

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

TAVUKLARDA BEYİNCİK KORTEKSİNİN EMBRİYONİK GELİŞİMİ
VE PURKİNJE HÜCRELERİNİN ÇEKİRDEKLERİNDE AgNOR
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN
SERDAR AKAR

DANIŞMAN
DOÇ. DR. EMRAH SUR

KONYA-2007

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI
SABE PROJE NO: 06202022

TAVUKLARDA BEYİNCİK KORTEKSİNİN EMBRİYONİK GELİŞİMİ
VE PURKİNJE HÜCRELERİNİN ÇEKİRDEKLERİNDE AgNOR
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN
SERDAR AKAR

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından/..../2007 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile kabul edilmiştir. (S.B.E. Yönetim Kurulu Karar tarih ve No:...

Tez Jürisi: Jüri Başkanı Prof. Dr. İlhami ÇELİK.....
(S.Ü.Veteriner Fakültesi)

Danışman: Doç. Dr. Emrah SUR.....
(S.Ü.Veteriner Fakültesi)

Üye: Yrd. Doç. Dr. M. Faruk AYDIN.....
(Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi)

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	1-2
2. LİTERATÜR BİLGİ	3-23
2.1. Beyinciğin Anatomik Yapısı.....	3
2.2. Beyinciğin Histolojik Yapısı.....	4
2.2.1. Beyincikte hücre katmanları.....	4
2.3. Beyincikte Nöron Bağlantıları.....	6
2.4. Sinir Sisteminin Embriyonik Kökeni.....	7
2.5. Beyinciğin Embriyonik Gelişimi.....	9
2.6. Beyinciğin Gelişimi Sürecinde Nöronal Göç.....	11
2.7. Beyinciğin Post-natal Gelişimi.....	13
2.8. Memelilerde Beyinciğin Embriyonik Gelişimi.....	14
2.9. Kanatlılarda Beyinciğin Embriyonik Gelişimi.....	15
2.10. Beyincik Pürkinje Hücreleri.....	16
2.11. Beyinciğin Fonksiyonları.....	19
2.12. Çekirdekçik Organize Bölgeleri ve AgNOR Boyama Metodu.....	21
3. MATERYAL VE METOT	24-25
3.1. Hayvan Materyali.....	24
3.2. Metot.....	24
3.2.1. Kuluçka işlemleri.....	24
3.2.2. Doku örneklerinin alınması ve işlenmesi.....	24
3.2.3. AgNOR solüsyonunun hazırlanması ve kesitlerin boyanması.....	24
3.2.4. Preparatların incelenmesi ve görüntü analiz sistemi ile analizleri.....	25
3.3. İstatistiksel Analizler.....	25
4. BULGULAR	26-29
4.1. İnkübasyonun Yedinci Günü.....	26
4.2. İnkübasyonun Sekizinci Günü.....	26
4.3. İnkübasyonun Dokuzuncu Günü.....	26
4.4. İnkübasyonun Onuncu Günü.....	26
4.5. İnkübasyonun Onbirinci Günü.....	27
4.6. İnkübasyonun Onüçüncü Günü.....	27
4.7. İnkübasyonun Onbeşinci Günü.....	27
4.8. İnkübasyonun Onsekizinci Günü.....	27
4.9. Kuluçkadan Çıkışın İlk Günü.....	27
4.10. Kuluçkadan Çıkışı Takip Eden Onuncu Gün.....	28
4.11. Kuluçkadan Çıkışı Takip Eden Üçüncü Hafta.....	28
4.12. Kuluçkadan Çıkışı Takip Eden Dördüncü Hafta.....	28
4.13. Farklı Dönemlerdeki Embriyo ve Cıvcıvlerde Beyincik Purkinje Hücrelerine Ait Parametreler.....	28
5. TARTIŞMA	30-35
6. ÖZET	36
7. SUMMARY	37
8. KAYNAKLAR	38-47
9. EKLER	48-58
10. ÖZGEÇMİŞ	59
11. TEŞEKKÜR	60

1. GİRİŞ

Denge ve hareketlerin zamanlama ve koordinasyonundan sorumlu olan ve medulla oblongata ile pons üzerinde yer alan beyincik, embriyonik dönemin sonuna doğru dorsal metencephalik bölgeden gelişir. İlk olarak bu bölgedeki ventriküler nöroepitel hücrelerinin mitotik aktiviteleri ile iç matriks bölgesi oluşur. İç matriks bölgesinde yer alan nöroblastlar birinci göç dalgasıyla omuriliğin gri maddesine karşılık gelen manto bölgesine ulaşırlar ve bazal serebellar çekirdeklere dönüşürler. İç matriks bölgesinde hala bölünebilme yeteneklerini koruyan nöroblastların ikinci bir göç dalgasıyla da Purkinje hücreleri ve beyincik taslağının dış yüzeyinde dış matriks bölgesi (dış granüler tabaka) şekillenir.

Kanatlı beyinciğinde yer alan hücre popülasyonları ventriküler nöroepitel ve dış granüler tabaka olmak üzere 2 farklı bölgeden gelişir. Erken dönemde beyinciğin üst tabakası (mantle-manto) ventriküler nöroepitelden gelişir ve kısa bir süre içerisinde iç ve dış manto tabakalarına bölünür. Dış manto tabakası da derin ve yüzeysel katmanlara ayrılır. Bunlardan derin tabakadan merkezi beyincik çekirdeklerini oluşturacak olan nöronlar gelişirken, yüzeysel katmandan dış granüler tabaka gelişir.

Purkinje hücreleri beyinciğin tek eferent hücreleri olup dördüncü ventrikulus'un rostral alar ventriküler zonundan köken alırlar. Bu hücrelerin aksonları çoğunlukla derin serebellar çekirdeklerdeki nöronlarla bağlantı kurarken, aşırı derecede dallanma gösteren dendritleri paralel lifler, yosunsu lifler, sepet ve Golgi hücrelerinin uzantıları ve beyincikteki diğer nöronlarla bağlantı kurarlar.

Çekirdekçikler, ribozomal alt birimlerin sentezlediği çekirdek bölgeleridir. Ribozomal RNA (rRNA)'ları sentezleyen genler (rDNA), canlı türlerinde belirli kromozomlarda yer alırlar. Bu kromozomların rRNA sentezleyen bölümleri, interfazdaki bir hücrenin çekirdeğinde belirli bölgelerde toplanır ve çekirdekçik olarak bilinen koyu bölgeleri oluştururlar. Buna göre DNA'nın rRNA sentezleyen genlerini içeren ve çekirdekçiği oluşturan bölgeleri nücleolus organizatör bölgeleri (NOR) olarak adlandırılır. Gümüşleme yöntemiyle NOR'ların boyanması sırasında aktif olarak transkripsiyon yapan NOR'lar ve dolayısıyla rDNA bölgeleri de boyanır. Bu nedenle aktif olarak çoğalan hücrelerde yer alan NOR'lardaki genlerin ekspresyonunda önemli bir artış olmaktadır.

Genetik çalışmalarda kullanılan materyaller genler ve kromozomlardır. Günümüzde bu tip çalışmalar sayesinde kromozomlardaki yapısal ve sayısal bozuklukların tespiti yapılabilse de bunlar pahalı bir donanım gerektirdiği için veteriner hekimliği sahasında kullanımları son derece sınırlı kalmıştır. Geçmiş yıllarda insanlardaki bazı kanserlerin teşhisinde, evrelerinin belirlenmesinde ve hastalığın seyri ile prognozun takibinde kullanılan interfazdaki hücre çekirdeğindeki çekirdekçik organize bölgelerinin (NOR) gümüşleme metoduyla boyanması yöntemi (Silver Staining Nucleolus Organizer Regions, AgNOR), son yıllarda sitogenetik çalışmalarda kendine yer bulan önemli, basit ve ucuz bir metottur. Bu alışmada, Babcock – B – 380 ırkı kahverengi yumurtacı ırk tavukların beyincik korteksinin embriyonik gelişiminin yanı sıra, Purkinje hücrelerinin ekirdeklerindeki AgNOR aktivitelerinin de belirlenerek, ileride yapılacak olan benzeri çalışmalara temel veriler sağlanması amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR BİLGİ

2.1. Beyinciğin Anatomik Yapısı

Beyincik Latince “*cerebellum*” kelimesinden köken alır ve “*küçük beyin*” anlamına gelir (Herrup ve Kuemerle, 1997). Denge ve hareketlerin zamanlama ve koordinasyonundan sorumlu olan beyincik, medulla oblongata ve pons üzerinde yer alır. Bu yapılara pedunculus adı verilen üçayakla (*Brachium conjunctivum, Brachium pontis ve Corpus restriformis*) bağlanan beyincik, dördüncü ventriculus aracılığıyla da medulla oblongata ve pons'tan ayrılır (Ganong, 1999; Dursun, 2000, Mitmann ve ark, 2005).

Beyincik, ortada vermiş adı verilen bir bölümlerle birbirinden ayrılmış iki yarım küreden oluşmuştur. Bu yarım küreler iki derin yarık ile (*fissura anterior ve fissura posterior*) üç ana bölüme ayrılır (*Lobus anterior, Lobus medianus, Lobus posterior*). Filogenetik açıdan lobus anterior ve lobus posterior daha erken oluşan yapılar oldukları için *PALEOSEREBELLUM* adını alırlarken, evrimin daha ileri aşamalarında şekillenmiş olan lobus medianus *NEOSEREBELLUM* adını alır (Nickel ve ark, 1977; Voogd ve Glickstein, 1998; Noyan, 2004)

Beyinciğin dış yüzeyinde *sulci cerebelli* denilen enine oluklar ile bu oluklar arasında kalan ve *folia cerebelli* adı verilen kabartılar bulunur. Memeli ve kanatlılarda bu foliumlar (lopçuklar) benzer şekilde isimlendirilirler ve önden arkaya doğru Roma rakamları ile sembolize edilirler. Bunlardan en önde yer alanı *Lingula cerebelli* adını alırken, diğerleri sırasıyla *lobulus centralis, culmen, declive, tuber vermis, pyramis (vermis), uvula ve nodulus* adını alır. Nodulus'un her iki yanındaki küçük parçalar ise *flocculus*'tur (Voogd ve Glickstein, 1998; Dursun, 2000; Noyan, 2004).

Kitle olarak beyinin yaklaşık %10'u kadar bir büyüklüğe sahip olan beyincik, söz konusu yarık ve oluklar nedeni ile sahip olduğu kıvrımlı yapı sayesinde yüzey alanını oldukça genişletmiş ve beyin yüzey alanının %75'i kadar geniş bir yüzey alanına sahip olmasının yanı sıra merkezi sinir sisteminde yer alan tüm nöronların yarıdan fazlasını da içermesi nedeniyle diğer merkezi sinir sistemi organları içerisinde ayrı bir öneme sahiptir (Ganong, 1999; Mial ve Reckess, 2002).

Beyincikten enine kesit alındığında renk ve yapı bakımından farklı iki bölüm görülür. Bunlar *korteks serebelli (Substansiya grizeya kortikalis-boz-gri-madde)* ve *medula (Substansiya alba-ak madde)* olarak isimlendirilir. Beyinciğin ortasında yer alan ve korteks içerisine uzantılar gönderen medula bölümü daha kalındır. Medulanın korteks içerisine göndermiş olduğu uzantılara *lamina alba* adı verilir. Substansiya alba ve bunun korteks içerisindeki uzantıları olan lamina alba'ların oluşturduğu tipik ağaç benzeri görünüm "*arbor vitae (hayat ağacı)*" olarak adlandırılır (Tanyolaç, 1999; Dursun, 2000).

2.2. Beyinciğin Histolojik Yapısı

2.2.1. Beyincikte hücre katmanları

Beyincik substansiya grizeya (gri madde) ve substansiya alba (ak madde) olmak üzere iki ana tabakadan oluşur. Merkezi sinir sistemine ait diğer organlarda olduğu gibi substansiya grizeya, nöronlar, gliya hücreleri ve bunların uzantıları ile kan damarlarından oluşurken substansiya alba'da nöronlar bazal çekirdekler dışında bulunmaz (Junqueira ve ark, 1993; Tanyolaç, 1999).

Beyinciğin substansiya grizeya'si (korteks) glia ve sinir hücrelerinin uzantılarının yanı sıra 8 tip nöron içerir. Bunlar; *Purkinje hücreleri*, *Sepet hücreleri* (moleküler tabakada), *Yıldız hücreleri* (moleküler tabakada), *Golgi hücreleri* (granüler tabakada), *Lugaro hücreleri* (granüler tabakada), *unipolar fırçamsı hücreler (Brush cells)*, *candelebrum hücreleri* ve *granüler hücreler*dir. Bu hücreler beyincik korteksinde farklı düzlemlerde organize olarak üç temel hücresel katmanı şekillendirirler (Şekil 9.14). Bunlar;

1. *Stratum molekulare*: En az hücreye sahip olan bu katman, en dışta yer alır ve en yüksek sinaptik yoğunluğa sahiptir.

2. *Stratum gangliosum* (Purkinje hücre katmanı): Tek sıralı Purkinje hücrelerinden oluşur. Tüm beyincik nöronları içerisinde sadece Purkinje hücrelerinin aksonları korteks dışına uzanır.

3. *Stratum granulosum*: En yoğun hücre popülasyonuna sahip beyincik korteks katmanıdır (Nickel ve ark., 1977; Voodg ve Glickstein 1998; Tanyolaç, 1999; Sotelo, 2004)

Moleküler hücre katmanında çok sayıda küçük nöron ile bu nöronlardan çıkan ince miyelinli sinir uzantıları, bunun yanı sıra da Purkinje hücrelerinin aşırı dallanma gösteren dendritleri yer alır. Ayrıca yine bu tabakada inhibitorik nöronlardan Sepet hücreleri de yer alır. Bu hücrelerin karakteristik görünümünü sağlayan dallanmış aksonları alt tabakadaki Purkinje hücrelerini kuşatır (Nickel ve ark, 1977; Voodg ve Glickstein 1998; Tanyolaç, 1999).

Moleküler hücre katmanının hemen altında tek sıra halinde dizilmiş Purkinje hücrelerinin oluşturmuş oldukları *stratum gangliosum* katmanı yer alır. Purkinje hücreleri merkezi sinir sisteminin en iri hücrelerindedir. Aşırı dallanma gösteren dendritleri stratum molekülare'ye doğru uzanan bu hücrelerin aksonları ise alttaki granüler hücre katmanını geçerek subtansiya alba'ya ulaşır ve orada yer alan serebellar nükleusların (çekirdeklerin) nöronları ile bağlantı kurarlar. Purkinje hücreleri, beyinciğe gelen tüm aferent ipliklerin bağlantı kurduğu ve beyincikten çıkan tüm eferent ipliklerin de köken aldığı önemli hücrelerdir (Nickel ve ark, 1977; Sotelo, 2004).

Granüler hücre katmanında yer alan hücreler ise oldukça küçük hücreler olup, dendritleri bu tabakayı terk etmez. Ancak aksonları (paralel lifler) moleküler hücre katmanına kadar ulaşarak Sepet hücreleri ve Purkinje hücrelerinin dendritleri ile bağlantı kurar. Golgi hücreleri de bu katmanda yer alan hücrelerdendir (Nickel ve ark, 1977; Tanyolaç,1999).

Subtansiya alba, aferent ve eferent sinir tellerinin yanı sıra nükleus dentatus gibi bazal çekirdeklerin nöronlarını da içerir. Bu tellerden aferent olanları "*tırmanan lifler*" ve "*yosunsu lifler*" olarak isimlendirilir. Tırmanan lifler, medulla oblangata'daki nükleus olivaris'in nöronlarından gelirken, yosunsu lifler, beyinciğe giren tüm liflerin terminal dallanmalarıdır. Bunlar, beyincik korteksine kadar uzanarak geniş bir alana yayılırlar (Drews, 2000).

Tırmanan lifler, yosunsu lifler ve granüler katmandaki nöronların aksonları olan paralel lifler aracılığıyla beyinciğe gelen aferent uçlar, doğrudan ya da dolaylı olarak Purkinje hücrelerinin dendritleri ile sinapslar yaparlar. Purkinje hücrelerine aktarılan uyarım burada işlenerek bu hücrelerin uzun aksonları boyunca nükleus dentatus'un nöronlarına iletilir ve kas tonusu ile hareketin koordinasyonu dolaylı yoldan düzenlenmiş olur (Drews, 2000).

2.3. Beyincikte Nöron Bağlantıları

Beyincik korteksine bilgi götüren 2 ana aferent sistem vardır. Bunlar “*Tırmanan lifler*” ve “*Yosunsu lifler*” dir. Deri ve kaslardan gelen uyarımlar, medulla oblongata'da yer alan nükleus olivaris'teki nöronlara tractus spinoolivaris yolunu izleyerek gelirler. Bu çekirdekte yer alan nöronlardan çıkan aksonların oluşturmuş olduğu sinir telleri tractus olivo-cerebellaris yoluyla pedunculus'un bir ayağı olan corpus restiformis aracılığıyla beyinciğe ulaşırlar. Beyincik korteksine kadar ulaşarak Purkinje hücresiyle bağlantı kuran bu aksonlara “*Tırmanan Lifler*” adı verilir. Tırmanan lifler doğrudan Purkinje hücreleri ile bağlantı kurarlar. Bu liflerle Purkinje hücreleri arasındaki sayısal eşleşme merkezi sinir sisteminin başka herhangi bir yerinde görülmeyen bir özelliğe sahiptir. Zira her bir tırmanan lif tek bir Purkinje hücresi ile bağlantı kurar (Herrup ve Kuemerle, 1997; Drews, 2000; Dursun, 2000; Sotelo, 2004). Tavuk embriyolarında yapılan bir çalışmada tırmanan liflerin alt tiplerinde tespit edilen nöral proteinlerin homologlarına söz konusu tırmanan lifin hedefi olan Purkinje hücresinde de rastlandığı bildirilmektedir (Plagge ve ark, 2001).

Beyinciğe giren diğer tüm aferent liflerin son uçları olan “*Yosunsu Lifler*” ise köken aldıkları nöronlar açısından daha heterojen bir yapıya sahiptirler. Bu lifler pontin, beyin kökü ve omurilikte yer alan nöronların aksonları olup doğrudan Purkinje hücreleri ile bağlantı kurmazlar. Bunun yerine stratum granulosum katmanındaki hücrelerle bağlantı kurarlar. Her bir granül hücresinin aksonu olan ve stratum molekülare katmanına dek uzanan “*Paralel Lifler*” ise çok sayıda Purkinje hücresi ile temasa geçerler. Böylece tek bir yosunsu lif, yüzlerce paralel lif aracılığıyla binlerce Purkinje hücresi ile bağlantı kurmuş olur (Sotelo, 2004).

Stratum molekülare katmanındaki Sepet hücreleri ile stratum granulosum katmanındaki Golgi hücreleri de paralel lifler tarafından uyarılırlar. Bir adet Sepet hücresi aksonunun 5-6 adet Purkinje hücresini sardığı bildirilmektedir. Golgi hücreleri ise aynı zamanda tırmanan lifler ve yosunsu lifler ile de bağlantı halindedir ki bu sayede Purkinje hücresine hangi impuls'un ulaşacağını ya da ulaşmayacağını belirlerler. Sepet ve Golgi hücreleri inhibe edici nöronlar iken, tırmanan lifler, yosunsu lifler ve bunlarla bağlantı halindeki granüler hücreler uyarıcı fonksiyon görürler. Beyincikte adeta kilit rolü üstlenen Purkinje hücrelerinden çıkan aksonlar, beyincikteki merkezi çekirdeğe (*nucleus dentatus*) ulaşır. Buraya gelen uyarım denge ve hareketle ilgili beyin ve omurilikteki motor merkezlere

iletilir. Sonuçta doğrudan doğruya hiçbir kasa emir vermeyen beyincik, motor merkezlerin emirlerini değiştirip yeniden düzenler ve ilgili kas gruplarının hareketlerinin gerektiği gibi yapılmasını dolaylı olarak düzenlemiş olur (Nickell ve ark, 1977; Herrup ve Kuemerle, 1997; Noyan, 2004).

