

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
GEVHER NESİBE GENOM VE KÖK HÜCRE ENSTİTÜSÜ
NÖROBİLİM ANABİLİM DALI**

**SIÇAN BEYİNLERİNDE METOTREKSAT İLE
OLUŞTURULAN FOLİK ASİT YETERSİZLİĞİ SONUCUNDA
BOZULAN SUBVENTRİKÜLER BÖLGEDEKİ
NÖROGENEZE HİPERBARİK OKSİJEN UYGULAMASININ
ETKİSİ**

**Hazırlayan
Aysun ÇELİK**

**Danışman
Prof. Dr. Feyzullah BEYAZ**

Yüksek Lisans Tezi

**Kasım 2023
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
GEVHER NESİBE GENOM VE KÖK HÜCRE ENSTİTÜSÜ
NÖROBİLİM ANABİLİM DALI**

**SIÇAN BEYİNLERİNDE METOTREKSAT İLE
OLUŞTURULAN FOLİK ASİT YETERSİZLİĞİ SONUCUNDA
BOZULAN SUBVENTRİKÜLER BÖLGEDEKİ
NÖROGENEZE HİPERBARİK OKSİJEN UYGULAMASININ
ETKİSİ**

Yüksek Lisans Tezi

**Hazırlayan
Aysun ÇELİK**

**Danışman
Prof. Dr. Feyzullah BEYAZ**

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TYL-2023-12687 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Kasım 2023
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK ONAYI

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, tüm bilgilerin akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda akademik ve etik kuralların gerektirdiği gibi tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve kaynaklar listesinde gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı : Aysun ÇELİK

İmza :



YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Sıçan Beyinlerinde Metotreksat ile Oluşturulan Folik Asit Yetersizliği Sonucunda Bozulan Subventriküler Bölgedeki Nörojeneze Hiperbarik Oksijen Uygulamasının Etkisi”adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Aysun ÇELİK

Danışman

Prof. Dr. Feyzullah BEYAZ

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Füsun Ferda ERDOĞAN

KABUL VE ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Feyzullah BEYAZ danışmanlığında **Aysun ÇELİK** tarafından hazırlanan “**Sıçan Beyinlerinde Metotreksat ile Oluşturulan Folik Asit Yetersizliği Sonucunda Bozulan Subventriküler Bölgedeki Nörogeneze Hiperbarik Oksijen Uygulamasının Etkisi**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Gevher Nesibe Genom ve Kök Hücre Enstitüsü Nörobilim Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

24.11.2023

İmza

JÜRİ

Danışman: Prof. Dr. Feyzullah BEYAZ

Üye: Prof.Dr. Ebru KARADAĞ SARI

Üye: Doç.Dr. Gökhan ÜNAL

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

..... /...../.....

Prof. Dr. Yusuf ÖZKUL

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu tez projesinin planlanması, yürütülmesi ve yazılması konularında bilgi paylaşımı, destekleyici tutumundan ötürü öncelikle değerli tez danışmanım Erciyes Üniversitesi Veteriner Hekimliği Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.Feyzullah Beyaz'a,

Hiperbarik Oksijen uygulamasında yanımızda olan Dr. Mehmet Akif BAKTIR'a, Çalışkanlığını ve bilime olan bakış açısını daima örnek aldığım Gevher Nesibe Genom Kök Hücre Enstitüsü Nörobilim Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr.Fusun Ferda ERDOĞAN'a,

Bu tez sürecinde her daim fikir alışverişinde olduğum ve bu zorlu yolu beraber yürüdüğüm arkadaşım Biyolog Zeynep IŞIK'a,

Tez süreci ile ilgili belge evrak teslimi ve takvim oluşturma hususlarındaki yardımlarından ötürü Gevher Nesibe Kök Hücre Enstitüsü Sekteri Mehmet Caner GÖKDEMİR'e,

Histoloji ve Embriyoloji Laboratuvarındaki doku takibi ve DEKAM'daki deney süreçlerinde yardımlarını ve desteklerini hissettiğim DEKAM sorumlusu Dr.Mustafa ERMİŞ, Dr.Fatma KÖSE, Gevher Nesibe Kök Hücre Enstitüsü Nörobilim yüksek lisans öğrencisi Psikolog Alev ÇAY, Uzman Biyolog Emel ÇOLAK, Nörobilim doktora öğrencisi Uzman Psikolog Begüm Fatma KIRYAR, Veteriner Hekimliği Fakültesi Anatomi Anabilimdalı ve Histoloji Anabilimdalı yüksek lisans ve doktora öğrencilerine,

Her daim şahıslarına münasır bir şekilde beni destekleyen başta Annem Asuman PEKSOY olmak üzere tüm aile fertlerime,

Süreç boyunca her problemimde yanımda olan ve desteklerini hissettiğim Nelda KURUDAĞ ve Sema ATIÇ başta olmak üzere Melikgazi Sosyal Hizmet Merkezindeki çalışma arkadaşlarıma ve tez süreci boyunca anlayış gösteren Müdürüm Erdem ALBAYRAK'a

Her daim yanımda olduklarını hissettiren ve desteklerini benden esirgemeyen canım arkadaşlarım Reyhan Ebrar OÇAKTAN'a, Şeyma Nur DEMİR'e, Berat BAĞBANCI'ya, Duygu ÖZCAN'a, Emine TOZ'a, Zehra SEMERCİOĞLU'na, Tuba GÖNÜLÇEKEN'e ve Elif SARI'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Aysun ÇELİK,Kayseri 2023

SIÇAN BEYİNLERİNDE METOTREKSAT İLE OLUŞTURULAN FOLİK ASİT YETERSİZLİĞİ SONUCUNDA BOZULAN SUBVENTRİKÜLER BÖLGEDEKİ NÖROGENEZE HİPERBARİK OKSİJEN UYGULAMASININ ETKİSİ

Aysun ÇELİK

Erciyes Üniversitesi, Gevher Nesibe Genom ve Kök hücre Enstitüsü

Nöro bilim Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Kasım 2023

Danışman: Prof.Dr. Feyzullah BEYAZ

ÖZET

Nörogenez, beyindeki nöral kök hücrelerden fonksiyonel yeni nöron oluşumunu ifade eder ve genellikle beyin hipokampus ve subventriküler bölgesinde görülür. hücre proliferasyonunda pirimidin ve pürin sentezi için temel bir enzim olan dihidrofolat redüktazı inhibe etmek için yapısal olarak tasarlanmış birkaç folik asit antagonistinden biri olan Metotreksat (MTX), hayvan modellerinde hafıza ve hipokampal nörojenez üzerinde olumsuz etkisi olan kemoterapötik bir ilaçtır. Hiperbarik oksijen tedavisi, deniz seviyesinden daha yüksek basınçlarda belirli periyotlarla %100 oksijen solunması temeline dayanan bir tıbbi tedavi yöntemidir. Kök hücre proliferasyonu, hiperbarik oksijen uygulamasını takiben çeşitli metotlarla belgelenmiştir ve son yirmi yılda nöronal hücre proliferasyonu için kanıtlar ortaya çıkmıştır. Bu çalışmada sıçanların subventriküler bölgelerindeki nörogenezi intraperitoneal enjeksiyon ile metotreksat uygulanarak hasara uğratılmış(n=7), nörogenezi hasara uğratılmış ve 2 atmosfer basınç altında günde 1 saat hiperbarik oksijen uygulamasına maruz bırakılmış (n=7), deney süresince (30 gün boyunca) 2 atmosfer basınç altında günde 1 saat hiperbarik oksijen uygulamasına maruz bırakılmış(n=7) ve metotreksat uygulanan grupların enjeksiyon gününde serum fizyolojik uygulanan grup(n=7) olmak üzere toplamda rastgele ve eşit şekilde 4 gruba ayrılan 28 adet erkek Sprague Dawley cinsi rat kullanılmıştır. Bir grup ratın (n=14) nöral gelişimde aktif rol oynayan folik asit metabolizmasına metotreksat ile hasar verilmiş böylece subventriküler bölgedeki nörogenez oluşumunda bozulma sağlanmıştır. Nörogeze hiperbarik oksijen uygulamasının etkisinin incelenmesi amacıyla immunohistokimyasal yöntemle başvurulmuştur. Nestin, doublecortin, ki-67 ve NeuN proteinlerinin boyanma yoğunluklarının J imaj programıyla kantatif ve semi kantatif analizleri yapılmıştır. Araştırmadan elde edilen bulgular ışığında hiperbarik oksijen uygulamasının metotreksat kullanımını gerektiren hastalıklarda olası nörotoksik etkileri önleyici bir seçenek olabileceği öne sürülmüştür. Ayrıca ileride oluşabilecek bazı nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi için yeni bir alternatif tedavi yönteminin önünün açılması hedeflenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Folik Asit; Hiperbarik Oksijen Tedavisi; Metotreksat; Subventriküler Bölge; Nörogenez.

**THE EFFECT OF HYPERBARIC OXYGEN ADMINISTRATION ON
NEUROGENESIS IN THE SUBVENTRICULAR REGION IMPAIRED BY
METHOTREXATE-INDUCED FOLIC ACID DEFICIENCY IN RAT BRAINS**

Aysun ÇELİK

Erciyes University, Gevher Nesibe Genome and Stem Cell Institute

Department of Neuroscience Master's Thesis, November 2023

Supervisor:Prof.Dr. Feyzullah Beyaz

ABSTRACT

Neurogenesis refers to the formation of functional new neurons from neural stem cells in the brain and is usually seen in the hippocampus and subventricular region of the brain. Methotrexate (MTX), one of several folic acid antagonists structurally designed to inhibit dihydrofolate reductase, an essential enzyme for the synthesis of pyrimidine and purine in cell proliferation, is a chemotherapeutic drug that has a negative effect on memory and hippocampal neurogenesis in animal models. Hyperbaric oxygen therapy is a medical treatment method based on breathing 100% oxygen at certain periods at pressures higher than sea level. Stem cell proliferation has been documented by various methods following hyperbaric oxygen administration, and evidence for neuronal cell proliferation has emerged in the last two decades. In this study, the neurogenesis of the subventricular regions of the rats was damaged by methotrexate by intraperitoneal injection (n=7), neurogenesis was damaged and hyperbaric oxygen was exposed to hyperbaric oxygen administration for 1 hour a day under 2 atmospheres pressure (n=7), hyperbaric oxygen application was exposed to 1 hour per day under 2 atmospheres pressure during the experiment (for 30 days) (n=7), and the group treated with methotrexate was treated with saline on the day of injection (n=7) A total of 28 male Sprague Dawley rats, which were randomly and equally divided into 4 groups, were used. Folic acid metabolism, which plays an active role in neural development in a group of rats (n=14), was damaged by methotrexate, thus disrupting the formation of neurogenesis in the subventricular region. Immunohistochemical method was used to investigate the effect of hyperbaric oxygen administration on neurogez. Quantitative and semi-quantitative analyses of staining densities of nestin, doublecortin, ki-67 and NeuN proteins were performed with the J image program. In the light of the findings obtained from the study, it has been suggested that hyperbaric oxygen administration may be an option to prevent possible neurotoxic effects in diseases requiring methotrexate use. In addition, it is aimed to pave the way for a new alternative treatment method in order to prevent some neurodegenerative diseases that may occur in the future.

Keywords: Folic Acid; Hyperbaric Oxygen Therapy; Methotrexate; Subventricular Zone; Neurogenesis.

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK	
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK ONAYI	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	ii
KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR ve SİMGELER	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Nörogenez ve Tarihçesi.....	2
2.2. Nörogenez ve Kök Hücreler.....	3
2.3. Nöral Belirteçler	4
2.4. Ventriküler Sistem.....	6
2.4.1.Lateral ventrikül	6
2.4.2. Üçüncü ventrikül	7
2.4.3. Dördüncü ventrikül.....	7
2.4.4. Subventriküler Nörojenik Niş ve Nörogenez	8
2.4.5. Subventriküler bölgedeki (SVZ'deki) hücre tipleri.....	9
2.4.6. Subventriküler Bölgedeki (SVZ) Nörogezin Regülasyonu	10
2.5. Olfaktör Bulb (OB)	16
2.6. Hipokampus	18
2.6.1. Hipokampal Nörogenez.....	20
2.7. Folik Asit.....	21
2.8. Metotreksat.....	24
2.8.1. Metotreksatın Toksikitesi	25
2.8.2. Metotreksatın Nörotoksitesi	26
2.8.3. Metotreksatın Farmokinetiği ve Farmakolojisi	27
2.9. Hiperbarik Oksijen Tedavisi (HBOT).....	29

2.9.1. Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Tarihçesi.....	30
2.9.2. Hiperbarik Oksijen Tedavisin Endikasyonları ve Kontrendikasyonları	31
2.9.3. Hiperbarik Oksijen Tedavisin Fizyolojik Temelleri.....	32
2.9.4.Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Etkileri	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM	36
3.1. Gereçler	36
3.1.1. Demirbaş malzemeler Aletler.....	36
3.1.2. Sarf Malzemeler ve Kimyasal Maddeler	37
3.2. Deneysel Prosedür	38
3.2.1. Deney Hayvanlarının Elde Edilmesi	38
3.2.2. Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Uygulanması	39
3.2.3. Histolojik ve immünohistokimyasal incelemeler için doku örneklerinin alınması	39
3.2.4. Doku örneklerinin histolojik ve immünohistokimyasal boyama teknikleri için hazırlanması	39
3.2.5. Nisli boyama yöntemi (Krezil viyole boyama yöntemi)	39
3.2.6. İmmunohistokimyasal analiz (Strep-avidin Biotin Kompleks (Strept- ABC) immünoperoksidaz tekniği)	40
3.3. İmmunohistokimyasal boyamanın kalitatif değerlendirmesi	41
3.4. İmmünohistokimyasal boyamanın kantitatif değerlendirmesi	41
3.5. İstatistiksel analiz	41
4. BULGULAR.....	43
4.1. Histolojik bulgular	43
4.2. Nestin immunreaktivitesi	46
4.3. Doublekortin immunreaktivitesi:	51
4.4. Ki67 immunreaktivitesi.....	56
4.5. NeuN immunreaktivitesi	59
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	62
6. KAYNAKLAR	66

EKLER

ÖZGEÇMİŞ

KISALTMALAR ve SİMGELER

BDFN	: Büyüme Kaynaklı Nörotrofik faktör
BOS	: Neuronal Nuclei
BRDU	: 5-bromo-2'-deoksiüridin
CA	: Cornu Amnois
CDFN	: Serebral Dopamin Nörotropik Faktörü
DA	: Dopamin
DAB	: Diaminobenzidine
DCX	: Doublekortin
DDC	: Kolorektal Karnisom
DHFR	: Dihidrofolat Redüktazı
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EGFR	: Epidermal Büyüme Faktörü
ESC	: Embriyonik Kök Hücre
FA	: Folikasit
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
GABA	: <i>Gama</i> aminobütirik asit
GFAB	: Serum Glial Fibriller Protein
HBOT	: Hiperbarik Oksijen Tedavisi
Iba-1	: Kalsiyum Bağlayıcı Adaptor Molekülü 1
ICAM-1	: Adezyon Hücre Molekülü 1
ICH	: Intracerebral Homorrhage
LV	: Lökovorin
MCAO	: Geçici Orta Serebral Damar Tıkanıklığı
MSC	: Mezankimal Kök Hücre

MTX	: Metotreksat
NEUN	: Neuronal Nuclei
NO	: Nitrit Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
NPC	: Nöral progenitor hücre
NSC	: Nöral Kök Hücre
OB	: Olfaktör Bulb
PBS	: Fosfat Buffer Salin
PSA-NCAM	: Poliase Nöral Adhezyon Hücre Molekülü
RMS	: Rostral göç sistemi
RNA	: Ribonükleik Asit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SDF-1	: Stromal Hücre Kaynaklı Faktör 1
SF	: Serum Fizyolojik
SGZ	: Subgranüler Bölge
Shh	:Sonik hedgehog
SVZ	: Subventriküler Bölge
THF	:Tetrahidrofolik Asit
VEGF	:Vasküler Endotel Büyüme Faktörü

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Subventriküler Bölge	9
Şekil 2.2.	Ventriküler bölgedeki hücre tipleri	10
Şekil 2.3.	Subventriküler bölgedeki nörogenezin gösterimi	11
Şekil 2.4.	Olfaktör bulbusun hücresel yapısı.....	18
Şekil 2.5.	Folik asitin etki mekanizması.....	24
Şekil 2.6.	Metotreksatın etki mekanizması.....	26
Şekil 2.7.	Folinik asit mekanizması.....	29
Şekil 4.1.	Salin kontrol grubunda Subventriküler (SVZ) bölgenin histolojik genel görünümü. Nisll boyaması, Bar; 200 µm.	43
Şekil 4.2.	Salin kontrol grubunda Subventriküler (SVZ) bölgenin histolojik genel görünümü. Nisll boyaması, Bar; 100 µm.	44
Şekil 4.3.	Salin kontrol grubunda Subventriküler (SVZ) bölgenin histolojik genel görünümü. Nisll boyaması, Bar; 20 µm.	44
Şekil 4.4.	Hiperbarik kontrol grubunda olfaktorik bulbusun histolojik genel görünümü. Nisll boyaması, Bar; 200 µm.	45
Şekil 4.5.	Hiperbarik kontrol grubunda olfaktorik bulbusun histolojik genel görünümü. Nisll boyaması, Bar; 100 µm.	45
Şekil 4.6.	Salin kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin SVZ bölgesinde nestin immunreaktivitesi, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 100 µm.....	47
Şekil 4.7.	Salin kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin SVZ bölgesinde nestin immunreaktivitesi, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 50 µm.....	47
Şekil 4.8.	Salin kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında nestin pozitif tanisitler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.	48
Şekil 4.9.	iperbarik kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin 4. ventrikül duvarında nestin pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.....	48

Şekil 4.10. Hiperbarik kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında nestin pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 50 µm.....	49
Şekil 4.11. MTX grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında nestin pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 100 µm.	49
Şekil 4.12. MTX grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında nestin pozitif tanisitler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 50 µm.	50
Şekil 4.13. MTX + HB grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında nestin pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.	50
Şekil 4.14. MTX + HB grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında nestin pozitif tanisitler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.	51
Şekil 4.15. Saline kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında DC pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 50 µm.	52
Şekil 4.16. Salin kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında DC pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.	53
Şekil 4.17. Hiperbarik kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin olfaktorik bulbunda DC pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.	53
Şekil 4.18. Hiperbarik kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında DC pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.....	54
Şekil 4.19. MTX grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında DC pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 50 µm. .	54
Şekil 4.20. MTX grubuna ait bir sıçan beyninin olfaktorik bulbunda DC pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm. .	55
Şekil 4.21. MTX + HB grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında DC pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.	55

Şekil 4.22. MTX + HB grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında DC pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.	56
Şekil 4.22. Saline kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında Ki67 pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 50 µm.	57
Şekil 4.23. Saline kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında Ki67 pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 50 µm.	57
Şekil 4.24. Hiperbarik kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında Ki67 pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.....	58
Şekil 4.26. MTX + HB grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında Ki67 pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 50 µm.	59
Şekil 4.27. Saline kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında NeuN pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 50 µm.....	60
Şekil 4.28. Hiperbarik kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında NeuN pozitif hücre, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.....	60
Şekil 4.29. MTX grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında NeuN pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 50 µm. .	61
Şekil 4.30. MTX + HB grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında NeuN pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.	61

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Nörogenez, beyindeki nöral kök hücrelerden fonksiyonel yeni nöron oluşumunu ifade etmektedir (Altman ve Das, 1965). Nörogenez konusunda yapılmış çalışmalar, beyindeki lateral ventrikülün subventiküler bölgesi (SVZ) ve hipokampüsün dentate girusu olmak üzere iki bölgede nörogenezin gerçekleştiğini göstermektedir (Makrygianni ve ark., 2023). Nörogenez erken dönemde nöral gelişimde aktif rol oynarken yetişkin dönemde ise sinir sisteminde bir onarım mekanizması sunmaktadır (Wang ve ark., 2003). Bu çalışmada ise nöral gelişimde aktif rol oynayan folik asit metabolizmasına metotreksat ile hasar verilmiş böylece subventiküler bölgedeki nörogenez oluşumunda bozulma sağlanmıştır (Hirako ve ark., 2015; Sritiwan, 2023). Sıçanlara hipoksi, iskemi, vasküler demans ve travmatik beyin yaralanması gibi birçok hastalığın tedavisinde uygulanan hiperbarik oksijen'in folik asit yetersizliği aracılığı ile bozulan nörogeze bu uygulamanın etkisi immunohistokimyasal yöntemle hücresel düzeyde incelenmiştir (Liu ve ark., 2013; Yang ve ark., 2008).

Çalışmanın amacı doğrultusunda çalışmanın hipotezleri aşağıdaki gibidir:

- 1) Metotreksat ile folikasit yetersizliği oluşturulmuş grup ile metotreksat ile folikasit yetersizliği oluşturulmuş ardından hiperbarik oksijen tedavisi uygulanmış grupların subventiküler bölgesindeki (SVZ) hücrelerin boyanma yoğunluğu arasında anlamlı bir fark vardır.
- 2) Metotreksat ile folikasit yetersizliği oluşturulmuş grup ile metotreksat ile folikasit yetersizliği oluşturulmuş ardından hiperbarik oksijen tedavisi uygulanmış grupların subventiküler bölgesindeki (SVZ) hücrelerin boyanma yoğunluğu arasında anlamlı bir fark yoktur.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nörogenez ve Tarihçesi

Nörogenez, beyindeki nöral kök hücrelerden fonksiyonel yeni nöron oluşumunu ifade etmektedir (Altman ve Das, 1965). Yetişkin beyninin yaşam boyunca yeni nöronlar üretme kabiliyeti bulunur (Netzahualcoyotzi ve ark., 2021). İlk nörogenez tanımından bu yana yeni nöronların oluşumu tartışma konusu olmuştur çünkü bu kavram geleneksel sinirbilim paradigmasıyla uyumlu değildir. Ramon y Cajal, nörogenezin sadece embriyonik gelişim boyunca sürdüğü ve yetişkin sinir sisteminin durgun, yenilenme kapasitesinden yoksun olduğunu ileri sürmüştür. Bu dogmaya 20.Yüzyılın büyük bir döneminde inanılmıştır (Altman ve Das, 1965). Allen (1912), adult nörogenezinin keşfini sağlayan ilk ipucunu, 120 günlük albino sıçanların lateral ventriküllerinde mitotik figürleri gözlemlemiştir. İlerleyen süreçlerde ise Altman ve Das (1965), yenidoğan ve yetişkin ratlarda thymidine-H uygulaması yaptıkları çalışmalarında nörogenezi göstermiştir. O zamandan beri, bu nöronların nasıl ve nerede üretildiğine dair geniş miktarda veri üretilmiştir. Bugüne kadar, insanlar da dahil olmak üzere birçok farklı türde doğum sonrası yeni nöronların oluştuğu bildirilmiştir (Eriksson ve ark., 1998; La Rosa ve ark., 2020; Moreneo-Jimnez ve ark., 2019). Nottebohm ve Goldman (1983), kuşlarda nörogenezi gösterdikleri çalışmadan sonra yetişkin nörogenezi üzerinden yapılan çalışmalar ivme kazanmıştır. Yetişkin beyindeki kalıcı nörogenezi incelemeye yönelik ilerleyiş, yetişkin merkezi sinir sisteminde kendini yenileme ve yapısal onarımın mümkün olabileceğine dair ipuçları vermiştir. Deneyimleri içeren çevresel faktörlerin yetişkin beyin yapısı ve işlevi üzerinde yoğun bir etkiye sahip olduğu giderek daha açık hale gelmiştir (Lisman, 1999). Adult-born nöronlar, konfokal görüntüleme ile birlikte, nükleotid analogları ve nöronlara özgü protein belirteçleri ile bölünen hücrelerin işaretlenmesine imkan veren immünohistolojik yöntemlerle açıkça tanımlanmıştır (Eriksson, 1998;

Kemperman ve ark., 1997). Bu nöronların oluşumu, beynin belirli bölgelerinde bulunan ve yaşam boyunca yeni nöronlar üreten öncü hücrelerin popülasyonlarından kaynaklanır (Kempermann ve ark., 2004). Yeni nöronlar, erken evrelerde mevcut devreye entegre olmalarını sağlayan elektrofizyolojik niteliklere sahiptir (Piatti ve ark., 2011). Süreç sonucu oluşan bu nöronların işlevsel olarak hafıza ve öğrenme ile ilgili rol alırlar (Garthe ve ark., 2009). Fare hipokampusundeki etiketli bireysel progenitör hücreler aracılığıyla yapılan bir çalışmada progenitör hücreler DG'nin olgun hücrelerine yol açtıkça gelişimsel ilerleme izlenebilmiştir (Pilz ve ark., 2018). İnsan hipokampal nörogenezinin yaşlanma boyunca da devam ettiğini bildirmiştir. Hipokampal nörogenezin hayat boyunca insana dair bilişsel fonksiyonları sürdürmesinin mümkün ve bilişsel - duygusal esneklik ile bağlantılı olabileceği ileri sürülmüştür (Boldrini, 2018). Ek olarak, doğal yaşlanma ile beraber nöronal nesillerin sayısında azalma görülmüştür (Kuhn ve ark., 1996; Leal-Galiçya ve ark., 2008).

2.2. Nörogenez ve Kök Hücreler

Kök hücreler farklılaşmamış (pluripotent) veya kısmen farklılaşmış (multipotent) hücrelerdir (Martinez-Cerdeno ve Noctor, 2018). Progenitör hücreler olarak da adlandırılan multipotent kök hücreler, hücre tiplerinin spesifik alt kümelerine dönüşebilirken pluripotent kök hücreler, bir organizmanın tüm hücre tiplerine farklılaşma potansiyeline sahiptir (Martinez-Cerdeno ve Noctor, 2018).

Embriyonik kök hücreler (ESC'ler), blastosistin iç hücre kütesinden türetilen hücreler, pluripotenttir. Embriyonik kök hücreler (ESC'ler), belirli bir dokunun embriyonik tabakaları progenitör hücrelerin bölünmeleri sonucu oluşur ve gelişir. Kök hücre bölünmeleri simetrik veya asimetrik şekilde gerçekleşebilir (Hassani ve ark., 2019). Kök hücrenin aynı hücre kaderini elde etmeye mahkum olan iki özdeş hücreye bölünmesi simetrik hücre bölünmesi olarak ifade edilir. Bir kök hücrenin, aynı kök hücre kaderine sahip bir yavru hücreye ve daha farklılaşmış bir başkasına bölünmesi ise asimetrik bölünme olarak adlandırılır. Simetrik bölünmelerin hedefi kendini yenileme ve çoğalmadır, asimetrik bölünmelerin hedefi ise hücre sayısının korunması ve farklılaşmasının sağlanmasıdır. Simetrik ve asimetrik bölünme modları arasındaki denge, içsel ve dışsal sinyaller tarafından regüle edilir. Bu dengedeki

bozulmalar doku ve organizma dishomeostazi veya hastalığına sebep olabilmektedir (Morrison ve ark., 2006).

Nöral progenitör hücreler (NPC'ler), kendini yenileyebilen ve nöronlara, astrositlere ve oligodendrositlere farklılaşma kapasitesine sahip multipotent nöral kök hücrelerdir (NSC'ler). Doğum sonrasında, yetişkin beyinde, NPC'ler esas olarak lateral ventriküllerin (LV'ler) subventriküler bölgesinde (SVZ) ve hipokampal dentat girusun (DG) subgranüler bölgesinde (SGZ) konumlanır. NPC'lerin, beslenme, metabolizma, üreme, nöroendokrin entegrasyon ve otonomik çıktı gibi çekirdek homeostatik süreçlerin regüle edilmesinde görev alan yüksek düzeyde korunmuş bir beyin bölgesi olan yetişkin hipotalamusta da konumlandığına dair bulgular vardır. Kemirgen yetişkin hipotalamusta, NPC'ler esas olarak 3. ventrikülün duvarını kaplayan farklı tanisit alt tiplerini içerir. Yetişkin insan hipotalamusunda, nörojenik niş, 3. ventrikülün tabanındaki tanisitler, ependimal hücreler ve şerit hücreleri (SVZ'dekine benzer bir boşluk ve şerit organizasyonu gösteren) bunlara ek olarak suprakiazmatik hücrelerden oluşur (Makrygianni ve ark., 2023).

2.3. Nöral Belirteçler

Doublecortin (DCX)

Morfogenez boyunca mikrotübül dinamiklerinin ve stabilitesinin düzenlenmesinde DCX merkezi bir rol oynar. DCX'in mutant alelleri, gelişim sırasında uygun hücre göçündeki bozukluklarla ilişkilidir ve insanlarda lissensefali gibi hastalıklara katkıda bulunur (Gleeson ve ark., 1998). İmmün boyama, soma ve göç eden hücrelerin önde gelen süreçlerinin yanı sıra bölünen hücrelerde gelişen süreçlerin distal uçlarında DCX'in en yüksek ifade seviyelerini ortaya koymaktadır (Francis ve ark., 1999; Gleeson ve ark., 1993). Yetişkin farelerin SVZ türevi hücrelerinde DCX'in in vitro yok edilmesi göç kapasitesinde önemli bir azalmaya neden olmuştur (Ocbina ve ark., 2006). Yeni doğan hücrelerini, spesifik olarak da tip 3 ve tip 2a'yı, belirtmek üzere nöralan işaretleyici olarak kullanılmaktadır (He ve Crews, 2007).

Ki 67

Hücrenin çoğalması için önemli endojen bir işaretleyicidir. Hücre siklusunun aktif olan fazlarında görülür (Kee ve ark., 2002). Ki-67 proteini, yıllardır insan tümör

hücreleri için bir proliferasyon belirteci olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Son çalışmalarda, bu büyük proteinin çoklu moleküler işlevleri daha iyi anlaşılmıştır. Ki-67'nin hem interfaz hem de mitotik hücrelerde rolü vardır ve hücre dağılımı hücre döngüsü ilerlemesi sırasında önemli ölçüde değişir. Bu lokalizasyonlar farklı fonksiyonlarla ilişkilidir. İnterfaz sırasında Ki-67, heterokromatin antijenlerinin normal hücresel dağılımı ve heterokromatinin nükleolar birleşimi için gereklidir. Mitoz sırasında Ki-67, yoğunlaşmış kromozomları kaplayan bir ribonükleoprotein kılıf olan perikromozomal tabakanın (PCL) oluşumu için gereklidir. Ki-67 bu yapıda mitotik kromozomların toplanmasını önlemektedir (Sun ve Kaufman, 2018).

Nestin

Nestin ilk olarak gelişmekte olan ve yetişkin beyinlerdeki nöroepitelyal kök hücrelerde tanımlanmıştır ve o zamandan beri kemik iliği, kalp, iskelet kası, pankreas, testis ve saç gibi dokulardaki birçok progenitör hücre tipinde ifadesi tanımlanmıştır. Öte yandan, birçok çalışma nestinin beyin, rahim, serviks, prostat, yumurtalık, testis ve pankreas gibi organların malignitelerinde ifade edilen kanser kök hücrelerinin bir belirteci olduğunu bildirilmiştir. Kanserin ortaya çıkışı ve ilerlemesinde, nestin ekspresyonu hücre proliferasyonu, anjiyogenez ve metastaz dahil olmak üzere çeşitli süreçlerle ilişkilendirilmiştir (Bernall ve Arnaz, 2018). Nestin, B ve C tipi hücreleri ve immatüre bağlı nöroblastların bir alt popülasyonunu etiketlemektedir (Doetsch ve ark., 1997; Perez-Asensio ve ark., 2013)

Neuronal Nuclei (NEUN)

Nöronal fenotipin saptanmasında önemli rol oynayan ve reaktivitesi nöronun olgunlaşma süresince belirginleşen ve günümüzde yaygın tercih edilen bir belirteçtir (Mullen ve ark., 1992).

5-Bromo-2-deoxyuridine (BrdU)

5-Bromo-2-deoxyuridine (BrdU) yalnızca çoğalabilen hücrelerde bulunan timidin analogu olan sentetik nükleozittir. DNA sentezinin S fazında timidin yerine konumlanır ve imminohistokimyasal yöntemlerle işaretleme yapılabilir (Kee ve ark., 2002).

Glial Fibriler Asidik Protein (GFAP)

Nöral kök hücrelerin asimetrik olarak C tipi hücrelere bölünen ve kendileri de nöroblastlar oluşturan glial fibriler asidik protein (GFAP) eksprese eden B tipi hücrelerin bir alt popülasyonu olduğu düşünülmektedir (Bordey, 2006; Doetsch, 1999; Chan ve ark., 2004; Lledo ve ark., 2006). GFAP antijeni için immün boyama, GFAP eksprese eden hücrelerin farklı SVZ hücre popülasyonları ve proliferasyon için antijenik belirteçleri birlikte eksprese edip etmediğini incelemek için yaygın bir yöntemdir. Bununla birlikte, GFAP ile birlikte boyama verilerinin yorumlanması, hücre morfolojisini eksik tahmin eden GFAP boyamasının ipliksi görünümü nedeniyle zordur. Bu durum özellikle GFAP ve çeşitli proliferasyon belirteçleri için birlikte boyama yapıldığında geçerlidir (Bolteus ve Bordey, 2004; Braun ve ark.,2003; Liu ve ark., 2006). Tip 1 hücrelerin belirtilmesi açısından da önem gösterir. Klinik olarak da nöron dejenerasyonunu göstermek amacıyla kullanılmaktadır (Song ve ark., 2002).

2.4. Ventriküler Sistem

Ventriküler sistem birbirine bağlı kanallar ve boşluklardan oluşmaktadır. Hemisferlerin ikisinin de foramen interventriculare (foramen Monroe) aracılığı ile üçüncü ventriküle bağlantılı birer geniş lateral ventrikülü vardır. Orta hatta konumlanmış olan üçüncü ventrikül ise sağ ve sol olmak üzere hipotalamusların ve talamusların ara bölümünden mevcut olan ince bir boşluktan oluşmaktadır. Aquaeductus cerebri (Aquaeductus Sylvii) vasıtasıyla ile üçüncü ventrikül ile dördüncü ventrikül bağlanır. Dördüncü ventrikül ise pons ve cerebellum arasındaki boşlukta bulunmaktadır (Tuğtağ, 2012).

2.4.1.Lateral ventrikül

Lateral ventriküller iki hemisferinde iç kısmında bulunan uç uzantılı boşluklar vardır ve ventriküler sistemin en üst kısmında olanıdır. Lateral ventriküllerin her iki tarafı septum pellucidum ile birbirinden ayrıdır. İç kısmı ependim hücreleri ile kaplıdır ve BOS ile doludur. İki yandan foramen interventriculare (Monro deliği) ile üçüncü ventrikül ile bağlantı kurar. Pars centralis, cornu frontale, cornu occipital, cornu temporale şeklinde 4 kısma ayrılır (Arıncı, 2001).

