

**T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

118269

**SIÇAN HİPOKAMPUSUNDA
YAŞA BAĞLI OLARAK BAZİK FİBROBLAST BÜYÜME FAKTÖRÜ
İMMÜNOREAKTİVİTESİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLER**

118269

Dr. Emsal SALIK

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Feriha ERCAN

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

İstanbul, 2002

TEŞEKKÜR

*İhtisas eğitimim boyunca ve bu tezin hazırlanmasının tüm aşamasında
bilgisinden sınırsızca yararlandığım ve
desteğini her zaman yanımda hissettiğim değerli danışman hocam*

Doç. Dr. Feriha Ercan'a,

çalışmalarında her zaman katkılarını gördüğüm değerli hocalarım

Prof. Dr. Serap Arbak, Doç. Dr. Tangül Şan ve Yrd. Doç. Dr. Şule Çetinel'e,
hipokampus çalışmalarında değerli katkılarını gördüğüm hocam

Prof. Dr. Filiz Onat'a,

tezin her aşamasında desteklerini gördüğüm değerli çalışma arkadaşlarım

**Uzm. Dr. Serap Şirvancı, Tıb. Biyo. Gözde Erkanlı, Tıb. Biyo. Yasemin Ersoy,
Dr. Emine Özçınar, Dr. Şükrü Midillioğlu,**

Kim. Müh. Necati Yurdakul, Dr. Hasan Yananlı'ya,

verilerin istatistiksel değerlendirilmesindeki yardımlarından dolayı

Yrd. Doç. Dr. Nural Bekiroğlu'na,

*elektron mikrograflarının basılmasındaki katkılarından dolayı **Yücel Öztürk'e,**
tüm olanaklarını kullandığım*

*Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri **Elektron Mikroskopî Ünitesine,***

*Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri **Histoloji ve Embriyoloji A.B.D.'na,***

*ışık mikroskopik preparasyonlarındaki yardımlarından dolayı **Ünal Devrim'e,**
tez çalışmalarında her zaman manevi desteklerini gördüğüm*

**Mehtap Salık, Meral Salık, Emel Salık, Mehmet Salık, Haydar Salık
ve Cem Apakgün'e**

teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

1. ÖZET
2. SUMMARY
3. GİRİŞ
 - 3.1. Hipokampus
 - 3.1.1. Hipokampus Embriyolojisi
 - 3.1.2. Hipokampus Anatomisi
 - 3.1.3. Hipokampus Yolakları
 - 3.2. Büyüme Faktörleri
 - 3.2.1. Polipeptid Büyüme Faktörleri
 - 3.2.1.1. Fibroblast Büyüme Faktörleri
 - 3.2.1.1.1. bFbF'nin Moleküler Özellikleri
 - 3.2.1.1.2. bFbF Reseptörleri
 - 3.2.1.1.3. bFbF'nin Etkileri
 - 3.2.1.1.4. bFbF Glia Hücreleri ve Nöronlar
4. AMAÇ
5. MATERYAL VE METOD
 - 5.1. Işık Mikroskopi
 - 5.1.1. Perfüzyon Fiksasyonu
 - 5.1.2. Nissl (Kresil Viole) Boyama Metodu
 - 5.1.3. İmmünohistokimya
 - 5.1.4. Kantitatif Analiz
 - 5.1.5. İstatistiksel Analiz
 - 5.2. Elektron Mikroskopi
 - 5.2.1. Preembedding İmmünohistokimya
6. BULGULAR
 - 6.1. Işık Mikroskopi
 - 6.1.1. Nissl (Kresil Viole) Boyama Bulguları
 - 6.1.2. bFbF İmmünohistokimya Bulguları
 - 6.1.2.1. 2 Aylık Sıçanlar
 - 6.1.2.2. 4 Aylık Sıçanlar
 - 6.1.2.3. 1 Yaşındaki Sıçanlar
 - 6.1.2.4. 2 Yaşındaki Sıçanlar
 - 6.1.3. İstatistiksel Analiz Bulguları
 - 6.2. Elektron Mikroskopi
 - 6.2.1. bFbF İmmünohistokimya Bulguları
7. TARTIŞMA
 - 7.1. bFbF İmmünohistokimyası ve Hipokampusta bFbF Lokalizasyonu
 - 7.2. Elektron Mikroskopi bFbF İmmünohistokimyası
 - 7.3. bFbF ve Nörotransmitterler (Glutamat, Dopamin ve Asetilkolin)
 - 7.4. Patolojik Durumlar ve bFbF Arasındaki İlişki
 - 7.4.1. Travma ve bFbF
 - 7.4.2. Nörodejeneratif Hastalıklar ve bFbF
 - 7.4.3. Reaktif Glioz ve bFbF
 - 7.4.4. Nöbet Modelleri ve bFbF
 - 7.5. Yaş ve bFbF-ir Pozitif Astrositler ve CA2 Piramidal Nöronları
8. KAYNAKLAR
9. ÖZGEÇMİŞ

1. ÖZET

Sinir sisteminde, nöronlar, yapılarını ve fonksiyonlarını etkileyen birçok çevresel uyarıya maruz kalır. Bu uyarılar içinde en belirgin olanları büyüme faktörleri ve nörotransmitterlerin yaptığı uyarılardır. Heparine bağlanan, polipeptid büyüme faktörleri ailesinden olan fibroblast büyüme faktörleri, başlangıçta kültür ortamındaki fibroblast bölünmesinde öncü (promotor) etki yapan protein mitojenleridir. Bu ailenin üyelerinden biri olan bazik fibroblast büyüme faktörü (bFbF) mezenkimal ve nöroektodermal hücrelerde, mitogenez stimülasyonu, proliferasyonda indüksiyon ve artış, yaşam devamlılığı, apoptotik hücre ölümü inhibisyonu, morfolojik değişiklikler, gelişim, farklılaşma, yaşlanmanın gecikmesi, anjiogenez, neovaskülarizasyon, doku farklılaşması, dokuya özgü fonksiyonların düzenlenmesi ve yara iyileşmesinde rol oynar.

Yaşlanma, öğrenme ve hafıza gibi kognitif fonksiyonlarda azalmayla beraber nörobiyolojik değişikliklere sebep olur. Uzaysal hafızada kritik bir rol oynayan hipokampus, yaşlanma sürecine son derece duyarlıdır ve yaşı ilerlemesiyle yapısal ve fizyolojik değişiklikler gösteren bölgelerden biridir. Genel olarak, yaşa bağlı kognitif değişiklikler, hipokampus plastisitesinde azalmayla birlikte büyüme faktörü ekspresyonunda değişikliklere bağlı olabilir. Bu çalışmanın amacı, sıçan hipokampusunda, yaşa bağlı olarak oluşan bFbF immünoreaktivitesindeki değişiklikleri incelemektir.

Bu çalışmada 2 aylık ve 4 aylık, 1 yaşında ve 2 yaşında Wistar albino erkek sıçanlar kullanılmıştır. Dorsal hipokampusdaki bFbF immünoreaktivitesindeki değişiklikler fare monoklonal anti-bFbF antikoru kullanılarak immünohistokimyasal ve preembedding immünoelektron mikroskop teknikleri ile incelenmiştir.

Bulgular, farklı yaş gruplarındaki sıçanların dorsal hipokampuslarında bFbF immünoreaktif (bFbF-ir) astrositlerin heterojen bir dağılım gösterdiğini ve CA2 alanında bFbF-ir piramidal nöronların varlığını ortaya koymuştur. CA2 alanında bFbF-ir olmayan piramidal nöronlarla karşılaştırıldığında bFbF-ir piramidal nöronlarının daha küçük ve düzensiz-şekli çekirdeklerinin olduğu gözlenmiştir. Hem astrositlerin hem de CA2 piramidal nöronlarının çekirdekleri yoğun ve sitoplazmaları bölgesel olarak bFbF-ir olarak bulunmuştur. 4 aylık sıçanlar ile diğer yaş grupları karşılaştırıldığında dorsal hipokampusun dentat girus bölgesinin hilus, interfaz, granüler hücre tabakasında; CA3 bölgesinin stratum radiatum; moleküler alanın stratum lakunozum ve moleküler tabakasında; CA1 bölgesinin piramidal tabakasında bFbF-ir astrositlerin; ve 4 aylık sıçanlar ile 1 yaş ve 2 yaş grupları karşılaştırıldığında CA2 alanında bFbF-ir piramidal nöronların yoğunluğundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

4 aylık sıçan grubunu diğer gruplarla karşılaştırdığımızda, bFbF-ir astrosit yoğunluğunu farklı bulmamız, aksonal ve dendritik uzantıların gelişiminde ve sinaps alanlarının kontrolünde astrositlerin rolünün daha gelişmiş olduğunu düşündürmektedir.

Genç sıçanlarla yaşlı sıçanlar karşılaştırıldığında CA2 alanındaki bFbF-ir piramidal nöronların yoğunluğundaki artışın istatistiksel olarak anlamlı olması, CA2 nöronlarının bağlantı ve fonksiyon mekanizmalarının değişmiş olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak elde ettiğimiz bu veriler yaşlanmayla ilgili dorsal hipokampusdaki bFbF-ir astrositlerin ve CA2 alanındaki bFbF-ir pozitif piramidal nöronların yoğunluğunun değiştiğini ortaya koyması açısından önemlidir.

2. SUMMARY

Within the nervous system, individual neurons are exposed to many environmental signals which influence their form and function. Prominent among these signals are growth factors and neurotransmitters. Fibroblast growth factors (FGFs), members of the family of heparin-binding polypeptide growth factors are protein mitogens originally identified as promoters of fibroblast mitotic division in culture. Basic fibroblast growth factor (bFGF), one of the members of this family, have a role in stimulation of mitogenesis, induction and increase of proliferation, survival, inhibition of apoptotic cell death, morphological changes, growth, differentiation, delayed senescence, angiogenesis, neovascularization, tissue differentiation, regulation of tissue specific function and wound healing in mesenchymal and neuroectodermal cells.

Aging is accompanied by a decline in cognitive functions such as learning and memory, along with a variety of neurobiological changes. The hippocampal formation, which plays a critical role in spatial memory, extremely sensitive to the aging process and appears to be one of the brain region to show structural and physiological changes with advancing age. More generally, age-dependent cognitive impairments have been related to a decline in hippocampal plasticity, which in turn, may depend on alterations in growth factor expression. The aim of this study is to evaluate age-dependent alterations of bFGF immunoreactivity in rat hippocampus.

In this study, 2 months, 4 months, 1 year and 2 years old Wistar albino male rats were used. The alterations of bFGF-immunoreactivity were evaluated by using mouse monoclonal anti-bFGF antibody with immunohistochemical and preembedding immunoelectron microscopic techniques.

Our results showed the heterogeneous distribution of the bFGF immunoreactive (bFGF-ir) astrocytes and bFGF-ir pyramidal neurons in CA2 region in the rat dorsal hippocampus of the different age groups. The nuclei of the bFGF-ir pyramidal neurons were smaller and more irregular in shape than the unstained pyramidal neurons in CA2. In both astrocytes and CA2 pyramidal neurons bFGF immunoreactivity was primarily in the nucleus and to a lesser extent in the cytoplasm. When comparing 4 month old rats with the other age groups, the bFGF-ir astrocytes density in dorsal hippocampus of hilus, interface, granular cell layer of dentate gyrus; stratum radiatum of CA3; stratum lacunosum and the molecular layer of molecular region; the pyramidal layer of CA1; and 4 months old rats with 1 year and 2 years age groups, bFGF-ir pyramidal neurons density in CA2 showed statistically significant increase.

When comparing 4 month old rats with the other age groups, the finding of increase of bFGF-ir astrocytes density is thought to be the result of the improved role of astrocytes in the axonal and dendritic extensions and in the control of synaptic regions.

When comparing young rats with old rat group, statistically significant increase of the bFGF-ir pyramidal neuron density, it might be thought that projection and functional mechanisms of CA2 neurons is altered.

In conclusion, this study is important with the respect of changes of density of bFGF-ir astrocytes and CA2 bFGF-ir pyramidal neurons in dorsal hippocampus with aging.

3. GİRİŞ

3.1. Hipokampus

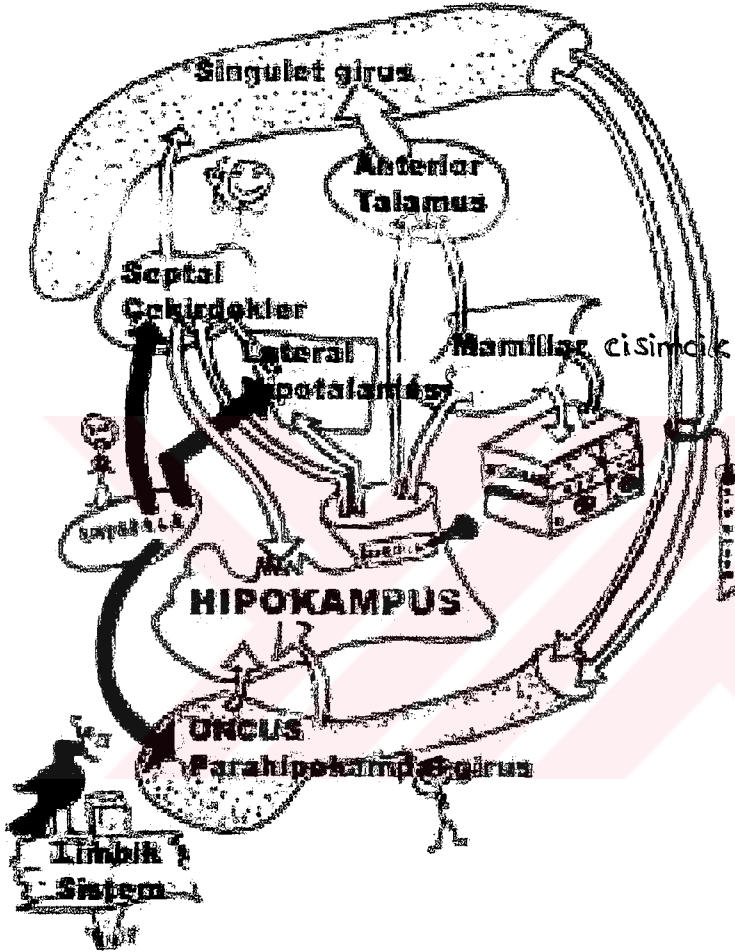
3.1.1. Hipokampus Embriyolojisi:

Merkezi sinir sisteminin bir parçası olan hipokampus, diğer merkezi sinir sistemi elemanları gibi nöral tüpten gelişir. Temel histolojik yapıyı nöroepitel oluşturmaktadır. Hipokampus arşikorteksin kortikal alanını içerir. Arşikorteks arkada interventriküler foremenin etrafında bir kavis oluşturan ve korpus kallozumun üzerinde yer alan singulat girus ile hipokampus bölgesini içine alan korteks alanıdır. Yeme, üreme, saldırma ve savunma için gerekli olan içgüdüsel davranışlardan sorumludur.

Embriyoda hipokampus ventrikülün duvarında bulunan ve interventriküler foremenden temporal loba doğru uzanan kesintisiz bir yapıdır. Hipokampus, neokorteksin ve korpus kallozumun gelişmesiyle tamamen temporal lob yönüne doğru yer değiştirir. Yalnızca forniks ve hipokampusun lifleri korpus kallozumun altında kalır. Olgun hipokampus, ventrikülün tabanında yer alan kıvrımlı, deniz atı şeklinde bir yapıdır. Kortikal plağın bir bölümü hipokampal girinti ile birlikte kıvrılarak içeriye doğru yönelen "dentat girus"un kortikal bölgesini oluşturur (1).

3.1.2. Hipokampusun Anatomisi :

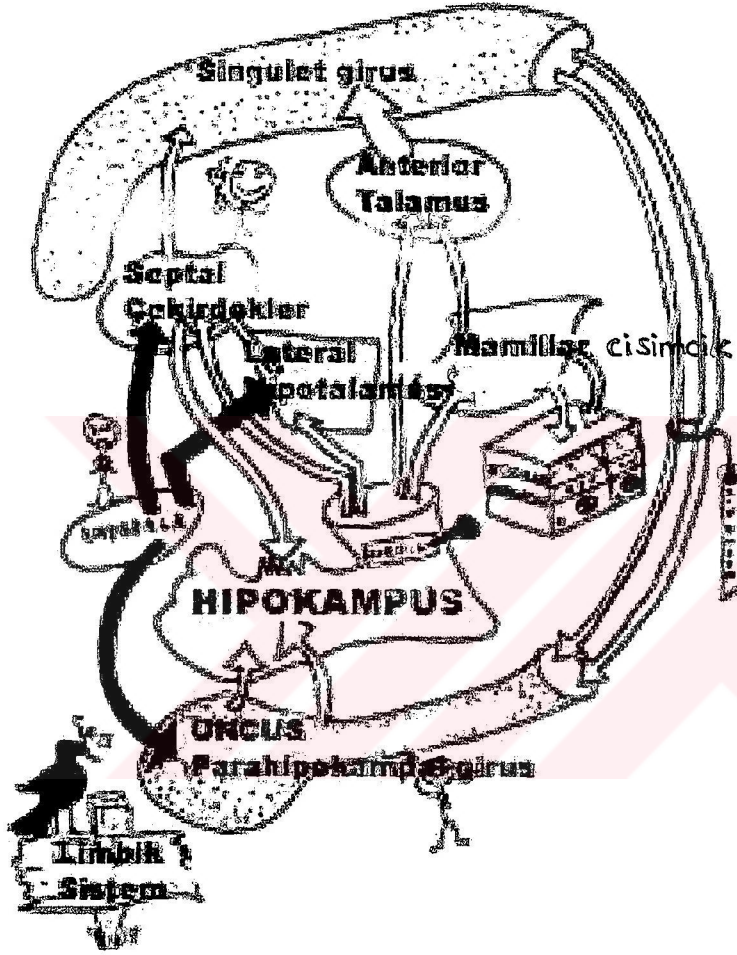
Hipokampus limbik sistemin bir parçasıdır (Şekil 1).



Şekil 1 : Limbik sistemin yapıları ve sinyal iletimi görülmektedir.

3.1.2. Hipokampusun Anatomisi :

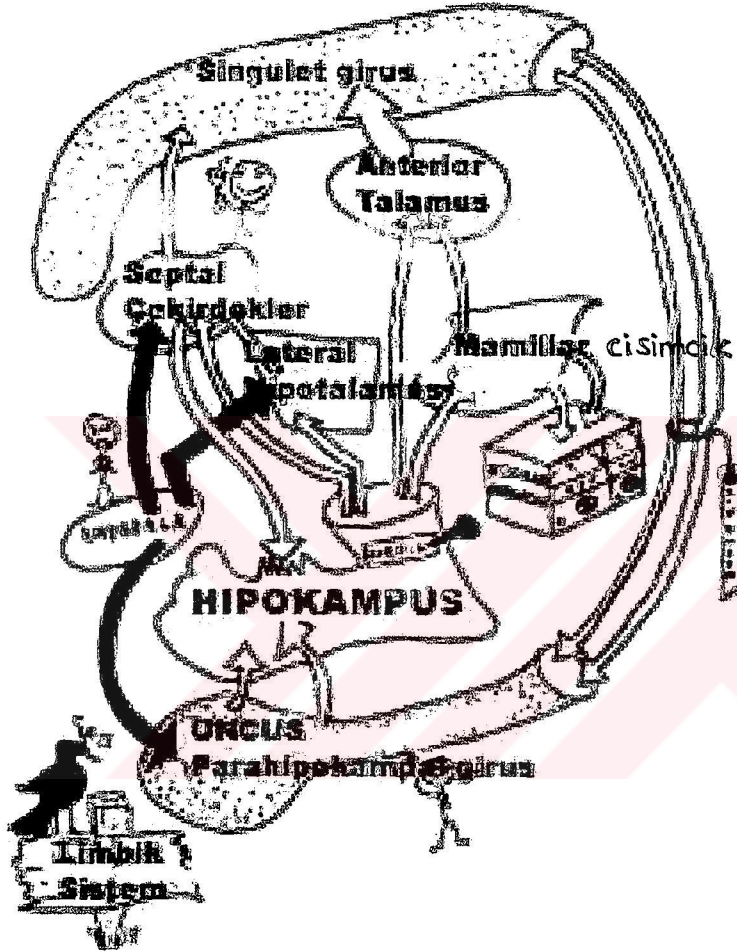
Hipokampus limbik sistemin bir parçasıdır (Şekil 1).



Şekil 1 : Limbik sistemin yapıları ve sinyal iletimi görülmektedir.

3.1.2. Hipokampusun Anatomisi :

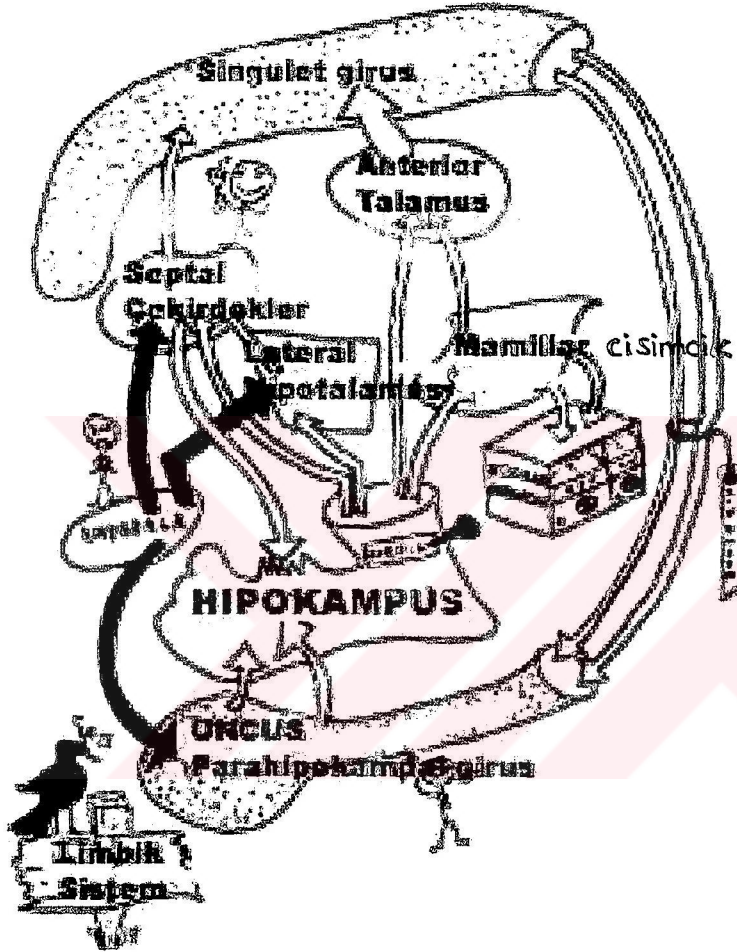
Hipokampus limbik sistemin bir parçasıdır (Şekil 1).



Şekil 1 : Limbik sistemin yapıları ve sinyal iletimi görülmektedir.

3.1.2. Hipokampusun Anatomisi :

Hipokampus limbik sistemin bir parçasıdır (Şekil 1).



Şekil 1 : Limbik sistemin yapıları ve sinyal iletimi görülmektedir.

Ammon boynuzu (Cornu Ammonis) 4 alt bölgeye ayrılır (Şekil 6):

- CA1
- CA2
- CA3
- CA4

Ammon boynuzunun bu alt bölgeleri piramidal hücre tabakasındaki morfolojik değişikliklerle birbirinden ayrılır. Golgi boyama tekniği kullanarak, sıçanlarda ilk olarak Ammon boynuzu bölgelerini tanımlayan Lorento de No (1934) CA2 piramidal nöronlarının CA1 bölgesi piramidal nöronlarına göre daha büyük olduğunu, ve CA3 piramidal nöronlarının apikal dendritlerinin proksimal kısmında bulunan yırtıksı (thorny) projeksiyonları olmadığını göstermiştir. Daha sonra CA2 alanı, "mossy lifleri" olmayan, CA1 ve CA3 alanları arasında kalan "geçiş zone" olarak Haug (1974) ve Swanson ve arkadaşları (1978) tarafından tanımlanmıştır. CA4 alanı dentat girusla CA3 arasında bulunur ve dentat girusun polimorfik zonunda yer alır. Güncel sınıflandırmada CA4 nöron grubu hipokampus sektörlerinin bir parçası olarak değil de, dentat hilusun bir parçası olarak kabul edilmiştir. Yani dentat hilus CA4 alanını da içerir. Subikulum distal olarak yerini pre- ve parasubikuluma bırakır. Ventral olarak entorhinal korteks, dorsal olarak retrosplenial korteksin yanındadır.

Hipokampusun temel hücre yapısı dentat granüler hücreler ve Ammon boynuzunun piramidal hücrelerinden oluşur. Dentat girus bölgesinin granüler hücreleri apikal dendritleri "stratum molekülare"ye uzanarak tek bir tabaka şeklindedir. Dentat girusun kavis yaptığı alan CA4'ün polimorfik hücre tabakasını ve CA3'ün piramidal hücre tabakasının proksimal kısmını içeren hilus alanıdır. Bu alan aynı zamanda "end folium" veya "hilum" diye de adlandırılır. CA3 alanı apikal dendritleri stratum radiatum kadar uzanan en büyük piramidal nöronları içerir. CA2 alanı CA3 alanı gibi büyük piramidal hücreler içermesine rağmen , CA3 ile karşılaştırıldığında, CA2 dentat girusun mossy lif uyarısı almaz. CA1 alanı küçük piramidal hücrelerden oluşur ve CA2 ile subikulum arasında yer alır (3), "Sommer" sektörü olarak da adlandırılır (2). Entorhinal korteks amigdalaya anterior yerleşimlidir (3).

Hipokampus sektörleri, lateral ventrikülün temporal boynuzundan hipokampal sulkusa doğru çapraz-kesitlerde birçok tabakaya ayrılır (Şekil 7, 8):

1-Alveus: Lateral ventrikülün temporal boynuzunun ventriküler yüzeyini çevreler, fimbriaya giren hipokampal ve subikular nöronların aksonlarını içerir ve ana efferent yolu ifade eder.