2.4. Sinir Sisteminin Embriyonik Kökeni

Memeli ve kanatlılarda sinir sisteminin köken aldığı yapı, ektoderm üzerinde oluşan *sulcus neuralis*'tir (sulkus nöralis). Bu yapı, fertilizasyonu takip eden ilk yarıklanma bölünmelerinin ardından oluşan *discus embriyonalis* üzerinde belirir. Sulkus nöralis'in kapanması ile *tubulus neuralis* (tubulus nöralis) şekillenir. İki ucu delik bir boru şeklindeki bu yapının ön ucundaki deliğe *neurophorus (nöroporus) cranialis*, arka ucundaki deliğe *neurophorus caudalis* adı verilir (Özer ve ark, 1996; Hassa ve Aştı, 1997).

Sulkus ve tubulus nöralis'in duvarını döşeyen ve yükseklikleri farklı olan nöroepitelyal hücrelerin uzantıları, kanalın hem iç hem de dış yüzeyine doğru uzanır. Nöroepiteli dış yüzeyde dış sınır membranı, iç yüzeyde iç sınır membranı kuşaktır. Yüksek mitotik aktiviteye sahip olan nöroepitel hücrelerin bir bölümü bölünmelerine devam ederlerken, bir diğer bölümü de lüminal yüzeyden ayrılarak nöroblast ya da glioblast'ları oluşturmak üzere farklılaşırlar. Nöroblastlar, akson ve dendrit adı verilen uzantıları şekillendirerek nöronlara dönüşürken, glioblastlar merkezi sinir sisteminin ara dokusunda yer alan astrosit ve oligodentrositleri oluştururlar (Özer ve ark, 1996).

Nöroepitel'in gelişimi esnasında üç tabaka belirir. Bunlar;

1. *Ventriküler Tabaka (Ependimal-Germinal Tabaka)*: Mitotik bölünmelere devam eden ve lümene yakın hücrelerin oluşturduğu tabaka olup; ileride canalis centralis ve merkezi sinir sistemindeki ventrikulusların içini döşeyecek olan hücrelerce oluşturulur.

2. *İntermediyer (Mantle) Tabaka*: Ortada yerleşmiş olan neuroblast, glioblast ve proliferatif nöroepitel hücrelerinin oluşturduğu bu tabakadan, ileride boz madde (substansiya grizeya) şekillenecektir.

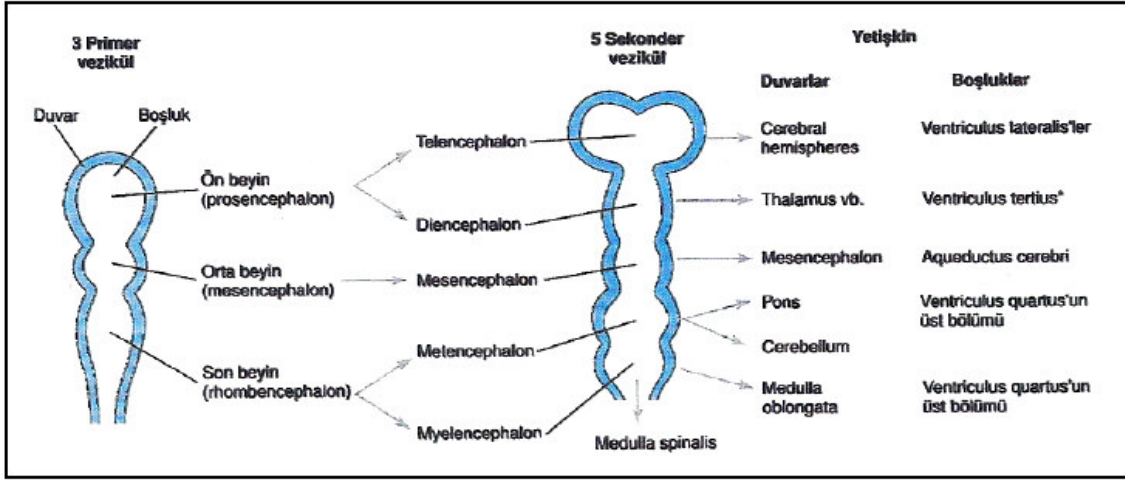
3. *Marjinal Tabaka*: Nöral tüpün periferinde yer alan az sayıdaki hücre ile çok sayıda uzantı içeren, hücreden fakir tabakadır. Bu tabaka ileride substansiya alba'yı şekillendirecektir (Özer ve ark, 1996).

Nöroepitelde meydana gelen kardeş hücrelerin bir bölümü mitoz bölünme yeteneklerini kaybederek, epitelin dış yüzeyine doğru göç ederler. Hem iç ve hem de dış sınır membranla bağlantılı uzantılara sahip bipolar nöroblastlar, ilerleyen dönemlerde lüminal (iç) yüzeye doğru olan uzantılarını kaybederek unipolar bir hücre halini alırlar. Bu hücrelerin sitoplazmalarında bol miktarda endoplazmik retikulum birikirken, aynı zamanda çok sayıda da dendritik uzantı gelişerek multipolar bir karakter kazanırlar. Özellikle beyin ve beyincikteki kortikal nöronların bölünmesi köpekte doğumdan sonra 3-4. aylarda son bulurken, insanda 3 yaşına kadar devam eder (Özer ve ark, 1996).

Bu gelişmeler sürerken nöroporus kranialis kısa bir süre sonra kapanır ve kanalın ön ucunda küçük bir vezikül meydana gelir. İnsanda yaklaşık 28. günde şekillenen bu yapı "*Encephelon (beyin kabarcığı)*" adını alır. Encephelon, insanda beşinci hafta içerisinde üç ilkel beyin vezikülüne bölünür. Bunlar;

1. *Ön Beyin Vezikülü- Prosencephalon*
2. *Orta Beyin Vezikülü-Mesencephalon*
3. *Son-Arka Beyin Vezikülü-Rhombencephalon*

Bu yapılardan Prosensefalon ve Rhombensefalon insanda beşinci haftanın, tavukta ise 72. saatin sonunda ortalarından boğumlanarak sekonder vezikülleri meydana getirirler. Prosensefalon'un boğumlanmasıyla telensefalon ve diensefalon şekillenirken, rhombensefalon'un boğumlanmasıyla da metensefalon ve miyelensefalon gelişir. Orta beyin vezikülü olan mesensefalon'da boğumlanma şekillenmez (Şekil 2.4.1) (Hassa ve Aştı, 1997; Moore ve Persaud, 2002).



Şekil 2.4.1. (Moore ve Persaud, 2002'den)

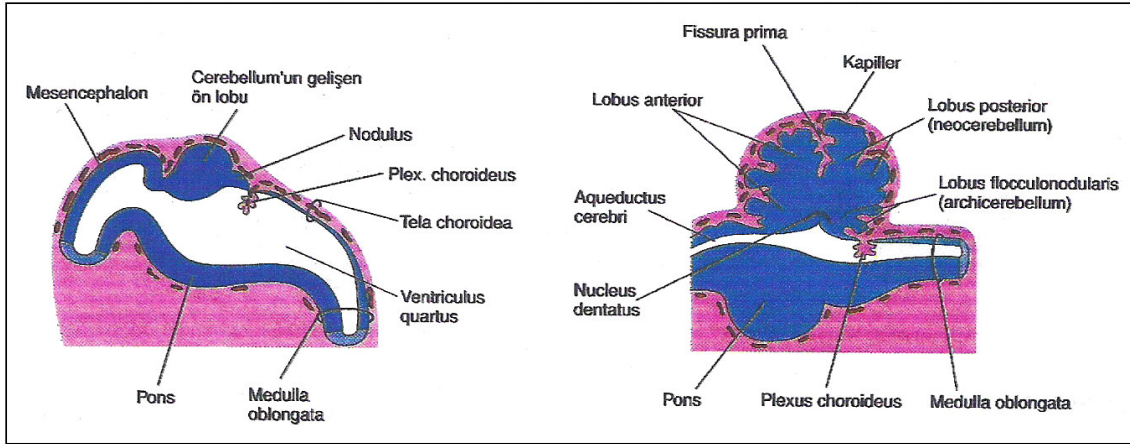
Söz konusu sekonder veziküllerden telensefalon adını alan ön bölüm hızla gelişir ve *beyin yarım küreleri*, *tractus* ve *bulbus olfactorius* ile *corpus callosum*'u oluştururken, diensefalon'dan dorsal'de *epifiz*, yanlarda *göz keseleri*, ventralde de *nörohipofiz* gelişir. Mesensefalon'da bölünme olmaz. Ancak küçük değişimlerle dorsalde *corpora quadrigemina*, ventralde *pedunculus cerebri* gelişir (Hassa ve Aştı, 1997).

Rhombensefalon'un bölünmesiyle oluşan metensefalondan ise dorsal'de *beyincik* ventralde *pons* ve *crura cerebelli*, myelensefalon'dan ise *medulla oblongata* gelişir. Mesensefalon ile metensefalon birleşme bölgesi "*isthmus*" olarak adlandırılır (Şekil 9.1 ve Şekil 9.2, İS). Yapılan bildircin-tavuk transplant çalışmalarında bu bölgenin "*organizer*" bölge olduğu, bu bölgede tespit edilen fibroblast gelişim faktörü-8 (Fgf8)'in beyincik gelişimini düzenlediği bildirilmiştir (Hassa ve Aştı, 1997; Liu ve Joyner, 2001; Martinez, 2001; Sato ve ark, 2004; Nakamura ve Watabane, 2005).

2.5. Beyinciğin Embriyonik Gelişimi

Beyincik, embriyonik dönemin sonuna doğru dorsal metencephalik bölgede dorsal'e doğru bilateral büyümeler olan rombik dudaklardan bir kabartı halinde gelişir (Carlson, 1981; Özer ve ark, 1996). Fötal dönemde beyincik kabartısı dışa doğru çıkıntı yapar. Neocerebellumun yarı küreleri her iki taraftan dışa doğru katlanırken merkezi segment bu büyümenin gerisinde kalır ve uzunlamasına düzlemde solucana benzer bir yapı oluşturur

(*vermis*). Beyincikteki enine oluklar filogenetik açıdan eski olan bölümleri (nodül ve flokül) daha yeni olan beyincik yarı kürelerinden ayırır. Beyincik yarı kürelerinin yüzeyinde ise beyincik korteksi şekillenir. Korteks rombik dudakların nöroepitelinden gelişir. Söz konusu bu nöroepitelin bazal membranı beyincik yüzeyinde bulunurken tepeleri dördüncü ventrikül lümenine doğru dönüktür. Bu bölgedeki nöroepitel hücrelerinin mitotik aktiviteleri ile nöroblastlardan oluşan proliferasyon bölgesi (*iç matriks bölgesi*) oluşur. İç matriks bölgesindeki nöroblastlar birinci göç dalgasıyla omuriliğin gri maddesine karşılık gelen manto bölgesine ulaşırlar ve bazal serebellar çekirdeklere dönüşürler. İç matriks bölgesinde hala bölünebilme yeteneklerini koruyan nöroblastların ikinci bir göç dalgasıyla da Purkinje hücreleri ve beyincik taslağının dış yüzeyinde dış matriks bölgesi (*dış granüler tabaka*) oluşur. Oluşan Purkinje hücreleri, aksonları ile bazal çekirdeklerdeki nöronlarla bağlantı halindedirler. Rombik dudaklardaki serebellar kabartının başlangıçtaki büyüme yönü içe - dördüncü ventriküle- doğru iken, bu andan itibaren tersine döner (*serebellar eversiyon*) ve beyincik taslağı dışa doğru uzamaya başlar (Şekil 2.5.1) (Özer ve ark, 1996; Drews, 2000).



Şekil 2.5.1. (Moore ve Persaud, 2002'den)

Beyinciğin dış sınırı başlangıçta düzdür. İlerleyen dönemlerde kıvrımlı bir görünüm kazanan beyincikte kıvrımların gelişimi ilerledikçe dış granüler tabakanın gelişimi de ilerler. Dış granüler tabakadan göç eden bazı granüler hücre toplulukları, Purkinje hücrelerinin arasından geçerek *iç granüler tabakayı* (stratum granulosum) oluştururlar. Dış granüler tabakanın hemen altında küçük hücrelerden meydana gelen *marjinal tabaka* ise stratum molekulare'yi oluşturur. Bu gelişmelere paralel olarak seyreden kıvrımlardaki gelişim türlerine göre farklılık gösterir. Bu farklılık hayvanın ayağa kalkarak koordineli bir şekilde yürümesi ile ilgili olup; gelişim, buzağı ve tay gibi doğumdan kısa bir süre sonra yürümeye başlayan

türlerde, doğumdan ancak birkaç hafta sonra yürümeye başlayan kedi ve köpek yavrularına nazaran daha ileridir (Feirabend, 1990; Özer ve ark, 1996).

2.6. Beyinciğin Gelişimi Sürecinde Nöronal Göç

Merkezi sinir sisteminin embriyonik gelişimi esnasında yeni şekillenen nöronlar spesifik yollar üzerinden son yerleşim bölgelerine ulaşırlar. Bu durum beyinciğin organizasyonu için de oldukça önemlidir. Granül hücrelerinin öncülleri üst rombik dudaktan köken alırlar ve tüm beyincik taslağının yüzeyini kaplayarak dış granüler katmanı oluşturmak üzere göç ederler. Burada çoğalan granül hücre öncülleri daha sonra iç granüler tabaka'yı oluşturmak üzere ışınal diziler tarzında iç bölgelere doğru göç ederler. Bu teoriye göre granül hücre göçü 2 aşamada gerçekleşir. İlk aşamada dış granüler tabakanın derinlerinde yer alan hücreler farklılaşarak bazal kutuplarından büyüme konisi olarak bilinen bir uzantı çıkarırlar. Bu protoplazmik uzantı substansiya alba'ya doğru uzar. İkinci aşamada ise hücre çekirdeğinin intraselüler göçü söz konusudur. Göç edecek nöronların, gliya hücrelerinin plazma membranlarında geçici bir süre yer alan ve daha sonra ortadan kalkan netsin ve beyin-lipid bağlayıcı protein (BLBP) gibi özel yüzey moleküllerini tanımaları gereklidir (Sotelo, 2004).

Doğru bir nöron göçü için hücreler arası adezyon moleküllerine de gereksinim vardır. Bu adezyon moleküllerinin pek çoğu 3 ana grupta toplanabilir. Bunlar;

1. *Kaderin molekülleri*
2. *İntegrin molekülleri*
3. *Ekstraselüler matriks bileşenleri'*dir.

Bu moleküllerden kaderinler morfogenezisi düzenleyen membran glikoproteinleri olup özellikle aksonal gelişim süreci içerisinde aksonlara rehberlik etmektedirler. Zira bu moleküller sadece hücre gövdelerinde değil aynı zamanda bu hücreleri beyincikteki diğer hücrelere bağlayan uzantılarda da tespit edilmişlerdir (Redies ve ark, 2002). Arndt ve Redies (1998) tavuk embriyosu beyinciğinde kaderin-6, kaderin-7 ve R-kaderin moleküllerini tespit etmiş; bu moleküllerin inkübasyonun 5-12. günlerinde beyinciğin belirli bölgelerindeki hücrelerde sınırlı olarak eksprese edilmeye başladıklarını ve gelişim sürecinde kaderinleri taşıyan hücrelerin birkaç hücre kümesi oluşturduklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar (Arndt ve

Redies, 1998) bu durumun beyinciğin çeşitli alt bölümlere ayrılmasında da etkili rol oynadığı üzerinde durmaktadırlar.

Rakic (1971) maymun beyinciğinde nöronların göçünü izlemiş ve inen akson uzantılarının Bergman gliyası adı verilen hücrelerle ilişkili olduklarını tespit etmiş; bu durumun gliya hücreleri ile nöronlardaki spesifik yüzey membran etkileşimleri sayesinde mümkün olduğunu bildirmiştir (Sotelo, 2004).

Luo ve ark (2004) beyincikte bahsedilen hücrel organizasyonun farklı genlerin ekspresyonu sonucunda ortaya çıkan adezyon molekülleri sayesinde gerçekleştiğini, özellikle kaderin moleküllerinin sinir hücresi göçü ve akson gelişiminde önemli rol oynadığını bildirmektedirler. Çalışmada tavuk beyinciğinin gelişiminde etkili olan kaderin 6B (Cad6B) ile kaderin 7 (Cad7)'nin Purkinje hücresi olma yönünde farklılaşan hücrelerde varlığı tespit edilmiş ve bu adezyon moleküllerinin Purkinje hücre düzenlenmesinde rol aldıkları belirtilmiştir. Araştırmacılar (Luo ve ark, 2004), aynı kaderin molekülünü endojen olarak taşıyan bölgelerin dışında yerleşen hücrelerin apoptozise sevk edildiğini de ileri sürmektedirler. Bazı araştırmacılar ise (Lee ve ark, 2001; Yue ve ark, 2005) Bergman gliyası adı verilen özel glia hücrelerinin, beyincik hücre organizasyonundaki göçlerde, nöronlara rehberlik ettiğini de ileri sürmektedirler.

Embriyonik dönemin yanı sıra doğum sonrası erken dönemlerde hem merkezi sinir sistemi nöronlarında ve hem de Schwann hücrelerinde bulunan ve nöron göçleri ile ilişkili olduğu düşünülen 4C5 yüzey proteininin, 4 günlük rat beyincik kültürlerinde 4 gün boyunca monoklonal antikolarla bloke edildiği bir başka çalışmada (Yfanti ve ark, 1998) yüzeye paralel ve dikey seyirli granül hücre göçlerinin baskılandığı ortaya çıkarılmıştır.

Post-mitotik nöronlar göçleri esnasında bipolar özelliktedirler. Son yerleşim bölgelerine ulaştıklarında söz konusu bu immatür nöronların dendritik dallanmaları gelişmeye başlar. Bu yapılanma sürecinde nörotrofinler gibi ekstraselüler faktörlerin de önemi büyüktür (Sotelo, 2004).

Nöronal göç mekanizmalarında meydana gelen aksamlar ciddi problemlere neden olur. Bu durum hücrelerin olması gerektiği katmanların dışında farklı bir bölgede birikmesi şeklinde ortaya çıkar ki bu duruma “heterotopi” adı verilir. Nöronal heterotopi fokal-nodüler

heterotopi- şeklinde olabilir ve hücreler göç yolları üzerinde herhangi bir bölgede toplanabilirler. Bazı durumlarda migrasyon aşırı derecede kontrolden çıkar ve nöronlar meninkslere kadar ulaşabilir. Öte yandan bazı durumlarda migratorik bozukluklar yaygın band heterotopileri biçiminde şekillenebilir ki bu durumda nöronlar ak maddede birikirler (*Pachygyrias/lissencephalies, double cortex syndrome*) (Gressens, 2000).

2.7. Beyinciğin Postnatal Gelişimi

Beyincik merkezi sinir sisteminin diğer bölgelerinden oldukça farklı bir yapıya sahiptir. Zira nöronal kök hücreler hem embriyonik hem de erişkin beyincikte tespit edilmişlerdir (Klein ve ark, 2005). Gelişim süreci içerisinde beyincikte 2 farklı germinatif-doğurucu tabaka söz konusudur. Bunlardan ilki embriyonik dönemde en aktif olan bölge olup, özellikle Purkinje hücrelerinin de köken aldığı bölge olan “*Ventriküler Tabaka*”dır. Diğer doğurucu tabaka ise doğumdan sonra da devam eden nörogenezisten de sorumlu “*Dış Granüler Tabaka*”dır. Bu bölgeden embriyonik ve fetal dönemde özellikle granüler hücreler köken alırlarken (Lee ve ark, 2005), post-natal dönemde sepet ve yıldız hücreleri köken alırlar (Sotelo, 2004).

Fare post-natal beyinciğinde yapılan bir çalışmada multipotent nöronal kök hücreler incelenmiş ve söz konusu hücrelerin yüzeylerinde sadece nöronal kök hücrelere özgü prominin-1 (CD-133) molekülünü taşıdıkları ortaya çıkarılmıştır. Bu durum post-natal dönemde de beyincik gelişiminin bir süre daha devam ettiğini göstermiştir (Lee ve ark, 2005). Isumi ve ark (1997) ise insanlarda folium gelişiminin doğum sonrası 2. aya kadar sürdüğünü bildirmişlerdir.