2.4.2. Üçüncü ventrikül

Üçüncü ventrikül corpus callosum ve lateral ventrikül pars centralis'inin ventralinde sella turcica, hipofiz bezi ve mesencephalon'un dorsalinde thalamus ve hipotalamus'un her iki yarısının ara kısmında konumlanmıştır. Anterosuperior kenarında foramen Monroe'lar yoluyla her iki lateral ventrikül ile ilişki halindedir. Üçüncü ventrikülün en üst kısmı anteriorda foramen Monroe'dan, posteriorda recessus suprapinealis'e kadar yukarı doğru hafif bir yaya benzer şekilde uzanmaktadır. En alt kısmının superiorunu diensefalik yapılar oluştururken anteriorunu mezensefalik yapılar oluşturmaktadır ve bu kısım anteriorda optik kiyazmaya, posteriorda aqueductus cerebri'nin üst boşluğuna kadar devam etmektedir (Arıncı, 2001).

Tanisitler, üçüncü ventrikülün yan duvarını ve dördüncü ventrikülün tavanını kaplayan tek kutuplu ependimogial hücrelerdir. Kan-beyin bariyeri kapillerlerini mediobazal hidrürde birleştirmek için hipotalamus ve median eminence'deki hipotalamohipofizyal portal sistemin fenestralı kılcal damarları olmak üzere uzun bir radyal süreç gönderirler (Langet ve ark., 2013; Mullier ve ark., 2010; Rodriguez ve ark.,2019). Tanisitler ayrıca arkuat çekirdek, ventromedial çekirdek ve dorsomedial çekirdekte bulunan nöronlar da dahil olmak üzere diğer nöral hücrelerle de temas edebilir (Bieber, 1971; Coppola ve ark., 2007).

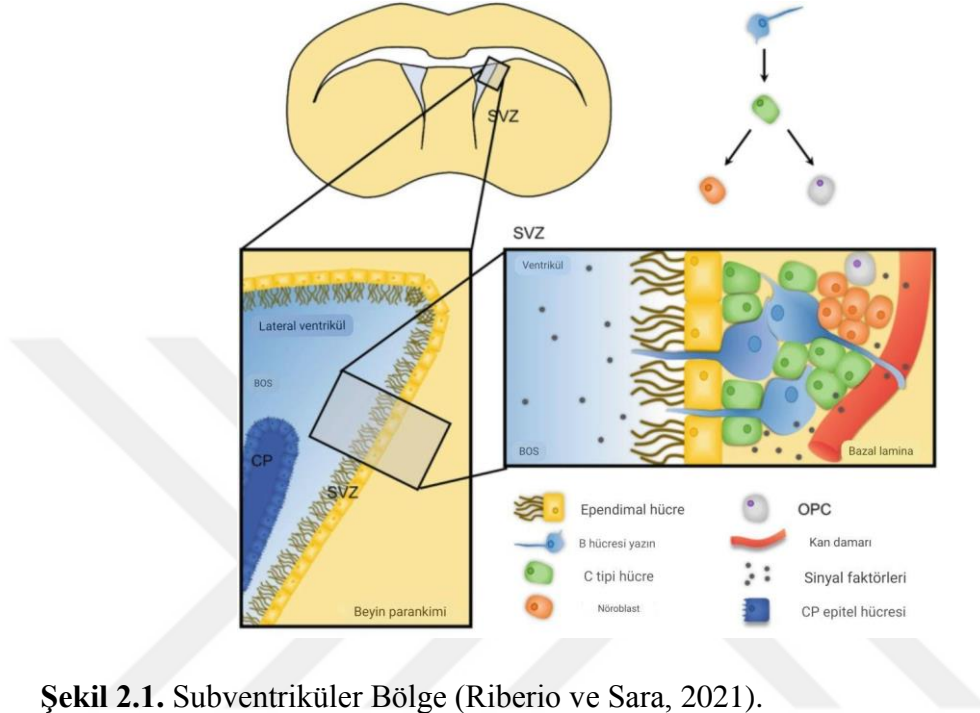
2.4.3. Dördüncü ventrikül

Beyinciğin anteriorunda medulla oblongata'nın üst yarısı ile pons'un posteriorunda konumlanan dördüncü ventrikül kaudalde canalis centralisi takip eder. Dördüncü ventrikülün tabanı fossa rhomboidea olarak adlandırılır. Dördüncü ventrikülün tavanı ise velum medullare superior ve plexus chorideustan meydana gelmektedir. Pedunculus cerebellaris superior üst dış kenarını oluştururken tuberculum gracile, tuberculum cuneatum ile pedunculus cerebellaris inferior ise alt dış kenarını oluşturur. Foramen magendie ve foramen luschka olarak isimlendirilen küçük boşluklar sayesinde spatium subarachnoideale ile dördüncü ventrikül bağlantı sağlar (Arıncı, 2001; Karacan, 2008).

2.4.4. Subventriküler Nörojenik Niş ve Nörogenez

Lateral ventriküller, astrositlere benzeyen ve Olfaktör Bulb'ı (OB) dolduran nöronlara farklılaşan tip-B1 hücreleri olarak adlandırılan çok sayıda nöral kök hücre (NSC) ile kaplıdır (Doetsch ve ark., 1997, García-Verdugo ve ark., 1998; Mirzadeh ve ark., 2008; Ponti ve ark., 2017). Tip-B1 hücreleri GFAP, glutamat aspartat taşıyıcı ve beyin lipit bağlayıcı proteini eksprese eder (Doetsch ve ark., 1997; Codega ve ark., 2014; Mich ve ark., 2014). Aktive olmuş tip-B1 hücreler nestini eksprese eder ve kendini yenilemek veya achaetescute homolog 1- ve distal-less homeobox 2- eksprese eden C hücrelerine yol açmak için asimetric olarak bölünür (Doetsch ve ark., 1997; Ponti ve ark., 2017). C tipi hücreler simetric olarak iki ila üç kez bölünür, daha sonra SVZ içindeki farklılaşmanın son aşamasını temsil eden tip A hücrelerine (nöroblastlar) farklılaşır (Ponti ve ark., 2017). Tip A hücreleri bir ila iki kez bölünür ve rostral göç akımından (RMS) OB'ye göç eder (Doetsch ve ark., 2017). Bu hücreler, mikrotübül ile ilişkili protein Doublekortinin (DCX'in) yanı sıra aksonal rehberlikte rol oynayan kollapsin yanıtli mediatör protein-4'ü eksprese eder. Bu proteinler birlikte, yeni üretilen nöroblastların mikrotübüller ve miyozin II ile etkileşime girmesine izin vererek, OB'ye doğru 120 µm / s hızla hareket etmelerini sağlar (Wichterle ve ark., 1997; Francis ve ark., 1999; Nacher ve ark., 2000). Özellikle, bu göçün yönlülüğü, SLIT-döner kavşak (ROBO) sinyalizasyonu da dahil olmak üzere bir dizi faktör tarafından düzenlenir. SLIT'ler tip A hücrelerine kemorepulsiftir ve ROBO reseptörleri SVZ ve RMS'de eksprese edilir (Ba-Charvet ve ark., 1999; Hu, 1999; Li ve ark., 1999; Wu ve ark., 1999). SLIT'lerin bir gradyanı kirpikler tarafından oluşturulur, en yüksek konsantrasyon SVZ'dedir ve A tipi hücreleri uzaklaştırır (Sawamoto ve ark., 2006). Olfaktör Bulb'a yönlü göçü takiben, nöroblastlar, RMS zincirlerinden ayrılmaya neden olan tenascin-2 ve prokineticin-2 gibi faktörler tarafından düzenlenen bir süreçle radyal olarak göç etmeye devam eder. Daha sonra, tip A hücreleri, plastisiteye ve OB'ye bağımlı öğrenmeye katıldıkları düşünölen OB'nin granül hücre tabakasına entegre olurlar (Barnea ve Nottebohm, 1994; Gould ve ark., 1999; Kempermann ve ark., 1997; Lois ve Alvarezbuylla, 1994). Bu hücrelerin sadece çok küçük bir kısmı olgun granül hücreler haline gelmek için hayatta kalır (Lois ve Alvarezbuylla, 1994). Subventriküler bölgedeki nörogenez, OB'de sürekli olarak yeni GABA ve dopamin (DA) içeren internöronlar

sağlar (Lazarini ve ark., 2014). Nöral kök hücreler (NSC'ler) ayrıca bir kişinin yaşamı boyunca astrositlere ve oligodendrositlere farklılaşır (Chaker ve ark.,2016). Yetişkin SVZ'de sessiz (qNSC'ler) veya aktif olarak bölünen hücreler (aNSC'ler) iki aşamadan birinde bir arada bulunmaktadır (Mizrak ve ark., 2019).

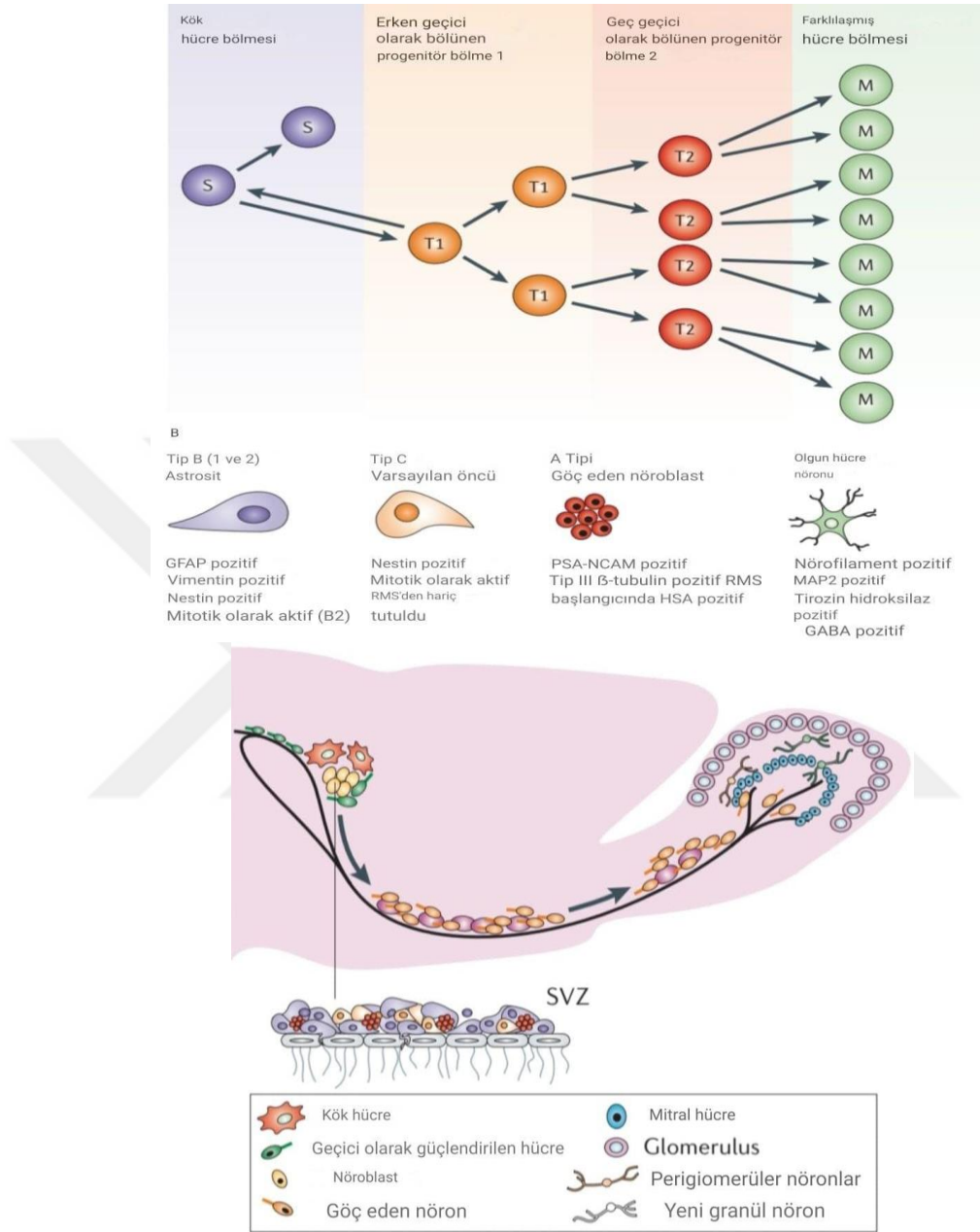


Şekil 2.1. Subventriküler Bölge (Riberio ve Sara, 2021).

2.4.5. Subventriküler bölgedeki (SVZ'deki) hücre tipleri

SVZ hücre tipleri ultrastrüktürel özellikleri ve spesifik moleküler belirteçleri ile birbirlerinden ayırt edilebilir. B1 astrositleri bol miktarda ara filament içeren açık renkli sitoplazmaya sahiptir ve glial fibriler asidik protein (GFAP), nestin ve vimentin eksprese eder. Tip C hücreleri koyu sitoplazmalı ve çok sayıda mitokondriye sahip büyük hücrelerdir. Bu hücre tipi Mash1, DLX-2 ve nestin moleküler belirteçlerini ifade eder. Nöroblastlar (Tip A hücreler) tipik olarak nestin, Doublecortin (Dcx), polisialile-nöral hücre yapışma molekülü (PSA-NCAM) ve Nöron-spesifik sınıf III beta-tubulin (Tuj1) eksprese eden küçük, uzun hücrelerdir. SVZ'de nöroblastlar astrositler tarafından çevrelenen büyük zincirler oluşturur. B2 astrositleri B1 astrositlerine benzer ancak daha fazla sayıda ara filament sahiptir ve ventrikülle temas etmez. Tip E hücreleri apikal yüzeylerinde çok sayıda silya ve mikro villus sergiler ve vimentin, nestin, S100 ve CD24 gibi belirteçleri ifade eder

(Craig ve ark., 1996; Didier ve ark., 1986; Doetsch ve ark., 1997; Gleeson ve ark., 1999; Lois ve Alvarez-Buylla, 1994; Spassky ve ark., 2005).

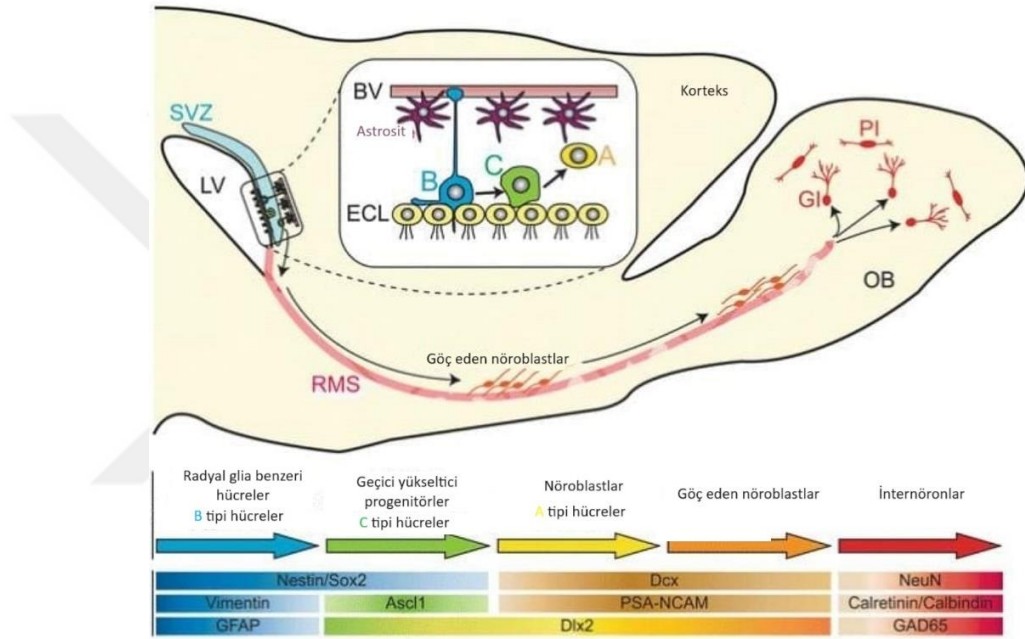


Şekil 2.2. Ventriküler bölgedeki hücre tipleri (Vescovi ve ark.,2006).

2.4.6. Subventriküler Bölgedeki (SVZ) Nörogezin Regülasyonu

Subventriküler bölgedeki (SVZ) nörogezi, bir dizi büyüme faktörü, sinyal yolları ve nörotransmitterler tarafından düzenlenir. Bu bölgede rol oynayan ana büyüme faktörleri, her ikisi de astrositler tarafından eksprese edilen ve SVZ'deki NSC'lere proliferatif sinyaller sağlayan mitojenler fibroblast büyüme faktörü 2 (FGF-2) ve

epidermal büyüme faktörü 2'yi içerir (Morita ve ark., 2005). İlgili diğer büyüme faktörleri arasında silyer nörotrofik faktör (NSC kendini yenilemede rol oynayan CNTF), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF, anjiyogenez için önemli), pigment epitel kaynaklı faktör (tip B1 hücre bakımında rol oynar) ve proliferasyonu artıran betaselülin bulunmaktadır (Emsley ve Hagg, 2003; Gómez-Gavero ve ark., 2012 ; Greenberg ve Jin, 2005; Jin ve ark., 2002; Palmer ve ark., 2000; Ramírez-Castillejo ve ark., 2006). Buna karşın endotel hücreleri de sitostatik bir faktör olan nitrik oksit üretimine yol açan nörotropin-3 (NT-3) salgılar (Delgado ve ark., 2014).



Şekil 2.3. Subventriküler bölgedeki nörogenezin gösterimi (Kiyota, 2017).

Sinyal yolları

Hücre dışı sinyaller ve akış rotaları SVZ'deki hücre artışını ve farklılaşmasını birlikte regüle eder. SVZ'deki hücreler paketlenmiş ve birbirleriyle yakın bir durumda lateral ventrikülleri kaplamakta olan dar bölgelerde konumlanmış olmaları hücre-hücre etkileşim sinyalleri hücre proliferasyonunu etki gösterebilmektedir. Hücre yüzeyinde mevcut olan karbonhidratlar, SVZ'deki yetişkin nörol kök hücrelerin etkileşimlerinin regüle edilmesinde rol oynayabilmektedir. Çeşitli kök hücrelerin önemli bir düzenleyicisi olan karbonhidrat bağlayıcı protein Galectin-1 yetişkin SVZ'deki GFAP+ astrositlerinin çoğu tarafından salgılanmaktadır (Sakaguchi ve ark., 2006). Subventriküler bölgedeki hücre proliferasyonu galektin-1

eksikliği ile azalır ve eksojen galektin-1 infüzyonu ile aktive olur. Ep-ephrin sistemi de hücre etkileşimleri için önemlidir. Reseptör triozin kinazlar EphA/B, SVZ'de eksprese edilir ve hücre poliferasyonunu düzenler. Düzenleyici faktörler arasında Wnt proteinleri de bulunmaktadır (Conover ve ark., 2000).

Wnt proteinlerinin iki farklı aşağıya akış sinyal yolağı bulunmaktadır. Kanonik Wnt yoluna B-katenin aracılık eder. Wnt uyarımı olmadığında, B-katenin kazein kinaz I/GSK3 β kompleksi tarafından sürekli olarak fosforile edilir ve ubiquitin-prote-asom sistemi tarafından parçalanır. Bu süreç GSK3 β 'nin Wnt aracılı inhibisyonu ile engellenir; fosforile edilmemiş B-katenin daha sonra sitozolde birikir ve çekirdeğe transloke olur. Yetişkin SVZ'de Wnt/B-katenin sinyali astrositlerde ve transit-amplifying hücrelerinde aktive olur ve bunların poliferasyonunu düzenler. Kanonik olmayan Wnt yoluna, JNK ve Rho ailesi küçük GTPazlar aracılığı ile hücre iskeleti dinamiklerini ve hücre polariteyi regüle eden Wnt/düzlemsel hücre polaritesi(PCP) sinyali aracılık eder. Diversin hem kanonik hem de kanonik olmayan Wnt sinyal yollarının bir bileşenidir. Diversin aracılı Wnt/PCP yolu, yetişkin SVZ'deki nöroblastların artışını regüle eder (Adachi ve ark., 2007; Ikedia ve ark., 2010).

Notch sinyali, birçok hücre-hücre etkileşim sistemindeki bir diğer kilit faktördür. Embriyonik beyin gelişimi sırasında Notch, nöral kök hücre bakımının en kritik düzenleyicisidir. Notch'a ligand bağlanması, Notch hücre içi alanının bölünmesine neden olur, bu da çekirdeğe translokasyon yapar ve Hes gen ailesi tarafından kodlananlar gibi transkripsiyonel baskılayıcı proteinlerin ekspresyonunu indükler, bu da proneural genlerin aktivitesini baskılar. Bir Notch ligandı olan Delta benzeri homolog 1 (Dlk1), postnatal SVZ'deki GFAP+ astrositler tarafından ifade edilir ve nöral kök hücrelerin idamesi için gereklidir (Ferrón ve ark., 2011). Yetişkin beyinde bile, Notch sinyal aktivitesi SVZ'deki GFAP+ astrositlerde gözlemlenir. Bir Notch sinyal bileşeni olan Rbpj'nin Nestin eksprese eden hücre soyunda koşullu olarak yok edilmesi SVZ'de nöral kök hücrelerin tamamen kaybına neden olur, bu da Notch sinyalinin yetişkin SVZ bulunan NSC'lerin idamesi için de önemli olduğunu gösterir (Imayoshi ve ark., 2010). SVZ'deki nöral kök hücrelerdeki Notch sinyalizasyonu diğer dışsal faktörler tarafından modüle edilmektedir. Artış gösteren epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) sinyali hem Notch1 ifadesini hem de SVZ'deki

GFAP+ nöral kök hücrelerin sayısını azaltır ve transit amplifiye edici hücrelerin sayısını artırır (Aguirre ve ark., 2010). Ayrıca, SVZ'deki endodermal hücrelerden ve kan damarlarından salgılanan pigment epiteli kaynaklı faktör, düşük Notch aktivitesine sahip GLAST+Sox2+ nöral kök hücrelerinde Hes1 ve Egfr dahil olmak üzere hedef genlerin Notch'a bağlı transkripsiyonunu engelleyerek yetişkin SVZ'deki nöral kök hücrelerin vasküler modülasyonuna Notch sinyalinin aracılık ettiğini göstermektedir (Andreu-Agulló ve ark., 2009; Ramírez-Castillejo ve ark., 2006).

Slit ve Robo, akson rehberliği ve dallanma, NSC göçü, lökosit kemotaksisi, anjiyogenez ve glioma hücre göçü dahil olmak üzere çeşitli göç süreçleriyle ilgili bir kemorepulsif sistemin bir parçasını oluşturur (Nguyen-Charvet KT ve Chedotal, 2002; Wong ve ark., 2002). Omurgalılarda Robo proteinleri, üç homoloğu (Slit1-Slit3) olan Slitler için reseptör görevi gören dört homoloğa (Robo1-Robo4) sahip bir protein ailesi oluşturur. Slit Robo'ya bağlandığında, reseptörün sitoplazmik korunmuş (CC) dizileri hücre hareketliliğini kontrol etmek için farklı hücre içi efektörlerle etkileşime girer (Chiton, 2006; Nguyen-Ba-Charvet KT ve Chedotal, 2002). Rostral göç yolunda (RMS'de) Slit1 ve Slit2 embriyonik ve yetişkin septumunda ifade edilir. Slit proteinleri OB'ye bağlı göç eden nöroblastları embriyonik ve postnatal SVZ'den uzaklaştırır (Nguyen-Charvet ve ark., 2004). Ayrıca, nöroblastlar, Robo ekspresyon eden astrositler tarafından tanınan Slit1'i serbest bırakarak beyin parankimi boyunca kendi yollarını açarlar. Bu etkileşim, astrositler üzerinde nöroblastların göç edebileceği bir tüp açan bir kemorepellent tepkisine neden olur (Kaneko ve ark., 2010; Samawoto ve ark., 2006).

Na⁺-K⁺-2Cl⁻ iyonik kotransporter (NKCC1)

Hücre içi hacmin regülasyonunda ve hücre içi Cl⁻ birikiminde kullanılan temel bir taşıyıcıdır (Gamba, 2005; Lytle ve Forbush, 1996; Yamada ve ark., 2004). Na⁺/K⁺ ATPaz tarafından üretilen Na⁺ gradyanında depolanan enerjiyi kullanarak Na⁺, K⁺ ve Cl⁻ iyonlarının plazma membranı boyunca hareketine aracılık eder. Plazma membranları boyunca ozmotik olarak zorunlu su ile iyonların bu hareketi, hücre içindeki hacmin korunmasında önemli bir rol oynar (Strange, 2004; Russell, 2000).

PSA-NCAM

İmmünoglobulin ailesinin yapışmayı önleyici özellikler sunan bir glikoformu olan NCAM dinamik değişim yeteneğine sahip nöronların ve göç eden nöronların, özellikle de RMS'nin glial tüpleri içindekilerin ayırt edici özelliği olarak kabul edilir (Bonfanti,2006; Bonfanti, 1992; Lois ve ark., 1996; Peretto ve ark., 1997). PSA-NCAM'in hücre göçü üzerindeki spesifik rolü, nöroblastların hareket edebileceği elverişli bir hücre dışı ortam sağlamaya odaklanır. Bu protein, hücreler arasında tamamlayıcı reseptörlerin seçici karşılaşmasına yer açmak ve hareket için gerekli dinamik değişikliklere izin vermek için glial tüp ile göç eden nöronlar arasındaki hücreler arası boşluğu artırır (Bonfanti ve Theodosios, 1994; Hu ve ark., 1996; Yang ve ark., 1992).

İntegrinler

Dış matris ile hücrenin iç hücre iskeleti arasındaki bilgi aktarımını sağlayarak komşu hücreler arasında yapışmaya aracılık eden heterodimerik transmembran reseptörlerdir. Bu reseptör aynı zamanda kolajen, fibronektin, tenascin-C, laminin ve hücreler arası adezyon molekülü 1 (ICAM-1) gibi çoklu hücre dışı ligandları da tanır (Ploew ve ark., 2000). Bu ligandlardan laminin, göç eden hücrelerin integrinleri ifade ettiği bilinen dönemde sıçanların RMS'sinde ifade edilir (Emsley ve Hagg, 2003; Murase ve Hortwitz, 2002). İntegrinler ve laminin ekstraselüler matriksi arasındaki etkileşimler üzerine yapılan çalışmalar, nöroblastların bu etkileşimi çıkıntılarının üretimini düzenlemek ve teğetsel göçte kullandığını ortaya koymuştur (Emsley ve Hagg, 2003; Murase ve Hortwitz, 2002; Mobley ve McCarty, 2011).

Netrinler

Gelişim sırasında akson rehberliğini ve hücre göçünü düzenleyen, yayılabilir kemotropik proteinlerden oluşan bir ailedir (Tessier-Lavigne, 2002). RMS'de, OB'deki mitral hücreler tarafından bir kemo gradyan netrin-1 oluşturulur. Netrin, neogenin eksprese eden ve netrin-1 için kolorektal karsinom (DCC) reseptörlerinde silinen göç eden nöroblastlar tarafından tanınır (Murase ve Hortwitz, 2002). Netrin-1 ve DCC etkileşiminin, genellikle tek, belirgin ve uzun ömürlü polarize hücresel çıkıntının oluşumunu ve yönünü düzenleyerek SVZ'den OB'ye doğru nöroblast göçünün yönlendirilmesinde rol oynadığı öne sürülmektedir. Netrin-1 ifadesi doğum

sonrası aşamalarda büyük ölçüde azalsa da, yetişkin ön beyin NSC popülasyonu neogenin ifadesini korur (Plow ve ark., 2000).

Sonik hedgehog (Shh)

Farklı hücreler ve dokular arasında karşılıklı iletişimi düzenleyerek gelişmekte olan embriyoda organ oluşumu sırasında salgılanan komplike ve önemli görevlere sahip bir proteindir. Bu protein, özellikle sinir sisteminde olmak üzere hücre çoğalması, farklılaşması ve hücre kaderlerinin belirlenmesi gibi çeşitli süreçleri düzenler. Sonik hedgehog (Shh), farklı hücreler ve dokular arasında karşılıklı iletişimi düzenleyerek gelişmekte olan embriyoda organ oluşumu sırasında karmaşık ve önemli roller oynayan salgılanan bir proteindir. Bu protein, özellikle sinir sistemi içinde hücre çoğalması, farklılaşması ve hücre kaderlerinin belirlenmesi gibi çeşitli süreçleri düzenler (Ingham ve McMahon, 2001).

Stromal hücre kaynaklı faktör 1 (SDF-1)

Reseptörleri CXCR4 ve RDC1/CXCR7'ye bağlanarak T hücre lenfositleri için bir kemoatraktandır. Sıçanlarda CXCR4 ve CXCR7 ekspresyonu, embriyonik gelişim sırasında beynin OB'si gibi proliferatif bölgelerde yüksektir ve olgunluğa kadar gelişmekte olan fare beyninde de eksprese edilir. Tüm aşamalarda, reseptör nöronal proliferasyonun ventriküler bölgelerinde transkribe edilir. SDF-1 nöronal göç, akson rehberliği ve akson uzaması gibi çok çeşitli gelişimsel değişikliklerde rol oynar (Kitapçı ve ark., 2006; Schonemeier ve ark., 2008).

Nörotransmitterler

SVZ nöroenezinin modülasyonunda çeşitli nörotransmitterler ve nörotransmitterle ilişkili proteinler rol oynamaktadır. Örneğin, serotonin (5-HT) terminallerinin ependimal ve B1 tipi hücreleri modüle eden yoğun bir pleksus oluşturduğu düşünülmektedir. Bu nedenle, serotonerjik nörotransmisyon SVZ hücre proliferasyonunun ilk aşamalarında kritik bir rol oynayabilir (Banasr ve ark., 2004; Tong ve ark., 2014). GABA bu nörojenik bölgede hem hücre çoğalmasını hem de nöronal farklılaşmayı inhibe edebilir. Bununla birlikte, tip-B1 ve tip-C hücreleri, GABA'nın reseptörlerine bağlanmasını engelleyen, böylece GABAerjik nörotransmisyonu önleyen ve hücre çoğalmasını teşvik eden diazepam bağlayıcı

inhibitör proteini ifade eder (Alfonso ve ark., 2012; Fernando ve ark., 2011; Liu ve ark., 2005). Son olarak, SVZ'de bulunan kolinerjik nöron popülasyonunun (kolin asetil transferaz eksprese eden) da fibroblast büyüme faktörü reseptörü (FGFR) aracılı sinyalizasyonun aktivasyonu yoluyla nöroblast proliferasyonunu düzenlediği düşünülmektedir (Paez-Gonzalez ve ark., 2014). Serebral korteksten glutamatın SVZ'deki yetişkin nörogenezinin etkisini belirlemek için yapılan çalışmada SVZ'deki hücre proliferasyonu ve nöroblastların koku alma ampulüne teğetsel göçü önemli ölçüde etkilenmediği görülmüştür. Tüm deney gruplarında SVZ'ye yakın striatumda nöroblast kümeleri tespit edilmiştir ancak medial korteks hasarlı grupta nöroblast kümelerinin sayısı ve büyüklüğü diğer deney gruplarına kıyasla anlamlı derecede daha büyük olduğu görülmüştür. Nöroblast kümeleri, koku alma ampulüne teğetsel olarak göç eden hücrelerin morfolojisine sahip olduğu gözlenmiştir. Subventriküler bölgeye kortikal girdinin, nöroblastların in vivo göç yolu ile yakınsamak için radyal göçü ketlediğini işaret etmektedir (Ota ve ark., 2023).

Sitokinler

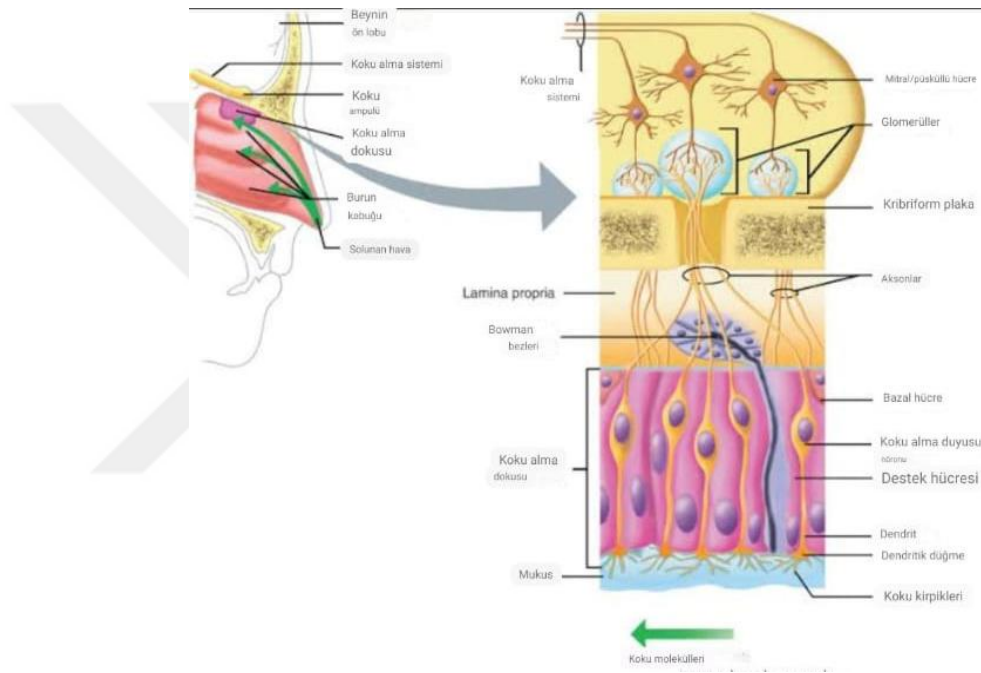
Anti-inflamatuar (IL-4, IL-10, TGF- β) ve pro-inflamatuar (IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-17, IL-18 ve IFN- γ) sitokinler, proliferasyon, farklılaşma, göç, olgunlaşma, hayatta kalma ve sinaptogenez dahil olmak üzere yetişkin nörogenezinin her aşamasında nörogenezi olumlu veya olumsuz bir şekilde önemli ölçüde etkiler (Borsini ve ark., 2015; Das ve Basu, 2008; Fuster-Matanzo ve ark., 2013). Bu sitokinler klasik olarak anti veya pro-inflamatuar olarak kategorize edilse de, çoğu reseptör ve ligand türleri (transmembrana karşı çözümlü form) dahil olmak üzere aktive edilen sinyal yollarına bağlı olarak anti veya pro-inflamatuar özellikler gösterebilir (Chan ve Palmer, 2013; MacEwan, 2002).

