hasar ve

spontan kriz aktivitesi glutamate release ile teşvik edilen krizlerin bir sonucu nedeniyledir [5, 70, 80-84].

SE, çok uzun süren ya da ataklar arasında iyileşme olmayacak kadar sıkla olan nöbetleri tanımlar. Bazı araştırmacılar bu süreyi 30 dakika olarak kabul ederken, diğerleri SE teriminin kullanılabilmesi için nöbetlerin 60 dakika boyunca sürmesi gerektiğini belirtmektedirler. SE'ya bağlı nörolojik sekeller üç ana grupta toplanmaktadır. Bunlar; epileptik beyin hasarı, nörolojik/bilişsel bozukluklar ve spontan rekürren nöbetlerle giden epilepsidir [56, 72, 76]. Birçok epileptik nöbet bir girişim gerektirmeden kendiliğinden dakikalar içinde sonlanmaktadır. Bir nöbetin 30 dakikadan uzun sürmesi ya da bu süre içinde hasta düzelmeden birden çok nöbetin ard arda tekrarlamasına SE adı verilir. Son yıllar içinde SE tanısı için gereken süre giderek kısalmış ve bazı yayınlarda 10 dakikadan uzun süren nöbetler bile bu tanım içinde ele alınmıştır. Jeneralize konvülfif SE en sık karşılaşılan, en iyi tanınan ve en tehlikeli tipidir. Hayatı tehlikeye sokan bu tablonun zamanında uygulanan ve doğru tedaviye cevap vermesi konunun önemini arttırmaktadır. Ancak hemen tüm epileptik nöbet tiplerinin SE tarzında belirmesi mümkündür [73].

SE'yu çok önemli kılan durum, bu tablonun yüksek oranda ölümle sonuçlanması veya kalıcı hasar bırakmasıdır. Bu nedenle SE'un tanı ve tedavisi çok önemli bir dahili ve nörolojik acil durum olarak belirlemektedir. SE'dan sonra ölen 20 kişide yapılan otopsi çalışmaları beyinde en hassas bölgelerin sırasıyla hipokampus, kortikal nöronlar, talamus, korpus striatum ve serebellum Purkinje hücreleri olduğunu göstermiştir [73].

Kemirgenlerde PC ya da kainat'ın lokal yada sistemik yönetimi tekrarlayan limbik krizler ve SE'm bir örneğini gösterir ve birkaç saatte sonlanabilir [3, 70, 84, 85]. PC'nin epileptogenik aktivasyonu ilacın miktarı ve pilokarpin enjeksiyonundan 24 saat önce LiCl ile muamele edilmesi, pilokarpinin potansiyelini 10 kat arttırabilir [70]. *Honchar ve ark.* duygulanım bozukluğu olan hastalarda kullanılan doza eşit miktarda lityum uygulanan sıçanlara daha sonra subkonvulzif dozlarda kolinerjik agonistlerin uygulanması ile epileptik aktivenin ortaya çıktığını göstermişlerdir. Lityumun kolinerjik agonistlerin epileptik aktivitesini artırmasında fosfoinositid metabolizmasında oluşturduğu

değişikliklerin sorumlu olabileceği bildirilmiştir, fakat bu etkinin mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Bazı çalışmalarda lityumun, asetilkolin sentez ve salınımını stimüle edebildiği bildirilmektedir [58].

LP ile oluşturulan limbik nöbetler ve SE'un davranışsal, elektrografik ve nöropatolojik özellikleri oldukça iyi tanımlanmıştır. Sıçanlarda sistemik olarak 3 mEq/kg lityum klorür verildikten 20-24 saat sonra 30 mg/kg sistemik pilokarpin hidroklorür verilmesi, saatlerce süren ve genellikle 24 saat içinde ölümle sonuçlanan jeneralize konvulzif SE'a neden olmaktadır [76, 84, 86]. Kan beyin bariyerini geçmeyen antikolinergik olan Metilskopolamin bromit (MSB), MSS'ni etkilemeyen periferik sarsıntıları azaltmak amacıyla kullanılmaktadır [81]. Davranışsal bulgular, pilokarpin enjeksiyonundan sonra ilk 5 dakika içinde periferik kolinerjik stimülasyona bağlı piloereksiyon salivasyon, diürez gibi bulguları takiben kaşınma, çiğneme, ıslak köpek titremeleri gibi çeşitli davranışsal otomatizmalar, baş sallama, ayak klonusu ve sonuçta jeneralize konvulzif SE'dan oluşmaktadır [76].

LP ile oluşturulan nöbetleri diazepamın önlediği gösterilmiştir [78, 83]. *Glien ve ark.* LP ile oluşturulan SE' ta 4 saat sonra diazem tarafından krizler durdurulduğunda ölüm oranının %100 gerçekleştiğini, SE davranışının 90 dk ile sınırlandırıldığında ise ölüm oranının önemli derecede (%45) azaldığını göstermişlerdir [83]. Bununla birlikte, Morrisett ve ark. pilokarpinden 60 dakika sonra verilen diazepamın SE'u durdurmadığını bildirmişlerdir [87].

PC'den önce kolinerjik aktiveyi inhibe eden muskarinik antagonist olan atropin verilmesi bu modelde nöbet aktivitesini tamamen önlerken, SE başlangıcından kısa bir süre sonra uygulanması ise süregelen nöbetleri durdurur [76, 88]. Eğer atropin SE başladıktan dakikalar sonra verilirse, devam eden nöbetler üzerine etkisi olmamaktadır. Bu durum bu modelde SE'un başlamasından kolinerjik stimülasyonun sorumlu olduğunu, buna karşın başka nörotransmitter sistemlerin de rol aldığını göstermektedir. Yüksek afiniteli kolin transportunun potent bir inhibitörü olan hemikolinyum-3 pilokarpinden önce verildiğinde SE gelişimini önler ve mortaliteyi azaltır. Buna göre, presinaptik kolinerjik aktivite SE gelişimini düzenlemektedir [76].

Jeneralize konvulzif nöbetlerin tedavisinde kullanılan fenobarbital, fenitoin, karbamezapin ve paraldehid nöbetlerin oluşumunu önlerken, tam oluşmuş SE'a karşı paraldehid dışındaki ajanlara direnç gösterir. *Jope ve ark.*, LP ile oluşturulan SE'un asetilkolin konsantrasyonu, sentez ve salınışı ile kolin konsantrasyonu üzerine etkilerini incelemişlerdir [87]. LP verilen sıçanlarda, başlangıçta (15 dk) kortekste asetilkolin konsantrasyonu hafifçe azalmış, 24. dakikadan itibaren sürekli bir yükselme görülmüş ve pilokarpinden 2,5 saat sonra pik yaptığı belirlenmiştir [76].

PC'nin yüksek bir dozunun sistemik idaresi elektroensefalografik aktivite, hücre hasarı ve çırpınmalarındaki değişiklik olarak belirtilen, beyindeki aşırı kolinerjik duruma neden olmaktadır [88]. PC'nin 300-400 mg/kg i.p. enjeksiyonundan sonra görülen nöropatolojik değişiklikler piriform korteks, entorhinal korteks, klaustrum, amigdala, dorsal, lateral ve ventromedial talamik nukleuslar, anterior olfaktör nukleuslar, hipokampal CA1, CA3 ve CA4 alanları, substansiya nigra ve neokortekste saptanmıştır. Rhinal sulkusun dorsalindeki temporal korteks ve singulat korteks pilokarpine özellikle duyarlıdır [76].

Stres, ilaç, epilepsi gibi travmatik koşullarda nörogenез artmaktadır [19]. Araştırmacılar, kolinerjik muskarinik reseptörlerin aşırı stimülasyonunun limbik nöbetlere ve beyin hasarına yol açabileceğini ve muskarinik kolinerjik mekanizmaların TLE ve epileptik beyin hasarının etiyolojisi ile ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir [72, 74, 76]. Çoğalan, farklılaşan ve göç eden nöral progenitörler ergin beyninin RMS'de sürekli olarak aktiftir [12]. Ergin kemirgen TLE'nin KA ve PC modelinde, kemokonvulsant indüklü SE enaz birkaç günlük latent bir periyottan sonra DG hücre popülasyonunu yaklaşık olarak 5-10 kata kadar arttırmaktadır [30]. Pilokarpin ile oluşturulan SE, rostral SVZ'deki çoğalan hücre sayısını arttırmaktadır. Hipokampus, epilepsi ile ilişkili beyin hasarına en duyarlı yapılardan biridir ve limbik nöbetlerin gelişmesi sürdürülmesinde önemli rol oynar [3]. Yetişkin kemirgenlerdeki ön beyin SVZ'sindeki ısrarlı nöral prekürsör hücrelerindeki beyin hasarının etkileri ne yazık ki tam olarak anlaşılmamıştır. Uzun süreli krizler SVZ-OB yolundaki nöron popülasyonunu arttırmaktadır. Uzamış kriz etkisi nörol prekürsörler için yüksek hassasiyet sıralamaktadır. SE olfaktör yoldaki nöral prekürsör göçünü arttırmakta ve RMS nöroblastlarının bir kısmının diğer ön beyin bölgelerine plansız

bir şekilde göç etmesine ve erken dönemde olgunlaşmadan yoldan çıkmasına neden olmaktadır. SVZ-olfaktör yolun nörogenezinin dinamik yapısı nörogenik yolun kriz sırasında nasıl değiştiğini analiz etmeyi zorlaştırmaktadır. Örneğin kemirgen ön beyin SVZ’de ne kadar yeni hücre üretilse de bu preküsörler birkaç mm veya SVZ’den OB’a kadar günler içinde göç etmektedir ve göç ederken RMS’de bölünmeye devam etmektedir. SE; SVZ ve RMS tek başına veya kombinasyonlu birçok mekanizmayla oluşan nöroblast popülasyonunu geliştirebilmektedir. Bunlar nöral preküsör jenerasyon oranının artmasına delil olmak üzere, kısa dönem yaşam sürelerini yükseltmek veya nöroblast göçünü kaudal SVZ’den rostrale doğru hızlandırmaktır [3, 30].

Son veriler epilepsi patogenezinde normal olmayan nörogenezin ve astrogliozisin anahtar rol oynadığını göstermektedir. Epilepsi granül hücre tabakası veya inhibitör internöron kaybının aksonal veya dendritik reorganizasyonunu, ayrılmasını kapsayan beyindeki uzun süren plastik değişikliklerle sonuçlanır. Epilepsi hareketi SGL ve SVZ’deki hücre popülasyonlarında da artmakta ve sonra hilus ve CA1’deki astrogliozis’deki anormal granüler nöronlar üretmektedir [85].

Nöbetlere bağlı beyin hasarında apoptozis ve bununla ilişkili biyokimyasal mekanizmalar üzerindeki araştırmalar 1990’ların ortalarında başlamıştır. Bu konuda yapılan ilk çalışmalarda sıçan beyinlerinde, uzamış nöbetlerden sonra, TUNEL yöntemiyle in situ apoptotik DNA parçalanması saptanmıştır. Hücre fenotip analizleri, bu tür hücrelerin % 90’dan fazlasının nöronlardan oluştuğunu ortaya koymuştur. Kısa nöbetlerden sonra ölen az sayıdaki nöronda da DNA parçalanması saptanmıştır. Ancak epileptik sıçan modellerinde, oldukça az sayıda dejenere nöron “klasik apoptotik morfoloji” sergilemektedir. Bu bulgular, en azından sıçan modellerinde, nöbetlerin neden olduğu hücre ölümünün apoptozisin her özelliğini göstermediğini ifade etmektedir. Buna karşılık, fare hippocampusundaki dejenere ve TUNEL pozitif hücrelerin yaklaşık 1/3’ü apoptotik nükleer değişiklikler göstermektedir [77].

Limbik krizlerin hücre ölümünü ve doğumunu arttırdığı bildirilmektedir [19]. LP’e bağlı SE’un beyinde hücre ölümüne neden olduğu bilinmektedir. SE’a bağlı hücre ölümünde hem apoptozis, hem de nekrozis rol oynamaktadır. SE sonrasında

apoptotik hücreler özellikle hipokampus, piriform korteks ve entorhinal kortekste belirlenmiştir. Ayrıca kaspaz inhibitörleri gibi apoptozisi inhibe eden ajanların epilepsiye bağlı hücre hasarını azalttığı gösterilmiştir [76]. SE'un oluşum mekanizmasının inhibitör sistemin yetmezliği ve eksitatör sistemin aktivasyonu olduğu düşünülmektedir [73].

1.4. APOPTOZİS (Programlı Hücre Ölümü)

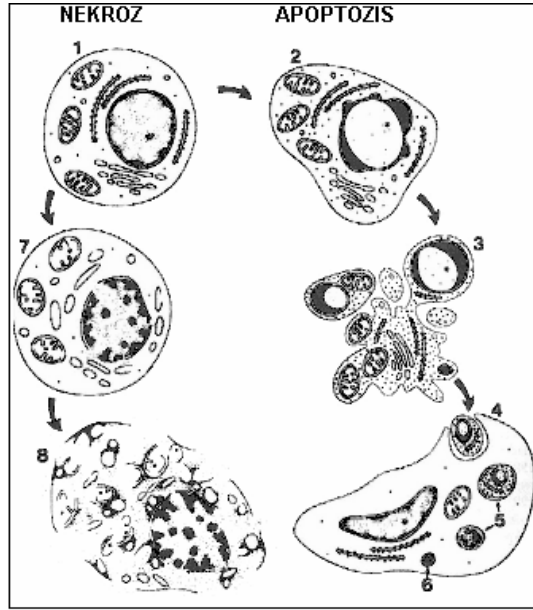
Apoptozis terimi, ilk defa iskoçyalı araştırmacılar olan Kerr, Wyllie ve Currie tarafından 1972 yılında kullanılmış ve canlı dokulardaki hücre azalmalarından sorumlu olan, yapısal olarak özgün bir hücre ölüm tipi olarak tanımlanmıştır. Apoptozis canlı hücrelerde, pre-implantasyon dönemden başlayarak tüm biyolojik süreç içerisinde istenmeyen veya gereksiz hücrelerin ortadan kaldırılmasında ve doku homeostasisinde rol alan fizyolojik bir programlanmış hücre ölüm mekanizmasıdır [76, 89].

Apoptozis, sağlıklı dokuların gelişimi ve devamlılığı için büyük önem taşımaktadır. Dokuda normal şartlarda hücrelerin çoğalması ile ölümü denge halindedir. Erişkinlerin dokularında bu denge doku hacminin devamlılığını sağlar. Hücre ölümü embriyoda organogenez sırasında ve yetişkinlerde hücre farklılaşması sırasında fizyolojik olarak gerçekleşir. Buna karşın dengenin apoptozisin lehine veya aleyhine bozulması birçok önemli hastalığın patogenezi katkıda bulunur. Apoptozisin gereksiz yere oluştuğu veya hızlandığı hastalıklara AIDS, nörodejeneratif hastalıklar, insüline bağımlı diyabet, hepatit C enfeksiyonu, miyokard enfarktüsü, ateroskleroz gibi hastalıklar örnek verilebilir. Kanser ve otoimmün hastalıklarda ise apoptozis yavaşlamıştır. Programlı hücre ölümünün gelişimsel bir mekanizma olarak tanımlanması 1930'lara dayanır. çeşitli dokularda ortaya çıkan hasarlara yanıt şeklinde patolojik olarak da gerçekleşir [76, 89].

Hücrelerde ölüm iki şekilde gerçekleşmektedir: Apoptozis ve nekrozis. Apoptozis hem hücre yaşlanması gibi fizyolojik şartlar ile hem de HIV, kanser ilaçları, radyasyon, yüksek doz glukokortikoid, çok şiddetli olmayan oksidatif stres gibi patolojik şartlarda meydana gelebilirken nekrozis; iskemi, hipertermi,

hipoksi, toksik maddelerin yüksek konsantrasyonları, şiddetli oksidatif stres gibi patolojik şartlara bağlı oluşabilmektedir.

Apoptozis morfolojik olarak özgündür (Şekil 1.5). Apoptotik hücrede küçülme görülürken nekrotik hücrede hücre içine aşırı miktarda sıvı girmesi sonucu şişme görülmektedir. Apoptotik hücrede hücrenin kromatini nükleus membranının çevresinde toplanır ve kondanse olur ancak nekroziste kromatin paterni normal hücredekine benzerdir. Nekrotik hücrenin plazma membranı bütünlüğünü kaybeder ve hücre içinden dışına hücre içi materyallerinin çıkışı gerçekleşir. Oysa apoptotik hücre membranı intaktır ve üzerinde küçük cepler oluşmaktadır [76, 89, 90].



Şekil 1. 6. Apoptozis ve nekrozun morfolojik olarak karşılaştırılması.

Apoptotik cisimcikler membranla kaplıdır ve değişen miktarlarda nükleus veya diğer hücre içi yapılar içerirler. Nekrotik hücre sonra lizise uğrar ama apoptotik hücre küçük cisimciklere parçalanmaktadır. Apoptoziste apoptotik hücre veya cisimciklerin plazma membranları hasara uğramadığından komşu hücreler ya da makrofajlar tarafından fagosite edilir. Bu nedenle inflamatuvar bir

yanıt oluşmaz. Nekrozisde ise plazma membranının bütünlüğünün bozulması nedeniyle hücre içeriğinin dış ortama salıverilmesi sonucu inflamasyon uyarılır. Apoptozis bir hücre hasarına yanıt olarak meydana gelir oysa nekroz genelde hasar sonucu gelişmektedir. Apoptozis önceden belirlenen bir yol ile koordineli olarak meydana gelirken, nekroz birçok biyokimyasal olaydan bağımsız olarak gerçekleşir ve hücrede enerji stoklarının tükenmesi ile aktive olur. Apoptotik süreç enerji gerektirirken, nekrozisin gerçekleşmesi için enerjiye gereksinim bulunmamaktadır (Tablo 1.1) [76, 89].

Tablo 1.1. Nekrozis ve apoptozisin karşılaştırılması [78].

ÖZELLİK	NEKROZİS	APOPTOZİS
Yol açan nedenler	İskemi Hipertermi Hipoksi Litik viral enfeksiyon Toksik maddelerin yüksek konsantrasyonları Şiddetli oksidatif stress	Büyüme faktörü eksikliği Hücre yaşlanması "Senescence" HIV Kanser ilaçları Radyasyon Yüksek doz glukokortikoid Fas veya TNFR-1 (tumor nekrozis factor reseptörü-1) reseptörlerinin aktivasyonu Sitotoksik T lenfositler Çok şiddetli olmayan oksidatif stress
Morfolojik özellikler	Hücre membranı bütünlüğünün kaybı Kromatin "flocculation"u Hücre şişmesi Organellerin disintegrasyonu Endoplazmik retikulumun dilatasyonu Büyük vakuollerin oluşumu Hücre lizisi	İntakt hücre membranı fakat membranda "bleb"lerin oluşumu Kromatinin nükleer membran civarında toplanması ve yoğunlaşması Hücre küçülmesi Organellerde disintegrasyon yok Hücresinin intact mitokondri, ribozom, nucleus parçaları ve diğer organelleri içeren membranla kaplı apoptotic cisimciklere parçalanması
Biyokimyasal özellikler	Bozulmuş iyon hemostazisi ATP gerekmez (pasif süreç) +4 °C'de gerçekleşebilir DNA rastgele parçalanır (agaroz jel elektroforezinde "smear" görüntüsü) Postlitik DNA fragmentasyonu (=ölümün geç safhasında)	İyi kontrollu, bazı aktivasyonların ve enzimatik basamakların olması ATP gereklidir (aktif süreç) +4 °C'de gerçekleşmez) DNA internukleozomal alanlarda 180 kb çiftinin katları olacak şekilde kırılır mono ve oligonukleozomlara ayrılır (agaroz jel elektroforezinde merdiven patterni=apoptozisin en önemli belirteci) Prelitik DNA fragmentasyonu (=erken evrede gerçekleşir)
Diğer özellikler	Hücreler gruplar halinde ölür Fizyolojik olmayan (patolojik) etkiler sonucu gerçekleşir Lizozomal enzimler salınır İnflamasyona neden olur	Hücreler tek tek veya birkaçı birarada ölür Fizyolojik şartlarda da gerçekleşebilir Komşu hücreler veya makrofajlar tarafından fagosite edilirler İnflamasyon görülmez

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda 180-260 gr ağırlığında 40 adet Wistar albino türü erişkin erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar bir kafeste 5 adet olacak şekilde yerleştirildi ve standart diyet ile su ve yem alımları kısıtlanmadan beslendiler. Proje ile ilgili deneysel çalışmalar ve örneklerin değerlendirilmesi, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı araştırma laboratuvarında ve Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı mikroskopi laboratuvarında yapıldı.