2-Stratum oriens: Dağılmış gamma-amino-bütirik asit (GABAerjik) internöronları (basket hücreleri) içerir.

3-Stratum pyramidale veya piramidal hücre tabakası: Hipokampusun en belirgin yapısıdır ve piramidal nöronları içerir. Piramidal sinir hücrelerinin tabanları alveusla yüzyüze dir, apikal dendritleri hipokampal sulkusa doğrudur ve "stratum molekülare"ye uzanır.

4-Stratum radiatum: Yayılmış bir görüntüye sahiptir, temelde piramidal tabaka nöronlarının apikal dendritlerinden oluşur. CA3 hipokampal alanından Schaffer kolleteralleri (CA3 projeksiyonları) CA1 alanının stratum radiatumunda apikal dendritlerle sinaps yapar. CA3 alanında, piramidal hücre tabakasıyla stratum radiatum arasında stratum lucidum bulunmaktadır ve bu bölgede CA3 piramidal hücrelerin dendritleriyle sinaps yapan granüler hücrelerin mossy liflerini içerir.

5-Stratum lakunozum: Schaffer kolleteralleri ve perforant lifleri içerir.

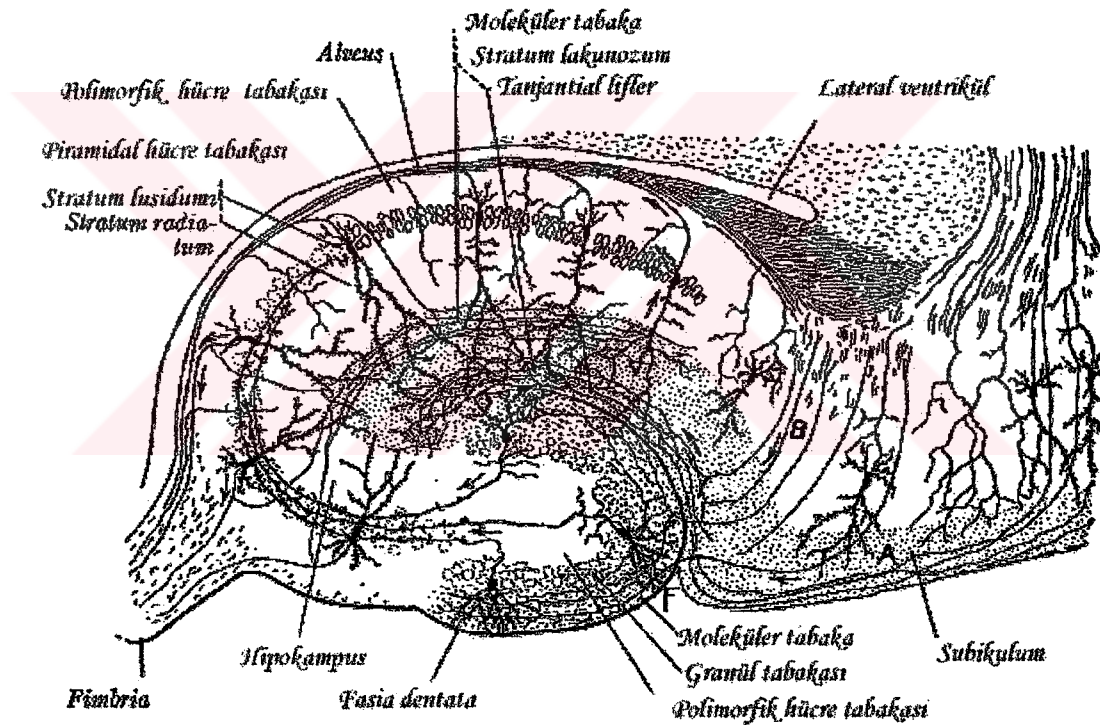
6-Stratum molekülare: Piramidal hücrelerin apikal dendritlerinin dallarını ve aynı zamanda çok az sayıda internöronları içerir. Hipokampal sulkus gelişim sırasında kaybolduğu için, hipokampus properin moleküler tabakası dentat girusun moleküler tabakasına katılır.

Dentat Girus (fascia dentata) üç tabakaya ayrılır:

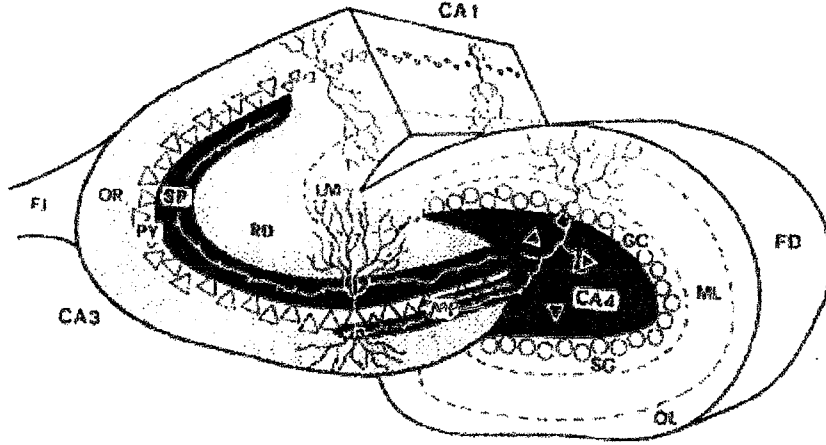
1-Granüler hücre tabakası : Bu tabaka hipokampusun gövde seviyesinde yer alan karakteristik olarak C-şeklinde, yuvarlak veya oval, küçük ve yoğun olarak paketlenmiş dentat granül hücre gövdelerinden oluşur. Aksonları hilus nöronlarını ve CA3'ü innerve eden glutamaterjik, ekzitatör mossy liflerinden oluşur. Yoğun çinko içeriğine sahiptir.

2-Moleküler tabaka: Kalın bir band şeklindedir ve hipokampusun moleküler tabakasından hipokampal sulkus ile ayrılır. Dış üste ikilik kısmı perforan yolaktan lifler alır, stratum granulosuma yakın olarak yer alan iç üste birlik kısım kommissural veya septal liflerden oluşur. Moleküler ve polimorfik tabakanın GABA-erjik basket hücreleri, granüler hücreleri inhibe eder.

3-Polimorfik tabaka (dentat girus hilusu): Konkav granüler hücre tabakasıyla çevrelenmiştir. Dentat girus hilusunda birçok nöronal hücre tipi bulunmaktadır. Bunlardan biri mossy lifleriyle innerve edilen mossy hücreleridir; diğer hilar hücreler nöropeptid Y, somatostatin, ve diğer nöropeptidleri içerir (2).



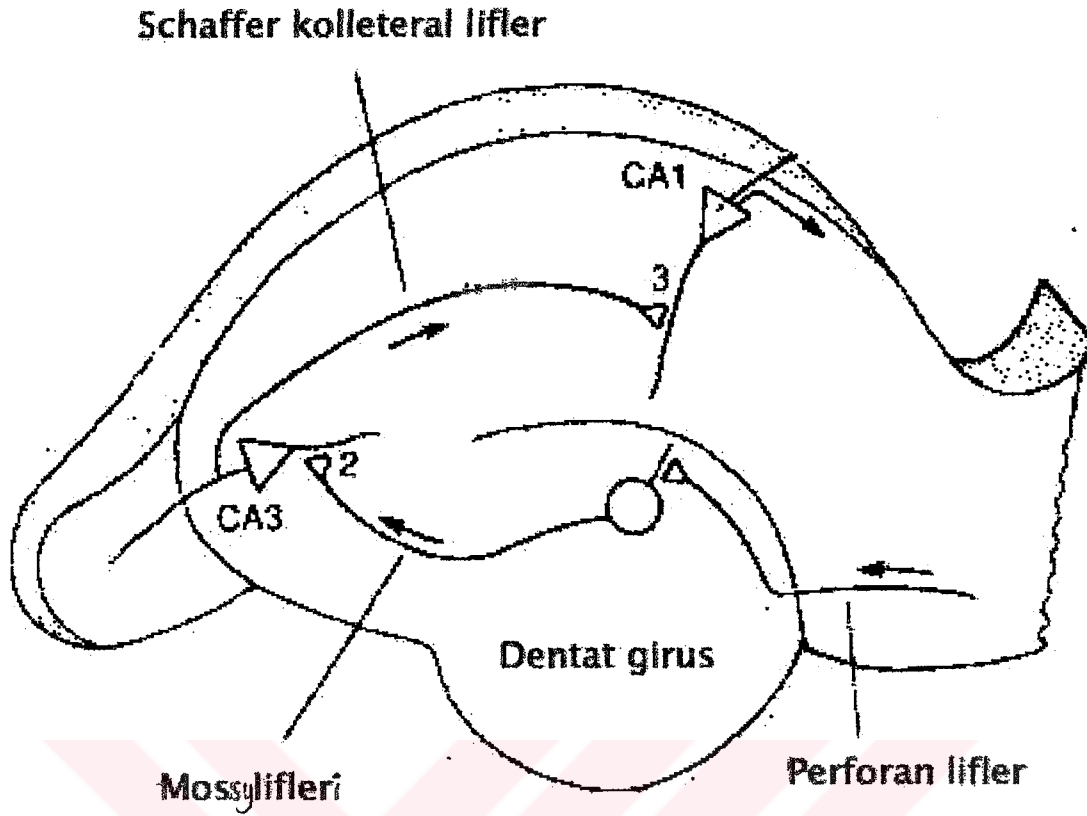
Şekil 7: İnsan beyni hipokampus koronal kesiti.



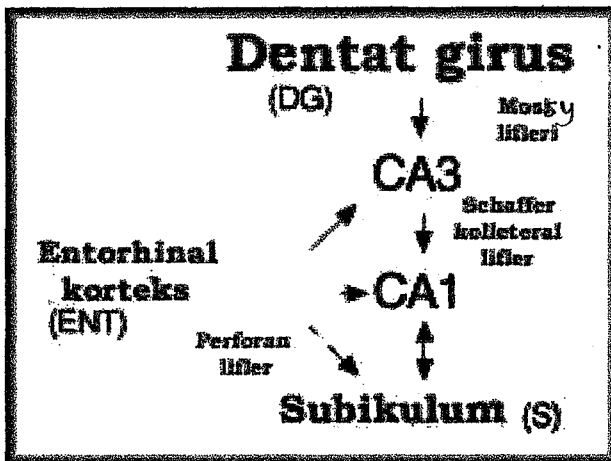
Şekil 8: Hipokampus koronal kesiti. FI: Fimbria, OR: Stratum oriens, PY: piramidal hücre tabakası, SP: Schaffer lifleri, RD: Stratum radiatum, LM: Stratum lakunozum, MP: Mossy lifleri, GC: Granül hücre tabakası, ML: Moleküler tabaka, SG: Stratum granulozum, FD: Dentat girus, OL: Dış moleküler tabaka.

3.1.3. Hipokampus Yolakları:

Üç hipokampal yapının (dentat girus, Ammon boynuzu, ve subikulum) her biri arasında ve Ammon boynuzunun üç alt alanı arasındaki bağlantılar "ekzitatör feedback döngüye" katkıda bulunur . Hipokampus içi yolaklar Şekil 9 ve 10'da gösterilmiştir. Neokortikal, subkortikal, prekommissural septal ve beyin sapı afferentleri dentat girusla hipokampusa girer. Dentat granül hücrelerin aksonal projeksiyonları CA3 alanındaki hilar hücrelerle sinaps yapar. Bu dentat projeksiyonlar, mossy lifleri olarak adlandırılır ve "ekzitatör glutamat input"u hilus ve CA3'e taşır (4). CA3 alanından CA1 alanına Schaffer kolleteralleri bulunmaktadır. Schaffer kolleterallerinin sinaptik bağlantıları "stratum lakunozum" tabakasında yer alır. Hipokampus içi polisinpaptik yolaklar korteks ile çok sayıda bağlantı oluşturur(5).



Şekil 9: Hipokampus yolakları. Entorhinal korteksten perforan lifler dentat girusa, dentat girustan mossy lifleri CA3 alanına, CA3 alanından Schaffer kolleteralleri CA1'e iletilir.



Şekil 10: Şematik olarak hipokampus yolakları.

3.2. Büyüme Faktörleri

3.2.1. Polipeptid Büyüme Faktörleri:

Sinir sisteminde, nöronlar, yapılarını ve fonksiyonlarını etkileyen birçok çevresel uyarıya maruz kalır. Bu uyarılar içinde en belirgin olanları büyüme faktörleri ve nörotransmitterlerin yaptığı uyarılardır (6). Nöronal altyapının gelişimi ve devamlılığında nörotrofik faktörlerin rolü, son zamanlarda "nöronal büyüme faktörleri" (NBF) ailesinin birçok üyesinin klonlanmasıyla büyük ilgi toplamıştır (7).

Polipeptid büyüme faktörleri, *in vitro* ve *in vivo* ortamda hücre çoğalması ve farklılaşmasını düzenleyen hormon-benzeri makromoleküllerdir. Bu düzenleme, kısmen, büyüme faktörlerinin yüksek afinitesi ile hücre yüzey reseptörleriyle etkileşimlerinden ve daha sonra hücrelerde gen ekspresyonu değişikliklerinin yansıması ile gerçekleşir. Mitojenik veya farklılaşma şeklinde ortaya çıkan cevaplarda hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanan büyüme faktörleriyle ateşlenen sinyal iletimi mekanizması bilinmemektedir (8).

3.2.1.1. Fibroblast Büyüme Faktörleri:

Heparine bağlanan polipeptid büyüme faktörleri ailesinden olan fibroblast büyüme faktörleri (FBF) (9, 10, 11, 12), başlangıçta kültür ortamındaki fibroblast bölünmesinde öncü (promotor) etki yapan protein mitojenleridir (13, 14, 15).

Trowell ve arkadaşları 1930'larda hipofiz ve beyin özütlerinin fibroblastlar üzerinde yüksek mitojenik aktiviteye yol açtığını tanımlamışlardır. Saflaştırma işlemleri iki ana proteinin varlığını ortaya çıkarmıştır, bunlar %60 homoloji gösteren birisi asidik diğeri bazik ve sırasıyla asidik FBF (aFBF) ve bazik FBF (bFBF) olarak adlandırılan büyüme faktörleridir (14). Bunlar FBF ailesinin en çok çalışılan üyeleridir (8).

aFBF ve bFBF'nin yanısıra bu ailenin diğ er  yeleri "Human Transforming Gene" (HST) (16), "interlökin-2" (Int-2) (17), "FBF-5" (18), "FBF-6" (19), ve "keratinosit büyüme faktörü" (KBF) (20) ile de çalışılmalar devam etmektedir. Bu ailede yer alan üyeler yapısal benzerlikler gösterirler, heparine yüksek afiniteyle bağlanırlar ve bölünmeyi uyarırlar (9).

bFBF'nin yaygın olarak dağılımı ve etkilediği birçok hücre tipinin olması bFBF ne farklı isimlerin verilmesine yol açmıştır, yaklaşık 16 tane isim bulunmaktadır (21). Bunlar:

1. Lösemi büyüme faktörü (timus)
2. Makrofaj büyüme faktörü
3. Embriyonik böbrekten türetilen anjiogenez faktörü 2
4. Prostatik büyüme faktörü
5. Astroglial büyüme faktörü 2
6. Endotelial büyüme faktörü
7. Tümör anjiogenez faktörü
8. Hepatoma büyüme faktörü
9. Kondrosarkoma büyüme faktörü
10. Kıkırdaktan türetilen büyüme faktörü I
11. Gözden türetilen büyüme faktörü I
12. Heparine bağlanan büyüme faktörleri sınıf II
13. Miyojenik büyüme faktörü
14. İnsan plasenta pürifiye faktör
15. Uterustan türetilen büyüme faktörü
16. Bazik fibroblast büyüme faktörü (bFBF=FBF-2) d r.

3.2.1.1.1. bFBF'nin Moleküler Özellikleri:

bFBF sığır hipofizi, beyin (sığır, sıçan, kobay, insan), göz ve retinadan saflaştırılır. Büyüklüğü proteinin N-ucuna göre değişkenlik gösterir ($15.6-17.8 \times 10^3 M_r$). Dokuya spesifik olduğu düşünülmektedir. Çünkü bulunduğu dokuya göre farklı isimlerle adlandırılır, heterojenik özelliklerinin fonksiyonunu etkilemediği düşünülmektedir. Yapısında 154 amino asit bulunmaktadır (22).

Dizi (sequence) analizi öncü molekülün varlığını düşündüren 5' –uzantılı başlangıç kodonunu (5'-extended open reading frame) ortaya çıkarmıştır. Bunun yanında, $18 \times 10^3 M_r$ bFBF'nin dizi analizi tipik sinyal dizisinin olmadığını ve buna bağlı olarak bFBF'nin hücreden salınıp salınmadığının kesin olarak bilinmediğini ortaya koymuştur (22).

bFBF granüllü endoplazmik retikulum (GER) membranlarından sentezlenen polipeptid zincirinin, eş zamanlı değişimini içeren, normal GER döngüsü içerisinde salınmayan bir formda sentez edilir (8). Bunun yanında, hücrelerden belirgin bFBF salınımı olmaması (23, 24, 25), bFBF'nin sekresyon ürünü olmadığını düşündürmektedir (26).

Sinyal peptidinin olmaması salınmadığını düşündürse de bFBF'nin hücrelerden salındığını gösteren pekçok deneysel gözlem bulunmaktadır (22). bFBF:

- (1) Kültür edilmiş hücrelerden salınır,
- (2) vücut sıvılarında bulunmaktadır,
- (3) adrenal kromafin hücrelerinin sekretuar organellerinde bulunmaktadır,
- (4) Birçok etkisinin spesifik membrana bağlı yüzey reseptörleriyle oluştuğu düşünülmektedir,
- (5) *in vitro* ve *in vivo* ekstraselüler matrikste bulunmaktadır,
- (6) anti-bFBF antikorları endotel hücrelerinin otokrin büyümesini engeller.

Yukarıdaki sebeplerden bFBF sinyal peptidi olmamasına rağmen hücreden salınabilen interleokine ve diğ er bazı proteinlere benzer. Bu yüzden, bFBF regüle bir yoldan farklı bir mekanizmayla, veya sinyal peptidi içeren bir  nc  molekülüyle salınır(22).

Sıçan sinir sisteminde varolan    bFBF izoformu arasında, en büyük iki tanesi (21.5 kDa ve 22.5 kDa)  ekirdekte bulunmaktadır ve nükleer translokasyon sinyali içerir, en küçük izoformu (18 kDa) sitoplazmada bulunmaktadır ve nükleer translokasyon sinyali içermez (27, 28).

bFBF'nin üç-boyutlu yapısı daha ortaya  ıkarılmamı tır, fakat aktivitesi için disülfid bağıının önemli olmadığı düşünülmektedir. Sentetik peptidlerden elde edilen bilgiler bFBF'nin N-terminal ve C-terminal alanlarının heparine ve bFBF resept lerine bağılanmak için gerekli olduğu sonucunu getirmektedir (22).

bFBF mRNA değerleri birçok hücre tipinde düşüktür. Bu mRNA'nın kararsızlığına bağılıdır. Fakat, protein değerleri, çoğu hücre tipinde özellikle beyin, hipofiz, adrenal bez gibi nöroektodermal dokularda yüksektir (22). Bunun yanında, bFBF mRNA'sı birçok beyin bölgesinde sentezlenir, ve bFBF mRNA içeriği postnatal 1. günden postnatal 21. güne kadar progresif olarak artmaktadır (29).

Birçok hücre ve doku tipi heparine bağılanan mitojenik faktörler içerir, bunların birçoğu FBF olarak belirlenmiştir. bFBF tüm dokularda olmasa bile çok sayıda hücrede bulunur ve birçok hücre tipi tarafından eksprese edilir. bFBF ekspresyonunun hücre tipine ve gelişimsel ya a göre farklı şekillerde regüle edildiği düşünülmektedir (22). Astrositler, kapiler endotel hücreleri, vasküler düz kas hücreleri ve lokalizasyona bağılı olarak nöronlar bFBF içerir (30).

Heparan sülfat proteoglikanları (HSPG) hayvan dokularında geniş bir şekilde yayılım gösterir, fakat en belirgin lokalizasyonu hücre membranları ve bazal membrandır. HSPG'lerinin birçok önemli hücre davranışındaki etkileri (hücre adezyonu, büyüme ve morfogenez vb.) heparan sülfat (HS) zincirlerine spesifik bağlanma özelliklerine bağlıdır. Bu polisakkaritler, N-sülfat glukozamin ve ester sülfat grupları olan ve N-asetilglukozaminden zengin sülfat konsantrasyonu az dizilerle ayrılan gruplardır. Sülfatlı alanlar HS fonksiyonu için önemli spesifik proteinlerle etkileşimlerde şeker dizileri içerir. HSPG bFBF aktivitesini düzenlemede rol oynarlar (31).

bFBF birçok farklı proteinin sentezinde kantitatif ve kalitatif değişikliklere, S-100 peptidinin, glutamin sentazın, serbest ribozomların, Na^+ ve K^+ 'un hücre içine alınımının, S6 protein kinaz aktivitesinin ve plazminojen aktivatör salınımının artmasına sebep olur. Bu olayların çoğu astrositlerin maturasyonu ile ilişkilidir (22).

3.2.1.1.2. bFBF Reseptörleri

bFBF reseptörleri tanımlanmıştır. Sinyal transdüksiyon olayları diğer bilinen büyüme faktörlerine benzemektedir. Bunlara örnek olarak onkojen indüksiyonu, protein kinaz C aktivasyonu, Ca^{2+} hücre içine alınımı (influx), ribozomal protein S6 fosforilasyonunu verebiliriz (22).

Bu zamana kadar dört tip yüksek afinite FBF reseptörleri (FBFR) tanımlanmıştır, FBFR-1 veya flg, FBFR-2 veya bek, FBFR-3, ve FBFR-4. FBFR-1'in beyin plastisitesinde ve FBF etkisinin modülasyonunda önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Bu reseptör seçici bağlanma afinitesiyle FBF-2 (bFBF) ve FBF-5'i tanır. FBF-2'ye nazaran, FBF-5 hücrelerden salınımını kontrol eden sinyal peptide sahiptir ve belli nöronal popülasyonda bulunur. Bu sebeple, FBF-5 ve FBF-2'nin salınım ve regülasyon mekanizmaları farklıdır (32).

Hücre membranını kaplayan ve tirozin kinaz içeren FBF hücre yüzey reseptörleri sinir sistemi boyunca geniş bir alanda eksprese edilir, ve FBF'lerin biyolojik olarak aktif olabilmeleri için spesifik heparan proteoglikanlarla bu reseptörlerde bulunmaları gerektiği düşünülmektedir (33).

3.2.1.1.3. bFBF'nin Etkileri:

In vitro ve *in vivo*, mezenkimal ve nöroektodermal hücrelerde:

- proliferasyonda indüksiyon ve artış (34, 35)
- yaşam devamlılığı (22, 34, 35, 36, 37, 38)
- apoptotik hücre ölümü inhibisyonu (28)
- morfolojik değişiklikler
- gelişim
- farklılaşma
- yaşlanmanın gecikmesi
- anjiogenez
- neovaskülarizasyon
- doku farklılaşması
- doku spesifik fonksiyonların regülasyonu
- yara iyileşmesi
- anormal hücre farklılaşması ve büyümesi (tümör büyümesi) (22).

3.2.1.1.4. bFBF Glia Hücreleri ve Nöronlar:

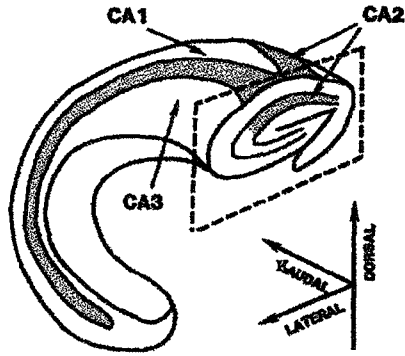
bFBF glia hücreleri üzerinde özellikle proliferasyon ve farklılaşma olarak birçok etki gösterir. Bu etkiler glioblastlar (proliferasyon, farklılaşmanın inhibisyonu), astrositler (proliferasyon, maturasyon) ve oligodendrositler (büyük ihtimalle proliferasyon, maturasyon inhibisyonu) için farklı görünmektedir. Bu sebeplerden, bFBF glial hücre bazında, glial hücre morfoloji ve fizyolojisini etkilemeyen NBF'den farklıdır (22).

Pettman ve arkadaşlarının (1986) 9, 18, 40 günlük sıçanlarda , monoklonal ve poliklonal FBF kullanarak yaptığı immünohistokimyasal çalışmada, hipokampus alanında piramidal hücrelerin hücre gövdeleri ve dendritlerinde FBF işaretlenmesi görülmesine rağmen, CA4 bölgesinin granül hücrelerinde (dentat girus) sadece hücre gövdelerinde işaretlenme gözlenmiştir (39).

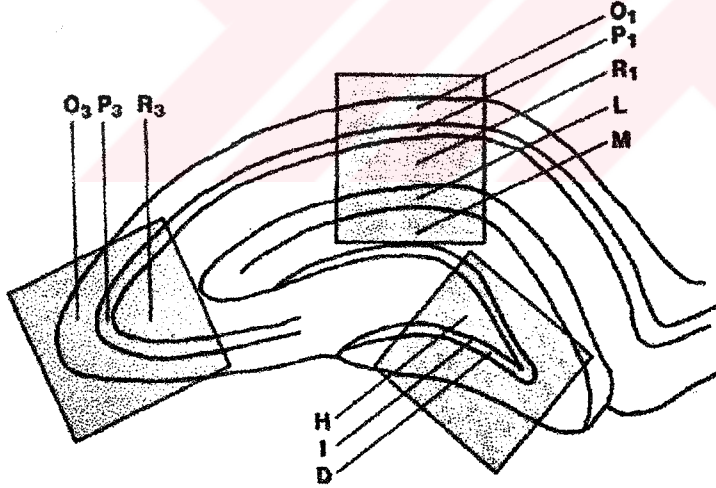
Matsuyama ve arkadaşlarının (1992) erişkin erkek Wistar sıçanlarda, sentetik bFBF parçasına (N-terminali 12 aminoasitli) karşı spesifik antikor kullanarak tüm beyinde yaptığı immünohistokimyasal çalışmada, hipokampusun CA1-CA3 alanlarında çok sayıda bFBF-ir piramidal ve ekstrapiramidal nöronları gözlemlemiştir. bFBF immünoreaktivitesi CA2 ve subikulum alanlarında en yüksek yoğunlukta bulunmuş, buna karşın dentat girusta özellikle granüler tabakada ve az sayıda polimorfik tabakada pozitif hücrelere rastlanmıştır (40).