Memelilerde yapılan diğer bazı çalışmalarda da (Gressens, 2000; Abraham ve ark, 2001; Karam ve ark, 2001; Sotelo, 2004) dış granüler tabakanın farelerde postnatal 15.güne kadar varlığını sürdürdüğü; söz konusu tabakanın ortadan kalkışının maymunlarda doğum sonrası 3. ayda, insanlarda ise 11. ayda gerçekleştiği bildirilmektedir.

Tavuklarda yapılan bir çalışmada (Fults ve ark, 1985) beyinciğin dış granüler tabakasının kuluçkadan çıkışı takip eden günlerde bir süre daha varlığını koruduğu bildirilmiştir. Feirabend (1990) 'in evcil tavuk embriyolarında yapmış olduğu bir çalışmada

ise beyinciğin genel histolojik organizasyonunun kuluçkadan çıkıştan sonra tamamlandığı ifade edilmektedir.

2.8. Memelilerde Beyinciğin Embriyonik Gelişimi

Neokortikogenesis süresince nöronlar primitif nöroepitelyumdan kalkarak mantle tabakasına göç ederler. İnsanlarda gebeliğin 12-24. haftaları arasında; fare, rat ve hamster gibi laboratuvar hayvanlarında ise embriyonik dönemin 10-12. günlerinde başlayan bu süreçte rostral rombik dudakta yer alan öncül hücreler çoğalmaya başlarlar. Bunlar granül hücre katmanını oluşturacak olan nöronların öncülleridir. Çoğalan bu granül hücre öncülleri beyincik taslağının yüzeyine göç ederler ve yüzeysel olarak o bölgeyi örterler. Embriyonik dönemin 15. gününde beyincik yüzeyi hemen hemen tamamen bu hücrelerle örtülmüştür ve bu hücre katman “*dış granüler tabaka*” olarak adlandırılır. Doğuma yakın günlerde aşırı derecede çoğalmaya başlayan ve ardından son şekillerini alan postmitotik granül hücreleri beyincik yüzeyinden ayrılarak iç bölgelere doğru ışınal diziler halinde göç ederler. Son yerleşim bölgelerine ulaşan hücreler “*iç granüler tabaka*” yı oluştururlar. Farelerde postnatal 15. güne kadar varlığını sürdüren dış granüler tabakanın maymunlarda doğum sonrası 3.aya, insanlarda ise 11. aya kadar varlığı bildirilmektedir (Gressens, 2000; Abraham ve ark, 2001; Karam ve ark, 2001; Sotelo, 2004).

Abraham ve ark (2001) 24 haftalık insan fötüslerinin ve 12 aylık bebeklerin beyinciklerinde, hücre çoğalmasını gösteren nükleer Ki67 proteini ile yaptıkları çalışmalarında granül hücrelerinin tek kaynağının dış granüler tabaka; Golgi, sepet ve yıldız hücrelerinin ise esas kaynağının ak madde olduğunu ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar (Abraham ve ark, 2001) en yoğun hücre çoğalmasına 28-34. haftalar arasında dış granüler tabakada rastladıklarını; doğum sonrası 5. ayda bu yoğunluğun belirgin bir biçimde azaldığını; 11. ayın sonunda da bu tabakanın tamamen ortadan kalktığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada iç granüler tabakada en yoğun hücre varlığının 24-28. haftalar olduğu, 34. haftadan itibaren de Purkinje hücrelerinin arasında ve yer yer hemen altında lokalize olan Bergman gliyalarının aşırı derecede çoğaldıkları gözlenmiştir.

Beyinciğin embriyonik gelişimi sürecinde loplara, foliumların ve vermisin gelişimi de birbirinden farklılıklar gösterir. Isumi ve ark (1997) gelişimin vermiste hemisferlerden önce

tamamlandığını, anterior vermişin (I-V. lopçuklar) posterior vermisten (VI-IX. lopçuklar) önce geliştiğini, her bir lopçuktaki foliumların sayısının 24-37. haftalarda erişkinlerdeki sayının ancak yarısı kadar olduğunu ve folium gelişiminin doğum sonrası 2. aya kadar sürdüğünü bildirmişlerdir.

2.9. Kanatlılarda Beyinciğin Embriyonik Gelişimi

Tavuk embriyolarında beyinciğin gelişimi ard arda gelen 3 alt döneme ayrılmaktadır (Feirabend ve ark, 1985).

1. *Erken dönem (İnkübasyonun 4-8. günleri)*
2. *Orta dönem (İnkübasyonun 8-15. günleri)*
3. *Geç dönem (İnkübasyonun 15-21. günleri)*

Kanatlı beyinciğinde de hücre popülasyonları ventriküler nöroepitel ve dış granüler tabaka (-ki esas olarak bu tabaka da ventriküler nöroepitelden köken alan ikinci bir germinatif bölgedir-) olmak üzere 2 farklı bölgeden gelişir. Erken dönem süresince beyinciğin üst tabakası (mantle-manto) ventriküler nöroepitelden gelişir ve kısa bir süre içerisinde iç ve dış manto tabakalarına bölünür. Dış manto tabakası da derin ve yüzeysel katmanlara ayrılır. Bunlardan derin tabakadan merkezi beyincik çekirdeklerini oluşturacak olan nöronlar gelişirken, yüzeysel katmandan dış granüler tabaka gelişir. Ventriküler nöroepitel inkübasyonun 3-18. günlerinde aşırı derecede mitotik aktivite gösterirken; embriyonik dönemin 6. gününde ortaya çıkan dış granüler tabakada ise mitotik aktivitenin 8-18. günlerde yoğunlaştığı bildirilmektedir (Feirabend ve ark, 1985).

Yapılan bir başka çalışmada da (Fults ve ark, 1985) beyinciğin, inkübasyonun 2. gününde metensefalonun dorso-lateral bölümünden gelişen beyincik plağından köken aldığı ve bu plağın yüzeyinin nöroepitel kökenli hücrelerce oluşturulan dış granüler tabaka tarafından tamamen örtüldüğü bildirilmektedir. Araştırmacılar (Fults ve ark, 1985) söz konusu bu tabakanın kuluçkadan çıkışı takip eden günlerde de bir süre daha varlığını koruduğunu ileri sürmüşlerdir.

Feirabend'in (1990) evcil tavuk embriyolarında yapmış olduğu bir çalışmada, henüz üç günlük bir embriyonun beyincik taslağının belirgin olmadığı 4. günde ise mesencephelon-rhombencephelon ayırımının yapılabilmesine karşılık, metencephelon-miyelencephelon ayırımının yapılamadığı ileri sürülmektedir. Çalışmada, 4. günde IV. ventrikülün tavanındaki kalın bir nöroepitel tabakasından beyinciğin gelişmeye başladığı, taslağın 8. günde bir kubbe Şeklinde kendini gösterdiği bildirilmektedir. Araştırıcı (Feirabend, 1990) nroepitelin i manto ve dış manto tabakası ile marjinal tabaka gibi değişik hüresel katmanlara ayrıldığını ve 9-10. günlerden itibaren i kortikal tabaka adı verilen bölgede ilk olarak Purkinje hücre yığınlarına rastladığından bahsetmektedir. İlerleyen dönemlerde ise i granüler tabakanın geliştiği, Purkinje hücrelerinin yavaş yavaş karakteristik düzenlerini aldığı ve foliumların gelişmeye başladığını bildiren araştırıcı, kuluçkadan çıkıştan kısa bir süre sonra beyinciğin genel yapılanmasının tamamlandığını ifade etmektedir.

Tavuk embriyoları üzerinde yapılan bir başka çalışmada (Bouvet ve ark, 1987) 18 günlük bir embriyonun beyinciğinde dört hüresel tabakadan söz edilmektedir. Bunlar;

1. *Dış germinatif tabaka*
2. *Moleküler tabaka*
3. *Purkinje hücre tabakası*
4. *İ granüler tabaka'* dır.

Araştırıcılar (Bouvet ve ark, 1987), 18. günde moleküler tabakanın genişlediğini ve i granüler tabaka üzerinde dizilmiş Purkinje hücrelerinden uzantıların geliştiğini ve aksonun aksi tarafta primer dendritlerin Şekillenmeye başladığını bildirmektedirler. Dış granüler tabakanın (dış germinatif tabaka) kuluçkadan çıkışı takip eden günlerde bir süre daha varlığını koruduğu, ancak ikinci hafta sonunda bu tabakanın tamamen ortadan kalktığı ifade edilmektedir.

2.10. Beyincik Purkinje Hücreleri

Purkinje hücreleri beyinciğin tek eferent hücreleri olup dördüncü ventrikulus'un rostral alar ventriküler nöroepitelinden köken alırlar. Bu hücrelerin aksonları çoğunlukla derin serebellar çekirdeklerdeki nöronlarla bağlantı kurarken, aşırı derecede dallanma gösteren

dendritleri paralel lifler, tırmanan lifler, sepet ve Golgi hücrelerinin uzantıları ve beyincikteki diğer nöronlarla bağlantı kurarlar (Herrup ve Kuemerle, 1997; Luo ve Redies, 2004).

Beyincik Purkinje hücreleri bol miktarda endoplazmik retikuluma sahip olmalarının yanı sıra hem perikaryonu ve hem de dendritleri çevreleyen hücre zarının altında küçük sisternalara sahiptirler. Gerek endoplazmik retikulum ve gerekse sisternalar Ca^{+2} iyonunun hücre içinde depolandığı bölgelerdir. Kalsiyum iyonlarının hücre içi depolarda tutulması ve salıverilmesi nöronal Ca^{+2} iyonu homeostasisinde önemli bir role sahip olup; Purkinje hücrelerinin fonksiyonunda da kritik rol oynarlar (Kaprielian ve ark, 1989).

Ratlarda yapılan çalışmalar Purkinje hücrelerinin beyincikte gruplar oluşturması ve ardından Purkinje hücre katmanını oluşturma sürecinin zamana bağlı bölgesel çeşitlilik gösterdiğini ortaya koymuştur. Altman ve Bayer (1985a, b) Purkinje hücrelerinin yüzeye göçlerinin embriyonik dönemin 16. gününde gerçekleştiğini bildirirken; posteriyor vermisteki IX. lopçuğun Purkinje hücrelerinin yerleşim bölgelerine embriyonik dönemin 17. gününde ulaştığını, buna karşın anteriyor vermisteki II ve III. lopçuklardaki Purkinje hücrelerinin kendi bölgelerine embriyonik dönemin 21. gününde geldiklerini ileri sürmektedirler. Vastagh ve ark (2005) ise kedilerde Purkinje hücrelerinin doğum sonrası 2. hafta sonunda beyinciğin tüm korteksi boyunca hemen hemen tek sıra dizilim gösterdiklerini; buna karşın beyincik korteksinin karakteristik histolojik organizasyonunun doğum sonrası 42. günde tamamlandığını bildirmişlerdir.

Tavuk embriyolarında ise Purkinje hücreleri inkübasyonun 3-5. günleri arasında şekillenmeye başlarlar ve beyincik korteksine doğru göçerek kendilerine ait hücre katmanını oluşturmaya başlarlar (Luo ve Redies, 2004). Espinar ve ark (1997) beyaz Leghorn ırkı tavuk embriyoları üzerinde yaptıkları bir çalışmada inkübasyonun 13. gününde Purkinje hücrelerinin üç sıralı bir düzenlenme gösterdiklerini ve bunların hemen altında yer alan iç granüler hücre katmanının henüz tam olarak düzenli bir organizasyona sahip olmadığını ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar (Espinar ve ark, 1997) 17 günlük embriyoların beyinciklerinde ise Purkinje hücrelerinin tek sıralı düzenlendiklerini, moleküler tabakanın belirginleştiğini ve granüler tabakanın da daha düzenli bir biçimde organize olduğunu tespit etmişlerdir.

Purkinje hücrelerinin sayısı ve yerleşimi granül hücre öncüllerinin çoğalma ve farklılaşma süreçlerinde etkilidir. Zira dış granüler tabakanın hemen altında bulunan Purkinje hücrelerinin, salgıladıkları bazı özel faktörlerle ya da mitojenlerle söz konusu granül hücrelerini kontrol ettikleri bildirilmektedir. Benzer biçimde granül hücrelerinin salgıladıkları nörotropinler de Purkinje hücrelerinin dendritik dallanmalarının gelişiminde önemli rol oynamaktadır (Morrison ve Mason, 1998; Sotelo, 2004).

Mallet ve ark (1979) yeni doğan fare yavrularına anti-Purkinje hücresi antikorunu 8 gün süresince intraventriküler yolla enjekte etmişler ve bu farelerin Purkinje hücrelerinin ortadan kalktığı bölgelerde dış granüler tabakanın da gözden kaybolduğunu; ancak bu bölgelerin yakınında yer alan ve etkilenmeyen Purkinje hücrelerinin bulunduğu yerlerde dış granüler tabakanın kontrol grubu farelerine benzer şekilde gelişim gösterdiğini bildirmişlerdir (Sotelo, 2004)

Memeli ve kanatlılarda perifer steroidojenik bezler tarafından salgılanan steroid hormonların lipidlerde çözünebilirlikleri nedeniyle kan-beyin bariyerini kolayca aşabildikleri ve gerek embriyonik gelişim süresince gerekse de erişkin dönemde merkezi sinir sisteminde nöronal fonksiyonları düzenledikleri uzun süredir bilinmektedir. Progesteron hormonun Purkinje hücrelerinde dendritik dallanmaların gelişimi ve sinaps oluşumunu etkilediği Sakamoto ve ark (2001) tarafından ortaya konulmuştur. Bununla birlikte son yıllarda yapılan çalışmalar göstermiştir ki hipofizektomi, adrenaektomi ve kastrasyon operasyonları bile merkezi sinir sistemi steroid konsantrasyonunu düşürmemektedir. Bu durum merkezi sinir sisteminde steroid sentezinin varlığına işaret etmektedir (Kapfhammer, 2004; Tsutsi ve ark, 2006). Tsutsi ve ark (2000) ratlarda bu sentezin Purkinje hücrelerinde gerçekleştiğini ve söz konusu sentezin dendritik dallanmaların hızla geliştiği doğum sonrası ilk günlerde arttığını ileri sürmüşlerdir (Kapfhammer, 2004). Aynı araştırmacılar bir başka çalışmalarında (Tsutsi ve ark, 2003) kolesterolden steroid sentezinin ilk aşamalarında rol oynayan sitokrom p450_{sc} enziminin Purkinje hücrelerinde varlığını tespit etmişlerdir. Köpekler üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise Purkinje hücrelerinin beyincik korteksindeki en aktif steroidojenik hücreler oldukları ve söz konusu bu endojen steroid sentezinin oligodendrositlerdeki miyelin sentezini artırdığı tespit edilmiştir (Yarım ve Kabakçı, 2004).

Tüm embriyonik süreçte olduğu gibi Purkinje hücrelerinin gelişimi boyunca da programlı hücre ölümü önemli bir yer tutar. Beyincikte Purkinje hücrelerinin düzenlenmesi

postnatal günlerde de bir süre devam ettiği için programlı hücre ölümü bu dönemlerde de hücre sayısını kontrol eden bir mekanizma olarak karşımıza çıkmaktadır. Martin-Teva ve ark (2004)'nın 3 günlük fare yavrularında yaptıkları bir çalışmada Purkinje hücrelerinin programlı ölümünün merkezi sinir sisteminin fagositik hücresi olan mikroglialarca tetiklendiği ve ölen hücrelerin artıklarının da yine mikroglialarca ortadan kaldırıldığı tespit edilmiştir.

2.11. Beyinciğin Fonksiyonları

Beyincik vücudun denge ve hareketlerinin koordinasyonu ve zamanlamasından sorumlu bir organdır (Mitmann ve ark, 2005). Elektriksel olarak uyarılma sonucunda herhangi bir kas hareketi ve duyunun meydana gelmemesi göstermiştir ki beyincik doğrudan hiçbir kasa emir vermez. Ancak beyincik, beynin diğer motor merkezlerinin kontrolörü ve koordinatörü gibi fonksiyon görüp beyin ve organlar arasında düzenleyici bir rol oynar. Tam agenes' i hayati tehlike arz etmemesine karşın, normal motor davranışlar önemli bir biçimde etkilenir (Herrup ve Kuemerle, 1997). Deneysel olarak beyinciği çıkarılan hayvanlarda ve beyincik hasarı meydana gelen insanlarda kas hareketlerinde meydana gelen ileri derecede bozukluk, organın fonksiyonu hakkında önemli bilgiler sunmaktadır (Noyan, 2004).

Beyincik, beyindeki motor merkezlerden ve kaslardaki proprioseptiv reseptörlerden aldığı impulsları karşılaştırır ve beynin motor merkezlerine ve dolaylı olarak da kaslara gereken impulsları -gerektiğinde değiştirerek- nükleus dentatus ve talamus yoluyla gönderir. Kasların koordineli bir şekilde çalışmalarını bu şekilde düzenleyen beyinciğe aynı zamanda iç kulaktaki semi-sirküler kanallardan (vestibüler organ) da uyarımlar gelir. Beyincik, kaslardan gelen uyarılarla denge organlarından gelen uyarıları birleştirerek oluşturduğu yeni uyarıları beyin ve omurilikteki ilgili merkezlere, beyin kökündeki nükleuslar aracılığı ile gönderir. Bu şekilde vücudun dengesinin devamını sağlar (Noyan, 2004).

Bunların yanı sıra beyincik; temas, görme ve işitme duyularını da koordine eder. Bu merkezlerin beyinciğin ilgili bölgeleri ile olan bağlantıları sayesinde ki, görme, işitme ve dokunum duyularımızdan gelen uyarılara göre vücudumuzun dengesini ve pozisyonunu ayarlayabilmekteyiz. Örneğin gözlerimiz kapalı halde merdivenden inerken gözlerimizi açtığımız anda hareketlerimizde meydana gelen rahatlama, görme merkezlerinden beyinciğe gelen uyarımlar sayesinde kasların koordinasyonun daha kolay yapılabilmesinden kaynaklanmaktadır (Noyan, 2004).

İnsanlarda beyincik hasarlarının tipik bulgusu "*hipotoni*"dir. Bununla birlikte beyincik hasarı gelişen insan ve hayvanlarda dinlenme anında belirgin anormallikler bulunmazken, aktivasyonla birlikte özellikle hareket ve reflekslerde ataksi'nin yanı sıra hız sınırı, kuvvet ve yönle ilgili ciddi eş güdüm bozuklukları dikkati çeker. Sınırları belirgin korteks hasarlarında bir dereceye kadar kompenzasyon olursa da, özellikle bazal serebellar çekirdeklerdeki hasarlar, kalıcı etkiler bırakabildikleri için cerrahi uygulamalarda buna oldukça büyük önem verilmektedir (Ganong,1999; Mial ve Reckess, 2002).

İnsanlardaki beyincik hasarları, organın denge fonksiyonunu da ortaya koymaktadır. Bu tip kişilerde "*sarhoş yürüyüşü*" dikkati çekerken, konuşma gibi beceri isteyen hareketlerde de aksama söz konusudur (*tarayıcı konuşma*). Pek çok istemli hareket de beyincik hasarlarından olumsuz etkilenir. Örneğin kişinin parmağı ile bir nesneye dokunmak istemesi durumunda parmak nesneye ulaşamaz ya da aşar. Hedef aşma ya da *dismetri* olgusu, düzeltme eylemini tetiklemekte ancak hareket her iki düzlemde de hedefi aştığı için ileri geri sürekli gidip gelmektedir. Bu dalgalanma hareketine "*dikkat tremoru*" adı verilir. Parkinsonlu hastalardaki dinlenme halinde oluşan hareket dalgalanmasından farklı olarak beyincik hasarlarındaki bu olay sadece kişinin bu tür hareketleri yapmaya kalkışmasıyla ortaya çıkmaktadır (Ganong,1999).

