

**RAT HİPOKAMPUSUNDA FENTHİONA BAĞLI HASAR ÜZERİNE
ATROPİNİN ETKİSİNİN STEREOLOJİK VE
MORFOMETRİK METOTLARLA İNCELENMESİ**

Dr. Muhsin TOKTAŞ

TIP ANATOMİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Doç Dr Orhan BAŞ

Doç Dr Ahmet SONGUR (2. Danışman)

2010 – AFYONKARAHİSAR

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RAT HİPOKAMPUSUNDA FENTHİONA BAĞLI HASAR ÜZERİNE ATROPİNİN
ETKİSİNİN STEREOLOJİK VE MORFOMETRİK METOTLARLA
İNCELENMESİ

Dr. Muhsin TOKTAŞ

TIP ANATOMİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Orhan BAŞ
Doç. Dr. Ahmet SONGUR (2. Danışman)

Tez No: 2010-0014

2010 – AFYONKARAHİSAR

KABUL VE ONAY

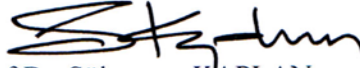
Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Anatomi (Tıp) Programı

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından

Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 27/12/2010



Prof.Dr. Süleyman KAPLAN
Jüri Başkanı



Doç.Dr. Ahmet SONGUR
Üye



Doç.Dr. Murat YAĞMURCA
Üye



Doç.Dr. Orhan BAŞ
Üye



Yrd.Doç.Dr. Sevda LAFÇI
Üye

Anatomi (Tıp) Anabilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Muhsin TOKTAŞ'ın "*Rat Hipokampusunda Fenthiona Bağlı Hasar Üzerine Atropinin Etkisinin Stereolojik ve Morfometrik Metotlarla İncelenmesi*" başlıklı tezi ~~30~~ **30**./12./2010 günü saat ~~10.00~~ **10.00**'de Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.



Doç.Dr. Esmâ KOZAN
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Doktora çalışmam boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, tezimin her aşamasında yardım ve desteğini gördüğüm, tez çalışmamın planlanması, yürütülmesi, kontrol ve değerlendirilmesindeki yakın ilgi, bilimsel teşvik ve her türlü desteklerinden dolayı çok değerli Danışman Hocam Doç.Dr. Orhan BAŞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve beceri edinmemde ilgi ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, duygusal ve bilimsel teşvikleriyle yetişmemi sağlayan ve tez çalışmamda bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım çok değerli Anabilim Dalı Başkanım Doç.Dr. Ahmet SONGUR'a ve çok değerli Hocam Prof.Dr. Oğuz Aslan ÖZEN'e teşekkürlerimi sunarım.

Her türlü destekleriyle bu çalışmanın ortaya çıkmasında büyük emeği olan çok değerli Hocalarım Doç.Dr. Murat YAĞMURCA ve Yrd.Doç.Dr. Levent TÜMKAYA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitim sürecinde eğitimime katkıda bulunan Yrd.Doç.Dr. Nüket MAS ve Yrd.Doç.Dr. Sevda LAFÇI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim ve tez aşamalarım boyunca dostluklarıyla ve yardımlarıyla her zaman yanımda olan doktora arkadaşlarım Tolgahan ACAR, Sezer AKÇER, Ozan Alper ALKOÇ, Veli ÇAĞLAR, Yücel GÖNÜL, Ozan TURAMANLAR ve Ramazan UYGUR'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Kabul ve Onay.....	ii
Önsöz.....	iii
İçindekiler.....	iv
Simgeler ve Kısaltmalar.....	vii
Şekiller ve Resimler.....	viii
Tablolar	xi
1. GİRİŞ.....	1
1. 1. Fenthion.....	2
1.1.1. Fenthionun Özellikleri.....	2
1.1.2. Fenthionun Kullanıldığı Alanlar.....	3
1.1.3. Fenthion'un Biyolojik Etkileri.....	4
1.1.3.1. Genel Etkileri.....	4
1.1.3.2. Akut Organofosfat Zehirlenmesi.....	5
1.1.3.3. Oksidatif Stres ile Organofosfatların İlişkisi.....	7
1.1.3.4. Santral Sinir Sistemi Üzerine Etkileri.....	7
1.2. Atropin.....	8
1.3. Organofosfat Zehirlenmelerinde Tedavi.....	10
1.4. Formatio hippocampi (<i>Hipokampal Formasyon</i>).....	12
1.4.1. Gelişimi	12
1.4.2. Anatomisi.....	13
1.4.2.1. Hippocampus.....	13
1.4.2.2. Gyrus Dentatus.....	14
1.4.2.3. Subikular Kompleks.....	14
1.4.2.4. Entorinal korteks.....	15
1.4.3. Histolojisi.....	16
1.4.3.1. Hippocampus	16
1.4.3.2. Gyrus Dentatus.....	18
1.4.3.3. Entorinal Korteks.....	20
1.4.3.4. Subikular Kompleks.....	20
1.4.4. Hipokampal Yollar.....	21
1.4.4.1. Afferent yollar.....	21
1.4.4.2. Efferent yollar.....	22
1.4.5. Fizyolojisi ve Kimyası.....	24
1.4.6. Fonksiyonları.....	26
1.4.7. Lezyonları.....	28
1.5. Stereolojik metotlar.....	29
1.5.1. Sistemik Rastgele Örnekleme Stratejisi.....	32
1.5.2. Tarafsız Sayım Çerçevesi.....	33
1.5.3. Disektör.....	34