Denek sayısı kırk olarak kararlaştırılan çalışmamızda I.grup (n=3) epilepsi yapılmamış-olfaktör mukozası sağlam (LP-ÇS-), II.grup (n=3) epilepsi yapılmış-olfaktör mukozası ÇS ile yıkanmamış (LP+ÇS-), III.grup (n=3) epilepsi oluşturulmuş-olfaktör mukozası ÇS ile yıkanmış (LP+ÇS+), IV.grup (n=3) ise epilepsi oluşturulmamış-olfaktör mukozası ÇS ile yıkanmış (LP-ÇS+) olmak üzere dört ayrı grup oluşturuldu. Her grubun 4, 7, 14, 21 ve 30. Günler için tekrarları yapıldı.

2.1. ÇİNKO SÜLFAT UYGULAMASI

Daha önceki çalışmalarda ÇS solüsyonu, nasal mukozada reseptör hücre hasarı oluşturmak için kullanılmış ve olfaktör sinir tabakası ve glomerüler tabakada olfaktör aksonların dejenerasyonu ile sonuçlanmıştır. %1 ila %5 oranlarında kullanılmış olan ÇS intranasal olarak verildiğinde olfaktör mukozadaki epitel hücrelerin kaybına neden olmaktadır [52, 53]. Çalışmamızda ÇS irrigasyonu ile olfaktör mukozadaki nöroepitel hücreler denatüre edilerek OB'daki granüler ve glomerüler hücre tabakaları ile bağlantısı kesildive buna olfaktör mukozadaki bazal hücrelerin verdiği tepkiler incelendi.

Deney hayvanlarından nazal irrigasyonu yapılacak olan gruplara (Grup II ve IV) genel anestezi (ketamin 75mg/kg, i.p. ve xylazine 10 mg/kg, i.p, ketamin-xylazine anestezi) altında burun mukozasına 0,5 ml % 1 lik ZnSO4 bilateral intranasal infüzyonları uygulandı.

Burun mukozalarına ZnSO4 uygulanmayan gruplarda (Grup I ve III) mukozaya 0,5 ml %0,9 luk serum fizyolojik (SF) intranasal olarak verildi. Grup IV

irrigasyondan 24 saat sonra Grup III ile birlikte lityum ve pilokarpine ile SE oluşturuldu. Deney hayvanlarından belirlenen günlerde (4, 7, 14, 21, 30.günlerde) örnekler alındı. Hem olfaktör nöroepiteldeki bazal hücrelerin, hem de SVZ'deki progenitör hücrelerin rejenerasyonu tamamlamaları, nöritlerini vererek sinaptik bağlantılarını yapmaları 21 günlük bir sürede gerçekleşmesi sebebi ile literatüre uygun olarak 3 haftalık bir bekleme süresi tercih edilmiştir. Karşılaştırmak amacıyla farklı zamanlarda alınacak örneklerle de bu sürecin ilerleyişi takip edildi. Deney sonunda OB'taki hücrelerin regenerasyonunda normal ve epileptik hayvanlarda SVZ'deki hücrelerin davranışı belirlendi [13].

2.2. EPİLEPSİNİN OLUŞTURULMASI VE DEĞERLENDİRİLMESİ

Deneyde Lityum ve Pilokarpin kullanılarak epilepsi modeli (status epilepticus) oluşturuldu. Bu çalışmada kullanılan lityum ve pilokarpin distile suda çözüldü. 0.2 ml hacminde i.p. olarak enjekte edildi. Epileptik sıçanlarda (Grup III ve IV) önceden tanımlandığı gibi lityum pilokarpinle tetiklenen SE oluşturuldu. Lityum klorid(127 mg/kg i.p., Sigma), pilokarpin enjeksiyonundan 19-24 saat önce verildi. Sıçanlar methylscopolamine bromid (1 mg/kg, sigma, pilokarpinden 30 dk önce) ile muamele edildi ve daha sonra pilokarpine (50mg/kg, i.p., Sigma) nın tek dozu verildi. MSB bir kolinerjik antagonistir ve bunun yanı sıra kan beyin bariyerini geçemez. MSB, pilokarpin uygulamasının oluşturacağı periferik etkilerin azaltılması amacıyla kullanıldı [70, 74, 78, 81, 83, 85, 86, 88].

Sıçanlar, pilokarpin HCl enjeksiyonundan sonra iki saat boyunca nöbet şiddetlerinin tesbiti ve nöbete giriş latansları için gözlendi. Pilokarpin uygulamasından sonra sadece 2 saat sürekli şiddetli kriz aktivitesi (kafa ve önlimbik klonüsü) görülen sıçanlar bu deneyde kullanıldı [3]. Limbik nöbetlerin derecelendirilebilmesi için Racine skalası kullanıldı (Tablo 2.1) [5, 6, 70, 75]. SE başlangıcı sürekli kriz aktivitesinin başlamasından önceki normal davranış ile krizler arasında ilk atak olarak tanımlandı. Sıçanlara, hem ölüm oranını azaltmak, hem de standardizasyon sağlamak için, SE'un süresini 2 saat ile sınırlandırmak amacıyla, diazepam (10mg/kg, i.m.) enjeksiyonu yapıldı. Normal kontrol sıçanları lityum-MSB ve pilokarpin yerine saline ve enjeksiyondan 2 saat sonra tek doz diazepam

uygulandı. Deney sonunda OB'taki hücrelerin rejenerasyonunda normal ve epileptik hayvanlarda SVZ'deki hücrelerin davranışı araştırıldı.

Tablo 2.1. Racine skalası [5, 6, 70, 75].

Skor	Davranış
0	Normal, epileptik olmayan aktivite
1	Ağız ve fasial hareketler, hiperaktivite, eşme, ıslak köpek sarsıntıları
2	Baş sallama, titreme
3	Ön ekstremitte klonusu ve ekstensiyonu
4	Ayağa kalkma, tükrük salgıma
5	Düşme, Status epileptikus

2.3. ÖRNEKLERİN ALINMASI

Erişkin sıçanlar pilokarpin ya da tuz uygulanması sonrasında 4, 7, 14, 21 ve 30. günlerde anestezi altında intrakardiyak perfüzyona alındı. Perfüzyon için öncelikle intraperitoneal anestezi (ketamin 75mg/kg, i.p. ve xylazine 10 mg/kg, i.p., kombinasyonu uygulanarak) yapıldı. Anestezi altındaki sıçanların göğüs kafesleri, kalpleri görünecek şekilde açıldıktan sonra, perfüzyon için önce sol ventrikulden bir kateter aracılığıyla serum fizyolojik verilirken sağ atrium da kalbe dönen kanın tamamen boşaltıp serum fizyolojikle yer değiştirmesi için kesildi. 100-150 ml serum fizyolojik perfüzyonunu takiben yine sol ventrikulden yaklaşık aynı hacimde %10'luk formol çözeltisi verildi. Formol perfüzyonunun bir özelliği olarak ön ekstremitte ve yüz kaslarında formole bağlı istemsiz titremeler bütün sıçanlarda gözlemlendi. Perfüzyonun tamamlanması ardından sıçanlar dekapite edildi. Beyinleri bir bütün olarak çıkartıldıktan sonra %10luk formol çözeltisinde 1-2 gün bekletildi.

2.4. HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME

OB ve SVZ için beyin örnekleri ve nasal kaviteden olfaktör mukoza alınıp fiksasyon tamamlandıktan sonra örnekler Celal Bayar Üniversitesi Histoloji-Embriyoloji Laboratuvar'ında oda ısısında, %10'luk formalin solusyonu içinde 24-48 saat tespit edildi ve bir gece akarsu altında yıkanarak standart parafin doku takibine alındı.

Parafin doku takibi: Tespit edilen beyin dokuları, fiksatiflerin uzaklaştırılmaları amacıyla 1 gece akar su altında yıkandıktan sonra, dehidratasyon amacıyla 15'er dk %60'dan %95'e artan oranlarda etil alkol serilerinden geçirildi. Ardından 15 dk 1:1 oranında ksilen-alkol karışımına ve seffaflastırma amacıyla 15'er dk iki değişim ksilene tabi tutuldu. 60°C'lik etüv içerisinde 15 dk 1:1 oranında ksilen-parafin uygulanıp 30'ar dk parafin ile immersiyonu sağlandıktan sonra dokular parafin bloklar içerisine gömüldü. Elde edilen bloklar, rotary mikrotomla 5µm kalınlığında seri kesitlere ayrıldı.

2.4.1. Hematoksilen-Eozin boyaması

Rotary mikrotom aracılığı ile alınan 5µ'luk parafin kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60°C'lik etüvde bırakıldıktan sonra, 30'ar dk iki değişim ksilene tabi tutuldu. Ardından rehidratasyon işlemi için %95'den %60'a azalan oranlarda alkol serilerinden geçirilen kesitler 5 dk akar su altında yıkandı. 2 dk hematoksilen ile boyamanın ardından, fazla boyanın dokudan uzaklaştırılması için 5 dk akar suda yıkanan kesitler 30 saniye eozin boyası ile boyandı. Aynı şekilde 5 dk akar su altında yıkama yapıldıktan sonra sırasıyla %80 ve %95'lik alkol serilerinden geçirilip havada kurutulan kesitler seffaflastırma amacıyla 30'ar dk iki değişim ksilende tutulduktan sonra entellan ile kapatıldı.

2.4.2. Kresil violet boyama

Rotary mikrotom aracılığı ile alınan 5µ'luk parafin kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60°C'lik etüvde bırakıldıktan sonra, 30'ar dk iki değişim ksilene tabi tutuldu. Ardından rehidratasyon işlemi için %95'den %60'a azalan oranlarda alkol serilerinden geçirilen kesitler 10 dk distile su ile yıkandı. 3-5 dk ile kresil violet boyamanın ardından, fazla boyanın dokudan uzaklaştırılması için 5 dk akar

suda iki yıkama yapıldıktan sonra %95'lik etil alkolde 5-30 dk tutuldu. %100'lük alkolde 10 dk tutuldu. Daha sonra havada kurutulan kesitler seffalaştırma amacıyla 5'er dk iki değişim ksilende tutuldu ve entellan ile kapatıldı.

2.5. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME

Alınan beyin kesitleri immünohistokimyasal boyama için bir gece 60 C°'lik etüvde tutulduktan sonra, 30'ar dk iki sa değisim ksilen ile seffalaştırma işlemi gerçekleştirildi. Ardından %95'ten %60'a azalan derecede alkol serileri ile rehidratasyon sağlanarak distile suda 5 dk bekletildi. Dakopen ile sınırlandırılan %0,5'lik tripsin solüsyonu içinde 15 dk tutulan kesitlere, doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dk %3'lük H₂O₂ uygulandı. 3 defa 5'er dk fosfat tampon solüsyonu (PBS; Posphate buffer solution) ile yıkanan kesitler 1 sa bloklama solusyonu ile muamele edildi. Bloklama solusyonu dokudan uzaklaştırıldıktan sonra primer antikolar (NSE, GFAP, Laminin ve Myelin Basic Protein) ile bir gece inkübe edildi. Ertesi gün tampon solüsyonu ile 3 defa yıkanan kesitler, anti-mouse biotin-streptavidin hidrojen peroksidaz ikincil antikoru ile 30'ar dk boyandı. Yine üç defa 5'er dk tampon solüsyonu ile yıkandı. Mayer's hematoksilen ile artalan boyaması sağlandıktan sonra distile su ile 10 dk yıkanan kesitler entellan ile kapatıldı.

Kimyasal markerların bir bölümü MSS'de yeni üretilen hücrelerin fenotiplerinin immünohistokimyasal belirlenmesi için sıklıkla kullanılır. NSE olgun nöronları, GFAP ve S100 β ise olgun astrositleri belirlemek için kullanılmaktadır [63]. WGA-HRP yöntemi ile ileriye doğru (anterograd) izleme gerçekleştirip yeni oluşan nöronların nörit gelişimi araştırıldı. Ölümünden 24 saat önce sıçanlara derin anestezi yapıldı. % 1 WGA-HRP (Laminin-sigma, intranasal infüzyon) 'nin 50 μ l'i, sulandırılmış saline, bir pipet ile tek dış burun deliği içine yavaşça damlatılarak(1-2 mm) uygulandı [7]. İnfüzyon süresince (3-5dk) sıçan yana çevirmek kaydıyla sırt üstü yatırıldı. Perfüzyon sonrası standart doku takibi ve immünohistokimyasal işlemler uygulandı. İmmunoreaktivitelerin özelleşmiş olup olmadığını test etmek amacı ile birer kesit PBS ile kontrol boyaması yapıldı.

2.5.1.TUNEL Yöntemi İle Apoptotik Hücre Ölümünün Belirlenmesi

TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase [Tdt]-mediated dUTP-biotin nick-end labeling) yöntemi 1992 yılında Gavrieli ve arkadaşları tarafından doku kesitlerinde ve hücrelerde ilk defa kullanılmıştır. TdT enziminin aktivitesi için DNA'nın 3' ucu biotinlenmiş dUTP ile birleşir. DNA kırıklarının in situ olarak tanınmasını sağlar. Parafin bloklar, donmuş kesitler, kültürü yapılmış solüsyon halindeki veya "plate"lere ekilmiş, ya da lameller üzerinde büyütülmüş hücrelerde apoptozisin varlığı bu metodla saptanabilir [76, 89].

Programlı hücre ölümü geçiren hücreyi belirlemek için TUNEL yapıldı [2]. % 10 formaldehit içindeki örnekler parafinle bloklandı. Parafin bloklar 5 µm kalınlığında kesildi. Kesitler 1 gece 60°C'lik etüvde deparafinize edildi. Ardından 1 saat ksilen ile tekrar deparafinize edildi. Azalan alkol serileri ile rehidratasyon uygulandıktan sonra dokular distile suda 10 dakika bekletildi. Kesitler tampon solüsyonu (PBS) ile 10 dk yıkamaya tabi tutuldu. 15 dakika % 4'lük paraformaldehit ile muamele edildikten sonra, 20 µg/ml proteinase K ile 10 dakika beklendi ve ardından tekrar 3 defa 5'er dakika PBS ile yıkandı. İkinci kez % 4'lük paraformaldehit 5 dakika uygulanıp yıkandıktan sonra, tampon solüsyonu ile 5 dakika yıkanan kesitler primer antikor(TdT)-enzimi solüsyonu ile 37°C de 1 saat inkübe edildi. 10 dakika %22 NaCl ve % 11 Sodyum sitrat içeren solüsyon ile uygulanan kesitlere tampon solüsyonu ile yıkama yapıldıktan sonra endojen peroksidazı inhibe etmek amacıyla 5 dakika %3'lük H₂O₂ uygulandı. Ardından tampon solüsyonu ile oda sıcaklığında 10 dakika yıkanan kesitler anti-streptavidin-peroksidaz enzimi ile 30 dakika inkübe edildi. Tampon solüsyonu ile yıkanan kesitler TUNEL reaksiyonunun görünürlüğünü saptamak amacıyla diaminobenzidin (DAB) ile boyandı. Distile su ile yıkandıktan sonra Mayer's hematoksilen ile artalan boyaması sağlanan kesitler %80 ve %95'lik alkollerde dehidratasyon ve 30 dk ksilen ile şeffaflaştırma işleminden sonra entellan ile kapatıldı [13, 71]. Preparatlar ışık mikroskopunda 40X büyütme ile incelendi ve her preparatta farklı alanlardan her bir alanda 100 hücre sayılarak TUNEL pozitif hücre sayısı belirlendi. Bu sayım işlemi, her bir örnekte farklı 5 alanda sayılarak değerlendirildi.

3. BULGULAR

Bu çalışmada SVZ'de üretilen yeni nöronların sürekli olarak proliferasyon gösterdiği ve OB'a doğru göç ettiği, SVZ ve OB arasında bulunan tanjensiyal yol olan RMS'deki hücrelerin sayısı, hücre göçü ve hücre bölünmesi ile arttığı saptandı. Çalışılan deneklerin SE yapılan grup için yapılanlardan yaklaşık yarısı öldü. Sağ kalanlardan çalışmaya alınanlar deney süresince veya en fazla 30 gün süre boyunca yaşamış ve başkaca bir komplikasyon görülmeyen denekler oldu.

SE modeli ile SVZ hasarı yapılmaya çalışılan hayvanlarda 45 mg/kg dozunda epilepsi oluşturulamadı. 55 mg/kg dozunda büyük ölçüde hayvan kaybına karşılık 35.dk başlayan ve 60.dk kadar süren genellikle 3-5 defa olmak üzere epileptik kriz görülen model oluşturuldu. Bu deneklerin Racine skalasına göre 4-5 skorunu alanlar çalışmada kullanıldı. LP ile yapılan epilepsi modelinin başarılı olduğu Racine skalası ile gösterildi (Tablo 3.1). SVZ'da hücre proliferasyonunda artış, gruplar için morfolojik olarak değerlendirildi (Resim 3.1)

ÇS modeli ile OE hasarının yapılmasında histolojik kriterler kullanıldı (Resim 3.2). ÇS ile yapılan OE için hasar modelinde başarı histolojik olarak değerlendirildi (Tablo 3.2) ve gruplar arası histomorfometrik analiz hasarın en çok olduğu 4.gün resimleri (Resim3.3) üzerinden çalışıldı.

SVZ'un değerlendirilmesinde, hücre proliferasyonunun artmaya başladığı 4. gün ile nörogenezin en çok olduğu 14. gün büyük büyütme ile kresil violet boyamalarında SVZ görüntülerinde (Resim 3.4), LP+ gruplarda 4.günde kontrol ile aynı olan hücre proliferasyonunun, 14.günde belirgin olarak arttığı saptandı ancak, tek başına ÇS uygulaması ile böyle bir artış saptanmadı. Her ikisi birlikte uygulandığında (LP+ÇS+), LP+ÇS- ile benzer sonucun olduğu görüldü. Bu artışın 7.günde başlayan 14.günde maksimum olan ve 21.günde azalmaya başlayarak 30.günde kontrol ile uyumlu sonuçlara dönen bir davranış şekli olduğu görüldü (Tablo 3.3).

SVZ hasarı sonrası RMS boyunca hücre davranışının HE boyamalarında (Resim 3.5) SVZ bölgesine benzer ancak özellikle her iki uygulamanın olduğu grupta daha belirgin ve zaman bağımlı olduğu görüldü (Resim 3.6). RMS bölgesinde

LP+ÇS- grubunun 4.günde kontrol ile aynı olan hücre davranışının, 14.günde belirgin olarak arttığı saptandı ancak tek başına ÇS (LP-ÇS+ grubu) uygulaması ile böyle bir artış saptanmadı. Her ikisi birlikte uygulandığında (LP+ÇS+), LP+ÇS- ile benzer sonucun olduğu görüldü. Bu artışın 7.günde başlayan 14.günde maksimum olan ve 21.günde azalmaya başlayarak 30.günde kontrol ile uyumlu sonuçlara dönen bir davranış şekli olduğu görüldü (Tablo 3.4).