Beyincik hasarı olan kişilerde bir başka olay da "*geri tepme fenomeni*" olarak bilinir. Bu olayda hasta kişiler, ekstremitelerine yaptırılan herhangi bir direnç ortadan kaldırıldığında hareketlerini frenleyemezler ve hareket bir süre aşırı bir şekilde devam eder. Yine bu kişiler, birden fazla eklem aynı anda çalışmasını gerektiren hareketlerde de zorlanırlar. Bu tür hareketleri, her defasında bir diğer eklemi hareket ettirecek şekilde parçalara ayırdıklarından bu olaya "*hareketin bütünlüğünün kalkması*" denir (Ganong,1999).

Beyincik, belirli bir işin tekrar tekrar yapılması halinde eşgüdümü kolaylaştıracak düzenlemelerin öğrenilmesiyle de ilgili bir organdır. Bu öğrenmenin temel nedeni *niukleus olivaris*'ten Purkinje hücrelerine gelen tırmanan lif girdileridir. Zira, yeni bir hareketin öğrenilmesi esnasında bu çekirdek etkinliğinin arttığı bildirilmektedir (Ganong,1999).

Sonuç olarak, gerek motor korteks'ten gelen bilgilerle kas ve eklemlerdeki proprioseptiv reseptörlerden gelen uyarımları alması, gerek işitsel ve görsel uyarımları değerlendirmesi ve gerekse de denge organından gelen bilgileri değerlendirerek bunlara karşı

oluşturduğu yeni cevapları, dolaylı yollardan ilgili vücut bölümlerine iletmesi nedeni ile beyincik ve bağlantıları, sinir sisteminin sensorik ve motorik yolları arasında yerleşmiş bir kontrol sistemidir (Noyan, 2004). Ayrıca serebellar fonksiyon bozuklukları motor kontrol bozukluklarla seyrettiği için özellikle motor sistem üzerinde yapılan çalışmalarda genellikle kullanılan bir organdır (Herrup ve Kuemerle, 1997).

2.12. Çekirdekçik Organizatör Bölgeleri ve AgNOR Boyama Metodu

Hücre çekirdeği genetik materyali (DNA'yı) bulundurması nedeniyle hücredeki tüm faaliyetleri yöneten bir merkezdir. Çift birim membrandan oluşan çekirdek zarı, çekirdek içindeki kromatin, çekirdekçik ve bunların arasını dolduran çekirdek sıvısını çevreleyerek sitoplazmadan ayrılır (Sağlam ve ark, 1997).

Çekirdekçikler, ribozomal alt birimlerin sentezlediği çekirdek bölgeleridir. Ribozomal RNA (rRNA)'ları sentezleyen genler (rDNA), canlı türlerinde belirli kromozomlarda taşınırlar. Bunlar insanlarda 13, 14, 15, 21 ve 22. kromozomlar, tavuklarda 16. kromozom üzerinde yer alır. Bu kromozomların rRNA sentezleyen bölümleri, interfazdaki bir hücrenin çekirdeğinde belirli bölgelerde toplanır ve çekirdekçik olarak bilinen koyu bölgeleri oluştururlar. Buna göre DNA'nın rRNA sentezleyen genlerini içeren ve çekirdekçik oluşturulan bölgeleri *nucleolus organizatör bölgeleri (NOR)* olarak adlandırılır (Masabanda ve ark, 2004; Kaya, 2005; Aydın ve Çelik, 2005).

Genel olarak nükleolar organizasyon ribozom biyogenezinde 3 temel olay arasında bir takım ilişkilere işaret eder. Bunlar, pre-ribozomal parçacıkları üreten rDNA genlerinin transkripsiyonu, söz konusu bu pre-ribozomların olgunlaşması ve olgun ribozomal parçacıkların çekirdekçikten salınması olaylarıdır. Bu anlamda çekirdekçik yapısı morfolojisi ve boyutları, başta protein sentezi olmak üzere hücrenin hassas bir belirleyicisi olarak kabul edilebilir (Lafarga ve ark, 1989).

Gümüşleme yöntemiyle NOR'ların boyanması (*Silver Staining Nucleolus Organizer Regions, AgNORs*) sırasında aktif olarak transkripsiyon yapan NOR'lar ve bu nedenle de rDNA bölgeleri de boyanır. Bu nedenle aktif olarak çoğalan hücrelerdeki NOR'lardaki genlerin ekspresyonunda önemli bir artış olmaktadır. Gerçekte gümüşle boyanan yapılar bu bölgelerdeki asidik proteinlerdir (Lee ve ark, 1999).

AgNOR'ların çekirdekdeki lokalizasyonları da farklılıklar gösterebilir. Özellikle merkezi sinir sistemindeki nöronlar, büyüklük ve dolayısıyla da çekirdek büyüklükleri bakımından birbirlerinden oldukça farklı hücreler oldukları için, AgNOR yerleşimleri de bu hücrelerde farklılıklar arz eder. İnsanlarda yapılan bir çalışmada (Manuelidis, 1984) iri nöronlarda merkezi yerleşimli 1-2 adet AgNOR varken, beyinciğin *stratum granulosum* katmanını oluşturan küçük nöronlarda birkaç adet küçük ve periferal yerleşimli AgNOR bulunduğu bildirilmektedir.

AgNOR parametrelerinden, insanlarda başta merkezi sinir sistemi tümörleri olmak üzere çoğunlukla kanser vakalarında yararlanılmıştır (Hubbell ve Hsu, 1977; Derenzini ve ark.1989; Hoyo ve ark, 1993; Lee ve ark, 1999; Quinones-Hinojosa ve ark, 2005). Kötü huylu tümörlerin, iyi huylu tümörler ile köken aldıkları sağlıklı dokulardan daha fazla AgNOR'a sahip oldukları tespit edilmiştir (Duchrot, 1990; Kanitakis ve ark, 1992). Zira Karademir ve ark (1996) AgNOR boyama metodunun tümörlerin malignitelerinin belirlenmesinde ve derecelendirilmesinde kullanılabileceği gibi hastalığın prognozu ve tedavi süreçlerinin belirlenmesinde de faydalı olabileceğini bildirmektedirler.

AgNOR sayıları, büyüklükleri ve AgNOR alanı / Çekirdek alanı da türlerde ve aynı türün farklı dokularında değişiklik gösterir. Bu parametrelerin, hücrelerin çoğalma aktiviteleri ile ilgili olduğu ileri sürülmektedir (Zaczek ve ark, 1992). Bukhari ve ark (2007) özellikle merkezi sinir sistemi tümörlerinde AgNOR'un boyut ve dağılımının sayıdan daha önemli bir kriter olduğunu bildirirlerken, Chappard ve ark (1998) insanlarda viral kaynaklı bir kemik hastalığı olan Paget hastalığında osteoklastların çekirdeklerinde yer alan ortalama AgNOR sayısının 2,12'den 6,8'e kadar artabildiğini, ancak bu artışın osteoklastlardaki proliferatif aktiviteyi değil ribozom sentezindeki artışı gösterdiğini ileri sürmektedirler.

Aydın (2004) ise broyler ve yumurtacı piliçlerin bacak ve göğüs kasları ile ovaryum folikül hücrelerinde yaptığı çalışma sonucunda AgNOR boyama metodu sayesinde hayvanlarda değişik verim özellikleri hakkında önemli ipuçları elde edilebileceğini ve bu şekilde uzun süreler beklemeksizin yüksek verimli hayvanların önceden tespit edilip seleksiyona tabi tutulabileceğini ileri sürmektedir. Zira verim performansının ilgili dokuları oluşturan hücrelerde ribozom ve protein sentezinin artışı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Genetik çalışmalarda kullanılan materyaller genler ve kromozomlardır. Günümüzde bu tip çalışmalar sayesinde kromozomlardaki yapısal ve sayısal bozuklukların tespiti yapılabilmektedir. Bu amaca yönelik kalitatif ve kantitatif metotlar geliştirilmiş olmakla birlikte bunlar pahalı bir donanım gerektirdiği için veteriner hekimliği sahasında kullanımları son derece sınırlı kalmıştır. Geçmiş yıllarda insanlardaki bazı kanserlerin teşhisinde, evrelerinin belirlenmesinde ve hastalığın seyri ile prognozun takibinde kullanılan interfazdaki hücre çekirdeğindeki çekirdekçik organize bölgelerinin (NOR) gümüşleme metoduyla boyanması yöntemi, son yıllarda sitogenetik çalışmalarda kendine yer bulan önemli, basit ve ucuz bir metottur. Bu alışmada, Babcock – B – 380 ırkı kahverengi yumurtacı ırk tavukların beyincik korteksinin embriyonik gelişiminin yanı sıra, Purkinje hücrelerinin ekirdeklerindeki AgNOR aktivitesinin de belirlenerek, ileride yapılacak olan benzeri çalışmalara temel veriler sağlanması amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Hayvan Materyali

Araştırmada, özel bir çiftlikten temin edilecek Babcock-B-380 ırkı kahverengi yumurtacı damızlıklara ait toplam 100 adet döllu yumurta kullanıldı.

3.2. Metot

3.2.1. Kuluçka işlemleri

Yumurtalar fumigasyon işleminden geçirildi. Bu amaçla 1m³ için 130 ml %40'lık formaldehit solüsyonuna 80 g potasyum permanganat eklendi. Oluşan buharda 30 dk tutulan yumurtalar havalandırıldıktan sonra kuluçka makinesine yerleştirildiler. Kuluçka işlemleri S.Ü.Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yer alan 1000 yumurta kapasiteli kuluçka makinesinde (Veyisoğlu), 37,5 °C sıcaklık ve %65-85 nisbi nem ortamında günde bir kez çevrilerek gerçekleştirildi.

3.2.2. Doku örneklerinin alınması ve işlenmesi

Kuluçkanın 7, 8, 9, 10, 11, 13, 15 ve 18. günlerinde açılan yumurtalardan elde edilen 6'şar embriyodan ve kuluçkadan çıkışın ilk günü, kuluçkadan çıkışı takip eden 10. gün, 3. hafta ve 4. haftada 6'şar civcivden doku örnekleri alındı.

Alınan doku örnekleri %10'luk tamponlu formal – salin solüsyonunda (0,1 M, pH 7,4) tespit edildi ve ardından rutin histolojik işlemleri takiben parafinde bloklandılar. Bloklardan alınan 4–6 µm kalınlığındaki kesitler Crossmon'un üçlü boyama yöntemi ve Hematoksilen – Eozin (Culling ve ark, 1985) ile boyandılar.

3.2.3. AgNOR solüsyonunun hazırlanması ve kesitlerin boyanması

AgNOR'ların belirlenmesi için gümüşleme boyama yöntemi (Platon ve ark, 1986; Korek ve ark, 1991) uygulandı. Bu amaçla 2 g jelatin %1'lik formik asit içinde çözdürüldü. Bu solüsyondan 1 hacim alınarak 2 hacim %50'lik gümüş nitrat solüsyonu (50 g gümüş nitrat,

Merck 100 ml distile suda eritildi) ile karıştırıldı. Kesitler taze hazırlanan ve süzülen çalışma solüsyonu içerisinde 37 °C’de ve karanlık ortamda 20-30 dakika kontrollü olarak bekletildiler. Bu sürenin sonunda kesitler 3 kez distile suda çalkalanarak bilinen rutin işlemlerden sonra Entellan (Merck) ile kapatıldılar.

3.2.4. Preparatların incelenmesi ve görüntü analiz sistemi ile analizleri

Hazırlanan preparatlar DFC-320 model kamera ataçmanı olan Leica DM-2500 model ışık mikroskobu ile incelendikten sonra gerekli bölgelerin dijital görüntüleri kaydedildi. Hücre ve çekirdek çaplarının yanı sıra AgNOR parametrelerinin elde edilebilmesi için inkübasyonun 11. gününden itibaren her hayvandan 25’er adet Purkinje hücresi değerlendirilmeye alındı. Bu hücrelerin ve çekirdeklerinin enine çapları, çekirdeklerinin alanları ve içerdikleri AgNOR’ların alan ve sayılarının tespiti IM-50 görüntü analiz programı kullanılarak gerçekleştirildi.

3.3. İstatistiksel Analizler

Elde edilen parametreler (Purkinje hücre çapı, çekirdek çapı, AgNOR sayısı, çekirdek alanı, AgNOR alanı, AgNOR alanı / Çekirdek alanı) bilgisayarda standart istatistik programı (SPSS, 10.0) yardımıyla *DUNCAN* testi uygulanılarak değerlendirildi (Tekin, 2003).

4. BULGULAR

4.1. İnkübasyonun Yedinci Günü

Beyincik taslağının IV. ventrikülün tavanında küçük bir şişkinlik tarzında gelişmeye başlamış olduğu görüldü. Ventrikül lümeninin içini döşeyen nöroepitel tabakasının hemen üzerinde iç manto tabakası, biraz daha üst bölgelerde de dış manto tabakası olarak adlandırılan hücre birikimleri dikkati çekti (Şekil 9.1).

4.2. İnkübasyonun Sekizinci Günü

Beyincik taslağı dördüncü ventrikülün tavanında belirgin bir kubbe biçiminde gelişimini sürdürmekteydi. İnkübasyonun yedinci gününde dikkati çeken iç ve dış manto tabakalarını oluşturan hücre birikimlerinin daha da belirginleştiği ve buna bağlı olarak dışarıya doğru dış manto tabakasının kalınlığının arttığı görüldü (Şekil 9.2).

4.3. İnkübasyonun Dokuzuncu Günü

Dördüncü ventrikülün tavanındaki kubbe biçimli beyincik taslağının daha da gelişmiş olduğu görüldü. Dış manto tabakasının yüzeysel bölümünün hemen tüm beyincik taslağını örttüğü ve daha da kalınlaştığı görüldü (Dış granüler tabaka). Bu dönemde iç manto tabakasının yüzeysel bölümündeki hücre birikimlerinin de belirginleştiği dikkati çekti. Bu bölge ileride Purkinje hücreleri katmanını oluşturacak bölgeydi (iç kortikal tabaka). Öncül Purkinje hücreleri tam olarak ayırt edilememekle birlikte 6-8 sıralı bir katman olarak dikkati çekmekteydiler. Bu dönemde iç ve dış manto tabakaları arasında hücreden fakir marjinal tabakanın varlığı göze çarpmaktaydı. Dış granüler tabakanın yüzeysel bölümünden köken aldıkları düşünülen küçük, heterokromatik çekirdekli hücrelerin (granüler hücreler) gruplar halinde iç bölgelere doğru göç ettikleri dikkati çekti (Granüler hücre grupları) (Şekil 9.3).

4.4. İnkübasyonun Onuncu Günü

Bu dönemde beyincik taslağında daha önce bahsedilen hücre katmanları daha da belirginleşmişti. Dış granüler tabakanın yüzeysel bölümünden köken aldıkları düşünülen küçük, heterokromatik çekirdekli hücrelerin gruplar halinde iç bölgelere doğru göçleri daha belirgindi (Şekil 9.4).

4.5. İnkübasyonun Onbirinci Günü

Bu dönemde göç eden granüler hücrelerin iç kortikal tabaka (öncül Purkinje hücre grupları) arasından geçerek daha iç bölgelere doğru ilerledikleri görüldü (Şekil 9.5). Bu dönemin en belirgin histolojik gelişimi folyum oluşumunun başlamasıydı (Şekil 9.6).

4.6. İnkübasyonun Onüçüncü Günü

Folyumların daha da belirginleştiği bu dönemde primer fissurun derinleştiği dikkati çekti. Dokuz adet primer folyum'un yanı sıra bazı folyumlarda (özellikle folyumV) sekonder foliyasyon dikkati çekti (Şekil 9.7). Purkinje hücrelerini oluşturacak iç kortikal tabakanın kalınlığı biraz azalmış ve hücreler daha belirgin bir hal almıştı. Bu tabakanın altında dış granüler tabakadan göç eden granül hücrelerinin birikimi ile iç granüler tabakanın belirmeye başladığı görüldü. Dış granüler tabaka ile iç kortikal tabaka arasında yer alan ve ileride moleküler katmanı oluşturacak marjinal tabakanın biraz daha kalınlaşmış olduğu gözlemlendi (primitif moleküler tabaka).

4.7. İnkübasyonun Onbeşinci Günü

Bu dönemde dış granüler tabaka, primitif moleküler tabaka, iç kortikal tabaka ve iç granüler tabakadan oluşan primitif korteks belirgin biçimde dikkati çekmekteydi (Şekil 9.8). Primitif moleküler tabakanın kalınlığı biraz daha artarken, Purkinje hücreleri yer yer tek sıralı konumlarında düzenlenmeye başlamışlardı. Foliyasyon biraz daha gelişmişti (Şekil 9.9).

4.8. İnkübasyonun Onsekizinci Günü

Dış granüler tabaka incelererek varlığını sürdürmekteydi. Primitif korteksin yüzeyi gliyöz bir membranla sınırlandırılmıştı. Primitif moleküler tabakada az sayıda polimorf hücre ile göç etmekte olan granüler hücreler vardı. Söz konusu granüler hücre gruplarına Purkinje hücreleri arasında da rastlandı. Purkinje hücreleri yer yer iki sıralıydı (Şekil 9.10).

4.9. Kuluçkadan Çıkışın İlk Günü

Bu dönemde beyincik dokusunun bilinen histolojik organizasyonuna ulaştığı görüldü. Bununla birlikte dış granüler tabakanın iyice incelmış olduğu dikkati çekerken, Purkinje hücrelerinin tek sıralı, diğer tabakaların 8-10 hücre kalınlığında oldukları görüldü. Folyumların dorsal ve ventral yüzeylerinde yer yer bu durum farklılıklar göstermekteydi (Şekil 9.11).

4.10. Kuluçkadan Çıkışı Takip Eden Onuncu Gün

Dış granüler tabakanın iyice incelmış olduğu ve 3-4 hücre sırası kalınlığında olduğu görüldü (Şekil 9.12).

4.11. Kuluçkadan Çıkışı Takip Eden Üçüncü Hafta

Dış granüler tabakanın iyice incelmış olduğu ve 2-3 hücre sırası kalınlığında olduğu görüldü (Şekil 9.13).

4.12. Kuluçkadan Çıkışı Takip Eden Dördüncü Hafta

Beyincik dokusu bilinen histolojik organizasyonuna sahip olmakla birlikte dış granüler tabakanın iyice incelmış olduğu ve 1-2 hücre sırası kalınlığında olduğu görüldü (Şekil 9.14 ve Şekil 9.15).

4.13. Farklı Dönemlerdeki Embriyo ve Cıvcivlerde Beyincik Purkinje Hücrelerine Ait Parametreler

Elde edilen veriler Tablo 4.13.1'de verilmiştir.

Tablo 4.13.1. Farklı dönemlerdeki embriyo ve cıvcivlerde beyincik Purkinje hücrelerine ait parametreler.