Woodward ve arkadaşlarının (1992) dişi yenidoğan ve erişkin Sprague-Dawney sıçanlarda, fare monoklonal anti-bFBF kullanarak tüm beyinde yaptığı immünohistokimyasal çalışmada, hipokampusun CA2 alanında bFBF-ir piramidal nöronlar ve merkezi sinir sisteminin tüm alanlarında bFBF-ir astrositler gözlenmiştir. İmmunositokimyasal analiz, bFBF immünoreaktivitesinin astrosit ve CA2 piramidal nöronlarının çekirdek ve sitoplazmasında olduğunu göstermiştir (9).

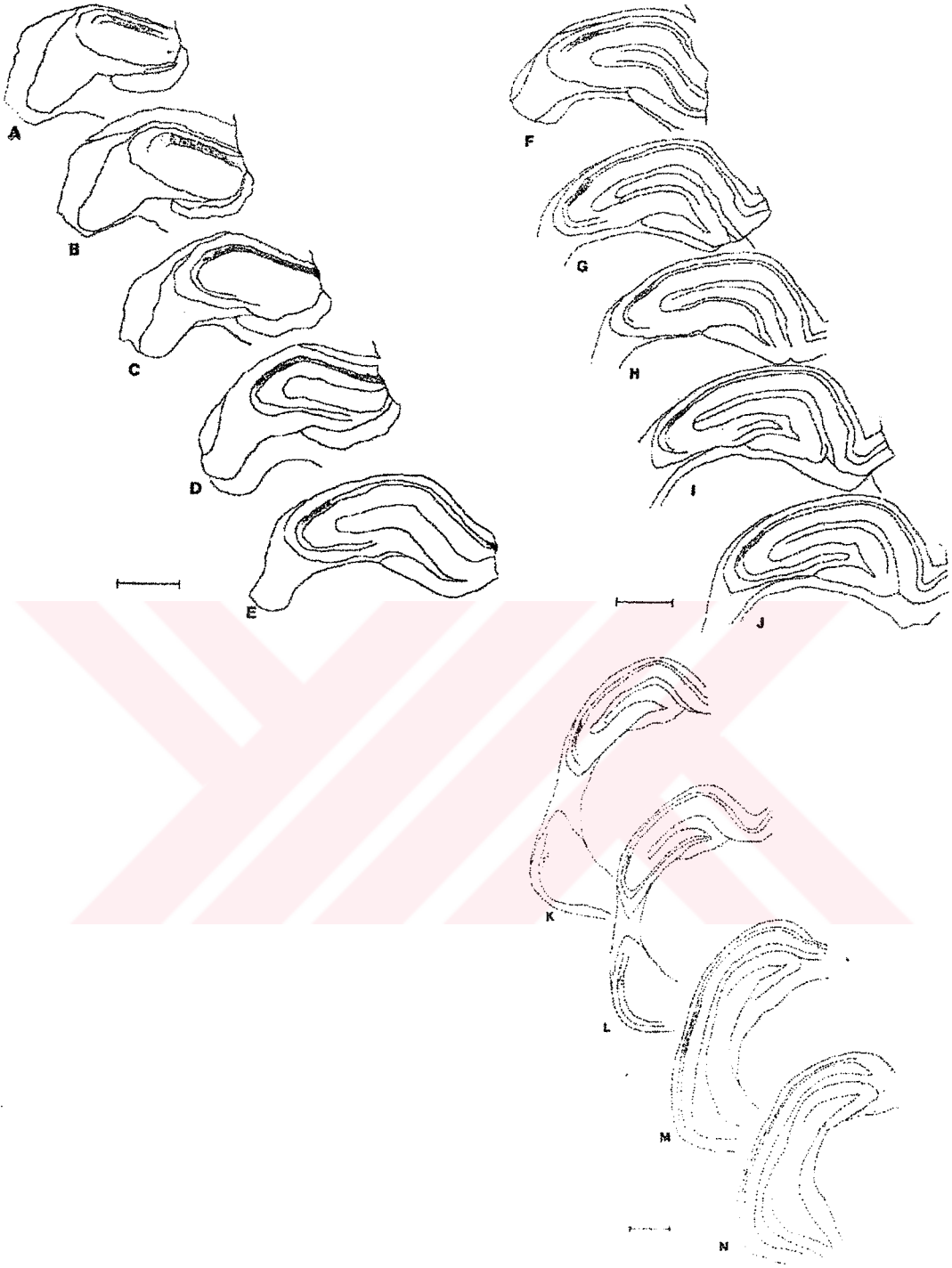
Williams ve arkadaşlarının (1996) erişkin sıçanlarda, fare monoklonal anti-bFBF kullanarak yaptığı immünohistokimyasal çalışmada hipokampusun CA2 alanında bFBF-ir piramidal nöronlarının şematik dağılımı (Şekil 11) gösterilmiş, dorsal hipokampus boyunca bFBF-ir astrositler sayılmış (Şekil 12) ve CA2 alanında piramidal nöronların lokalizasyonunu gösteren sıçan hipokampusu boyunca seri koronal kesitlerin kamera lusida görüntüsü (Şekil 13) çıkarılmıştır (27).



Şekil 11: Hipokampusun CA2 alanında bFBF-ir piramidal nöronlarının şematik dağılımı. CA2 alanında bFBF-ir piramidal nöronlar koyu boyalı olarak gösterilmiştir. Bu nöronlar dorsal hipokampusta orta alanlara yakın yerlerden başlangıç alır, hipokampusun septal kutuplarında ayrılır ve dorsal hipokampustan temporal kutba kadar Ammon boynuzunun superior lateral eğrisinde ince bir band olarak devam eder. Kesik çizgiler dorsal hipokampus septal kutup boyunca koronal kesitini göstermektedir(27).



Şekil 12: bFBF-ir astrositleri saymak için kullanılan üç bölgeyi (Dentat girus: D (granüler hücre tabakası); I (granüler hücre tabakasıyla hilus arasında kalan bölge); H (hilus)); CA3 (O3: CA3 alanı stratum oriens; P3: CA3 alanı stratum pyramidale; R3(CA3 alanı stratum radiatum)); CA1 (O1: CA1 alanı stratum oriens; P1: CA1 alanı stratum pyramidale; R1: CA1 alanı stratum oriens)); Moleküler alan (L: stratum lakunozum; M: stratum molekülare)) gösteren hipokampus şeması (27).



Şekil 13: bFBF-ir piramidal nöronların lokalizasyonunu gösteren sıçan hipokampusu boyunca seri koronal kesitlerin kamera lusida görüntüsü. Kesitler $\approx 250\text{-}\mu\text{m}$ aralıklarla septal kutuptan başlayarak gösterilmiştir. BFBF-ir nöronlar siyah noktalarla gösterilmiştir. Bar: 1mm (27).

4. AMAÇ

In vitro çalışmalarda bFbF'nin birçok fizyolojik özellikleri hakkında bilgi sahibi olmamıza rağmen, beyindeki lokalizasyonu ve etkisi hala kesin olarak bilinmemektedir (9). Wetmore C ve arkadaşları (1994) nöropeptidlerin akson terminalinde gerçekleşen depolanma ve salınımlarından farklı olarak, nörotrofik faktörlerin salınımı direk olarak somatik ve/veya dendritik alanlardan olabileceğini ve hipokampüste otokrin ve parakrin etkilerle lokal devrenin devamlılığında bir rol oynayabileceğini belirtmişlerdir (41). Embriyonik gelişim sırasında ve erişkin beyinde nöron ölümü, nöronal hasarı izleyen reaktif glioz ve rejenerasyon da bFbF'nin nasıl bir rol oynadığı tam olarak bilinmemektedir (9). Matson MP ve arkadaşları (1989), Liu Z ve arkadaşları (1993) FbF-2 (bFbF) nöronları ölümden koruyor olabileceğini (42, 43). Gritta A ve arkadaşları (1999), Wagner JP ve arkadaşları (1999) ve Palmer TD ve arkadaşları (1999) bFbF'nün nöronal rejenerasyonu arttırdığını düşünmektedir (44, 45, 46). Bunların yanında Woodward WR ve arkadaşları (1992) sinir sisteminin farklı bölgelerinde, bFbF farklı tip hücreler tarafından eksprese ediliyor olabileceği üzerinde durmuşlardır (9). Westermann R ve arkadaşları (1990) bFbF ekspresyonu büyüme sırasında veya farklı fizyolojik durumlarda kalitatif ve kantitatif olarak değişikliğe uğrayabileceği ve nöroektodermden derive tüm hücrelerin belli koşullar altında bFbF eksprese etme kapasitesi olduğunu düşünmektedir (22).

Yaşlanma, öğrenme ve hafıza gibi kognitif fonksiyonlarda azalmayla beraber nörobiyolojik değişikliklere sebep olur (47, 48, 49, 50). Uzaysal hafızada kritik bir rol oynayan hipokampus, yaşlanma sürecine son derece duyarlıdır ve yaşı ilerlemesiyle yapısal ve fizyolojik değişiklikler gösteren bölgelerden biridir (51).

Genel olarak, yaşa bağlı kognitif değişiklikler hipokampus plastisitesinde azalma ve sonuçta büyüme faktör ekspresyonunda değişikliklere bağlı olabilir. Bu çalışmanın amacı, sıçan hipokampüsünde, yaşa bağlı olarak oluşan bFbF immünoreaktivitesindeki değişiklikleri immünohistokimyasal ve immünositokimyasal metodlarla incelemektir.

5. MATERYAL VE METOD:

Bu çalışmada Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan alınan, uygun kafesler içinde 12 saat ışık-karanlık ortamda tutulan, standart sıçan yemi ile beslenen 2 aylık (n=4), 4 aylık (n=4), 1 yaşında (n=4) ve 2 yaşında (n=4) Wistar albino sıçanlar kullanıldı. Bu çalışma Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Etik Kurulu (0.3.2002-mar-7.3.2002) tarafından onaylandı.

5.1. Işık Mikroskopi

5.1.1. Perfüzyon Fiksasyonu

Sıçanlara ketamin (0.1 cc/100 g) ve xylazin hidroklorid (0.05 cc/100 g) ile anestezi uygulandı. Derin anestezi oluştuktan sonra göğüs kafesi açıldı ve aortadan perfüzyon pompası ile 50 ml/dk hızında intraaortik yoldan önce serum fizyolojik verilerek kan uzaklaştırıldı. Sonra aynı yol ile aralıksız olarak fosfat tamponu solusyonu (PBS) içinde %3 paraformaldehid - %0.2 Glutaraldehid (pH=7.4, 0.1 M) fiksatif verildi (52). Perfüzyon işleminden sonra hayvanlar dekapite edildi ve beyinleri çıkarıldı. Sağ ve sol hemisferler birbirlerinden ayrıldı. Postfiksasyon +4 °C'de 2 saat aynı fiksatif kullanılarak yapıldı. 0.1 M PBS'de yıkama işleminden sonra 48 saat %30 sükröz ile infiltrasyon işlemi uygulandı. Dorsal hipokampustan kriyostat ile belli aralıklarla (5 kesitte bir) 50 µm'lik transvers kesitler silanli (3-aminopropyltriethoxy-silan-(APES)) lamlara alındı ve immünohistokimyasal veya histolojik çalışma yapılana kadar % 0.2 Sodyum azid içeren 20 mM PBS'de +4 °C'de saklandı (27).

5.1.2. Nissl (Kresil Viole) Boyama Metodu:

Farklı yaş gruplarındaki Wistar albino erkek sıçanlardan alınan 50 µm kalınlığındaki dorsal hipokampus kriyostat kesitleri % 1'lik filtre edilmiş Kresil viole ile 5-10 dakika süreyle boyandı. Distile sudan geçirilip, boyanın büyük bir kısmı gidene kadar % 96'lık

alkolde bırakıldı. % 100 alkolden geçirildikten sonra 5-10 dakika toluene alındı ve entellanla kapatıldı.

5.1.3. İmmunohistokimya:

Kriyo kesitler için immünohistokimya metodu olarak William ve arkadaşlarının kullandığı metod (27) uygulandı. Tüm inkübasyon işlemleri oda sıcaklığında yapıldı. Kesitler ilk olarak PBS içinde % 0.5 Triton X-100 (Sigma, T-9284), % 10 at serumu (Sigma, H-0146), ve % 0.05 sodyum azid içeren bloklama solüsyonunda 1 saat bırakıldı. Bloklama solüsyonuyla sulandırılan fare monoklonal anti-bFbF pirimer antikor (1:1000) (Sigma, F-6162) solüsyonunda gece boyunca tutuldu. 0.1 M PBS'de üç defa 5 dakika yıkama işleminden sonra, % 5 liyofilize fare serumu (Sigma, R-9759) içeren bloklama solüsyonuyla sulandırılan anti-fare sekonder antikorunda (1:50) (Sigma, B-0529) 1 saat süre ile inkübe edildi. 0.1 M PBS'de üç defa yıkama işleminin ardından, extravidin-biotin-peroksidaz (Sigma, E-2886) kompleksinde 1 saat inkübe edildi. Peroksidaz reaksiyonu PBS içinde 10-15 dk 1 mg/ml diaminobenzidin (DAB) (Sigma, D-4168) ve %0.03 hidrojen peroksit ile yapıldı. Kesitler 0.1 M PBS'de yıkandıktan sonra, alkol serilerinden (% 50, % 90, % 96, % 100) geçirilip toluen ile şeffaflandırıldıktan sonra entellanla kapatıldı. Boyalı kesitler Olimpos BH2 fotomikroskobu ile incelendi ve fotoğraflandı.

5.1.4. Kantitatif Analiz

Bu çalışmada, ışık mikroskopik düzeyde bFbF-immünoreaktivitesini değerlendirmede, her yaş için (2 aylık, 4 aylık, 1 yaş ve 2 yaş) dorsal hipokampusun farklı transvers kesit düzeyleri (5 kesitte bir) dikkate alınmıştır. Bu kesit düzeyleri William ve arkadaşlarının (27) CA2 alanında piramidal nöronların lokalizasyonunu gösteren sıçan hipokampusu boyunca seri koronal kesitlerin kamera lusida görüntüsünde (Şekil 13) D, E, F, G, H, I, J idi.

Şekil 12’de görülen 3 hipokampus alanındaki bFBF ir pozitif astrosit ve CA2 nöronları sayıldı. Bu alanlar:

1) Dentat girus bölgesi:

-H (Hilus, CA4)

-I (İnterfaz: dentat girusun granüler hücre tabakasıyla hilus arasında kalan alan)

-D (Dentat :dentat granüler hücre tabakası)

2) CA3 alanı:

-R3 (Stratum Radiatum)

-P3 (Stratum Pyramidale)

-O3 (Stratum Oriens)

3) CA1 alanı:

-R1 (Stratum Radiatum)

-P1 (Stratum Pyramidale)

-O1 (Stratum Oriens)

Moleküler alan:

-L (Stratum Lakunozum Molekölare)

-M (Moleküler Tabaka)

CA2 alanı:

-N (CA2 piramidal nöronlar)

Belirtilen bölgelerdeki astrositler ve CA2 nöronları X10 büyütmede Nikon Alphaplot-2 YS2 ışık mikroskobu ile metrik oküler kullanılarak $10^6 = 1\,000\,000\,\mu\text{m}^2$ lik alanda sayıldı.

5.1.5. İstatistiksel Analiz:

Elde edilen sayısal değerler tek yönlü ANOVA ve Tukey-Kramer çoklu karşılaştırma

testi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi. P değeri <0.01 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5.2. Elektron Mikroskopi

Işık mikroskopi preparasyonunda belirtildiği gibi perfüzyonu yapılmış olan beyinlerin sol hemisferleri bFbF immünoaktivitesini incelemek için hazırlandı. Ancak dokular %30 sukrozda infiltrasyon işlemine alınmadı.

5.2.1. Preembedding İmmünohistokimya:

Tüm sıçanların (2 ay, 4 ay, 1 yaşında ve 2 yaşında) sol hipokampuslarından 100µm'lik koronal vibratom kesitler alındı. Daha sonra steryomikroskop altında hipokampus alanları üç sektöre ayrıldı. Bu sektörler:

- 1) Dentat girus ve hilus alanını içine alan sektör,
- 2) Çoğunlukla CA2 alanını içine alan sektör,
- 3) Çoğunlukla CA3 alanını içine alan sektör.

İmmünohistokimyasal inkübasyonlarda, Triton-X 100 konsantrasyonu % 0.2'ye indirilerek kullanıldı. Diğer tüm immünohistokimya basamakları ışık mikroskopi immunohistokimyasında belirtildiği gibi uygulandı. DAB ile peroksidaz reaksiyonundan sonra kesitler PBS ile yıkandı. Daha sonra, 100 mM kakodilat tamponda (pH:7.3) % 1'lik Osmium tetroksit (OsO₄) ile 1 saat süreli postfiksasyon yapıldı (27), dehidratasyon amacı ile yükselen alkol serilerinden (% 50, % 70, % 95, % 100) ve propilen oksitten geçirilerek dehidrate edildi. EPON 812 ortamına gömülen doku örnekleri, 60 °C'de polimerize edildi. Doku bloklarından Leica Ultracut S ultramikroskop ile yarı-ince (1 mikrometre) ve ince (60 nm) kesitler alındı. Uygun alanlardan alınan ince kesitler, uranil asetat ve kurşun sitrat ile kontrastlanarak, JEOL 1200 SX transmisyon elektron mikroskopunda incelendi.

6. BULGULAR

6.1. Işıık Mikroskopi :

6.1.1. Nissl (Kresil Viole) Boyama Bulguları:

Nissl boyama uygulanmış, tüm gruplardaki sıçanların (2 ay, 4 ay, 1 yaş, 2 yaş) hipokampusunda Ammon boynuzu (CA1, CA2, CA3, CA4) ve dentat girus alanları (D, I, H) düzenli morfolojide izlendi. CA1 alanında diğer sektörlerdekinden daha küçük boyutlarda olan piramidal hücrelerin somaları (P1) mavi-mor renkte boyalı görüldü. CA2 bölgesindeki piramidal nöronların CA1 piramidal nöronlarından daha büyük oldukları izlendi. Dentat girus granüler hücrelerinin Ammon boynuzu piramidal nöronlarından daha küçük, yuvarlak ve daha çok katmanlı bir yapıda olduğu izlendi (Resim 1, 2, 3, 4). Yaşlı sıçanlarda (1 yaş, 2 yaş) tüm hipokampus alanlarındaki nöronlarda genel olarak daha koyu boyandı, hücre uzantıları daha belirgin olarak izlendi (Resim 3, 4).

6. BULGULAR

6.1. Işıık Mikroskopi :

6.1.1. Nissl (Kresil Viole) Boyama Bulguları:

Nissl boyama uygulanmış, tüm gruplardaki sıçanların (2 ay, 4 ay, 1 yaş, 2 yaş) hipokampusunda Ammon boynuzu (CA1, CA2, CA3, CA4) ve dentat girus alanları (D, I, H) düzenli morfolojide izlendi. CA1 alanında diğer sektörlerdekinden daha küçük boyutlarda olan piramidal hücrelerin somaları (P1) mavi-mor renkte boyalı görüldü. CA2 bölgesindeki piramidal nöronların CA1 piramidal nöronlarından daha büyük oldukları izlendi. Dentat girus granüler hücrelerinin Ammon boynuzu piramidal nöronlarından daha küçük, yuvarlak ve daha çok katmanlı bir yapıda olduğu izlendi (Resim 1, 2, 3, 4). Yaşlı sıçanlarda (1 yaş, 2 yaş) tüm hipokampus alanlarındaki nöronlarda genel olarak daha koyu boyandı, hücre uzantıları daha belirgin olarak izlendi (Resim 3, 4).

6. BULGULAR

6.1. Işıık Mikroskopi :

6.1.1. Nissl (Kresil Viole) Boyama Bulguları:

Nissl boyama uygulanmış, tüm gruplardaki sıçanların (2 ay, 4 ay, 1 yaş, 2 yaş) hipokampusunda Ammon boynuzu (CA1, CA2, CA3, CA4) ve dentat girus alanları (D, I, H) düzenli morfolojide izlendi. CA1 alanında diğer sektörlerdekinden daha küçük boyutlarda olan piramidal hücrelerin somaları (P1) mavi-mor renkte boyalı görüldü. CA2 bölgesindeki piramidal nöronların CA1 piramidal nöronlarından daha büyük oldukları izlendi. Dentat girus granüler hücrelerinin Ammon boynuzu piramidal nöronlarından daha küçük, yuvarlak ve daha çok katmanlı bir yapıda olduğu izlendi (Resim 1, 2, 3, 4). Yaşlı sıçanlarda (1 yaş, 2 yaş) tüm hipokampus alanlarındaki nöronlarda genel olarak daha koyu boyandı, hücre uzantıları daha belirgin olarak izlendi (Resim 3, 4).

6. BULGULAR

6.1. Işıık Mikroskopi :

6.1.1. Nissl (Kresil Viole) Boyama Bulguları:

Nissl boyama uygulanmış, tüm gruplardaki sıçanların (2 ay, 4 ay, 1 yaş, 2 yaş) hipokampusunda Ammon boynuzu (CA1, CA2, CA3, CA4) ve dentat girus alanları (D, I, H) düzenli morfolojide izlendi. CA1 alanında diğer sektörlerdekinden daha küçük boyutlarda olan piramidal hücrelerin somaları (P1) mavi-mor renkte boyalı görüldü. CA2 bölgesindeki piramidal nöronların CA1 piramidal nöronlarından daha büyük oldukları izlendi. Dentat girus granüler hücrelerinin Ammon boynuzu piramidal nöronlarından daha küçük, yuvarlak ve daha çok katmanlı bir yapıda olduğu izlendi (Resim 1, 2, 3, 4). Yaşlı sıçanlarda (1 yaş, 2 yaş) tüm hipokampus alanlarındaki nöronlarda genel olarak daha koyu boyandı, hücre uzantıları daha belirgin olarak izlendi (Resim 3, 4).

6. BULGULAR

6.1. Işıık Mikroskopi :

6.1.1. Nissl (Kresil Viole) Boyama Bulguları:

Nissl boyama uygulanmış, tüm gruplardaki sıçanların (2 ay, 4 ay, 1 yaş, 2 yaş) hipokampusunda Ammon boynuzu (CA1, CA2, CA3, CA4) ve dentat girus alanları (D, I, H) düzenli morfolojide izlendi. CA1 alanında diğer sektörlerdekinden daha küçük boyutlarda olan piramidal hücrelerin somaları (P1) mavi-mor renkte boyalı görüldü. CA2 bölgesindeki piramidal nöronların CA1 piramidal nöronlarından daha büyük oldukları izlendi. Dentat girus granüler hücrelerinin Ammon boynuzu piramidal nöronlarından daha küçük, yuvarlak ve daha çok katmanlı bir yapıda olduğu izlendi (Resim 1, 2, 3, 4). Yaşlı sıçanlarda (1 yaş, 2 yaş) tüm hipokampus alanlarındaki nöronlarda genel olarak daha koyu boyandı, hücre uzantıları daha belirgin olarak izlendi (Resim 3, 4).

6. BULGULAR

6.1. Işıık Mikroskopi :

6.1.1. Nissl (Kresil Viole) Boyama Bulguları:

Nissl boyama uygulanmış, tüm gruplardaki sıçanların (2 ay, 4 ay, 1 yaş, 2 yaş) hipokampusunda Ammon boynuzu (CA1, CA2, CA3, CA4) ve dentat girus alanları (D, I, H) düzenli morfolojide izlendi. CA1 alanında diğer sektörlerdekinden daha küçük boyutlarda olan piramidal hücrelerin somaları (P1) mavi-mor renkte boyalı görüldü. CA2 bölgesindeki piramidal nöronların CA1 piramidal nöronlarından daha büyük oldukları izlendi. Dentat girus granüler hücrelerinin Ammon boynuzu piramidal nöronlarından daha küçük, yuvarlak ve daha çok katmanlı bir yapıda olduğu izlendi (Resim 1, 2, 3, 4). Yaşlı sıçanlarda (1 yaş, 2 yaş) tüm hipokampus alanlarındaki nöronlarda genel olarak daha koyu boyandı, hücre uzantıları daha belirgin olarak izlendi (Resim 3, 4).

6. BULGULAR

6.1. Işıık Mikroskopi :

6.1.1. Nissl (Kresil Viole) Boyama Bulguları:

Nissl boyama uygulanmış, tüm gruplardaki sıçanların (2 ay, 4 ay, 1 yaş, 2 yaş) hipokampusunda Ammon boynuzu (CA1, CA2, CA3, CA4) ve dentat girus alanları (D, I, H) düzenli morfolojide izlendi. CA1 alanında diğer sektörlerdekinden daha küçük boyutlarda olan piramidal hücrelerin somaları (P1) mavi-mor renkte boyalı görüldü. CA2 bölgesindeki piramidal nöronların CA1 piramidal nöronlarından daha büyük oldukları izlendi. Dentat girus granüler hücrelerinin Ammon boynuzu piramidal nöronlarından daha küçük, yuvarlak ve daha çok katmanlı bir yapıda olduğu izlendi (Resim 1, 2, 3, 4). Yaşlı sıçanlarda (1 yaş, 2 yaş) tüm hipokampus alanlarındaki nöronlarda genel olarak daha koyu boyandı, hücre uzantıları daha belirgin olarak izlendi (Resim 3, 4).