2.5. Olfaktör Bulb (OB)

Olfaktör Bulb, her bir serebral hemisferin rostral ucunda, frontal lobun ventrokranialinde ve frontal kemiğin orbital kısmının yakınında bulunan içinden koku alma sinirinin kurucu filamentlerini aldığı kribriform plağın etmoidal fossalarının her biri üzerinde düzenlenmiş bulber bir yapıdır. İki OB, etmoid kemiğin crista galli'si ile birbirinden ayrılır (Kavoi ve Jameela, 2011). Olfaktör bulb (OB) rinensefalonun bazal kısmının ilk bileşenidir ve bu da koku alma, hipokampus ile

ilgili bazal telensefalon yapılarını içerir (Veterinaria, 2017). Kranial boşluk içinde OB, optik kanal ve orta kranial fossadan kaudale ve kribrom plakadan rostrale doğru uzanan intrakranial alan olarak tanımlanan rostral kranial fossada yer alır. Burun boşluğundan kribriiform plaka ile ayrılan etmoid fossa, rostral kranial fossanın en rostral kısmının kazılmış devamıdır. Rostral fossa sadece etmoid fossa seviyesindeki OB'yi değil, aynı zamanda olfaktör pedikülü ve frontal lobun bazı kısımlarını da alır (Hussein, 2019; Sokolowski ve ark., 2020). İç kısımda OB, olfaktör ventrikül veya OB boşluğu olarak adlandırılan lateral ventriküllerin rostral boynuzunun bir uzantısı olan ve bu şekilde serebral ventriküler sistemin bir parçası olan, beyin omurilik sıvısının serbest dolaşımına izin veren ve rostral göç akışına katılan bir boşluk tarafından doldurulabilmektedir (Malik ve ark., 2012; Simitka ve ark., 2009). Histolojik olarak OB, en yüzeyden itibaren koku sinirleri, glomerüler, dış pleksiform, mitral hücre, iç pleksiform, granüler hücre, subependimal (periventriküler) katmanlar olarak koku alma bilgisinin işlenmesini ve uzamsal kodlanmasını kolaylaştıran bir biçimde organize edilmiştir (Wei ve ark., 2008). İlgili hücre katmanlarına göre, OB'de üç tip spesifik hücre bulunmaktadır: mitral hücreler, püsküllü hücreler ve juxtglomerular hücreler. Püsküllü hücreler, periglomerüler hücreler, dış püsküllü hücreler ve yüzeysel kısa akson hücreleri olmak üzere üç farklı tipte hücre içermektedir (Enagayama ve ark., 2014). Olfaktör Bulb'ın (OB) rostral göç akımı yolu ile aldığı sürekli yeni nöron akışı, bunların granül veya periglomerüler katmanlar düzeyinde entegrasyonuna ve yenilenmesine böylelikle de yeni ve farklı kokuların süregelen entegrasyonuna olanak tanır (Curtis ve ark., 2009). Olfaktör sinir tabakası temel olarak olfaktör nöronların aksonlarından ve olfaktör mukozadan lamina cribrosa'yı geçen glial hücrelerden oluşur. Glomerüler tabakada, olfaktör nöronların birkaç aksonu mitral hücreler, püsküllü hücreler ve olfaktör glomerüllerdeki internöronlarla sinaps halinde bulunur. Dış pleksiform tabakada püsküllü hücrelerin somatalarını, mitral ve püsküllü hücrelerin birincil ve ikincil dentritlerini ve granül hücrelerin dallanmış ikincil dentritlerini içerir. Mitral hücre tabakası tek sıralı olarak dizilmiş konik mitral hücre gövdelerinden oluşan bir kümeyi kapsar. İç pleksiform tabaka dıştakinden daha incedir, hücre gövdelerinden yoksundur ve yalnızca mitral ve püsküllü hücrelerin aksonlarını bulundurur. Granüler tabaka hücre gövdelerinin çoğunu içerir. Suspendimal tabaka ise OB'ye

giren ve çıkan nöronlardan oluşur (Wei ve ark., 2018). Subventriküler bölgedeki nörogenez, memeli beyinde yetişkinlik döneminde ortaya çıkar ve bu bölgedeki nörogenezin optimal koku alma devresinin gelişimine belirgin ölçüde katkı sağladığı bilinmektedir. Sürekli granül hücre yenilenmesi ve değiştirilmesi, memelilerin yeni çevresel uyaranlara yanıt vermelerini ve çevrede daha yaygın olan belirli koku verici temsillerini güçlendirmelerini sağlar. Ek olarak, steroid hormonları SVZ / OB nörogenezini etkilemesi bu yeni üretilen nöronların cinsel işlevde rol oynayabileceğini göstermektedir (Jurkowski ve ark., 2020).



Şekil 2.4. Olfaktör bulbusun hücresel yapısı (Brian ve ark., 2016).

2.6. Hipokampüs

Limbik sistemin temel subkortikal yapıları, hippocampus (öğrenme ve hafızada esas rolü üstlenen), amygdala veya amigdaloid nuklear kompleks (duygular ve dürtülerde temel role sahip; emosyonel hafıza kutusu) ve nuclei septales (ödül / ödülleme mekanizmasından sorumlu)' tir. Gyrus parahippocampalis'in anteromedial ucundaki, amigdala ve hippocampus'un ön bölümünü çevreleyen şişkince bölüm uncus olarak adlandırılır. Limbik sistemin merkezi elemanlarından birisi olan hipokampüs, daha geniş tanımlamayla hipokampal formasyon laterel ventrikülün cornu temporale tabanını dolduran temporal lobun medial yüzünde büküm yapmış, Cortex Cerebrinin

Kavisli bir tabakası şeklindedir.Hippocampus Latince'den derive olmuş bir terim olup deniz atına benzeyen mitolojik bir deniz canavarının adıdır.Göreceli olarak büyük bir yapı olup yaklaşık olarak 5cm uzunluğundadır. Hipokampal formasyon Subiculum, Cornu ammonis, Gyrus Dentatus, Gyrus Parahippocampalis, Formatio Hippocampalis sara korteks bölümü olmak üzere üç temel yapıdan oluşur. Subiculum, Cortex'in transition yeri olup bir taraftan hipokampus diğer taraftan parahippokampal girus ile devam eder (Yıldırım, 2018).

Hippocampus proprius (cornu ammonis), ön bölümü genişlemiş bir gri madde oluşumudur. Cornu ammonis'in ventriküler yüzünü kaplayan ependim tabakasının altında subiculum ve hippocampus propriusdaki nöronlardan köken alan miyelinli aksonlardan oluşmuş alveus hippocampi olarak adlandırılan bir beyaz madde tabakası bulunur. Fimbria olarak bilinen bir demet şeklinde bir araya gelen lifler hipokampus'un arka ucunda fornix 'i oluştururlar. Fornix, hipokampus'un en belirgin çıkış yolu olmasına karşın ayrıca karşılıklı bağlantılar sağlayan afferent lifler de içerir. Her iki hippocampus proprius ve subiculum, serebral korteksin asosiasyon alanları ile karşılıklı geniş bağlantılara sahip olan entorhinal kortekse direkt efferentler gönderir. Entorhinal korteks böylece duyu, bilişsel ve duygusal enformasyonları hipokampus'a ulaştıran bir geçit olarak işlev sağlar; hipokampus da bu bilgileri değerlendirerek çıktılarını ile kortikal fonksiyonları etkileyebilir.Gyrus dentatus, çentikli veya dişli bir gri madde şeriti olup gyrus parahippocampalis ve fimbria arasında yer alır. Dişli görünümü, komşu subaraknoid aralıktaki damarlardan çıkan çok sayıda küçük dalların seyri boyunca gyrus dentatus'u delerek hipokampus'a geçmelerinin neticesinde meydana gelmiştir. Cornu ammonis ve gyrus dentatus koronal kesitlerde birbirine geçmiş iki "C" harfi biçiminde görünürler (Yıldırım, 2018).

Hipokampus limbik sistemin bir parçasıdır ve insanlarda medial temporal lobun derinliklerinde bulunur. Hipokampus tartışmasız beynin en fazla plastiteye bölgelerinden biridir ve sadece nörojeneze maruz kalma kapasitesini değil aynı zamanda diğer yapısal ve fonksiyonel (yani sinaptik) plastisite türlerini de gösterir. Bu özellikler, hipokampusün işlevinin ve duygudurum düzenleme, öğrenme ve hafıza işlevlerini kapsayan bilişsel rolünün ayrılmaz bir parçasıdır. Yetişkin hipokampal nörojeniz sürecinde yenidoğan nöronlar dentat girus (DG) bölgesinden

subgranüler bölgeye sadece kısa bir mesafeden göç eder ve burada mevcut nöronal devreye entegre olurlar (Yıldırım, 2018).

2.6.1. Hipokampal Nörogenez

Dentat girus (DG), moleküler ve granül hücre katmanlarında mevcut olan granül hücrelerden oluşmaktadır. Granül hücre katmanları ve CA3 bölgesi arasında yer alan hilus, yosunlu lifler, yosunlu hücreler ve çeşitli GABAerjik internöronlar olarak etiketlenmiş granül hücre aksonları içermektedir (Kesner, 2018). Granül hücre tabakası ve hilus arasındaki bu ince şerit, yetişkin bir NSC popülasyonu için benzersiz bir mikro ortam sağlar. Subgranüler bölgedeki bu mikro ortam, DG nöronlarının spesifikasyonunu ve farklılaşmasını sağlarken NSC çoğalmasına da olanak verir (Gonçlaves ve ark., 2016). Hipokampal nörogenez, öncü hücre fazı, erken sağkalım evresi, post-mitotik faz ve geç sağkalım evresi olmak üzere dört ayrı fazı içeren bir süreçtir (Bonaguidi ve ark., 2012; Kempermann ve ark., 2004). Öncü hücre fazı sırasında, tip-1 hücreler asimetric olarak bölünür ve transit yükseltici hücrelere (tip-2 hücreler) yol açar. Tip-1 hücreler, üçgen somalara ve farklılaşmamış nöral progenitor hücre (NPC) belirteci nestin'i ve gösterdikleri çeşitli astrositik özelliklerden biri olan glial fibriller asidik proteini (GFAP) ifade eden iç moleküler tabakaya çıkıntı yapan dallara sahip radyal-glia benzeri hücrelerdir (Filippov ve ark., 2003; Seri ve ark., 2001). Tip-2 hücreler kısa ve geniştir. Yoğun ve düzensiz şekilli bir çekirdeğe sahiptirler ek olarak GFAP-negatiflerdir. Bu geçici hücreler teğetsel göç yeteneğine sahiptir ve oldukça çoğaltıcıdır. Tip-2 hücreleri, olgunlaşmamış nöronal belirteç doublekortinin (DCX), DCX-negatif tip-2A hücrelerine (daha az farklılaşmış) ve DCX ekspres eden daha fazla farklılaşabilen ve nöronal soya bağlı tip-2B hücrelerine dönüşür Brown ve ark., 2003; Filippov ve ark., 2003; Kronenberg ve ark., 2003). Tip-2B hücreleri, DCX-pozitif ve nestin-negatif olan ve yuvarlak çekirdekleri nedeniyle morfolojik olarak tip-2 hücrelerden farklı olan tip-3 hücrelere daha da farklılaşır (Brandt ve ark., 2003). Tip-3 hücreler ayrıca nöronal belirteç polisialize nöronal hücre adezyon molekülünü (PSA-NCAM) ekspres etme kapasitesine sahiptirler (Seki,2002). Tip-1, tip-2A, tip-2B ve tip-3 hücreler birlikte hipokampal SGZ'deki öncü hücrelerin spektrumunu oluşturur ve tip-2A, tip-2B ve tip-3 hücreler bu bölgede meydana gelen proliferasyonun çoğunluğunu oluşturur (Kempermann ve ark., 2015). Hücre bölünmesinden sonraki 3 gün içinde bu hücre

popülasyonu dört ila beş kat artabilir ve yeni üretilen hücreler, post-mitotik nöronal belirteçlerin - nöronal çekirdekler (NeuN) ve kalretinin (CR)- ekspresyonu ile karakterize edilen post-mitotik bir aşamaya girer (Brandt ve ark., 2003; Kempermann ve ark., 2003). Olgunlaşmamış nöronların (nöroblastların) sayısı, yaygın apoptoz nedeniyle sonraki 4 gün içinde hızla azalır ve daha sonra yaklaşık 4 haftada stabilize olur, bu noktada yeni üretilen nöronların yaklaşık % 20'si hayatta kalmış ve mevcut nöronal devreye dahil edilmiştir (Biebl ve ark., 2000; Kempermann ve ark., 2003; Kuhn ve ark., 2005). Hücre döngüsünden çıktıktan birkaç gün sonra, yeni üretilen nöroblastlar hedef hipokampal Cornu Amonis (CA) 3 bölgesinde fonksiyonel bağlantılar kurmaya çalışmaya başlar. Özellikle, bu aşamada, olgunlaşmamış nöronlar öncelikle gammaaminobutirik asit (GABA) girdisi alır ve geçici olarak Cl⁻'yi konsantrasyon gradyanına ve hücreye karşı aktif olarak taşıyan bir Na⁺ / K⁺ / Cl⁻ ortak taşıyıcısını eksprese eder. Sonuç olarak, GABA sinyallemesi, Cl⁻'nin konsantrasyon gradyanına (yani hücre dışına) göre hareket etmesine izin vererek ve nöronal olgunlaşmaya katkıda bulunduğu düşünülen bir süreç olan hücre içi boşluğu depolarize ederek genel bir uyarıcı etkiye sahiptir (Ganguly ve ark., 2001; Ge ve ark., 2006; Rivera ve ark., 1999). Bu aşamayı takiben, nihai hücre sayısı nispeten belirlenir ve olgunlaşma aşamasında sadece az sayıda hücre elimine edilir (Kempermann ve ark., 2003). Granül hücreler daha sonra fonksiyonel olgunlaşmalarına başlar, boyut, uzunluk, kalınlık ve dendritlerin dallanmasındaki fiziksel değişiklikleri ve artan membran kapasitansı ve azalmış membran direnci de dahil olmak üzere elektrokimyasal değişiklikleri içeren normal membran özelliklerine geçerler (Marin-Burgin ve ark., 2012; Van Praag ve ark., 2002). Olgunlaşan granül hücreler sonunda glutamaterjik bağlantılar geliştirir ve elektrofizyolojik olarak mevcut nöronlarla özdeş hale gelir (Ambrogini ve ark., 2004; Schmidt-Hieber ve ark., 2004; Van Praag ve ark., 2002; Wang ve ark., 2000). Hipokampal DG'nin SGZ'sinde yeni nöronların üretimi yetişkinlik süresince devam eder (Leal-Galicia ve ark., 2008; Overall ve ark., 2020; Toda ve Gage, 2018; Vicidomini ve ark., 2020).

2.7. Folik Asit

Folat terimi, hepsi bir pteriol grubu içeren birkaç farklı formu kapsar. Doğal olarak oluşan Folat (Vitamin B9) fizyolojik olarak tetrahidrofolat ve metiltetrahidrofolat

olarak bulunan suda çözünür bir moleküldür (Menezo ve ark., 2022). Folat, birçok metabolik sistemde, özellikle pürin ve pirimidin sentezi, nükleoprotein sentezi, eritropoezde bakım ve çeşitli koenzimlerin oluşumu için gerekli olduğundan, doğuştan gelen sakatlıkları, özellikle nöral tüp defektlerini önlemek için Amerika Birleşik Devletleri'nde tahıllara eklenmiştir. Folat, B12 vitamini gibi DNA ve RNA sentezi için 1 karbonlu kalıntıların sağlayıcısıdır (Datta Mirra ve Green, 2017). Folatlar tek karbon döngüsüne (1-CC) bağlı olan ve onu destekleyen folat döngüsündeki ara metabolitlerdir. Bu iki metabolik yol birlikte, metil grupların oluşumundan ve metilasyonla ilgili tüm süreçlerin düzenlenmesinden ve dolayısıyla epigenetik modifikasyonlardan ve baskılamadan sorumludur. Bu iki döngü aynı zamanda hücre bölünmesini ve doku gelişimini düzenleyen çok sayıda diğer bağlantılı metabolik sürece doğrudan dahil olur; substratların ve kofaktörlerin uygun dengesini korumak, uygun hemostaz için gereklidir çünkü her iki döngüdeki enzimatik bir adımın bozulması olumsuz sonuçlara yol açabilir. Bu durum, folat eksikliğinin nörogelişim ve plasental büyüme üzerinde etkili olduğu gebelik döneminde özellikle önem teşkil eder. Plasental genlerdeki değişmiş metilasyon modellerinin fetal büyüme ve gelişme üzerinde etkisi vardır (Bailey ve ark., 2009).

Folat jejunumda bağırsak duvarı boyunca aktif ve pasif taşıma mekanizmaları ile emilir. Bu nedenle çölyak hastalığı, tropikal sprue, kısa bağırsak sendromu, amiloidoz, gastrik bypass veya mezenterik vasküler yetmezlik gibi hastalıklar folat emilimini engelleyerek eksikliğe yol açabilir. Aklorhidride olduğu gibi yüksek pH da folat emiliminin zayıflamasına yol açabilir. Metotreksat, fenitoin, sülfasalazin ve trimetoprim gibi ilaçlar folat kullanımını antagonize edebilir, emilimini engelleyebilir veya folat eksikliğine neden olan aktif formuna dönüşebilir. Folat metabolizmasında gerekli olan enzimlerin doğuştan eksiklikleri folat eksikliğine yol açabilir (Khan ve Jialal, 2023). Hamilelik sırasında folat eksikliği, nöral tüp defektlerine neden olan bir faktör olarak bilinir ve folat takviyesi riski önler (Czeizel, 1992; Padmanabhan ve ark., 2003). Hemolitik anemi, diyaliz ve alkol bağımlılığı da folat eksikliğine neden olabilmektedir (Khan ve Jialal, 2023). Folatın nötral kök hücre proliferasyonunu ve nörogenezi desteklediği bildirilmiştir (Ichi ve ark., 2010; Wang ve ark., 2019).

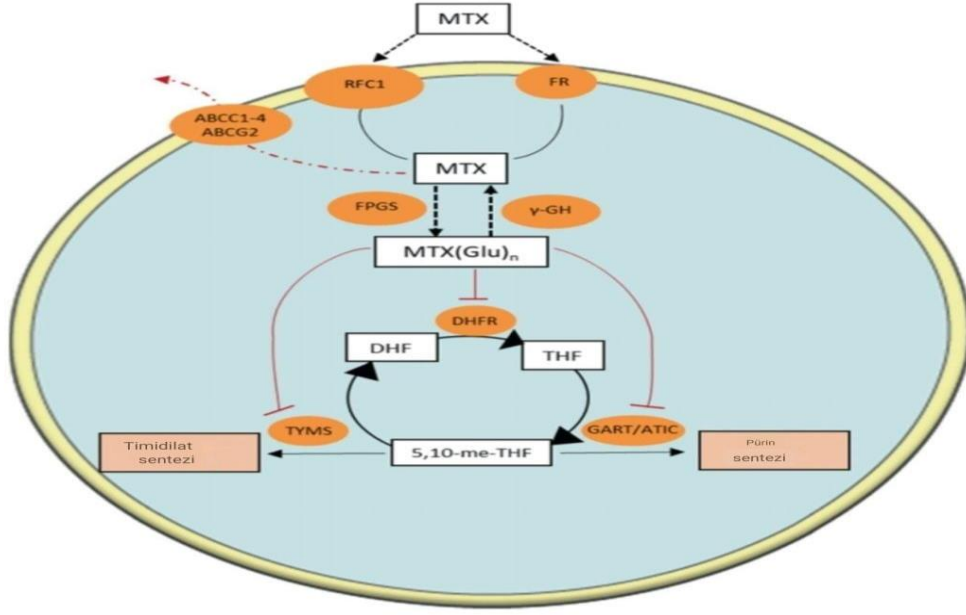
Folik asit (FA) besin takviyesi olarak ve gıda maddelerinin zenginleştirilmesinde kullanılan sentetik olarak üretilmiş bir moleküldür. Tamamen oksitlenir ve gıda veya takviye olmaksızın kanda bulunmaz. Biyolojik aktivitesi insanlarda alışılmadık derecede yavaş aktiviteye sahip olan karaciğerdeki dihidrofolat redüktaz enziminin etkisine bağlıdır. Folat döngülerine girerek fizyolojik bir işlevi yerine getirmek üzere FA biyolojik olarak aktif 5-MTHF'ye dönüştürülmeden önce DHFR tarafından önce Dihidrofolata ve ardından tetrahidrofolata indirgenmelidir. Folinik asit ise (Leucovorin) sentetik bir molekül olup DHFR'nin etkisine gerek kalmadan kolayca 5-10 MTHF ve 5-MTHF 'ye dönüştürülen THF'nin 5-Formil türevidir. Dihidrofolat redüktazın etkisine gerek kalmadan kolayca 5-10 MTHF ve 5-MTHF'ye dönüştürülebilmektedir. DHFR'yi inhibe ederek folat metabolizmasına müdahale eden kemoterapötik ajanların toksik etkilerini azaltmak için ve anti folat ilaçlarla tedavi edilen diğer patolojilerin birlikte tedavisinde kullanılır (Menezo ve ark., 2022).

Folik asit, zenginleştirilmiş gıdalarda ve takviyelerde bulunan folatın sentezlenmiş şeklidir ve doğal olarak oluşan folattan daha yüksek bir biyoyararlanıma sahiptir (Datta Mirra ve Gren, 2017). Folik asit eksikliği, pişirme sırasında ısıtma ve yetersiz diyet alımı da dahil olmak üzere birçok nedenden kaynaklanabilir. Folik asit eksikliği, metiyonin sentazın bozulması sonucu folatın metiltetrahidrofolat olarak hapsedilmesi ve metilen THFA'nın serumda birikerek folat tuzağı fenomenine ve folatın idrarla atılımının artmasına yol açması nedeniyle B-12 vitamini eksikliğini takiben ortaya çıkabilir (Khan ve Jialal, 2023).

2.8.1. Metotreksatın Toksikitesi

Metotreksat (MTX) hücreye indirgenmiş folat taşıyıcısı (RFC1) ve bir folat reseptörü (FR) ile reseptör aracılı endositoz aracılığı ile girer. Folik poliglutamat sentaz (FPGS) tarafından poliglutamatlanır. Metotreksatın (MTX) poliglutamatları, MTX'e göre daha üst düzey bir antifolat ajandır ve dihidrofolat redüktazı (DHFR) oldukça kuvvetli bir biçimde geri dönüştürülmeksizin inhibisyonunu sağlar. Ek olarak MTX, timidilat sentaz ve GART/ATIC (fosforibosilglisinamid formiltransferaz / 5-aminoimidazol-4- karboksamid ribonükleotid formiltransferaz IMP siklohidrolaz) gibi başka enzimlerin inhibe olmasını indükler ve nihai olarak novo timidilat ve pürin üretimini durdurur. γ - glutamil hidrolaz (γ -GH) glutamat kalıntılarını MTX'ten uzaklaştırırken, ATP bağlayıcı kaset (ABC) taşıyıcıları MTX'in hücreden çıkarılmasına destek sağlar (Galivan ve Balinska, 1983; Zarou ve ark., 2021). Dihidrofolat redüktaz (DHFR), dihidrofolik asidin tetrahidrofolik aside dönüşümünü katalize etmesinden dolayı önemli bir rol oynar. Dihidrofolat redüktazı (DHFR'yi), metotreksat poliglutamatlar inhibe eder. Farklı metabolik işlemlerin gerçekleşmesi için gerekli olan folatlar, tetrahidrofolattan sağlanır (Refsum, 1990). Metotreksatın (MTX'in) sitotoksik etkileri yalnızca kanser hücrelerine özel olmadığından yüksek bölünme kapasitesinde olan kemik iliği hematopoyetik ve bağırsak mukoza hücreleri gibi sağlıklı dokuları ve birçok organı da etkilemektedir. Metotreksat (MTX), serbest oksijen radikalleri üretimi ile hücre zarlarındaki lipid moleküllerini etkileyerek lipid peroksidasyonuna sebep olur (Çakır ve ark., 2011).

Bundan dolayı MTX'in pulmoner toksisite, hiper-üremi, akut böbrek fonksiyon bozuklukları, cilt mukozasında toksisite, kan zehirlenmesi, gastrointestinal toksisite, kusma, ishal, mide bulantısı, anoreksiya ve kemik iliği baskılanması gibi birçok yan etkiye neden olur. Yüksek dozlarda intravenöz uygulamada serum enzimlerinin akut olarak yükselmesine neden olur aynı zamanda karaciğer enzimlerinde artış sağlatarak karaciğerde hasar, progresif fibroz, venöz yüksek tansiyon ve siroz MTX'in uzun süreli kullanımında görülebilir (Shariatifar ve ark., 2022). Genetik çeşitliliklerden kaynaklı olarak önemli sayıda hasta MTX'in toksisitesini tolere edemediğinden dolayı tedavilerini bıraktıkları görülmüştür (Hamed ve ark., 2022).



Şekil 2.6. Metotreksatın etki mekanizması (Zarou ve ark., 2021).

2.8.2. Metotreksatın Nörotoksitesi

Subakut, akut ve kronik olmak üzere MTX ile ilişkili nörotoksosite üç ayrı şekilde gruplandırılmaktadır. Akut toksisite yüksek doz MTX sonucu bir anda meydana gelmektedir. Toksisitenin çeşiti ile ilintili olarak birden fazla yan etki görülebilmektedir. Nörotoksitenin mekanizması olarak radyasyon gibi dış etkenlerin etkisiyle kan beyin bariyerinin bozulması sonucu, MTX'in beyinde birikimi olduğu öne sürülmektedir. Öne sürülen bir başka mekanizma ise bozulan nükleotid sentezi ile birlikte astrositlerde açığa çıkan fonksiyon bozukluğu sonucunda nöronal aktivitenin bozulması ve nöronal hasarın meydana gelmesidir (Vezmar ve ark., 2003). Beyin metabolizmasındaki demiyelizasyona, stimüle edici nörotransmitterlerin sentezinde azalmaya, vasküler endotelin ve beyin glukoz metabolizmasının bozulmasına MTX neden olur (Mäkiranta ve ark., 2002).

Metotreksatın(MTX) kullanımında adenozin salınımı hastaların merkezi sinir sisteminde oluşmaktadır. Adenozinin nöromodülatör nitelikleri sebebiyle merkezi sinir sisteminde birikim göstermesi neticesinde baş ağrısı, mide bulantısı ve uyuklama problemleri de açığa çıkabilmektedir. Adenozin, lateral hipotalamusun perifornikal bölgelerinde mevcut olan A1 reseptörlerini etkileyerek uyku düzenini

olumsuz bir şekilde değiştirdiğinde MTX kullanan bazı hastalarda oluşan uykusuzluk sorunu da meydana gelebilmektedir. Homosistein düzeyleri ve bunların sistein slfinik asit gibi eksitator aminoasit nörotransmitterleri MTX bağlantılı nörotoksisiteye sebep olabilmektedir (Bedoui ve ark., 2019).

2.8.3. Metotreksatın Farmokinetiği ve Farmakolojisi

Metotreksat (4-amino-4 deoxy-10-N-Methly-Pteroylglutamic acid, mtx) folikasitin analogudur (Kayaalp,2009). Metotreksat, kemoterapide ve otoimmün hastalıklarda immnosupresyonda kullanımı açısından farklı bir etki mekanizmasına sahiptir. Kanserde metotreksat bir antifolat antimetaboliti olarak işlev görür. Metotreksat, insan indirgenmiş folat taşıyıcıları (SLC19A1) adı verilen taşıyıcılar tarafından hücre içine alınır ve metotreksat-poliglutamata oluşturur. Metotreksat-poliglutamata da dihidrofolatın folik asidin aktif formu olan tetrahidrofolata dönüşümünü katalize eden dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe eder (Mikhaylov ve ark., 2019).

Tetrahidrofolat hem DNA hem de RNA'nın nükleotidlerinin sentezi için gereklidir. Metotreksat-poliglutamata ayrıca hem pürin hem de timidilat sentazın de novo pürin sentezini inhibe ederek DNA sentezini engeller. Bu mekanizma sitotoksik etkisi nedeniyle kanser tedavisinde kullanılmaktadır (Singhk ve ark., 2019). Aktif taşıyıcı ile rakabete girerek MTX, folatın yerini alır ve hücrenin iç kısmına giriş sağlar. Poliglutamasyonu da karaciğerde gerçekleşir. Metotreksat (MTX), bir süre boyunca intraselüler şekilde poliglutamasyonu sonrası karaciğerde bulunabilir (Kayaalp, 2009). Metotreksattan (MTX) dolayı açığa çıkan karaciğer hasarı, reaktif oksijen oluşumu ile ilinti olabilmektedir. Sıçanların karaciğer dokusundaki lipit peroksidasyonunu yükselterek ve antioksidan enzim düzeylerinde azalmaya yol açıp oksidatif doku hasarını meydana getirdiği görülmüştür (Vardi, 2010).

Düşük doz MTX'in reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna sebep olmasından dolayı T hücrelerinin apoptozunu tetiklediği saptanmıştır (Herman ve ark., 2005; Phillips ve ark., 2003). Reaktif oksijen türleri hücre ölümüne ek olarak sitokin üretiminin baskılanması ve hücre proliferasyonu gibi çeşitli hücre işlevlerini ayarlar (Herman ve ark., 2005).

Metotreksat (MTX) ile indüklenen ROS' un açığa çıkmasına tetrahidrobiopterin hücre içinde bitmesi aracı olabilir. Metotreksat (MTX), DHFR'nin kuvvetli bir

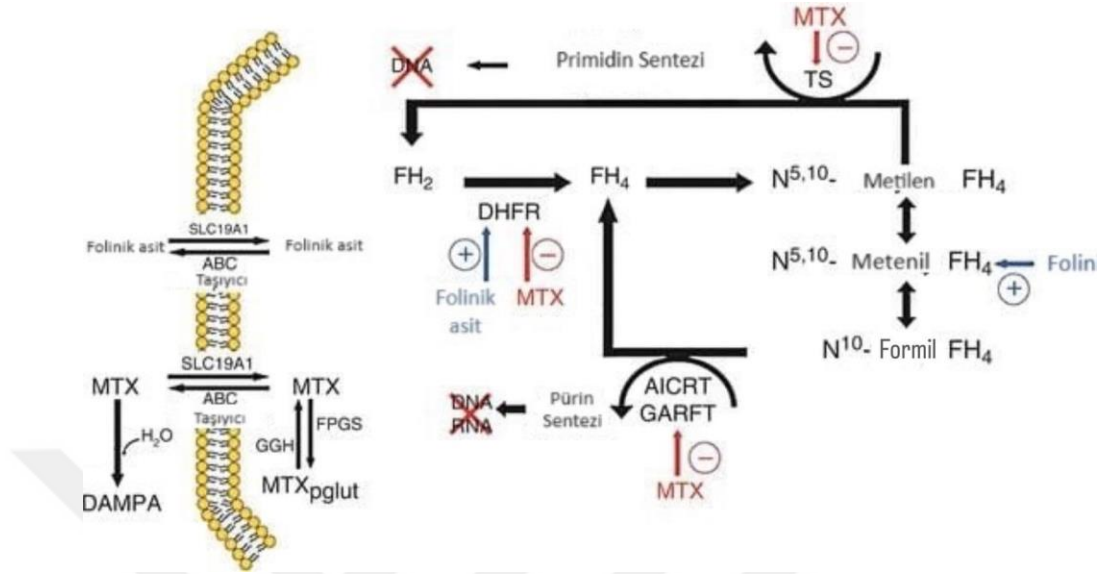
inhibitörüdür. Dihidrofolat redüktaz (DHFR), dihidrobiopterinin nitrik oksit sentazlar (NOS) tarafından NO sentezi için gereken kofaktör olan tetrahidrobiopterine indirgenmesini katalize eder. Tetrahidrobiopterinin hücre içinde bitmesi NOS'u ayırarak NO sentezinin olmamasına ve ROS miktarındaki artışa sebep olur (Chalupsky ve Cai, 2005).

Otoimmün hastalıklarda, metotreksatın tercih edilen bir ilaç olarak seçilmesinde farklı mekanizmalar rol oynar. 5-aminoimidozal-4- karboksamidribonükleotit (AICAR) transformilaz enzimini inhibe ederek adenozin ve guanin metabolizmasında engeller, adenozin birikimine yol açar; ve adenozinin anti-inflamatuar etkisine bağlı olarak T-hücre aktivasyonunun baskılanmasına, B-hücrelerinin aşağı regülasyonuna, aktif CD-95, T hücrelerinin duyarlılığının artmasına; ve metiltransferaz aktivitesinin baskılanmasına, beta-1 interlökin'in hücre yüzey reseptörüne bağlanmasının inhibisyonuna yol açar (Tukukino ve Wallerstedt, 2020; Mikhaylov ve ark., 2019).

Metotreksat (MTX), güçlü olmayan bir biçimde %50 oranında plazma proteinleri ile bağ kurar. İlaç ile beraber sulfanamoidler ve salisatlar, bağlanma düzeyini indirir ve toksisitenin seviyesini artırabilir. Tümör hücrelerine MTX uzun süre bağlı bir şekilde kalır, hücrelerde uzun bir süre bağlantılı MTX, hücre bölünmeye başladığı zaman belirgin bir duruma gelir ve hücreyi imha eder. Kan-beyin bariyerine MTX geçiş sağlayamaz fakat yüksek dozlarda BOS'taki konsantrasyonlara erişebilir. Büyük oranda böbrekler aracılığıyla uzaklaştırılır ve yarılanma süresi 6 ila 8 saat kadardır (Kayaalp, 2009).

MTX toksisitesi için kullanılan üç antidot lökovorin, timidin ve glukarpidazdır (Lucas ve ark., 2019). Lökovorin folik asidin indirgenmiş aktif formudur. Normal hücreleri MTX'in indirgenmiş folat inhibisyonunun neden olduğu toksik etkilerden kurtarır (Van der beek ve ark., 2019). Lökovorin özellikle metotreksat tedavisi sırasında miyelosupresyon, gastrointestinal toksisite ve nörotoksitenin önüne geçilmesinde etkilidir. Timidin, hücreleri MTX'in sitotoksik etkilerinden kurtarır; ancak kullanımı halen araştırılmaktadır ve her zaman diğer ilaçlarla birlikte verilir (Van der beek ve ark., 2019). MTX kaynaklı bağırsak hasarına ve mikrobiyota dengesizliğine karşı Lökovorinin (LV) koruma etkilerini gösterilmiştir.

Bifidobacterium longum'un intragastrik uygulaması, MTX'in neden olduğu bağırsak hasarını önemli ölçüde iyileştirdiği ortaya konmuştur (Huang ve ark., 2020).



Şekil 2.7. Folinik asit mekanizması (Kotur ve ark., 2020).

2.9.Hiperbarik Oksijen Tedavisi(HBOT)

Hiperbarik oksijen tedavisi, deniz seviyesinden daha yüksek basınçlarda belirli periyotlarla %100 oksijen solunması temeline dayanan bir tıbbi tedavi yöntemidir. Tedavi basıncının en az 1,4 ATA ya da yüksek olması gerektiği bilinmektedir.Vücudun bir kısmının %100 oksijene maruz bırakılması (topikal oksijen) ya da deniz seviyesi basıncında (1 ATA) %100 oksijen solunması (normabik oksijen) HBOT olarak değerlendirilmezler (Çimşit, 2009; Faesecke, 1997). Hiperbarik oksijen tedavisinin (HBOT) nörojenezi arttırdığı ve buna bağlı olarak merkezi sinir sistemi hasarı sonrası fonksiyonel sonucu iyileştirebileceği öne sürülmüştür, hipoksi ile indüklenebilir faktörler (HIF'ler) ve cAMP yanıt elemanı bağlama (CREB) dahil olmak üzere hücreltranskripsiyon faktörleri üzerinde HBOT'un varsayımsal mekanizmasını gösterilmiştir. HBOT ile ilgili deneysel bulgular ile klinik çalışmalar arasındaki tutarsızlık ortaya konmuştur. HBOT'un potansiyel faydalarını aydınlatmak için daha ileri translasyonel klinik öncesi çalışmalara ve ardından geliştirilmiş klinik çalışmalara ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir (Mu ve ark., 2011). Hiperbarik oksijen (HBO₂) için terapötik etki mekanizmaları, hem oksijenin kısmi basıncının hem de hidrostatik basıncın

yükselmesine dayanmaktadır. Bu son mekanizma, vücuttaki tüm gaz dolu boşlukların sıkışmasına katkıda bulunur (Boyle yasası) ve vücutta gaz kabarcıklarının bulunduğu ve intravasküler emboli; intravasküler veya doku içi kabarcıklarla dekompresyon hastalığı gibi neden olduğu durumların tedavisi ile ilgilidir. Çeşitli dokulardaki yüksek oksijen kısmi basınçları, hiperoksi nedeniyle reaktif oksijen türlerinin (ROS) ve ayrıca reaktif azot türlerinin (RNS) üretimini artırır. Çoğu kontrollü çalışma, HBOT'un klinik etkinliğinin, hücre içi transdüksiyon kaskadlarının modülasyonundan kaynaklandığını, büyüme faktörlerinin sentezine yol açtığını ve yara iyileşmesini teşvik ettiğini ve iskemik sonrası ve post-inflamatuar yaralanmaları iyileştirdiğini doğrulamıştır (Bosco ve Comporesi, 2014).