LP ve ÇS uygulaması ile OE hasarının, mukoza kalınlığına göre değerlendirilmesi yapıldığında, ÇS+ gruplarda 4. günde belirgin mukoza incilmesi görülürken, 30. güne kadar kontrol grubuna yakın değerlere geldiği görüldü (Tablo 3.5). LP uygulamasının olup olmaması istatistiksel olarak anlamlı değişikliğe yol açmadı.

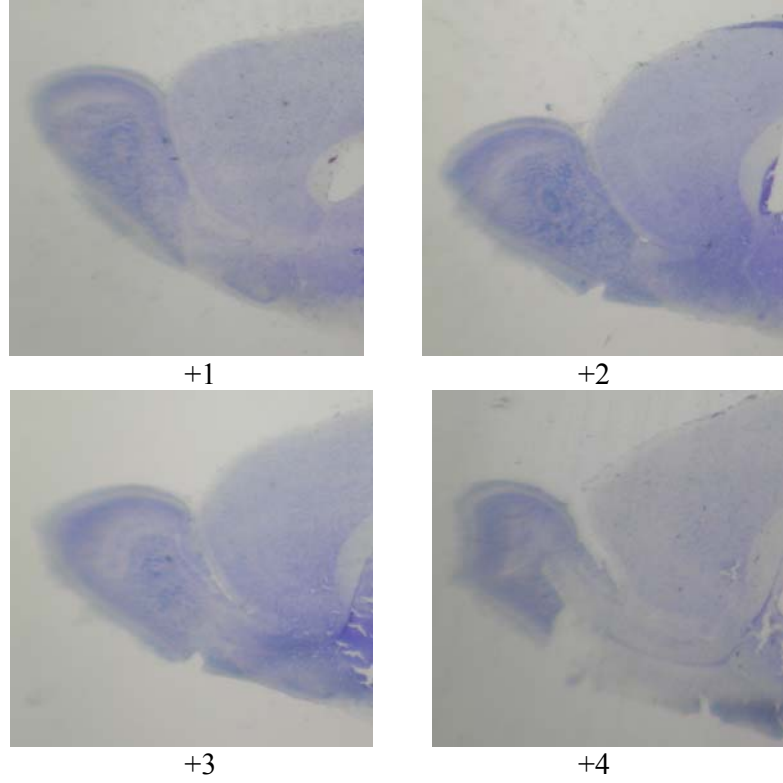
Grupların küçük büyütmeyle gösterilen 4 ve 14 gün için SVZ hasarı (Resim 3.9) ve RMS aktivitesi (Resim 3.10) yapılan immünohistokimyasal boyamalarla değerlendirildi (Resim 3.11-13). Bu resimlerle hasar sonrası çoğalan ve göç eden hücrelerin davranış biçimi daha genel bir biçimde gösterildi.

Grupların karşılaştırılması için nörogenezin en çok olduğu 14. gün büyük büyütme RMS GFAP resimleri (Resim 3.11) astrosit hakimiyetini ve aktivasyonunu gösterdi. Bu davranış 4.günde başlayan ve gittikçe azalan gliozisin zamanla dağıldığını gösterdi (Tablo 3.6). RMS içindeki hücrelerin nöron olanlarının davranışını incelemek için bir marker olan NSE araştırıldı. Nöron davranışının da astrosite benzer şekilde olduğu, hem 14.günde resimlerle (Resim 3.12) hem de artan nöron sayısının zaman bağımlı olarak azaldığı morfometrik olarak gösterildi (Tablo 3.7). SVZ hasarı sonrası artan hücre yoğunluğunun ölen hücrelerle ilişkisini anlamak için yapılan TUNEL boyamasında (Resim 3.13) 4.günde belirgin olarak gözlenen apoptozisin, yine benzer şekilde zaman bağımlı azaldığı gösterildi (Tablo 3.8).

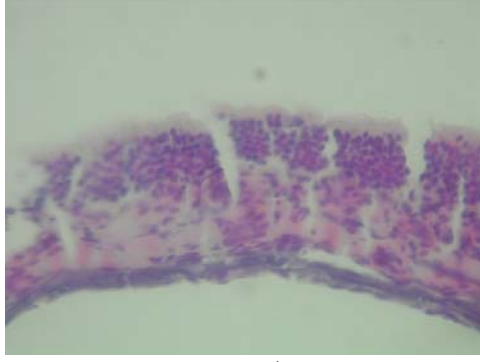
Grupların karşılaştırılması için nörogenezin en çok olduğu 14. Gün büyük büyütme OB HE (Resim 3.14, sol kolon) ve kresil violet (Resim 3.14, sağ kolon) boyama resimlerinde hücre yoğunluğunda ÇS+ gruplarda zaman bağımlı olarak artış saptanırken, bu artışın nöron düzeyinde olduğu NSE boyaması ile gösterildi (Resim 3.15, sol kolon) ve apoptozise (Resim 3.15, sağ kolon) eşlik ettiği görüldü. Hem

histolojik (Tablo 3.9) hem de immünohistokimyasal morfolometrik analizle (Tablo 3.10-11) zaman bağımlı olarak bu davranış doğrulandı.

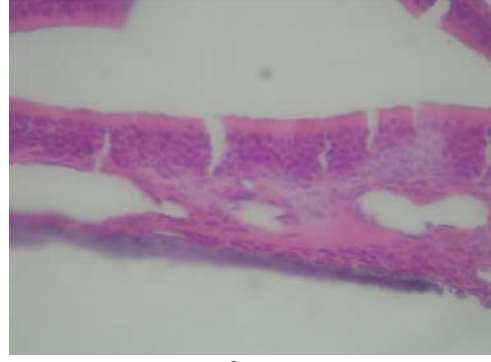
Sonuç olarak SE'un beyinde hasar sonrası SVZ'deki progenitör hücre artışı, hücrelerin OB'a doğru RMS yoluyla göçü, OB'a gelen internöronların farklandıkları görülmektedir. OE'deki hasarın bazal hücreler tarafından onarılması sonucu ÇS'in oluşturduğu değişiklikler ortadan kalkmıştır. Bu iki olayın birbirinden bağımsız meydana geldiği sonucu çıkarılmış fakat bu işlemlerdeki mekanizmalar tam olarak anlaşılmamıştır.



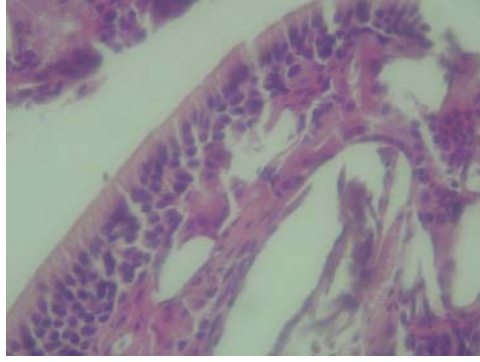
Resim 3.1. SE modelinin SVZ-RMS üzerine etkisinin 14. Gün örneklerinde histomorfometrik değerlendirilmesi. En az hasara bağlı hücre yoğunluğu +1 ile en çok hasara bağlı hücre yoğunluğu +4 için seçilen örnek Kresyl Violet (KV) görüntüleri.



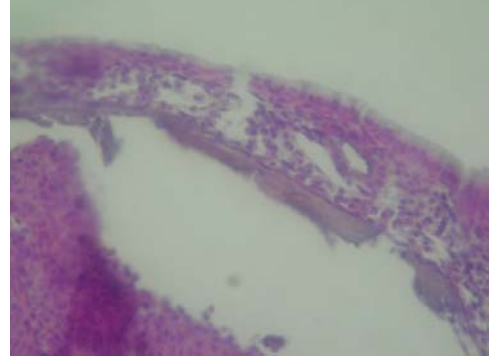
+1



+2



+3



+4

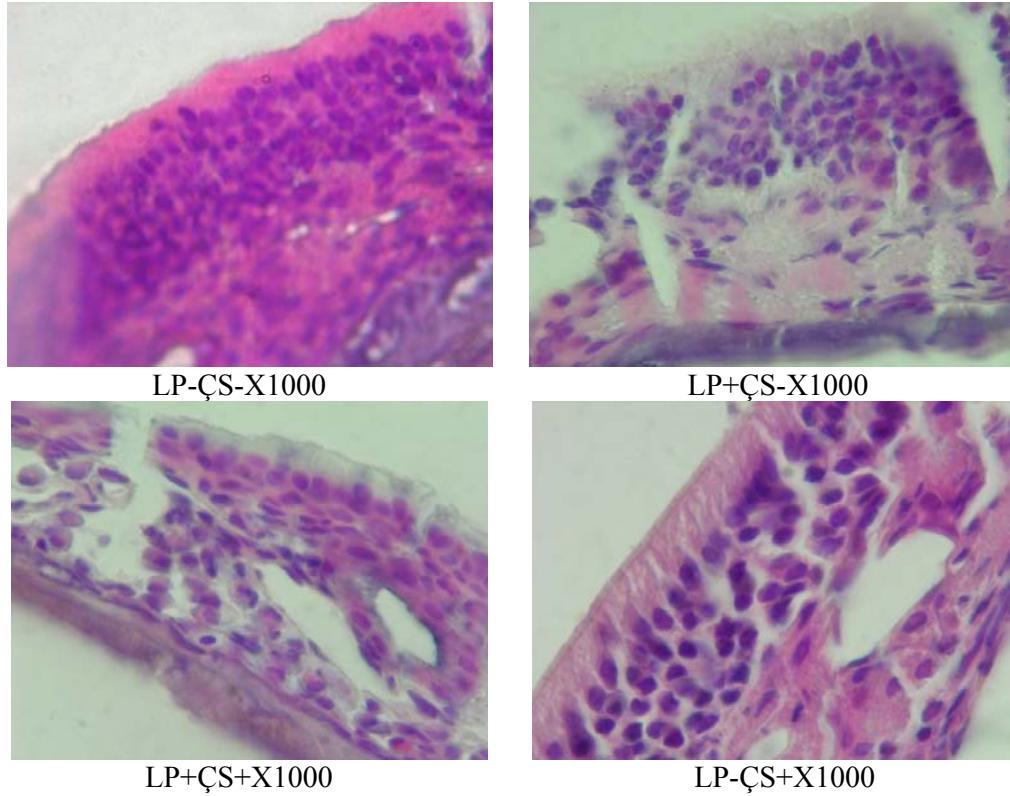
Resim 3.2. ÇS modeli ile OE hasarının 4. Gün örneklerinde histomorfometrik değerlendirilmesi. En az hasardan +1 ile en çok hasar +4 için seçilen örnek görüntüleri.

Tablo 3.1 Racine skalasına göre LP ile yapılan SE hasarı modelinde başarı değerlendirilmesi.

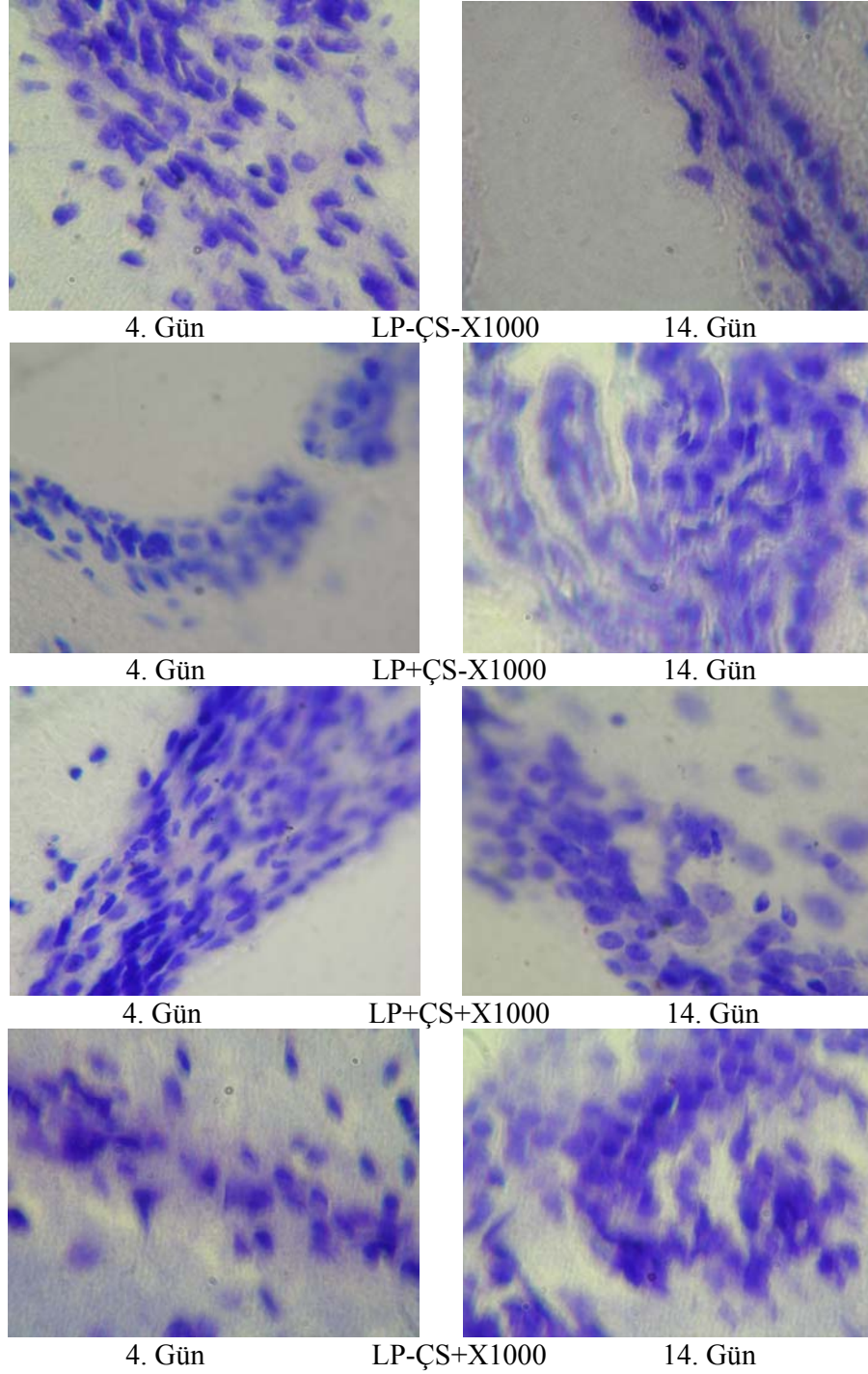
	LP-OE-	LP+OE-	LP+OE+	LP-OE+
ORT	0,25	4,56	4,75	0,35
	0,15	0,58	0,75	0,22

Tablo 3.2 Histomorfometrik yöntemle göre ÇS ile yapılan OE hasarı modelinde başarı değerlendirilmesi.

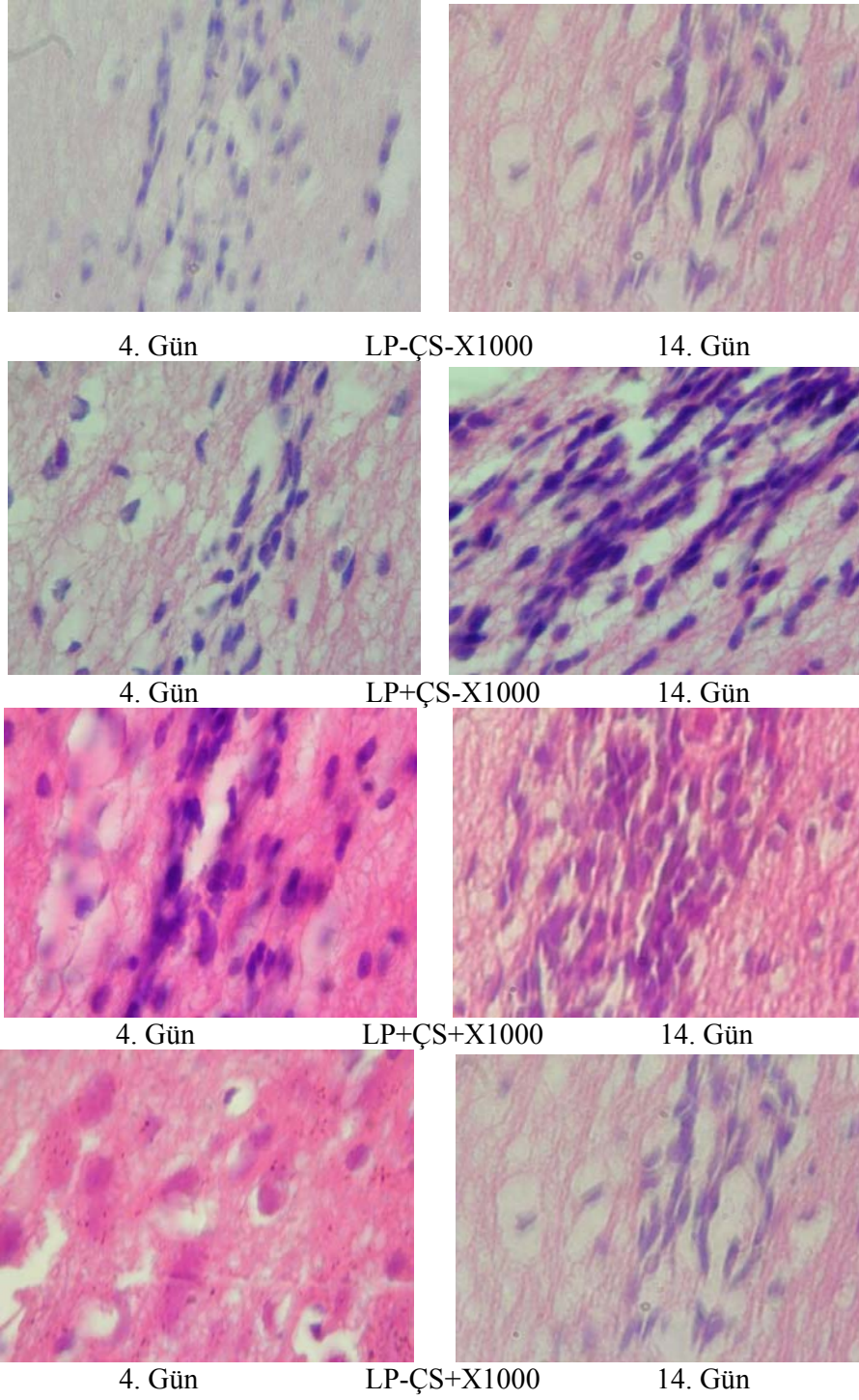
	LP-ÇS-	LP+ÇS-	LP+ÇS+	LP-ÇS+
ORT	0,28	0,36	2,25	2,30
SD	0,12	0,16	0,65	0,52



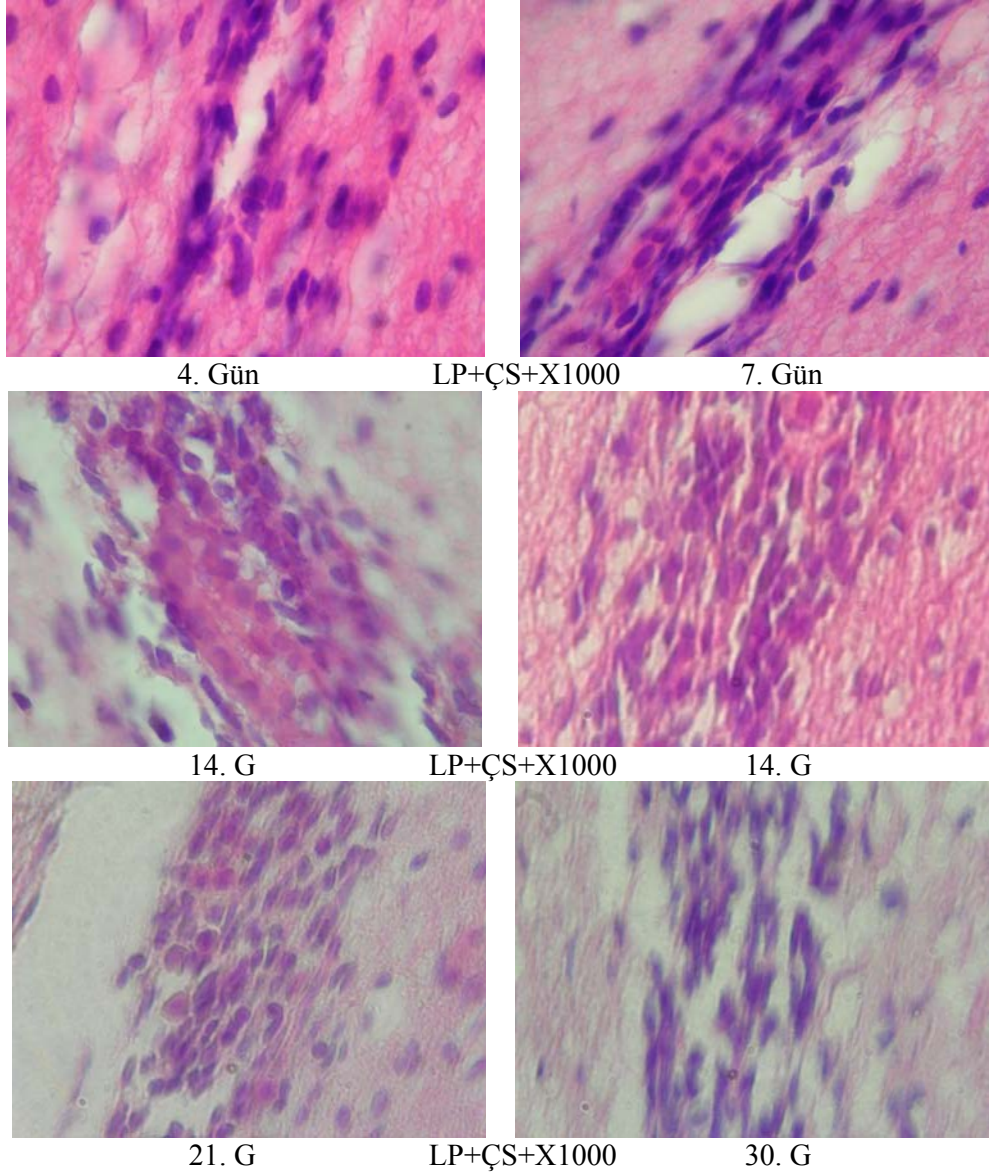
Resim 3.3 ÇS ile yapılan OE hasarı modelinde hasarın en fazla olduğu 4. Gün grupların histomorfometrik yöntemde kullanılan OE histolojik görüntüleri.