6. BULGULAR

6.1. Işıık Mikroskopi :

6.1.1. Nissl (Kresil Viole) Boyama Bulguları:

Nissl boyama uygulanmış, tüm gruplardaki sıçanların (2 ay, 4 ay, 1 yaş, 2 yaş) hipokampusunda Ammon boynuzu (CA1, CA2, CA3, CA4) ve dentat girus alanları (D, I, H) düzenli morfolojide izlendi. CA1 alanında diğer sektörlerdekinden daha küçük boyutlarda olan piramidal hücrelerin somaları (P1) mavi-mor renkte boyalı görüldü. CA2 bölgesindeki piramidal nöronların CA1 piramidal nöronlarından daha büyük oldukları izlendi. Dentat girus granüler hücrelerinin Ammon boynuzu piramidal nöronlarından daha küçük, yuvarlak ve daha çok katmanlı bir yapıda olduğu izlendi (Resim 1, 2, 3, 4). Yaşlı sıçanlarda (1 yaş, 2 yaş) tüm hipokampus alanlarındaki nöronlarda genel olarak daha koyu boyandı, hücre uzantıları daha belirgin olarak izlendi (Resim 3, 4).

6. BULGULAR

6.1. Işıık Mikroskopi :

6.1.1. Nissl (Kresil Viole) Boyama Bulguları:

Nissl boyama uygulanmış, tüm gruplardaki sıçanların (2 ay, 4 ay, 1 yaş, 2 yaş) hipokampusunda Ammon boynuzu (CA1, CA2, CA3, CA4) ve dentat girus alanları (D, I, H) düzenli morfolojide izlendi. CA1 alanında diğer sektörlerdekinden daha küçük boyutlarda olan piramidal hücrelerin somaları (P1) mavi-mor renkte boyalı görüldü. CA2 bölgesindeki piramidal nöronların CA1 piramidal nöronlarından daha büyük oldukları izlendi. Dentat girus granüler hücrelerinin Ammon boynuzu piramidal nöronlarından daha küçük, yuvarlak ve daha çok katmanlı bir yapıda olduğu izlendi (Resim 1, 2, 3, 4). Yaşlı sıçanlarda (1 yaş, 2 yaş) tüm hipokampus alanlarındaki nöronlarda genel olarak daha koyu boyandı, hücre uzantıları daha belirgin olarak izlendi (Resim 3, 4).

6. BULGULAR

6.1. Işıık Mikroskopi :

6.1.1. Nissl (Kresil Viole) Boyama Bulguları:

Nissl boyama uygulanmış, tüm gruplardaki sıçanların (2 ay, 4 ay, 1 yaş, 2 yaş) hipokampusunda Ammon boynuzu (CA1, CA2, CA3, CA4) ve dentat girus alanları (D, I, H) düzenli morfolojide izlendi. CA1 alanında diğer sektörlerdekinden daha küçük boyutlarda olan piramidal hücrelerin somaları (P1) mavi-mor renkte boyalı görüldü. CA2 bölgesindeki piramidal nöronların CA1 piramidal nöronlarından daha büyük oldukları izlendi. Dentat girus granüler hücrelerinin Ammon boynuzu piramidal nöronlarından daha küçük, yuvarlak ve daha çok katmanlı bir yapıda olduğu izlendi (Resim 1, 2, 3, 4). Yaşlı sıçanlarda (1 yaş, 2 yaş) tüm hipokampus alanlarındaki nöronlarda genel olarak daha koyu boyandı, hücre uzantıları daha belirgin olarak izlendi (Resim 3, 4).

6. BULGULAR

6.1. Işıık Mikroskopi :

6.1.1. Nissl (Kresil Viole) Boyama Bulguları:

Nissl boyama uygulanmış, tüm gruplardaki sıçanların (2 ay, 4 ay, 1 yaş, 2 yaş) hipokampusunda Ammon boynuzu (CA1, CA2, CA3, CA4) ve dentat girus alanları (D, I, H) düzenli morfolojide izlendi. CA1 alanında diğer sektörlerdekinden daha küçük boyutlarda olan piramidal hücrelerin somaları (P1) mavi-mor renkte boyalı görüldü. CA2 bölgesindeki piramidal nöronların CA1 piramidal nöronlarından daha büyük oldukları izlendi. Dentat girus granüler hücrelerinin Ammon boynuzu piramidal nöronlarından daha küçük, yuvarlak ve daha çok katmanlı bir yapıda olduğu izlendi (Resim 1, 2, 3, 4). Yaşlı sıçanlarda (1 yaş, 2 yaş) tüm hipokampus alanlarındaki nöronlarda genel olarak daha koyu boyandı, hücre uzantıları daha belirgin olarak izlendi (Resim 3, 4).

6. BULGULAR

6.1. Işıık Mikroskopi :

6.1.1. Nissl (Kresil Viole) Boyama Bulguları:

Nissl boyama uygulanmış, tüm gruplardaki sıçanların (2 ay, 4 ay, 1 yaş, 2 yaş) hipokampusunda Ammon boynuzu (CA1, CA2, CA3, CA4) ve dentat girus alanları (D, I, H) düzenli morfolojide izlendi. CA1 alanında diğer sektörlerdekinden daha küçük boyutlarda olan piramidal hücrelerin somaları (P1) mavi-mor renkte boyalı görüldü. CA2 bölgesindeki piramidal nöronların CA1 piramidal nöronlarından daha büyük oldukları izlendi. Dentat girus granüler hücrelerinin Ammon boynuzu piramidal nöronlarından daha küçük, yuvarlak ve daha çok katmanlı bir yapıda olduğu izlendi (Resim 1, 2, 3, 4). Yaşlı sıçanlarda (1 yaş, 2 yaş) tüm hipokampus alanlarındaki nöronlarda genel olarak daha koyu boyandı, hücre uzantıları daha belirgin olarak izlendi (Resim 3, 4).

6. BULGULAR

6.1. Işıık Mikroskopi :

6.1.1. Nissl (Kresil Viole) Boyama Bulguları:

Nissl boyama uygulanmış, tüm gruplardaki sıçanların (2 ay, 4 ay, 1 yaş, 2 yaş) hipokampusunda Ammon boynuzu (CA1, CA2, CA3, CA4) ve dentat girus alanları (D, I, H) düzenli morfolojide izlendi. CA1 alanında diğer sektörlerdekinden daha küçük boyutlarda olan piramidal hücrelerin somaları (P1) mavi-mor renkte boyalı görüldü. CA2 bölgesindeki piramidal nöronların CA1 piramidal nöronlarından daha büyük oldukları izlendi. Dentat girus granüler hücrelerinin Ammon boynuzu piramidal nöronlarından daha küçük, yuvarlak ve daha çok katmanlı bir yapıda olduğu izlendi (Resim 1, 2, 3, 4). Yaşlı sıçanlarda (1 yaş, 2 yaş) tüm hipokampus alanlarındaki nöronlarda genel olarak daha koyu boyandı, hücre uzantıları daha belirgin olarak izlendi (Resim 3, 4).

6. BULGULAR

6.1. Işıık Mikroskopi :

6.1.1. Nissl (Kresil Viole) Boyama Bulguları:

Nissl boyama uygulanmış, tüm gruplardaki sıçanların (2 ay, 4 ay, 1 yaş, 2 yaş) hipokampusunda Ammon boynuzu (CA1, CA2, CA3, CA4) ve dentat girus alanları (D, I, H) düzenli morfolojide izlendi. CA1 alanında diğer sektörlerdekinden daha küçük boyutlarda olan piramidal hücrelerin somaları (P1) mavi-mor renkte boyalı görüldü. CA2 bölgesindeki piramidal nöronların CA1 piramidal nöronlarından daha büyük oldukları izlendi. Dentat girus granüler hücrelerinin Ammon boynuzu piramidal nöronlarından daha küçük, yuvarlak ve daha çok katmanlı bir yapıda olduğu izlendi (Resim 1, 2, 3, 4). Yaşlı sıçanlarda (1 yaş, 2 yaş) tüm hipokampus alanlarındaki nöronlarda genel olarak daha koyu boyandı, hücre uzantıları daha belirgin olarak izlendi (Resim 3, 4).

6. BULGULAR

6.1. Işıık Mikroskopi :

6.1.1. Nissl (Kresil Viole) Boyama Bulguları:

Nissl boyama uygulanmış, tüm gruplardaki sıçanların (2 ay, 4 ay, 1 yaş, 2 yaş) hipokampusunda Ammon boynuzu (CA1, CA2, CA3, CA4) ve dentat girus alanları (D, I, H) düzenli morfolojide izlendi. CA1 alanında diğer sektörlerdekinden daha küçük boyutlarda olan piramidal hücrelerin somaları (P1) mavi-mor renkte boyalı görüldü. CA2 bölgesindeki piramidal nöronların CA1 piramidal nöronlarından daha büyük oldukları izlendi. Dentat girus granüler hücrelerinin Ammon boynuzu piramidal nöronlarından daha küçük, yuvarlak ve daha çok katmanlı bir yapıda olduğu izlendi (Resim 1, 2, 3, 4). Yaşlı sıçanlarda (1 yaş, 2 yaş) tüm hipokampus alanlarındaki nöronlarda genel olarak daha koyu boyandı, hücre uzantıları daha belirgin olarak izlendi (Resim 3, 4).

6. BULGULAR

6.1. Işıık Mikroskopi :

6.1.1. Nissl (Kresil Viole) Boyama Bulguları:

Nissl boyama uygulanmış, tüm gruplardaki sıçanların (2 ay, 4 ay, 1 yaş, 2 yaş) hipokampusunda Ammon boynuzu (CA1, CA2, CA3, CA4) ve dentat girus alanları (D, I, H) düzenli morfolojide izlendi. CA1 alanında diğer sektörlerdekinden daha küçük boyutlarda olan piramidal hücrelerin somaları (P1) mavi-mor renkte boyalı görüldü. CA2 bölgesindeki piramidal nöronların CA1 piramidal nöronlarından daha büyük oldukları izlendi. Dentat girus granüler hücrelerinin Ammon boynuzu piramidal nöronlarından daha küçük, yuvarlak ve daha çok katmanlı bir yapıda olduğu izlendi (Resim 1, 2, 3, 4). Yaşlı sıçanlarda (1 yaş, 2 yaş) tüm hipokampus alanlarındaki nöronlarda genel olarak daha koyu boyandı, hücre uzantıları daha belirgin olarak izlendi (Resim 3, 4).

6. BULGULAR

6.1. Işıık Mikroskopi :

6.1.1. Nissl (Kresil Viole) Boyama Bulguları:

Nissl boyama uygulanmış, tüm gruplardaki sıçanların (2 ay, 4 ay, 1 yaş, 2 yaş) hipokampusunda Ammon boynuzu (CA1, CA2, CA3, CA4) ve dentat girus alanları (D, I, H) düzenli morfolojide izlendi. CA1 alanında diğer sektörlerdekinden daha küçük boyutlarda olan piramidal hücrelerin somaları (P1) mavi-mor renkte boyalı görüldü. CA2 bölgesindeki piramidal nöronların CA1 piramidal nöronlarından daha büyük oldukları izlendi. Dentat girus granüler hücrelerinin Ammon boynuzu piramidal nöronlarından daha küçük, yuvarlak ve daha çok katmanlı bir yapıda olduğu izlendi (Resim 1, 2, 3, 4). Yaşlı sıçanlarda (1 yaş, 2 yaş) tüm hipokampus alanlarındaki nöronlarda genel olarak daha koyu boyandı, hücre uzantıları daha belirgin olarak izlendi (Resim 3, 4).

6. BULGULAR

6.1. Işıık Mikroskopi :

6.1.1. Nissl (Kresil Viole) Boyama Bulguları:

Nissl boyama uygulanmış, tüm gruplardaki sıçanların (2 ay, 4 ay, 1 yaş, 2 yaş) hipokampusunda Ammon boynuzu (CA1, CA2, CA3, CA4) ve dentat girus alanları (D, I, H) düzenli morfolojide izlendi. CA1 alanında diğer sektörlerdekinden daha küçük boyutlarda olan piramidal hücrelerin somaları (P1) mavi-mor renkte boyalı görüldü. CA2 bölgesindeki piramidal nöronların CA1 piramidal nöronlarından daha büyük oldukları izlendi. Dentat girus granüler hücrelerinin Ammon boynuzu piramidal nöronlarından daha küçük, yuvarlak ve daha çok katmanlı bir yapıda olduğu izlendi (Resim 1, 2, 3, 4). Yaşlı sıçanlarda (1 yaş, 2 yaş) tüm hipokampus alanlarındaki nöronlarda genel olarak daha koyu boyandı, hücre uzantıları daha belirgin olarak izlendi (Resim 3, 4).

6. BULGULAR

6.1. Işıık Mikroskopi :

6.1.1. Nissl (Kresil Viole) Boyama Bulguları:

Nissl boyama uygulanmış, tüm gruplardaki sıçanların (2 ay, 4 ay, 1 yaş, 2 yaş) hipokampusunda Ammon boynuzu (CA1, CA2, CA3, CA4) ve dentat girus alanları (D, I, H) düzenli morfolojide izlendi. CA1 alanında diğer sektörlerdekinden daha küçük boyutlarda olan piramidal hücrelerin somaları (P1) mavi-mor renkte boyalı görüldü. CA2 bölgesindeki piramidal nöronların CA1 piramidal nöronlarından daha büyük oldukları izlendi. Dentat girus granüler hücrelerinin Ammon boynuzu piramidal nöronlarından daha küçük, yuvarlak ve daha çok katmanlı bir yapıda olduğu izlendi (Resim 1, 2, 3, 4). Yaşlı sıçanlarda (1 yaş, 2 yaş) tüm hipokampus alanlarındaki nöronlarda genel olarak daha koyu boyandı, hücre uzantıları daha belirgin olarak izlendi (Resim 3, 4).

6.1.3. İstatistiksel Analiz Bulguları:

Tek yönlü ANOVA ve Tukey-Kramer çoklu karşılaştırma metodu kullanılarak farklı hipokampus alanlarındaki bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu tablo 1 ve şekil 14-24'te; CA2 alanındaki bFBF-ir piramidal nöronların yoğunluğu da tablo 2 ve şekil 25 'da gösterilmiştir. bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu astrosit/ $10^6 \mu\text{m}^2$ olarak , bFBF-ir piramidal nöronların yoğunluğu nöron/ $10^6 \mu\text{m}^2$ olarak ifade edilmiştir.

H alanında, bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu 1 yaş ile 2 yaş grubundaki sıçanlarda istatistiksel olarak anlamlı görülmezken ($p>0.05$), diğer yaş grupları arasında bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu istatistiksel olarak anlamlıydı (2 ay-4 ay; 4 ay-1 yaş; 4 ay-2 yaş karşılaştırmalarında $p<0.001$, 2 ay-1 yaş; 2 ay-2 yaş karşılaştırmalarında $p<0.01$) (Şekil 14).

I alanında, bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu 1 yaş ile 2 yaş grubundaki sıçanlarda istatistiksel olarak anlamlı görülmezken ($p>0.05$), diğer yaş grupları arasında bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$) (Şekil 15).

D alanında, bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu 2 ay-1 yaş; 2 ay-2 yaş; 1 yaş-2 yaş karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değilken ($p>0.05$). 2 ay-4 ay; 4 ay-1 yaş; 4 ay-2 yaş grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.01$) (Şekil 16).

R3 alanında, bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu 2 ay-1 yaş; 2 ay-2 yaş; 1 yaş-2 yaş karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değilken ($p>0.05$). 2 ay-4 ay; 4 ay-1 yaş; 4 ay-2 yaş grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.01$) (Şekil 17).

P3 alanında, bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu tüm yaş gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$) (Şekil 18).

O3 alanında, bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu sadece 4 ay grubu ile 2 ay grubu arasında istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$) (Şekil 19).

R1 alanında, bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu 2 ay-4 ay ve 1 yaş-2 yaş grupları hariç ($p>0.05$); diğer grupların karşılaştırılmasında p değeri 0.001'den küçüktü (Şekil 20).

P1 alanında, bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu özellikle 2 ay-1 yaş karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.001$) (Şekil 21).

O1 alanında, bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu 2 ay-4 ay; 1 yaş-2 yaş grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değilken ($p>0.05$), diğer gruplar istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$) (Şekil 22).

L alanında, bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu 1 yaş-2 yaş grupları hariç ($p>0.05$), diğer yaş gruplarında istatistiksel olarak anlamlılık gözlemlendi (2 ay-4 ay; 2 ay-1 yaş; 2 ay-2 yaş gruplarında $p<0.01$, 4 ay-1 yaş ve 4 ay-2 yaş gruplarında $p<0.001$) (Şekil 23).

M alanında, 4 ay grubundaki bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.001$) (Şekil 24).

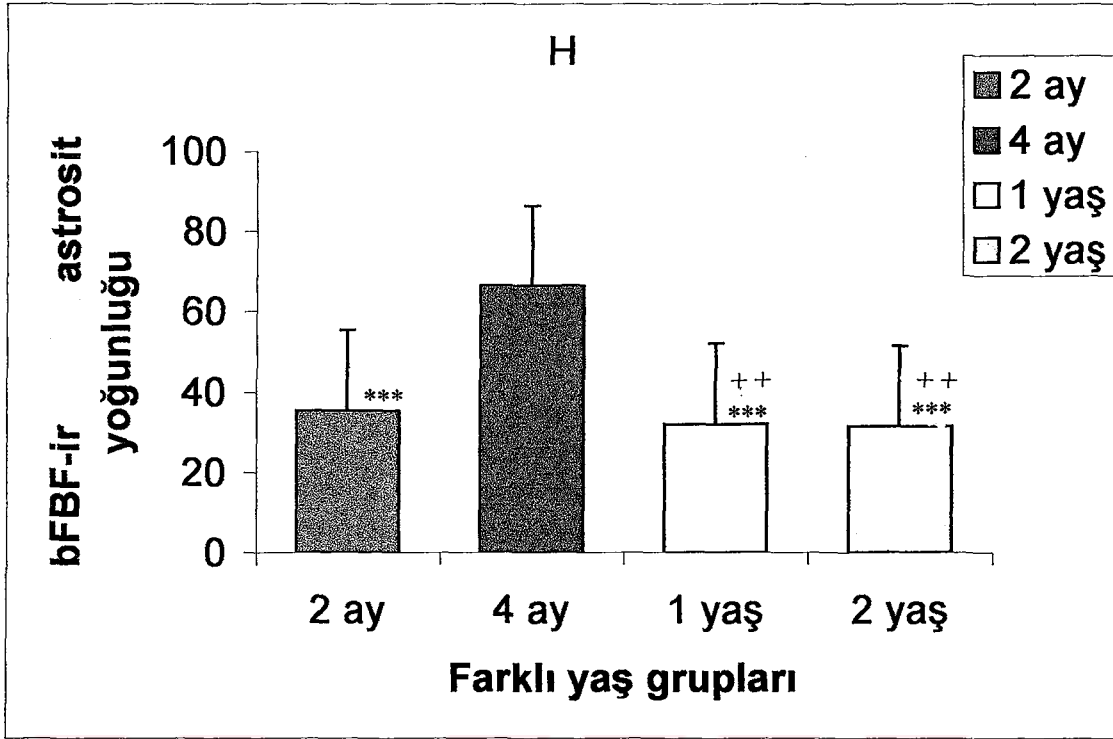
CA2 alanında, bFBF-ir piramidal nöronların yoğunluğu 2 ay-4 ay; 1 yaş-2 yaş gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p>0.05$), diğer yaş grupları karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlıydı ($p<0.01$) (Şekil 25).

Tablo 1: Farklı yaş gruplarında (2 ay, 4 ay, 1 yaş, 2 yaş) dorsal hipokampusun farklı alanlarında (H, I, D, R3, P3, O3, R1, P1, O1, L, M) bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu (astrosit/ $10^6 \mu\text{m}^2$).

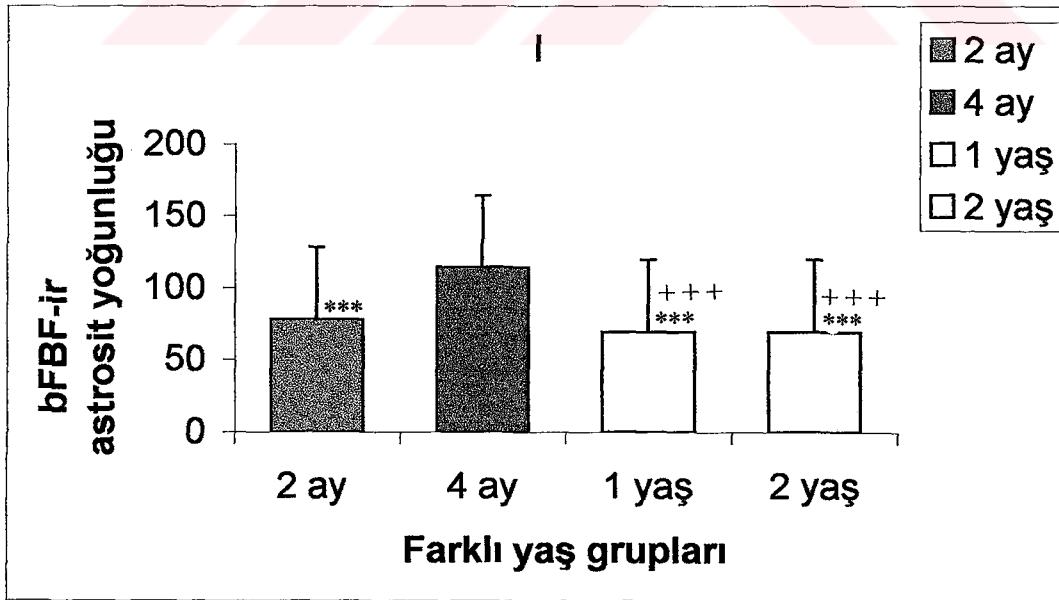
	Farklı Yaş Grupları			
Hipokampus alanları	2 ay	4 ay	1 yaş	2 yaş
H	35,28 ± 0,40	66,49 ± 0,50	32,00 ± 0,61	31,43 ± 0,20
I	77,50 ± 0,90	113,79 ± 0,50	69,28 ± 0,40	69,14 ± 0,40
D	27,93 ± 1,31	40,28 ± 1,21	27,43 ± 0,61	26,64 ± 2,33
R3	23,07 ± 0,10	28,92 ± 1,31	21,78 ± 0,91	21,80 ± 0,71
P3	55,21 ± 0,71	62,50 ± 1,12	63,28 ± 0,60	60,28 ± 0,20
O3	22,92 ± 1,72	36,80 ± 2,12	30,28 ± 1,41	29,14 ± 3,23
R1	27,50 ± 0,10	28,14 ± 0,40	21,78 ± 0,11	22,35 ± 0,50
P1	42,50 ± 0,10	47,85 ± 2,01	58,35 ± 1,30	52,64 ± 0,90
O1	34,36 ± 1,31	36,21 ± 0,91	28,50 ± 1,92	28,36 ± 1,31
L	70,50 ± 0,90	85,00 ± 1,41	58,14 ± 1,61	58,07 ± 1,92
M	35,07 ± 1,11	46,21 ± 0,30	32,35 ± 0,50	34,28 ± 0,60

Tablo 2: Farklı yaş gruplarında (2 ay, 4 ay, 1 yaş, 2 yaş) dorsal hipokampusun CA2 alanında bFBF-ir piramidal nöronların yoğunluğu (nöron/ $10^6 \mu\text{m}^2$).

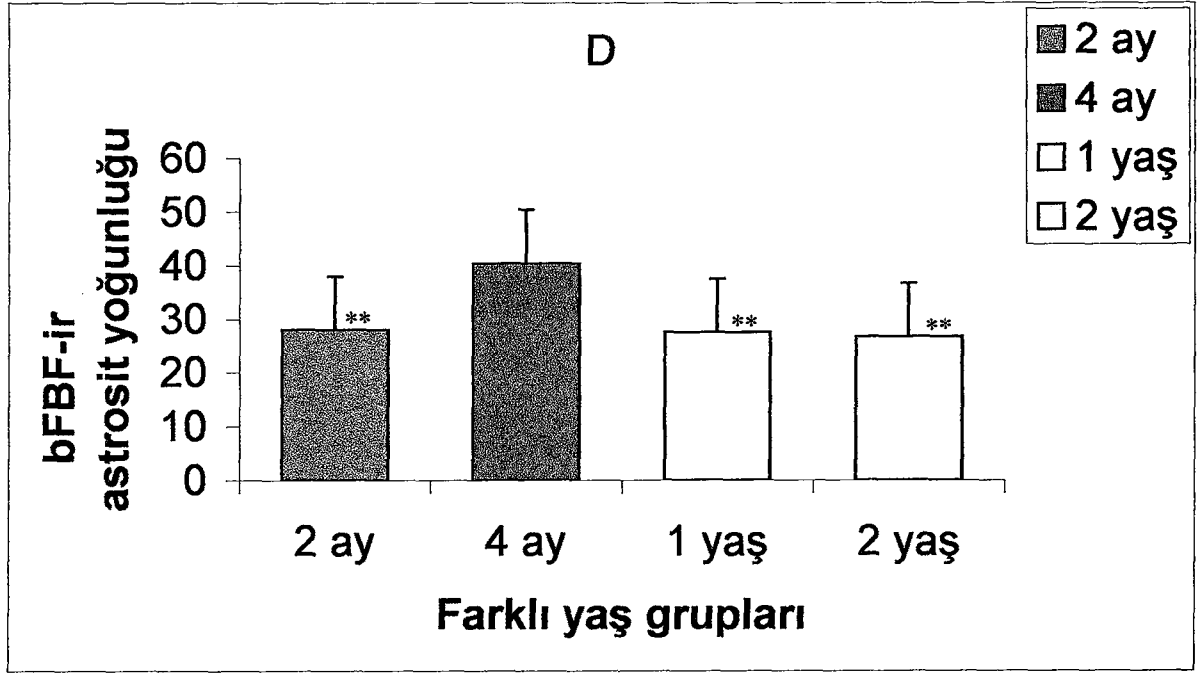
Yaş grupları	CA2 alanı bFBF-ir piramidal nöronların yoğunluğu
2 ay	50,78 ± 1,11
4 ay	49,78 ± 0,91
1 yaş	41,21 ± 0,50
2 yaş	43,35 ± 0,91



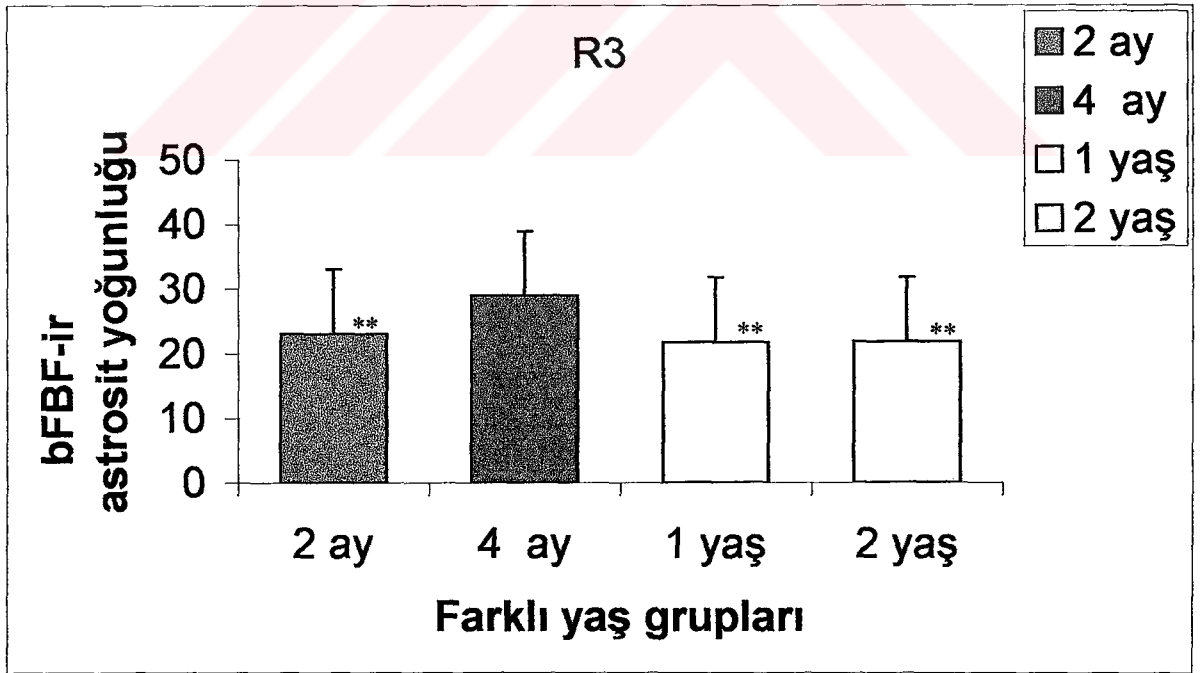
Şekil 14: Dorsal hipokampusun H alanında yaşa bağlı olarak bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu (astrosit/ $10^6 \mu m^2$).*** $p < 0.001$ (4 ay grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında), ++ $p < 0.01$ (2 ay grubu 1 yaş ve 2 yaş gruplarıyla karşılaştırıldığında).