2.9.1. Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Tarihçesi

Aslen bir İngiliz rahip olan Henshaw'ın 1662 yılında dizayn ettiği "Domicilium" olarak isimlendirdiği basınç odası ile HBOT'un temellerinin atıldığı söylenebilir. Bu sistemin sistemi körük desteği ile kapalı bir odaya yüksek basınçlı hava aktarılmasına dayanıyordu ve yalnızca hava tedavisi uygulanıyordu. Bilinen bu ilk basınç odasında akut hastalıklara yüksek basınç seviyesinde; daha düşük basınç seviyesinde ise kronik hastalıklara hava tedavisi uygulaması yapılıyordu (Çemşit, 2009; Kindwall, 1995). 1775 yılında Priestly tarafından oksijen keşfedilmiş ve ardından oksijenle alakalı yapılan çalışmalar gelişim gösterip günümüze kadar ulaşmıştır (Jain, 1999; Kindwall, 1995). Junod ve Pravas basınç odaları düzenleyerek farklı hasta grupları için tedaviler uygulamışlardır (Edmonds ve ark., 1980).

1840'larda Triger kezon olarak ifade edilen basınçlı hava tünellerinde benzer teknolojiyi kullanmıştır. Triger basınçlı tünellerinde faaliyet gösteren işçilerde merkezi sinir sistemi semptomları ve eklem ağrıları bildirmiştir. Ardından bu bulguların dekompresyon rahatsızlığı ile uygunluk gösterdiği belirlenmiştir (Faesecke, 1997). Fransız cerrah Fontain tarafından 1879'da tasarlanan mobil basınç odaları ise çeşitlilik gösteren cerrahi müdahaleler ve hernili hastalar amacıyla kullanılmıştır. Buna ek olarak 19. Yüzyılın başında pulmoner sistem ve santral sinir sistemi üzerine hiperbarik oksijenin toksik etkileri Paul Bert ve Lorrain Smith tarafından tanımlanmıştır (Kindwall, 1989). 1930'lu yıllardan itibaren İngiliz ve Amerikan donanmaları tarafından dekompresyon tedavisinde HBOT düzenli bir

şekilde uygulanmaya başlanmıştır. Hiperbarik oksijen tedavisinden önce uzun zaman alan hava tedavisi süreçleri uygulanmaktaydı (Davis ve Hunt, 1977; Mader, 1989).

Hiperbarik oksijenin (HBO₂'nin) klinik uygulamalarına Boerema ve Churchill-Davinson çalışmaları ile başlangıç yapılmıştır. Boerema ve Brummelkamp'ın hiperbarik oksijen gazlı gangren tedavisinde uygulanmaya başlamalarının ardından klinisyenler ve bilim insanları araştırmalarını ve deneyimlerini paylaşmak üzere 1963 yılında Amsterdam'da uluslararası bir toplantı düzenlemişlerdir (Bhenke, 1977; Mader, 1989). 1970'lerin sonunda Sualtı ve Hiperbarik Tıp Cemiyeti (Undersea & Hyperbaric Medical Society-UHMS) toplanarak HBO₂ tedavisinin temel kural ve ilkelerini yayınlanmıştır. Akabindeki yıllarda bilimsel dayanağı olan çok sayıda araştırma yapılmıştır. Bu bilgiler uluslararası toplantılarda paylaşılmış ve yayınlanmıştır. HBO tedavisinin endikasyonları ve tıbbi alandaki yeri bu çabaların sinucu olarak daha net bir şekilde belirlenmiştir. 1990 yılında bu branşta kurulan Avrupa Hiperbarik Tıp Komitesi (European Commite for Hyperbaric Medicine, ECHM) Avrupa'da da 1994 yılında ilk konsensüs bildirisi yayınlanmıştır (Çimşit, 2009; Kindwall, 1995).

Hiperbarik oksijen tedavisi (HBOT) Türkiye'ye ilk kez donanmada dekompresyon hastalığının tedavisinde kullanılmasıyla girmiştir (Aktaş, 2011). 1990'lı yıllarda HBO₂ merkezlerinin sayısının artış göstermesi ile tanınır hale gelmiş ve daha fazla insana erişebilmiştir. Günümüzde büyükşehirlerin bir çoğunda basınç odası vardır ve HBOT uygulanmaktadır (Çemşit, 2009).

2.9.2. Hiperbarik Oksijen Tedavisin Endikasyonları ve Kontrendikasyonları

25 Ağustos 2022 tarihinde yenilenen Sosyal Güvenlik Kurumu Sağlık Uygulama Tebliğine göre; dekompresyon rahatsızlığı, hava veya gaz embolisi, karbonmonoksit (CO) veya siyanit zehirlenmesi, anoksik/hipoksik ensefalopati, akut duman inhalasyonu, gazlı gangren, kompartman sendromu, santral retinal arter tıkanıklığı (SRAT), nekrotizan yumuşak doku enfeksiyonu, yaranın iyiye doğru gitmesinin geciktiği durumlar (diyabetik olan veya olmayan), kronik refrakter osteomyelit, radyasyon nekrozları, tutması şüpheli deri flepleri ve greftleri, termal yanıklar, beyin apsesi, ani idiyopatik işitme sağlığının bozulması, kafa kemikleri-sternum ve vertebraların akut osteomyelitleri ve osteonekroz HBO₂ endikasyon listesinde

bulunmaktadır. Ani idiyopatik işitme kaybı ve acil hastalarda, günde birden fazla seans HBO₂ uygulanabilmektedir (Budak, 2007). Tek mutlak kontrendikasyon tedavisi sağlanamamış pnömotorakstır. Seans öncesi cerrahi yöntemlerle pnömotoraksın rahatlatılması, mümkün olabilirse tedavinin uygulanmasına dair engeli kaldırır. Diğer kontrendikasyonlar ise farklılık gösterir. Bunların içerisinde üst solunum yolu enfeksiyonu, akciğerlerde konumlanan hava kistleri, göğüs veya kulak cerrahisi geçmişi, ateş ve gebelik bulunur. Olası yararlar, hastanın durumuna ve oluşabilecek olumsuz etkilere karşı tartılmalıdır. Nöbet Bozuklukları, inme gibi CNS bozuklukları olan hastalar, birincil bozukluklarının bir işareti olarak nöbet geçirebilir. Bununla beraber basınçların 1,5 ATA basıncı geçmediği nörolojik endikasyonlar için HBO₂ seansları esnasında nöbetler yaygın görülmez. Bozukluk fokal serebral dolaşım bozukluğuna veya hipoksi ile ilintiliyse HBO₂ nöbet eğilimini azaltmaya destek olmalıdır. Hiperbarik Oksijen tedavisi (HBOT) ile iyileşme gösteren epileptik çocuklarda nöbet kontrolünde iyileşme ve antiepileptik ilaç dozunda azalma görülmüştür (Jain, 2017).

2.9.3. Hiperbarik Oksijen Tedavisin Fizyolojik Temelleri

Boyle Gaz Kanunu

Sabit sıcaklıkta, belirli bir kütlede bulunan gazın hacmi ile basınç ters orantılıdır. Boyle Kanununa göre basınç arttığı sürece gaz kabarcıklarının hacminde azalış görülür. Arteriyel gaz embolisi ve dekompresyon rahatsızlığı gibi bazı patolojilerin iyileşmesinde ve HBO₂'nin hastalıkların tedavisinde etkin olması bu kanuna dayanır. Ek olarak HBO₂ tedavisinin en yaygın gözlenen yan etkisi olan barotravmalar da bu kanun temel alınarak açıklanır (Kindwall, 2002).

Charles ve Gay-Lussac Gaz Kanunları

Basınç bir seviyede sabitlendiğinde gazların sıcaklıkları artar ve hacimleri de orantılı olarak artış gösterir. Bu da hacim ve sıcaklık arasında doğru bir orantının olduğunu gösterir Sabit hacimli bir gazın, basıncı ile sıcaklığı doğru orantılıdır. Bu kanuna göre basınç odalarında, basınç hızlı arttırıldığında ortamın sıcaklığında da artış görülür. Bu sebepten dolayı hiperbarik sistemlerde sıcaklığın kontrol edilebilmesi için sistemlere gereksinim duyulur (Jain, 1999).

Henry Gaz Kanunu

Sabit sıcaklıkta bir sıvı içerisinde çözünen gazın parsiyel basınç seviyesi, gazın miktarı ile doğru orantı gösterir. Çeşitli gazların, her bir sıvı için çözünürlük kat sayısı değişim gösterir ve sıcaklık ile beraber değişim görülür. Oksijen, normal koşullar altında %97-98 hemoglobine bağlı, %2-3 ise plazmada çözünme sağlayarak dokulara taşınır. Arteriyel oksijen saturasyonu deniz seviyesinde %97,5'dur. 1 gram hemoglobinin 1,34 ml oksijen bağlama kapasitesi vardır. Hemoglobin değeri sağlıklı bir insanda yaklaşık 15 gr/dl kabul edilirse, 100 ml kanın 19,5 ml oksijen taşıma kapasitesi vardır. Kapiller düzeyde oksijen saturasyonu %75 seviyesine iner. Sonuç olarak taşınan oksijen miktarı 100 ml kanda 14,5 ml'ye düşer; yaklaşık olarak 5 ml oksijen dokulara aktarılır. Hiperbarik oksijen tedavisi (HBOT) ile plazmada çözünen oksijen miktarı hemoglobine bağımlı olmaksızın artar. 2,8 ATA'da %100 oksijen solunmasıyla 100 ml kanda çözünen oksijen miktarı 6 ml olmaktadır. Bu değer oksijenin hemoglobinden bağımsız bir biçimde plazmada çözünen miktarı ile dokuların oksijen gereksinimini karşılayabilecek kapasitededir. Bunun yanı sıra dekompresyon rahatsızlığının fizik temelini oluşturan Henry Gaz Kanunudur (Jain, 1999).

Dalton Gaz Kanunu

Bir gaz karışımının basıncı, karışımdaki her bir gazın kısmi basınçlarının toplamına eşittir. Gazlardan oluşan bir karışımdaki mevcut olan tüm gazların kısmi basınçları toplandığında söz konusu karışımın hacmini elde edilir. Atmosferin yapısında yaklaşık %21 oksijen, %78 nitrojen ve %1 diğer gazlar bulunur. Yer yuvarı, üzerinde bulunan canlılar ile beraber atmosfer tarafından uygulanan bir basınç altında bulunmaktadır. Söz konusu basınç düzeyi deniz seviyesinde 1 kg/cm², 760 mmHg veya 1 ATA'ya denk gelir. Dalton Gaz Kanununu esas alındığında havadaki oksijenin parsiyel basıncı $21/100 \times 760 \text{ mmHg} = 159,6 \text{ mmHg}$ (yaklaşık 160 mmHg) ya da 0,2 ATA olarak hesaplanmaktadır. Ortam basıncı 2 katına çıkarıldığı zaman oksijenin parsiyel basıncı da doğru orantılı olarak artar ve 320 mmHg ya da 0,4 ATA olarak hesaplanır (Jain, 1999).

2.9.4.Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Etkileri

Doku hipoksisinde azalma

Normal atmosfer koşullarında ve solunumda hemoglobin %97-99 oranında oksijenle doygun bir durumda bulunur. Aynı zamanda bir miktar oksijen de plazmada çözünmüş bir şekilde taşınır. Plazma içerisine çözünmüş halde bulunan oksijenin miktarı HBO tedavisi ile beraber artış göstererek doku oksijenlenme miktarında artış gözlemlenir (Sahni ve ark., 2003; Greensmith ve ark., 2004; Topal ve Korkmaz, 2008; Leach ve ark., 1998). Normal barometrik basınçta deniz seviyesinde hava bulunduğu esnada 1 litre kanda 3 ml plazma oksijenin mevcut olduğu konsantrasyonu ile beraber arteriyel oksijen basıncı ve doku oksijen basıncı sırasıyla 100 mmHg ve 55 mmHg'dir. Bununla birlikte, solunan hava hiperbarik düzeye ulaştığında -örneğin; 3 ATA basınç altında %100 oksijenli ortamda- çözünmüş plazma oksijen konsantrasyonu litre kanda doku oksijen basıncı ise sırasıyla 2000 mmHg ve 500 mmHg'ye arteriyel oksijen basıncı 60 ml'ye yükselir (Greensmith ve ark.,2004; Leach ve ark., 1998; Sahni ve ark., 2003; Şimsek ve ark., 2011;Topal ve Korkmaz, 2008).

Reaktif vazokonstriksiyon

Mevcut plazmada çözünmüş yüksek oksijen düzeyi ile normal doku oksijenlenmesi sürdürüldüğü esnada hiperoksinin etkisi ile birlikte kontraksiyona uğramış küçük vasküler yapılarda doku ödemi azaltılmış olur. Kompartman sendromunda ve ezilme yaralanmalarında görülen posttravmatik doku ödemi seviyelerinde artış, vazokonstriksiyon desteğiyle anlamlı bir oranda azaltılabilir (Greensmith ve ark., 2004; Leach ve ark., 1998; Sahni ve ark., 2003; Şimsek ve ark., 2011; Topal ve Korkmaz, 2008).

İyileştirme etkisi

Hipoksik dokuda büyüme faktörlerinin sentezini arttırdığı esnada HBOT, anjiyogenez vasıtasıyla ile mikrovasküler ağların genişlemesine katkı sağlar bununla beraber sorunlu ve kronik yaralarda iyileşme potansiyelinde de artış görülür (Şimşek ve ark., 2011). Ek olarak HBO₂ aynı periyotta osteoklastların ve osteoblastların etkinliğini artırır, kollajen üretimini ve fibroblast proliferasyonunu

uyarır (Greensmith ve ark., 2004; Leach ve ark., 1998; Sahni ve ark., 2003; Şimsek ve ark., 2011; Topal ve Korkmaz, 2008).

Oksijen basıncı artışı

Zehirli gazların (karbon monoksit, hidrojen sülfür, siyanür ve karbon tetraklorür) vücuttan uzaklaştırılmasında rol oynar. Yüksek yoğunluklarda oksijenin alveol havası içinde mevcut olması durumunda zehirli gazlar hemoglobine göre yüksek hızda ayrılmaktadır (Garrabou ve ark., 2011; Topal ve Korkmaz, 2008).

Antibakteriyel etki

Anaerob organizmaların endotoksin ve spor oluşturma kabiliyetini HBO_2 azaltır. Lokal mikro dolaşımı iyi hale getirerek yüksek lökosit fonksiyonu aracılığıyla mikroorganizmaların fagositozunu artış ve makrofaj aktivasyonunu sağlar, bakterilerin yok edilmesine sebep olan anti-inflamatuvar etkiye destek sağlar (Greensmith ve ark., 2004; Leach ve ark., 1998; Sahni ve ark., 2003; Şimsek ve ark., 2011; Topal ve Korkmaz, 2008).

Basıncı etkisi

Gaz kabarcıklarının hacmini küçülterek dekompresyon hastalığı ve gaz embolisinde tedavi sağlar (Greensmith ve ark., 2004; Sahni ve ark., 2003; Şimsek ve ark., 2011; Topal ve Korkmaz, 2008).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Demirbaş malzemeler Aletler

- Mikrotom
- Hiperbarik oksijen ünitesi
- IHC boyama seti
- Su banyosu
- Kurutma tablası
- Buzdolabı
- Derin dondurucu -80
- Araştırma mikroskobu
- Kamera ve görüntüleme Sistemi
- Stereo mikroskop
- Stero mikroskop kamerası
- Preparat saklama kutusu
- Otomatik mikropipetler
- Deney hayvanları kafes sistemi
- Mikrodalga fırın
- Vorteks cihazı
- Terazı
- Cerrahi set
- Etüv
- Parafın Dispenser
- Distile su cihazı
- Ph metre
- Manyetik karıştırıcı

3.1.2. Sarf Malzemeler ve Kimyasal Maddeler

- Saf Oksijen Gazı
- Pikrik Asit
- Formaldehit
- Asetik asit
- 96 alkol
- Absol (Supelco)
- Ksilol (İsolab)
- Benzol (Merck)
- Parafin (Tudamelt)
- Ksilazin (Rompun)
- Ketamin (Alfamin)
- Metil benzoat (Merck)
- Hidrojen peroksit (Thermo Scientific)
- Protein blocking solüsyonu (Thermo Scientific)
- Avidin biotin peroksidaz (Thermo Scientific)
- Biotinli sekonder antikor (Thermo Scientific)
- DAB kromojen (Thermo Scientific)
- Hemotoksilen (Merck)
- Sikrik asit asetat (Merck)
- Eldiven (Tenty)
- Enjektör (10-5-1 ml) (Beybi)
- Lam (Menzel-Glaser)
- Lamel (Menzel-Glaser)
- Entellan (Merck)
- Mikrotom bıçağı (Thermo Shandon)
- Pipet uçları (İsolap)
- Ethanol 96 (İsolab Chemicals)
- Sodyum clorid (Merck)
- Potasyum chloride (Merck)
- Potasyum dihidrojen fosfat (Merck)

- Disodyum dihidrojen fosfat dihidrat (Merck)
- Sodyum sitrat dihidrat (Merck)
- Monoclonal mouse Nestin (Abcam)
- Doublecortin (Ser47) polyclonal Antirabbit (Abcam)
- Kİ67 Polyclonal Anti rabbit(Abcam)
- Monoclonal Mouse NEUN(Abcam)
- Mouse and Rabbit spesific HRP/DAB detection kit (Abcam)

3.2. Deneysel Prosedür

3.2.1. Deney Hayvanlarının Elde Edilmesi

Çalışma için ERÜ Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulundan onay alınmış ve çalışma etik kurul yönergesine uygun bir şekilde yapılmıştır (Etik Kurul Tarih-Karar No:01.06.2022-22/119) Bu çalışmada 28 adet Sprague-Dawley erkek sıçan (180-250 gr, 1 aylık) kullanıldı. Bütün denekler Erciyes üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde optimal koşullarda barındırılıp standart yem ve su ile beslenildi. Deney sürecinde hayvan hakları ile ilgili olarak National Institute of Health (NIH)'in belirlediği ölçütler (Principles of Laboratory Animal Care) esas alındı. Sıçanlar rastgele ve eşit olarak şu 4 gruba ayrıldı;

- 1. Salin grubu(Salin)(n=7): Bu gruptaki hayvanlara 8. ve 15. günlerde intraperitoneal enjeksiyon yoluyla normal salin (%0,9 NaCl) verildi.
- 2. Metotreksat ile nörogenez hasarı oluşturulan grup(MTX) (n=7): Bu gruptaki hayvanlara deneyin 8. ve 15. günlerinde intraperitoneal enjeksiyon ile sıvı haldeki MTX (25mg/kg) verildi.
- 3. Metotreksat ile nörogenez hasarı oluşturulup hiperbarik oksijen uygulanan grup(MTX+HB)(n=7): Bu gruptaki hayvanlara deneyin 8. ve 15. günlerinde intraperitoneal enjeksiyon ile sıvı haldeki MTX (25 mg/kg) verildi. Ardından, 15 gün boyunca 2 atmosfer basınç altında günde 1 saat hiperbarik oksijen tedavisi uygulandı.
- 4. Sadece hiperbarik oksijen uygulanan grup(HB)(n=7): Bu gruptaki hayvanlara 30 gün süresince 2 atmosfer basınç altında günde 1 saat hiperbarik oksijen tedavisi uygulandı. (Sirichoat ve ark., 2019; Welbat ve ark., 2020).

3.2.2. Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Uygulanması

Günde 1 saat boyunca sadece hiperbarik oksijen uygulanan gruba (n=7) deneyin ilk gününde itibaren 30 gün süresince ve Metotreksat ile nörogenez hasarı oluşturulup hiperbarik oksijen uygulanan gruba (n=7) deneyin 15.gününden itibaren hiperbarik oksijen uygulaması Erciyes Üniversitesi DEKAM'da Dr. Öğretim Üyesi Mehmet Akif Baktır tarafından yapıldı.

3.2.3. Histolojik ve immünohistokimyasal incelemeler için doku örneklerinin alınması

Tüm gruplardaki hayvanlara 30 gün süren deneyin sonunda protokole göre anestezi (80 mg/kg vücut ağırlığına kadar ketamin ve 10 mg/kg vücut ağırlığı ksilazin) intraperitoneal enjeksiyon (1 cc insülin enjektörü) ile verildi (Van Pelt, 1977). Tüm gruplardaki sıçanların beyinleri deneyin sonunda perfüzyon yöntemi ile çıkarıldılar. Perfüzyon yönteminde Bouin tespit solüsyonu ve tamponu olarak da serum fizyolojik su (SF) enjekte edildi perfüzyon sonrasında beyin dokuları Bouin tespit solüsyonunda 14 saat boyunca postfiksasyona tabi tutuldular. Histolojik ve immünohistokimyasal analizleri için tespitten sonra tüm dokular sırasıyla %50, 70, 80, 96 ve absol alkoller ile metil benzoat ve benzol serilerinden geçirilerek parafinde bloklandı.

3.2.4. Doku örneklerinin histolojik ve immünohistokimyasal boyama teknikleri için hazırlanması

Kontrol ve deney gruplarındaki her bir hayvanın beynine ait doku bloklarından 4 mikron kalınlığında seri kesitler alındı ve 140 seri preparat hazırlandı. Her bir lama belirli aralıklarla 1 veya 2 kesit alındı. Genel yapıyı incelemek için preparatların ilk 28 serisi krezil viyole boyası ve nörogenezle ilişkili proteinlerin subventriküler bölgedeki ve Olfaktör Bulb'taki lokalizasyonlarını saptamak için preparatların diğer 112 serisi ise immünohistokimya boyama tekniği ile boyandı.

3.2.5. Nisil boyama yöntemi (Krezil viyole boyama yöntemi)

Beyin dokusunun genel yapısını incelemek amacıyla dokulara krezil violet asetat boyama yöntemi uygulandı. Hazır hale getirilen preparatlar deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemi bittikten sonra %0.1'lik krezil violet asetat içerisinde 5 dakika

süreyle 37 0C“ilk etüvde inkübasyona bırakıldı. Daha sonra 3 dakika süreyle distile suda bekletildi. Önce %96“lık sonra absol alkolde 3“er dk tutularak, ardından ksilen“de 2 kez 5“er dakika bekletilerek ve entellan ile kapatıldı.

3.2.6. İmmunohistokimyasal analiz (Strep-avidin Biotin Kompleks (Strept-ABC) immünoperoksidaz tekniği)

İmmunohistokimyasal incelemeler için hazırlanan preparatlar deparafinizasyon işlemi ve rehidrasyon için hazırlanan preparatlar 2“şer kez 5“er dakika ksilen içerisinde bekletildi. Ardından dehidratasyon işlemi için sırasıyla absol alkol I, absol alkol II, % 96 alkol, % 80 alkol ve % 70 alkol olmak üzere dereceli alkol serilerinden 3“er dakika süreyle geçirildi ve distile suda 5 dakika bekletildi. Takibinde fosfat buffer salin (PBS)“de yıkandı. Takiben dokular sitrat bufferda (pH 6,0) 600W“da 4x5 dakika süreyle mikrodalga fırın içerisinde kaynatıldı ve aynı solüsyon içinde 20 dakika oda ısında soğutuldu ve doku antijeninin yeniden kazanımı sağlandı. Tekrar PBS ile dört kez yıkamayı takiben nonspesifik bağlanmaları önlemek için kesitler 5 dakika protein bloklama solüsyonu, endojen peroksidaz aktivitesini gidermek için metanolde hazırlanmış % 3“ lük hidrojen peroksit (H₂O₂) ile 15 dakika bekletilerek, PBS ile 4 kez 5“er dakika süreyle yıkandı. Uygun dilüsyonlarda hazırlanmış primer antikorlar (anti-Ki67, anti-Doublekörtin, anti-Nestin ve anti-Neun) kesitler üzerine eklendi ve bir gece inkübasyon için 4°C“de bekletildi. Negatif kontroller olarak alınan olfaktör bulb ve ventriküler örnekleri ise primer antikor kullanılmadan PBS“ye maruz bırakıldı. inkübasyonu takiben PBS“te 4x5 dakika yıkanan kesitler, biotinlenmiş sekonder antikor ile 20 dakika oda ısısında inkube edilip, tekrar 4x5 dakika PBS ile yıkandıktan sonra da enzim konjugatlı strepavidinde 15 dakika maruz bırakıldı. Tekrar 4 kez PBS ile yıkanarak 5-10 diaminobenzidinde (DAB) bekletildi. Gill“in Hematoksilen“inde 5 dakika boyandıktan sonra çeşme suyunda mavileşinceye kadar yıkandı ve takiben dereceli alkollerden ve ksilenlerden geçirilip üzerine yapıştırıcı damlatılıp lamelle kapatıldı. Kahverengi presipitasyonun görülmesi sonucunda reaksiyon pozitif olarak değerlendirildi ve ışık mikroskobunda (Olympus, BX51) incelenerek fotoğraflandı.

Elde edilen görüntüler semikantitatif ve kantitatif olarak değerlendirildi;

3.3. İmmunohistokimyasal boyamanın kalitatif değerlendirmesi

Boyalı bölümler incelendi ve dijital kamera (DP74, Olympus, Tokyo, Japonya) ile donatılmış BX51 mikroskobu (Olympus, Tokyo, Japonya) ile fotoğraflandı. Bu immün boyamalar, dört puanlık bir yoğunluk skoru (IS) kullanılarak niteliksel olarak değerlendirildi. Beyin dokularındaki Doublekortin, Nestin, Ki 67ve NEUN boyanma yoğunlukları, 100x ve 400x büyütmelede mikroskopik olarak değerlendirildi. Bu yöntem için boyama yoğunlukları u şekilde puanlandı: -, negatif (yüksek büyütmede bile leke yok, 400X); +, zayıf boyama (yalnızca yüksek büyütmede, 400X görünür); ++, orta boyama (düşük büyütmede kolayca görülebilir, 100X); ve +++, güçlü boyama (düşük büyütmede çarpıcı şekilde pozitif, 100X).

3.4. İmmunohistokimyasal boyamanın kantitatif değerlendirmesi

Bu çalışmada kantitatif olarak aşağıdakilere göre belirlendi: NP'ler için boyama yoğunluklarının kantitatif analizleri, Subventriküler ve Olfaktör Bulb bölgelerinden elde edilen görüntülerde yapıldı. Bu tüm görüntü için immün boyama yoğunluğu ölçüldü (400X büyütme). Bunun için, her grup için on iki görüntü kullanıldı. ie aktardıktan sonra ilgili görüntüler yazılım ImageJ 1.51 sürümüne eklendi (Java 1.8.0_112, <https://imagej.nih.gov/ij/>), ardından görüntüler color deconvolution eklentisine gönderildi, burada hematoksilin ve DAB boyaması seçildi. Tek DAB, hematoksilin ve arka plan içeren 3 farklı panel görüntü oluştu. Ardından, yalnızca DAB görüntüleri kullanılarak elde edilen DAB görüntüleri için eşik değerler belirlendi. Bundan sonra, alan ve alan kesri parametreleri (boyama alanı yüzdesi, yani “boyama yoğunluğu”) ayarlandı. Daha sonra boyanan alanın alanı ve yüzdesi her görüntü için ölçüldü.

3.5. İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz GraphPad kullanılarak yapıldı. Boyama yoğunluğu verilerinin (% boyama alanı) kantitatif analizini yapmak için elde edilen boyama alanı yüzdesi sonuçları GraphPad Prism 7 (Windows için Sürüm 7.04)’e aktarıldı. Bundan sonra salin, metotreksat, metotreksat +hiperbarik oksijen ve hiperbarikoksijen grubu görüntü analizi miktarlarında herhangi bir anlamlı fark olup olmadığını belirlemek

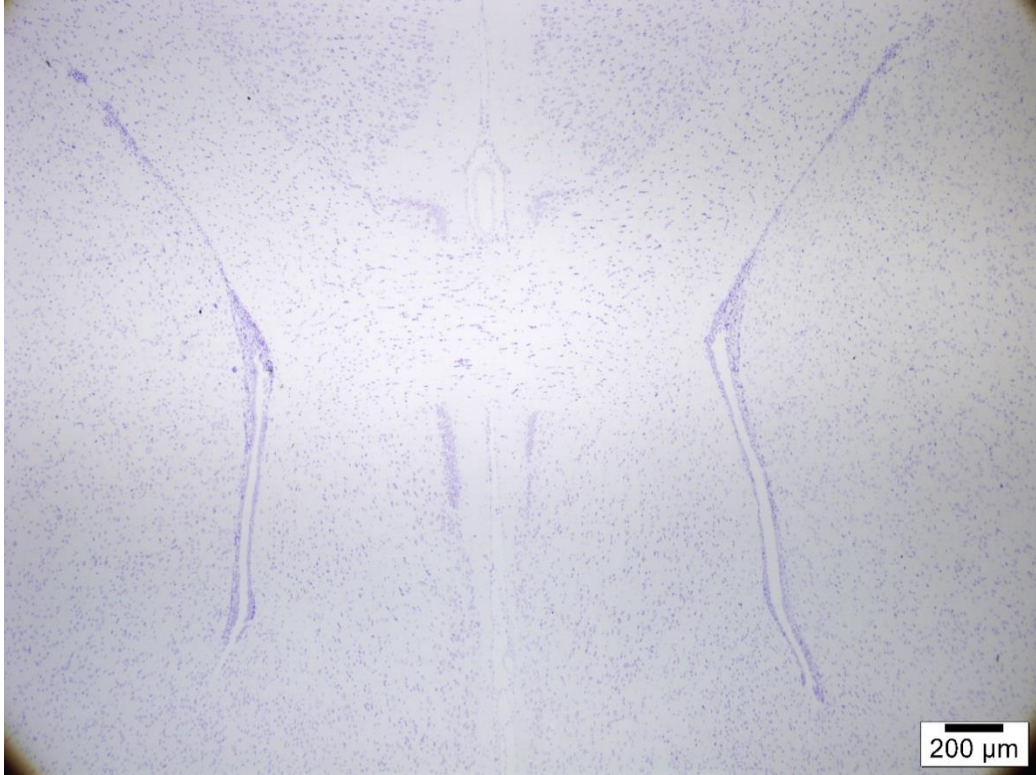
için unpaired student t test uygulandı. Tüm değerler ortalama \pm SEM olarak gösterilir. $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



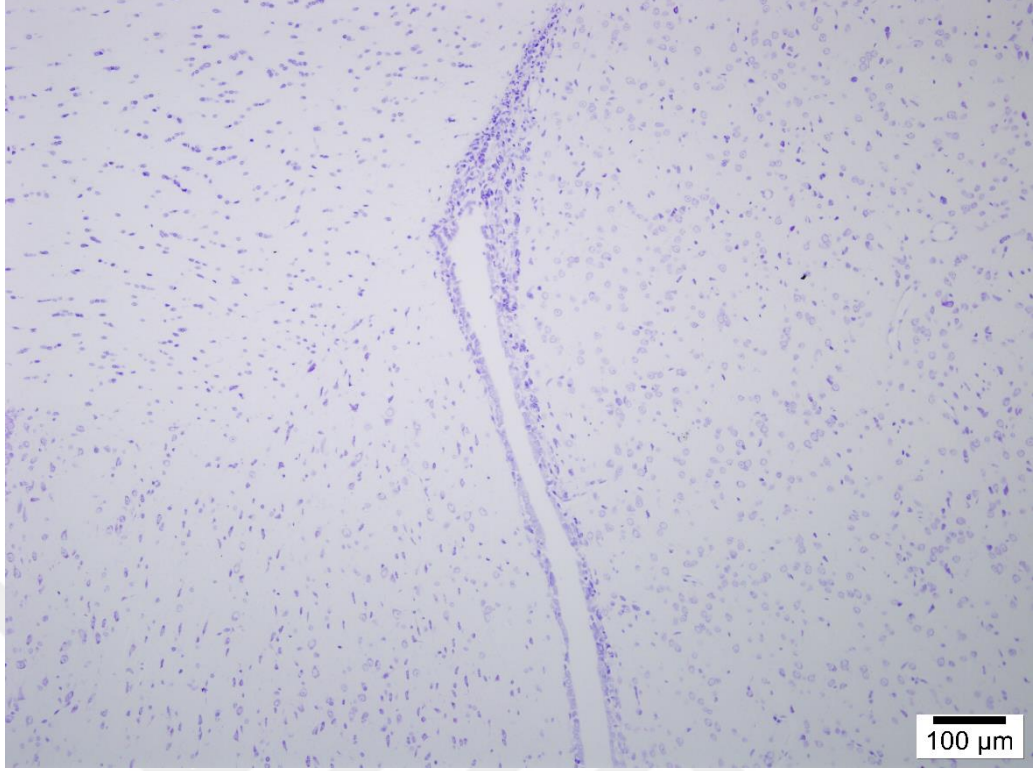
4. BULGULAR

4.1. Histolojik bulgular

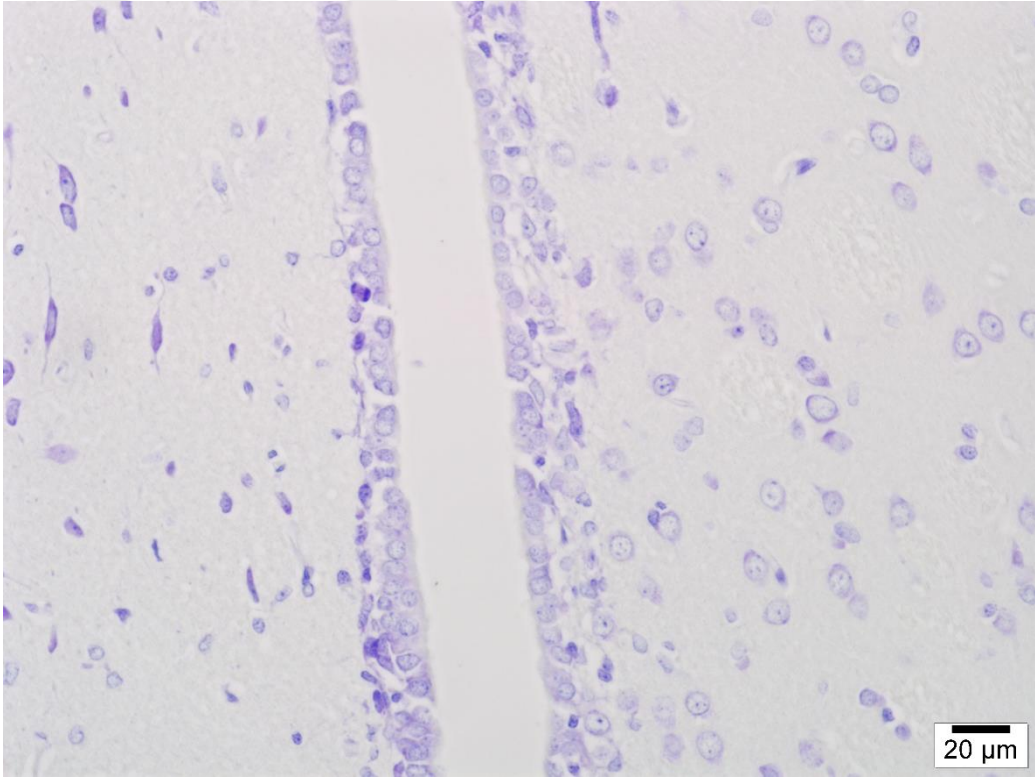
Subventriküler zone ile 3. ve 4. ventriküleri döşeyen epitelin ve olfaktorik bulbun histolojik yapısının incelenmesi amacıyla bu dokulara Nissl boyama (Crezel violet asetat boyaması) yöntemi uygulandı. Tüm gruplara ait sıçanların beyinlerinde SVZ'nin histolojik incelemesinde bu beyin yapısının tek katlı bir epitelten oluştuğu belirlendi. Bu boyamada gruplar arasında belirgin bir fark gözlenmedi.