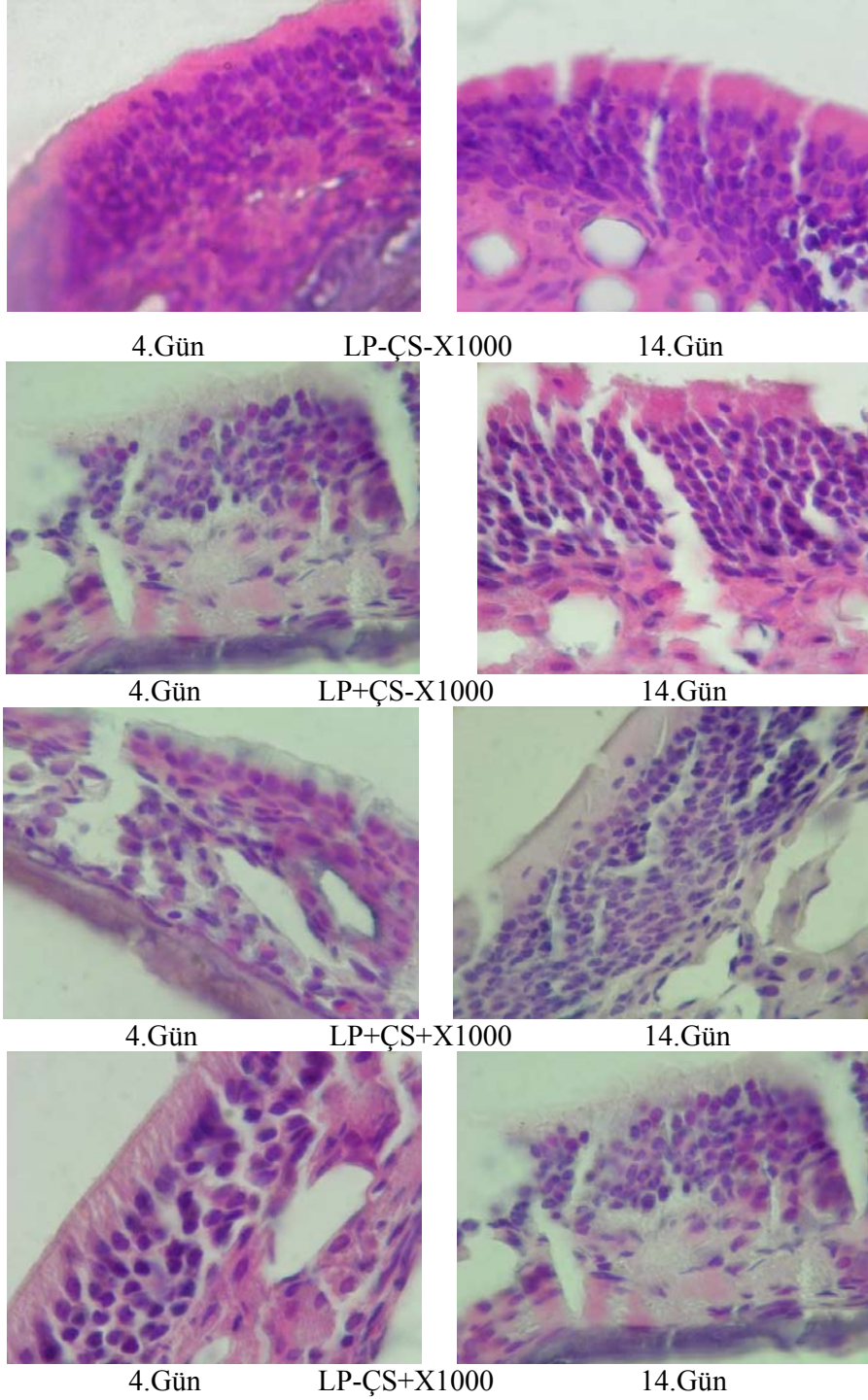
Resim 3.4 Grupların karşılaştırılması için hasarın en çok olduğu 4. Gün ile nörogenezin en çok olduğu 14. Gün büyük büyütme ile KV boyamalarında SVZ resimleri.



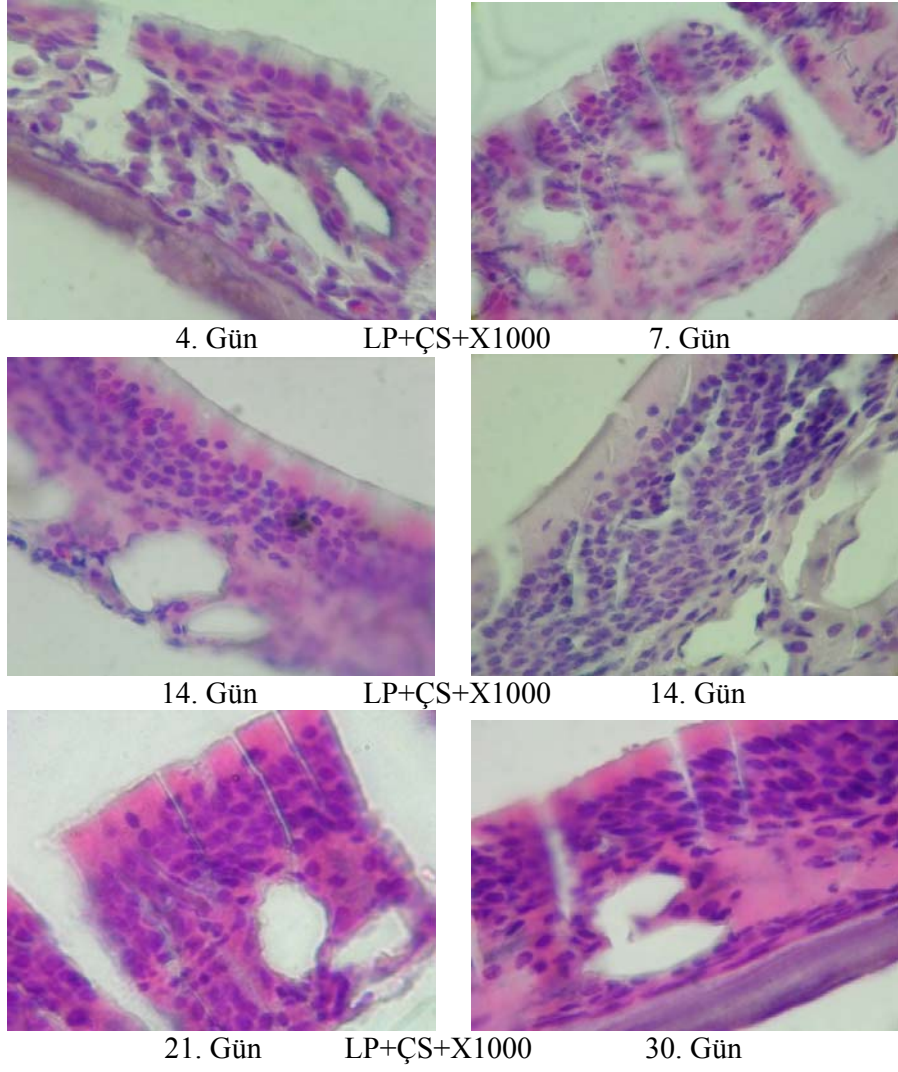
Resim 3.5 Grupların karşılaştırılması için hasarın en çok olduğu 4. Gün ile nörogenezin en çok olduğu 14. Gün büyük büyütme HE boyama RMS görüntüleri.



Resim 3.6 Günlerin karşılaştırılması için hasarı birlikte görüldüğü LP+ÇS+ grubunun 4, 7, 14, 21 ve 30. gün büyük büyütme RMS resimleri.

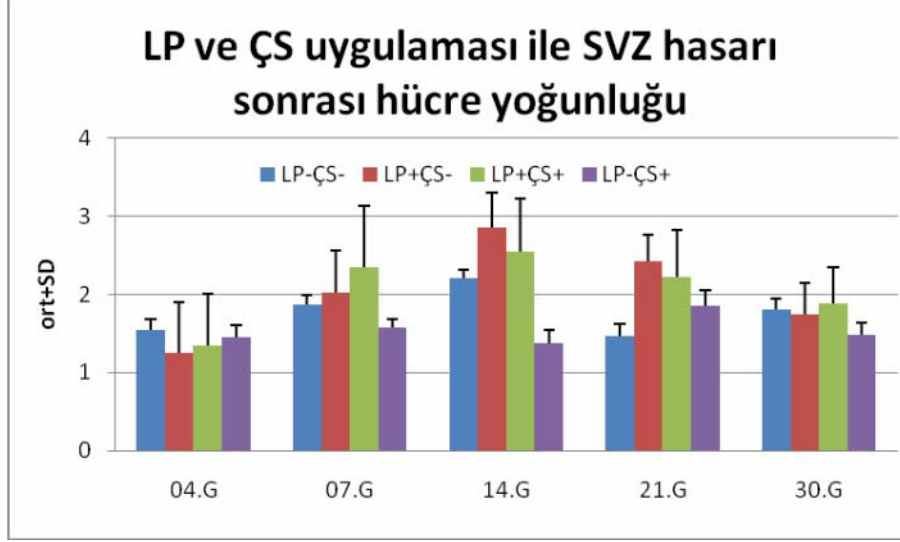


Resim 3.7 Grupların karşılaştırılması için hasarın en çok olduğu 4. Gün ile nörogenezin en çok olduğu büyük büyütme 14. Gün OE resimleri.

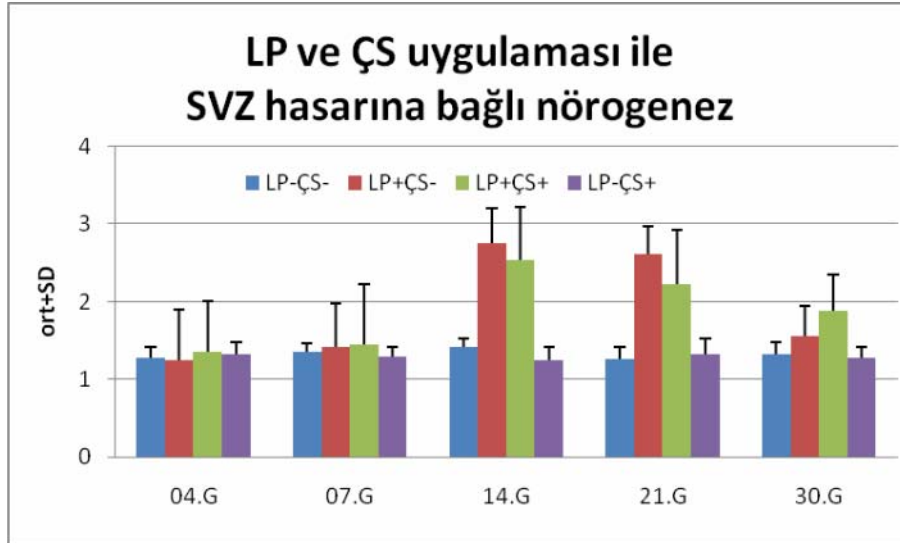


Resim 3.8 Günlerin karşılaştırılması için hasarı birlikte görüldüğü LP+ÇS+ grubunun 4, 7, 14, 21 ve 30. gün büyük büyütme OE resimleri.

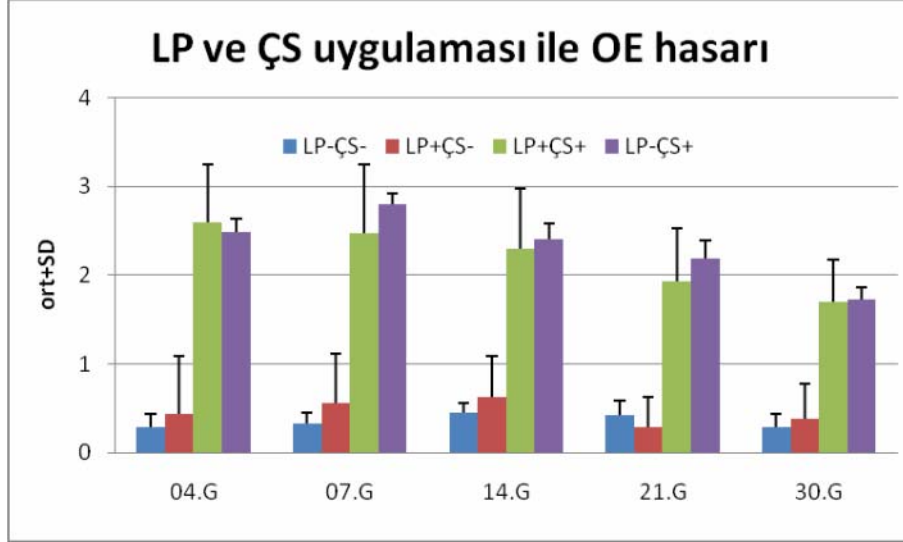
Tablo 3.3 LP ve ÇS uygulaması ile SVZ hasarına bağlı hücre yoğunluğunun histomorfometrik değerlendirilmesi.

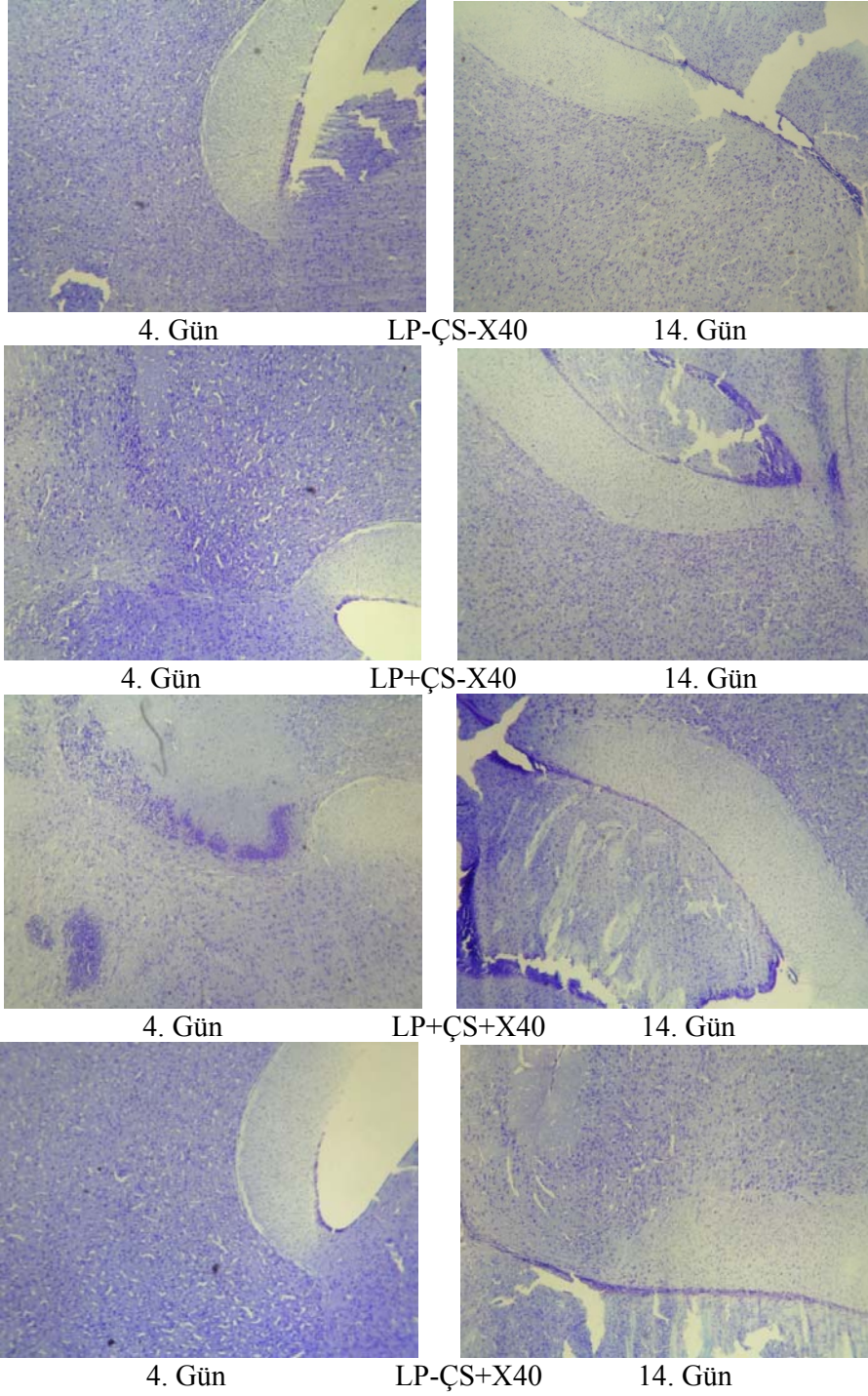


Tablo 3.4 LP ve ÇS uygulaması ile SVZ hasarına bağlı RMS hücre yoğunluğunun histomorfometrik değerlendirilmesi.