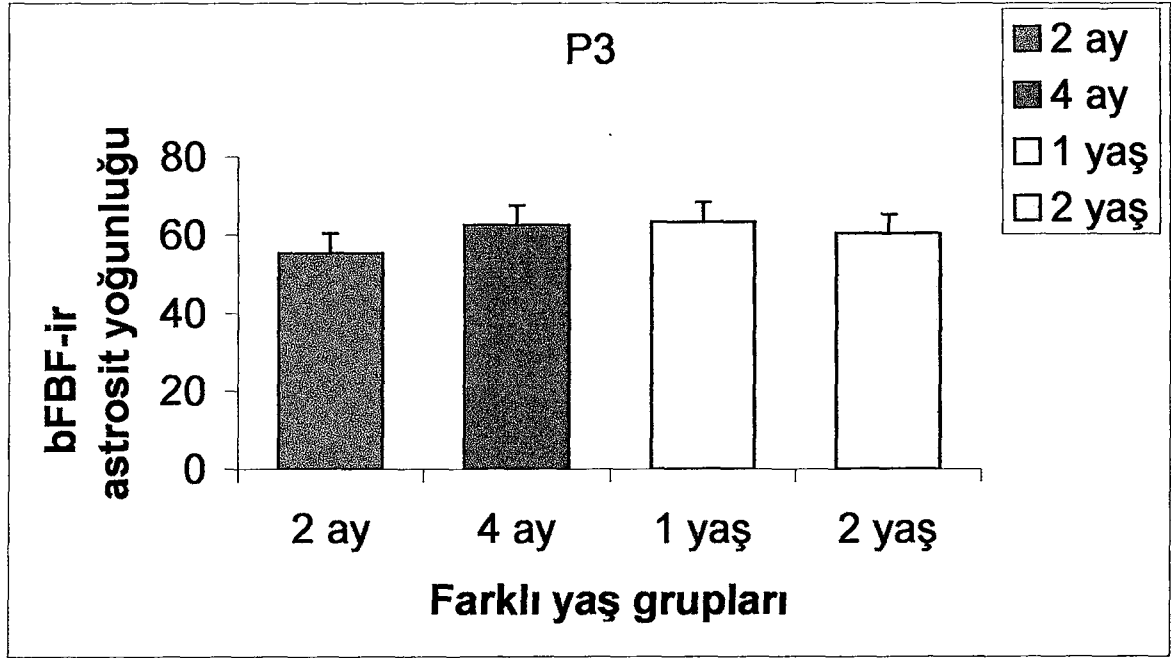
Şekil 15: Dorsal hipokampusun I alanında yaşa bağlı olarak bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu (astrosit/ $10^6 \mu m^2$).*** $p < 0.001$ (4 ay grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında), +++ $p < 0.001$ (2 ay grubu 1 yaş ve 2 yaş gruplarıyla karşılaştırıldığında).



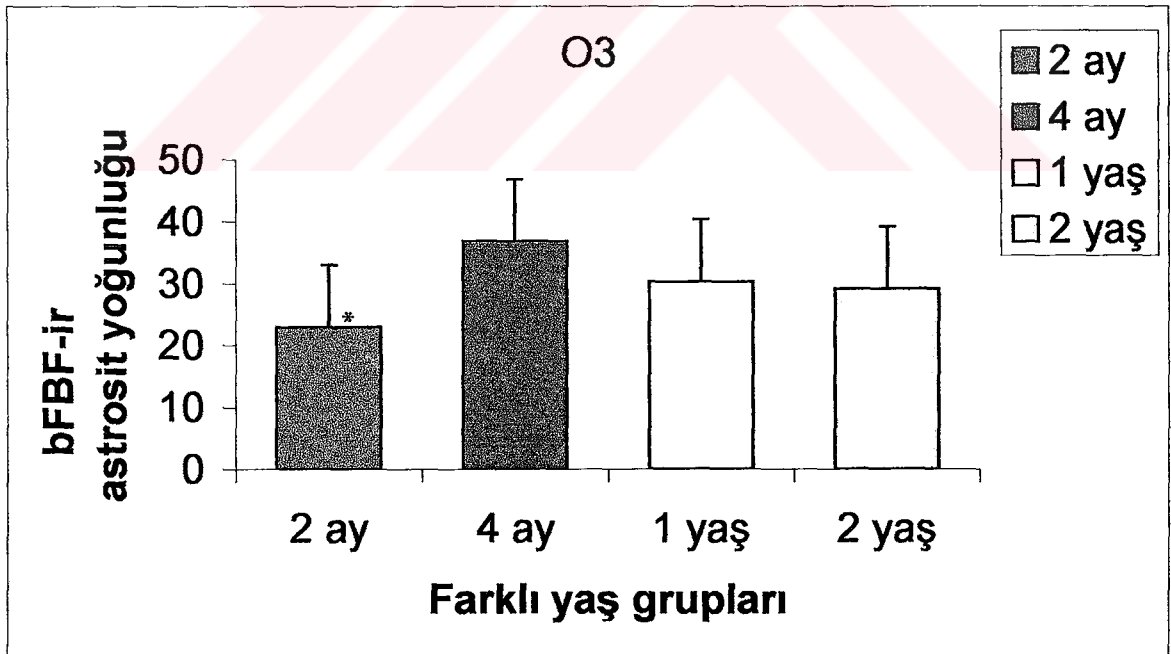
Şekil 16: Dorsal hipokampusun D alanında yaşa bağlı olarak bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu(astrosit/10⁶ μm²). **p<0.01 (4 ay grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında).



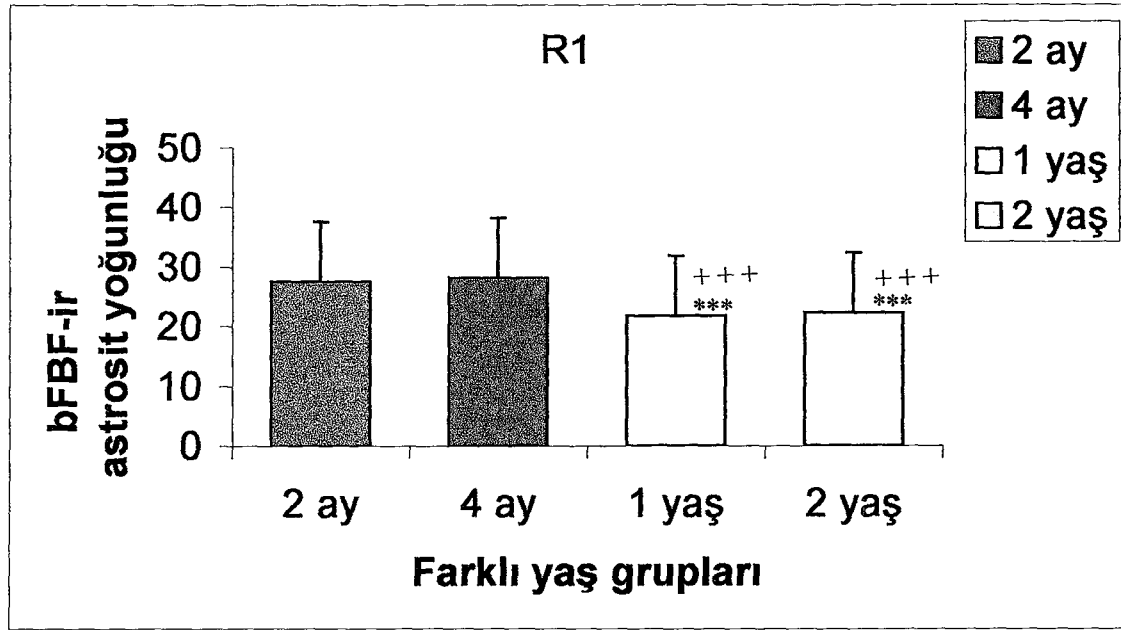
Resim 17: Dorsal hipokampusun R3 alanında yaşa bağlı olarak bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu(astrosit/10⁶ μm²). **p<0.01 (4 ay grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında).



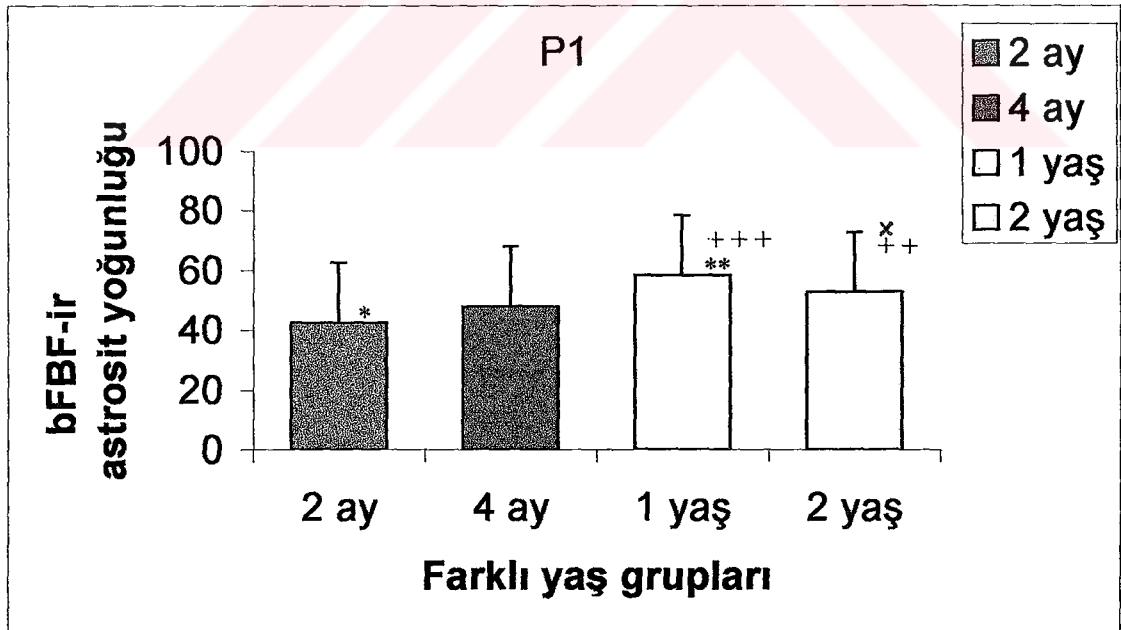
Resim 18: Dorsal hipokampusun P3 alanında yaşa bağlı olarak bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu(astrosit/ $10^6 \mu\text{m}^2$).



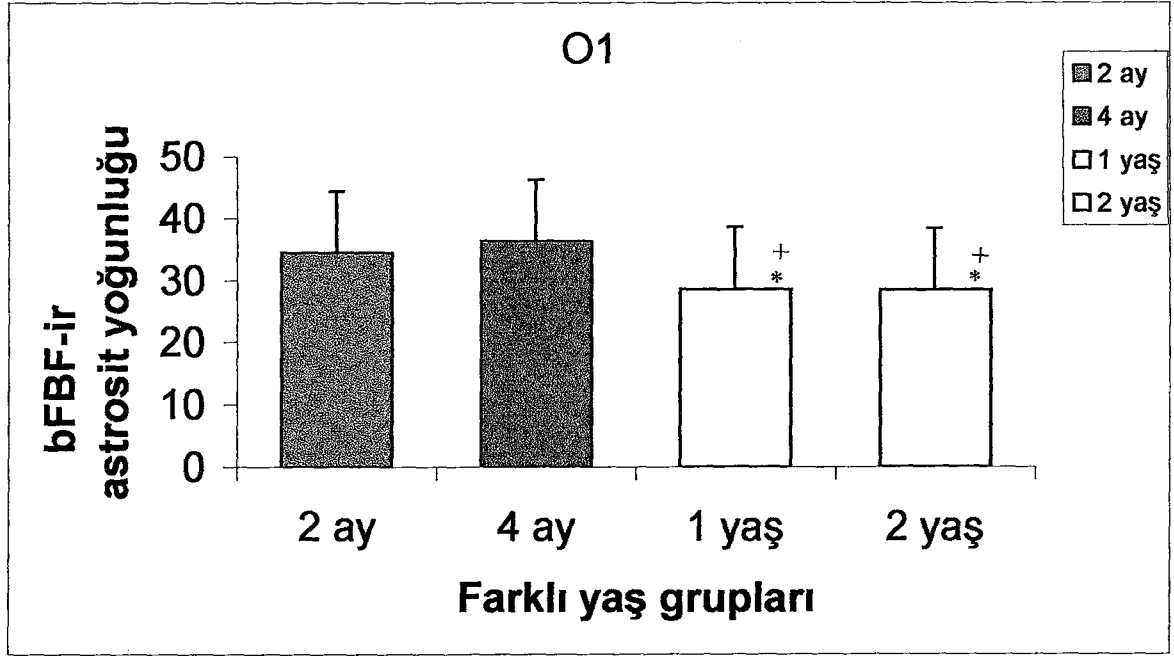
Resim 19: Dorsal hipokampusun O3 alanında yaşa bağlı olarak bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu(astrosit/ $10^6 \mu\text{m}^2$). * $p < 0.05$ (4 ay diğer gruplarla karşılaştırıldığında).



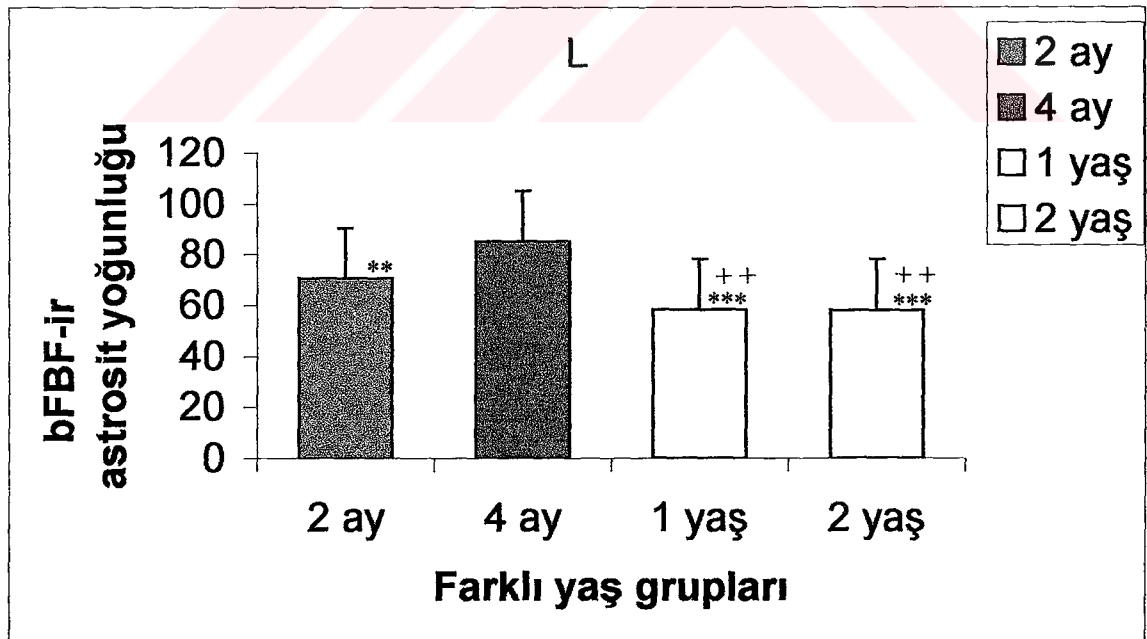
Resim 20: Dorsal hipokampusun R1 alanında yaşa bağlı olarak bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu(astrosit/ $10^6 \mu\text{m}^2$).***p<0.001 (4 ay grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında), +++p<0.001 (2 ay grubu 1 yaş ve 2 yaş gruplarıyla karşılaştırıldığında).



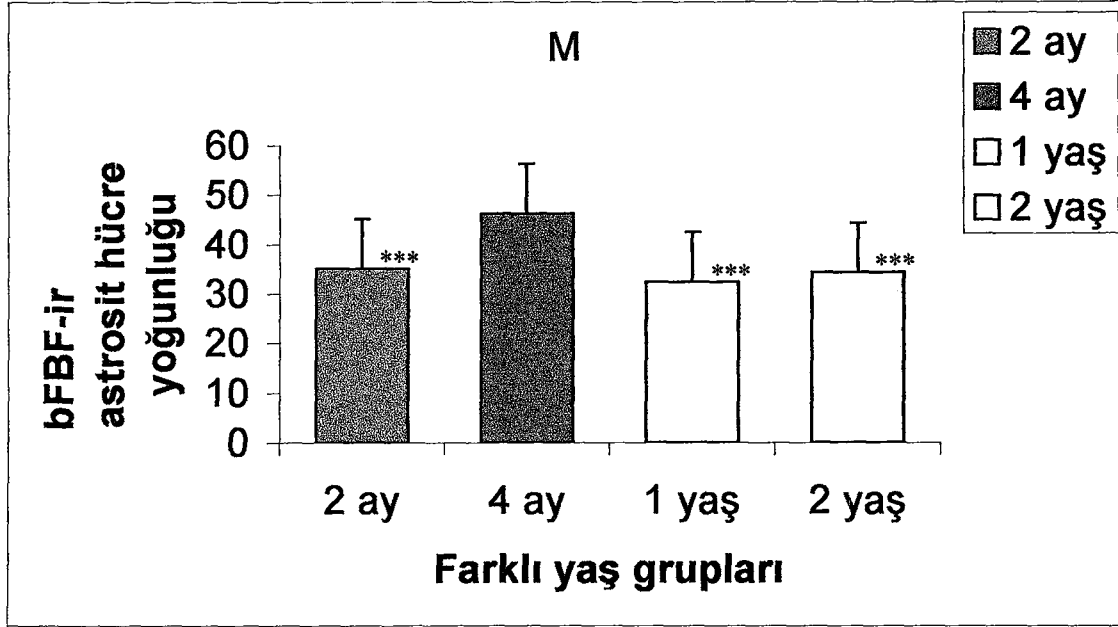
Şekil 21: Dorsal hipokampusun P1 alanında yaşa bağlı olarak bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu(astrosit/ $10^6 \mu\text{m}^2$).*p<0.05, **p<0.01 (4 ay grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında), ++p<0.01, +++p<0.001 (2 ay grubu 1 yaş ve 2 yaş gruplarıyla karşılaştırıldığında), Xp<0.05 (1 yaş, 2 yaş grubuyla karşılaştırıldığında).



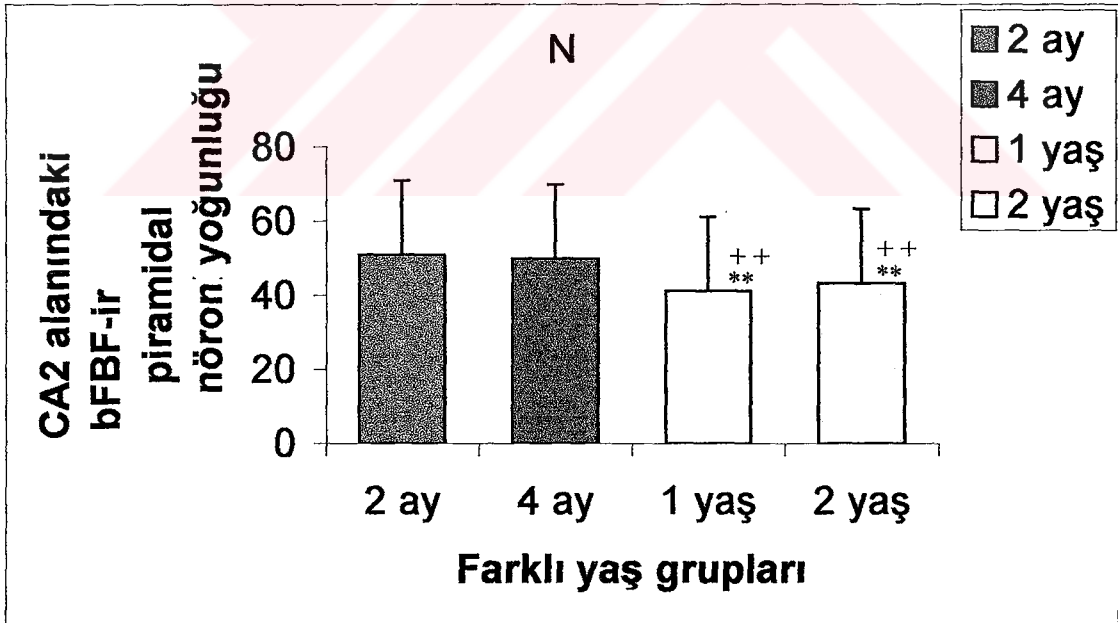
Şekil 22 : Dorsal hipokampusun O1 alanında yaşa bağlı olarak bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu(astrosit/10⁶ μm²). *p<0.05 (4 ay grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında), +p<0.001 (2 ay grubu 1 yaş ve 2 yaş gruplarıyla karşılaştırıldığında).



Şekil 23: Dorsal hipokampusun L alanında yaşa bağlı olarak bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu(astrosit/10⁶ μm²).**p<0.01 (4 ay grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında), ++p<0.01 (2 ay grubu 1 yaş ve 2 yaş gruplarıyla karşılaştırıldığında).



Şekil 24: Dorsal hipokampusun M alanında yaşa bağlı olarak bFBF-ir astrositlerin yoğunluğu(astrosit/ $10^6 \mu\text{m}^2$). *** $p < 0.001$ (4 ay grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında).



Şekil 25: Dorsal hipokampusun CA2 alanında yaşa bağlı olarak bFBF-ir piramidal nöronların yoğunluğu(nöron/ $10^6 \mu\text{m}^2$). ** $p < 0.01$ (4 ay grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında), +++ $p < 0.001$ (2 ay grubu 1 yaş ve 2 yaş gruplarıyla karşılaştırıldığında).