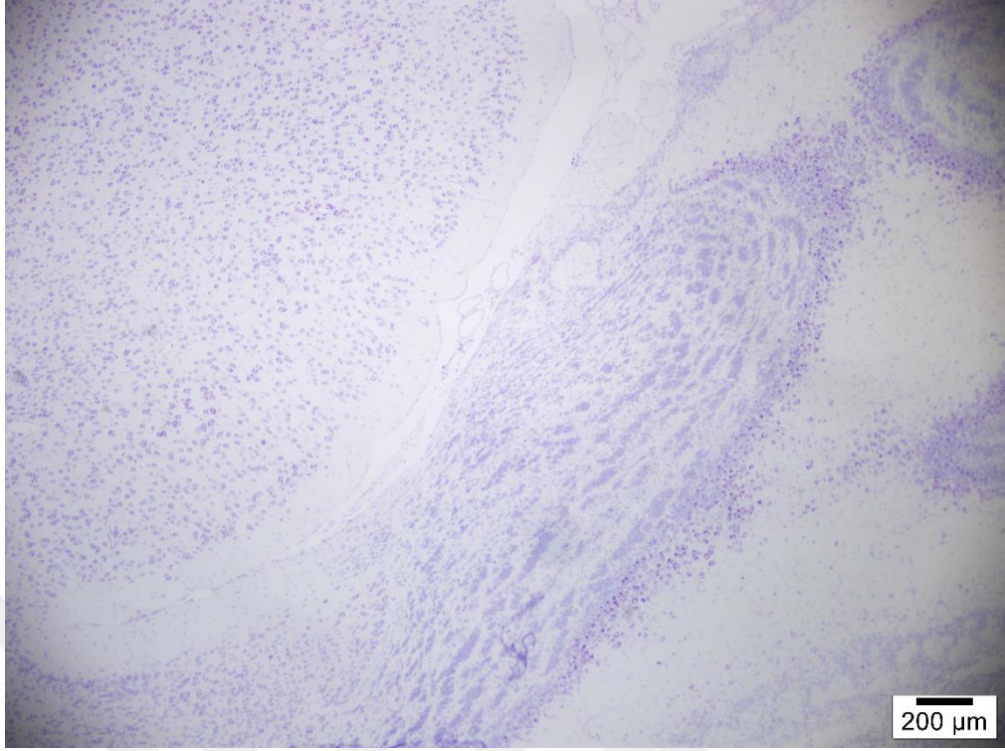
Şekil 4.1. Salin kontrol grubunda Subventriküler (SVZ) bölgenin histolojik genel görünümü. Nissl boyaması, Bar; 200 µm.



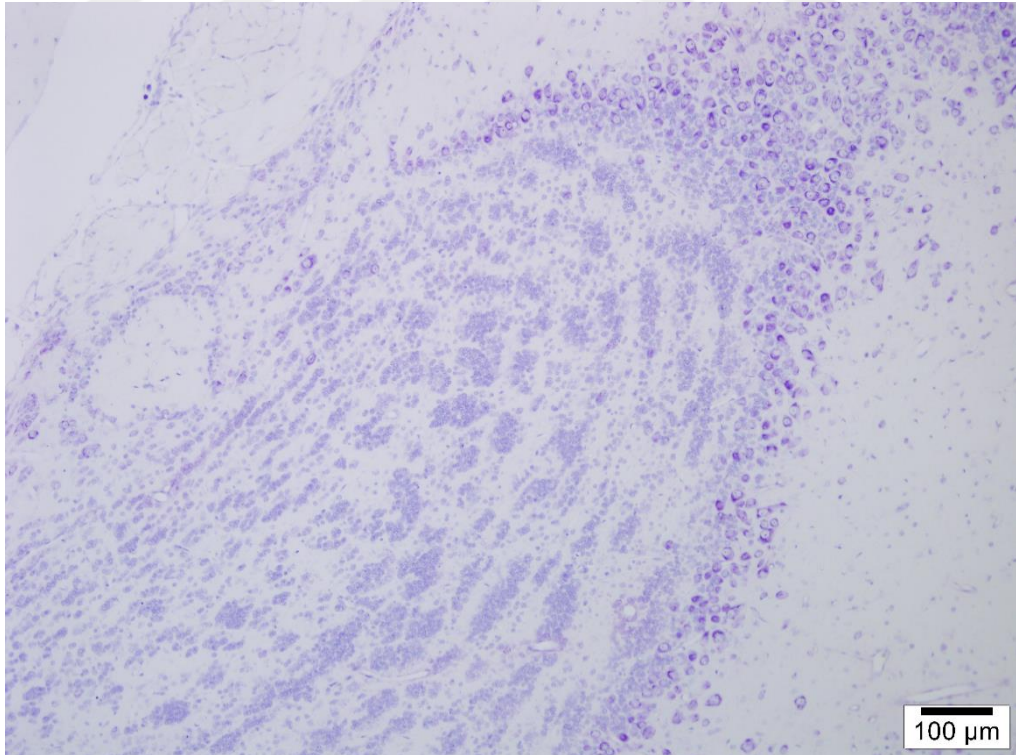
Şekil 4.2. Salin kontrol grubunda Subventriküler (SVZ) bölgenin histolojik genel görünümü. Nissl boyaması, Bar; 100 µm.



Şekil 4.3. Salin kontrol grubunda Subventriküler (SVZ) bölgenin histolojik genel görünümü. Nissl boyaması, Bar; 20 µm.



Şekil 4.4. Hiperbarik kontrol grubunda olfaktorik bulbusun histolojik genel görünümü. Nissl boyaması, Bar; 200 µm.



Şekil 4.5. Hiperbarik kontrol grubunda olfaktorik bulbusun histolojik genel görünümü. Nissl boyaması, Bar; 100 µm.

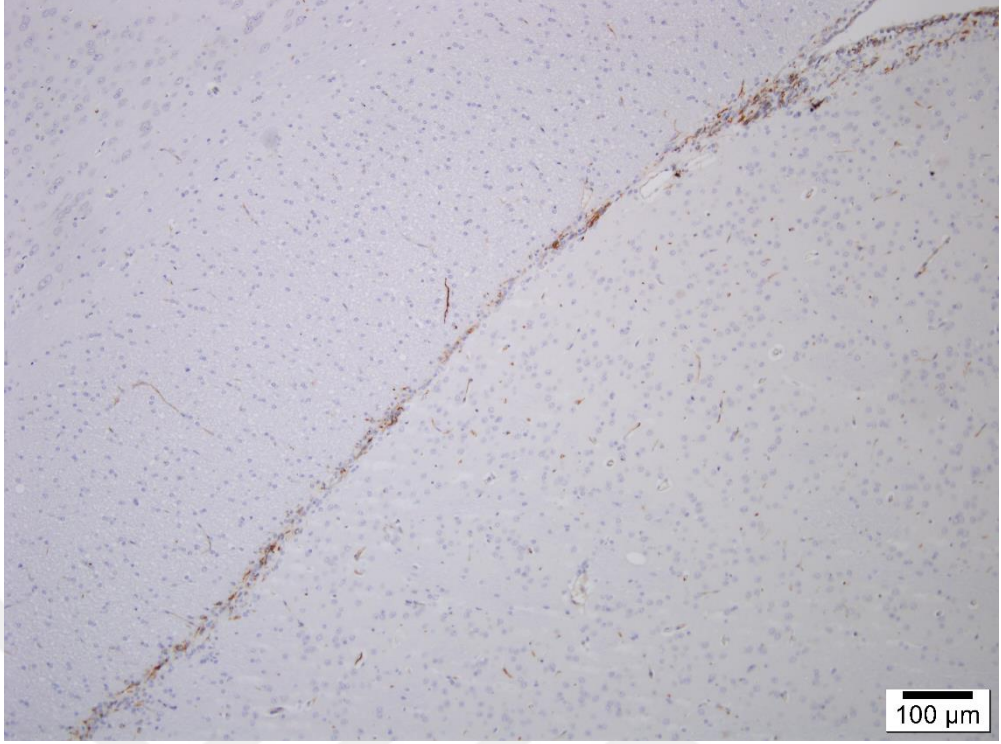
4.2. Nestin immunreaktivitesi

Sıçan beyin SVZ bölgesinde nestin immunreaktivitesini ortaya koymak için bu dokulara anti-nestin primer antikorları uygulayarak Strept-avidin immunoperoksidaz boyama gerçekleştirilmiştir.

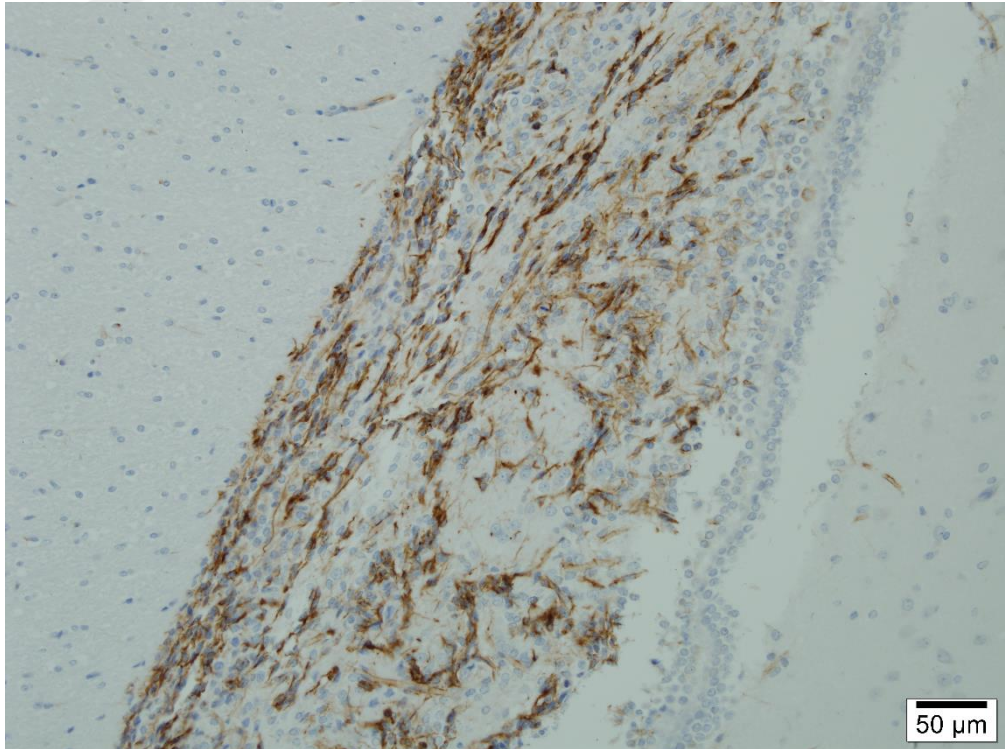
Yapılan boyamalar sonucunda hem kontrol gruplarında hem de MTX ve MTX + HB deney gruplarındaki hayvanların SVZ bölgesindeki nöronların sitoplazmalarında nestin pozitif reaksiyon gözlemlendi. İmmunohistokimyasal boyamalar sonucunda, nestin immunreaktivitesinin MTX grubundaki nöronların sitoplazmalarında MTX + HB ve diğer kontrol gruplarına göre daha az yoğun boyandığı olduğu dikkati çekti.

Araştırma mikroskobu ile elde edilen görüntülerin Image J subventriküler bölge ve olfaktör bulbulb yapılarının incelenmesinde kontrol grupları ve MTX + HB grubuna göre MTX grubunda alan boyanma yoğunluğu açısından anlamlı bir değişiklik belirlendi ($P < 0,05$).

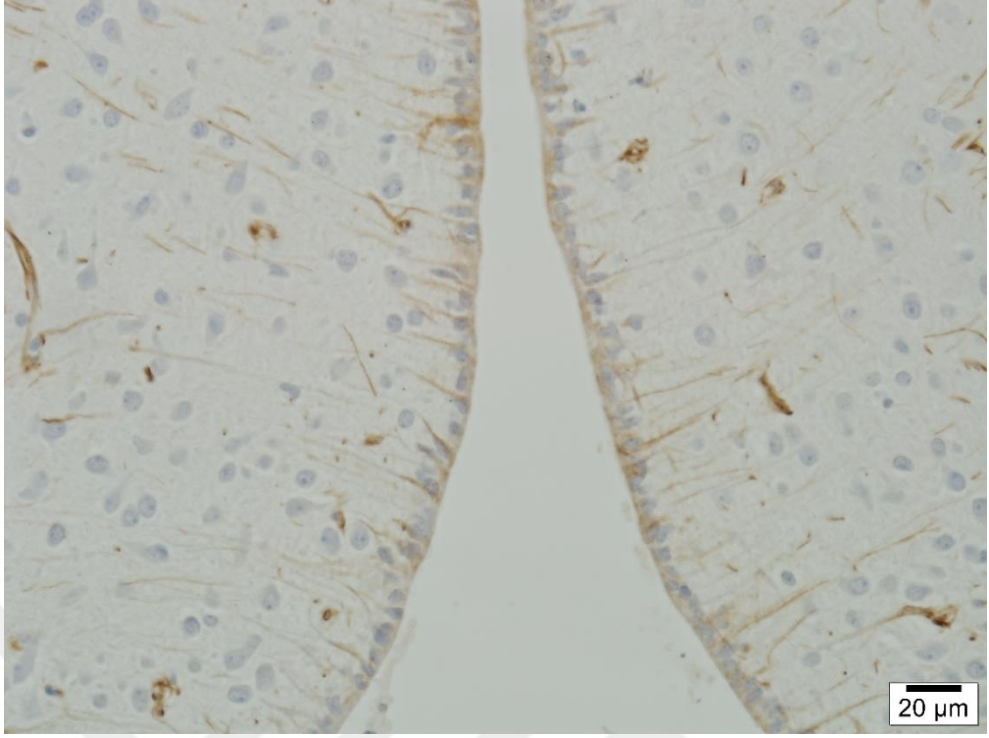
Çalışmada nestin immunoreaktivitesinin kontrolü için pozitif kontrol olarak sıçan böbrek dokusu örnekleri kullanılmıştır.



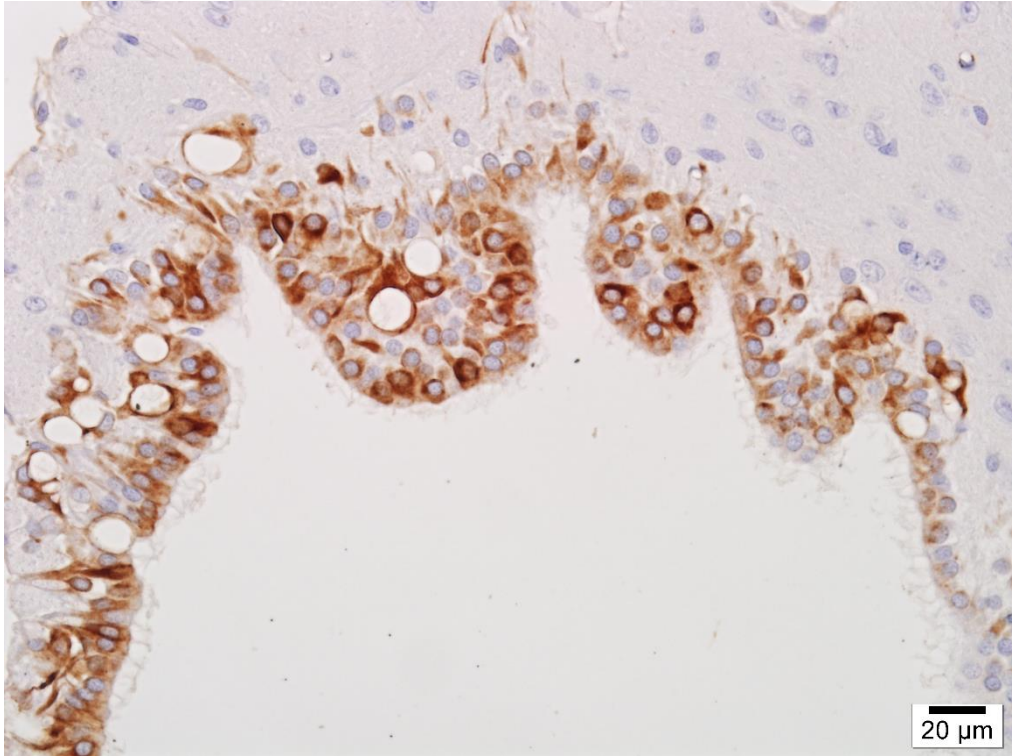
Şekil 4.6. Salin kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin SVZ bölgesinde nestin immunreaktivitesi, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 100 µm.



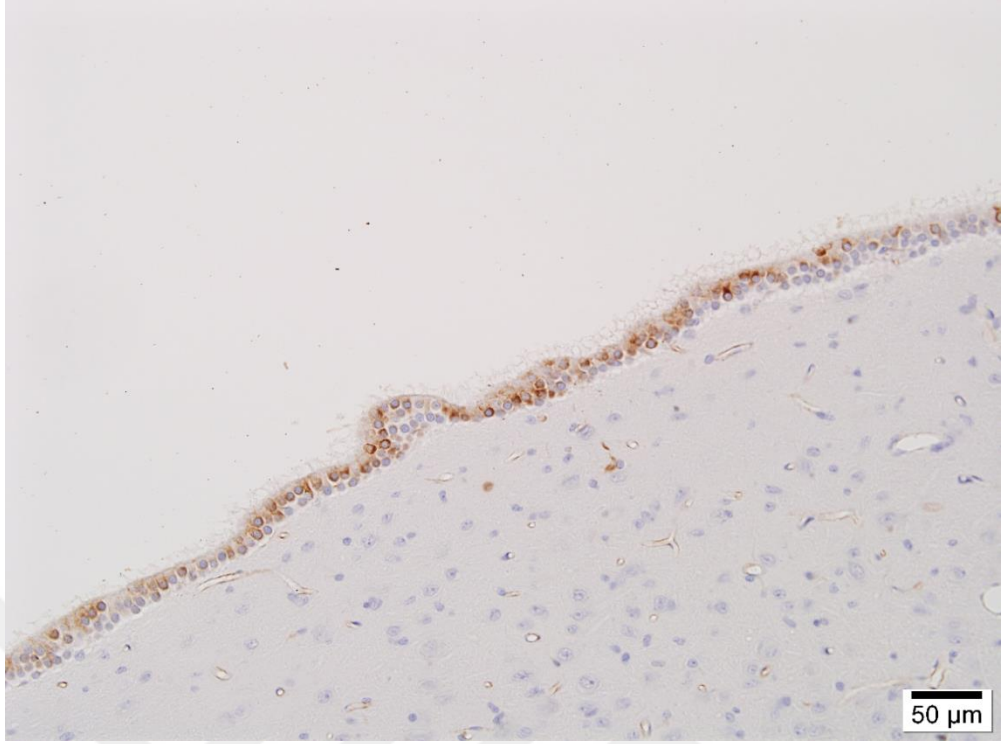
Şekil 4.7. Salin kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin SVZ bölgesinde nestin immunreaktivitesi, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 50 µm.



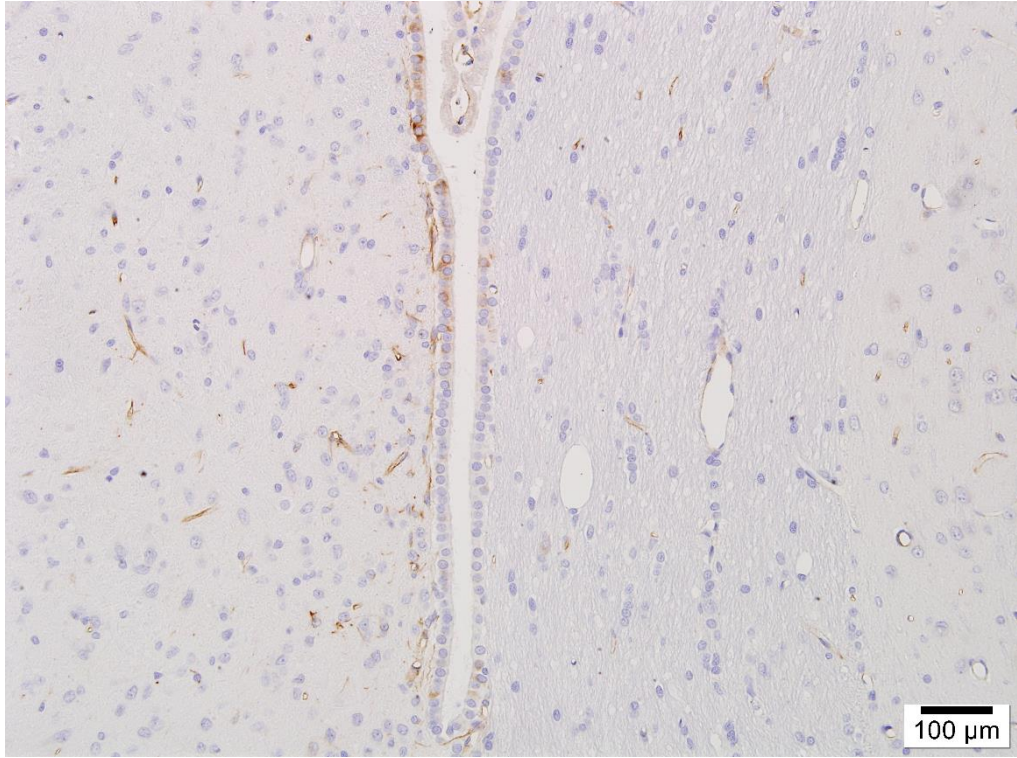
Şekil 4.8. Salin kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında nestin pozitif tanisitler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.



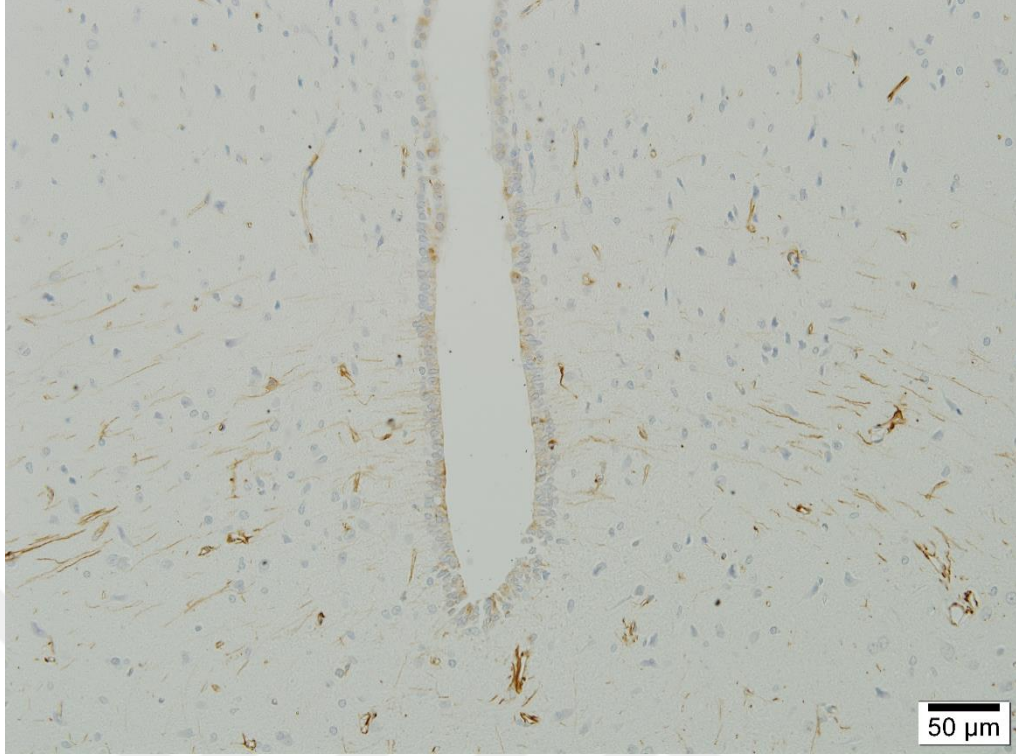
Şekil 4.9. iperbarik kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin 4. ventrikül duvarında nestin pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.



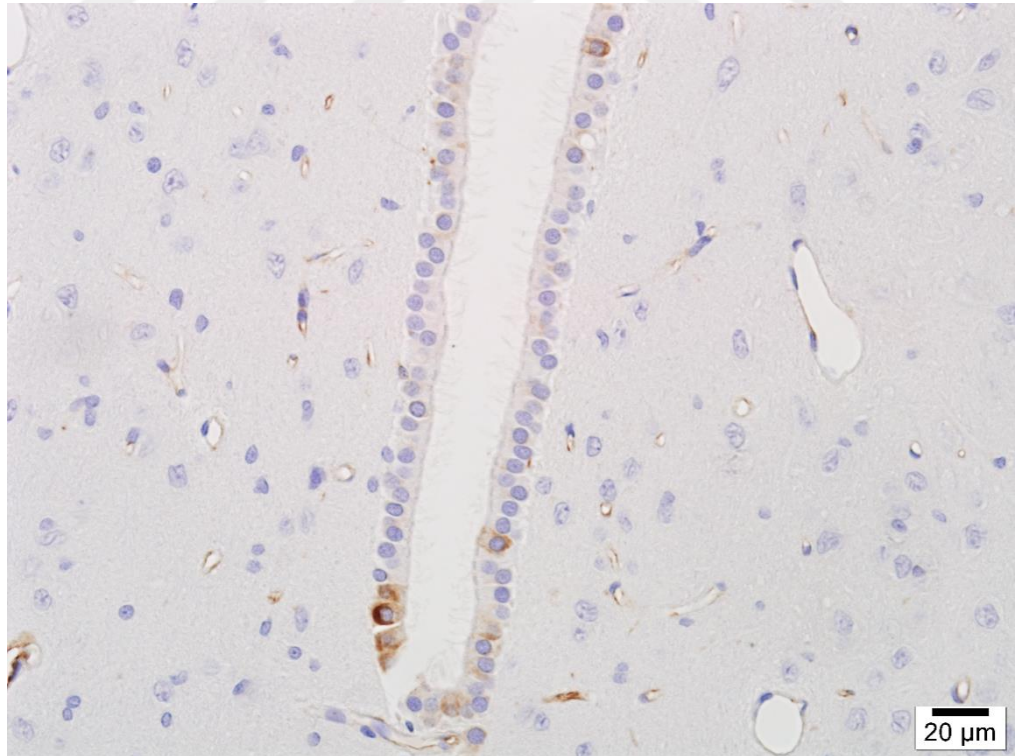
Şekil 4.10. Hiperbarik kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında nestin pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 50 µm.



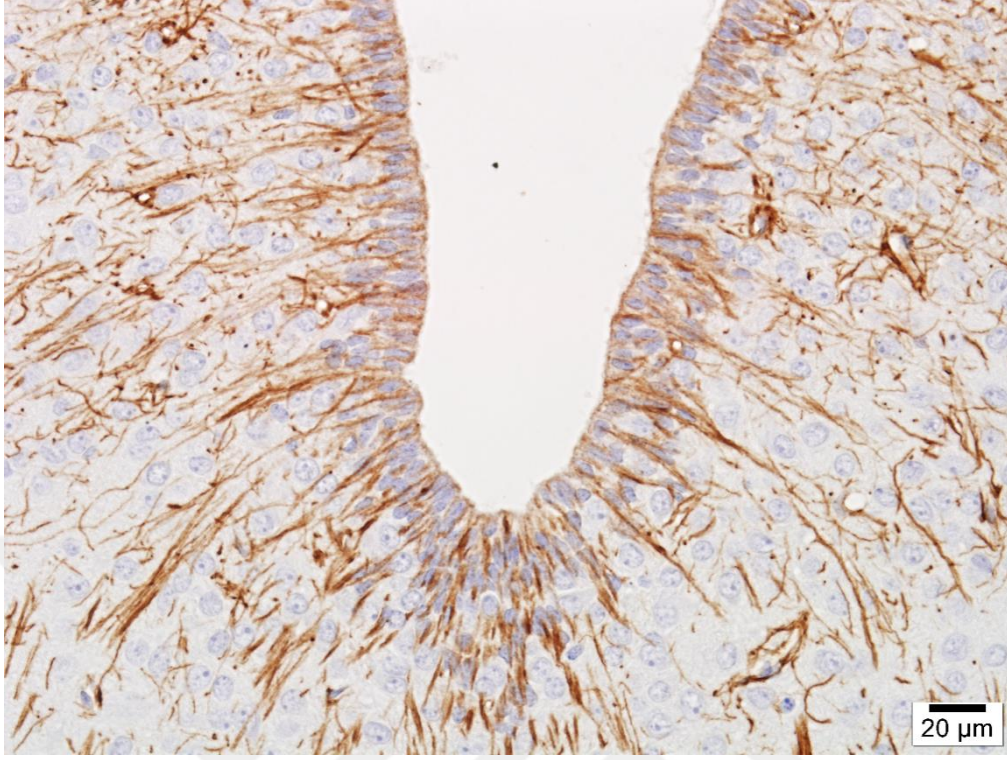
Şekil 4.11. MTX grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında nestin pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 100 µm.



Şekil 4.12. MTX grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında nestin pozitif tanisitler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 50 µm.



Şekil 4.13. MTX + HB grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında nestin pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.



Şekil 4.14. MTX + HB grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında nestin pozitif tanisitler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.

4.3. Doublekortin immunreaktivitesi:

Sıçan beyin SVZ bölümlerinde DC immunreaktivitesini ortaya koymak bu dokulara anti-DC primer antikoru uygulayarak Strept-avidin immunoperoksidaz boyama gerçekleştirilmiştir.

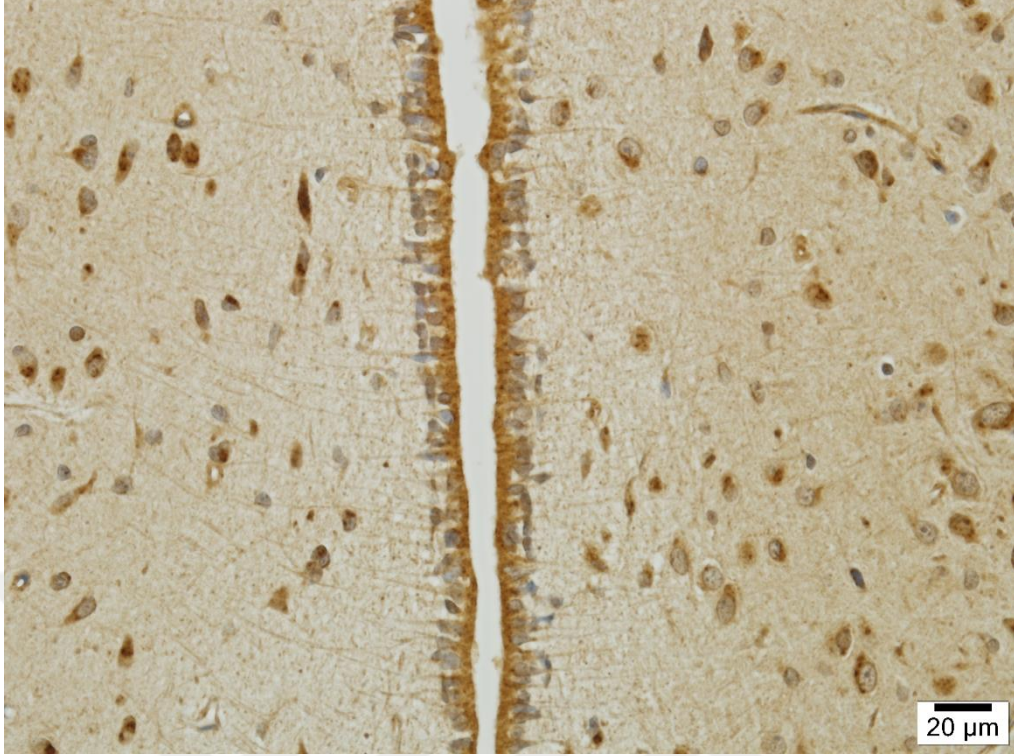
Yapılan boyamalar sonucunda hem kontrol gruplarında hem de MTX ve MTX + HB deney gruplarındaki hayvanların beyin SVZ bölümlerindeki nöronların sitoplazmalarında DC pozitif reaksiyon gözlemlendi. İmmunohistokimyasal boyamalar sonucunda, DC immunreaktivitesinin MTX grubundaki nöronların sitoplazmalarında MTX + HB ve diğer kontrol gruplarına göre daha az yoğun boyandığı olduğu dikkati çekti.