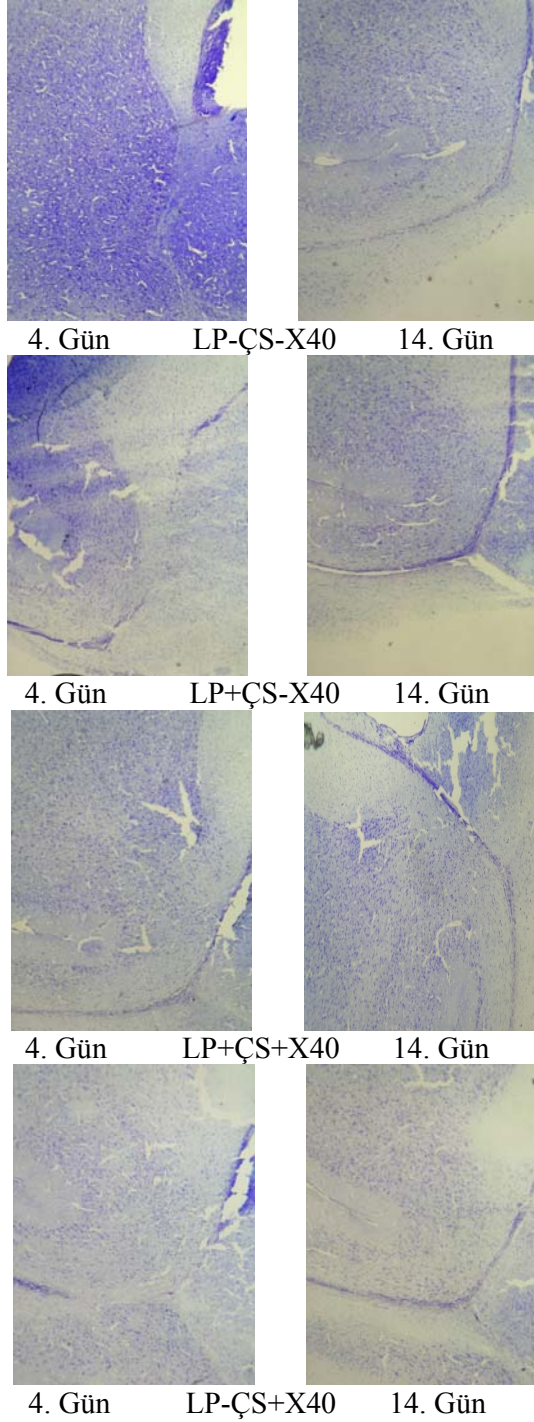


Tablo 3.5 LP ve ÇS uygulaması ile OE hasarının histomorfometrik değerlendirilmesi.

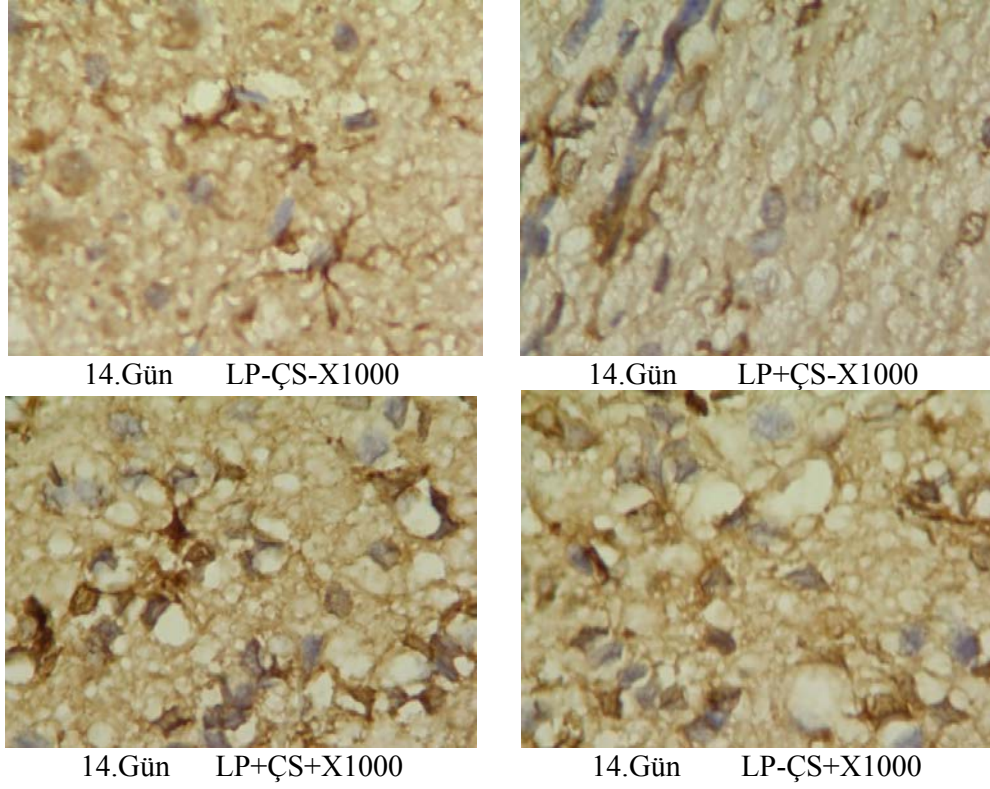




Resim 3.9 Grupların karşılaştırılması için hasarın en çok olduğu 4. Gün ile nörogenezin en çok olduğu 14. Gün büyük büyütme SVZ Kresyl Violet(KV) resimleri.

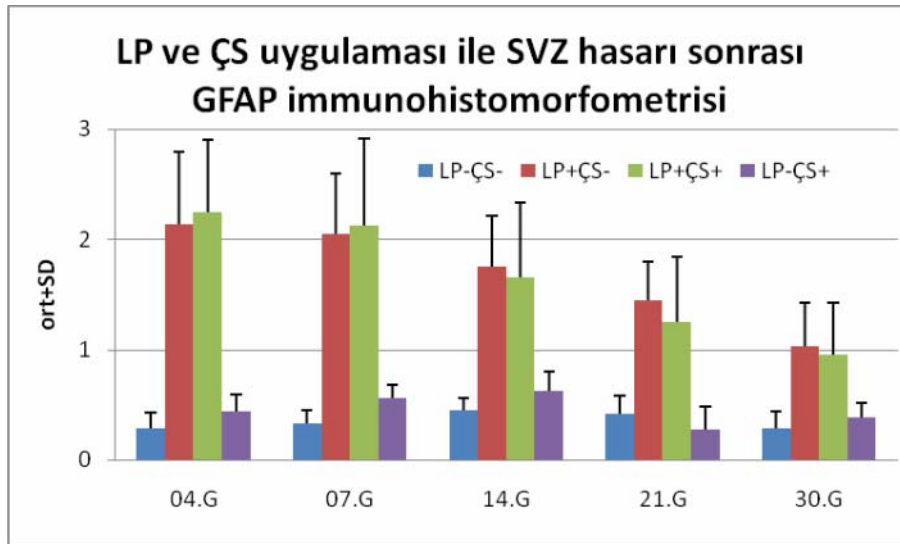


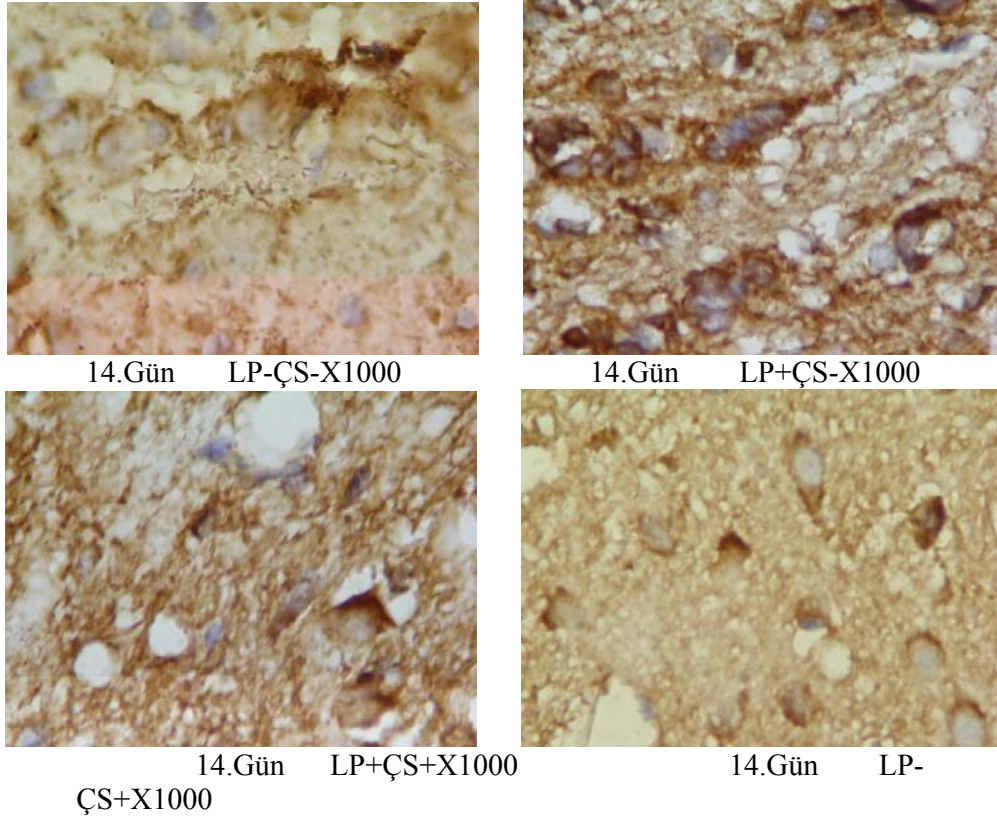
Resim 3.10 Grupların karşılaştırılması için hasarın en çok olduğu 4. Gün ile nörogenezin en çok olduğu 14. Gün büyük büyütme RMS Kresyl Violet (KV) resimleri.



Resim 3.11. Grupların karşılaştırılması için nörogenezin en çok olduğu 14. Gün büyük büyütme RMS GFAP resimleri.

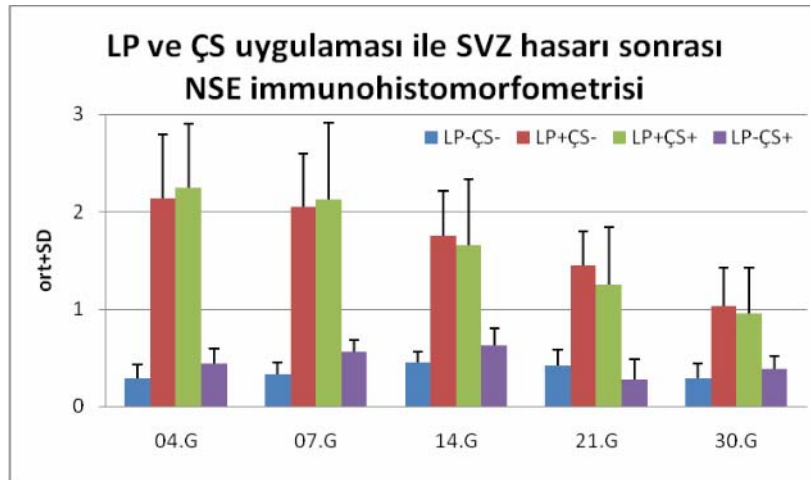
Tablo 3.6 LP ve ÇS uygulaması ile SVZ hasarının GFAP histomorfometrik değerlendirilmesi.

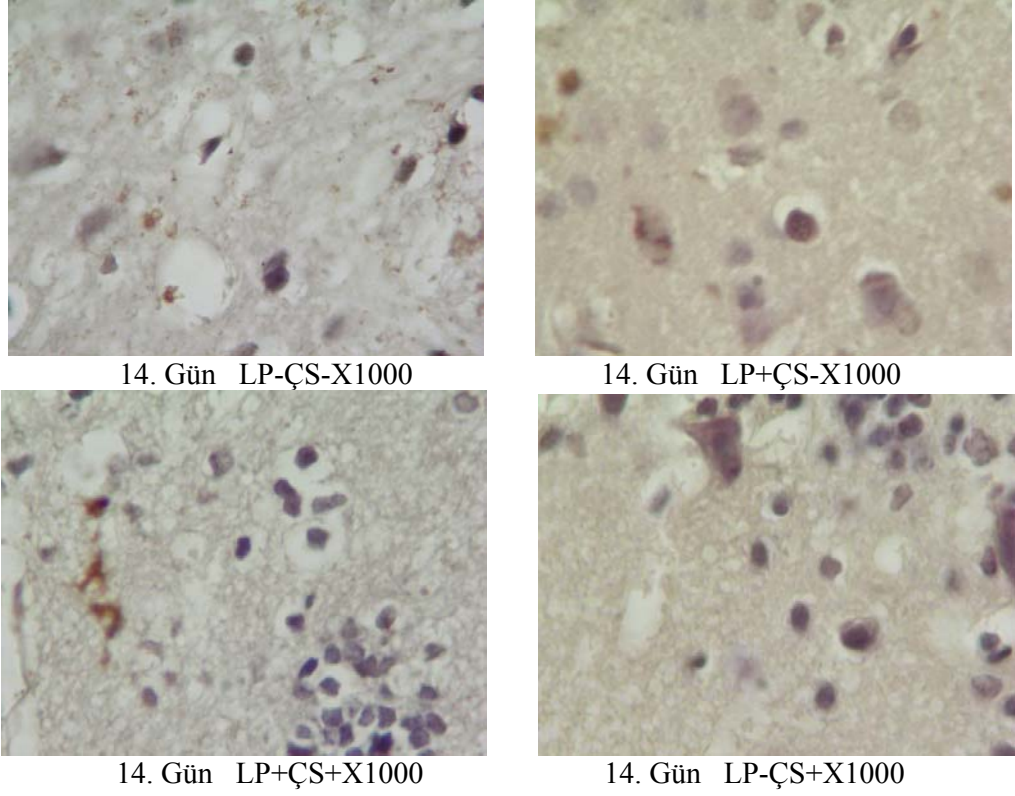




Resim 3.12. Grupların karşılaştırılması için nörojenezin en çok olduğu 14. Gün büyük büyütme RMS NSE resimleri.

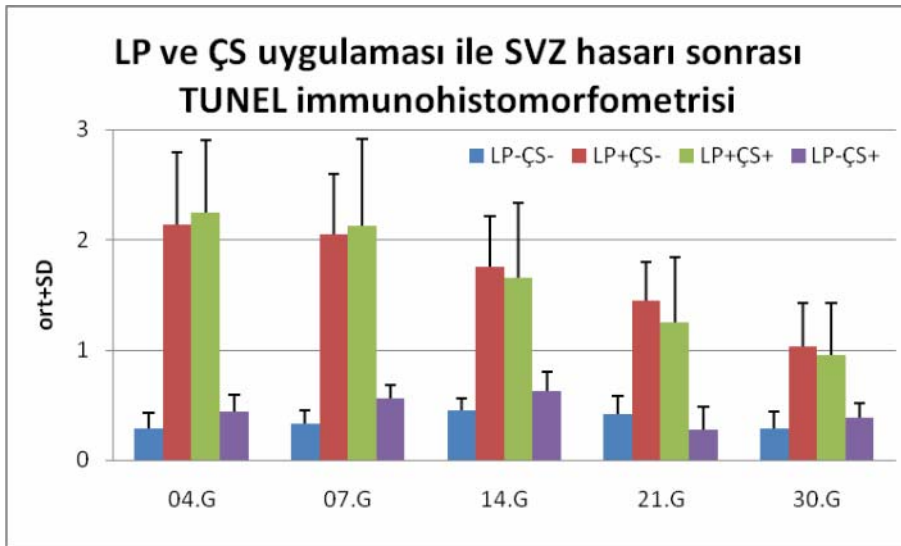
Tablo 3.7 LP ve ÇS uygulaması ile SVZ hasarının NSE histomorfometrik değerlendirilmesi.