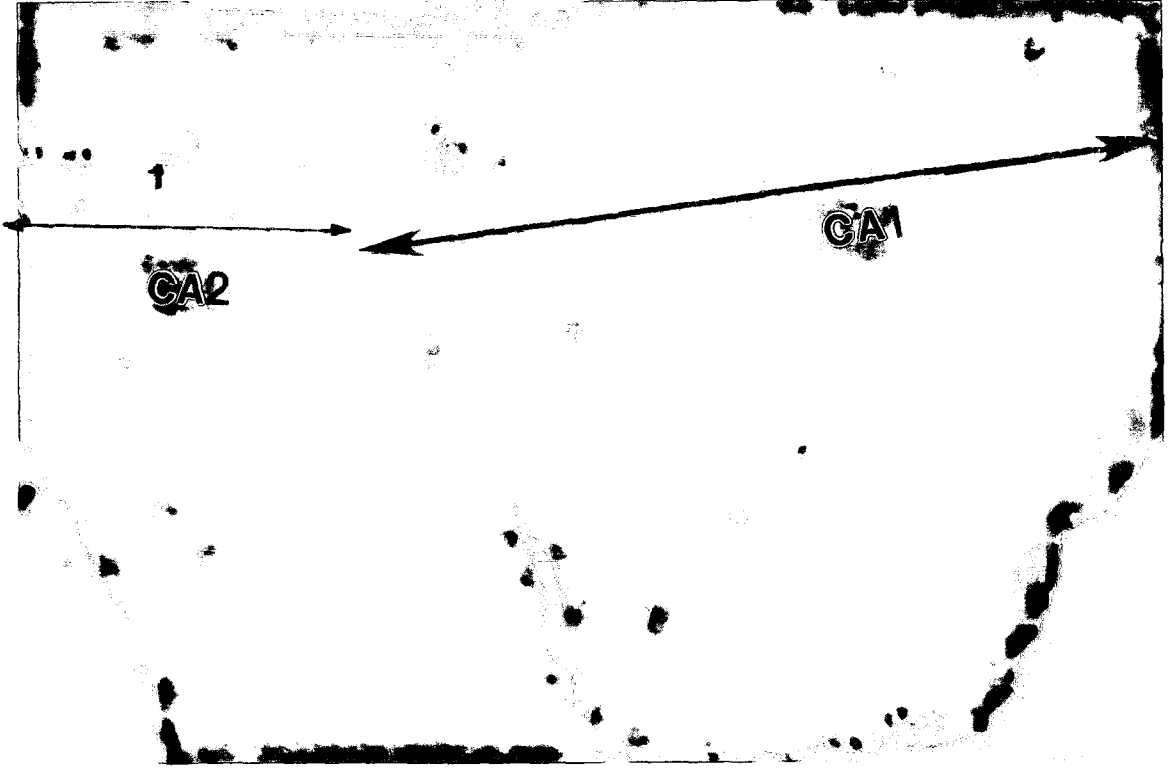
6.2. Elektron Mikroskopi :

6.2.1. bFBF İmmünohistokimya Bulguları:

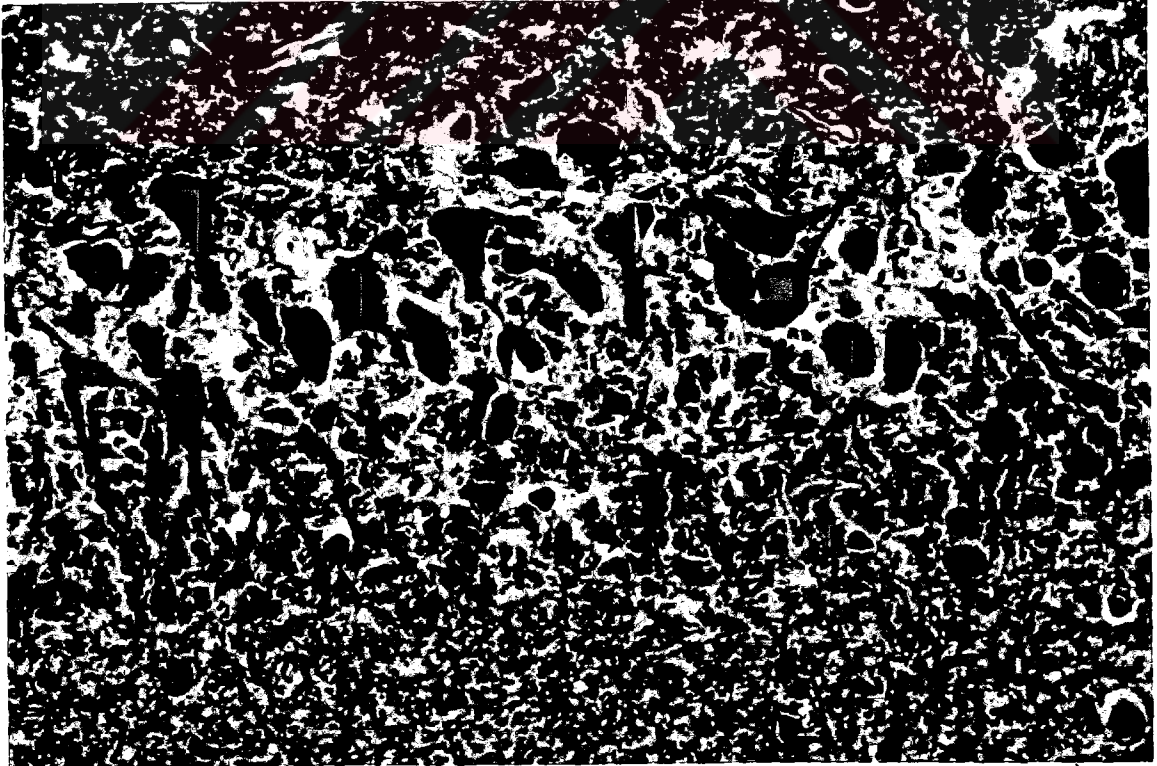
Elektron mikroskopik immünohistokimyasal değerlendirme için tüm yaş gruplarındaki sıçanlardan alınan dorsal hipokampusun CA1, CA2, CA3 ve dentat girus alanları incelendi. Yarı ince kesitlerde (Resim 25, 26, 27) CA1 alanı küçük sıkıca paketlenmiş üçgen şeklinde piramidal nöronları olan alandı (Resim 25). CA2 alanı CA1 ile karşılaştırıldığında daha büyük nöronlar olarak gözlemlendi (Resim 25, 26). Yaptığımız incelemeler sonucunda, 3 tip hücre popülasyonuna rastlandı. Bunlar çalışılan tüm alanlarda bFBF-ir astrositler (Resim 28, 29, 30, 31) CA2 alanında bFBF-ir piramidal nöronlar (31, 32, 33) ve bFBF-ir olmayan piramidal nöronlardı (Resim 32).

Elektron mikroskopik incelemelerde gördüğümüz tüm astrositler bFBF-ir idi (Resim 28, 29, 30, 31). Astrositlerin özellikle çekirdekleri bFBF-ir ve immünoreaktivitesi granüler bir görüntüye sahipti. CA2 alanındaki bFBF-ir piramidal nöronların çekirdekleriyle karşılaştırıldığında düzgün olmayan, heterojen bir yapıya sahipti (Resim 31). Astrosit çekirdeklerinin etrafında bFBF immünoreaktivitesi kalın bir çizgi şeklinde gözlemlendi (Resim 28, 29, 30, 31). Sitoplazmada özellikle granüler endoplazmik retikulum membranları üzerinde bFBF-ir benzeri alanlar mevcuttu (Resim 28, 29). bFBF-ir astrositler kapiller duvarının komşuluğunda yoğun olarak izlendi. (Resim 30).

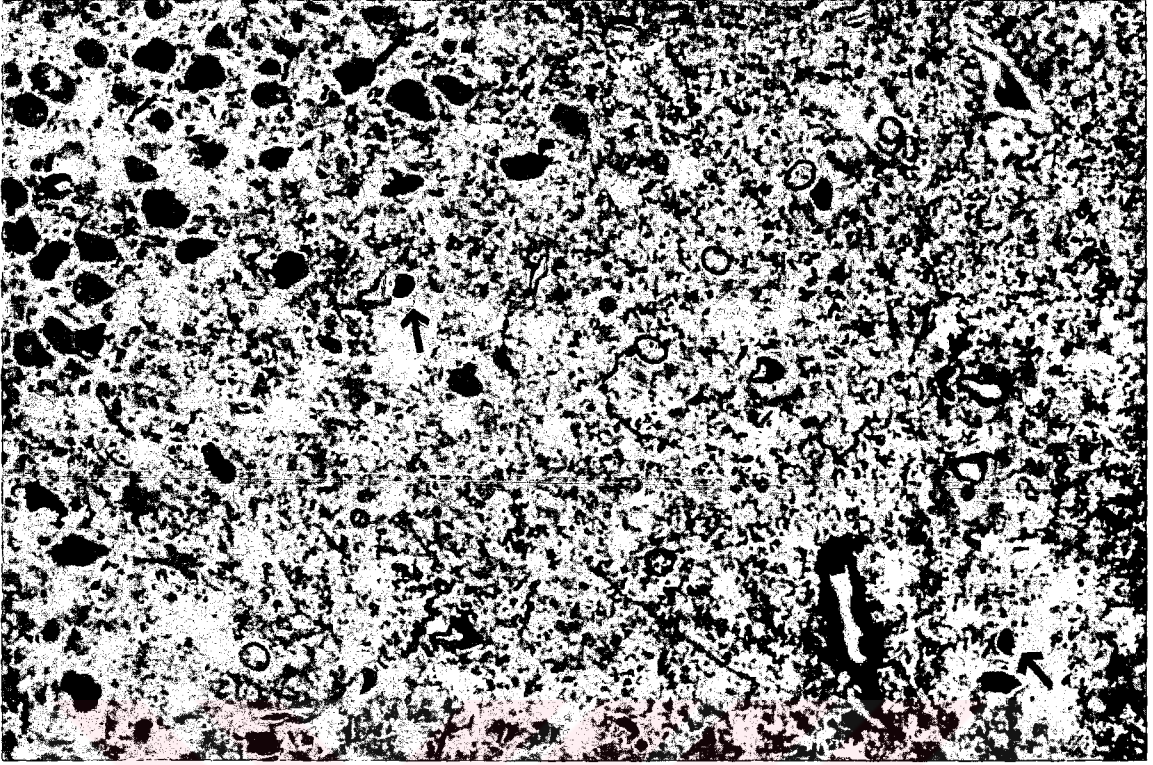
CA2 alanındaki piramidal nöronların bazıları bFBF immünoreaktivite gösterirken bazıları immünoreaktif değildi (Resim 32). bFBF-ir piramidal hücreler düzensiz sınırlı daha yoğun immünoreaktivite gösteren çekirdeğe sahip (Resim 31, 32, 33), sitoplazmasında bFBF benzeri immünoreaktivite gösteren hücrelerdi (Resim 32). bFBF-ir olmayan piramidal nöronlar, bFBF-ir piramidal nöronlarla karşılaştırıldığında çekirdekleri daha düzenli ve yuvarlak bir görünüme sahipti (Resim 32).



Resim 25: 4 aylık sıçan dorsal hipokampusunda CA1 ve CA2 alanlarındaki piramidal nöronları gösteren yarı ince kesit. Toludin mavisi boyası (X100).



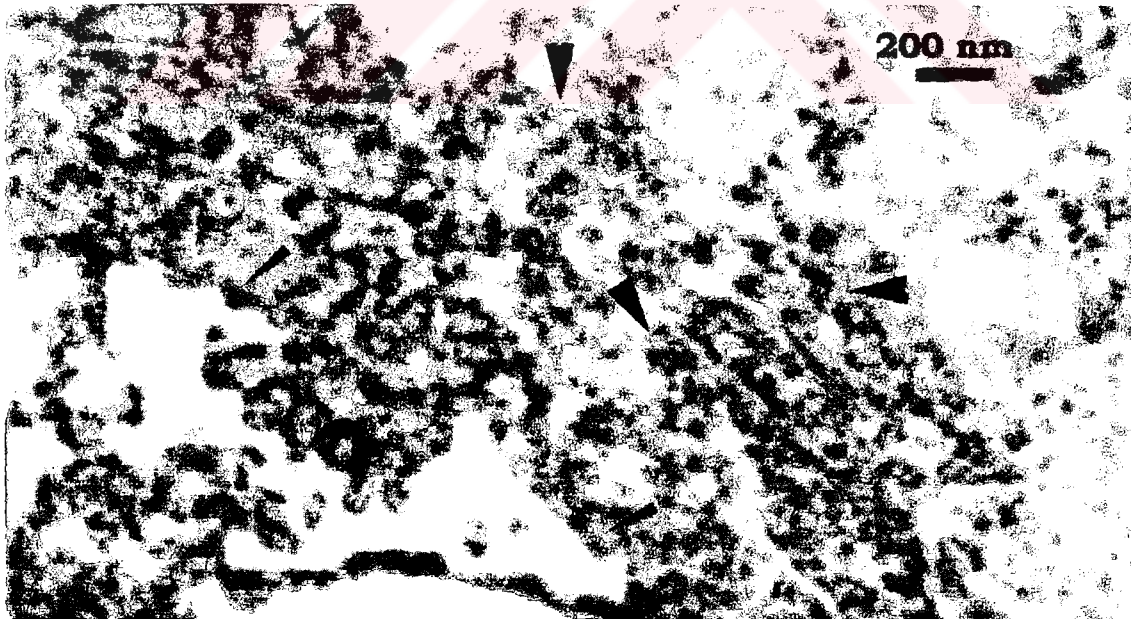
Resim 26: 4 aylık sıçan dorsal hipokampusunda CA2 alanında piramidal nöronları () ve glial hücreleri () gösteren yarı ince kesit. Toludin mavisi boyası (X400).



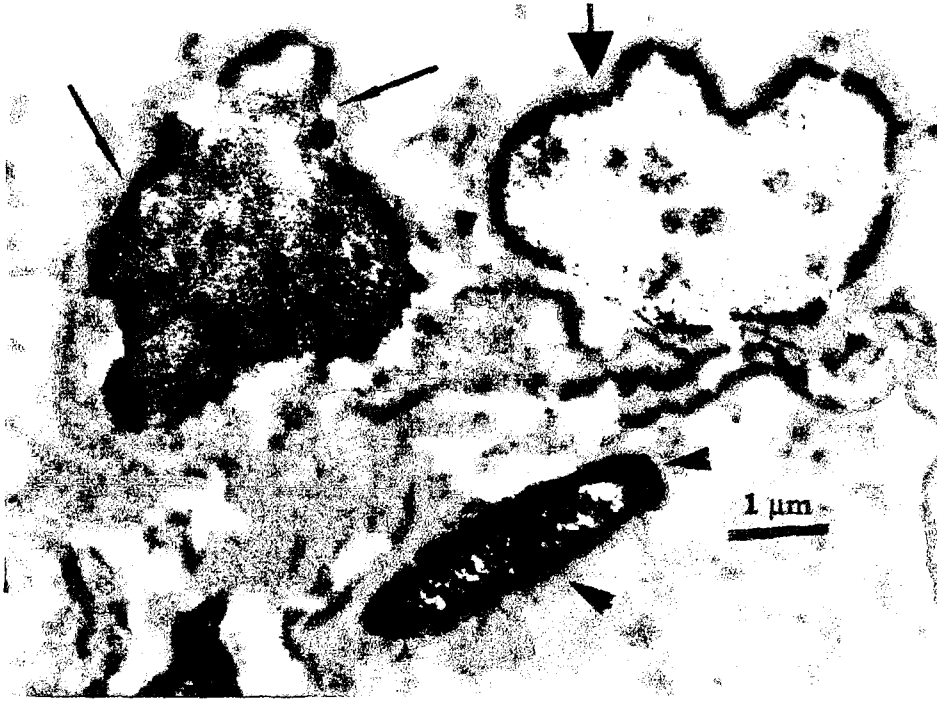
Resim 27: 4 aylık sıçan dorsal hipokampusunda dentat girus interfaz (I) alanında glial hücreleri (→) gösteren yarı ince kesit. Toludin mavisi boyası (X100).



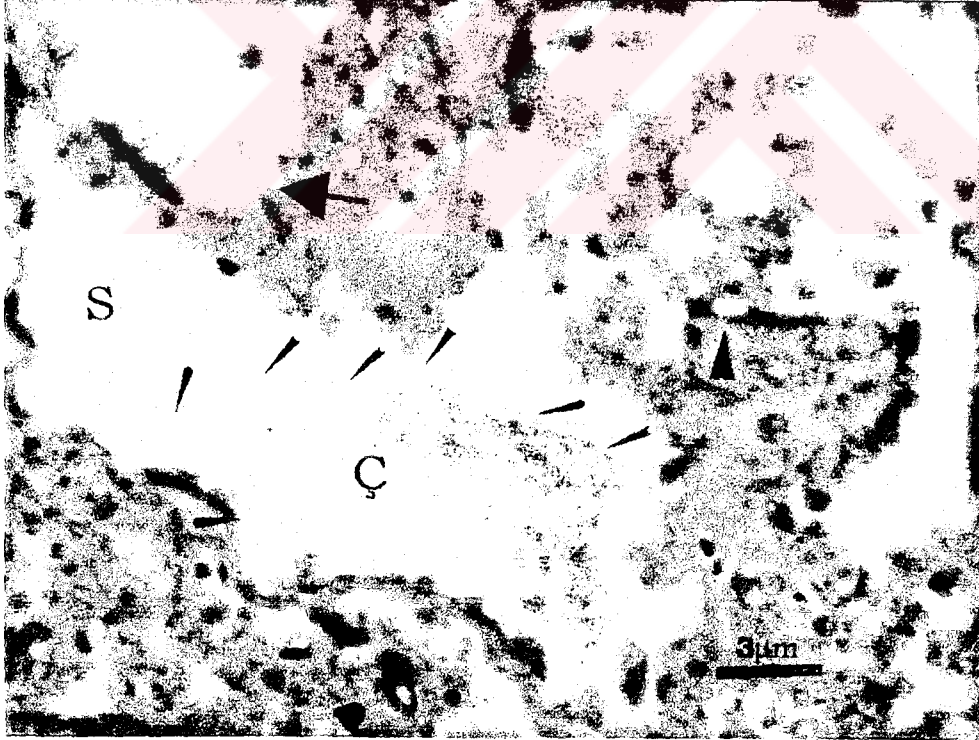
Resim 28: 4 aylık sıçan dorsal hipokampusunda interfaz alanında yoğun olarak bFBF immünoreaktivite gösteren astrosit çekirdeği (ok) ve sitoplazmada immünoreaktif alanlar (ok başı).



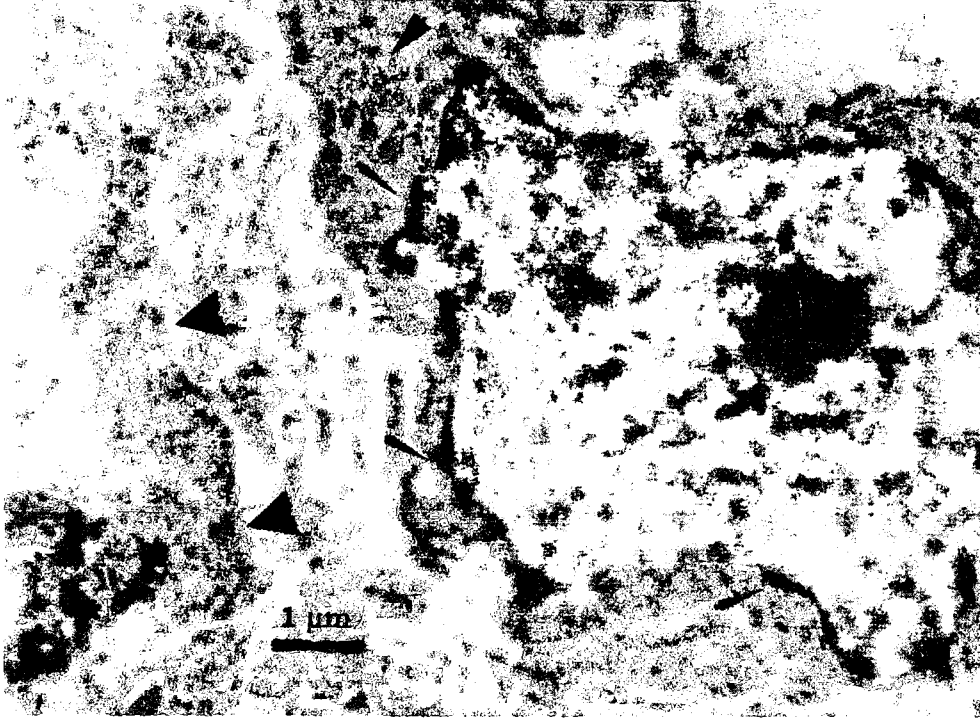
Resim 29: 4 aylık sıçan dorsal hipokampusunda Resim 28'in yüksek rezolüsyonda görüntüsü. Astrosit çekirdeğinde (ince ok başı) ve sitoplazmasında (kalın ok başı) elektron yoğun bFBF-ir alanlar.



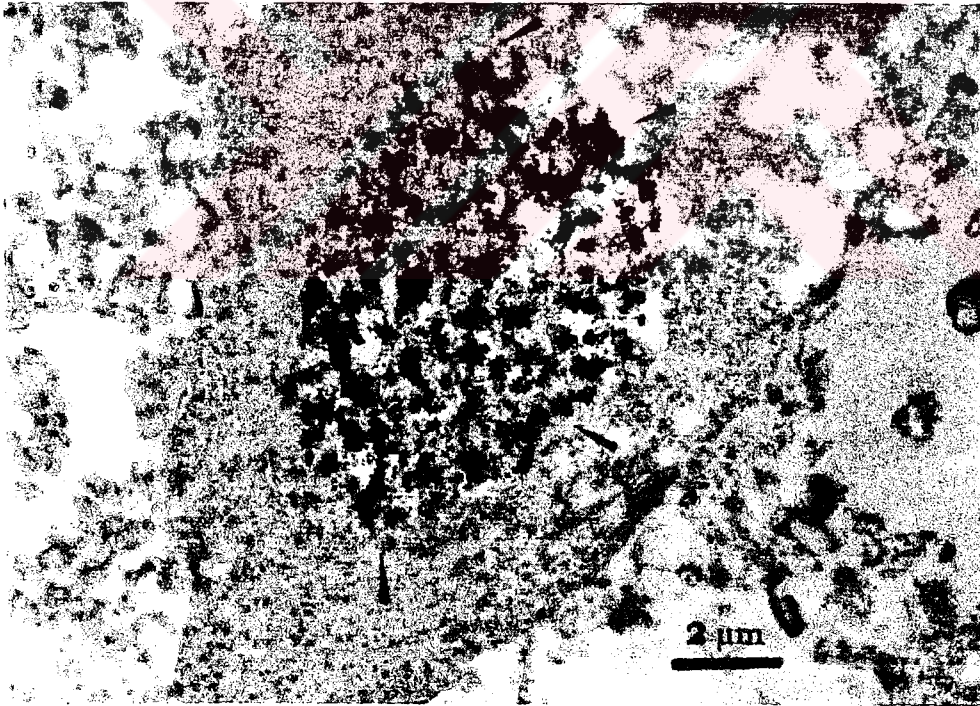
Resim 30: 4 aylık sıçan dorsal hipokampusunda kapiller duvarının komşuluğunda koyu elektron yoğun bir çizgiyle sınırlanmış çekirdeği olan bFBF-ir granüler yapıda astrosit (kalın ok) ve homojen olarak yoğun boyalı çekirdeği olan diğer bir astrosit (ince ok). Kapiller endotel hücresi (ok başı).



Resim 31: 4 aylık sıçan dorsal hipokampusunda CA2 alanında bFBF-ir piramidal nöronların (ince ok başları ve kalın ok) çekirdekleri (Ç) ve sitoplazması (S), elektron yoğun bir çizgiyle sınırlanmış bFBF-ir astrosit çekirdeği (kalın ok başı).



Resim 32: 4 aylık sıçan dorsal hipokampusunda CA2 alanında bFBF-ir piramidal nöron çekirdeği (ince ok başları) ve sitoplazması (ok); bFBF-ir olmayan piramidal nöron (kalın ok başı).



Resim 33: 1 yaşındaki sıçan dorsal hipokampusunda CA2 alanında bFBF-ir elektron yoğun piramidal nöron çekirdeği (ok başı).

7. TARTIŞMA

7.1. bFBF İmmünohistokimyası ve Hipokampuste bFBF Lokalizasyonu:

FBF ailesi üyelerinden herhangi birinin spesifik immünohistokimyasal lokalizasyonu kullanılan antiserumun spesifitesine kritik olarak bağlıdır, yani antiserumun diğer aile üyelerini spesifik olarak tanınamaması gerekir. FBF ailesinin tüm üyeleri yapısal açıdan benzer olduğu için, spesifite özellikle önemlidir (33). bFBF poliklonal antikor kullanılarak bFBF immünohistokimyası, bFBF immunoreaktivitesini gelişimi devam eden ve yetişkin kemirgen sinir sisteminde nöronların sitoplazmasında ve glia hücrelerinin çekirdeklerinde gösterilmiştir. Fakat, monoklonal bFBF antiserum kullanıldığında ön beyin ve orta beyinde glia hücrelerinin çekirdekleri ve retrosplenial granüler korteks layer II, hipokampus CA2 alanı, indusium griseum ve falcus cinereus'ta bazı nöronal hücrelerin çekirdekleri bFBF immunoreaktivite göstermiştir (28). Monoklonal anti-bFBF antikor, doku kesitlerinde, sıçan beyinde bulunan bFBF'nin izoformlarını tanıyabilir, ve aFBF ile çapraz reaksiyona girmez. Sıçan merkezi sinir sisteminde anti-bFBF antikor, özellikle astrosit çekirdeklerini ve yer yer astrosit uzantılarını boyamaktadır (9, 27). Hipokampuste astrositlerin boyanmasının yanı sıra, bu antikor Ammon boynuzunun lateral konveksitesinde yer alan seçilmiş piramidal hücre popülasyonunun çekirdek ve sitoplazmasını da boyamaktadır. bFBF ile boyanmış bu hücrelerin nöroanatomik lokalizasyonu hipokampus boyunca CA2 nöron alanını içermektedir (27, 53, 54, 55, 56).

Bizde çalışmamızda, hipokampuste bFBF salınımının dağılımını ve lokalizasyonunu belirlemede özgünlüğü yüksek, fare monoklonal anti-bFBF kullandık. Hipokampuste tüm Ammon boynuzu (CA1, CA2, CA3, CA4) ve dentat girus alanları boyunca astrositlerin bFBF-ir ve CA1 ve CA3 alanları arasında bir band şeklinde uzanan CA2 alanında piramidal nöronların bFBF-ir olduğunu gözledik. Bu da literatürle uyumludur (9, 27, 53, 54, 55, 56).

Pettmann ve arkadaşlarının 9, 18, 40 günlük sıçanlarda, monoklonal ve poliklonal FBF kullanarak yaptığı immünohistokimyasal çalışmada, hipokampus alanında piramidal hücrelerin hücre gövdeleri ve dendritlerinde FBF işaretlenmesi görülmesine rağmen, CA4 bölgesinin granül hücrelerinde (dentat girus) sadece hücre gövdelerinde işaretlenme gözlenmiştir (39).

Matsuyama ve arkadaşlarının erişkin erkek Wistar sıçanlarda, sentetik bFBF parçasına karşı spesifik antikor kullanarak tüm beyinde yaptığı immünohistokimyasal çalışmada, hipokampusun CA1-3 alanlarında çok sayıda bFBF immunoreaktif piramidal ve ekstrapiramidal nöronları gözlemlemişlerdir. bFBF immünoreaktivitesi CA2 ve subikulum alanlarında en yüksek yoğunlukta bulunmuş, buna karşın dentat girusta özellikle granüler tabakada ve az sayıda polimorfik tabakada pozitif hücrelere rastlanmıştır (40).