Araştırma mikroskobu ile elde edilen görüntülerin Image J programı ile değerlendirilmesi sonucunda sıçanların SVZ bölümlerindeki yapılarının incelenmesinde kontrol grupları ve MTX + HB grubuna göre MTX grubunda alan boyanma yoğunluğu açısından anlamlı bir değişiklik belirlendi ($P < 0,05$). Çalışmada

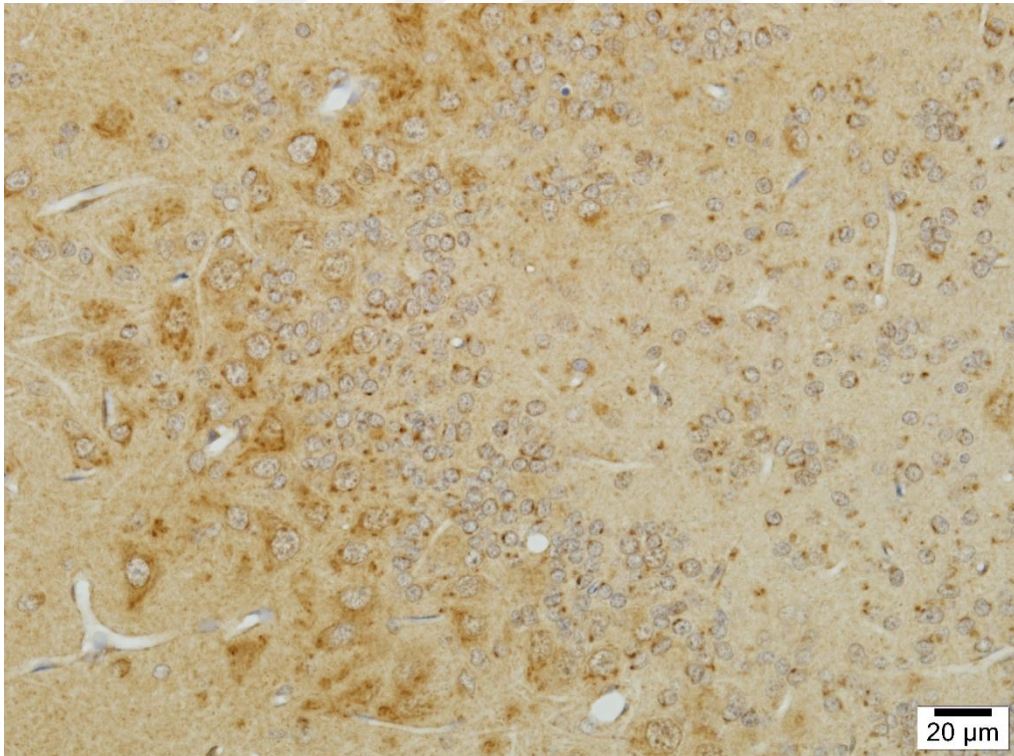
doublekortin immunoreaktivitesinin kontrolü için pozitif kontrol olarak sıçan testis dokusu örnekleri kullanılmıştır.



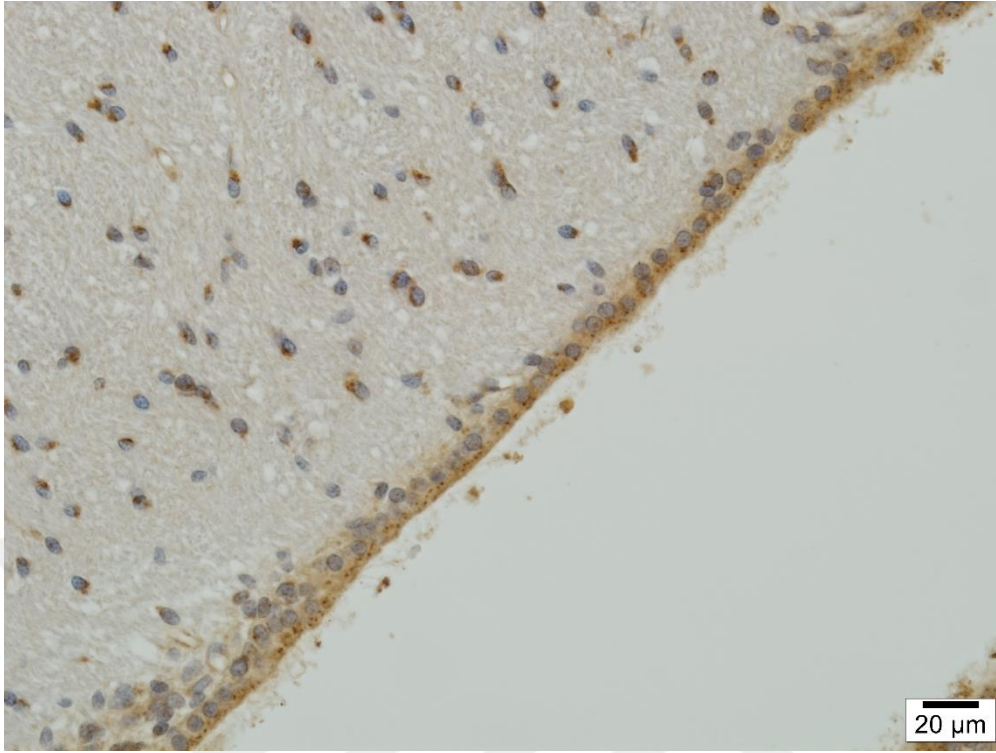
Şekil 4.15. Saline kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında DC pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 50 µm.



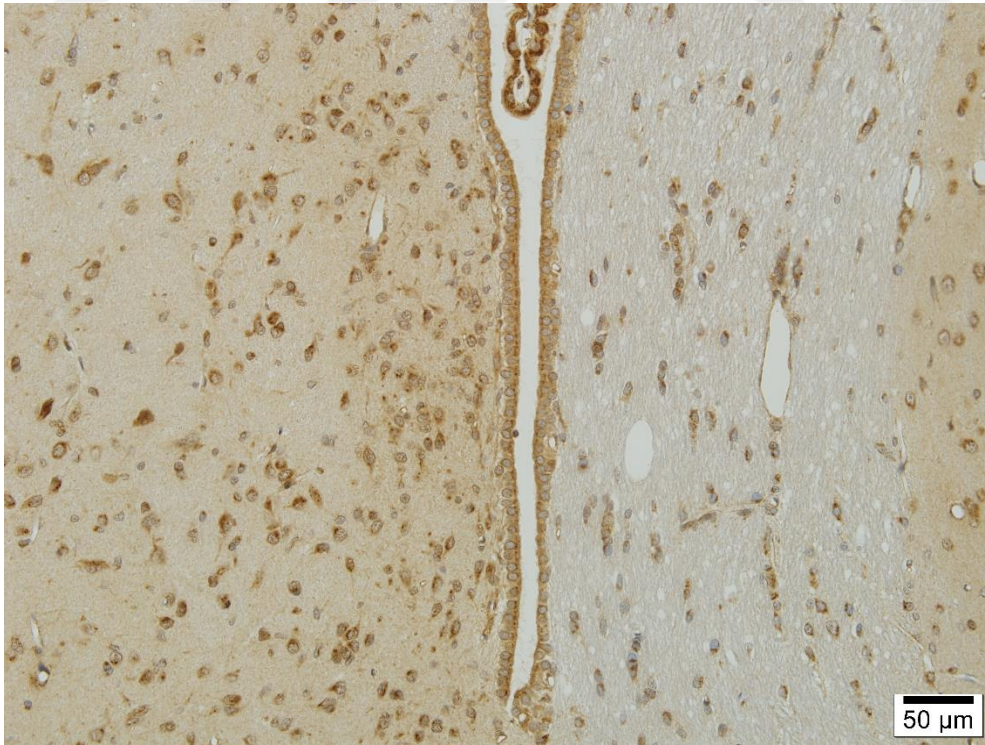
Şekil 4.16. Salin kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında DC pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.



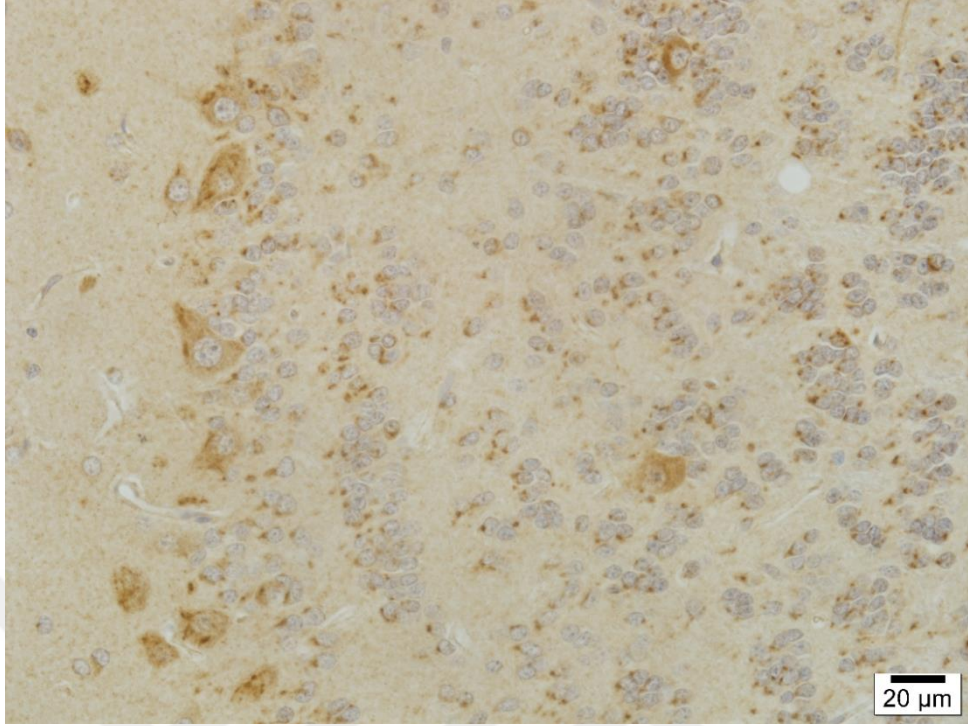
Şekil 4.17. Hiperbarik kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin olfaktorik bulbunda DC pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.



Şekil 4.18. Hiperbarik kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında DC pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.



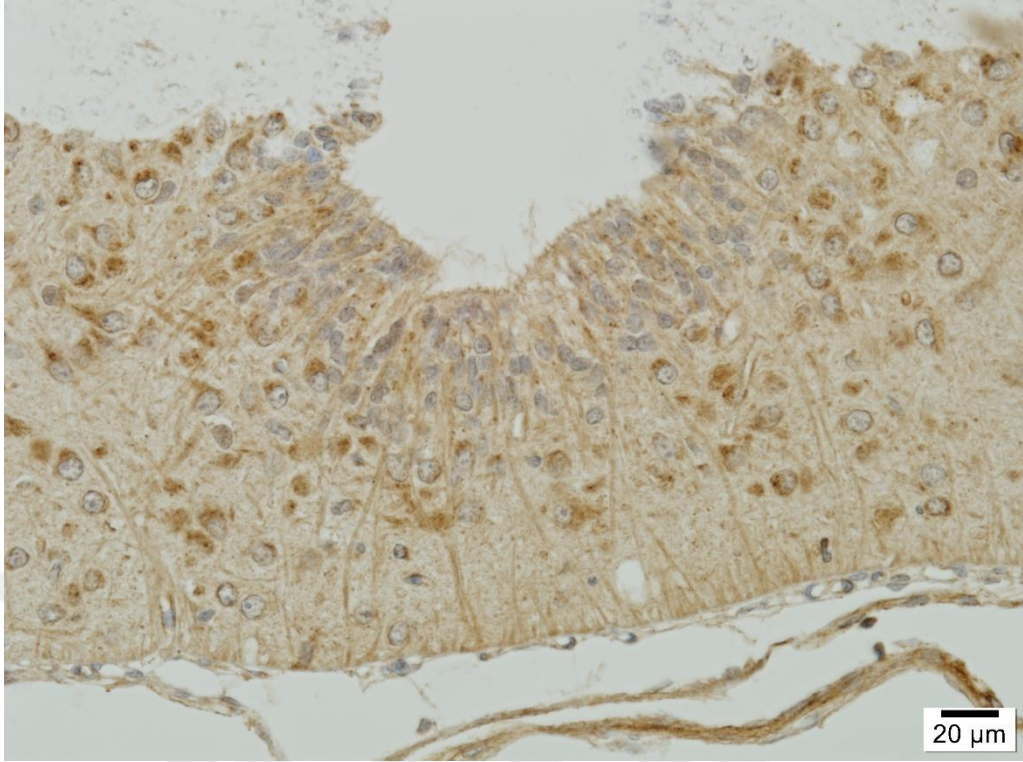
Şekil 4.19. MTX grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında DC pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 50 µm.



Şekil 4.20. MTX grubuna ait bir sıçan beyninin olfaktorik bulbunda DC pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 μm.



Şekil 4.21. MTX + HB grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında DC pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 μm.



Şekil 4.22. MTX + HB grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında DC pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.

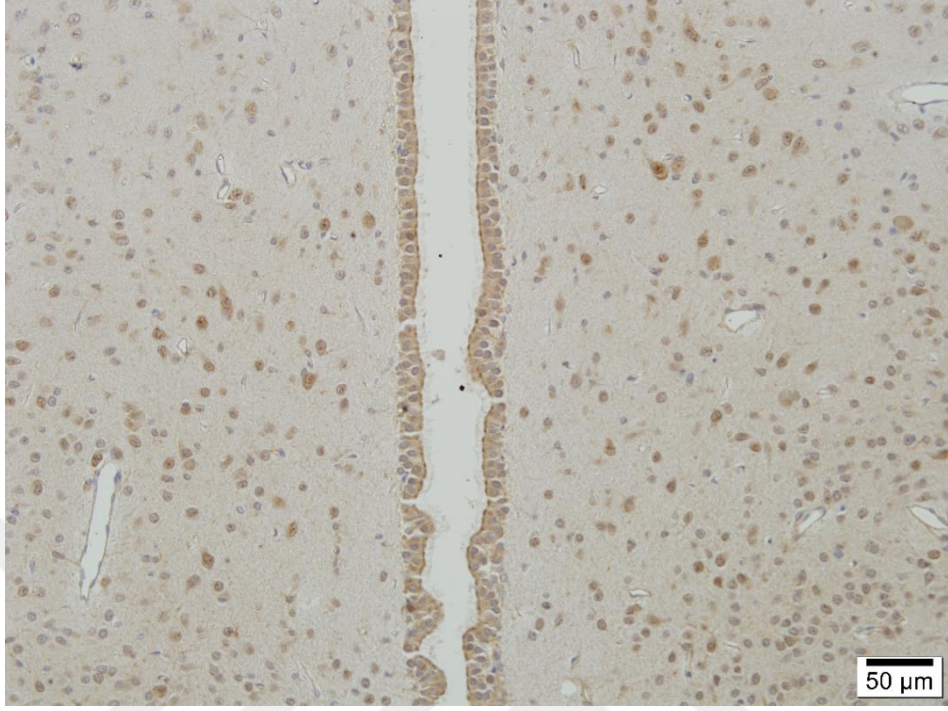
4.4. Ki67 immunreaktivitesi

Sıçan beyin SVZ bölümlerinde Ki67 immunreaktivitesini ortaya koymak bu dokulara anti-Ki67 primer antikoru uygulayarak Strept-avidin immunoperoksidaz boyama gerçekleştirilmiştir.

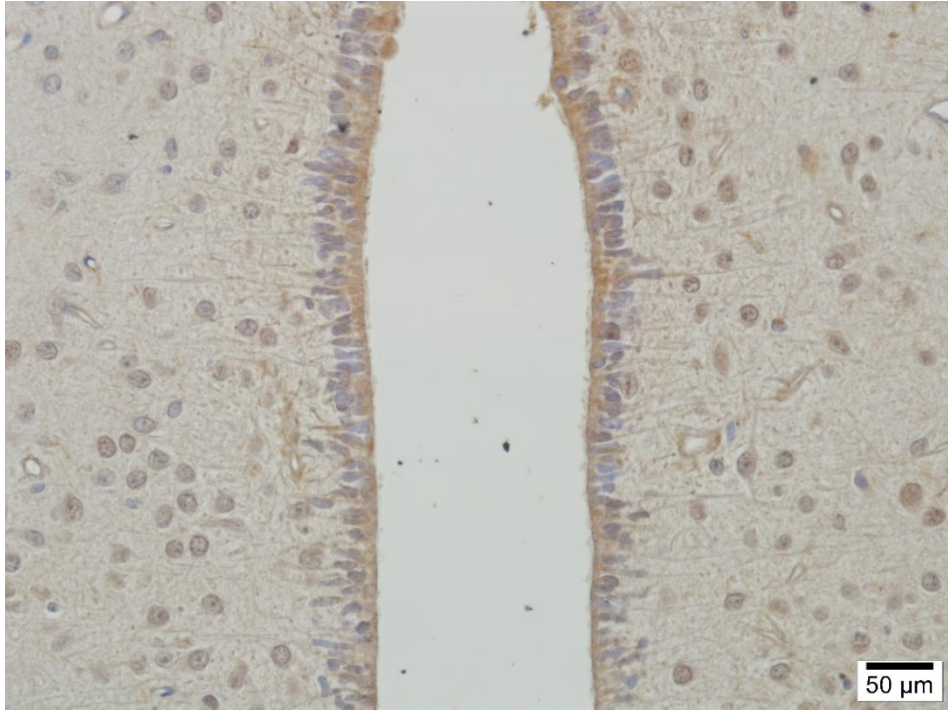
Yapılan boyamalar sonucunda hem kontrol gruplarında hem de MTX ve MTX + HB deney gruplarındaki hayvanların SVZ bölümlerindeki nöronların sitoplazmalarında Ki67 pozitif reaksiyon gözlemlendi. İmmunohistokimyasal boyamalar sonucunda, Ki67 immunreaktivitesinin MTX grubundaki nöronların sitoplazmalarında MTX + HB ve diğer kontrol gruplarına göre daha az yoğun boyandığı olduğu dikkati çekti.

Araştırma mikroskobu ile elde edilen görüntülerin Image J programı ile değerlendirilmesi sonucunda sıçanların SVZ bölümlerindeki yapılarının incelenmesinde kontrol grupları ve MTX + HB grubuna göre MTX grubunda alan boyanma yoğunluğu açısından anlamlı bir değişiklik belirlendi ($P < 0,05$).

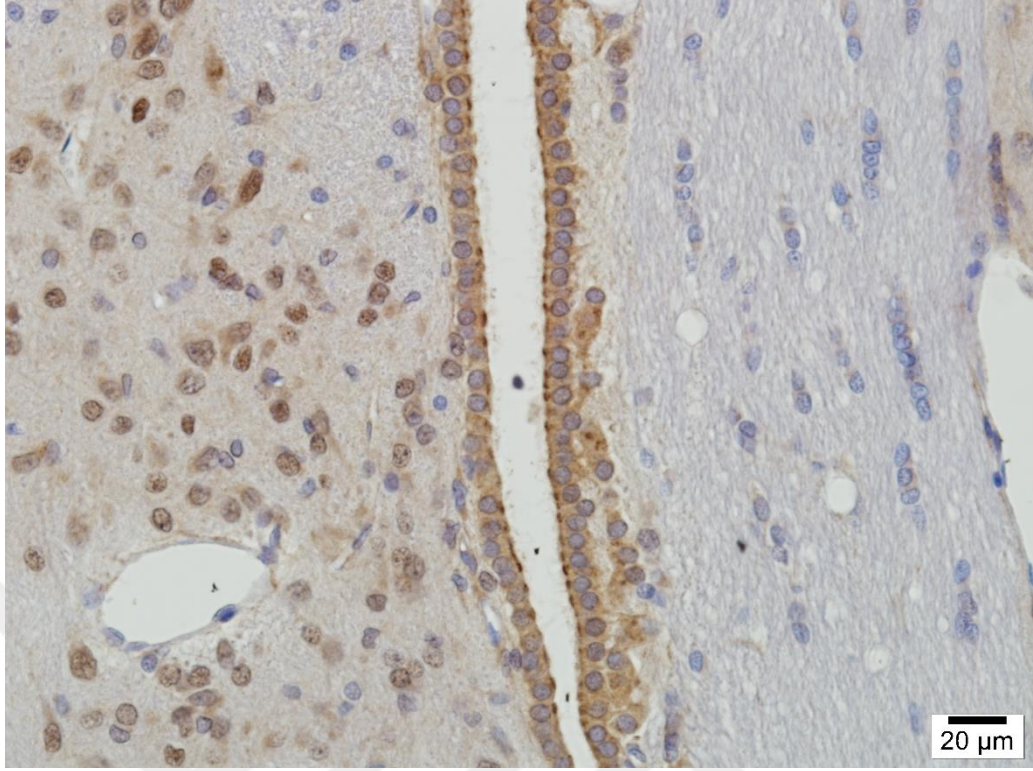
Çalışmada Ki67 immunoreaktivitesinin kontrolü için pozitif kontrol olarak sıçan akciğer ve kalp dokusu örnekleri kullanılmıştır.



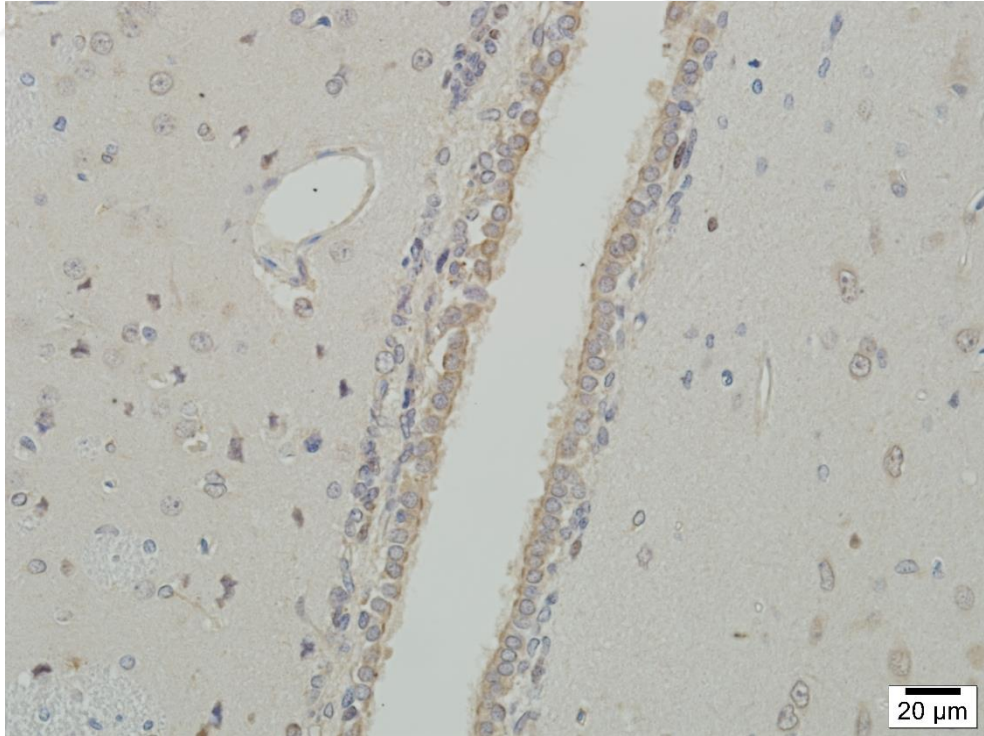
Şekil 4.22. Saline kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında Ki67 pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 50 µm.



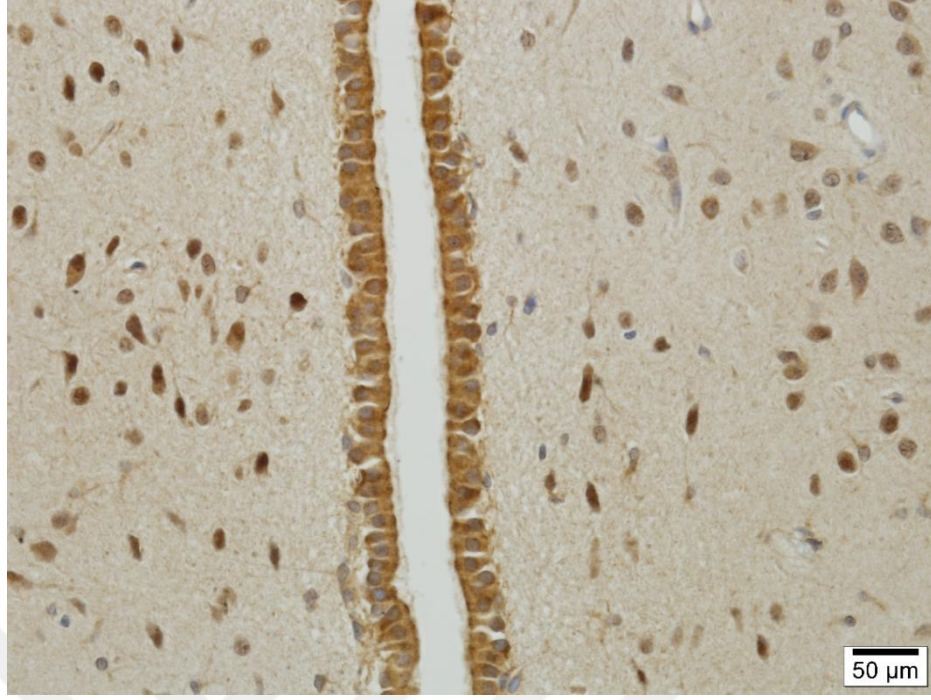
Şekil 4.23. Saline kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında Ki67 pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 50 µm.



Şekil 4.24. Hiperbarik kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında Ki67 pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.



Şekil 4.25. MTX grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında Ki67 pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.



Şekil 4.26. MTX + HB grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında Ki67 pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 50 µm.

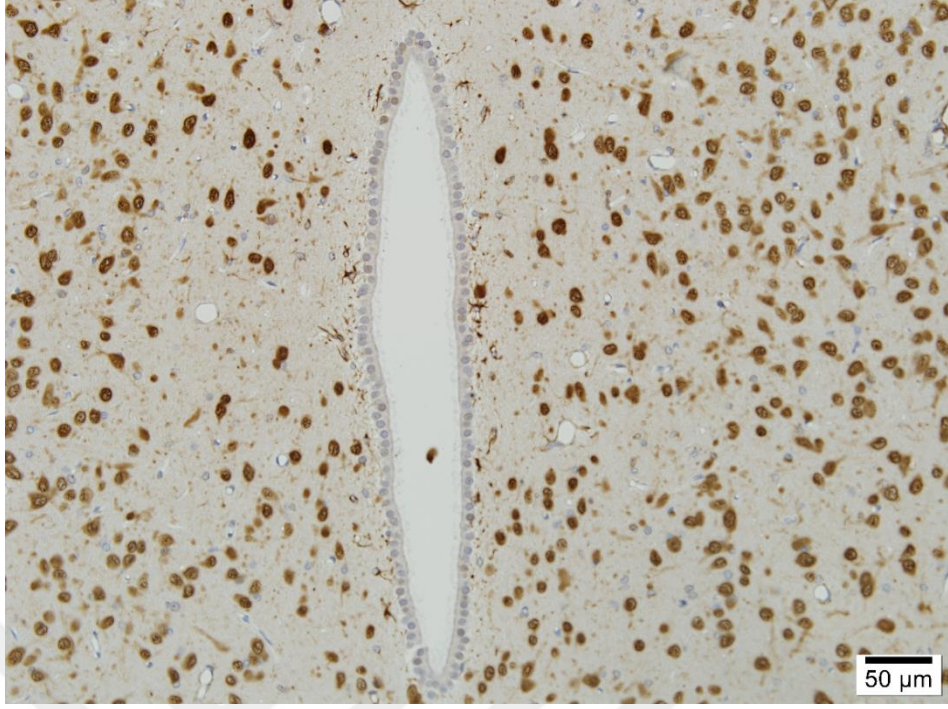
4.5. NeuN immunreaktivitesi

Sıçan beyin SVZ bölümlerinde NeuN immunreaktivitesini ortaya koymak bu dokulara anti-NeuN primer antikorları uygulayarak Strept-avidin immunoperoksidaz boyama gerçekleştirilmiştir.

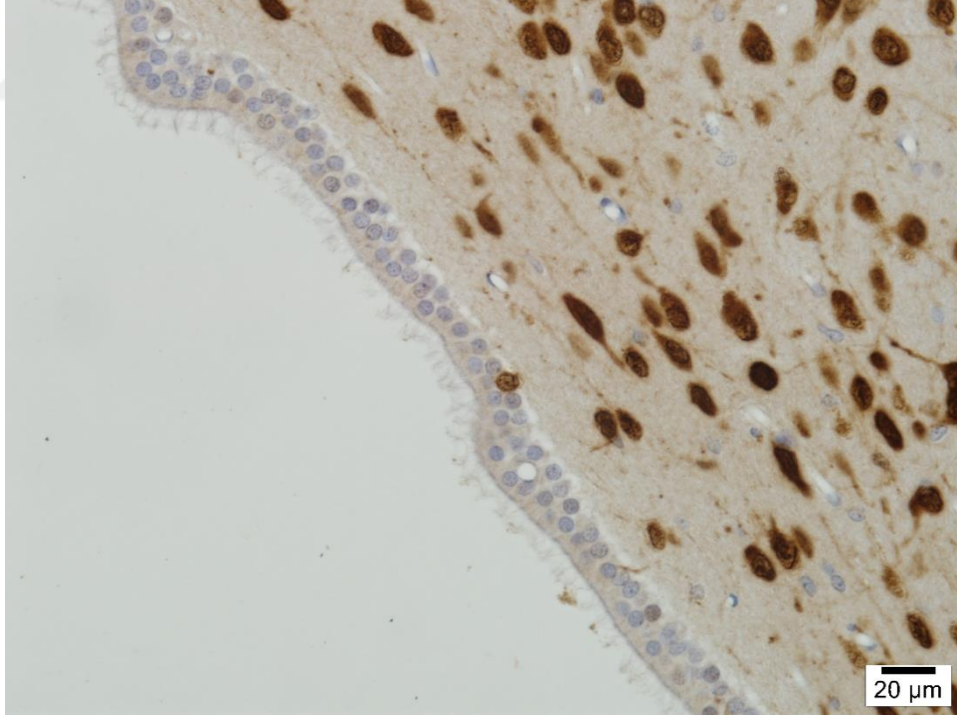
Yapılan boyamalar sonucunda hem kontrol gruplarında hem de MTX ve MTX + HB deney gruplarındaki hayvanların SVZ bölümlerindeki nöronların sitoplazmalarında NeuN pozitif reaksiyon gözlemlendi. İmmunohistokimyasal boyamalar sonucunda, NeuN immunreaktivitesinin MTX grubundaki nöronların sitoplazmalarında MTX + HB ve diğer kontrol gruplarına göre daha az yoğun boyandığı olduğu dikkati çekti.

Araştırma mikroskobu ile elde edilen görüntülerin Image J programı ile değerlendirilmesi sonucunda sıçanların SVZ bölümlerindeki yapılarının incelenmesinde kontrol grupları ve MTX + HB grubuna göre MTX grubunda alan boyanma yoğunluğu açısından anlamlı bir değişiklik belirlendi ($P < 0,05$).

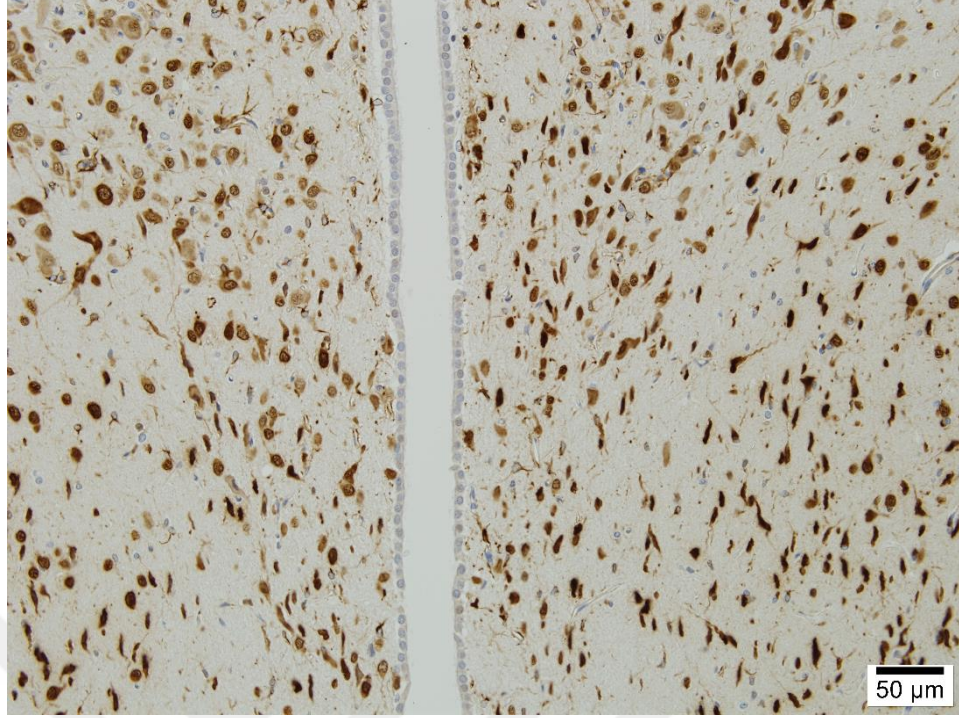
Çalışmada NeuN immunreaktivitesinin kontrolü için pozitif kontrol olarak fare beyin dokusu örnekleri kullanılmıştır.



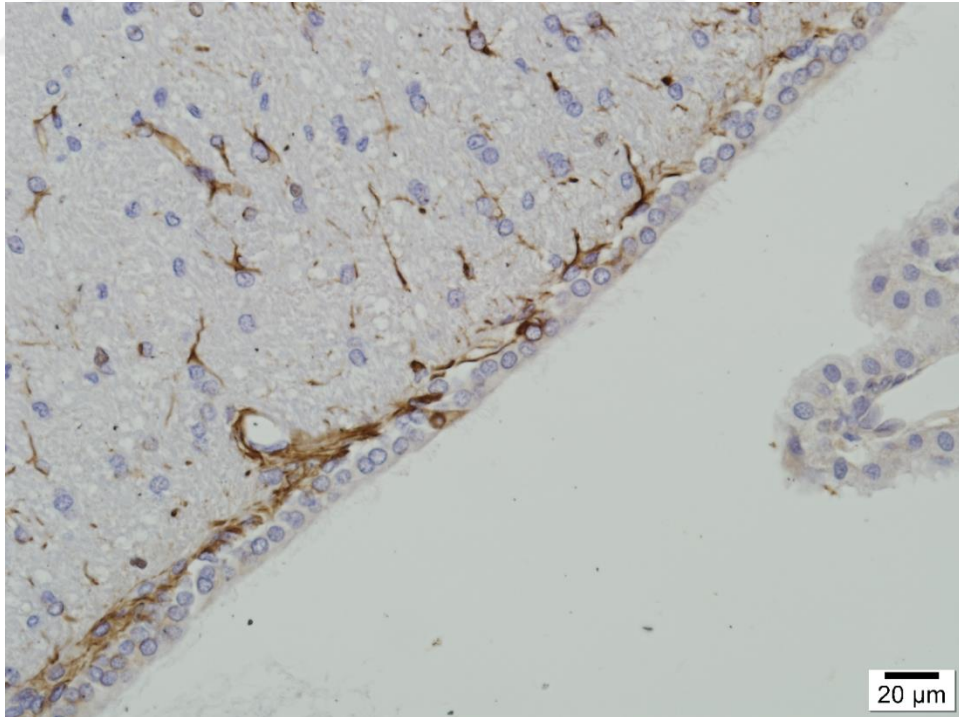
Şekil 4.27. Saline kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında NeuN pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 50 µm.



Şekil 4.28. Hiperbarik kontrol grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında NeuN pozitif hücre, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.



Şekil 4.29. MTX grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında NeuN pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 50 µm.