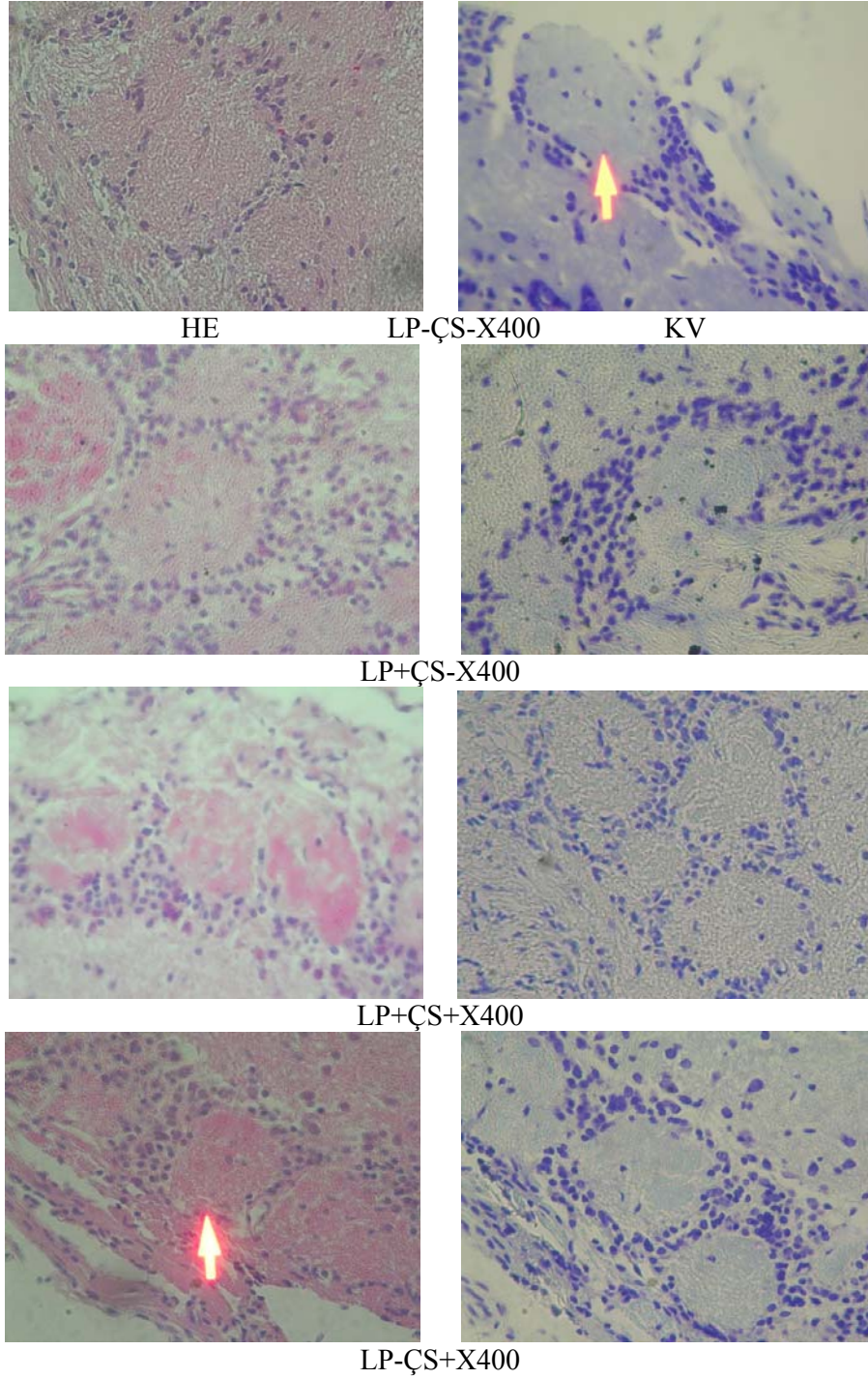




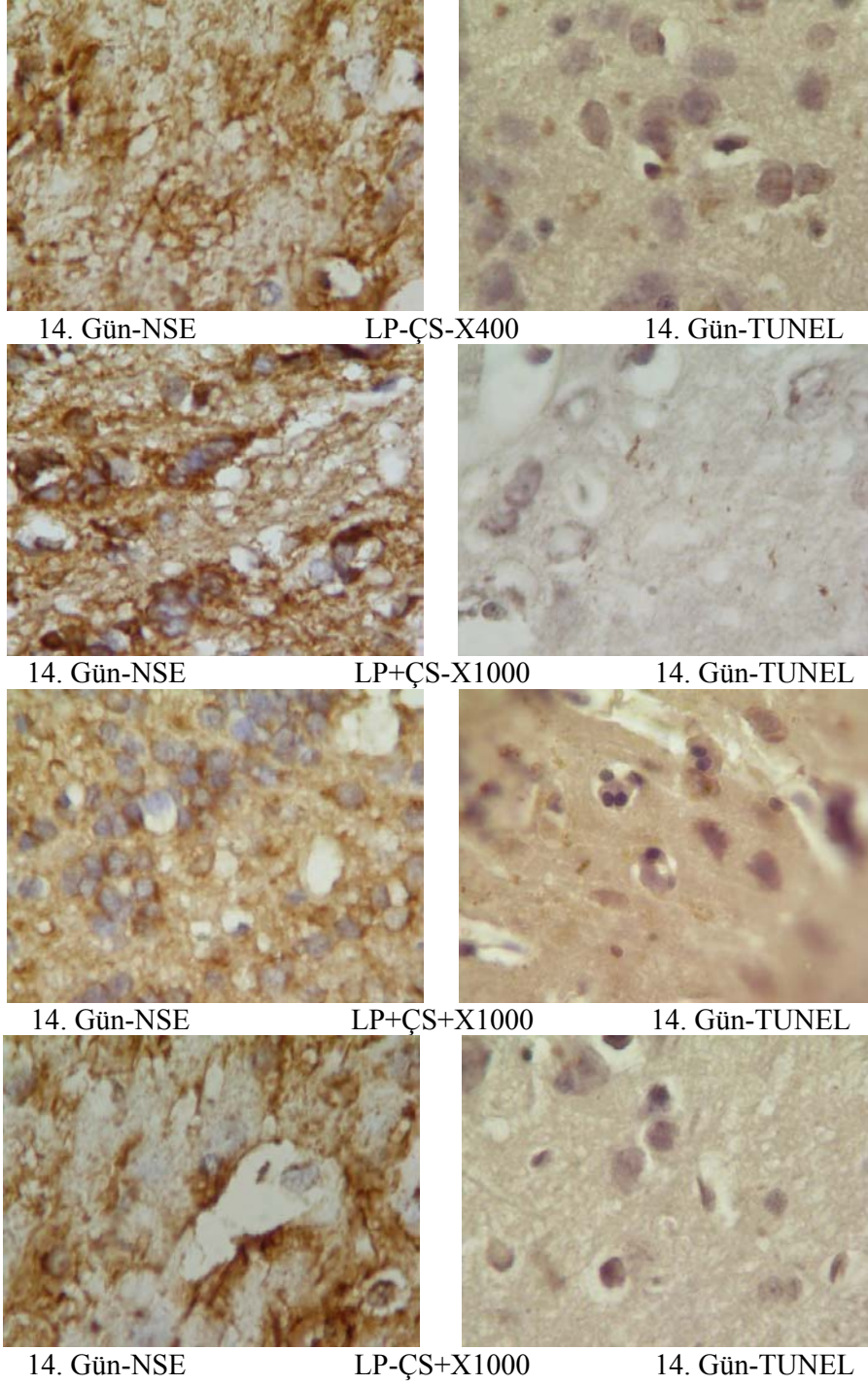
Resim 3.13. Grupların karşılaştırılması için nörojenizin en çok olduğu 14. Gün büyük büyütme RMS TUNEL resimleri.

Tablo 3.8 LP ve ÇS uygulaması ile SVZ hasarının TUNEL histomorfometrik değerlendirilmesi.



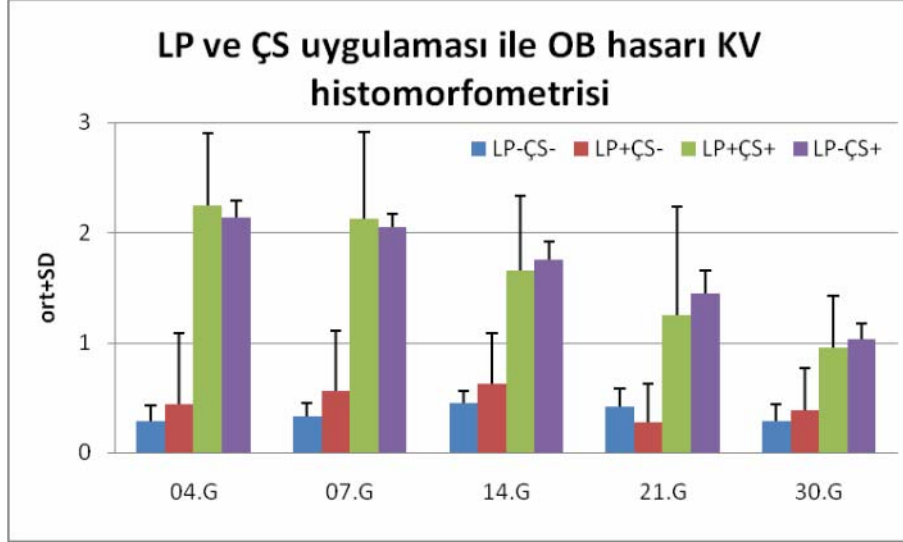


Resim 3.14. Grupların karşılaştırılması için nörogenezin en çok olduğu 14. Gün büyük büyütme OB HE ve KV boyama resimleri ile glomerül hücreler (oklar).

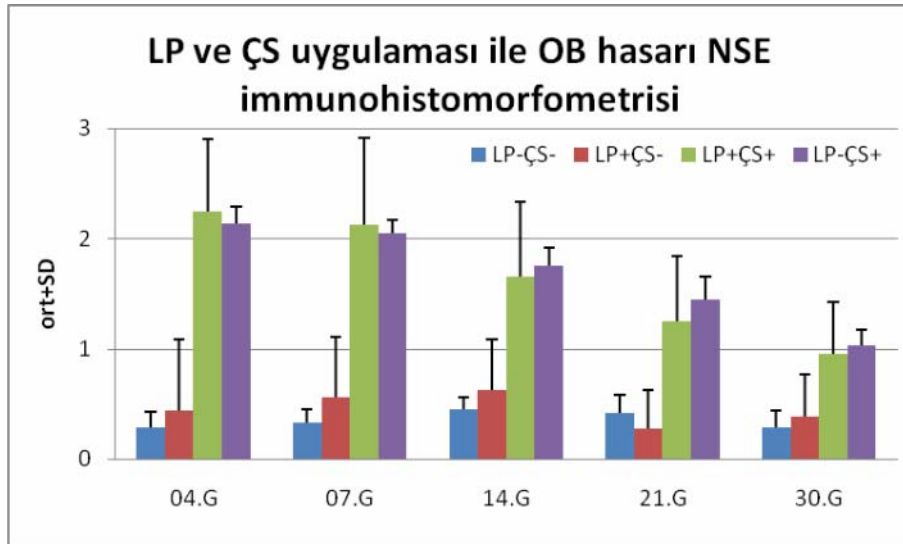


Resim 3.15 Grupların karşılaştırılması için nörogenezin en çok olduğu 14. Gün büyük büyütme OB için NSE ve TUNEL boyama resimleri.

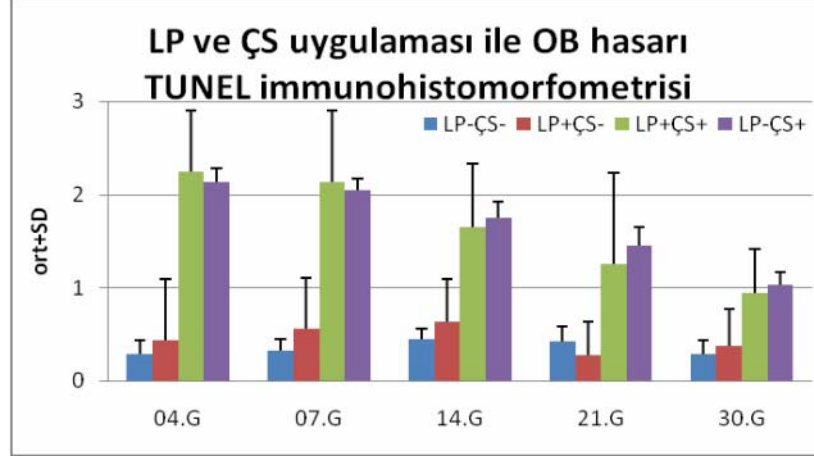
Tablo 3.9 LP ve ÇS uygulaması ile OB hasarının kresil violet(KV) histomorfometrik değerlendirilmesi.



Tablo 3.10 LP ve ÇS uygulaması ile OB hasarının NSE histomorfometrik değerlendirilmesi.



Tablo 3.11 LP ve ÇS uygulaması ile OB hasarının TUNEL histomorfometrik değerlendirilmesi.



4.TARTIŞMA VE SONUÇLAR

SVZ-OB sistemi erişkin bir organizmada yeni nöronların kökeni, göçü ve entegrasyonunu çalışmaya olanak sunmaktadır. Nöral kök hücreler gibi SVZ astrositlerini belirlemekte gelecek için merak uyandıran bir konudur [27]. Yeni teknolojilerin gelişmesi nörogenezin (yeni nöronların doğumu) erişkin memeli beyninin spesifik 2 bölgesinde (OB ve DG'un hipocampusu) devamlı olarak meydana geldiğini ve erişkin memeli beyninin çoğu bölümlerinde önemli sayıda multipotent nöral prekürsörlerin ve "kök hücrelerin"var olduğunu gösteren araştırmaların artması ile sonuçlanmıştır. Prekürsör hücre biyolojisinin yükselişi merkezi sinir sistemi hasarının tedavisinde, nöral transplantasyon ve hücre sel yenileme stratejilerini göz önünde tutmayı sağlamıştır. 'Yeni nöron yapma' fikri nörodejeneratif hastalıklar ya da kronik nörolojik ve psikiyatrik hastalıklar ile ilgili seçici nöron kaybı için oldukça çekicidir. Nöral prekürsör biyolojisinin ilk hedefi, bölgesel olarak sınırlı nörogenezin nasıl oluştuğu ve nöral prekürsörleri nasıl yönlendirdiklerini öğrenmektir. Uygun moleküler kontrollerin açıklanması hem transplant prekürsör hücreler üzerindeki kontrolüne, hem de endogenez hücrelerinin iyileşmesine bağlı olan nöronal yenileme terapilerinin gelişimine izin verir [10, 12, 23, 31, 61, 88, 91].

Erişkin memeli beyninde nörojenik alanların DG, SVZ/OB olduğu, beynin kalanının non-nörojenik olarak tanımlandığı görüşü mevcuttur. Geçmiş 10 yılda bilinen 'nörojenik' bölgelerdeki erişkin nörogenezinin hasar tarafından uyarılabileceğini öne süren sayısız raporlar sunulmuştur. Lezyonlar, iskemi ya da krizlerle meydana gelen hipokampus hasarı DG ve OB'daki yeni doğan nöronların sayısını arttırır. Bu erişkin nörogenezinin kemirgen DG'da yüksek düzeylerde bildirildiği ve OB'da maksimum olmadığını ve belli koşullar altında nöron üretim oranının büyük ölçüde artabileceğini göstermektedir. Erişkin nörogenezinin hasarı izleyen beyin bölgelerinde bildirilmesi, diğer beyin bölgelerinde de benzerlik olduğunu gösterir. İskeminin yanı sıra nöronların selektif lezyonunun bir sonucu olarak kemirgen neokorteksinde hasar tarafından indüklenen nörogenezin bulguları mevcuttur. Benzer bulgular; iskemi, büyüme faktör infüzyonu ya da farmakolojik

manipulasyonlar gibi deneysel manipulasyonun nöron üretimine neden olduğu striatum, amygdala, hipotalamus ve substantia nigra'yı içeren diğer beyin bölgeleri için de bildirilmektedir. Hasar ile indüklenen nörogenez normal olarak bu işlemi destekleme yeteneği olmayan erişkin nörogenezinin ılımlı bir artışı mıdır, yoksa beyin bölgelerindeki nörogenez için saklı potansiyelin bir uyanışı mıdır? Bu konuyu mevcut tekniklerle yeniden çözmek zor olabilir, çünkü erişkin nörogenezinin düzeyinin göreceli olarak yüksek olduğu durumlarda BrdU ve NeuN double işaretli hücrelerin varlığını gösteren hassas olmayan metotlar küçük hücrelerin daha küçük sayılarını tanımlama yeteneğinde olmayabilir. Nörogenezin indüklü olduğu bazı durumlarda sağlam beyin bölgelerinde meydana gelen nörogenezin örneklerinin olduğu ya da hafif hasar indüklü nörogenezi oluşturduğunu değerlendirmek zor olduğu zaman erişkin nörogenezinin kanıtı kontrollerden de çıkarılabilir [92, 93].

Erişkin beyinden nöral progenitörler ve kök hücrelerinin izolasyonu ve kültürü, MSS'de uygulanabilecek hücresel terapiler için yeni imkanlar sunmaktadır. Yapılan çalışmalar MSS ile ilgili bilgilerimizi tekrardan tanımlamamıza katkıda bulunur ve uygulanabilecek terapiler için daha fazla sayıda kök hücre araştırmaları yapılması sağlamaktadır [61]. Sinir sistemindeki nöronların ölümünü düzenleyen hücresel ve moleküler yollar ve gelişen beyinde kriz sonrası kompleks olan yeniden düzenleme işlemi ile ilgili bilgilerimiz daha çok erken safhalardadır [94].

OB'daki nörogenez biyolojik olayların bir serisi olan LV'ün periventriküler bölgesinde nöral kök hücrelerinin çoğalması, RMS boyunca göç etmeleri ve nöronlara farklılaşmalarının bir sonucu olarak meydana gelmektedir. Fukushima ve arkadaşları, nöronal farklılaşmanın RMS içinde ve glial farklılaşmanın erişkin OB'ında sürekli olarak meydana geldiğini göstermişlerdir [7].

Kirschenbaum ve ark. tarafından yapılan çalışmada RMS'deki hücre göçü ve bölünmesinin OB'a bağlı olmadığı bulbektomi yapılan farelerde gösterilmektedir. OB'ın SVZ prekürsörlerinin devamlı üretimi ve göçü için gerekli olmadığı da ispat edilmiştir [95]. Biz de çalışmamızda OB hasarı olup olmasının,SVZ ve RMS deki hücre proliferasyonunu etkilemediğini gösterdik.

Temporal lobdan kaynaklanan kompleks parsiyel nöbetler, insanlar arasında en sık görülen nöbet tiplerindedir. TLE hastalarda kişilik bozuklukları, bilinçsel ve

davranışsal bozuklukların insidansı oldukça yüksektir. Bu bulgular TLE geçiren kişilerde ortaya çıkan nöronal kayıplarla bağlantılıdır. Nöbetlerin oluşmasında büyük oranda hipokampus ve temporal lobun diğer yapılarında ortaya çıkan nöronal kayıplar ve gliosis sorumlu tutulmaktadır [72, 76, 84]. Hayvanlarda temporal lob epilepsisini taklit eden deneysel epilepsi modelleri geliştirilmiştir. Bunlar bir tanesi kainik asit (KA) ile oluşturulan deneysel epilepsi modelidir. Bu limbik sistemde epileptik deşarjların gelişimi, yayılması ve patolojik süreçlerini değerlendirilmesi için uygun bir modeldir. KA'in yüksek dozda intraperitoneal yolla sistemik veya intraserebral uygulanması ciddi nöbetlere ve beyin hasarına yol açmaktadır. Bununla birlikte bu modelde kendiliğinden tekrarlayıcı nöbetler düşük oranda olduğu ve sıklıkla 45-60 günde kaybolduğu bildirilmiştir. Kendiliğinden tekrarlayıcı nöbetler status epileptikus (SE)'u takiben görülen ve kendiliğinden ortaya çıkan tekrarlayıcı nöbetlerdir. Etkin ve letal dozlarını birbirine yakın oluşuda KA modeli için bir dezavantaj oluşturmaktadır [72, 76].

Diğer bir kompleks parsiyel epilepsi modeli olan tutuşma modelinde ise kendiliğinden tekrarlayıcı nöbetler oldukça nadir görülmekte ve nöropatolojik hasar saptanmamaktadır. Tetanus toksininin hipokampusa mikroenjeksiyonu ile kronik/semikronik limbik epilepsi oluşabilmekte ancak ışık mikroskopuyla nöronal hasar saptanmamaktadır. Elektriksel stimülasyonla oluşturulan limbik epilepsi modelinde ise SE ve kendiliğinden tekrarlayıcı nöbetler uygulanan sıçanların yalnızca %50'sinde oluşmaktadır [72, 76].

Yüksek doz pilokarpin veya LP uygulanmasıyla oluşturulan kolinerjik nöbetler diğer bir limbik nöbet modelidir. LP ile oluşturulan deneysel epilepsi modeli, nöropatolojik hasar açısından insan TLE ile uyumludur. Bundan başka kendiliğinden tekrarlayıcı nöbetlerin sürekliliği ve çeşitli antikonvulsanlara dirençli olması nedeniyle insan TLE'i iyi taklit etmektedir. Diğer limbik epilepsi modellerine göre, nöbetler ve mortalite arasında geniş güvenlik aralığının bulunması bu modelin limbik epilepsi yöntemi olarak tercih edilmesinin en önemli nedenidir [72, 76]. Çalışmamızda deneysel limbik epilepsi oluşturmak için LP modeli yukarıda açıklanan nedenlerden dolayı tercih edilmiştir. LP yönteminde daha önceki çalışmalarda 30 mg/kg PC kullanılmış olmasına rağmen bu dozun SE oluşturmak

için yeterli bir oran olmadığı yapılan ön çalışmalardan anlaşılmıştır. Bu sonuç türler ve bireyler arasındaki farklılıklardan ve beyindeki reseptör yoğunluğu veya bazı enzim düzeylerindeki farklılıktan kaynaklanabilir.

Çeşitli çalışmalarda lityum klorür uygulandıktan 24 saat sonra 30 mg/kg pilokarpin enjeksiyonunun Sprague-Dawley türü sıçanlarda % 100 oranında generalize konvulziv SE'a neden olduğu ve genellikle ölüme sonuçlandığı - bildirilmektedir. Bununla birlikte, Wistar türü sıçanlarda yapılan bir çalışmada, Lityum sonrasında 30 mg/kg pilokarpin ile SE'e girmeyen sıçanlara ikinci bir doz 30mg/kg verildiği bildirilmektedir. Bu ikinci dozdan sonra bu türdeki sıçanlarda SE girme oranı Sprague-Dawley türü sıçanlara eşitlenmiştir. Sıçan türleri arasında görülen bu farklılık, beyinde muskarinik reseptör yoğunluğu veya kolin asetiltransferaz düzeylerindeki farklılıktan kaynaklanabilir [72, 76]. Erişkin memeli önbeyin SVZ'de kriz tetikli nörogenezin oluşması, SE'un SVZ nöroblastlarının çoğalmasını ve göçünü değiştiren mekanizmalarla ilgili sorular akla getirmektedir. Bu konular erişkin sıçan SVZ ve DGdaki endogenez nöronal prekürsörlerinin beyin hasarı oluşturan diğer durumlarda da aktif olduğunu kanıtlamada önemlidir. Normal ve hasta bölgelerdeki nöral kök hücrelerinin düzenlenmesini anlamamız olgun beyindeki değişen nörogenez ve gliogeneze ışık tutacaktır. Nöral kök hücre çoğalması, hücre göçü ve farklılaşmasını yönetme yeteneği epilepsi ve diğer beyin hastalıkları için yeni terapiler geliştirilmesine olanak sağlar [60].