Dönemler	Purkinje hücre çapı±SE (µm)	Çekirdek çapı±SE (µm)	Çekirdek alanı (µm ²)±SE	AgNOR alanı(µm ²)±SE	Nisbi (%) AgNOR alanı ±SE	AgNOR sayısı (adet)±SE
İnkübasyonun 11.günü	4,77±0,09 ^a	3,34±0,03 ^a	10,02±0,11 ^a	1,96±0,2 ^a	19±2,12 ^a	1,48±0,06 ^a
İnkübasyonun 13.günü	5,25±0,07 ^a	3,55±0,09 ^a	11,60±0,38 ^a	2,64±0,44 ^a	20±1,96 ^a	1,52±0,08 ^a
İnkübasyonun 15.günü	7,58±0,11 ^b	4,23±0,07 ^b	17,17±0,51 ^b	4,45±0,63 ^b	25±3,80 ^b	1,46±0,11 ^a
İnkübasyonun 18.günü	10,69±0,38 ^c	5,44±0,18 ^c	25,99±2,1 ^c	4,77±0,49 ^b	17±5,42 ^a	1,54±0,03 ^a
Kuluçkadan çıkış günü	11,77±0,15 ^d	5,59±0,04 ^c	32,44±0,81 ^d	2,25±0,17 ^a	6,5±4,28 ^c	1,37±0,04 ^a
Kuluçka sonrası10.gün	15,85±0,55 ^e	8,04±0,26 ^d	61,87±3,6 ^e	4,67±0,26 ^b	7,1±3,07 ^c	1,35±0,04 ^a
Kuluçka sonrası 3.hafta	17,75±0,33 ^f	8,96±0,15 ^e	70,65±1,7 ^f	5,94±0,68 ^{bc}	8±1,12 ^c	1,54±0,06 ^a
Kuluçka sonrası 4.hafta	18,46±0,44 ^f	9,10±0,18 ^e	69,38±1,9 ^f	7,19±0,84 ^c	10±1,52 ^c	1,37±0,06 ^a

Purkinje hücrelerindeki AgNOR'lar ilk kez inkübasyonun 11. gününe ait embriyoların beyinciklerinde değerlendirilebildi (Şekil 9.16). Onüçüncü günde biraz daha belirginleşen bu yapılar (Şekil 9.17) inkübasyonun onbeşinci gününde irileşen ve yavaş yavaş bilinen düzenlenmelerini oluşturmaya başlayan Purkinje hücrelerinin çekirdeklerinde en yüksek yüzey alanı oranına (%) ulaştı (Tablo 4.13.1 ve Şekil 9.18).

İnkübasyonun onsekizinci gününde hemen hemen tek sıralı konumlarını alan ve oldukça irileşen Purkinje hücrelerindeki AgNOR nisbi oranı (%) düşse de bu yapılar sınırları daha belirgin ve daha düzgün bir lokalizasyona sahipti (Şekil 9.19). Kuluçkadan çıkış günü ile takip eden günlerde söz konusu yapılar oldukça belirgin şekil ve konumlarıyla dikkati çekmekteydiler (Şekil 9.20 ve Şekil 9.21)

5. TARTIŞMA

Beyincik, embriyonik dönemin sonuna doğru dorsal metencephalik bölgeden dorsal'e doğru bilateral büyümeler olan rombik dudaklardan köken alırken, korteks tabakası rombik dudakların nöroepitelinden gelişir. Bu bölgedeki nöroepitel hücrelerinin mitotik aktiviteleri sonucunda nöroblastlardan oluşan bir proliferasyon bölgesi (iç matriks bölgesi) oluşur. İç matriks bölgesindeki nöroblastlar birinci göç dalgasıyla omuriliğin gri maddesine karşılık gelen manto bölgesine ulaşırlar ve bazal serebellar çekirdeklere dönüşürler. İç matriks bölgesinde hala bölünebilme yeteneklerini koruyan nöroblastların ikinci bir göç dalgasıyla da Purkinje hücreleri ve beyincik taslağının dış yüzeyinde dış matriks bölgesi (dış granüler tabaka) oluşur. Oluşan Purkinje hücreleri, aksonları ile bazal çekirdeklerdeki nöronlarla bağlantı halindedirler. Rombik dudaklardaki serebellar kabartının başlangıçtaki büyüme yönü iç-dördüncü ventriküle- doğru iken, bu andan itibaren tersine döner (serebellar eversiyon) ve beyincik tümseği dışı doğru genişlemeye başlar (Şekil 2.5.1) (Carlson, 1981; Özer ve ark, 1996; Drews 2000).

Feirabend ve ark (1985)'ı tarafından embriyonik gelişimi erken, orta ve geç olmak üzere 3 döneme ayrılan tavuk beyinciğinde de hücre populasyonları ventriküler nöroepitel ve dış granüler tabaka olmak üzere 2 farklı bölgeden gelişir. Erken dönem süresince beyinciğin üst tabakası (mantle-manto) ventriküler nöroepitelden gelişir ve kısa bir süre içerisinde iç ve dış manto tabakalarına bölünür. Dış manto tabakası da derin ve yüzeysel katmanlara ayrılır. Bunlardan derin tabakadan merkezi beyincik çekirdeklerini oluşturacak olan nöronlar gelişirken, yüzeysel katmandan dış granüler tabaka gelişir. Ventriküler nöroepitel inkübasyonun 3-18. günlerinde aşırı derecede mitotik aktivite gösterirken; embriyonik dönemin 6. gününde ortaya çıkan dış granüler tabakada ise mitotik aktivitenin 8-18. günlerde yoğunlaştığı bildirilmektedir (Feirabend ve ark, 1985). Bu çalışmada da inkübasyonun yedinci gününde iç ve dış manto tabakaları ayırt edilmiş olup (Şekil 9.1 ve Şekil 9.2); dış manto tabakasının yüzeysel bölümünün ilerleyen günlerde dış granüler tabakayı oluşturduğu belirlenmiştir (Şekil 9.3).

Redies ve ark (2002) tavuk embriyolarında inkübasyonun 10-15. günlerinde birkaç sıralı düzenlenme gösteren Purkinje hücrelerinin aralarında "granüler hücre topluluklarına" rastlamışlar ve bunların iç granüler tabakayı oluşturmak üzere dış granüler tabakadan göç eden hücreler olduklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada da inkübasyonun 9. gününden itibaren

dış granüler tabakadan iç granüler tabakayı oluşturmak üzere göç eden granül hücre gruplarına rastlandı (Şekil 9.3).

Feirabend (1990) ilk kez inkübasyonun 9-10. günlerinde iç kortikal tabaka adı verilen bölgede Purkinje hücre yığınlarına rastladığından bahsetmektedir. İlerleyen dönemlerde ise iç granüler tabakanın geliştiği, Purkinje hücrelerinin yavaş yavaş karakteristik düzenlerini aldığı ve folyumların gelişmeye başladığını bildiren araştırmacı, kuluçkadan çıkıştan kısa bir süre sonra beyinciğin genel yapılanmasının tamamlandığını ifade etmektedir. Espinar ve ark (1997)'nin beyaz Leghorn ırkı tavuk embriyoları üzerinde yaptıkları bir çalışmada ise inkübasyonun 13. gününde Purkinje hücrelerinin üç sıralı bir düzenlenme gösterdikleri inkübasyonun 17. gününde ise Purkinje hücrelerinin tek sıralı düzenlendikleri ileri sürülmektedir. Araştırmacılar (Espinar ve ark, 1997) bu dönemde moleküler tabakanın belirginleştiğini ve granüler tabakanın da düzenli bir biçimde organize olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada da ilk kez inkübasyonun dokuzuncu gününde iç manto tabakasının yüzeysel bölümündeki hücre birikimlerinin belirginleştiği dikkati çekti (Şekil 9.3). İç kortikal tabaka adı verilen bu bölgede toplanan hücrelerin ilerleyen dönemlerde Purkinje hücrelerini oluşturdukları görüldü. Bu dönemde öncül Purkinje hücreleri tam olarak ayırt edilememekle birlikte 6-8 sıralı bir katman olarak dikkati çekmekteydiler. İnkübasyonun 18. gününde yer yer 2 sıralı bir dizilim gösteren Purkinje hücrelerinin (Şekil 9.10) kuluçkadan çıkış gününde tek sıralı düzenlerini oluşturdukları görüldü (Şekil 9.11). Espinar ve ark (1997)'nin bulgularına benzer şekilde bu çalışmada da moleküler tabakanın genişlemesi ve granüler tabakanın düzenli bir organizasyona ulaşması inkübasyonun 18. gününde gerçekleşti (Şekil 9.10).

Tavuk embriyoları üzerinde yapılan bir başka çalışmada (Bouvet ve ark, 1987) 18 günlük bir embriyonun beyinciğinde dış germinatif tabaka (dış granüler tabaka), moleküler tabaka, Purkinje hücre tabakası ve internal granüler tabaka olmak üzere dört hücresel tabakadan söz edilmektedir. Araştırmacılar, dış granüler tabakanın kuluçkadan çıkışı takip eden günlerde bir süre daha varlığını koruduğunu, ancak ikinci hafta sonunda bu tabakanın tamamen ortadan kalktığı ifade etmektedirler. Yapılan bu çalışmada ise söz konusu hücresel tabakaların oluşturduğu primitif korteks inkübasyonun 15. gününde tespit edilmiştir (Şekil 9.8). Dış granüler tabaka ise kuluçkadan çıkışı takip eden dördüncü hafta sonunda birkaç hücre sırasından oluşan oldukça ince bir katman halinde varlığını devam ettirmekteydi (Şekil 9.15).

Feirabend (1990) tavuk embriyolarında foliyasyonun 11-12. günlerde başladığını; 13. günde on adet folyumun belirgin bir biçimde ayıt edilebildiğini ve folyum-V, -VIII ve -IX'da sekonder foliyasyonun da şekillenmeye başladığını bildirmektedir. Bu çalışmada da inkübasyonun 11. gününde foliyasyonun başladığı (Şekil 9.6); 13. günde 9 adet tam folyumun ayırt edildiği ve folyum-V'de sekonder foliyasyonun henüz başlamış olduğu tespit edildi (Şekil 9.7).

Bertossi ve ark (1986)'nın tavuk embriyolarında yaptıkları morfometrik bir çalışmada ortalama Purkinje hücre gövdesi çapının (mtd, mean transverse diameter) 10, 12 ve 14. günlerde sırasıyla 5,58 μm , 7 μm ve 10,25 μm olduğunu bildirmektedirler. Bu çalışmada ise ortalama Purkinje hücre gövdesi çapı inkübasyonun 11, 13 ve 15. günlerinde sırasıyla 4,77 μm , 5,25 μm ve 7,58 μm olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.13.1).

Aydın (2004) broyler ve yumurtacıların embriyo ve civcivlerinde yaptığı çalışmada Purkinje hücre çekirdeği çaplarını broylerlerde inkübasyonun 11, 14 ve 17. günlerinde sırasıyla 2,74; 2,55; 3,24 μm ; çıkış günü, kuluçka sonrası 1, 4 ve 6. hafta sonlarında ise yine sırasıyla, 4,27; 4,17; 4,19 ve 4,39 μm olarak bulmuştur. Araştırmacı (Aydın, 2004) yumurtacı ırk için aynı inkübasyon dönemlerinde Purkinje hücre çekirdek çaplarını sırasıyla 1,98; 2,03 ve 3,31 μm ; kuluçkadan çıkış günü ile birlikte takip eden 6, 18 ve 32. haftalarda ise 3,98; 4,15; 4,58 ve 4,17 μm olarak tespit etmiştir. Bu çalışmada da Purkinje hücre çekirdek çapı inkübasyonun 11, 13, 15 ve 18. günleri ile çıkış günü, kuluçka sonrası onuncu gün, 3. hafta ve 4. hafta sonunda sırasıyla 3,34; 3,55; 4,23; 5,44; 5,59; 8,04; 8,96 ve 9,1 μm olarak ölçülmüştür (Tablo 4.13.1).

Aydın (2004) yumurtacılarında Purkinje hücresi çekirdek alanını inkübasyonun 11, 14 ve 17. günlerinde sırasıyla 2,30; 2,35 ve 6,26 μm^2 olarak ölçerken; kuluçkadan çıkış günü ile birlikte takip eden 6, 18 ve 32. haftalarda sırasıyla 8,54; 10,3; 12,9 ve 9,74 μm^2 olarak tespit ettiğini bildirmektedir. Bu çalışmada da Purkinje hücre çekirdeği alanı inkübasyonun 11, 13, 15 ve 18. günleri ile çıkış günü, kuluçka sonrası onuncu gün, 3. hafta ve 4. haftalarda sırasıyla 10,02; 11,60; 17,17; 25,99; 32,44; 61,87; 70,65 ve 69,38 μm^2 olarak bulunmuştur (Tablo 4.13.1). Aradaki farkların çalışmalarda kullanılan ırkların farklı olmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çekirdekçik organize bölgeleri (nucleolus organizing regions-NORs) ribozomal genlerin toplandığı kromozomal bölgeler olup; nükleofosmin ve nükleolin gibi çekirdekçik proteinleri de rDNA'nın transkripsiyonal aktivitesinin bir göstergesidir. Gümüşleme metodu ile boyanma özelliğine sahip olan bu proteinler sayesinde AgNOR metodu, hücre ploidisini ve proliferatif aktiviteyi gösteren önemli bir parametre olarak insan hekimliğinde yıllardır kullanılmaktadır (Chatterjee ve ark, 1997; Kaplan ve ark, 2001; Janczukowics, 2003). Mourad ve ark (1997) insan akciğer kanserlerinde yapmış oldukları bir çalışmada, ortalama AgNOR sayısının ve çekirdek başına 5 ya da daha fazla sayıda AgNOR taşıyan hücre oranının tümör hücrelerinin proliferatif aktivitelerinden ziyade ilerleyici davranışları hakkında da bilgi verebileceğini ortaya koymuşlardır. Xiu ve ark (2003) ise AgNOR parametrelerindeki artışın astrosit tümörlerinin teşhisinde yarar sağladığı gibi söz konusu tümörlerin nüksü ile de doğru orantılı olduğunu bildirmektedirler.

Lafarga ve ark (1995) tavuk ve rat embriyolarında yaptıkları bir çalışmada olgun Purkinje hücrelerinde ortalama çekirdekçik sayısının tavuklarda 1,60; ratlarda ise 1,07 olduğu bildirilmektedir. Aydın (2004) ise broylerlerin Purkinje hücrelerindeki ortalama AgNOR sayısının kuluçkanın 11, 14 ve 17. günlerinde sırasıyla 1,40; 1,62 ve 1,53 olduğunu; bu değerlerin yumurtacı ırklarda yine sırasıyla 1,33; 1,64 ve 1,29 olduğunu ileri sürmektedir. Bu çalışmada da Purkinje hücrelerinin ortalama AgNOR sayıları inkübasyonun 11, 13 ve 18. günlerinde sırasıyla 1,48; 1,52 ve 1,54 olarak bulunmuştur (Tablo 4.13.1).

Lafarge ve ark (1989)'nın erişkin rat beyincisinde gümüşleme yöntemi ile yapmış oldukları bir başka çalışmada ise granüler tabakada yer alan nöronlarda hücre başına düşen çekirdekçik sayısının 1,46 olduğu ortaya çıkarılmıştır. Araştırmacılar (Lafarge ve ark, 1989) ratlarda NOR (rDNA geni) içeren 3 çift kromozom olduğunu ve teorik olarak hücre başına 6 adet çekirdekçiğin olması gerektiğini ileri sürerlerken, bu rakamın 1,46 olmasını 2 temel nedene bağlamaktadırlar. Bunlardan ilki çekirdekçik formasyonuna ulaşamamış inaktif NOR'ların olması; bir diğeri ise hücre farklılaşması aşamasında nükleolar füzyonun meydana gelmiş olma olasılığıdır. Zira nükleolar füzyon olayı hücre aktivitesi ile birlikte artmakta ve birleşme özellikle rDNA genlerine yani NOR'lara yakın bölgelerde gerçekleşmektedir.

Aydın (2004) yumurtacıların Purkinje hücrelerinde AgNOR alanının çekirdek alanına oranını yüzde (%) olarak inkübasyonun 11, 14 ve 17. günlerinde sırasıyla %16,95; %15,31 ve %16,61 olarak tespit etmiştir. Araştırmacı (Aydın, 2004) kuluçkadan çıkış günü ile birlikte

kuluçka sonrası 6, 18 ve 32. haftalar sonunda aynı parametreyi yine sırasıyla %17,44; %16,4; %8,94 ve %5,57 olarak ölçmüştür. Aynı araştırmacı (Aydın, 2004) bu oranı broylerlerde inkübasyonun 11, 14 ve 17. günlerinde %14,47; %12,14 ve %12,68 olarak bulurken kuluçkadan çıkış günü ile birlikte takip eden 1, 4 ve 6. haftalarda %12,99; %17,38; %10,95 ve %10,70 olarak tespit etmiştir. Bu çalışmada AgNOR alanının çekirdek alanına oranı yüzde (%) olarak inkübasyonun 11, 13, 15 ve 18. günleri ile kuluçkadan çıkış günü ve takip eden onuncu gün, üçüncü hafta ve dördüncü haftalarda sırasıyla %19; %20; %25; %17; %6,5; %7,1; %8 ve %10 olarak ölçülmüştür (Tablo 4.13.1).

Beyinciğin anterior ve posterior loplara gelişiminin ontojenik bir program dahilinde düzenlendiği ve fonksiyonel açıdan farklı beyincik bölgelerinde yer alan Purkinje hücrelerinin farklı proteinleri kodlayan genleri taşıdıkları bilinmektedir (Nunzi ve ark, 1999). Wassef ve ark (1985) ratlarda ve Leghorn ırkı tavuk embriyolarında siklik GMP-bağımlı protein kinaz (cGK), VitD-bağımlı Ca-bağlayan protein ve Purkinje hücresi spesifik glikoprotein'lerine karşı elde edilmiş antikolar ile yaptıkları çalışmada Purkinje hücrelerinin söz konusu proteinleri gruplar halinde ve dönem dönem sentezlediklerini tespit etmişlerdir. Purkinje hücrelerinin erişkinlerde belirgin bir üniformite göstermesine karşın özellikle erken embriyonik dönemde farklı yüzey proteinlerini taşımaları Purkinje hücrelerinin beyinciğin tek eferent hücreleri olması nedeniyle önem taşımaktadır. Zira Purkinje hücrelerinin bu şekilde gruplar oluşturmalarının, ilgili dönemlerde aferent sinir tellerinin de fonksiyonel anlamda ayırımlarına işaret ettiği düşünülmektedir (Wassef ve ark, 1985). Bu çalışmada da embriyonik dönem boyunca Purkinje hücrelerinin AgNOR alanlarının çekirdek alanlarına oranlarında gözlenen değişimler söz konusu hücrelerin aferent bağlantılar geliştirmeleri sürecindeki dönemsel farklılıklara işaret edebilir. Zira inkübasyonun 15. gününde bu değer en yüksek bulunurken özellikle kuluçkadan çıkış ile birlikte belirgin düşüşler göze çarpmaktadır (Tablo 4.13.1). Bununla birlikte kuluçka sonrası incelenen tüm dönemlerde değerlerin birbirlerine yakın seyretmesi ve istatistiksel farkların olmaması Wassef ve ark (1985)'nin görüşleri ile uyumlu bulunmaktadır. Bu bulgular Purkinje hücrelerinin protein sentezinin embriyonik dönemin 15. gününde en yüksek seviyeye ulaşması, aferent sinir telleri ile kurdukları sinapsların da muhtemelen bu dönemde yoğunlaştığını akla getirmektedir. Bertossi ve ark (1986)'da 14 günlük tavuk embriyolarında gerek perikaryon ve gerekse de dendritlerde serbest ribozomlarda artış olduğunu ve buna paralel olarak nörofilaman ve nörotubulus sentezinin arttığını, dendritik ve aksonal gelişimin de belirginleştiğini bildirmektedirler.