Çalışmalarda immünoreaktivitenin hipokampusun farklı alanlarında elde edilmesi kullanılan antikorun poliklonal veya monoklonal olmasına bağlı olabilir. Anti-FBF antikorları nöroektodermden oluşan dokularda $55 \times 10^3 M_r$ 'ye kadar ek bFBF benzeri peptidleri tanıyabilir (22). Bunun yanında, biz bu çalışmamızda yüksek dilüsyonda (1:1000) anti-bFBF fare monoklonal antikoru kullandık. Belki de araştırmacıların elde ettiği bu farklı sonuçlar dilüsyona bağlı olarak gerçekleşti. Bunlara ek olarak, kontamine antikorların varlığı, diğer proteinlere benzer epitop alanlarına bağlanmada bFBF-ir değişikliklere yol açabilir. Kontamine poliklonal antikorlar yüksek konsantrasyonda kullanıldığında problem oluşturmaktadır. Buna karşın, duyarlı antijenleri potansiyel olarak denatüre ederek, spesifik bFBF immünoreaktivitesini azaltan veya elimine eden durumlar arasında dokuları normal süresinden daha fazla fiksatifte tutmak, yüksek gluteraldehit (% 1) ve formaldehit (% 5) fiksasyonu, kriyostat kesitleri uzun süre bekletmek veya parafine gömmek sayılabilir. Bu sebeple kullanılan anti-bFBF antikorunun spesifitesi, fiksatif, doku takibi ve doku takibinin yapıldığı koşullar son derece önemlidir. Biz çalışmamızda William ve arkadaşlarının (1996) kullandığı immünohistokimya metodunu uyguladık (27).

Biz çalışmamızda, tüm yaş gruplarında (2 ay, 4 ay, 1 yaş, 2 yaş), heterojen dağılım gösteren bFBF-ir astrositleri dorsal hipokampusun Ammon boynuzu ve dentat girusun tüm alanlarında, bFBF-ir pozitif piramidal nöronları sadece CA2 alanında gözledik. Bu da William ve arkadaşlarının bulgularıyla uyumluydu (27).

7.2. Elektron Mikroskopik bFBF İmmünohistokimyası:

Elektron mikroskopik incelemelerde gördüğümüz tüm astrositler bFBF-ir olarak bulundu. Bu da literatürle uyumlu idi (27). Bunun yanında, elektron mikroskopik olarak bFBF immünoaktivitesini özellikle çekirdekte gördük. Sıçan sinir sisteminde varolan üç bFBF izoformu arasında, en büyük iki tanesi (21.5 kDa ve 22.5 kDa) çekirdekte bulunmaktadır. Bu izoformlar bFBF geninde alternatif, CUG, başlangıç bölgelerinin ürünüdür ve N-terminal nükleer translokasyon sinyali içerir. Buna nazaran bFBF'nin en küçük izoformu (18 kDa) nükleer hedefleme dizisine sahip değildir ve sadece sitoplazmik alanda bulunur (27).

Anti-bFBF antikoru kullanılan fiksatife son derece duyarlıdır. Geçirimli elektron mikroskopi için doku bütünlüğünün sağlanmasında sıkça kullanılan % 1 glutaraldehid fiksasyonu bFBF-ir'sini bozmaktadır (27). Bizde bu sebeple bFBF-ir'sini elektron mikroskopik olarak göstermek için bFBF-immünoaktivitesini etkilemeyen, PBS içinde % 3 paraformaldehid-% 0.2 Glutaraldehid (pH=7.4, 0.1 M) intrakardiyak perfüzyon fiksasyonu uyguladık (52). Ultrastrüktürel bütünlüğün en iyi kriterlerinden biri olan hücre çekirdeklerinin her iki zarının düzgün ve birbirine paralel yapısı gözlenemedi. Genel olarak belirgin bir astrosit sitoplazması gözlenmedi. Bunun sebebi daha önce de belirtildiği gibi, bFBF immünoaktivitesini korumak amacıyla kullanılan fiksatifin düşük konsantrasyonuna bağlı olabilir ve sitoplazma çekirdek etrafında yoğun koyu boyanmış çizgi oluşturmaktadır, diğer bir deyişle astrosit sitoplazması astrosit çekirdeği üzerine çökmüştür (kollaps olmuştur) (27).

7.3. bFBB ve Nörotransmitterler (Glutamat, Dopamin ve Asetilkolin):

bFBB spesifik olarak kolinerjik ve dopaminerjik nöronları stimüle eder(57). bFBB'nin *in vitro* ve *in vivo* embriyonik, neonatal ve erişkin dopamin hücrelerinde potent trofik ajan olduğu gösterilmiştir. Genetik olarak bFBB üretimine modifiye olmuş hücreler, deneysel parkinsonu olan sıçanlara implante edilen fetal dopamin nöronları üzerinde büyümeyi arttırıcı etkilere sahiptir. İnsanlarda, normal yaşlanma sürecinde bFBB immünoreaktivitesi substantia nigra dopaminerjik nöronlarında modifiye olmasa da, Parkinsonu olan hasta grubunda, nörodejeneratif hastalıklarda rolünü göstererek azalmış bulunmuştur (28). Bunun yanında, bFBB glutamatın toksik dozlarına karşı hipokampal nöronal hasarı önlemede etkilidir(57). Glutamat beyinde major ekzitatör amino asittir. Glutamatın etkisi farmakolojik olarak en selektif ligantıyla sınıflandırılan en azından üç tane reseptör tipiyle gerçekleşir: NMDA (N- metil-D-aspartat), kainat, ve quisqualate veya alfa-amino-3-hidroksi-5-metilisokzazol-4-propionik asit (AMPA). Ligand otoradyografi beyinde en yüksek yoğunlukta NMDA bağlanma yerinin hipokampus CA1 alanı, en az yoğunluğun ise CA3 ve mossy lif terminal zonu olduğunu göstermiştir. Buna karşın, en yüksek yoğunlukta kainat reseptör bağlanma yeri, stratum lucidum ve mossy lif terminal zonu gibi düşük NMDA reseptör yoğunluğu içeren hipokampus alanlarıdır. Reseptör yoğunluğu bu alanların kainik asite aşırı duyarlı olmasıyla uyumludur. Bunun yanında, non-NMDA reseptörü subünitelerinin mRNA ları CA1–CA3 piramidal hücrelerde ve dentat gyrus granül hücrelerinde yoğun olarak sentezlenir. Ekzitatör amino asitler nörotoksik etkiler yaratabilir ve reseptörleri bazı nörodejeneratif hastalıklarda değişikliğe uğrar. Fakat, ekzitatör amino asit reseptör stimülasyonu trofik faktör mRNA ekspresyonunda modülatuar rol oynar (58). Nörotransmitter sistemleriyle nörotrofik faktörler arasındaki kompleks karşılıklı etkileşimler hücre homeostazının devamlılığında önemli rol oynar (57).

Bizim çalışmamızda bulduğumuz yaşa bağlı olarak bFBB-ir astrosit ve CA2 alanında bFBB-ir piramidal nöron yoğunluğundaki değişiklikler, yaşın nörotransmitter sistemleriyle bFBB ve diğer büyüme faktörleri yoluyla ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

7.4. Patolojik Durumlar ve bFBB Arasındaki İlişki:

7.4.1. Travma ve bFBB

Kafa travması ve felç sonrası mikroskopik düzeyde görülen değişiklikler mikrogliya infiltrasyonunu, glia ve kapiller endotel hücrelerinin proliferasyonunu, ve hasar alanında bazı nöronal liflerin filizlenmesini içerir. Bu hücrel değişiklikler hasarlı dokunun tamiri ve nörolojik fonksiyonların iyileştirilmesini amaçlamaktadır (59). Nörotrofik faktörler büyümeyi arttırıp, dejenerasyonu engelleyerek hasara cevapta rol oynarlar. Gerçekte, filizlenme reaksiyonu hasar sonrası artan belli nörotrofik faktörlerin indüksiyonunu içerir (60).

bFBB immünoreaktivitesi hasar alanında artış gösterir. In vitro, bFGF'nin merkezi sinir sistemi astrosit ve kapiler endotel hücrelerinin ve aynı zamanda merkezi sinir sistemi nöronlarının (hipokampal ve kortikal nöronlarda dahil) yaşamını sürdürmesi ve dışa doğru büyümesinde rol aldığı gösterilmiştir (59). Bizde çalışmamızda genç erişkin (4 aylık) sıçanlarda bFBB-ir astrositleri daha yoğun olarak gözlemledik. Yaşa bağlı olarak nöronal plastisitede değişiklikler olmaktadır (61). Felç gibi travmatik durumlar özellikle yaşlılarda görülmektedir. Bu belki de gençlerin, yaşlılarla karşılaştırıldığında büyüme, gelişim ve yaşam devamlılığında önemli olan büyüme faktörlerine bağlı olarak travmalara daha dayanıklı olmalarını açıklayabilir.

7.4.2. Nörodejeneratif Hastalıklar ve bFBB

Alzheimer hastalığı özellikle 40 yaşından sonra kendisini gösteren, beynin belli alanlarında patolojik değişikliklere yol açarak demansa yol açan bir hastalıktır. Alzheimer hastalığı ile ilgili postmortem beyin dokusu çalışmaları, akson filizlenmesinin hastalığın erken dönemlerinde dentat girusta oluştuğunu (62, 63) ve hastalık ilerlerken, filizlenmenin senil plak oluşumunda yer aldığını göstermiştir (63). Plak oluşumu nörotrofik faktörlerin lokal artışı ile sonuçlanır (63, 64), ve bFBB plaklarda belirlenmiştir (65, 66).

Hayvan modellerindeki çalışmalar, normal beyin ve Alzheimer hastalığı olanlarda hasara cevapta bFbF'nin rolünü anlamamızda ipuçları sağlayabilir. Bu sebeple, belli beyin alanlarında, özellikle bizim çalışmamızda olduğu gibi yaşa bağlı olarak hipokampusun farklı alanlarındaki bFbF-ir değişiklikler nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde rol oynayabilir. Aynı zamanda, Alzheimer Hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarda trofik faktörlerin bir bakıma anormal ve düzensiz salınımı, yaşa bağlı olarak trofik faktörlerin belki de başlangıçtan itibaren anormal ve düzensiz salınımına işaret etmektedir. Bunlardan dolayı normal yaşam siklusundaki trofik faktörlerin bölgesel değişiminin önemi yanında, Alzheimer hastalığı gibi hastalıklarda da trofik faktörlerin bölgesel değişimini gösteren çalışmalar yapılmasının önemi büyüktür.

7.4.3. Reaktif Glioz ve bFbF:

Reaktif glioz nörodejeneratif hastalıklar gibi patolojik durumlarda beyin dokusunda glia hücrelerinin anormal ve düzensiz morfolojik yapısı normal beyin dokusundan farklı olarak sayıca artmasını ifade eder. Limbik nöbetler epilepsi gelişimine yol açan morfolojik değişiklikler yapar (nöronal hücre ölümü, reaktif glioz ve neosinaps oluşumu). Temporal lob epilepsili hastalarda, hücre ölümü Ammon boynuzu ve hilusta gelişir. Bu hücre ölümü nekrotik ve apoptotik mekanizmaları içerir ve astroglial hücre proliferasyonu ve hipertrofini içeren glial reaksiyonların başlamasından da sorumludur. Reaktif astroglioz tip 2 astrositlerin fenotipik özelliklerini taşır ve trofik faktörleri (ör. bFbF), hücre adezyon moleküllerini (ör. NCAM) ve substrat moleküllerini (ör. tenascin-C) sentezler. Nöbetler hipokampüste mossy liflerinin sinaptik yeniden şekillenmesini indükler. Mossy lif kolleteralleri rekürren ekzitator devreler oluşturarak, granül hücre dendritlerini innerve eder.

Mossy liflerinin kolleteral dalları trofik faktörlerin etkisi altında ve tubulin polimerlerinin aşırı üretiminin bir sonucu olarak oluşuyor olabilir. Çünkü, nöbetler granül hücrelerinde ve mossy liflerinde tubulin ve tubulin ilişkili proteinlerin geçici

artmış ekspresyonunu indükler. Mossy lif filizlenmesi astrosit etkileşimleriyle hücre adezyon ve substrat moleküllerini üretip salgılayarak oluşuyor olabilir. Bu sebeptendir ki, erişkin beyinde aktive astrositler aksonal büyüme ve sinaptogenez sürecinde yer alır (67).

7.4.4. Nöbet modelleri ve bFbF:

Epileptogenez mekanizmaları 3 yaklaşımla incelenebilir:

1-İnstrinsik nöronal özellikler:

Bu tip hiperekziteabilitenin doğası yer değiştirmiş nöronların anormal savaşıma özelliklerine bağlanabilir. Bu konuda yapılan ön çalışmalar bu hücrelerin K⁺ kanal fonksiyonlarında spesifik değişiklikler göstermiştir (68, 69, 70, 71).

2-Sinaptik özellikler:

Sinaptik özellikleri açıklamada, glutamat, GABA, ve Nöropeptid Y (NPY) gibi nörotransmitterlerinin etkileri ve etkileşimleri önemlidir. Örneğin, NPY, Ca⁺² un görev aldığı glutamat salınımının presinaptik inhibisyonuyla ekzitabiliteyi modüle eden, geniş bir alanda sentezlenen merkezi sinir sistemi peptididir. Akut nöbet sonrası, NPY sentezi hipokampal oluşumda dramatik olarak artar. NPY knock-out fareler kullanılarak yapılan çalışmalarda, NPY salınımının olmadığı durumlarda limbik nöbet aktivitesinin ölümle sonuçlandığını göstermiştir (72). Ekzojen NPY uygulaması ekzitatuar sinaptik iletiyi inhibe eder ve Y-5 NPY reseptör alttipinin aktivasyonu ile sağlanan güçlü antiepileptik etkiler yaratır. Bu sebeple, NPY endojen antikonvulsan ajan olarak rol oynar (73).

3-Nonsinaptik mekanizmalar:

Elektrofizyolojik ve görüntüleme yöntemleri, osmolarite, iyon kotransporter, büyüme faktörlerinin ve nöronal-gliyal etkileşimlerin gelişmekte olan beyinde nöbet aktivitesini modüle etmede kritik rol oynadığını göstermektedir. Günümüzdeki çalışmalar bu mekanizmaların herbirinin nöbeti başlatma ve propogasyonundaki rolü üzerinde durmaktadır (70).

Bu üç ana başlık altında toplanan ve beyinde epileptogenez mekanizmalarına açıklık getirmesi açısından bizim çalışmamızdaki bulgularda yer alan genç ve yaşlı sıçan beyinde her üç mekanizmada da yer alan bFbF'nin hipokampusteki immünositokimyasının ve dağılımının farklı bulunması önemli olabilir.

Daha önce de belirtildiği gibi limbik nöbetler hipokampal hücre kaybı, nörotrofik büyüme faktörlerinde artışa sebep olur ve ekzitator amino asit reseptör ekspresyonunu artırır. Kindling'den farklı epilepsi nöbet modellerinde, FbF-2 mRNA ve protein değerleri astrosit ve CA2 piramidal nöronlarında artar (32, 57, 74, 75). Bununla beraber, kainik asit nöbetleri sonrası piramidal hücrelerinde, dentat granül hücrelerinde ve astrositlerde FbF-2 reseptör 1 ekspresyonu gözlenmiştir (32, 75, 76).

Kindling epilepsi modelinde, nörotrofik faktör ekspresyon paternlerinde özellikle kritik alanlarda (ör. Hipokampus ve korteks) kalitatif ve kantitatif değişiklikler gözlenmiştir (77).

Başka bir çalışmada ,epileptiform aktivite kainat enjeksiyonuyla indüklenmiş ve nöbet görülen sıçanlar enjeksiyondan 3, 6, 12 ve 24 saat sonra kurban edilmişler. Normal beyin dokusunda, FGF boyanması tüm beyine dağılmış ve astrosit çekirdeğine lokalize olarak bulunmuştur. Başlangıç 6 saat kabul edilirse, bFGF immunoreaktivitesinde progresif artış özellikle serebral korteks ve hipokampusta gözlenmiştir (astrositlerde çekirdek büyümesi ve boyanmanın uzantılara yayılması). 3 saat sonra bFbF reseptör-1 immünoreaktivitesinde artış dentate girusun moleküler tabakasında, 6 saat sonra

bFBF reseptör-1 immünoreaktivitesi CA1, CA2 ve CA3 hipokampal alanları boyunca stratum oriens'te gözlenmiştir. Bu etki 24 saatte diğer beyin bölgelerine de yayılmıştır (hipokampusun tamamına ve serebral kortekse). Bu sebeple, bFBF epileptogenez sürecinde önemlidir (75).

Diğer bir çalışmada, kainik asit enjeksiyonu yapıldıktan sonra, farklı zamanlarda, in situ hibridizasyon metoduyla bFBF mRNA düzeylerine bakılmış ve bFBF mRNA değerlerindeki akut ve kronik değişiklikler değerlendirilmiştir. Kontrol hayvanlarında sadece CA2 alanında bFBF mRNA pozitif hücreleri gözlenmesine rağmen, deney grubunda kainik asit enjeksiyonundan 1 saat sonra bFBF mRNA ekspresyonu dentat girusta, 6 saat sonra CA1 piramidal hücre tabakasına da yayılmış, 24 saat sonra daha hafif olmasına rağmen aynı bölgelerde, 4 gün sonra sadece CA1 alanında, 14 gün sonra daha güçlü olarak CA1 alanında gözlenmiştir (57).

bFBF nöbetle ilişkili nöronal hasardaki protektif etkisi nörotransmitter glutamat ile etkileşimlerden kaynaklanabilir. bFBF ve glutamat hipokampusun jenerasyon ve dejenerasyonunda zıt etkilere sahip gibi görünmektedir. bFBF intraselüler kalsiyum konsantrasyonunu baskılayarak kültürde hipokampus nöronlarında glutamatın sebep olduğu nöronal hasarı azaltır. Mekanizması bilinmemesine rağmen, bFBF Ca^{2+} pompasını aktive ederek veya protein kinaz C aktivasyonu ile intraselüler Ca^{2+} değerlerini azaltır. Protein kinaz C aktivasyonu Ca^{2+} kanallarının fosforilasyonu ile sonuçlanır ve Ca^{2+} alımı sınırlanır (43).

Bunun yanında, bFBF'in hipokampal kültürlerinde kalbindin sentezleyen nöronların sayısını arttırdığı gösterilmiştir. Daha önceden, kalbindin eksprese eden hipokampal nöronların glutamat toksisitesine dayanıklı olduğu ve bu nöronların kalbindin immünunegatif nöronlarla kıyaslandığında $[Ca^{2+}]_i$ konsantrasyonunu daha etkili bir şekilde azalttığı gösterilmiştir. Kalbindin ve parvalbüminin ekzitotoksositeye karşı in vivo erişkin hipokampal nöronlarının korunmasıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bunlara ek olarak, bFBF NMDA reseptör protein sentezlenişini baskılar ve nöronlarda serbest radikal savunma sistemini artırır (78).

7.5. Yaş ve bFBF-ir Pozitif Astrositler ve CA2 Piramidal Nöronları:

Hipokampal oluşumda yaşa bağlı değişiklikler hücre kaybı, senil plaklar, nörofibriller düğümler (tangles), granulovakuolar değişiklikler, lipofuksin ve amiloid akümülyasyonunu içerir. Hem "fizyolojik" yaşlanma hem de demansda (örneğin Alzheimer Hastalığı) birçok nöroanatomik değişiklikler oluşur, hipokampus ve frontal kortekste yaşa bağlı değişikliklerin mekanizmaları bilinmemektedir. bFBF astrositlerde mitojenik, nöronlarda trofik etkiye sahiptir.

Desjardins S ve arkadaşlarının bir çalışmasında, genç erişkin (4 ay) ve yaşlı sıçanlarda (20 ay) hipokampuste ani erken genlerindeki (IEG ör. c-Fos, c-Jun, ve Egr-1) değişiklikler immünositokimyasal olarak incelenmiştir. Bulgularından bir kısmı dorsal hipokampusun, ventral hipokampusa göre yaştan ilerlemesinden daha çok etkilenmesi ve yaştan ilerlemesiyle astrosit işaretleyicisi olan glial fibriller asidik protein (GFAP) işaretli astrositlerin özellikle CA1 alanında daha az boyalı, dendritlerinin daha kısa ve sayıca azalmış olmasıdır (51). Bizde çalışmamızda dorsal hipokampus kesitlerini inceledik. Dorsal hipokampus ventral hipokampusa göre yaştan ilerlemesinden daha çok etkilendiği için bFBF-ir genç erişkin sıçanlarda yaşlılara nazaran farklı bulmamızı açıklayabilir.

Amenta F ve arkadaşlarının çalışmasında, genç erişkin ve yaşlı sıçanlar arasında CA1, CA3 ve dentat girus alanlarında total hücre kaybı gözlenmiştir (79). Biz çalışmamızda sadece dorsal hipokampus alanlarında, yaşa bağlı bFBF-ir astrositleri ve CA2 alanında bFBF-ir piramidal nöronları değerlendirdik, total hücre kaybı hakkında bir şey söyleyemeyiz, fakat genç sıçanlarda (2 ay, 4 ay) yaşlı sıçanlara (1 yaş ve 2 yaş) nazaran dorsal hipokampuste bFBF-ir astrositlerin ve CA2 alanında bFBF-ir piramidal nöronların yoğunluğunun fazla olduğunu söyleyebiliriz.

Lindsey JD ve arkadaşlarının çalışmasında, sıçanlarda yaşa bağlı hipertrofiye uğramış astrositlerin dağılımı incelenmiş ve yaşlı sıçan hipokampusunda morfolojik değişikliklerin özellikle sinaptik terminal alanlarındaki astrositlerde olduğu

belirlenmiştir. Yaşa bağlı olarak astrositlerdeki değişikliklerin dejenere olmuş sinaptik elemanlardan kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Bunun yanında glial değişikliklerin vasküler değişikliklerle de ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Çünkü CA3 alanı hipokampal internal transvers arter ve venlerinin ana dallandığı yerdir. Damarların dallanma alanlarında arterlerdeki dejeneratif değişiklikler sıkça olduğundan, bu alanlardaki yüksek yoğunluktaki hipertrofiye astrositler yaşa bağlı vasküler ve kan-beyin bariyer değişikliklerini yansıtmaktadır. Yaşa bağlı olarak sinaptik değişikliklerde astrositlerin rolü ve durumu önemlidir. Çünkü sinir hücreleri arasında sinaptik bağlantılarda astrositler yakından ilişkilidir (61).

Bizim çalışmamıza bir bakıma zıt olarak, Riva ve arkadaşlarının bir çalışmasında (29), serebral korteks ve medulla spinalis ile karşılaştırıldığında, hipokampusta bFBF mRNA içeriği postnatal 21. günde belirgin olarak artar bu da daha sonraki gelişimsel regülasyon ve fonksiyonu düşündürmektedir. Serebral korteks, medulla spinalis ve hipokampusta bFBF mRNA değerleri 3-24 aylık sıçanlar arasında belirgin olarak farklı bulunmamıştır. Bu bulgular, daha önce diğer büyüme faktörlerinde rapor edildiği gibi, yaştan bFBF mRNA değerlerini belirgin olarak değiştirmede göstermektedir. Farklı beyin yapılarında bFBF mRNA değerlerinin benzer temporal profili bu büyüme faktörünün sadece gelişimde görev almadığını düşündürmektedir. Gerçekte, bFBF mRNA'nın en yüksek ekspresyonu erişkinde ve yaşlı sıçanlarda bulunmaktadır bu da bFBF'nin bir devamlılık faktörü olduğu hipotezini de desteklemektedir (24). Riva ve arkadaşlarının bu çalışması, bFBF gen ekspresyonunu gösteren bir tekniktir. FBF'nin hücre içinden ortama salınıp salınmadığı veya salınıyorsa nasıl salındığı tam bilinmemektedir (52). Belli koşullar altında, belki de hücre parçalanması (lysis) veya bFBF ve taşıyıcı proteinler arasında kompleksler kurarak salınmaktadır.

Epilepsi hayvan modelleriyle yapılan çalışmalar ve epilepsili hastalardan alınan insan hipokampus dokusu Ammon boynuzu alanlarından CA2'nin korunduğunu gösterir (2, 3). CA2'nin korunmasının nedeni Ca^{2+} bağlayıcı proteinlere bağlansa bile belki de yaşam devamlılığında önemli olan bFBF'ye de indirek olarak bağlı olabilir. Çünkü daha

önce de belirtildiği gibi, bFBF intraselüler kalsiyum konsantrasyonunu baskılayarak kültürde hipokampus nöronlarında glutamatın sebep olduğu nöronal hasarı azaltır. Mekanizması bilinmemesine rağmen, bFBF Ca^{2+} pompasını aktive ederek veya protein kinaz C aktivasyonu ile intraselüler Ca^{2+} değerlerini azaltır. Protein kinaz C aktivasyonu Ca^{2+} kanallarının fosforilasyonu ile sonuçlanır ve Ca^{2+} alımı sınırlanır (43). Bunun yanında, CA2 nöronlarının bağlantıları ve fonksiyonları hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Bu açıdan, CA2 alanında piramidal nöronlarda görülen bFBF-ir önemli olabilir.