İlk olarak 1912'de, sonradan 1932, 1938 ve 1944'te postnatal ve erişkin kemirgen beynindeki mitoz bölünmeleri inceleyen sitolojik araştırmalar mitotik olarak aktif SVZ'i açığa çıkarmaktadır. Fakat burada çoğalan bu hücreler anlaşılammış, embriyonik dönemde üretilen SVZ'deki çoğu hücrenin nöronlara farklılandığı düşünülmüştür. Çalışmalar gelişen immünohistokimyasal tekniklerin SVZ'nin daha kesin belirlenmesine izin verene kadar ilerlememiştir [24, 65].

Parent, erişkin sıçan önbeyin SVZ'deki hücre artışı üzerine uzun süreli krizlerin etkisini incelemiştir. Kontrollerle yapılan karşılaştırmalarda pilokarpin muamelesinden 7 gün sonra SVZ'nin rostral düzeylerinde önemli derecede artış olduğu bildirilmiştir. SE'dan sonraki 4. ve 14. gündeki artış daha küçük boyutlarda olduğu ancak büyüklüğün değişkenliği ve tüm hayvanlarda artış görülmediği

saptanmıştır. SE'un SVZ nöroblast popülasyonunu genişlettiği ve erişkin sıçan önbeyindeki nöron öncüllerinin göçünü değiştirdiği sonucuna varılmıştır. Kriz teşvikli hasara nöral progenitörlerin ya da endogenez nöral öncül hücrelerinin verdiği temel yanıt mekanizmaları kullanılarak beyin rejeneratif terapilerinin gelişmesine yardımcı olunabilir [3]. Bizim çalışmamızda da SE sonrası 4. günde başlayan ve 14. günde daha belirgin hale gelen proliferasyon artışı ile belirginleşen RMS, 30. günde kontrol grubu ile uyumlu bir görünüm sergilemektedir. Çok belirgin olmasa da, kontrol grubunda RMS varlığı görülmekte ve SVZ hücre proliferasyonunun bazal seviyede sürekli devam eden bir süreç olduğunu göstermektedir.

Erişkin kemirgen ve primatlardaki deneysel epilepsi krizi, ön beyin SVZ ve hipokampal DG germinatif tabakalarında nörojenezi arttırmaktadır [31]. Çalışmamızda PC ile oluşturulan SE'un, rostral SVZ'deki çoğalan hücre sayısını arttırdığı saptanmıştır. Elde edilen sonucun daha önceden yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu belirlenmiştir.

Nöronal hücre kaybı epilepsi etyolojisinde en önemli sebepler arasındadır. Bu durum başlıca kafa travması, nörodejeneratif hastalıklar, beyin iskemisi, epilepsi ve SE sonucu oluşmaktadır. SE'a bağlı nöron kaybında apoptozis önemli rol oynamaktadır. SE'de beyin hasarından sorumlu mekanizma tam olarak bilinmemekle birlikte major eksitator aminoasit olan glutamatın aşırı miktarda salınmasının rol oynadığı düşünülmektedir. Maricilia ve ark., 2004 yılında yaptıkları çalışmada LP ile oluşturdukları SE'a hipokampustan aşırı miktarda glutamat salındığını göstermişlerdir [76].

SVZ'nin hasar ile indüklenen aktivasyonunun mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Fakat çeşitli beyin hasarlarının diferansiyel olarak SVZ'i etkilediği ve beyin travmasından sonraki durum için olduğu gibi, artan hücre proliferasyonunun SVZ'de bir yıl boyunca devam edebileceği bilinmektedir [4, 10, 23, 91].

Chu ve ark. intravenöz olarak transplante edilen insan nöral kök hücrelerinin spontan yinelenen krizleri bastırabileceğinin kanıtını sunmaktadırlar [70]. Sinir bilimindeki son veriler erişkin MSS nin yeni nöronları, astrositleri ve oligodendrositleri üretme yeteneğine sahip olan nöral progenitörleri, prekürsörleri ve kök hücreleri içerdiği göstermiştir [19].

Rejenerasyon amacı ile yapılan ve kök hücre tedavilerinin uygulandığı hayvan çalışmalarının sonucunda omurilik yaralanmasında insana transplante edilecek ideal hücrenin aslında ne olduğun tam olarak bilinmemekte, ancak güçlü kanıtların bölge spesifik nöral progenitor kök hücrelerin olması gerektiği düşünülmektedir. Bu hayvan çalışmalarının klinik çalışmaları çoğunun başlamamış, başlayanların çoğunun sonucu henüz alınmamıştır [50].

Son zamanlarda hücre transplantasyonu ya da gen transfer stratejileri epilepsinin baskılanması için nöral hücre hattı, mouse hipokampal hücreleri, fetal nöral hücreler, adenozin serbestleyici hücreler, GABA üretici hücreler veya glanin salgılayan adeno-viral vektörler vb. uygulanmaktadır. Nöral kök hücreler ayrı nöral hücreleri yerine koyma ve fonksiyonel yaraları iyileştirme yeteneğine sahiptir. Nöral kök hücre transplantasyonunun uygulanması çeşitli nörolojik hastalık modelleri, inme, lizozomal hastalık, Parkinson hastalığı ve MS'de rapor edilmiştir. Nöral kök hücreler kendilerini yenileme ve astrositler, oligodendrositler veya nöronların bazı fenotiplerine farklılaşma yeteneği olan olgunlaşmamış hücrelerdir. Sonuç olarak farklılaşan prekürsör hücreler GABA immünoreaktiflidir. Bununla birlikte nöral kök hücre transplantasyonunun epileptik krizleri azaltıp azaltmadığı bilinmemektedir. Mevcut çalışmalar intravenöz olarak transplantasyonu yapılan insan nöral kök hücrelerinin spontan yenilenen krizleri bastırabileceğinin kanıtını sağlar [70].

Alzheimer, Parkinson, Huntington hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların yanı sıra inme, farklı beyin alanlarındaki kemospesifik nöronların geri dönüşümsüz kaybı olarak tanımlanır [96]. Alzheimer hastalığında artan nörogenezin son raporları bulunmaktadır. Huntington hastalığının beyinde artan hücre proliferasyonu sonucu nörogenezin olduğu bildirilmiştir. Parkinson hastalığında ise nörogenezde bir düşüş saptanmaktadır [10, 23, 96]. Erişkin beynin yeni nöron üretimi, diferansiyasyonu, göçü, olgunlaşması ve entegrasyonunun farklı işlemlerini yöneten moleküler ve hücresel mekanizmaların daha iyi anlaşılmasının hücre transplantasyonu için yeni stratejiler geliştirmeye katkıda bulunması için, erişkin nörogenezinden beklentiler daha çok artmıştır.

Olfaktör sistem; düzenli bir tabakalanma göstermesinden ötürü, nörotransmitter ve nörokimyasal maddeler bakımından zengin olması sonucu

nörokimyasal fenotiplerin ekspresyonunu incelemenin uygun olması, reseptör hücrelerin sabit olması ve ömür boyu işlev görmesinden dolayı sistemin dinamik organizasyonda kalması gibi nedenlerden ötürü çalışmalarında kullanılması uygun bir sistemdir [27].

Olfaktör sistemin gelişimini anlamak için 1870'den beri oldukça yoğun araştırmalar yapılmıştır [34]. OE'de farklı üç hücre tipi bulunur. Her bir hücre tipi ile ilgili, literatürde çok sayıda histolojik immunohistokimyasal ve biyokimyasal çalışma vardır. Yapısal düzeydeki araştırmalarda daha çok yerleşim, ince yapı, çeşitli kimyasalların etkileri, büyüme faktörleri ve reseptörleri üzerinde durulmuştur [37].

OE içinde sürekli olarak bölünen nöral progenitör hücre popülasyonu olan GBC bulunmaktadır. Anatomik, biyokimyasal ve elektrofizyolojik çalışmalar GBC'lerin neslinin ORN'lere farklandığını, OB'a aksonlarını gönderdiğini, mukozal astar vasıtasıyla dendritik süreci uzattığını ve sonunda olgun ORN'lerin kimyasal ve fizyolojik özelliklerini gösterdiğini açık bir şekilde belirtir. ORN nörogenezi normalde hasarsız OE'de sürekli olarak meydana gelmesine rağmen OE, ORN aksonları veya OB'ın fiziksel veya kimyasal hasarı nörogenez oranını büyük oranda artırır. Koku-hedefli davranışın düzenlenmesinin kimyasal ya da cerrahi yıkımı izleyen ORN nörogenezine eşlik ettiğini destekleyen birkaç davranışsal çalışmanın sonucu ile birlikte bu veriler ORN rejenerasyonunun MSS'e sağlam ve fonksiyonel olarak anlamlı olfaktör girdiyle sonuçlandığını göstermektedir [97].

Ferron ve ark. yeni biyopsi teknikleri uygulayarak, OE'nin yerleşimini ve duyu hücrelerini immünohistokimyasal ve ince yapı düzeyinde incelemişlerdir. Olfaktör mukozanın, nazal septumun arka sırt bölgesinde ve üst konkalar üzerinde daha belirgin olduğunu ayrıca her iki septumun ve konkaların ön bölümlerinde de varlığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar nöral farklanmayı gözlemlenmede nörodejeneratif hastalıkların ve olfaktör işlev bozukluklarının değerlendirilmesinde olfaktör mukozanın uygun doku olduğu sonucuna varmışlardır [37].

Pixley ve Farbman 1997'de monoklonal bir antikor kullanarak, destek hücrelerini incelemişlerdir. Bu antikor OE'de yalnızca destek hücreleri ile immünoreaksiyon verdiğini, duyu ve bazal hücrelerin bu antikora karşı duyarsız

olduğunu saptamış ve buna ek olarak destek ve duyu hücrelerinin çok yakın ilişkide olduğunu, aralarında metabolik madde alışverişi olduğunu da göstermişlerdir [37].

Fiziksel yada kimyasal olarak elde edilen deneysel hasar indüklü memeli OE'i, ORN'lerin dejenerasyon ve rejenerasyonunun anatomik, biyokimyasal, fizyolojik ve davranışsal sonuçları geniş ölçüde çalışmalarda kullanılmıştır [97]. Olfaktör epitelin hasar sonrası rejenerasyonunu göstermek amaçlı yapılan çalışmalarda toksin ajan olarak metilbromid'in kullanıldığı pek çok çalışma olmasına karşın ÇS ile yapılan çalışmaların sayısı birkaç tane ile sınırlıdır [37].

1996 'da *Goldstein ve ark.* açık/yuvarlak bazal hücrelerin özellikleri araştırılmıştır. Metilbromid ile epitelde hasar oluşturulduktan sonra açık, yuvarlak bazal hücrelere özel GBC-1 (Globose Basal Cell-1) antikoru ve mitozu belirleyen bromodeoksiüridin uygulanmıştır. Antikoru açık/yuvarlak hücreler ile birlikte koyu/yatay bazal hücreleri, destek ve duyu hücrelerini ve Bowman bezi hücrelerini de pozitif boyadığı görülmüştür. Açık/yuvarlak bazal hücrelerde mitoz bölünmenin az olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte GBC1 'in, nöral farklılaşma çalışmalarında etkin olduğu belirtilmiştir [37].

Williams ve ark. yaptığı çalışma nazal kavitenin metilbromid inhalasyonu sonrası görülenlere çok benzer hücresel değişikliklerle sonuçlanan aksonal dejenerasyon ve rejenerasyonun tekrarlanabilir ve kıymetli bir modeli olan ÇS irrigasyonunu kullanmayı desteklemektedir. Yapılan bu çalışmada ÇS'in nazal kavite içine uygulanmasından sonraki ilk günde OE'nin %90 kaybı gözlenmiş ve OE'in büyük çoğunluğunun bazal membrandan ayrıldığı, hücre kalınlığının bir iki sıra ile sınırlı olduğu bildirilmiştir. 4.gün sonunda hücre tabakasının kalınlığı artmıştır. 7.gün sonrasında OE'in yaklaşık olarak %50'si onarılmıştır ve 7.-11. günler arasında epitel kalınlaşması daha fazla göze çarpmıştır. 3.haftadan sonra kontrol sıçanların OE'i ile aynı seviyeye ulaşmıştır. GFAP immünoreaktivitesindeki artış hem olfaktör sinir hem de olfaktör sinir tabakasında uygulama sonrası 4.günde başladığı ve 4.haftaya kadar devam ettiğini elde etmişlerdir. OE'in bazal hücre tabakalarına indirgenmesi epitelin sonradan yeniden yapılandırılmasını çalışmaya ve sonuçlanan nörogenezi araştırmaya izin vermektedir [1].

OE'i yok etmek ve anosmi oluşturmak amacıyla ÇS kullanılmaktadır. ÇS'ın intranasal uygulamasını gösteren sıçan ve hamsterlarla yapılan anatomik çalışmalar tam olarak olfaktör epilelini yok edemediğini gösterir. Davranışsal çalışmalarda ÇS'ın büyük miktarlarda uygulanması sonrasındaki birkaç gün içinde koku alma ve kokuyu tanımlama yeteneğinin tekrardan kazanılması ile ilgili çalışmalar açık değildir. Kemirgenlerde kısa süreli anosmiye neden olmaktadır. Benzer koordineli anatomik ve davranışsal çalışmaların farelerde elde edilememesine karşın ÇS uygulamasının farede daha etkili olabileceğine inanan sonuçlar bulunmaktadır. ÇS'ın OE'nin aslında hepsinde ağır dejeneratif değişiklikleri oluşturduğu çoğu raporda belirtilmiştir [52].

Çalışmamızda erişkin sıçan OB ve önbeyin SVZ'deki hücre artışı üzerine uzun süreli krizlerin etkisini incelendi. Pek çok çalışmada hücresel değişikliklerle sonuçlanan, aksonal dejenerasyon ve rejenerasyonun tekrarlanabilir ve kıymetli bir modeli olan ÇS irrigasyonunun kullanılması desteklenmektedir. Çalışmamızda nazal kavitenin ÇS irrigasyonu olfaktör sistem hasarını oluşturmak ve onun rejenerasyonunu incelemek için bir araç olarak kullanıldı. OE'deki hasarın bazal hücreler tarafından onarılması sonucu ÇS'ın oluşturduğu değişiklikler ortadan kalktığı sonucu elde edilmiştir.

Bir grup araştırmacı, OE ve nazal mukozanın bazı hastalıklardaki yapısal değişimlerini incelemişlerdir. Şizofren hastaların olfaktör mukozaları ile normal erişkin olfaktör mukozaları arasında, belirgin bir yapısal farklılık belirlenmemiştir. Farklılığın merkezi sinir sisteminde olabileceği sonucuna varılmıştır. Alzheimer'li hastaların olfaktör epitellerinde ise en belirgin değişikliğin hücre iskeleti ve tau proteinlerinin patolojik görünümleri olduğu bildirilmiştir. Grip ve nezle olgularında ise epitelde, nötrofil birikimi, nekroz ve erozyon saptanmıştır. Lenfoit dokuda ve epitel yenilenmesinde de hızlı bir artış belirlenmiştir [37].

OE ile ilgili çalışmaların çoğunda araştırmacılar, tüm olfaktör epitel hücrelerini ve bu hücrelerin yaşam boyu yenilenmelerini araştırmışlardır. Bir çalışmada BrdU kullanılarak, bölünen hücreler işaretlenmiştir. Sıçanlarda yapılan araştırmada, duyu hücrelerindeki yenilenmenin, yaşam boyu sürdüğünü ancak yaşa koştur giderek azaldığını belirlemişlerdir. Destek hücrelerindeki hücre çoğalmasının

ise hızla düştüğü saptanmıştır Sonuç olarak hücre çoğalmasının tüm hücrelerde görüldüğünü ancak yenilenmenin yalnızca duyu hücrelerinde olduğunu bildirmişlerdir [37].

Birçok araştırmacı ise olfaktör mukozada ve vomeronazal organlarda (VNO), çeşitli kimyasalların zararlı etkilerini ve bunlarla etkilenen dokudaki değişiklikleri çalışmışlardır. *Gaafar ve ark.* otuz erkek tavşana uzun süre amonyak gazı koklatmışlar ve bunların VNO'larını ve olfaktör epitellerini yapısal olarak incelemişlerdir. Kimyasal uygulanan deneklerin özellikle olfaktör epitellerinde ve VNO'larındaki duyu hücrelerinde hiperplazi belirlemişlerdir. Sitotoksik etkinin daha çok olfaktör epiteldeki bipolar sinir hücrelerinde olduğunu saptamışlardır [37].

Civa gibi lektin ve ÇS'de intranazal irrigasyon yöntemi ile verildiğinde merkezi sinir sistemine olfaktör yol ile taşınmaktadır. Tetrametilbenzidin'in histokimyasal analizi ile lektin-horseradish peroksidaz bileşiği duyu hücrelerinde ve olfaktör genişlikte saptanmıştır. Lektin, civa, ZnSO₄ gibi zararlı maddelerin OE yolu ile alınmasının, epitelde hücre kaybına ve bazal hücrelerde artan mitotik aktiviteye neden olduğu da gösterilmiştir [37].

Xiao ve ark. insan erişkin olfaktör epitel hücrelerini kadavradan izole etmişler, Bu nörosfer oluşturan hücrelerin brain derived neurotrophic factor (BDNF) ürettiklerini göstermişler ve bunları rubrospinal traktus aksonlarının retrograd hücre atrofisinden kurtarılması ve fonksiyonel iyileşmeyi artırmak için kullanmışlardır. Bu nöroepitelial progenitörlerin rubrospinal traktus aksonlarının rejenerasyonunu sağladığı ve omurilik yaralanmasında otolog kök hücre olarak etkin iyileşme sağladığını göstermiştir. Erişkin insandan alınan Schwann hücreleri, subventriküler bölge hücreleri, olfaktör glial hücreler, kemikiliği hücreleri sıçan omuriliğinde myelin oluşturmuşlar, aksonal rejenerasyonu sağlamışlar ve ileti tekrar başlatılmıştır [50].

5. KAYNAKLAR

1. Williams, S.K., T. Gilbey, and S.C. Barnett, *Immunohistochemical studies of the cellular changes in the peripheral olfactory system after zinc sulfate nasal irrigation*. Neurochem Res, 2004. **29**(5): p. 891-901.
2. Biebl, M., et al., *Analysis of neurogenesis and programmed cell death reveals a self-renewing capacity in the adult rat brain*. Neurosci Lett, 2000. **291**(1): p. 17-20.
3. Parent, J.M., V.V. Valentin, and D.H. Lowenstein, *Prolonged seizures increase proliferating neuroblasts in the adult rat subventricular zone-olfactory bulb pathway*. J Neurosci, 2002. **22**(8): p. 3174-88.
4. Menezes, J.R., et al., *Cell migration in the postnatal subventricular zone*. Braz J Med Biol Res, 2002. **35**(12): p. 1411-21.
5. Stragier, B., et al., *Involvement of the somatostatin-2 receptor in the anti-convulsant effect of angiotensin IV against pilocarpine-induced limbic seizures in rats*. J Neurochem, 2006. **98**(4): p. 1100-13.
6. Xu, B., et al., *Strain differences affect the induction of status epilepticus and seizure-induced morphological changes*. Eur J Neurosci, 2004. **20**(2): p. 403-18.
7. Fukushima, N., et al., *Differential neurogenesis and gliogenesis by local and migrating neural stem cells in the olfactory bulb*. Neurosci Res, 2002. **44**(4): p. 467-73.
8. Moreno-Lopez, B., Romero-Grimaldi, C., Noval, J.A., Murillo-Carretero, M. and E.R. Matarredona, Estrada, C., *Nitric Oxide Is a Physiological Inhibitor of Neurogenesis in the Adult Mouse Subventricular Zone and Olfactory Bulb*. The Journal of Neuroscience, 2004. **24**(1): p. 85-95.
9. Duan, X., Kang, E., Liu, C.Y., Ming, G., Song, H., *Development of neural stem cell in the adult brain*. Current Opinion in Neurobiology 2008. **18**: p. 1-8.