Şekil 4.30. MTX + HB grubuna ait bir sıçan beyninin 3. ventrikül duvarında NeuN pozitif hücreler, Strept-avidin immunoperoksidaz boyaması, DAB, Bar; 20 µm.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Metotreksat (MTX), hayvan modellerinde hafıza ve hipokampal nörojenez üzerinde olumsuz etkisi olan kemoterapötik bir ilaçtır (Sritawan ve ark., 2023). Postnatal MTX maruziyetinin merkezi sinir sistemi üzerindeki etkisini gösteren birkaç çalışma vardır. 6 günlük Postnatal sıçanlar üzerinde MTX tedavisi apoptozu indüklemiş ve dış granüler hücrelerin hücre proliferatif aktivitesini azaltmıştır; sıçanlarda serebellar hipoplazi ile sonuçlanmıştır (Sugiyama ve ark., 2015). Yetişkin fare hipokampusünde Ki-67-pozitif hücrelerin ve çift kortin (olgunlaşmamış progenitör nöron belirteci) pozitif hücrelerin sayısını MTX azaltmıştır (Yang ve ark., 2011). İki günlük sıçanlar subkutan metotreksat (MTX) 5 mg/kg ve 150 mg/kg enjeksiyonları ile tedavi edilmiştir ve rostral göç akımları (RMS) zamana bağlı olarak incelendiğinde RMS'nin 2 günlük postnatal sıçanlar üzerinde büyük miktarda folik asit gerektirdiğini ve folik asit gereksiniminin RMS'nin anatomik bölgesine bağlı olarak farklılaştığını göstermiştir (Hirako ve ark., 2015). Yapılan başka bir çalışmada güçlü antioksidan kapasiteye sahip antidiyabetik bir ilaç olan Metforminin MTX'in neden olduğu bellek bozulmalarını ve nörojenezini iyileştirdiği; metotreksat (MTX) verilen sıçanların da SGZ'de Sox2 ve nestin-pozitif hücrelerinin azalma gösterdiği ve metforminin metotreksatın olumsuz etkilerini azalttığı görülmüştür (Sritawan ve ark., 2023). Hesperidinin (Hsd'nin) MTX'e bağlı hafıza ve nörojenez bozukluklarına karşı koruyucu etkileri araştırılan bir çalışmada erkek Sprague Dawley sıçanları, 8. ve 15. günlerde intravenöz (i.v.) enjeksiyon yoluyla tek doz MTX (75 mg / kg) veya 21 gün boyunca oral gavaj ile Hsd (100 mg / kg) ile uygulanmıştır ve yeni nesne konumu (NOL), yeni nesne tanıma (NOR) görevleri kullanılarak bellekleri test edilmiştir. Hücre proliferasyonunu, sağkalımını ve olgunlaşmamış nöronları değerlendirmek için Ki-67, bromodeoksiüridin (BrdU) ve

doublekortinin (DCX) immünofloresan boyaması yapılmıştır. Veriler, Hsd ve MTX'in lokomotor yeteneği bozmadığını göstermiştir. Metotreksat (MTX) hayvanları her iki hafıza testinde de bellekte bozulmalar görülmüştür ve MTX hayvanlarında hücre çoğalması, hayatta kalma ve olgunlaşmamış nöronların sayısında önemli düşüşler olmuştur. Bununla birlikte, MTX ve Hsd ile birlikte uygulama, hafıza kaybını ve nörogenez düşüşünü hafiflettiği görülmüştür. Hesperidinin (Hsd'nin) hayvanlarda MTX yan etkilerine karşı koruma sağlayabileceğini ortaya koymuştur (Naewla ve ark., 2019).

Albino Wistar dişi sıçanlar rastgele sağlıklı kontrol, resveratrol + MTX ve metotreksat (MTX) olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Yumurtalıkları çıkarıldı ve oksidatif over hasarının değerlendirilmesinde biyokimyasal ve histopatolojik yöntemlerden yararlanılmıştır. Özellikle resveratrol ile yapılan ön tedavinin MTX'e bağlı yumurtalık hasarına karşı koruyucu etki sağladığı görülmüştür (Ata ve ark., 2019). Sıklıkla adjuvan kemoterapi olarak MTX diğer ilaçlarla kombinasyon halinde kullanılır, ancak hatırlama, öğrenme, konsantre olma veya karar verme güçlüğü gibi bilişsel bozukluklara yol açabilmektedir (Falleti ve ark., 2005; Matsuda ve ark., 2005; Winocour ve ark., 2015). Ek olarak kanser hastalarının sağlığını ve işlevlerini etkileyen farklı semptomları da tetikleyebilir (Dietrich ve ark., 2015; Lange ve ark., 2014; Seigers ve ark., 2010).

Dihidrofolat redüktazı (DHFR) inhibe ederek bilişsel bozulmaya neden olur, böylece tetrahidrofolatın (THF; folik asidin aktif bir formu) rejenerasyonunu bozar ve folik asit eksikliğine ve DNA sentezinde ve hücre proliferasyonunda bozulmalara yol açar (Strober ve ark., 2005). Aynı zamanda, hayvan modellerinde yetişkin hipokampüsün dentat girusunda çoğalan hücrelerdeki azalmalar ve yeni nöronların hayatta kalması ile ilgili olan uzamsal çalışma belleği üzerindeki çoğalma etkisindeki azalmalarla ilişkili olan mekansal çalışma belleği üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir (Lyons ve ark., 2011; Seigres ve ark., 2009; Seigres ve ark., 2008; Wen ve ark., 2018; Yang ve ark., 2011). Metforminin hafıza, hücre proliferasyonu, hücre sağkalımı ve MTX kemoterapisinin yol açtığı olgunlaşmamış nöron bozulması üzerindeki önleyici etkisi sıçan modelinde gösterilmiştir (Nataya ve ark., 2020).

Erkek Sprague-Dawley sıçanlar kontrol, MTX, metformin ve MTX+metformin şeklinde gruplandırılmıştır. 7. ve 14. günlerde MTX (75 mg/kg, i.v.), metformin (200 mg/kg, i.p.) ise 14. günlerde verilmiştir. Kaspaz-3 ve Bax düzeylerinde artışlar ve hipokampusta PSD95, Bcl-2, CREB ve pCREB protein ekspresyonlarında azalmalar da tespit edilmiştir. Bununla birlikte, MTX'in bu olumsuz etkilerinin metformin ile tedavi edilerek iyileştiği görülmüştür. Metforminin nöral kök hücreleri, sinaptik plastisiteyi, azalmış apoptotik aktiviteleri ve transkripsiyon faktörlerini artırma potansiyeline sahip olduğunu ve MTX ile tedavi edilen sıçanlarda hipokampal nörogenezin yukarı regülasyonuna neden olabileceğini göstermektedir (Nataya ve ark., 2023).

Kök hücre proliferasyonu, HBOT'u takiben çeşitli metotlarla belgelenmiştir ve son yirmi yılda nöronal hücre proliferasyonu için kanıtlar ortaya çıkmıştır (Milanova ve ark., 2009; Thom ve ark., 2011; Yang ve ark., 2008). Hipoksik iskemik yenidoğan sıçanları için HBOT, SVZ'de ve DG'de hem 5-bromo-2'-deoksiüridin (BrdU) hem de doublekortin'deki artışla ölçülmüş, endojen nöronal kök hücrelerin nörogenezini de teşvik etmiştir. Buna göre, HBOT travmatik beyin hasarı olan sıçanlarda mekansal öğrenme ve hafıza yeteneklerini geliştirmiştir (Liu ve ark., 2013). Bu, hipokampal nöronal aktivitedeki bir artışla ilişkili olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, DG'de nestin ve BrdU'da bir artış olduğunu göstermiş (Wei ve ark., 2015). Subventriküler bölgede de (SVZ'de) Wnt-3 ve nestin yükselmesi ile ortaya konmuştur (Wang ve ark., 2007). HBOT'un travmatik beyin hasarından iyileşmeye mekanik katkısını incelemeyi amaçlayan bir çalışmada, HBOT'un nöronal kök hücre proliferasyonunu ve lezyon alanına göçün yanı sıra vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve reseptörü VEGFR-2, Raf-1, Mitojenle aktive protein kinaz (MEK1/2) ve fosfo-hücre dışı sinyal düzenlemeli kinaz (ERK), 1/2 protein seviyelerini arttırdığı bulunmuştur (Yang ve ark., 2008). Vasküler demans için bir sıçan modelinde, HBOT piriform kortekste nörogenezi uyarılmış ve kan akışını iyileştirmiştir (Zhang ve ark., 2010). Ayrıca kemik iliği kök hücrelerinin iskemik bir alana mobilizasyonunu, beyin ve nöronal iyileşmeyi teşvik edebilen, nörogenezi artırabilen trofik faktörlerin salınımını arttırdığı gösterilmiştir (Lee ve ark., 2013). Yetişkin DG'deki olgunlaşmamış nöronların, doğru sensiomotor korteksin emme ablasyon yaralanması yoluyla çıkarıldığı hayvanlara karşı savunmasızlığını azaltarak HBOT'un koruyucu bir

etkisini göstermektedir (Jeremic ve ark., 2023). Literatürdeki bu bilgiler ışığında çalışmamızda folik asit yetersizliği aracılığı ile subventriküler bölgedeki bozulan nörojeneze hiperbarik oksijen tedavisinin etkisi immünohistokimyasal yöntemle hücresel düzeyde incelenmiştir. Sonuç olarak metotreksat verilen grupta salin ve hiperbarik oksijen verilen gruba göre tüm antikorlar için immunohistokimyasal boyama yoğunluğunun azaldığı görülmüştür. Buna karşın metotreksat ile oluşturulan hasar sonrası hiperbarik oksijen uygulanan grubun da metotreksat ile hasar oluşturulan gruba göre immunohistokimyasal boyama yoğunluğunun fazla olduğu görülürken yalnızca salin ve sadece hiperbarik oksijen grupları ile kıyaslandığında boyama yoğunluklarının yakın olduğu görülmüştür. Yapılan bu çalışma hiperbarik oksijen uygulamasının metotreksat kullanımını gerektiren hastalıklarda olası nörotoksik etkileri önleyici bir seçenek olabileceği öne sürülmüştür. Ayrıca ileride oluşabilecek bazı nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi için yeni bir alternatif tedavi yönteminin önünün açılması hedeflenmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Adachi K, Mirzadeh Z, Sakaguchi M, Yamashita T, Nikolcheva T, Gotoh Y, Peltz G, Gong L, Kawase T, Alvarez-Buylla A, Okano H, Sawamoto K. Beta-catenin signaling promotes proliferation of progenitor cells in the adult mouse subventricular zone. *Stem Cells*, 2007; 25(11): 2827-2836.
- Aguirre A, Rubio ME, Gallo V. Notch and EGFR pathway interaction regulates neural stem cell number and self-renewal. *Nature*, 2010; 467(7313): 323-327.
- Aktaş Ş: Sualtı ve hiperbarik tıp uzmanlığı ile ilgili hukuksal durum. 4. Ulusal Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Tıp Kurultayı. 28-29 Nisan 2011 GHEH, Selçuk Lokman Toplantı Salonu, Toplantı Kitabı, yazarlar: Ş. Yıldız, S. Metin. s.: 58-64. İstanbul.
- Alfonso J, Le Magueresse C, Zuccotti A, Khodosevich K, Monyer H. Diazepam binding inhibitor promotes progenitor proliferation in the postnatal SVZ by reducing GABA signaling. *Cell Stem Cell*, 2012; 10(1): 76-87.
- Altman J, Das GD. Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J Comp Neurol*, 1965; 124(3): 319-335.
- Ameen M, Taylor DA, Williams IP, Wells AU, Barker JN. Pneumonitis complicating methotrexate therapy for pustular psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2001; 15(3): 247-249.
- Anderson-Hanley C, Sherman ML, Riggs R, Agocha VB, Compas BE. Neuropsychological effects of treatments for adults with cancer: a meta-analysis and review of the literature. *J Int Neuropsychol Soc*, 2003; 9(7): 967-982.
- Andreu-Agulló C, Morante-Redolat JM, Delgado AC, Fariñas I. Vascular niche factor PEDF modulates Notch-dependent stemness in the adult subependymal zone. *Nat Neurosci*, 2009; 12(12): 1514-1523.
- Arıncı K, Elhan A. *Anatomi* (2.baskı). Güneş Kitabevi, Ankara 2001; s.:50-99.

- Attia AAA, Amer MAEM, Hassan M, Din SFG. Low serum folic acid can be a potential independent risk factor for erectile dysfunction: a prospective case-control study. *Int Urol Nephrol*, 2019; 51(2): 223-229.
- Babcock KR, Page JS, Fallon JR, Webb AE. Adult Hippocampal Neurogenesis in Aging and Alzheimer's Disease. *Stem Cell Rep*, 2021; 16(4): 681-693.
- Bailey SW, Ayling JE. The extremely slow and variable activity of dihydrofolate reductase in human liver and its implications for high folic acid intake. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009; 106(36): 15424-15429.
- Banasr M, Hery M, Printemps R, Daszuta A. Serotonin-induced increases in adult cell proliferation and neurogenesis are mediated through different and common 5-HT receptor subtypes in the dentate gyrus and the subventricular zone. *Neuropsychopharmacology*, 2004; 29(3): 450-460.
- Barnea A, Nottebohm F. Seasonal recruitment of hippocampal neurons in adult free-ranging black-capped chickadees. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994; 91(23): 11217-11221.
- Bedoui Y, Guillot X, Sélambarom J, Guiraud P, Giry C, Jaffar-Bandjee MC, Ralanison S, Gasque P. Methotrexate an old drug with new tricks. *International journal of molecular sciences*, 2019; 20(20): 1-32.
- Bentur Y, Lurie Y. Methotrexate. In: Brent J, Burkhat K, Dargan P, Hatten B, Megarbane B, Palmer R, White J (eds). *Critical Care Toxicology, Diagnosis and Management of the critically Poisoned Patient* (2nd ed). Springer Cham, 2017. p.: 1171-1281.
- Bernal A, Arranz L. Nestin-expressing progenitor cells: function, identity and therapeutic implications. *Cell Mol Life Sci*, 2018; 75(12): 2177-2195.
- Biebl M, Cooper CM, Winkler J, Kuhn HG. Analysis of neurogenesis and programmed cell death reveals a self-renewing capacity in the adult rat brain. *Neurosci Lett*, 2000; 291(1): 17-20.
- Bleier R. The relations of ependyma to neurons and capillaries in the hypothalamus: a Golgi-Cox study. *J Comp Neurol*, 1971 Aug; 142(4): 439-63.
- Boldrini M, Fulmore CA, Tartt AN, Simon LR, Pavlova I, Poposka V, Rosokjia GB, Stankov A, Arango V, Dwork JA, Hen R, Mann JJ. Human Hippocampal Neurogenesis Persists throughout Aging. *Cell Stem Cell*, 2018; 22(4): 589-599.

- Bolteus AJ, Bordey A. GABA release and uptake regulate neuronal precursor migration in the postnatal subventricular zone. *J Neurosci*, 2004; 24(35): 7623-7631.
- Bondi H, Bortolotto V, Canonico PL, Grilli M. Complex and regional-specific changes in the morphological complexity of GFAP⁺ astrocytes in middle-aged mice. *Neurobiol Aging*, 2021; 100: 59-71.
- Bonfanti L, Olive S, Poulain DA, Theodosis DT. Mapping of the distribution of polysialylated neural cell adhesion molecule throughout the central nervous system of the adult rat: an immunohistochemical study. *Neuroscience*, 1992; 49(2): 419-436.
- Bonfanti L, PSA-NCAM in mammalian structural plasticity and neurogenesis. *Prog Neurobiol*, 2006; 80(3): 129-164.
- Bonfanti L, Theodosis DT. Expression of polysialylated neural cell adhesion molecule by proliferating cells in the subependymal layer of the adult rat, in its rostral extension and in the olfactory bulb. *Neuroscience*, 1994; 62(1): 291-305.
- Borsini A, Zunszain PA, Thuret S, Pariante CM. The role of inflammatory cytokines as key modulators of neurogenesis. *Trends Neurosci*, 2015; 38(3): 145-157.
- Bottomley WW, Goodfield M. Methotrexate for the treatment of severe mucocutaneous lupus erythematosus. *Br J Dermatol*, 1995; 133(2): 311-314.
- Braun N, Sévigny J, Mishra SK, Robson SC, Barth SW, Gerstberger R, Hammer K, Zimmermann H. Expression of the ecto-ATPase NTPDase2 in the germinal zones of the developing and adult rat brain. *Eur J Neurosci*. 2003; 17(7): 1355-1364.
- Brown J, Cooper-Kuhn CM, Kempermann G, Van Praag, Winkler J, Gage FH, Kuhn HG. Enriched environment and physical activity stimulate hippocampal but not olfactory bulb neurogenesis. *Eur J Neurosci*, 2003; 17(10): 2042-2046.
- Brown JP, Couillard-Després S, Cooper-Kuhn CM, Winkler J, Aigner L, Kuhn HG. Transient expression of doublecortin during adult neurogenesis. *J Comp Neurol*, 2003; 467(1): 1-10.

- Budak ET. Deneysel olarak gram negatif sepsis oluşturulan sıçanlarda hiperbarik oksijen tedavisinin (HBO) ve tedavi zamanlamasının etkinliği. Tıpta Uzmanlık Tezi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, İstanbul, 2007.
- Camporesi EM, Bosco G. Mechanisms of action of hyperbaric oxygen therapy. Undersea and hyperbaric medicine. journal of the Undersea and Hyperbaric Medical Society, Inc, 2014; 41(3), 247-252.
- Chaker Z, Codega P, Doetsch FA. Mosaic world: Puzzles revealed by adult neural stem cell heterogeneity. Wiley Interdiscip Rev Dev Biol, 2016; 5: 640-658.
- Chalupsky K, Cai H. Endothelial dihydrofolate reductase: critical for nitric oxide bioavailability and role in angiotensin II uncoupling of endothelial nitric oxide synthase. Proc Natl Acad Sci, 2005; 102(25): 9056-9061.
- Chan JA, Zhang H, Roberts PS, Jozwiak S, Wieslawa G, Levin-Kowelik J, Kowiska K, Kwiatkowski DJ. Pathogenesis of tuberous sclerosis subependymal giant cell astrocytomas: biallelic inactivation of TSC1 or TSC2 leads to mTOR activation. J Neuropathol Exp Neurol, 2004; 63(12): 1236-1242.
- Chen HC, Ma YZ, Cao JX, Zhang, YS, Zhang L, Gao LP, Jing YH. Synergistic effects of hIAPP and A β 1-42 impaired the olfactory function associated with the decline of adult neurogenesis in SVZ. Neuropeptides, 2022; 96: 102268.
- Chen Z, Palmer TD. Differential roles of TNFR1 and TNFR2 signaling in adult hippocampal neurogenesis. Brain Behav Immun, 2013; 30: 45-53.
- Chilton JK. Molecular mechanisms of axon guidance. Dev Biol, 2006; 292(1): 13-24.
- Codega P, Silva-Vargas V, Paul A, Maldonado-Soto AR, Deleo AM, Pastrana E, Doetsch F. Prospective identification and purification of quiescent adult neural stem cells from their in vivo niche. Neuron, 2014; 82(3): 545-559.
- Conover JC, Doetsch F, Garcia-Verdugo JM, Gale NW, Yancopoulos GD, Alvarez-Buylla A. Disruption of Eph/ephrin signaling affects migration and proliferation in the adult subventricular zone. Nat Neurosci, 2000; 3(11): 1091-1097.
- Coppola A, Liu ZW, Andrews ZB, Paradis E, Roy MC, Friedman JM. A central thermogenic-like mechanism in feeding regulation: an interplay between arcuate nucleus T3 and UCP2. Cell Metab. 2007 Jan; 5(1): 21-33.

- Craig CG, Tropepe V, Morshead CM, Reynolds BA, Weiss S, Van Der Kooy D. In vivo growth factor expansion of endogenous subependymal neural precursor cell populations in the adult mouse brain. *J Neurosci*, 1996; 16(8): 2649-2658.
- Curtis MA, Monzo HJ, Faull RL. The rostral migratory stream and olfactory system: smell, disease and slippery cells. *Prog Brain Res*, 2009; 175: 33-42.
- Cutolo M, Sulli A, Pizzorni C, Seriolo B, Straub RH. Anti-inflammatory mechanisms of methotrexate in rheumatoid arthritis. *AnnRheumDis*, 2001; 60: 729-735.
- Czeizel AE, Dudás I. Prevention of the first occurrence of neural-tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *N Engl J Med*, 1992; 327(26): 1832-1835.
- Çakır T, Özkan E, Dulundu E, Topaloğlu Ü, Şehirli AÖ, Ercan F, Şener E, Şener, G. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) prevents methotrexate-induced hepatorenal oxidative injury in rats. *J Pharm Pharmacol*, 2011; 63(12): 1566-1571.
- Çimşit M. Basınç Odaları (1.basım): Hiperbarik Tıp Teori ve Uygulama. Eflatun Yayınevi, Ankara 2009; s.: 13-22.
- Das S, Basu A. Inflammation: a new candidate in modulating adult neurogenesis. *J Neurosci Res*, 2008; 86(6): 1199-1208.
- Davis JC, Hunt TK. *Hyperbaric Oxygen Therapy*, preface and background, Undersea Medical Society Inc, Maryland 1977.
- Didier M, Harandi M, Aguera M, Bancel B, Tardy M, Fages C, Calas A, Stagaard M, Mollgard K, Belin MF. Differential immunocytochemical staining for glial fibrillary acidic (GFA) protein, S-100 protein and glutamine synthetase in the rat subcommissural organ, nonspecialized ventricular ependyma and adjacent neuropil. *Cell Tissue Res*, 1986; 245(2): 343-351.
- Dietrich J, Prust M, Kaiser J. Chemotherapy, cognitive impairment and hippocampal toxicity. *Neuroscience*, 2015; 309: 224-232.
- Doetsch F, Caillé I, Lim DA, García-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell*, 1999; 97(6): 703-716.

- Doetsch F, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Cellular composition and three-dimensional organization of the subventricular germinal zone in the adult mammalian brain. *J Neurosci*, 1997; 17(13): 5046-5061.
- Doetsch F, Petreanu L, Caille I, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. EGF converts transit-amplifying neurogenic precursors in the adult brain into multipotent stem cells. *Neuron*, 2002; 36(6): 1021-1034.
- Emsley JG, Hagg T. $\alpha 6 \beta 1$ integrin directs migration of neuronal precursors in adult mouse forebrain. *Exp Neurol*, 2003; 183(2): 273-285.
- Erboga M, Aktas C, Erboga Z. F, Donmez Y. B, Gurel A. Quercetin ameliorates methotrexate-induced renal damage, apoptosis and oxidative stress in rats. *Renal Failure*, 2015; 37(9): 1492-1497.
- Eriksson PS, Perfilieva E, Björk-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA, Gage FH. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med*, 1998; 4(11): 1313-1317.
- Faesecke K. Arbeit in Überdruck. In: Die Forschungsarbeiten von Arthur und Adele Bornstein beim Bau des ersten Hamburger-Elbtunnels Dissertation Universität Hamburg. Med Diss, Hamburg 1997; 1909-1910.
- Falleti MG, Sanfilippo A, Maruff P, Weih L, Phillips KA. The nature and severity of cognitive impairment associated with adjuvant chemotherapy in women with breast cancer: a meta-analysis of the current literature. *Brain Cogn*, 2005; 59(1): 60-70.
- Farber S, Diamond LK, Mercer RD, Sylvester RF, Wolff JA. Temporary remissions in acute leukemia in children produced by folic acid antagonist, 4-aminopteroyl-glutamic acid. *N Engl J Med*, 1948; 238(23): 787-793.
- Fernando RN, Eleuteri B, Abdelhady S, Nussenzweig A, Andäng M, Ernfors P. Cell cycle restriction by histone H2AX limits proliferation of adult neural stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011; 108(14): 5837-5842.
- Ferrón SR, Charalambous M, Radford E, McEwen K, Wildner H, Hind E, Morante-Redolat JM, Laborda J, Guillemot F, Bauer SR, Fariñas I, Ferguson-Smith AC. Postnatal loss of Dlk1 imprinting in stem cells and niche astrocytes regulates neurogenesis. *Nature*, 2011; 475(7356): 381-385.

- Filippov V, Kronenberg G, Pivneva T, Reuter K, Steiner B, Wang PL, Yasamagchi M, Kettenmann H, Kempermann G. Subpopulation of nestin-expressing progenitor cells in the adult murine hippocampus shows electrophysiological and morphological characteristics of astrocytes. *Mol Cell Neurosci*, 2003; 23(3): 373-382.
- Francis F, Koulakoff A, Boucher D, Chafey P, Schaar B, Vinet MC, Friocourt G, McDonnell N, Reiner O, Kahn A, McConnell SK, Berwald-Netter Y, Denoulet P, Chelly J. Doublecortin is a developmentally regulated, microtubule-associated protein expressed in migrating and differentiating neurons. *Neuron*, 1999; 23(2): 247-256.
- Fuster-Matanzo A, Llorens-Martín M, Hernández F, Avila J. Role of neuroinflammation in adult neurogenesis and Alzheimer disease: therapeutic approaches. *Mediators Inflamm*, 2013; 2013: 260925.
- Gage GJ, Kipke DR, Shain W. Whole animal perfusion fixation for rodents. *J Vis Exp*, 2012; (65): 3564.
- Galivan J, Balinska M. Studies of formation and efflux of methotrexate polyglutamates with cultured hepatic cells. In: Folyl and Antifolyl Polyglutamates. Springer, 1983: 235.
- Gamba G. Molecular physiology and pathophysiology of electroneutral cation-chloride cotransporters. *Physiol Rev*, 2005; 85(2): 423-493.
- Garrabou G, Inoriza JM, Morén C, Oliu G, Miró Ò, Marti MJ, Cardellach F. Hyperbaric oxygen therapy for carbon monoxide poisoning. *Intensive Care Med*, 2011; 37(10): 1711- 1712.
- Garthe A, Behr J, Kempermann G. Adult-generated hippocampal neurons allow the flexible use of spatially precise learning strategies. *PLoS ONE*, 2009; 4: e0005464.
- Gasse H. Hagen Gasse, chair of the International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature, responds. *Vet Rec*, 2020; 186(17): e17.
- Ge S, Goh EL, Sailor KA, Kitabatake Y, Ming GL, Song H. GABA regulates synaptic integration of newly generated neurons in the adult brain. *Nature*, 2006; 439(7076): 589-593.

- Gertler R, Brown HC, Mitchell DH, Silvius EN. Dexmedetomidine: a novel sedative-analgesic agent. *Proc Bayl Univ Med Cent*, 2001; 14; 13-21.
- Gleeson JG, Allen KM, Fox JW, Lamperti ED, Berkovic S, Scheffer I, Cooper EC, Dobyns WB, Minnerath SR, Ross ME, Walsh CA. doublecortin, a brain-specific gene mutated in human X-linked lissencephaly and double cortex syndrome, encodes a putative signaling protein. *Cell*, 1998; 92(1): 63-72.
- Gleeson JG, Lin PT, Flanagan LA, Walsh CA. Doublecortin is a microtubule-associated protein and is expressed widely by migrating neurons. *Neuron*, 1999; 23(2): 257-71.
- Goldman SA, Nottebohm F. Neuronal production, migration, and differentiation in a vocal control nucleus of the adult female canary brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 80(8), 1983; 2390-2394.
- Gonçalves JT, Schafer ST, Gage FH. Adult Neurogenesis in the Hippocampus: From Stem Cells to Behavior. *Cell*, 2016; 167(4): 897-914.
- Green R, Datta Mitra A. Megaloblastic Anemias: Nutritional and Other Causes. *Med Clin North Am*, 2017; 101(2): 297-317.
- Greenberg DA, Jin K. From angiogenesis to neuropathology. *Nature*, 2005; 438(7070): 954-959.
- Greensmith JE. Hyperbaric oxygen therapy in extremity trauma. *J Am Acad Orthop Surg*, 2004; 12(6): 376-384.
- Hamed KM, Dighriri IM, Baomar AF, Alharthy BT, Alenazi FE, Alali GH, Alenazy RH, Alhumaidi NT, Alhulayfi DH, Alotaibi YB, Alhumaidan SS, Alhaddad ZA, Humadi AA, Alzahrani SA, Alzahrani S. Overview of methotrexate toxicity: A comprehensive literature review. *Cureus*, 2022; 14(9): 1-9.
- Hassani SN, Moradi S, Taleahmad S, Braun T, Baharvand H. Transition of inner cell mass to embryonic stem cells: mechanisms, facts, and hypotheses. *Cell Mol. Life Sci*, 2019; 76(5): 873-892.
- He J, Crews FT. Neurogenesis decreases during brain maturation from adolescence to adulthood. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2007; 86(2): 327-333.
- Herman S, Zurgil N, Deutsch M. Low dose methotrexate induces apoptosis with reactive oxygen species involvement in T lymphocytic cell lines to a greater extent than in monocytic lines. *Inflamm Res*, 2005; 54(7): 273-280.

- Hozayen WG, Ramadan SM, Fadel A, Mahmoud AM, Berberine mitigates methotrexate-induced oxidative stress and inflammation in the cerebrum of rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2017; 7: 43-49.
- Hu H, Tomasiewicz H, Magnuson T, Rutishauser U. The role of polysialic acid in migration of olfactory bulb interneuron precursors in the subventricular zone. *Neuron*, 1996; 16(4): 735- 743.
- Huang X, Fang Q, Rao T, Zhou L, Zeng X, Tan Z, Chen L, Ouyang D. Leucovorin ameliorated methotrexate induced intestinal toxicity via modulation of the gut microbiota. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2020; 391: 114900.
- Hussein AK. Nomenclature and descriptive anatomy of the olfactory bulb fissure and definition of the olfactory bulb dimensions in dogs using in vivo mri. *Int J Adv Res*, 2019; 7: 1120-1125.
- Ichi S, Costa FF, Bischof JM, Nakazaki H, Shen YW, Boshnjaku V, Sharma S, Mania-Farnell B, McLone DG, Tornita T, Soares MB, Mayanil CSK. Folic acid remodels chromatin on Hes1 and Neurog2 promoters during caudal neural tube development. *J Biol Chem*, 2010; 285(47): 36922-36932.
- Ikeda M, Hirota Y, Sakaguchi M, Yamada O, Kida YS, Ogura T, Otsuka T, Okano H, Sawamoto K. Expression and proliferation-promoting role of Diversin in the neuronally committed precursor cells migrating in the adult mouse brain. *Stem Cells*, 2010; 28(11): 2017-2026.
- Ikegaya S, Iga Y, Mikawa S, Zhou L, Abe M, Sakimura K, Sato K, Yamagishi S. Decreased Proliferation in the Neurogenic Niche, Disorganized Neuroblast Migration, and Increased Oligodendrogenesis in Adult Netrin-5-Deficient Mice. *Front. Neurosci*, 2020: 14; 570974.
- Imayoshi I, Sakamoto M, Yamaguchi M, Mori K, Kageyama R. Essential roles of Notch signaling in maintenance of neural stem cells in developing and adult brains. *J Neurosci*, 2010; 30(9): 3489-3498.
- Ingham PW, McMahon AP. Hedgehog signaling in animal development: paradigms and principles. *Genes Dev*. 2001; 15(23): 3059-3087.
- Jain KK. Physical, Physiological, and Biochemical Aspects of Hyperbaric Oxygenation. In: Jain KK Textbook Of Hyperbaric Medicine (3rd ed). Hogrefe&Huber Publishers, Seattle, Toronto, Bern, Göttingen, 1999; p.: 9-20.

- Jain KK. Physical, Physiological, and Biochemical Aspects of Hyperbaric Oxygenation. In: Textbook of Hyperbaric Medicine (6 th ed). Springer Cham, 2017; p.: 11-22.
- Jeremic R, Pekovic S, Lavrnja I, Bjelobaba I, Djelic S, Brkic P. Hyperbaric Oxygenation Prevents Loss of Immature Neurons in the Adult Hippocampal Dentate Gyrus Following Brain Injury. *Int J Mol Sci*, 2023; 24(5): 4261.
- Jin K, Zhu Y, Sun Y, Mao XO, Xie L, Greenberg DA. Vascular endothelial growth factor (VEGF) stimulates neurogenesis in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002; 99(18): 11946-11950.
- Jurkowski MP, Bettio L, K Woo E, Patten A, Yau SY, Gil-Mohapel J. Beyond the Hippocampus and the SVZ: Adult Neurogenesis Throughout the Brain. *Front Cell Neurosci*, 2020; 14: 576444.
- Kaneko N, Marin O, Koike M, Hirota Y, Uchiyama Y, Wu JY, Lu Q, Tessier-Lavigne M, Alvarez-Buylla A, Okano H, Rubenstein JL, Sawamoto K. New neurons clear the path of astrocytic processes for their rapid migration in the adult brain. *Neuron*, 2010; 67(2): 213-223.
- Karacan K. Çocuklarda Lateral Ventrikul ve Beyin Hacminin Manyetik Rezonans İnceleme Yöntemi Kullanılarak Sereolojik Metotla Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas 2008; s.:56.
- Kavoi BM, Jameela H. Comparative Morphometry of the Olfactory Bulb, Tract and Stria in the Human, Dog and Goat. *Int. J. Morphol*, 2011; 29(3); 939-946.
- Kayaalp OS. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji (12. Baskı). Pelikan Yayıncılık, 2009; s.: 41-91.
- Kee N, Sivalingam S, Boonstra R, Wojtowicz J. The utility of Ki-67 and BrdU as proliferative markers of adult neurogenesis. *Journal of neuroscience methods*, 2002; 115(1): 97-105.
- Kempermann G, Gast D, Kronenberg G, Yamaguchi M, Gage FH. Early determination and long-term persistence of adult-generated new neurons in the hippocampus of mice. *Development*, 2003; 130(2): 391-399.
- Kempermann G, Jessberger S, Steiner B, Kronenberg G. Milestones of neuronal development in the adult hippocampus. *Trends Neurosci*, 2004; 27(8): 447-452.

- Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature*, 1997; 386(6624): 493-495.
- Kempermann G, Song H, Gage FH. Neurogenesis in the Adult Hippocampus. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2015; 7(9): a018812.
- Kesner RP. An analysis of dentate gyrus function (an update). *Behav Brain Res*, 2018; 354: 84-91.
- Khan KM, Jialal I. Folic Acid Deficiency. In: StatPearls, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, June 26, 2023.
- Kindwall EP. The Physics of Diving and Hyperbaric Pressures. In: Kindwall EP, Whelan EP (eds). *Hyperbaric Medicine Practice* (2nd Revised ed.). Best Publishing Company. USA, 2002; p.: 21-36.
- Kitabgi P, Melik-Parsadaniantz S, Rostene W. Chemokines: a new peptide family of neuromodulators. In: *Handbook of Biologically Active Peptides*, 2006; p.: 559-565.
- Kiyota T. Neurogenesis and Brain Repair. In: Ikezu T, Gendelman H (eds). *Neuroimmune Pharmacology*. Springer Cham, 2017; p.: 575-597.
- Kotur N, Lazic J, Ristivojevic B, Gasic V, Dokmanovic L, Krstovski N, Milosevic G, Janic D, Zukic B, Pavlovic S. Pharmacogenomic Markers of Methotrexate Response in the Consolidation Phase of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia Treatment. *Genes (Basel)*, 2020; 11(4): 468.
- Kozareva DA, Cryan JF, Nolan YM. Born this way: Hippocampal neurogenesis across the lifespan. *Aging Cell*, 2019; 18(5): e13007.
- Kronenberg HM. Developmental regulation of the growth plate. *Nature*, 2003; 423(6937): 332-336.
- Kuhn HG, Dickinson-Anson, Gage FH. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: Age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J Neurosci*, 1996; 16(6): 2027-2033.
- La Rosa C, Parolisi R, Bonfanti L. Brain Structural Plasticity: From Adult Neurogenesis to Immature Neurons. *Front Neurosci*, 2020; 14: 75.
- Lange M, Rigal O, Clarisse B, Giffard B, Sevin E, Barillet M, Eustache F, Joly F. Cognitive dysfunctions in elderly cancer patients: a new challenge for oncologists. *Cancer Treat Rev*, 2014; 40(6): 810-817.