Merkezi sinir sisteminde astrositler, nöronları her yönden besleyen, ihtiyaçlarını karşılayan ve koruyan hücrelerdir. Astrositler sabit hücre toplulukları değildir, in vitro koşullarda nörotransmitter etkisinde şekil değiştirip astroglial uzantılar oluşturur, uzantıların yönü uygulanan nörotransmitterin konsantrasyon gradienti ile belirlenir. Bir astrosit birkaç nöronun sinapslarını sarabilir ve de bir nöron birkaç astrositle de sarılabilir. Sinapsları çevreleyen astrositlerin " astrositik kalsiyum dalgaları" mekanizması ile sinaptik aralıktaki Ca^{2+} mekanizmasını kontrol edebileceği söylenir, simültene bir şekilde ekstraselüler alandan Ca^{2+} alınır. Kalsiyum dalgası bitince serbest Ca^{2+} tekrar ekstraselüler alana yayılır. Astrositler sinaptik aralıkta Ca^{2+} u düşürerek nörotransmitter salınımını kontrol altına almaktadır, dolayısıyla nörotransmisyonu kontrol etmektedir. Astrositlerin bağlantıları sinapsların yaygın kontrolünü sağlar. Bu teori nöron-astrosit teorisi olarak adlandırılır. Yani hareketli astrositler organize olup sinaptik aktiviteyi düzenlerler (80, 81, 82, 83, 84). Epilepsi ve birçok nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde sinaptik mekanizmaların rolü üzerinde durulmaktadır. Biz de çalışmamızda genç ve erişkin sıçanlarda bFBF-ir astrositlerin sayısını farklı bulduk. Bu sebeple, belki de, nörodejeneratif hastalığa sahip genç ve yaşlı insanların hastalığın seyri açısından farklı olmasının, sinaps alanlarında yer alan bFBF-ir astrositlerin rolü bulunmaktadır.

Bunların yanında, her ne kadar ilk olarak Lorento de No (1934), daha sonra Haug (1974) ve Swanson ve arkadaşları (1978) Ammon boynuzu alanlarının histolojik yapısı

ile ilgili yaptığı çalışmalardan, CA2 nöronlarının CA1 nöronlarıyla karşılaştırıldığında daha büyük ve CA3 nöronlarıyla karşılaştırıldığında daha az projeksiyonlu olması, mossy lifleri içermemesi ve CA1 ve CA3 alanı arasında kalan bölge olması literatür bilgisi olarak bilinse bile, yine de CA2 alan sınırlarını tam olarak belirlemek mikroskopik düzeyde zordur. Direk olarak CA2'ye yönelik çalışmalarda CA2 alanının lokalizasyonunu belirlemede, diğer Ammon boynuzu alanlarında piramidal tabakasında bFbF-ir piramidal nöronlar olmadığından, ışık mikroskopik düzeyde bFbF immünohistokimyası önemlidir. bFbF ekspresyonunun hücre tipine ve gelişimsel yaşa göre farklı şekillerde regüle edildiği düşünülmektedir (22). bFbF astrositlerde mitojenik, nöronlarda trofik etkiye sahiptir. Astrositler bFbF gibi büyüme faktörlerinin etkisinde akson ve nöritlerin uzaması ve devamlılığını stimüle ederler. Astrositlerin bağlantıları, nöronlar arasındaki sinapsların yaygın kontrolünü sağlar. Astrositlerle sinaptik bağlantıların yakından ilişkili olması, yaşa bağlı olarak oluşan sinaptik dejeneratif değişikliklerde, astrositlerin rolünün ve durumunun önemli olduğunu düşündürmektedir. Epilepsi ve birçok nörodejeneratif hastalığın patogeneğinde sinaptik mekanizmaların rolü üzerinde durulmaktadır. 4 aylık sıçan grubunu diğer gruplarla karşılaştırdığımızda, bFbF-ir astrosit yoğunluğunu farklı bulmamız, aksonal ve dendritik uzantıların gelişiminde ve sinaps alanlarının kontrolünde astrositlerin rolünün daha gelişmiş olduğunu düşündürmektedir.

CA2 nöronlarının bağlantıları ve fonksiyonları hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Bunun yanında, epilepsi hayvan modelleriyle yapılan çalışmalar ve epilepsili hastalardan alınan hipokampus dokusu örneklerinde Ammon boynuzunun CA2 alanının korunduğunu göstermiştir. CA2 alanının korunması bFbF gibi büyüme faktörlerinin etkisinde olabilir. Genç sıçanlarla yaşlı sıçanlar karşılaştırıldığında CA2 alanındaki bFbF-ir pozitif piramidal nöronların yoğunluğundaki artışın istatistiksel olarak anlamlı olması, CA2 nöronlarının bağlantı ve fonksiyon mekanizmalarının değişmiş olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak elde ettiğimiz bu veriler yaşlanmayla dorsal hipokampusdaki bFbF-ir astrositlerin ve CA2 alanındaki bFbF-ir piramidal nöronların yoğunluğunun değiştiğini ortaya koyması açısından önemlidir.

8. KAYNAKLAR

1. Rothenburger A, Gay R (1995) Color atlas of embryology. Çev. Aytekin Y, Gürsoy E, Solakoğlu S (2000) Nobel Tıp Kitabevi 236-248.
2. Van Paesschen, Révész T . Hippocampal Sclerosis. (1996) Neuropathology of Epilepsy. Chapter 8.
3. Zhao Liu, Mikati M, Holmes GL (1995) Mesial Temporal Sclerosis: Pathogenesis and Significance. Ped Neurol Vol.12 No.1 5-16.
4. Lado FA, Sankar R, Lowenstein D, Moshé SL (2000) Age-dependent consequences of seizures: relationship to seizure frequency, brain damage, and circuitry reorganization (2000) Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews 6:242-252.
5. Williams PL, Warwick R, Dyson M, Bannister LH (1989). Gray's Anatomy. Longman Group UK Limited.
6. Mark P Mattson, M Murrain, PB Guthrie, SB Kater (1989) Fibroblast growth factor and glutamate: opposing roles in the generation and degeneration of hippocampal neuroarchitecture. J Neurosci 9(11):3728-3740.
7. Cynthia Wetmore, Lars Olson, Andrew J. Bean (1994) Regulation of Brain-derived Neurotrophic Factor (BDNF) expression and release from hippocampal neurons is mediated by non-NMDA type glutamate receptors. J Neurosci 14(3):1688-1700.
8. Burgess WH, Maciag T (1989) The heparin-binding (fibroblast) growth factor family of proteins. Annu Rev Biochem 58:575-606.
9. Woodward WR, Nishi R, Meshul CK, Williams TE, Coulombe M, Eckenstein FP (1992) Nuclear and cytoplasmic localization of basic fibroblast growth factor in astrocytes and CA2 hippocampal neurons. J Neurosci 12(1):142-152.
10. Gospodarowicz D (1974) Localization of a fibroblast growth factor and its effect alone and with hydrocortisone on 3T3 cell growth. Nature 249:123-127.

11. Gospodarowicz D, Neufeld G, Schweigerer L (1986) Molecular and biological characterization of fibroblast growth factor, an angiogenic factor which also controls the proliferation and differentiation of mesoderm and neuroectoderm derived cells. *Cell Differ* 19:1-17.
12. Gospodarowicz D (1987) Isolation and characterization of acidic and basic fibroblast growth factor. In *Methods in Enzymology*. Vol 147 New York Academic Press pp 106-119.
13. Hoffman RS (1940) Growth-activating effect of extracts of adult and embryonic tissues of rat on fibroblast colonies in vitro. *Growth* 4:361-376.
14. Trowell OA, Willmer EN (1939) Studies on growth of tissues in vitro; effects of some tissue extracts on growth of periosteal fibroblasts. *J Exp Biol* 16:60-70.
15. Walicke PA, Baird A (1988) Trophic effects of fibroblast growth factor on neural tissue. *Prog Brain Res* 78:333-338.
16. Taira M, Yoshida T, Miyagawa K, Sakamoto H, Terada M, Sugimura T (1987) cDNA sequence of human transforming gene HST and identification of the coding sequence required for transforming activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:2980-2984.
17. Moore R, Casey G, Brookes S, Dixon M, Peters G, Dickson C (1986) Sequence, topography and protein coding potential of mouse int-2: a putative oncogene activated by mouse mammary tumour virus. *EMBO J* 5:919-924.
18. Zhan X, Bates B, Hu XG, Goldfarb M (1988) The human FGF-5 oncogene encodes a novel protein related to fibroblast growth factors. *Mol Cell Biol* 8:3487-3495.
19. Marics I, Adelaide J, Raybaud F, Mattei M-g, Coulier F, Planche J, De Lapeyriere O, Birnbaum D (1989) Characterization of the HST-related FGF-6 gene, a new member of the fibroblast growth factor gene family. *Oncogene* 4:335-340.
20. Marchese C, Rubin J, Ron D, Faggioni A, Torrisi R, Messina A, Frati L, Aaronson SA (1990) Human keratinocyte growth factor activity on proliferation and differentiation of human keratinocytes: differentiation response distinguishes KGF from EGF family. *J Cell Physiol* 144:326-332.

21. Gospodarowicz D, Ferrara N, Schweigerer L, Neufeld G (1987) Structural characterization and biological functions of FGF. *Endocrine Reviews* Vol8 No2 pp 95-114.
22. Westermann R, Grothe C, Unsicker K (1990) bFGF, a multifunctional growth factor for neuroectodermal cells. *J Cell Sci. Suppl.* 13:97-117.
23. Abraham JA, Mergia A, Whang JL, Tumolo A, Friedman J, Hjerrild KA, Gospodarowicz D, Fiddes JC (1986) Nucleotide sequence of bovine clone encoding the angiogenic protein, basic fibroblast growth factor. *Science* 233:545-548.
24. Quarto N, Talarico D, Sommer A, Florkiewicz R, Basilico C, Rifkin DB (1989) Transformation by fibroblast growth factor requires high levels of expression: comparison with transformation by hst K-fgf *Oncogene Res* 5:101-110.
25. Rojeli S, Weinberg RA, Fanning P, Klagsbrun M (1988) Basic fibroblast growth factor fused to a signal peptide transforms cells *Nature* 331:173-175.
26. Renko M, Quarto N, Morimoto T, Rifkin DB (1990) Nuclear and cytoplasmic localization of different basic fibroblast growth factor species. *J Cell Physiol* 144:108-114.
27. Williams TE, Meshul CK, Cherry NJ, Tiffany NM, Eckenstein FP, Woodward WR (1996) Characterization and distribution of bFGF-containing cells in the rat hippocampus. *J Comp Neurol* 370:147:158.
28. Chadi G, Fuxe K (1998) Analysis of trophic responses in lesioned brain: focus on basic fibroblast growth factor mechanisms. *Brazilian J Med Biol Res* 31:231-241.
29. Riva MA, Mocchetti I (1991) Developmental expression of the bFGF gene in rat brain. *Dev Brain Res* 62:45-50.
30. Baird A, Walicke P (1989) Fibroblast growth factors. *Br Med Bull* 45:438-452.
31. Gallagher JT, Turnbull JE (1992) Heparan sulphate in the binding and activation of bFGF. *Glycobiology* 2(6):523-8.
32. Gomez-Pinilla F, Van Der Wal EA, Cotman CW (1995) Possible coordinated gene expressions for FGF receptor, FGF-5, and FGF-2 following seizures. *Exp Neurol* 133:164-174.

33. Stock A, Kuzis K, Woodward WR, Nishi R, Eckenstein FP (1992) Localization of aFGF in specific subcortical neuronal populations. *J Neurosci* 12:4688-4700.
34. Walicke PA (1988) Basic and acidic fibroblast growth factors have trophic effects on neurons from multiple CNS regions. *J Neurosci* 8:2618-2627.
35. Grothe C, Otto D, Unsicker K (1989) Basic fibroblast growth factor promotes in vitro survival and cholinergic development of septal neurons: comparisons with the effects of nerve growth factor. *Neuroscience* 31:649-661.
36. Sievers J, Haussmann B, Unsicker K, Berry M (1987) Fibroblast growth factors promote the survival of adult rat retinal ganglion cells after transection of optic nerve. *Neurosci Lett* 76:157-162.
37. Anderson KJ, dam D, Lee S, Cotman CW (1988) Basic fibroblast growth factor prevents death of lesioned cholinergic neurons in vivo. *Nature* 332:360-361.
38. Otto D, Frotscher M, Unsicker K (1989) Basic fibroblast growth factor and nerve growth factor administered in Gelfoam rescue medial septal neurons after fimbria fornix transection. *J Neurosci Res* 22:83-91.
39. Pettmann B, Labourdette G, Weibel M, Sensenbrenner M (1986) the brain fibroblast growth factor (FGF) is localized in neurons. *Neurosci Lett* 68:175-180.
40. Matsuyama A, Iwata H, Okumura N, Yoshida S, Imaizumi K, Lee Y, Shiraishi S, Shiosaka S (1992) Localization of bFGF-like immunoreactivity in the rat brain. *Brain Res* 587:49-65.
41. Wetmore C, Olson L, Bean AJ (1994) Regulation of BDNF expression and release from hippocampal neurons is mediated by non-NMDA type glutamate receptors. *J Neurosci* 14: 1688-1700.
42. Mattson MP, Murrain M, Guthrie PB, Kater SB (1989) Fibroblast growth factor and glutamate: opposing roles in the generation and degeneration of hippocampal architecture. *J Neurosci* 9:3728-40.
43. Liu Z, D'Amore PA, Mikati M, Gatt A, Holmes GL (1993) Neuroprotective effect of chronic infusion of basic fibroblast growth factor on seizure-associated hippocampal damage. *Brain Res* 626:335-8.

44. Gritti A, Frolichsthal-Schoeller P, Galli R et al (1999) Epidermal and fibroblast growth factors behave as mitogenic regulators for a single multipotent stem cell-like population from subventricular region of the adult mouse brain. *J Neurosci* 19:3287-97.
45. Wagner JP, Black IB, DiCicco-Bloom E (1999) Stimulation of neonatal and adult brain neurogenesis by subcutaneous injection of basic fibroblast growth factor. *J Neurosci* 19:6006-16.
46. Palmer TD, Markakis EA, Willhoite AR, Safar F, Gage FH (1999) Fibroblast growth factor-2 activates a latent neurogenic program in neural stem cells from diverse regions of the adult CNS. *J Neurosci* 19:8487-97.
47. Barnes CA (1979) Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *Psychol J Comp Physiol* 93:74-104.
48. Berman RF, Goldman H, Altman HJ (1988) Age related changes in regional cerebral flow and behaviour in Sprague-Dawley rats. *Neurobiol Aging* 9:691-696.
49. Gage FH, Chan KS, Buzsaki G, Armstrong D (1988) Experimental approaches to age-related cognitive impairments. *Neurobiol Aging* 9:645-655.
50. Gallagher M, Nicolle MM (1993) Animal models of normal aging: relationship between cognitive decline and markers in hippocampal circuitry. *Behav Brain Res* 57-155- 162.
51. Desjardins S, Mayo W, Vallée M, Hancock D, Le Moal M, Simon H, Abrous DN (1997) effect of aging on the basal expression of c-Fos, c-Jun, and Egr-1 proteins in the hippocampus. *Neurobiol Aging* 18 (1) :37- 44.
52. Janet T, Miehé BM, Labourdette G, Sensenbrenner M (1987) Ultrastructural localization of FGF in neurons of rat brain. *Neurosci Lett* 80:153-157.
53. Lorente de No R (1934) Studies on the structure of the cerebral cortex. II. Continuation of the study of the ammonic system. *J Psychol Neurol* 46:113-177.
54. Swanson LW, Cowan WM (1977) An autoradiographic study of the organization of efferent connections of the hippocampal formation in the rat. *J Comp Neurol* 172:49-84.

55. Swanson LW, Wyss JM, Cowan WM (1978) An autoradiographic study of the organization of intrahippocampal association pathways in the rat. *J Comp Neurol* 181:681-716.
56. Akai F, Yanagihara (1993) Identity of the dorsal hippocampal region most vulnerable to cerebral ischemia. *Brain Res* 603:87-95.
57. Riva MA, Donati E, Tascedda F, Zolli M, Racagni G (1994) Short- and long-term induction of bFGF gene expression in rat central nervous system following kainate injection. *Neuroscience* 59:55-65.
58. Wetmore C, Olson L, Bean AJ (1994) Regulation of BDNF expression and release from hippocampal neurons is mediated by non-NMDA type glutamate receptors. *J Neurosci* 14: 1688-1700.
59. Finklestein SP, Apostolides PJ, Caday CG, Prosser J, Phillips MF, Klagsbrun M (1988) Increased bFGF immunoreactivity at the site of focal brain wounds. *Brain Res* 460:253-259.
60. Nieto-Sampedro M, Lewis ER, Cotman CW, Manthorpe M, Skaper SD, Barbin G, Longo FM, Varon S (1982) Brain injury causes a time-dependent increase in neurotrophic activity at the lesion site. *Science* 221:860-861.
61. Lindsey JD, Landfield PW, Lynch G (1979) Early onset and topographical distribution of Hypertrophied astrocytes in Hippocampus of aging rats: a quantitative study. *Vol.34 No.5*, 661-671.
62. Geddes JW, Monaghan DT, Cotman CW, Lott IT, Kim RC, Chui HC (1985) Plasticity of hippocampal circuitry in Alzheimer's disease. *Science* 230:1179-1181.
63. Geddes JW, Anderson KJ, Cotman CW (1986) Senile plaques as aberrant sprout-stimulating structures. *Exp Neurol* 94:767-776.
64. Ramon y Cajal S (1928) Study of regenerative processes of the cerebrum. Degeneration and regeneration of the nervous system, Vol II (May RM, ed) pp 734-762. London: Hafner.
65. Gomez-Pinilla F, Cummings BJ, Cotman CW (1990) Induction of basic fibroblast growth factor in Alzheimer's disease pathology. *Neuroreport* 1:211-214.

66. Stopa EG, Gonzalez A, Chorsky R, Corona R, Alvarez J, Bird ED, Baird A (1990) Basic fibroblast growth factor in Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 171:690-696.
67. Represa A et al: Molecular and cellular cascades in seizure-induced neosynapse formation; *Adv Neurol* 1997;72:25-34.
68. Baraban SC, Schwartzkroin PA (1995) Electrophysiology of CA1 pyramidal neurons in an animal model of neuronal migration disorders: prenatal methylazoxymethanol treatment. *Epilepsy Res.* 22, 145-156.
69. Hochman DW, Baraban SC, Owens JWM, Schwartzkroin PA (1995) Furosemide blockade of epileptiform activity dissociates synchronization from hyperexcitability. *Science* 270, 99-102.
70. Baraban SC, Bellingham MC, Berger AJ, Schwartzkroin PA (1997) Osmolarity modulates K⁺ channel function on hippocampal interneurons but not CA1 pyramidal neurons. *J Physiol (Lond)* 498, 679-689.
71. Baraban SC, Schwartzkroin PA (1997) Effects of prenatal cocaine exposure on the developing hippocampus: intrinsic and synaptic physiology. *J Neurophys* 77, 126-136.
72. Baraban SC, Hollopeter G, Erickson JE, Schwartzkroin PA, Palmiter RD (1997) Knock-out mice reveal a critical antiepileptic role for NPY. *J Neurosci* 17, 8927-8938.
73. Marsh DJ, Baraban SC, Hollopeter G, Palmiter RD (1999) Role of the Y-5 neuropeptide receptor in limbic seizures. *Proc Natl Acad Sci USA* 9, 13518-13523.
74. Gall C, Berschauer R, Isackson PJ (1994) Seizures increase basic fibroblast growth factor mRNA in adult rat forebrain neurons and glia. *Mol Brain Res* 21:190-205.
75. Van der Wal EA, Gomez-Pinilla F, Cotman CW (1994) Seizure-associated induction of basic fibroblast growth factor and its receptor in the rat brain. *Neuroscience* 60:311-23.

76. Bugra K, Pollard H, Charton G, Moreau J, Ben-Ari Y, Khrestchatisky M (1994) aFGF, bFGF and flg mRNAs show distinct patterns of induction in the hippocampus following kainate-induced seizures. *Eur J Neurosci* 6:58-66.
77. Bregola G, Frigati L, Zucchini S, Simonato M (2000) Different patterns of induction of fibroblast growth factor-2 and brain-derived neurotrophic factor messenger RNAs during kindling epileptogenesis, and development of a herpes simplex vector for fibroblast growth factor-2 gene transfer in vivo 41:122-126.
78. Cheng B, Mattson MP (1994) NT-3 and BDNF protects CNS neurons against metabolic/excitotoxic insults. *Brain Res* 640:56-67.
79. Amenta F, Bongrani S, Cadel S, Ricci A, Valsecchi B, Zeng Y-C (1993) Neuroanatomy of aging brain. *Annals New York Academy of Sciences*. P:33-44.
80. Cornell-Bell AH, Finkbeiner SM, Cooper MS, Smith SJ (1990) Glutamate induces calcium waves in cultured astrocytes: long-range glial signaling *Science* 247:470-473.
81. Cornell-Bell AH, Finkbeiner SM, Cooper MS, Smith SJ (1991) Ca^{+2} waves in astrocytes. *Cell Calcium* 12:185-204.
82. Nederguard M (1994) Direct signaling from astrocytes to neurons in cultures of mammalian brain cells. *Science* 263:1768-1771.
83. Parpura V, Basarsky TA, Liu F, Jeftinija K, Jeftinija S, Haydan PG (1994) Glutamate mediated astrocyte neuron signaling. *Nature* 369:744-747.
84. Pasti L, Volterra A, Pozzan T, Carmignoto G (1997) Intracellular calcium oscillation in astrocytes: a highly plastic bidirectional form of communication between neurons and astrocytes in situ. *J Neurosci* 17:7817-7830.

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı, Soyadı : Emsal Salık
Doğum Tarihi : 16/09/1973
Doğum Yeri : Yavuzeli/Gaziantep
Uyruğu : T.C.
Medeni Hali : Bekar

EĞİTİM

1980-1985 : Cumhuriyet İlkokulu, Pozantı/Adana
1985-1987 : Ziya Gökalp Lisesi, Diyarbakır
1987-1990 : Mustafa Kemal Lisesi, Ankara
1990-1991 : Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Hazırlık Sınıfı (İngilizce), İstanbul
1991-1998 : Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi (İngilizce), İstanbul

GÖREVİ

1998-... : Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji ABD
Tıpta Uzmanlık Öğrencisi

SERTİFİKALAR

KPDS : Kasım 1999 (İngilizce), Puan 78, Seviye C
TOEFL : 2001, Puan 565
II. Ulusal Epilepsi Kongresi : 7-10 Haziran 2000, İstanbul
Epilepside Temel Mekanizmalar : 7 Haziran 2000, İstanbul, European
Kursu Epilepsy Academy
Fare Embriyolarında Uygulamalı : 10-15 Eylül 2000, Tübitak-MAM, Gebze
Mikroenjeksiyon ve Transgenik
Manipulasyonlar Kursu
Türkiye’de Nörobilimlerin Bugünü : 5-8 Nisan 2001, Uludağ, Bursa
Ve Geleceği
Nöral Plastisite Yaz Okulu : 4-8 Haziran 2001, Ege Üniversitesi Tıp
Fakültesi, İzmir
Uzmanlık Öğrencisi Temel Eğitim : Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, 2001
Kursu
Deney Hayvanlarıyla Yapılan : Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, 2001
Araştırmalar Atölye Çalışması

ÜYELİKLER

Türk Tabipleri Birliği, İstanbul Tabip Odası
Türk Elektron Mikroskopi Derneği

YAYINLAR VE BİLDİRİLER

ULUSLARARASI KONGRELER

The effect of alpha-melanosit stimulating hormone on endotoxin-induced intestinal injury. B. Oktar, T. Şan, F. Ercan, E. Salık, İ. Alican. Digestive Diseases and Sciences 46(3) 451-704 (2001) , 10th International Conference on Ulcer Research and 5th International Symposium on Cell Injury and Protection in the Gastrointestinal Tract Budapest-Pecs, Hungary October 25-28 2000.

The effects of high frequency sound waves on the injured and damaged brain tissue of rat. B. Aykurt ,İ. Okar, M. Aykurt, G. Yanıkkaya-Demirel, E. Salık. XVI th International symposium on Morphological Science Suncity, South Africa July 22-26 2001.

ULUSLARARASI YAYINLAR

The effect of α -melanocyte stimulating hormone on endotoxin-induced intestinal injury. T. Şan, B.K. Oktar, E. Salık, F. Ercan, İ. Alican. Peptides 22 (2001) 2077-2082.

Does density of slime layer change mic values of fluconazole in first and subsequent subcultures of Candida Species. N. Çerikoğlu, U. Över, T. Şan, E. Salık, G. Söyletir. J Microbiol (baskıda).

ULUSAL KONGRELER

Kainik asit uygulanmış sıçanlarda ışık mikroskopi çalışması. T. Şan, S. Şırvancı, E. Salık, F. Ercan, Ş. Çetinel, H. Yananlı, F. Onat. 2. Ulusal Epilepsi Kongresi (Uluslararası Katılımlı). 7-10 Haziran 2000, İstanbul. Epilepsi 2000;6:1,P33.

Sıçanlarda endotoksine bağlı ileitte α -MSH etkisinin histolojik incelemesi. T. Şan, B. Oktar, E. Salık, F. Ercan, S. Arbak. V. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, 28-31 Ağustos 2000, Kayseri.

Beyine uygulanan yüksek frekanslı ses dalgalarına karşı ependimal hücrelerin ve koroid pleksüsün davranışı. M. Aykurt, B. Aykurt, E. Salık, İ. Okar, G. Yanıkkaya-Demirel. Türkiye'de Nörobilimlerin Bugünü ve Geleceği, 5-8 Nisan 2001, Uludağ, Bursa.

Sıçanlarda kainik asit epilepsi modelinde hipofiz ve adrenal bezlerin ışık mikroskopik incelemesi. E. Salık, U. Uslu, S. Şırvancı, H. Yananlı, F. Ercan. Nöral Plastisite Yaz Okulu (Uluslararası Katılımlı) 4-8 Haziran 2001, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, İzmir.

Sıçanlarda kainik asit epilepsi modelinde testislerin ışık ve elektron mikroskopik incelemesi. U. Uslu, E. Salık, S. Şırvancı, H. Yananlı, T. Şan, İ. Okar. 15. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi, 18-21 Eylül 2001, Kuşadası, İzmir.

KATILDIĞI PROJELER

Kandida türlerinde "slime" üretiminin elektron mikroskopik olarak değerlendirilmesi. Marmara Üniversitesi Araştırma Fonu.

Farelerde LPS (lipopolisakkarit) ile oluşturulan akut ve kronik endometritte alfa-MSH (alfa-melanosit stimulan hormon)'ın etkisi. Marmara Üniversitesi Araştırma Fonu.

HOBİLER

Müzik
Bas Gitar