Sinir sisteminin fonksiyonlarının yanı sıra gelişimi ve bunu etkileyen faktörler üzerinde yapılan çalışmalarda beyincik ve Purkinje hücreleri bir model olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Özellikle gelişmekte olan sinir sistemi dış etkenlerin yanı sıra dolaşım bozukluklarından kaynaklanabilecek problemlere karşı da oldukça duyarlıdır. Başta Purkinje hücreleri olmak üzere tüm nöronlar bu tür dış faktörlerden belirgin biçimde etkilenirlerken, memelilerde plasentanın varlığı nedeniyle bu tür etkilerin mekanizmalarını açıklamakta bazı güçlüklerle karşılaşmaktadır. Özellikle sinir sistemi üzerinde etkili olan embriyotoksik ve teratojenik ilaç ve benzeri kimyasal maddelerin etki mekanizmalarını tam olarak değerlendirebilmek de aynı nedenle oldukça güçtür. Dolayısıyla bu tür çalışmalarda kanatlı embriyoları sıklıkla tercih edilen materyallerden biridir (Stoloff ve ark 1972). Jelinek (1977), embriyolu tavuk yumurtası kullanarak Tavuk Embriyotoksitesisi Belirleme Testi (Chicken Embryotoxicity Screening Test-CHEST) olarak adlandırılan bir metot geliştirmiş ve bu metot daha sonra yapılan birçok embriyotoksitesite ve teratojenite çalışmalarına da uygulanmıştır. Embriyolu tavuk yumurtası kullanılarak gerçekleştirilen bu testin sonuçları memelilere de uyarlanabilmektedir. Bunun yanı sıra kanatlılarda maternal etkilerden bağımsız olarak gerçekleşen embriyonik gelişim deneysel manüplasyonları da kolaylaştırmaktadır. Kanatlı embriyoları aynı zamanda kısa ve değişik gelişim aşamalarını içermesi nedeniyle de idealdir (Lee ve ark, 2001). Testler kolay, ucuz, tekrarlanabilir sonuçlar vermekte ve kısa sürede gerçekleştirilebilmektedir. Aynı zamanda memelilerdeki toksikolojik çalışmalarda kullanılacak olan denek sayısı ile deneme sayısını azaltmakta; canlı bir organizmaya verilebilecek ağrı ve acıyı da en aza indirgeyerek, etik kurallara ve yasal kısıtlamalar ile Hayvan Haklarını Koruma Kanununa da aykırı düşmemektedir (Jelinek ve ark 1985, Veselý ve Veselá 1991). Özellikle kanatlılarda beyincik dokusu, memelilerdeki beyincik dokusu ile histolojik farklılaşma aşamaları dikkate alındığında karşılaştırılabilir bir model teşkil etmektedir. Bu nedenle çalışmada elde edilen bulguların, bundan sonra beyincik dokusu ve Purkinje hücreleri üzerinde yapılacak olan deneysel çalışmalar için temel veriler olmaları açısından önemli oldukları düşünülmektedir.

6. ÖZET

Bu çalışmada Babcock-B380 ırkı yumurtacı tavukların beyincik kortekslerinin embriyonik gelişiminin yanı sıra kuluçkadan çıkışı takip eden dört haftalık dönemde süregelen değişimleri ile Purkinje hücrelerine ait AgNOR parametreleri araştırıldı.

Bu amaçla 100 adet yumurta kullanıldı. Yumurtalar inkübasyonun 7, 8, 9, 10, 11, 13, 15 ve 18. günlerinde açılırken; kuluçkadan çıkış günü ve çıkışı takip eden onuncu gün, üçüncü hafta ve dördüncü haftalar sonunda da doku örnekleri alındı. Alınan doku örnekleri rutin histolojik takip işlemlerinden sonra parafinde bloklandılar. Bloklardan alınan 4-6µm kalınlığındaki kesitler üçlü boyama, hematoksilin&eoziin ve AgNOR boyama teknikleri ile boyandılar.

İnkübasyonun yedinci gününde dördüncü ventrikülün tavanından gelişen beyincik taslağının ventriküler nöroepitel, iç manto ve dış manto tabakalarından oluştuğu görüldü. İnkübasyonun dokuzuncu gününde, gelecekteki Purkinje hücrelerinin oluşturduğu iç kortikal tabaka ile iç granüler tabakayı oluşturmak üzere dış granüler tabakadan göç eden granül hücre grupları gözlemlendi. Beyincik folyumlarına ilk kez inkübasyonun onbirinci gününde rastlandı. İnkübasyonun onbeşinci gününde dış granüler tabaka, primitif moleküler tabaka, iç kortikal tabaka ve iç granüler tabakadan oluşan primitif beyincik korteksi oldukça belirgindi. Yine bu dönemde Purkinje hücrelerinin iç granüler tabakanın dış bölgelerinde toplandıkları dikkati çekti. Onsekiz günlük embriyoların beyincik kortekslerinin histolojik organizasyonları hemen hemen tamamlanmıştı. Dış granüler tabaka kuluçka sonrası dönemde giderek incelmekteydi.

Purkinje hücresi ve çekirdeğinin ortalama enine çapları ile Purkinje hücre çekirdeği ve AgNOR alanlarının incelenen tüm dönemler süresince giderek arttığı, buna karşın AgNOR alanının çekirdek alanına yüzde (%) oranının inkübasyonun onsekizinci gününden itibaren belirgin bir biçimde azaldığı tespit edildi. AgNOR sayıları arasında istatistiksel fark tespit edilmedi.

7. SUMMARY

In this study, the embryonic and the post-hatching development of the chicken cerebellar cortex and the number, size and area of the silver staining nucleolus organizer regions (AgNORs) were determined in the cerebellar Purkinje cells in layers (Babcock-B380) chickens.

For this purpose, 100 laying hen's eggs were used. The eggs were opened at 7th, 8th, 9th, 10th, 11th, 13th, 15th and 18th days of the incubation.

The tissue samples from the cerebellum were taken from the embryos at different incubation periods, at the end of the incubation and by the 10th day, third week and fourth week after hatching. Tissue samples were stained with Masson's trichrome, hematoxyline&eosine and AgNOR technique.

In the 7th incubation day, the cerebellar anlage which develops from the roof of the fourth ventricle consists of ventricular neuroepithelium, inner mantle layer and outer mantle layer. The inner cortical layer which made up the future cerebellar Purkinje cells and the granule cell raphes which migrate from the external granular layer to their definite position in the internal granular layer have been observed in the 9th incubation day. The cerebellar folia have been first observed in the 11th incubation day. In the incubation day of 15th, primitive cortex which consist of the external granular layer, primitive molecular layer, inner cortical layer and the internal granular layer was evident. Besides, in the same period the Purkinje cells were incorporated in the external part of the internal granular layer. At the end of the 18th incubation day, the histological architecture of the cerebellar cortex was almost definite. The attenuation of the external granular layer was continuing during post-hatching period.

The mean transverse diameter of the Purkinje cells and their nucleus, and the mean area of the Purkinje cell nucleus and AgNOR area were increased through the all experimental period. Conversely the mean ratio of AgNOR area to Purkinje cell nucleus area were decreased. There was no difference between the AgNOR counts.

8. KAYNAKLAR

Altman J and Bayer SA (1985a) *Embryonic development of the rat cerebellum. I. Delineation of the cerebellar primordium and early cell movement*, J Comp Neurol, 231, 1-26.

Altman J and Bayer SA (1985b) *Embryonic development of the rat cerebellum. III. Regional differences in the time of origin, migration and settling of Purkinje cells*, J Comp Neurol, 231, 42-65.

Abraham, H, Tornoczky, T, Kosztolanyi G and Seress, L (2001) *Cell formation in the cortical layers of the developing human cerebellum*, Int J Dev Neurosci, 19, 53-62.

Arndt K and Redies C (1998) *Development of cadherin-defined parasagittal subdivisions in the embryonic chicken cerebellum*, J Comp Neurol, 401, 367-381.

Aydın MF. (2004) *Yumurta ve Et Tavuklarının Farklı Dokularında Gümüşleme Metoduyla Boyanan Nükleolus Organizatör (AgNOR) Bölgelerinin Dağılımının Belirlenmesi. Doktora Tezi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.*

Aydın ve Çelik İ (2005) *Yumurta ve et tavuklarının karaciğerlerinde gümüşleme metoduyla boyanan nükleolus organizatör (AgNOR) bölgeleri dağılımının belirlenmesi. Vet. Bil. Derg. 21(1-2): 91-99.*

Bertossi M, Roncali L, Mancini L, Ribatti D and Nico B (1986) *Process of differentiation of cerebellar Purkinje neurons in the chick embryo*, Anat Embriol, 175, 25-34.

Bouvet J, Usson Y and Legrand J (1987) *Morphometric analysis of the cerebellar Purkinje cell in the developing normal and hypothyroid chick*, Int. J. Devl. Neuroscience, 5(4), 345-355.

Bukhari MH, Niazi S, Khan SA, Hashmi I, Perveen S, Qureshi SS et al (2007) *Modified method of AgNOR staining for tissue and interpretation in histopathology*, Int J Exp Pathol, 88, 47-53.

Carison BM (1981) The Development of the Nervous System, In: "Patten's Foundations of Embryology", 317-358, 4th Edition, McGraw-Hill Book Company, USA.

Chappard D, Gaborit NR, Filmon R, Audran M and Basle MF (1998) *Increased nucleolar organizer regions in osteoclast nuclei of Paget's bone disease*, Bone, 22 (1), 45-49.

Chatterjee R, Mukhopadhyay D, Chakraborty RN and Mitra RB (1997) *Evaluation of argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNORs) in oral carcinomas in relation to human papillomavirus infection and cytokinetics*, J Oral Pathol and Med 26, 310-314.

Culling CFA, Allison RT and Barr WT (1985) *Cellular pathology technique*. Butterworths and Co Ltd, London.

Derenzini M, Pession A, Farabegoli F, Trere D, Badiali M and Dehan P (1989) *Relationship between interphasic nucleolar organizer regions and growth rate in two neuroblastoma cell lines*. Am J Path, 134(4):925-932.

Drews U (2000) Sinir Sistemi, "Renkli Embriyoloji Atlası", 206-526, Çev. Ed: Y. Aytekin, E. Gürsoy, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.

Duchrot P (1990) *Etude des organisateurs nucleolaires (AgNOR) dans les tumeurs melanocytaires benignes, dysplasiques et malignes*. Reims, France: Universite de Reims Champagne-Ardenne. Thesis, M203.

Dursun N (2000) Merkezi Sinir Sistemi, "Veteriner Anatomi III", 13-67, I. Baskı, Medisan Yayın Serisi: 47, Ankara.

Espinar A, Piera V, Carmona A and Guerrero JM (1997) *Histological changes during development of the cerebellum in the chick embryo exposed to a static magnetic field*, Bioelectromagnetics, 18, 36-46.

Feirabend HKP, VanLuxenburg EA Vandenderen-Van Dorp H and Voogd J (1985) *A ³H-Thymidine autoradiographic study of the development of the cerebellum of the White*

Leghorn (Gallus domesticus): Evidence for longitudinal neuroblast generation patterns, Acta Morphol Neerl-Scand, 23, 115-126.

Feirabend HKP (1990) *Development of longitudinal patterns in the cerebellum of the chicken (Gallus Domesticus): A Cytoarchitectural study on the genesis of cerebellar modules. Eur J Morphol, 28(2-4), 169-223.*

Fults DW, Towle AC, Lauder JM and Maness PF (1985) *PP60c-src in the developing cerebellum, Mol and Cell Biol, 5 (1), 27-32.*

Ganong WF (1999) Control of posture and movement, In: "Review of Medical Physiology", 194-214, 19th Edition, Appleton&Lange, Stamford, Connecticut, USA.

Gressens, P (2000) *The developing nervous system: A series of review articles, Pediat Res, 48 (6), 725-730.*

Hassa O ve Aştı RN (1997) *Embriyoloji, 3. Baskı, Yorum Matbaacılık Sanayii, Ankara.*

Herrup K and Kuemerle B (1997) *The compartmentalization of the cerebellum, Annu Rev Neurosci, 20, 61-90.*

Hoyo E, Kanitakis J, Euvrard S and Thivolet J (1993) *Proliferation characteristic of cutaneous squamous cell carcinomas developing in organ graft recipients. Arch Dermatol, 129:324-327.*

Hubbell HR and Hsu TC (1977) *Identification nucleolus organizer regions (NOR) in normal and neoplastic human cells by the silver staining technique. Cytogenet. Cell Genet, 19: 185-196.*

Isumi H, Mizuguchi M and Takashima S (1997) *Differential development of the human cerebellar vermis: immunohistochemical and morphometrical evaluation, Brain and Develop, 19, 254-257.*

Janczukowics J (2003) *The prognostic role of proliferation activity in human CNS tumours: the determination of AgNOR, PCNA and Ki-67 expression, Part I: AgNOR expression in CNS tumours*, Folia Neuropathol, 41 (2), 97-101.

Jelinek R (1977) *The chick embryotoxicity screening test (CHEST)*, In "Methods in Prenatal Toxicology", Eds. by D Neubert, HJ Merker and TE Kwasigrooh, 381-386, Georg Thieme, Stuttgart.

Jelinek R, Peterka M and Rychter Z (1985) *Chick embryotoxicity screening test-130 substances tested*, Indian J Exp Biol, 23, 588-595.

Junqueira LC, Carneiro J and Kelley RO (1993) *Sinir Dokusu, "Temel Histoloji"*, 196-231, Çev.Ed: Y. Aytekin, Barış Kitabevi, İstanbul.

Kaplan I, Engelberg J and Dayan D (2001) *The effect of desalivation on 4-nitroquinoline-1-oxide-induced tongue carcinogenesis: a morphometric study of nucleolar organizer regions*, J Oral Pathol Med, 30, 48-52.

Kanitakis J, Hoyo E, Hermier C, Chouvet B and Thivolet J (1992) *Nuclear organiser region (AgNOR) enumeration in keratoacanthomas and squamous cell carcinomas of the skin*. Cancer, 69:2937-2941.

Kapfhammer JP (2004) *Cellular and molecular control of dendritic growth and development of cerebellar Purkinje cells*, Prog Histochem Cytochem, 39, 131-182.

Kaprielian Z, Campbell AM and Fambrough DM (1989) *Identification of a Ca²⁺-ATPase in cerebellar Purkinje cells*, Mol Brain Res, 6, 55-60.

Karademir N, Güvenç T, Yarım M, Orman MM and Gülbahar MY (1996) *Comparison of AgNORs staining and PCNA immunostaining methods, and mitotic index scores in intracutaneous cornifying epithelioma and squamous cell carcinoma*, Ankara Üniv Vet Fak Derg, 43, 281-285.

Karam SD, Kim YS and Bothwell M (2001) *Granule cells migrate within raphes in the developing cerebellum: An evolutionarily conserved morphogenic event*, J Comp Neurol, 440, 127-135.

Kaya T (2005) *Yumurtaya verilen Aflatoksin B₁'in, kanatlı hepatosit çekirdeklerinin bazı morfolojik özellikleriyle AgNOR aktiviteleri üzerindeki etkilerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.*

Korek BG, Martin H and Wenzelides K (1991) *A modified method for the detection of nucleolar organiser regions (AgNOR)*. Acta Histochem, 90: 155-157.

Klein C, Butt SJB, Machold RP, Johnson JE and Fishel G (2005) *Cerebellum- and forebrain-derived stem cells possess intrinsic regional character*, Development, 132, 4497-4508.

Lafarga M, Berciano MT, Hervas JP and Villegas J (1989) *Nucleolar organization in granule cell neurons of the rat cerebellum*, J Neurocytol, 18, 19-26.

Lafarga M, Andres MA, Fernandez-Viadero C, Villegas J and Berciano MT (1995) *Number of nucleoli and coiled bodies and distribution of fibrillar centres in differentiation of Purkinje neurons of chick and rat cerebellum*, Anat and Embryol, 191 (4), 359-367.

Lee W, Kim Y, Lee KY, Kang CS, Lee W, Lee KS et al (1999) *AgNOR of human interphase cells in relation to acrocentric chromosomes*, Cancer Genet Cytogenet, 113, 14-18.

Lee C, Kim DW, Jeon GS, Roh EJ, Seo JH, Wang KC et al (2001) *Cerebellar alteration induced by chronic hypoxia: an immunocytochemical study using a chick embryonic model*, Brain Res, 271-276.

Lee, A, Kessler, JD, Read, TA, Kaiser, C, Corbeil, D, Huttner, WB et al (2005) *Isolation of neural stem cells from the postnatal cerebellum*, Nature Neurosci, Advance online publication, 1-7.

Liu, A and Joyner, AL (2001) *Early anterior/posterior patterning of the midbrain and cerebellum*, *Annu Rev Neurosci*, 24, 869-896.

Lou J and Redies C (2004) *Overexpression of genes in Purkinje cells in the embryonic chicken cerebellum by in vivo electroporation*, *J Neurosci Methods*, 139, 241-245.

Luo J, Treubert-Zimmermann U and Redies C (2004) *Cadherins guide migrating Purkinje cells to specific parasagittal domains during cerebellar development*, *Mol. Cell. Neurosci.*, 25, 138-152.

Mallet, J Christen, R and Changeux, JP (1979) *Immunological studies on the Purkinje cells from rat and mouse cerebella. I. Evidence for antibodies characteristic of the Purkinje cells*, *Dev Biol*, 72, 308-319.

Manuelidis L (1984) *Active nucleolus organiser regions are precisely positioned in adult central nervous system cell but not in neuroectodermal tumour cells*. *Journal of Neuropathol and Exp Neurol*, 43(3):225-241.

Martinez, S (2001) *The isthmic organiser and brain regionalization*, *Int J Dev Biol*, 44, 367-371.

Martin-Teva JL, Dusart I, Coli C, Gervais A, VanRoijen N and Mallat M (2004) *Microglia promote the death of developing Purkinje cells*, *Neuron*, 41(19), 535-547.

Masabanda JS, Burt DW, O'Brien PCM, Vignal A, Fillon V, Walsh PS et al (2004) *Molecular cytogenetic definition of the chicken genome: The first complete avian karyotype*. *Genetics*, 166;1367-1373.

Mial RC and Reckess GZ (2002) *The cerebellum and the timing of coordinated eye and hand tracking*, *Brain and Cognition*, 48, 212-226.

Mitmann W, Koch U and Hausser M (2005) *Feed-forward inhibition shapes the spike output of cerebellar Purkinje cells*, *J. Physiol*, 563(2), 369-378.

Moore KL and Persaud TVN (2002) Sinir Sistemi, "Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi", 451-491, Çev. Ed: M. Yıldırım, İ. Oklar, H. Dalçık, 6. İngilizce Baskıdan Çeviri, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.

Morrison, ME and Mason, CA (1998) *Granule neuron regulation of Purkinje cell development: Striking a balance between neurotrophin and glutamate signaling*, J Neurosci, 18 (10); 3563-3573.

Mourad WA, Vallieres E, Chuen J and Alrobaish A (1997) *Cell kinetics analysis of surgically resected non-small cell carcinoma of the lung using the AgNOR silver stain*, Ann of Saudi Med, 17 (2), 161-166.

Nakamura, H and Watabane, Y (2005) *Isthmus organizer and regionalization of the mesencephalon and metencephalon*, Int J Dev Biol, 49, 231-235.

Nickel R, Schummer A and Seiferle E (1977) *Anatomy of the Domestic Birds*, Translation by WG Siller, PAL Wight, Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, Germany.

Noyan A (2004) Sinir Sistemi, "Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji", 197-213, 14. Baskı, Meteksan A.Ş., Ankara.

Nunzi MG, Grillo M, Margolis FL and Mugnaini E (1999) *Compartmental organization of Purkinje cells in the mature and developing mouse cerebellum as revealed by an olfactory marker protein-lacZ transgene*, J Comp Neurolo, 404, 97-113.

Özer A, Yakışık M ve Özfiliz N (1996) *VeterinerEmbriyoloji*, Bursa.

Plagge A, Sendtner-Voelderndorff L, Sirim P, Freigang J, Rader C, Sonderegger P et al (2001) *The contactin-related protein FAR-2 defines Purkinje cell clusters and labels subpopulations of climbing fibers in the developing cerebellum*, Mol and Cell Neurosci, 18, 91-107.

Platon D, Menager M, Jeanesson P, Himber G, Pigeon F and Adnet JJ (1986) *Improvement in the staining and in the visualisation of the argyrophilic proteins of the nucleolus organiser region at the optical level.* Histochem J, 18: 5-14.

Quinones-Hinojosa A, Sanai N, Smith JS and McDermott MW (2005) *Techniques to assess the proliferative potential of brain tumors,* Lab Invest, 74, 19-30.

Rakic P (1971) *Neuron-glia relationship during granule cell migration in developing cerebellar cortex. A Golgi and electron microscopic study in Macacus Rhesus,* J Comp Neurol, 141, 283-312.

Redies C, Luckner R and Arndt K (2002) *Granule cell raphes in the cerebellar cortex of chicken and mouse,* Brain Res Bull, 57 (3/4), 341-343.

Sağlam M, Aştı RN ve Özer A (1997). *Genel Histoloji,* Genişletilmiş 5. Baskı, Yorum Matbaacılık Sanayii, Ankara.