10. Emsley, J.G., Mitchell, B.D., Kempermann,G., Macklis, J.D. , *Adult neurogenesis and repair of the adult CNS with neural progenitors, precursors, and stem cells*. Progress in Neurobiology 2005. **75**: p. 321-341.
11. Aimone, J.B., Jessberger,S.,Gage,F.H. , *Adult neurogenesis*. Scholarpedia, 2007. **2**(2): p. 2100.
12. Anton, E.S., et al., *Receptor tyrosine kinase ErbB4 modulates neuroblast migration and placement in the adult forebrain*. Nat Neurosci, 2004. **7**(12): p. 1319-28.
13. Zhang, R.L., et al., *Proliferation and differentiation of progenitor cells in the cortex and the subventricular zone in the adult rat after focal cerebral ischemia*. Neuroscience, 2001. **105**(1): p. 33-41.
14. Faiz, M., et al., *Proliferation dynamics of germinative zone cells in the intact and excitotoxically lesioned postnatal rat brain*. BMC Neurosci, 2005. **6**(1): p. 26.
15. Koyano, K.W., W. Tokuyama, and Y. Miyashita, *Deeply located granule cells and mitral cells undergo apoptosis after transection of the central connections of the main olfactory bulb in the adult rat*. Neuroscience, 2005. **131**(2): p. 293-302.
16. Doetsch, F. and A. Alvarez-Buylla, *Network of tangential pathways for neuronal migration in adult mammalian brain*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1996. **93**(25): p. 14895-900.
17. Packer, M.A., et al., *Nitric oxide negatively regulates mammalian adult neurogenesis*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. **100**(16): p. 9566-71.
18. Ghashghaei, H.T., C. Lai, and E.S. Anton, *Neuronal migration in the adult brain: are we there yet?* Nat Rev Neurosci, 2007. **8**(2): p. 141-51.
19. Abrous, D.N., M. Koehl, and M. Le Moal, *Adult neurogenesis: from precursors to network and physiology*. Physiol Rev, 2005. **85**(2): p. 523-69.
20. Nait-Oumesmar, B., et al., *Progenitor cells of the adult mouse subventricular zone proliferate, migrate and differentiate into oligodendrocytes after demyelination*. Eur J Neurosci, 1999. **11**(12): p. 4357-66.

21. Lledo, P.M., M. Alonso, and M.S. Grubb, *Adult neurogenesis and functional plasticity in neuronal circuits*. Nat Rev Neurosci, 2006. **7**(3): p. 179-93.
22. Gheusi, G., Cremer, H., McMcLean H, Chazal G, Vincent J, Lledo P *Importance of newly generated neurons in the adult olfactory bulb for odor discrimination*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**: p. 1823-8.
23. Sohur, U.S., Emsley, J. G., Mitchell, B. D., Macklis, J. D. , *Adult neurogenesis and cellular brain repair with neural progenitors, precursors and kök cells* Phil. Trans. R. Soc. B, 2006 **361**: p. 1477–1497.
24. Lenington, J.B., Yang, Z., Conover, J. C. , *Neural stem cells and the regulation of adult neurogenesis*. Reproductive Biology and Endocrinology, 2003.
25. Law, A.K., et al., *Neurogenesis and neuronal migration in the neonatal rat forebrain anterior subventricular zone do not require GFAP-positive astrocytes*. Dev Biol, 1999. **216**(2): p. 622-34.
26. Yasuoka, K., et al., *Expression of amyloid precursor protein-like molecule in astroglial cells of the subventricular zone and rostral migratory stream of the adult rat forebrain*. J Anat, 2004. **205**(2): p. 135-46.
27. Alvarez-Buylla, A. and J.M. Garcia-Verdugo, *Neurogenesis in adult subventricular zone*. J Neurosci, 2002. **22**(3): p. 629-34.
28. Okano, H., Sawamoto, K., *Neural stem cells: involvement in adult neurogenesis and CNS repair*. Phil. Trans. R. Soc. B 2008. **363**: p. 2111-2122.
29. Adult Neural Stem Cells and Neurogenesis. 2006
http://www0.gsf.de/idg/groups/adult_neurogenesis/start.html.
30. Parent, J.M., *Injury-induced neurogenesis in the adult mammalian brain*. Neuroscientist, 2003. **9**(4): p. 261-72.
31. Lichtenwalner R.J., P.J.M., *Adult neurogenesis and the ischemic forebrain*. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism, 2006. **26**: p. 1-20.
32. Aguirre, A. and V. Gallo, *Postnatal neurogenesis and gliogenesis in the olfactory bulb from NG2-expressing progenitors of the subventricular zone*. J Neurosci, 2004. **24**(46): p. 10530-41.

33. Fukushima, N., Kato, T., Li, Z., Yokouchi, K., Moriizumi, T. , *Adult Neurogenesis and Gliogenesis in the Rat Olfactory Nervous System*. Chem. Senses, 2005. **30**(1): p. i113-i114.
34. Sönmez, Ü., *Normal ve Burnu Tıkalı Sıçanlarda Gelişmekte Olan Bulbus Olfactoriusta PCREB protein immünreaktivitesi*. 2002, Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü: İzmir. p. 50.
35. Erdoğan, A.R., *İnsan ve hiperozmik hayvanların koku yollarının karşılaştırmalı anatomisi*, in *Anatomi 1995*, Atatürk Üniversitesi: Erzurum.
36. Turgut, Ö.K. *Koku Alma Bozuklukları*. 2002. <http://kbb.uludag.edu.tr>
37. Elmas, Ç., *Epidermal Büyüme Faktör Reseptörlerinin Fötal Olfaktör Mukozadaki Dağılımının İmmünohistokimyasal Olarak Gösterilmesi*. 1999, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü: Ankara. p. 90.
38. Dere, F., *Nöroanatomi fonksiyonel nöroloji atlası ve ders kitabı*. Vol. 3. 2000, Adana: Nobel tıp kitabevi.
39. Schwob, J.E., *Neural regeneration and the peripheral olfactory system*. Anat Rec, 2002. **269**(1): p. 33-49.
40. Koku fiziyojisi, fizyopatolojisi ve koku bozukluklarına yaklaşım www.kbb.gazi.edu.tr/koku.htm.
41. Slotnick, B., et al., *Olfaction and olfactory epithelium in mice treated with zinc gluconate*. Laryngoscope, 2007. **117**(4): p. 743-9.
42. Tacar, O., Demirant, A., *Sistemik Anatomi*. Duyu Organları, ed. F.G. Gökmen. 2003, İzmir: İzmir Güven Kitabevi. 908-910.
43. Williams, P.L., Bannister, L.H., Berry, M.M., Collins, P., Dyson, M., Dussek, J.E., Ferguson, M.W.J. , *Gray's Anatomy*. 38 ed. 1995.
44. Beites, C.L., Kawachi, S., Crocker, C.E., Calof, A.L., *Identification and molecular regulation of neural stem cells in the olfactory epithelium*. Experimental Cell Research, 2005. **306**: p. 309 - 316.
45. Sulz, L., Bacigalupo, J., *Role of nitric oxide during neurogenesis in the olfactory epithelium*. Biol Res, 2006. **39**: p. 589-599.
46. Sarıkaya, M. *Koku ve Tad duyuları*. <http://fiziyojii0.tripod.com/koku.ppt>

47. Buck, L.B. *Koku ve Tad: Kimyasal Duyular*.
<http://med.ege.edu.tr/~eubam/KandelDers/kandel>.
48. Arıncı, K., Elhan, A., *Anatomi II.Cilt*. 1997, Ankara.
49. Carter, L.A., MacDonald, J.L., Roskams, A.J., *Olfactory Horizontal Basal Cells demonstrate a Conserved Multipotent Progenitor Phenotype* The Journal of Neuroscience 2004 **24**(25): p. 5670-5683.
50. Türk nöroşirürji derneği bülteni, 2005. **9**.
51. Duggan, C.D., Ngai, J., *Scent of a stem cell*. Nature Neuroscience, 2007. **10**: p. 673 - 674.
52. McBride, K., B. Slotnick, and F.L. Margolis, *Does intranasal application of zinc sulfate produce anosmia in the mouse? An olfactometric and anatomical study*. Chem Senses, 2003. **28**(8): p. 659-70.
53. Chang, C.Y., et al., *Microglia in the olfactory bulb of rats during postnatal development and olfactory nerve injury with zinc sulfate: a lectin labeling and ultrastructural study*. Neurosci Res, 2003. **45**(3): p. 325-33.
54. Smith, C.G., *Changes in the Olfactory Mucosa and the Olfactory Nerves Following Intranasal Treatment with One Per Cent Zinc Sulphate*. The Canadian Medical Association Journal, 1938: p. 138-140.
55. Mayer, A.D. and J.S. Rosenblatt, *Peripheral olfactory deafferentation of the primary olfactory system in rats using ZnSO₄ nasal spray with special reference to maternal behavior*. Physiol Behav, 1993. **53**(3): p. 587-92.
56. Yeni, N., *Status epilepticus ve tedavisi*. 1997: İstanbul. p. 137-144.
57. Struble, R.G., et al., *Volumetric and horseradish peroxidase tracing analysis of rat olfactory bulb following reversible olfactory nerve lesions*. Chem Senses, 2001. **26**(8): p. 971-81.
58. Winner, B., et al., *Long-term survival and cell death of newly generated neurons in the adult rat olfactory bulb*. Eur J Neurosci, 2002. **16**(9): p. 1681-9.
59. Boluk, A. 2007. <http://www.drayhanboluk.blogcu.com>
60. Parent, J.M., *The role of seizure-induced neurogenesis in epileptogenesis and brain repair*. Epilepsy Res, 2002. **50**(1-2): p. 179-89.

61. Taupin, P., *Neurogenesis in the adult central nervous system*. C R Biol, 2006. **329**(7): p. 465-75.
62. Murrell, W., Feron, F., Wetzig, A., Cameron, N., Splatt, K., Bellette, B., Bianco, J., Perry, C., Lee, G., Mackay-Sim, A., *Multipotent Stem Cells From Adult Olfactory Mucosa*. Developmental Dynamics, 2005. **233**: p. 496-515.
63. Mao, L., Wang, J.Q., *Adult neural stem/progenitor cells in neurodegenerative repair*. Acta Physiologica Sinica, 2003. **55**(3): p. 233-244.
64. McCurdy, R.D., et al., *Regulation of adult olfactory neurogenesis by insulin-like growth factor-I*. Eur J Neurosci, 2005. **22**(7): p. 1581-8.
65. Taupin, P., *Neural Progenitor and Stem Cells in the Adult Central Nervous System*. Annals Academy of Medicine, 2006. **35**(11): p. 814-820.
66. Derby, C.D., *Why Have Neurogenesis in Adult Olfactory Systems? The Presidential Symposium at the 2006 AChemS Conference*. Chemical Senses, 2007. **32**(361-363).
67. Puche, A.C., Baker, H., *Olfactory cell derivation and migration*. J Mol Hist, 2007. **38**: p. 513-515.
68. Saito, K., et al., *Transient increase of TUNEL-positive cells on postnatal day 20 in the developing rat olfactory bulb*. Neurosci Res, 2004. **50**(2): p. 219-25.
69. Lledo, P.M. and G. Gheusi, *Olfactory processing in a changing brain*. Neuroreport, 2003. **14**(13): p. 1655-63.
70. Chu, K., et al., *Human neural stem cell transplantation reduces spontaneous recurrent seizures following pilocarpine-induced status epilepticus in adult rats*. Brain Res, 2004. **1023**(2): p. 213-21.
71. Engel, J., Pedley, T. A., *Introduction: What Is Epilepsy*. Philadelphia: Lippincott Raven Publishers, 1997.
72. Güleç, G., *Sıçanlarda Sistemik Lityum-Pilokarpin ile Oluşturulan Epilepsi Modelinde Nitrik Oksitin Nöbet Aktivitesi Üzerine Etkisi*. 1998: Bursa.
73. Baykan, B., Gürses, C., Gökyiğit, A. . *Status Epilepticus ve Tedavisi*. 2001 <http://www.itfnoroloji.org/epilepsi/Epilepsi.htm>
74. Sankar, R., et al., *Epileptogenesis during development: injury, circuit recruitment, and plasticity*. Epilepsia, 2002. **43 Suppl 5**: p. 47-53.

75. Noyan, B., *Temporal Lob Epilepsi'sinde L-Arginine ve CaEDTA'nın Etkileri*. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 2005. **31**(1): p. 119.
76. Tezcan, A., *Mitokondrial ATP duyarlı potasyum kanallarının deneysel epilepsi modellerindeki rolü ve apoptotik dejenerasyonla ilişkisi*, in *Farmakoloji AD*. 2006, Celal Bayar Üniversitesi: Manisa.
77. Dericioğlu, N., *Mesial Temporal Sklerozda Hücre Ölüm ve Sağ Kalım Mekanizmalarının İncelenmesi*, in *Nöroelektrofizyoloji Programı*. 2006, Hacettepe üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü: Ankara.
78. Francois, J., et al., *The combination of topiramate and diazepam is partially neuroprotective in the hippocampus but not antiepileptogenic in the lithium-pilocarpine model of temporal lobe epilepsy*. Epilepsy Res, 2006. **72**(2-3): p. 147-63.
79. Bostancı, M.Ö., *Deneysel Epilepsi Modelinde GAP JUNCTION Blokerlerinin Beyin Aktivitesine Etkileri*, in *Fizyoloji Anabilim Dalı*. 2005, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü: Samsun.
80. Cha, B.H., et al., *Spontaneous recurrent seizure following status epilepticus enhances dentate gyrus neurogenesis*. Brain Dev, 2004. **26**(6): p. 394-7.
81. Tetz, L.M., et al., *Development of a rat pilocarpine model of seizure/status epilepticus that mimics chemical warfare nerve agent exposure*. Toxicol Ind Health, 2006. **22**(6): p. 255-66.
82. Oğul E., B.İ., Ulus İ.H.,Zarifoğlu M.,Bakar M.,Turan Ö.F.,Sadıkoğlu S.,Gürün S.,Çelik S., *Lityum-Pilokarpin ile Oluşturulan Deneysel Epilepsi Modeli Üzerine Bir NMDA Antagonisti MK-801'in Antikonvülf Etkisinin Klinik ve Elektrofizyolojik Olarak Araştırılması*. Epilepsia, 1996. **2**(1): p. 34-39.
83. Glien, M., et al., *Repeated low-dose treatment of rats with pilocarpine: low mortality but high proportion of rats developing epilepsy*. Epilepsy Res, 2001. **46**(2): p. 111-9.
84. Rigoulot, M.A., et al., *Neuroprotective properties of topiramate in the lithium-pilocarpine model of epilepsy*. J Pharmacol Exp Ther, 2004. **308**(2): p. 787-95.

85. Jung, K.H., et al., *Cyclooxygenase-2 inhibitor, celecoxib, inhibits the altered hippocampal neurogenesis with attenuation of spontaneous recurrent seizures following pilocarpine-induced status epilepticus*. *Neurobiol Dis*, 2006. **23**(2): p. 237-46.
86. Hanaya, R., N. Boehm, and A. Nehlig, *Dissociation of the immunoreactivity of synaptophysin and GAP-43 during the acute and latent phases of the lithium-pilocarpine model in the immature and adult rat*. *Exp Neurol*, 2007. **204**(2): p. 720-32.
87. Coskun, V., et al., *Subventricular zone neuronal progenitors undergo multiple divisions and retract their processes prior to each cytokinesis*. *Eur J Neurosci*, 2007. **26**(3): p. 593-604.
88. Marinho, M.M., et al., *Effects of lithium, alone or associated with pilocarpine, on muscarinic and dopaminergic receptors and on phosphoinositide metabolism in rat hippocampus and striatum*. *Neurochem Int*, 1998. **33**(4): p. 299-306.
89. Ulukaya, E. *Apoptozis Ders Notları* 2003 [cited; Available from: www20.uludag.edu.tr/~biokimya].
90. Şahaboğlu, A., *Deneysel İskemi-Reperfüzyon Oluşturulmuş Sıçan Retinasında Apoptozisin İncelenmesi*, in *Biyoloji Anabilim Dalı*. 2006, Harran Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü: Şanlıurfa.
91. Komitova, M., et al., *Enriched environment increases neural stem/progenitor cell proliferation and neurogenesis in the subventricular zone of stroke-lesioned adult rats*. *Stroke*, 2005. **36**(6): p. 1278-82.
92. Gould, E., *How widespread is adult neurogenesis in mammals?* *Nat Rev Neurosci*, 2007. **8**(6): p. 481-8.
93. Smith, M.T., et al., *Increased number of BrdU-labeled neurons in the rostral migratory stream of the estrous prairie vole*. *Horm Behav*, 2001. **39**(1): p. 11-21.
94. Holopainen, I.E., *Seizures in the developing brain: Cellular and molecular mechanisms of neuronal damage, neurogenesis and cellular reorganization*. *Neurochem Int*, 2008. **52**(6): p. 935-47.

95. Kirschenbaum, B., et al., *Adult subventricular zone neuronal precursors continue to proliferate and migrate in the absence of the olfactory bulb*. J Neurosci, 1999. **19**(6): p. 2171-80.
96. Saghatelyan, A. *Adult Neurogenesis in the Cell Replacement Therapies*. www.crulrg.ulaval.ca/fr/recherche/axes/chercheurs/armen-saghatelyan.php.
97. Herzog, C. and T. Otto, *Regeneration of olfactory receptor neurons following chemical lesion: time course and enhancement with growth factor administration*. Brain Res, 1999. **849**(1-2): p. 155-61.

ÖZGEÇMİŞ

ADI SOYADI : Meltem Ruken YETİŞMİŞ ELÇETİN
DOĞUM TARİHİ/ YERİ : 18.10.1980/ Diyarbakır

EĞİTİM BİLGİLERİ

LİSANS: Celal Bayar Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji(Bölüm Birinciliği), 2001-2005, MANİSA

LİSE: İzmir Karataş Lisesi, Fen Bilimleri, 1995-1997, İZMİR

ORTAOKUL: Gazi Ortaokulu, 1992-1995, GAZİANTEP

İLKOKUL: Dr.Cemil Karslıgil İlkokulu, 1987-1992, GAZİANTEP

LİSANS BİTİRME ÖDEVİ: DNA Tamir Mekanizmaları,
Danışman:Yrd.Doç.Dr.Erdal BALCAN

YÜKSEK LİSANS TEZ KONUSU: Epilepsi modeli ile indüklenen deneysel beyin hasarının subventriküler alan, bulbus olfactorius ve olfaktör mukozadaki bazal hücre davranışına etkisi (SAĞBE 2006/073 nolu tez projesi), Danışman:Prof.Dr.Tuncay VAROL

KATILDIĞI PROJELER: 01.06.2005 tarihli 2005-021 nolu “Albino Ratlarda Perinatal Dönemde Anti-Androjenik Faktörlerin Corpus Callosum’daki Sinir Lifi Dağılımına Etkisi”

STAJ VE KURS BİLGİLERİ

Dokuz Eylül Üniversitesi Karşıyaka Polikliniği Merkez laboratuvarı, staj
24-28 Ocak 2005, Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, “Serbest Radikaller ve DNA Tamir Mekanizmaları” teorik kursu

23-25 Mayıs 2007, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, “XVI.Deney Hayvanları Kursu”

28-30 Mart 2008, “DNA Tamir Mekanizmaları” CBÜ I.Ulusal Öğrenci Kongresi

T.C.MEB Akademik Batı Dilleri Eğitim Kurumu Özel Yabancı Dil Kursu, 2006-2008

ERİŞİM ADRESİ: meltemruken@mynet.com