- Langlet F, Mullier A, Bouret SG, Prevot V, Dehouck B. Tanycyte-like cells form a blood- cerebrospinal fluid barrier in the circumven- tricular organs of the mouse brain. *J Comp Neurol*. 2013 Oct; 521(15): 3389-3405.
- Lazarini F, Gabellec MM, Moigneu C, de Chaumont F, Olivo-Marin JC, Lledo PM. Adult neurogenesis restores dopaminergic neuronal loss in the olfactory bulb. *J Neurosci*, 2014; 34(43): 14430-14442.
- Leach RM, Rees PJ, Wilmshurst P. Hyperbaric oxygen therapy. *BMJ*, 1998; 317(7166): 1140-1143.
- Leal-Galicia P, Castañeda-Bueno M, Quiroz-Baez R, Arias C. Long-term exposure to environmental enrichment since youth prevents recognition memory decline and increases synaptic plasticity markers in aging. *Neurobiol Learn Mem*, 2008; 90(3): 511-518.
- Lin W, Hsuan YCY, Lin MT, Kuo TW, Lin CH, Su YC, Niu KC, Chang CP, Lin, HJ. Human umbilical cord mesenchymal stem cells preserve adult newborn neurons and reduce neurological injury after cerebral ischemia by reducing the number of hypertrophic microglia/macrophages. *Cell Transplantation*, 2017; 26(11): 1798-1810.
- Lipscomb GH. Medical therapy for ectopic pregnancy. *Semin Reprod Me*, 2007; 25(2): 93-98.
- Lisman JE. Relating hippocampal circuitry to function: recall of memory sequences by reciprocal dentate-CA3 interactions. *Neuron*, 1999; 22(2): 233-242.
- Liu LL, van Rijn RM, Zheng W. Copper Modulates Adult Neurogenesis in Brain Subventricular Zone. *Int J Mol Sci*, 2022; 23(17): 9888.
- Liu X, Bolteus AJ, Balkin DM, Henschel O, Bordey A. GFAP-expressing cells in the postnatal subventricular zone display a unique glial phenotype intermediate between radial glia and astrocytes. *Glia*, 2006; 54(5): 394-410.
- Liu X, Wang Q, Haydar TF, Bordey A. Nonsynaptic GABA signaling in postnatal subventricular zone controls proliferation of GFAP-expressing progenitors. *Nat Neurosci*, 2005; 8(9): 1179-1187.
- Liu YG, Kurokawa T, Sekino M, Tanabe T, Watanabe K. Complete mitochondrial DNA sequence of the ark shell *Scapharca broughtonii*: an ultra-large metazoan

- mitochondrial genome. *Comp Biochem Physiol Part D Genomics Proteomics*, 2013; 8(1): 72-81.
- Lois C, Alvarez-Buylla A. Long-distance neuronal migration in the adult mammalian brain. *Science*, 1994; 264(5162): 1145-1148.
- Lois C, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Chain migration of neuronal precursors. *Science*, 1996; 271(5251): 978-981.
- Lucas CJ, Dimmitt SB, Martin JH. Optimising low dose methotrexate for rheumatoid arthritis-A review. *Br J Clin Pharmacol*, 2019; 85(10): 2228-2234.
- Lyons L, ELBeltagy M, Bennett G, Wigmore P. Fluoxetine counteracts the cognitive and cellular effects of 5- fluorouracil in the rat hippocampus by a mechanism of prevention rather than recovery. *PLoS One*, 2012; 7(1): e30010.
- Lyons L, ElBeltagy M, Umka J, Markwick R, Startin C, Bennett G, Wigmore P. Fluoxetine reverses the memory impairment and reduction in proliferation and survival of hippocampal cells caused by methotrexate chemotherapy. *Psychopharmacology*, 2011; 215: 105-115.
- Lytle C, Forbush 3rd B. Regulatory phosphorylation of the secretory Na-K-Cl cotransporter: modulation by cytoplasmic Cl. *Am J Physiol*, 1996; 270(2 Pt 1): 437-448.
- MacEwan DJ. TNF ligands and receptors--a matter of life and death. *Br J Pharmacol*, 2002; 135(4): 855-875.
- Mahmoud AM, Hozayen WG, Ramadan SM. Berberine ameliorates methotrexate-induced liver injury by activating Nrf2/HO-1 pathway and PPAR γ , and suppressing oxidative stress and apoptosis in rats. *Biomed Pharmacother*, 2017; 94: 280-291.
- Mäkiranta MJ, Lehtinen S, Jauhiainen JP, Oikarinen JT, Pyhtinen J, Tervonen O. MR perfusion, diffusion and BOLD imaging of methotrexate-exposed swine brain. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 2002; 15(5): 511-519.
- Makrygianni EA, Chrousos GP. Neural Progenitor Cells and Hypothalamus. *Cells*, 2023; 12(14): 1822.
- Malik SZ, Lewis M, Isaacs A, Haskins M, Van Winkle T, Vite, CH, Watson DJ. Identification of the Rostral Migratory Stream in the Canine and Feline Brain. *PLoS ONE*, 2012; 7(5): e36016.

- Manohar S, Jamesdaniel S, Salvi R, Cisplatin inhibits hippocampal cell proliferation and alters the expression of apoptotic genes. *Neurotoxicity Research*, 2014; 25(4); 369-380.
- Mantadakis E, Cole PD, Kamen BA: High-dose methotrexate in acute lymphoblastic leukemia: where is the evidence for its continued use?. *Pharmacotherapy*, 2005; 25:748-755.
- Marín-Burgin A, Mongiat LA, Pardi MB, Schinder AF. Unique processing during a period of high excitation/inhibition balance in adult-born neurons. *Science*, 2012; 335(6073): 1238-1242.
- Martínez-Cerdeño V, Noctor SC. Neural Progenitor Cell Terminology. *Front Neuroanat*, 2018; 12: 104.
- Matsuda T, Takayama M, Tashiro Y, Nakamura Y, Ohashi K. Shimosuma, Mild cognitive impairment after adjuvant chemotherapy in breast cancer patients - evaluation of appropriate research design and methodology to measure symptoms. *Breast Cancer*, 2005; 12: 279-287.
- McBride A, Antonia SJ, Haura EB, Goetz D, Suspected methotrexate toxicity from omeprazole: a case review of carboxypeptidase G2 use in a methotrexate-experienced patient with methotrexate toxicity and a review of the literature. *Journal of Pharmacy Practice*, 2012; 25(4): 477- 485.
- Menezo Y, Elder K, Clement A, Clement P. Folic Acid, Folinic Acid, 5 Methyl TetraHydroFolate Supplementation for Mutations That Affect Epigenesis through the Folate and One-Carbon Cycles. *Biomolecules*, 2022; 12(2): 197.
- Messing RB, Phebus L, Fisher LA, Lytle LD. Analgesic effect of fluoxetine hydrochloride (Lilly 110140), a specific inhibitor of serotonin uptake. *Psychopharmacol Commun*, 1975; 1(5): 511-521.
- Mich JK, Signer RA, Nakada D, Pineda A, Burgess RJ, Vue TY, Johnson JE, Morrison SJ. Prospective identification of functionally distinct stem cells and neurosphere-initiating cells in adult mouse forebrain. *Elife*, 2014; 3: e02669.
- Mikhaylov D, Hashim PW, Nektalova T, Goldenberg G. Systemic Psoriasis Therapies and Comorbid Disease in patients with Psoriasis: A Review of potential Risks and Benefits. *J Clin Aesthet Dermatol*, 2019; 12(6): 46-54.

- Miller SM, Sahay A. Functions of adult-born neurons in hippocampal memory interference and indexing. *Nat Neurosci*, 2019;22(10):1565-1575.
- Mizrak D, Levitin HM, Delgado AC, Crotet V, Yuan J, Chaker Z, Silva-Vargas V, Sims PA, Doetsch F. Single-Cell Analysis of Regional Differences in Adult V-SVZ Neural Stem Cell Lineages. *Cell Rep*, 2019; 26: 394-406.
- Mobley AK, McCarty JH. Beta 8 integrin is essential for neuroblast migration in the rostral migratory stream. *Glia*. 2011; 59(11): 1579-1587.
- Montanya E, Nacher V, Biarnés M, Soler J. Linear correlation between beta-cell mass and body weight throughout the lifespan in Lewis rats: role of beta-cell hyperplasia and hypertrophy. *Diabetes*, 2000; 49(8): 1341-1346.
- Moreno-Jiménez EP, Flor-García M, Terreros-Roncal J, Rábano A, Cafini F, Pallas-Bazarra N, Ávila J, Llorens-Martín M. Adult hippocampal neurogenesis is abundant in neurologically healthy subjects and drops sharply in patients with Alzheimer's disease. *Nat Med*, 2019; 25; 554-560.
- Morrison SJ, Kimble J. Asymmetric and symmetric stem-cell divisions in development and cancer. *Nature*, 2006: 441; 1068-1074.
- Mu J, Krafft PR, Zhang JH. Hyperbaric oxygen therapy promotes neurogenesis: where do we stand?. *Medical gas research*, 2011; 1(1): 1-7.
- Mullier A, Bouret SG, Prevot V, Dehouck B. Differential distribution of tight junction proteins suggests a role for tanycytes in blood-hypothalamus barrier regulation in the adult mouse brain. *J Comp Neurol*, 2010 Apr; 518(7): 943-962.
- Murase S, Horwitz AF. Deleted in colorectal carcinoma and differentially expressed integrins mediate the directional migration of neural precursors in the rostral migratory stream. *J Neurosci*, 2002; 22(9): 3568-3579.
- Myers JS. A comparison of the theory of unpleasant symptoms and the conceptual model of chemotherapy-related changes in cognitive function. *Oncol Nurs Forum*, 2009; 36(1): E1-E10.
- Naewla S, Sirichoat A, Pannangrong W, Chaisawang P, Wigmore P, Welbat JU. Hesperidin alleviates methotrexate-induced memory deficits via hippocampal neurogenesis in adult rats. *Nutrients*, 2019; 11(4): 936-945.

- Nagayama S, Homma R, Imamura F. Neuronal organization of olfactory bulb circuits. *Front Neural Circuits*, 2014; 8: 98.
- Netzahualcoyotzi C, Rodríguez-Serrano LM, Chávez-Hernández ME, Buenrostro-Jáuregui MH, Early consumption of cannabinoids: From adult neurogenesis to behavior. *Int. J Mol Sci*, 2021; 22: 7450.
- Nguyen Ba-Charvet KT, Brose K, Marillat V, Kidd T, Goodman CS, Tessier-Lavigne M. Slit2-Mediated chemorepulsion and collapse of developing forebrain axons. *Neuron*, 1999; 22(3): 463-473.
- Nguyen-Ba-Charvet KT, Chedotal A. Role of Slit proteins in the vertebrate brain. *J Physiol Paris*, 2002; 96(1-2): 91-98.
- Nguyen-Ba-Charvet KT, Picard-Riera N, Tessier-Lavigne M, Baron-Van Evercooren A, Sotelo C, Chedotal A. Multiple roles for slits in the control of cell migration in the rostral migratory stream. *J Neurosci*, 2004; 24(6): 1497-1506.
- Ocbina PJ, Dizon ML, Shin L, Szele FG. Doublecortin is necessary for the migration of adult subventricular zone cells from neurospheres. *Mol Cell Neurosci*, 2006; 33(2): 126-135.
- Ota R, Yoshida R, Mori T. Cortical projection to the subventricular zone and its effect on adult neurogenesis in mice. *Neurosci Lett*, 2023; 799: 137101.
- Overall R.W, Paszkowski-Rogacz M, Kempermann G. The Mammalian Adult Neurogenesis Gene Ontology (MANGO) Provides a Structural Framework for Published Information on Genes Regulating Adult Hippocampal Neurogenesis. *PLoS ONE*, 2012; 7; e0048527.
- Padmanabhan R, Shafiullah MM. Amelioration of sodium valproate-induced neural tube defects in mouse fetuses by maternal folic acid supplementation during gestation. *Congenit Anom (Kyoto)*, 2003; 43(1): 29-40.
- Paez-Gonzalez P, Asrican B, Rodriguez E, Kuo CT. Identification of distinct ChAT⁺ neurons and activity-dependent control of postnatal SVZ neurogenesis. *Nat Neurosci*, 2014; 17(7): 934-942.
- Palmer TD, Willhoite AR, Gage FH. Vascular niche for adult hippocampal neurogenesis. *J Comp Neurol*, 2000; 425(4): 479-494.
- Peretto P, Merighi A, Fasolo A, Bonfanti L. Glial tubes in the rostral migratory stream of the adult rat. *Brain Res Bull*, 1997; 42(1): 9-21.

- Perez-Asensio FJ, Perpiñá U, Planas AM, Pozas E. Interleukin-10 regulates progenitor differentiation and modulates neurogenesis in adult brain. *J Cell Sci*, 2013; 126(Pt 18): 4208-4219.
- Phillips DC, Woollard KJ, Griffiths HR. The anti-inflammatory actions of methotrexate are critically dependent upon the production of reactive oxygen species. *Br J Pharmacol*, 2003; 138(3): 501-511.
- Piatti VC, Davies-Sala MG, Espósito MS, Mongiat LA, Trincherro MF, Schinder AF. The timing for neuronal maturation in the adult hippocampus is modulated by local network activity. *J Neurosci*, 2011; 31(21): 7715-7728.
- Pilz GA, Bottes S, Betizeau M, Jörg DJ, Carta S, Simons BD, Helmchen F, Jessberger S. Live imaging of neurogenesis in the adult mouse hippocampus. *Science*, 2018; 359 (6376): 658-662.
- Plow EF, Haas TA, Zhang L, Loftus J, Smith JW. Ligand binding to integrins. *J Biol Chem*, 2000; 275(29): 21785-21788.
- Ramírez-Castillejo C, Sánchez-Sánchez F, Andreu-Agulló C, Ferrón SR, Aroca-Aguilar JD, Sánchez P, Mira H, Escribano J, Fariñas I. Pigment epithelium-derived factor is a niche signal for neural stem cell renewal. *Nat Neurosci*, 2006; 9(3): 331-339.
- Refsum H. Folate, vitamin B12 and homocysteine in relation to birth defects and pregnancy outcome. *Br J Nutr*, 2001; 85(2): 109-113.
- Riberiro FF, Xapelli S. In: Calza L, Aloe L, Giardino (eds). *Recent Advances in NGF and Related Molecules. Advances in Experimental Medicine and Biology*. Springer Cham, 2021. p.: 77-94.
- Richard EM. *Hyperbaric Oxygen Therapy Indications* (14 th ed). 2019; pp.: 10- 12.
- Rivera C, Voipio J, Payne JA, Ruusuva E, Lahtinene H, Lamsa K, Pirvola U, Saarma M, Kaila K. The K⁺/Cl⁻ co-transporter KCC2 renders GABA hyperpolarizing during neuronal maturation. *Nature*, 1999; 397(6716): 251-255.
- Rodríguez E, Guerra M, Peruzzo B, Blázquez JL. Tanycytes: A rich morphological history to underpin future molecular and physiological investigations. *J Neuroendocrinol*, 2019 Mar; 31(3): e12690.
- Roenigk HH, Auerbach R, Maibach HI, Weinstein GD. Methotrexate in psoriasis: revised guidelines. *J Am Acad Dermatol*, 1988; 19:145.

- Russell JM. Sodium-potassium-chloride cotransport. *Physiol Rev*, 2000; 80(1): 211-276.
- Sahni T, Singh P, John MJ. Hyperbaric oxygen therapy: current trends and applications. *J Assoc Physicians India*, 2003; 51: 280-284.
- Sakaguchi M, Shingo T, Shimazaki T, Okano HJ, Shiwa M, Ishi-bashi S, Oguro H, Ninomiya M, Kadoya T, Horie H, Shibuya A, Mizusawa H, Poirier F, Nakauchi H, Sawamoto K, Okano H: A carbohydrate-binding protein, Galectin-1, promotes proliferation of adult neural stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006; 103(18): 7112-7117.
- Sawamoto K, Wichterle H, Gonzalez-Perez O, Cholfin JA, Yamada M, Spassky N, Murcia NS, Garcia-Verdugo JM, Marin O, Rubenstein JL, Tessier-Lavigne M, Okano H, Alvarez-Buylla A. New neurons follow the flow of cerebrospinal fluid in the adult brain. *Science*, 2006; 311(5761): 629-632.
- Schmidt-Hieber C, Jonas P, Bischofberger J. Enhanced synaptic plasticity in newly generated granule cells of the adult hippocampus. *Nature*, 2004; 429(6988): 184-187.
- Schonemeier B, Kolodziej A, Schulz S, Jacobs S, Hoell V, Stumm R. Regional and cellular localization of the CXCL12/SDF-1 chemokine receptor CXCR7 in the developing and adult rat brain. *J Comp Neurol*, 2008; 510(2): 207-220.
- Seigers R, Pourtau L, Schagen SB, Van Dam FSAM, Koolhaas JM, Konsman JP, Buwalda B. Inhibition of hippocampal cell proliferation by methotrexate in rats is not potentiated by the presence of a tumor. *Brain Res Bull*, 2010; 81(4-5): 472-476.
- Seigers R, Schagen S, Beerling W, Boogerd W, Vantellingen O, Vandam F, Koolhaas J, Buwalda B. Long-lasting suppression of hippocampal cell proliferation and impaired cognitive performance by methotrexate in the rat. *Behav. Brain Res*, 2008; 186(2): 168-175.
- Seigers R, Schagen SB, Coppens CM, Van der Most PJ, Vandam F, Koolhaas JM, Buwalda B. Methotrexate decreases hippocampal cell proliferation and induces memory deficits in rats. *Behav Brain Res*, 2009; 201(2): 279-284.

- Seki T. Hippocampal adult neurogenesis occurs in a microenvironment provided by PSA-NCAM-expressing immature neurons. *J Neurosci Res*, 2002; 69(6): 772-783.
- Shariatifar H, Ranjbarian F, Hajiahmadi F, Farasat A. A comprehensive review on methotrexate containing nanoparticles; an appropriate tool for cancer treatment. *Molecular Biology Reports*, 2022; 49(11):11049-11060.
- Shen Q, Wang Y, Kokovay E, et al. Adult SVZ stem cells lie in a vascular niche: a quantitative analysis of niche cell-cell interactions. *Cell Stem Cell*, 2008; 3(3): 289-300.
- Shetty A, Cho W, Alazawi W, Syn WK. Methotrexate hepatotoxicity and the impact of nonalcoholic fatty liver disease. *Am j Med Sci*, 2017; 354(2): 172-181.
- Simsek K, Oter S, Ay H. Hyperbaric Oxygen therapy and its mechanisms of action: implication of several molecular processes along with reactive species. *J Exp Integr Med*, 2011; 1(4): 205-206.
- Singh RK, Van Haandel L, Kiptoo P, Becker ML, Siahaan TJ, Funk RS. Methotrexate disposition, anti-folate activity and efficacy in the collagen-induced arthritis mouse model. *Eur J Pharmacol*, 2019; 853: 264-274.
- Sirichoat A, Krutsri S, Suwannakot K, Aranarochana A, Chaisawang P, Pannangrog W, Wigmore P, Welbat J.U. Melatonin protects against methotrexate-induced memory deficit and hippocampal neurogenesis impairment in a rat model. *Biochemical Pharmacology*, 2019: 163; 225-233.
- Smitka M, Abolmaali N, Witt M, Gerber J, Neuhuber W, Buschhueter D, Puschmann S, Hummel T. Olfactory bulb ventricles as a frequent finding in magnetic resonance imaging studies of the olfactory system. *Neuroscience*, 2009; 162(2); 482-485.
- Sokołowski W, Barszcz K, Kupczyńska M, Czopowicz M, Czubaj N, Kinda W, Kielbowicz Z. Morphometry and morphology of rostral cranial fossa in brachycephalic dogs - CT studies. *PLoS One*, 2020; 15(10): e0240091.
- Song H, Stevens CF, Gage FH. Astroglia induce neurogenesis from adult neural stem cells. *Nature*, 2002; 417(6884): 39-44.

- Spassky N, Merkle FT, Flames N, Tramontin AD, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Adult ependymal cells are postmitotic and are derived from radial glial cells during embryogenesis. *J Neurosci*, 2005; 25(1): 10-18.
- Sritawan N, Sirichoat A, Aranarochana A, Pannangrong W, Wigmore P, Welbat JU. Protective effect of metformin on methotrexate induced reduction of rat hippocampal neural stem cells and neurogenesis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2023: 162; 114613.
- Sritawan N, Prajit R, Chaisawang P, Sirichoat A, Pannangrong W, Wigmore P, Welbat JU. Metformin alleviates memory and hippocampal neurogenesis decline induced by methotrexate chemotherapy in a rat model. *Biomed Pharmacother*, 2020; 131: 110651.
- Stahl SM. Basic psychopharmacology of antidepressants, part 1: antidepressants have seven distinct mechanisms of action. *J Clin Psychiatry*, 1998;59(4):5-14.
- Staquicini FI, Dias-Neto E, Li J, Snyder EY, Sidman RL, Pasqualini R, Arap W. Discovery of a functional protein complex of netrin-4, laminin gamma1 chain, and integrin alpha6beta1 in mouse neural stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009; 106(8): 2903-2908.
- Strange K. Cellular volume homeostasis. *Adv Physiol Educ*, 2004; 28(1-4):155-159.
- Strober BE, Menon K. Folate supplementation during methotrexate therapy for patients with psoriasis. *J Am Acad Dermatol*, 2005; 53(4): 652-659.
- Sun X, Kaufman PD. Ki-67: more than a proliferation marker. *Chromosoma*, 2018; 127(2): 175-186.
- Tavazoie M, Van der Veken L, Silva-Vargas V, Louissaint M, Colonna L, Zaidi B, Garcia-Verdugo JM, Doetsch F. A specialized vascular niche for adult neural stem cells. *Cell Stem Cell*, 2008; 3(3): 279-288.
- Tessier-Lavigne M. Wiring the brain: the logic and molecular mechanisms of axon guidance and regeneration. *Harvey Lect*, 2002; 98: 103-143.
- Thom SR. Oxidative stress is fundamental to hyperbaric oxygen therapy. *J Appl Physiol* (1985), 2009; 106(3): 988-995.
- Toda T, Gage FH. Review: adult neurogenesis contributes to hippocampal plasticity. *Cell Tissue Res*, 2018; 373(3): 693-709.

- Tomasiewicz H, Ono K, Yee D, Thompson C, Goridis C, Rutishauser U, Magnuson T. Genetic deletion of a neural cell adhesion molecule variant (N-CAM-180) produces distinct defects in the central nervous system. *Neuron*, 1993;11(6): 1163-1174.
- Topal T, Korkmaz A. Hiperbarik Oksijen Tedavisi. *Turkiye Klinikleri J Med Sci*, 2008; 28(2): 206-216.
- Tuğtağ B. Ratlarda Postnatal Dönemde Beyin ve Ventrikül Gelişiminin incelenmesi Yüksek Lisans Tezi, Sütçü İmam Üniversitesi, Kahramanmaraş 2012; s.: 11-12.
- Tukukino C, Wallerstedt SM. Drug information centre queries and responses about drug interactions over 10 years-A descriptive analysis. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2020; 126(1): 65-74.
- Tuncdemir SN, Lacefield CO, Hen R. Contributions of adult neurogenesis to dentate gyrus network activity and computations. *Behav Brain Res*, 2019: 374.
- Van der Beek JN, Oosterom N, Pieters R, de jonge R, Van DeN heuvel -Eibrink MM, Heil SG. The effect of leucovorin rescue therapy on methotrexate-induced oral mucositis in the treatment of paediatric ALL:A systematic review. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2019; 142: 1-8.
- Van Pelt LF. Ketamine and xylazine for surgical anesthesia in rats. *J Am Vet Med Assoc*, 1977; 171(9): 842-844.
- Vardi N, Parlakpınar H, Cetin A, Erdogan A, Cetin Ozturk I. Protective effect of β -carotene on methotrexate-induced oxidative liver damage. *Toxicol Pathol*, 2010; 38(4): 592-597.
- Vescovi AL, Galli R, Reynolds BA. Brain tumour stem cells. *Nat Rev Cancer*, 2006; 6(6): 425-436.
- Vicidomini C, Guo N, Sahay A. Communication, Cross Talk, and Signal Integration in the Adult Hippocampal Neurogenic Niche. *Neuron*, 2020; 105: 220-235.
- Wang DD, Krueger DD, Bordey A. GABA depolarizes neuronal progenitors of the postnatal subventricular zone via GABAA receptor activation. *J Physiol*, 2003; 550(Pt 3): 785-800.
- Wang X, Li W, Li Z, Ma Y, Yan J, Wilson J.X, Huang G. Maternal Folic Acid Supplementation During Pregnancy Promotes Neurogenesis and

- Synaptogenesis in Neonatal Rat Offspring. *Cereb Cortex*, 2019; 29(8): 3390-3397.
- Wei L, Wang J, Cao Y, Ren Q, Zhao L, Li X, Wang J. Hyperbaric oxygenation promotes neural stem cell proliferation and protects the learning and memory ability in neonatal hypoxic-ischemic brain damage. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015; 8(2): 1752-1759.
- Wei QG, Zhang HH, Guo BR. Histological structure difference of dog's olfactory bulb between different age and sex. *Zool. Res*, 2008; 29(5): 537-545.
- Weinblatt ME, Coblyn JS, Fox DA, Fraser PA, Holdsworth DE, Glass DN, Trentham DE: Efficacy of low-dose methotrexate in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*, 1985; 312(13): 818-822.
- Wen J, Maxwell RR, Wolf AJ, Spira M, Gulinello ME, Cole PD. Methotrexate causes persistent deficits in memory and executive function in a juvenile animal model. *Neuropharmacology*, 2018; 139: 76-84.
- Wichterle H, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Direct evidence for homotypic, glia-independent neuronal migration. *Neuron*, 1997; 18(5): 779-791.
- Willkens RF, Watson MA. Methotrexate: a perspective of its use in the treatment of rheumatic diseases. *J Lab Clin Med*, 1982; 100: 314-321.
- Winocur G, Wojtowicz JM, Tannock IF. Memory loss in chemotherapy-treated rats is exacerbated in high-interference conditions and related to suppression of hippocampal neurogenesis. *Behav Brain Res*, 2015; 281: 239-244.
- Wong K, Park HT, Wu JY, Rao Y. Slit proteins: molecular guidance cues for cells ranging from neurons to leukocytes. *Curr Opin Genet Dev*, 2002; 12(5): 583-591.
- Wu W, Wong K, Chen J, Jiang ZH, Dupuis S, Wu JY, Rao Y. Directional guidance of neuronal migration in the olfactory system by the protein Slit. *Nature*, 1999; 400(6742): 331-336.
- Yamada J, Okabe A, Toyoda H, Kilb W, Luhmann HJ, Fukuda A. Cl⁻-uptake promoting depolarizing GABA actions in immature rat neocortical neurones is mediated by NKCC1. *J Physiol*, 2004; 557(Pt 3): 829-841.

- Yang M, Kim JS, Kim J, Kim SH, Kim JC, Kim J, Wang H, Shin T, Moon C. Neurotoxicity of methotrexate to hippocampal cells in vivo and in vitro, *Biochem. Pharmacol*, 2011; 82(1): 72-80.
- Yang P, Yin X, Rutishauser U. Intercellular space is affected by the polysialic acid content of NCAM. *J Cell Biol*, 1992; 116(6): 1487-1496.
- Yang, YJ, Wang XL, Yu XH, Wang X, Xie M, Liu CT. Hyperbaric oxygen induces endogenous neural stem cells to proliferate and differentiate in hypoxic-ischemic brain damage in neonatal rats. *Undersea Hyperb Med*, 2008; 35(2): 13-29.
- Yıldırım M. *Temel Nöroanatomi (4.basım)*. Nobel Kitapevleri, İstanbul 2018; s.: 95-96.
- Yokosaki Y, Monis H, Chen J, Sheppard D. Differential effects of the integrins alpha9beta1, alpha5beta3, and alpha5beta6 on cell proliferative responses to tenascin. Roles of the beta subunit extracellular and cytoplasmic domains. *J Biol Chem*, 1996; 271(39): 24144-24150.
- Zarou MM, Vazquez A, Vignir Helgason G. Folate metabolism: a re-emerging therapeutic target in haematological cancers. *Leukemia*, 2021; 35(6): 1539-1551.
- Zeppernick F, Ahmadi R, Campos B, Dictus C, Helmke BM, Becker N, Litcher P, Unterberg A, Radlwimmer B, Herold-Mende CC. Stem cell marker CD133 affects clinical outcome in glioma patients. *Clinical Cancer Research*, 2008; 14(1): 123-129.
- Zonneveld IM, Bakker WK, Dijkstra PF, Bos JD, van Soesbergen RM, Dinant HJ. Methotrexate osteopathy in long-term, low-dose methotrexate treatment for psoriasis and rheumatoid arthritis. *Arch Dermatol*, 1996; 132(2): 184-187.

EKLER



Tarih: 01.06.2022

Toplantı Sayısı: 06

Karar No:22/119

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 01.06.2022 tarihinde Prof. Dr. Gültekin ATALAN 'nın başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü	İmza
Gültekin ATALAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fakültesi	
Vehbi GÜNEŞ	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Fusun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Ahmet ÖZTÜRK	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
M. Betül AYGAN	Prof. Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Ayşe EKEN	Prof. Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Nurcan DURSUN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
İbrahim KARAMAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Sezer DEMİRBUĞ A	Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	
Çağrı Çağlar SİNMEZ	Doç. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Selma BÜYÜKKILIÇ BEYZİ	Doç. Dr.	Ziraat Fakültesi	
Zeynep CAFEROĞLU	Doç. Dr.	Sağlık Bilimleri Fakültesi	
Ali İleriş AYKUN	Arş. Gör.	Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi ERÜTAN	
Umut ALPMAN	Arş. Gör.	Genom ve Kök Hücre Merkezi (GENKÖK)	
Mustafa ERMİŞ	Veteriner Hekim	Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Arş.Mrkz.	
Ali KOÇ	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	Sivil Üye	
Filiz ASAN	Avukat	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi	

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü Histoloji, Prof.Dr.Feyzullah Beyaz tarafından sunulan "Sıçan Beyinlerinde Metotreksat İle Uygulanan Sıçanların Sıçan Yetersizliği Sonucunda Bozulan Subventriküler Bölgedeki Nörogeneze Hiperbarik Oksijen Uygulamasının Etkisi" başlıklı proje incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih : 01.06.2022

Etik Kurul Başkanı : Prof. Dr. Gültekin ATALAN

İmza :

Evrak Tarih ve Sayısı: 01.07.2022-269811



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Deneyisel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi
Müdürlüğü



Sayı : E-40175052-300-269811
Konu : Kurum İzni Hk. Aysun ÇELİK

01.07.2022

GEVHER NESİBE GENOM VE KÖK HÜCRE ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRLÜĞÜNE

İlgi : 30.06.2022 tarihli ve 268046 sayılı yazınız

Enstitünüz Nörobilim Anabilim Dalı yüksek lisans programı öğrencileri Aysun Çelik'in (SIÇAN BEYİNLERİNDE METOTREKSAT İLE OLUŞTURULAN FOLİK ASİT YETERSİZLİĞİ SONUCUNDA BOZULAN SUBVENTİKÜLER BÖLGEDEKİ NÖROGENEZE HİPERBARİK OKSİJEN UYGULAMASININ ETKİSİ) konulu tez çalışmasının merkez müdürlüğümüzde yapması uygundur.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Prof.Dr. Vehbi GÜNEŞ
Merkez Müdürü V.

Belge Doğrulama Kodu :BSRANMUY4N Pin Kodu :17303

Belge Takip Adresi : <https://www.turkiye.gov.tr/erciyes-universitesi-ebys>

Adres:Talas Yolu Melikgazi KAYSERİ
Telefon:+90 352 437 49 01/24404 Faks:+90 352 437 52 73
e-Posta:dekam@erciyes.edu.tr Web:http://www.erciyes.edu.tr
Kep Adresi:erciyesuni@hs01.kep.tr

Bilgi için: Fatma Mermer
Unvanı: Tekniker



SIÇAN BEYİNLERİNDE METOTREKSAT İLE OLUŞTURULAN FOLİK ASİT YETERSİZLİĞİ SONUCUNDA BOZULAN SUBVENTRİKÜLER BÖLGEDEKİ NÖROGENEZE HİPERBARİK OKSİJEN UYGULAMASININ ETKİSİ

ORJİNALLİK RAPORU

% **12**

BENZERLİK ENDEKSİ

% **10**

İNTERNET KAYNAKLARI

% **1**

YAYINLAR

% **4**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

acikbilim.yok.gov.tr

İnternet Kaynağı

% **2**

2

Submitted to Erciyes Üniversitesi

Öğrenci Ödevi

% **2**

3

nek.istanbul.edu.tr:4444

İnternet Kaynağı

% **1**

4

sualti.org

İnternet Kaynağı

% **1**

5

www.researchgate.net

İnternet Kaynağı

% **1**

6

hdl.handle.net

İnternet Kaynağı

% **1**

7

Submitted to Bülent Ecevit Üniversitesi

Öğrenci Ödevi

% **1**

8

doczz.biz.tr

İnternet Kaynağı

% **1**

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı : Aysun ÇELİK
Uyruğu : Türkiye (TC)

EĞİTİM

DERECE

Yüksek Lisans

Lisans

Lise

KURUM

Erciyes Üniversitesi,
Gevher Nesibe Genom ve
Kök Hücre Enstitüsü,
Nörobilim, Kayseri

Sivas Cumhuriyet
Üniversitesi, Edebiyat
Fakültesi, Psikoloji, Sivas
Nuh Mehmet Küçükçalık
Anadolu Lisesi, Kayseri

MEZUNİYET

2020-Devam ediyor

2016-2020

2012-2016

İŞ DENEYİMLERİ

YIL

2022-devam ediyor

KURUM

Kayseri Aile ve Sosyal
Hizmetler İl Müdürlüğü-
Melikgazi Sosyal Hizmet
Merkezi

GÖREV

Psikolog

BECERİLER

Dil Becerileri: İngilizce (Orta düzey okuma, konuşma ve yazma)

Bilgisayar Becerileri: IBM SPSS Statistics (Orta düzey)

YAYINLAR

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında (Proceeding)

Basılan Bildiriler

Kındap Tepe Y, Çelik A, Bulat E, Aktaş V. Çift uyumu, depresif belirtiler, eşten algılanan psikolojik kontrol ve özerklik desteği arasındaki ilişkiler. 2.Uluslararası 19 Mayıs Multidisipliner Çalışmalar kongresi sözel bildiri olarak sunuldu. Samsun, Türkiye.

Kitap Bölümü

Kındap Tepe Y, Aktaş V, Çelik A, Bulat E. Evlilikte çift uyumu, depresif belirtiler, eşten algılanan psikolojik kontrol ve özerklik desteği arasındaki ilişkiler. Kındap Tepe Y (Ed), Disiplinlerarası Perspektif. Davranış Araştırmaları, İksad Yayınları, Ankara, s.:97-127.