Sato, T, Joyner, AL and Nakamura, H (2004) *How does Fgf signaling from the isthmus induce midbrain and cerebellum development?,* Develop Growth Differ, 46, 487-494.

Sakamoto H, Ukena K and Tsutsi K (2001) *Effects of progesterone synthesized de novo in the developing Purkinje cell on its dendritic growth and synaptogenesis,* J Neurosci, 21 (16), 6221-6232.

Sotelo, C (2004) *Cellular and genetic regulation of the development of the cerebellar system,* Prog in Neurobiol, 72, 295-339.

Stoloff L, Verret MJ, Dantzman J and Reynaldo EF (1972) *Toxicological study of aflatoxin P₁ using the fertile chicken egg,* Toxicol Appl Pharmacol, 23, 528-531.

Tanyolaç A (1999) *Özel Histoloji,* 3. Baskı, Yorum Basın Yayın Sanayi Şirketi, Ankara.

Tekin, M.E. (2003): Örneklerle bilgisayarda istatistik. S.Ü.Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi, Konya.

Tsutsi K, Ukena K, Usui M, Sakamoto H and Takase M (2000) *Novel brain function: biosynthesis and actions of neurosteroids in neurons*, Neurosci Res, 261-273.

Tsutsi K, Sakamoto H and Ukena K (2003) *Biosynthesis and action of neurosteroids in the cerebellar Purkinje neuron*, J Steroid Biochem and Mol Biol, 85, 311-321.

Tsutsi K, Matsunaga M, Miyabara H and Ukena K (2006) *Neurosteroid biosynthesis in the quail brain: A review*, J Exp Zool, 305A, 733-742.

Vastagh CS, Vig J, Takacs J and Hamori J (2005) *Quantitative analysis of the postnatal development of Purkinje neurons in the cerebellum of the cat*, Int J Devl Neurosci, 23, 27-35.

Veselý D and Veselá D (1991) *The use of chick embryo for prediction of some embryotoxic effects of mycotoxins in mammals*, Vet Med Praha, 36(3), 175-181.

Voogd J and Glickstein M (1998) *The Anatomy of the Cerebellum*, Trends in Cog Sci, 21, 370-375.

Wassef M, Zanetta JP, Brehier A and Sotelo C (1985) *Transient biochemical compartmentalization of Purkinje cells during early cerebellar development*, Develop Biol, 111, 129-137.

Xiu CL, Du ZW, Liu ZY, Huang Q and Chan WY (2003) *A2B5 lineages of human astrocytic tumors and their recurrence*, Int J Oncol, 23, 353-361.

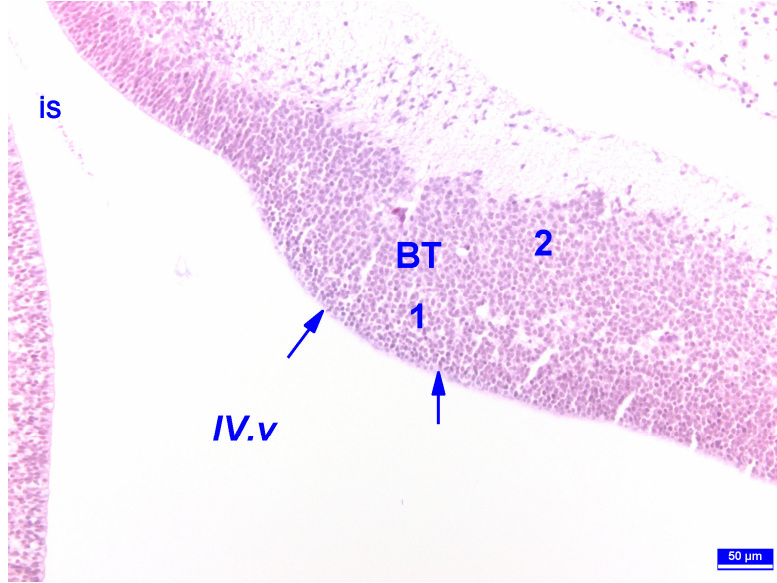
Yarım M and Kabakçı N (2004) *Neurosteroidogenesis in oligodendrocytes and Purkinje nerones of cerebellar cortex of dogs*, Anat Histol, Embryol, 33, 151-154.

Yfanti E, Nagata I and Patsavoudi E (1998) *Migration behavior of rodent granule neurons in the presence of antibody to the 4C5 antigen*, J Neurochem, 71, 1381-1389.

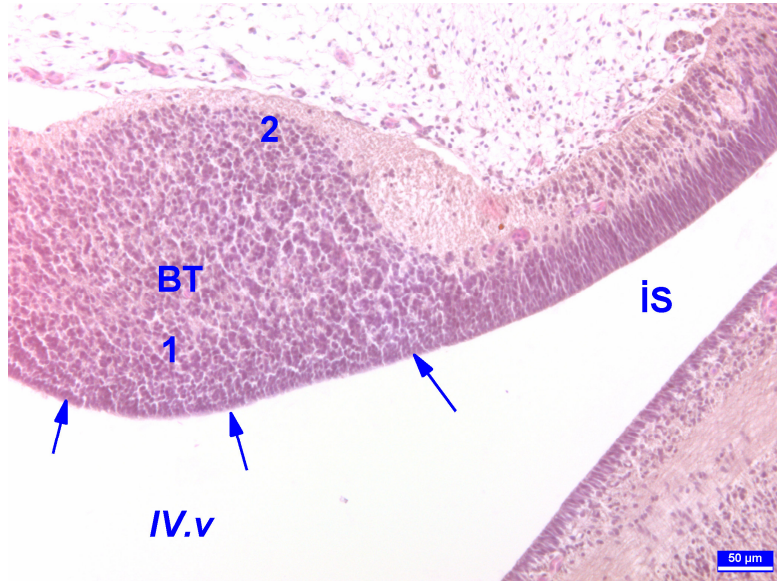
Yue Q, Groszer M, Gill JS, Berk AJ, Messing A, Wu H et al (2005) *PTEN deletion in Bergmann glia leads to premature differentiation and affects laminar organization*, Development, 132 (14), 1-11.

Zaczek M, Maciejowski J, Gil K, Szot W, Chlap Z.(1992) *Silver-binding nucleolar organiser regions (AgNORs) in the normal epithelium of different parts of the digestive tract in rats*. Acta Pathol Jpn, 42(8):573-578.

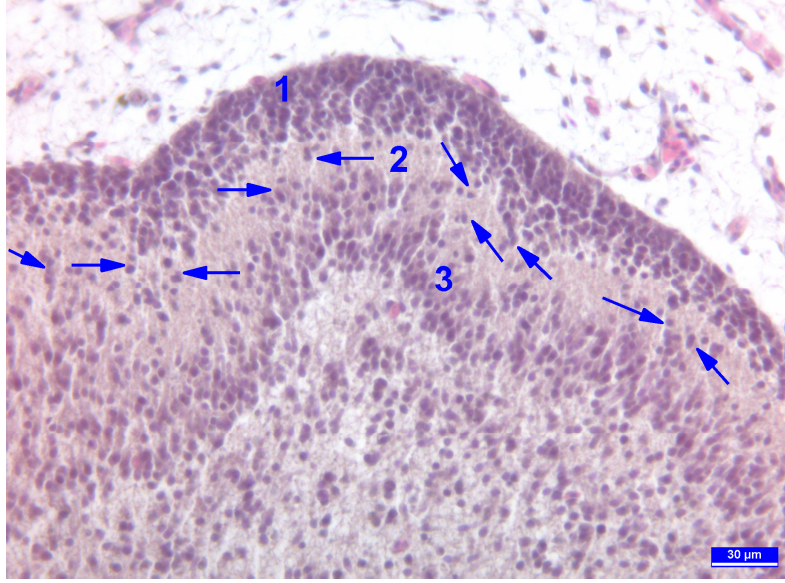
9. EKLER



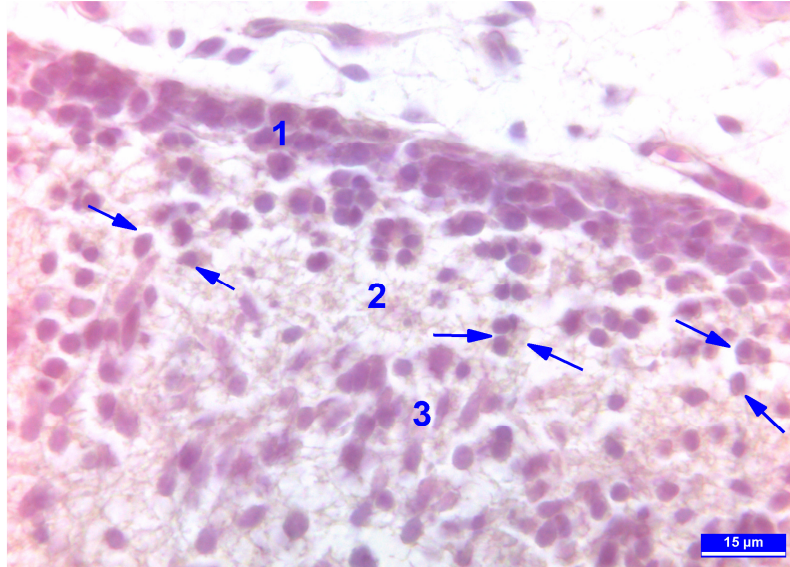
Şekil 9.1. İnkübasyonun yedinci gününe ait bir embriyonun baş bölgesinden alınan kesitte beyincik taslağı görülmekte. BT: Beyincik taslağı, IV.v: Dördüncü ventrikül, 1: İç manto tabakası, 2: Dış manto tabakası, İS: İstmus, Oklar: Ventriküler nöroepitel, Hematoksilen&Eozin boyama. Büyütme çizgisi 50µm.



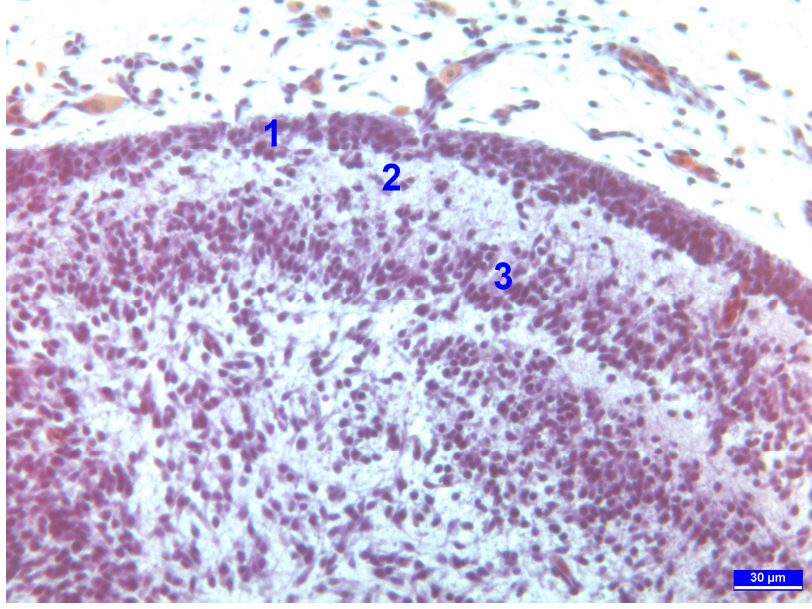
Şekil 9.2. İnkübasyonun sekizinci gününe ait bir embriyonun baş bölgesinden alınan kesitte beyincik taslağı görülmekte. BT: Beyincik taslağı, IV.v: Dördüncü ventrikül, 1: İç manto tabakası, 2: Dış manto tabakası, İS: İstmus, Oklar: Ventriküler nöroepitel, Üçlü boyama. Büyütme çizgisi 50µm.



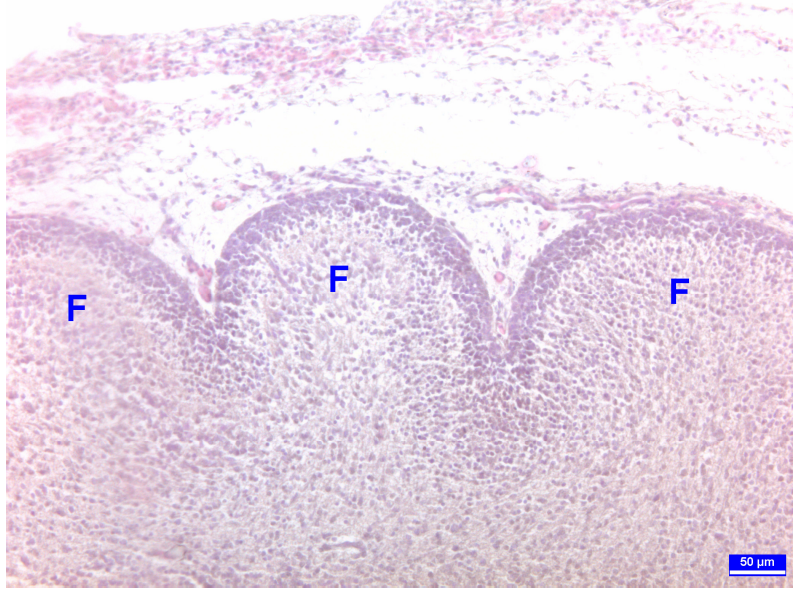
Şekil 9.3. İnkübasyonun dokuzuncu gününe ait bir embriyonun baş bölgesinden alınan kesitte beyincik taslağı görülmekte. 1: Dış granüler tabaka, 2: Marjinal tabaka, 3: İç kortikal tabaka, Oklar: Dış granüler tabakadan iç bölgelere göç eden granüler hücre grupları. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi 30µm.



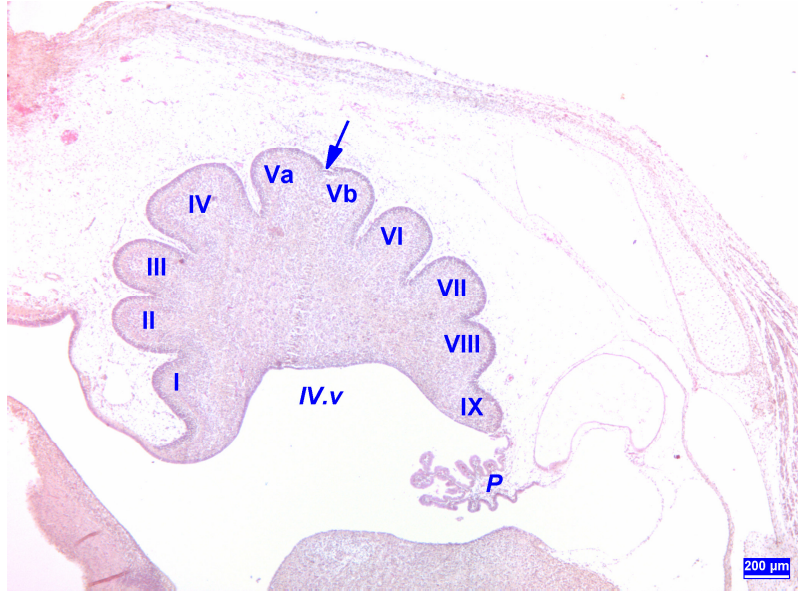
Şekil 9.4. İnkübasyonun onuncu gününe ait bir embriyonun baş bölgesinden alınan kesitte beyincik taslağı görülmekte. 1: Dış granüler tabaka, 2: Marjinal tabaka, 3: İç kortikal tabaka, Oklar: Dış granüler tabakadan iç bölgelere göç eden granüler hücre grupları. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi 15µm.



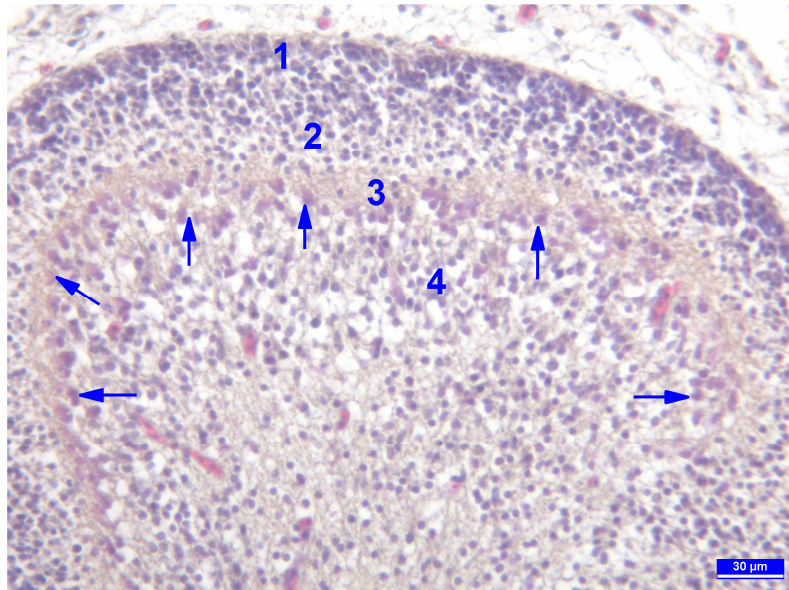
Şekil 9.5. İnkübasyonun onbirinci gününe ait bir embriyonun baş bölgesinden alınan kesitte beyincik taslağı görülmekte. 1: Dış granüler tabaka, 2: Marjinal tabaka, 3: İç kortikal tabaka, Üçlü boyama. Büyütme çizgisi 30µm.



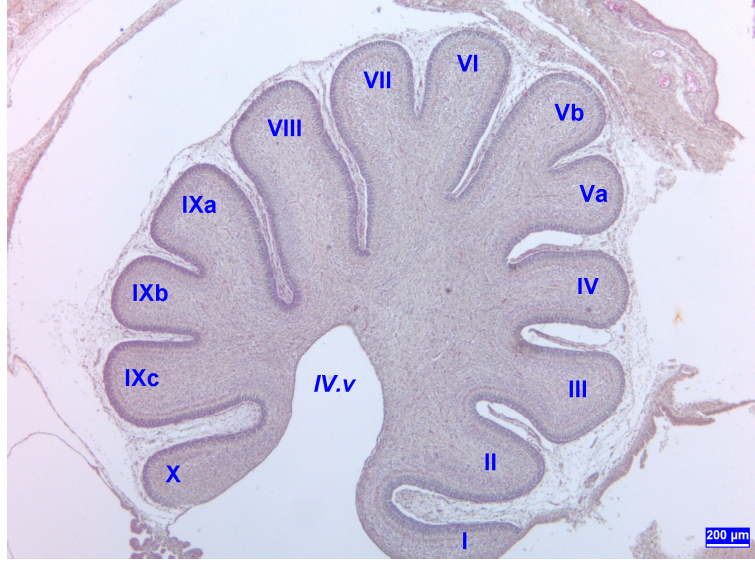
Şekil 9.6. İnkübasyonun onbirinci gününe ait bir embriyonun baş bölgesinden alınan kesitte bu dönemin en belirgin histolojik gelişimi olarak dikkati çeken folyumlar görülmekte. F: Folyumlar. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi 50µm.



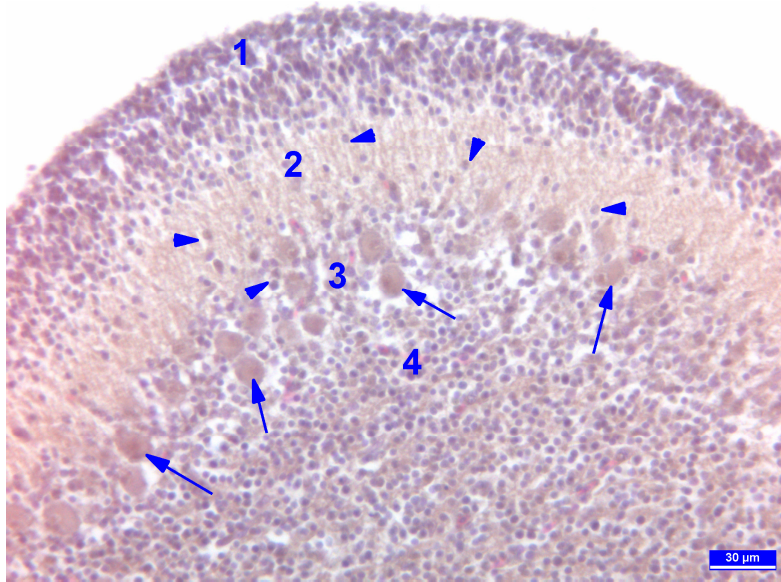
Şekil 9.7. İnkübasyonun onüçüncü gününe ait bir embriyonun baş bölgesinden alınan kesitte dokuz adet primer folyum'un yanı sıra özellikle folyum V'de sekonder foliasyon görülmekte. IV.v: Dördüncü ventrikül, P: Pleksus koroyideyus, Ok: Henüz başlamış olan sekonder foliyasyon. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi 200µm.



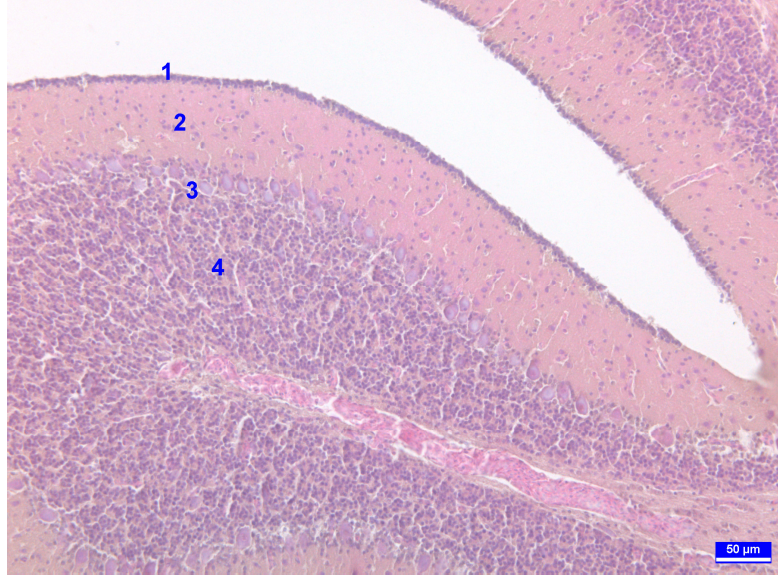
Şekil 9.8. İnkübasyonun onbeşinci gününe ait bir embriyonun baş bölgesinden alınan kesitte gelişmekte olan beyincik dokusu görülmekte. Bu dönemde dış granüler tabaka (1), primitif moleküler tabaka (2), iç kortikal tabaka (3) ve iç granüler tabakadan (4) oluşan primitif korteks dikkati çekmekte. Oklar: Purkinje hücreleri. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi 30µm.



Şekil 9.9. İnkübasyonun onbeşinci gününe ait bir embriyonun baş bölgesinden alınan kesitte gelişmekte olan beyincik dokusu görülmekte. Foliyasyonun daha da gelişmiş olduğu dikkati çekmekte. IV.v: Dördüncü ventrikül. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi 200µm.



Şekil 9.10. İnkübasyonun onsekizinci gününe ait bir embriyodan alınan beyincik kesiti görülmekte. 1: Dış granüler tabaka, 2: Primitif moleküler tabaka, 3: İç kortikal tabaka (Purkinje hücre katmanı), 4: İç granüler tabaka, Oklar: Purkinje hücreleri, Ok başları: Göç eden granül hücre grupları. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi 30µm.



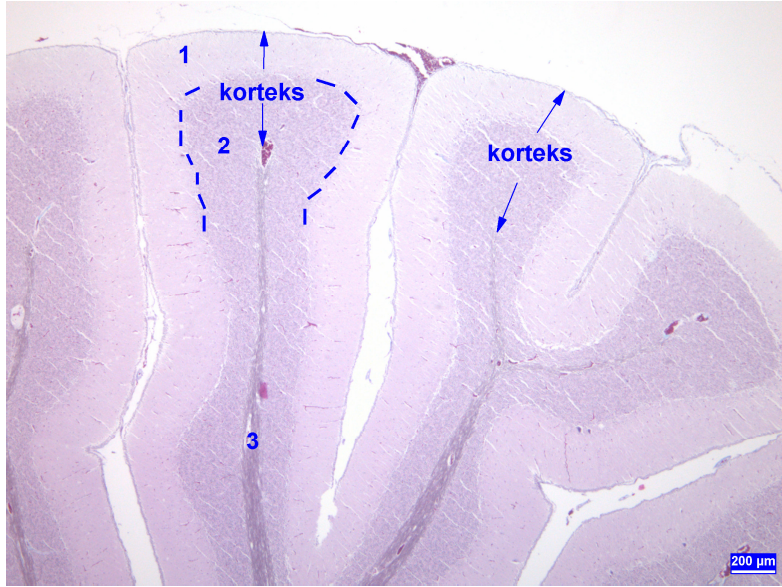
Şekil 9.11. Kuluçkadan yeni çıkan bir civcivden alınan beyincik kesiti. 1: Dış granüler tabaka, 2: Moleküler katman, 3: Purkinje hücreleri katmanı, 4: Granüler katman. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi 50µm.



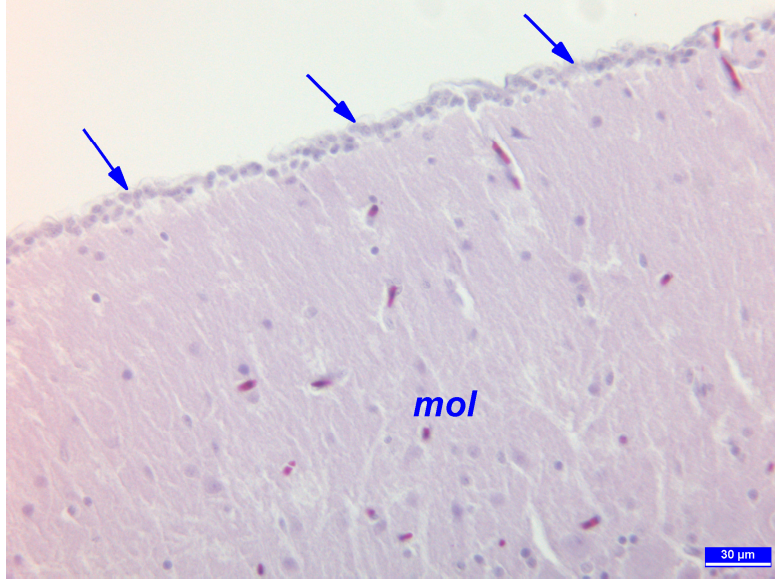
Şekil 9.12. On günlük bir civcivden alınan beyincik kesiti. Oklar: Dış granüler tabaka, mol: Moleküler katman, Ok başları: Purkinje hücreleri. Hematoksilen&Eozin boyama. Büyütme çizgisi 30µm.



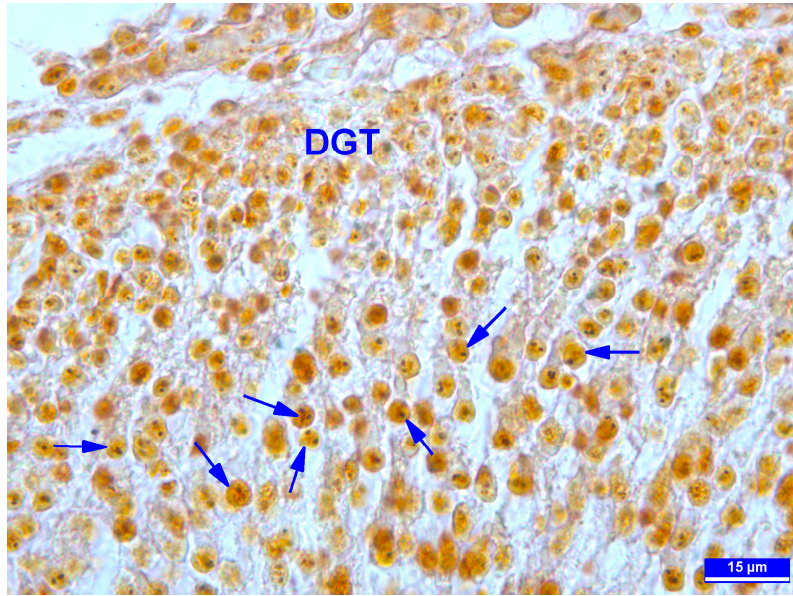
Şekil 9.13. Üç haftalık bir civcivden alınan beyincik kesiti. Oklar: Dış granüler tabaka, mol: Moleküler katman. Hematoksilen&Eozin boyama. Büyütme çizgisi 30µm.



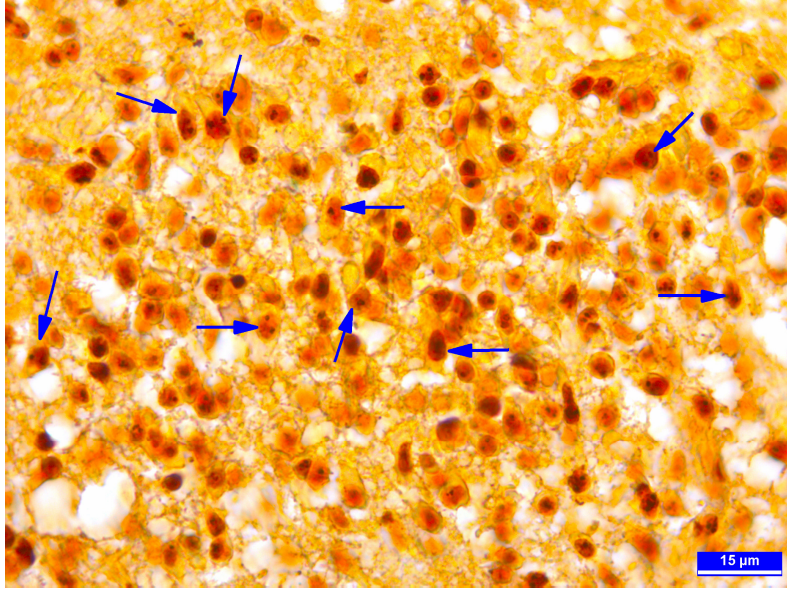
Şekil 9.14. Dört haftalık bir civcivden alınan beyincik kesiti. Beyincik dokusunun bilinen histolojik organizasyonuna ulaşmış olduğu görülmekte. 1: Moleküler katman, 2: Granüler katman, 3: Medulla (substansiya alba), Kesik çizgiler: Purkinje hücre katmanı. Hematoksilen&Eozin boyama. Büyütme çizgisi 200µm.



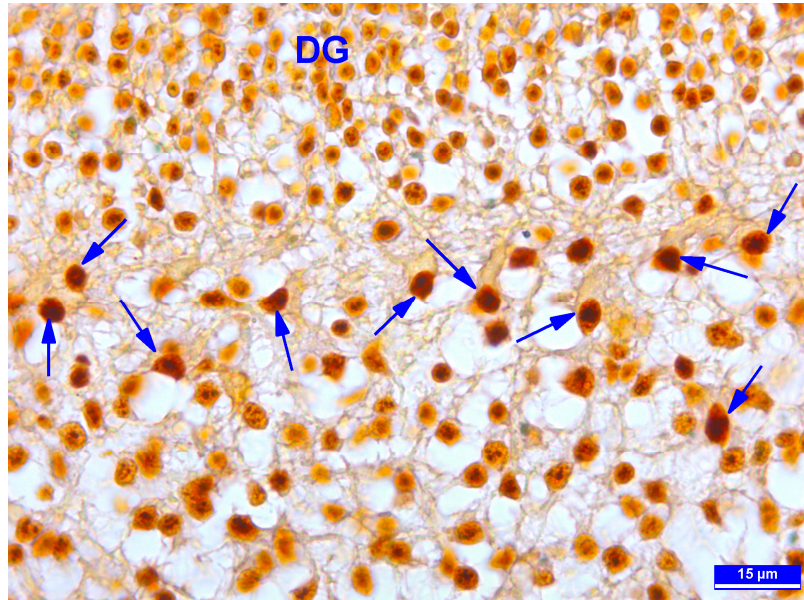
Şekil 9.15. Dört haftalık bir civcivden alınan beyincik kesiti. Dış granüler tabakanın (Oklar) incelerek varlığını sürdürdüğü dikkati çekmekte. mol: Moleküler katman. Hematoksilen&Eozin boyama. Büyütme çizgisi 30µm.



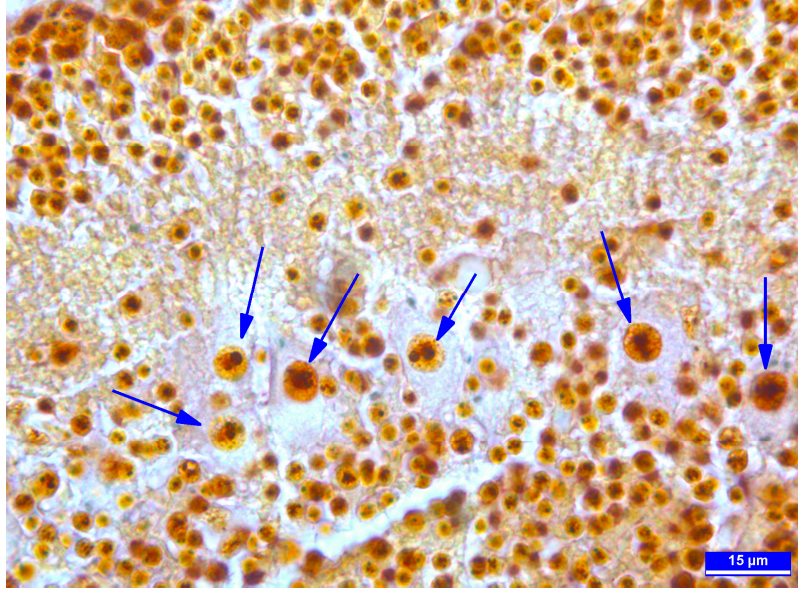
Şekil 9.16. İnkübasyonun onbirinci gününe ait bir embriyonun beyincik dokusunda öncül Purkinje hücrelerinin çekirdeklerinde yer alan AgNOR'lar görülmekte. Oklar: AgNOR içeren öncül Purkinje hücre çekirdekleri, DGT: Dış granüler tabaka. AgNOR boyası. Büyütme çizgisi 15µm.



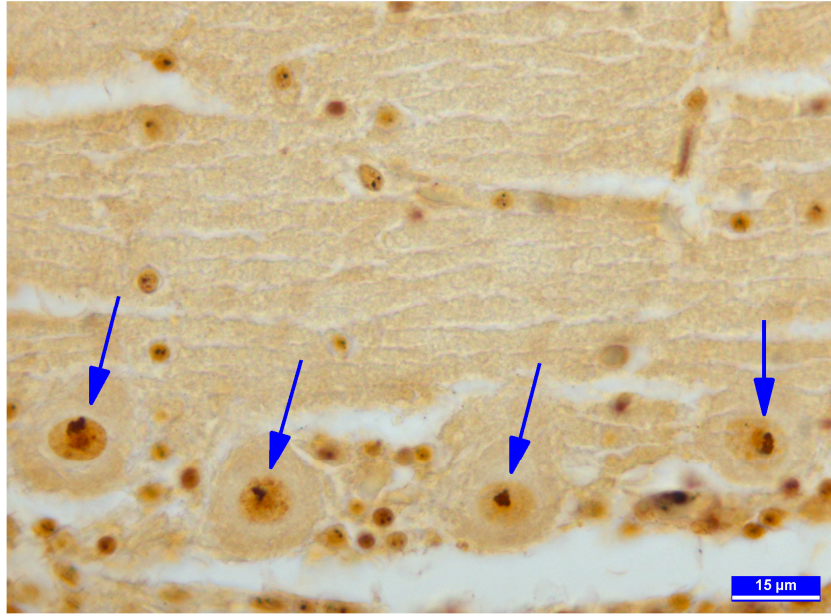
Şekil 9.17. İnkübasyonun onüçüncü gününe ait bir embriyonun beyincik dokusunda öncül Purkinje hücrelerinin çekirdeklerinde yer alan AgNOR'lar görülmekte. Oklar: AgNOR içeren öncül Purkinje hücre çekirdekleri. AgNOR boyası. Büyütme çizgisi 15µm.



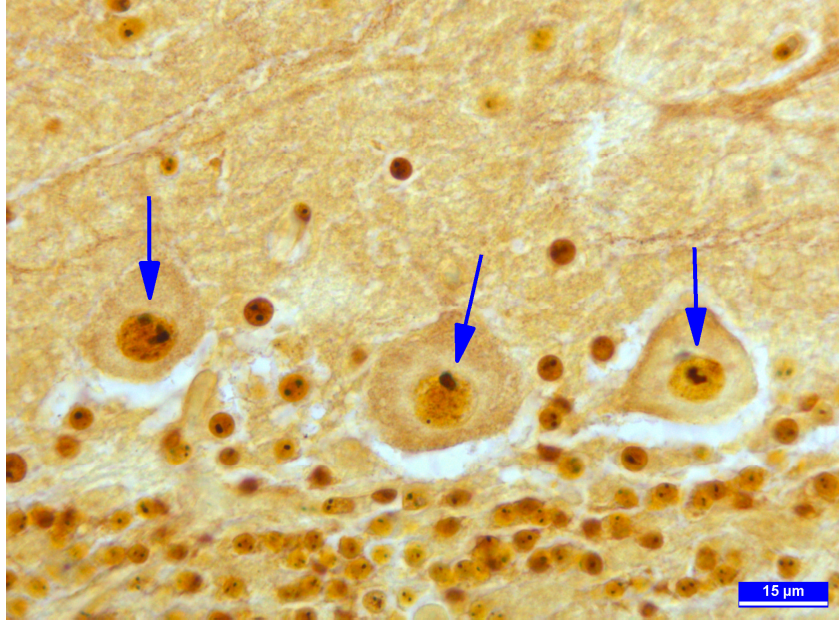
Şekil 9.18. İnkübasyonun onbeşinci gününe ait bir embriyonun beyincik dokusunda öncül Purkinje hücrelerinin çekirdeklerinde yer alan AgNOR'lar görülmekte. Oklar: AgNOR içeren öncül Purkinje hücre çekirdekleri, DG: Dış granüler tabaka. AgNOR boyası. Büyütme çizgisi 15µm.



Şekil 9.19. İnkübasyonun onsekizinci gününe ait bir embriyonun beyincik dokusunda Purkinje hücrelerinin çekirdeklerinde yer alan AgNOR'lar görülmekte. Oklar: AgNOR içeren Purkinje hücre çekirdekleri. AgNOR boyası. Büyütme çizgisi 15µm.



Şekil 9.20. Kuluçkadan yeni çıkmış bir civcivin beyincik dokusunda Purkinje hücrelerinin çekirdeklerinde yer alan AgNOR'lar görülmekte. Oklar: AgNOR içeren Purkinje hücre çekirdekleri. AgNOR boyası. Büyütme çizgisi 15µm.



Şekil 9.21. Dört haftalık bir civcivin beyincik dokusundaki Purkinje hücrelerinin çekirdeklerinde yer alan AgNOR'lar görülmekte. Oklar: AgNOR içeren Purkinje hücre çekirdekleri. AgNOR boyası. Büyütme çizgisi 15µm.

10. ÖZGEÇMİŞ

23.02.1982 tarihinde Çumra'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Konya'da tamamladıktan sonra 1999 yılında kazandığı Seçuk Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliği bölümünden 2003 yılında mezun oldu. Halen özel bir dersanede Fen Bilgisi Öğretmeni olarak görev yapmaktadır. Evlidir.

11. TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimimin ders ve tez aşamalarında yakın ilgi, destek ve yardımlarını gördüğüm başta Seçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İlhami ÇELİK olmak üzere Anabilim Dalı'nın diğeri elemanları Doç. Dr. H.Hüseyin DÖNMEZ, Yrd. Doç. Dr. Murat BOYDAK, Yrd. Doç. Dr. Yasemin ÖZNURLU, Arş. Gör. Tuğba TELATAR ve Doktora Öğrencisi Fatma KAYIKCI'ya teşekkürlerimi sunarım.