2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	37
2.1. Hayvanlar.....	37
2.2. Deney.....	37
2.2.2. Perfüzyon.....	38
2.3. Histolojik işlemler.....	38
2.3.1. Doku takibi.....	38
2.3.2. Kesitlerin alınması.....	39
2.3.3. Boyama.....	39
2.4. Optik Parçalama.....	40
2.4.1. Örneklem Oranları.....	41
2.4.1.1. Kesit Örneklem Oranı.....	41
2.4.1.2. Alan Örneklem Oranı.....	41
2.4.1.3. Kalınlık Örneklem Oranı.....	42
2.4.1.5. Optik Disektör.....	42
2.4.2. Optik Parçalamanın Uygulanması.....	45
2.4.2.1. Parçalama Örneklem Şeması.....	45
3. BULGULAR.....	48
4. TARTIŞMA.....	65
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	70
ÖZET.....	71
SUMMARY.....	73
KAYNAKLAR.....	75

Beni yetiştiren değerli *Anne ve Babama*
Desteğiyle her zaman yanımda olan *Sevgili Eşime*

SİMGELER ve KISALTMALAR

AÖÖ:	Alan örnekleme oranı
°C:	Santigrad derece
CA:	Cornu ammonis
FH:	Formatio hippocampi
g:	Gram
GPNP:	Gecikmiş polinöropati
İMS:	İntermediat sendrom
KaÖÖ	Kalınlık örnekleme oranı
KeÖÖ:	Kesit örnekleme oranı
kg:	Kilogram
mg:	Miligram
ml:	Mililitre
µm:	Mikrometre
µm²:	Mikrometrekare
mPa:	Milipascal
SRÖ:	Sistematik rastgele örnekleme

ŞEKİLLER ve RESİMLER

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1.	Fenthion'un kimyasal yapısı 3
Şekil 1.2.	Gyrus dentatus ve cornu ammonis'in gelişimi 13
Şekil 1.3.	Hippocampus ve fornix, coronal kesit, posterior bakış 15
Şekil 1.4.	Cornu ammonis ve gyrus dentatus alanları 19
Şekil 1.5.	Gyrus dentatus, hippocampus (cornu ammonis), subiculum ve gyrus parahippocampalis'in bağlantıları 23
Şekil 1.6.	Tarafsız sayım çerçeveleri 33
Şekil 2.1.	(A)da adımlama esnasında tarafsız sayım çerçevesi ortasında bulunan (+) işaretinin hippokampus dokusu üzerine isabet eden yerlerinde optik disektör yapılmaktadır. Bu şekilde adımlardan biri (B) daha büyük bir büyütmede şematize edilmiştir. Adımın bir bölümünde doku bulunmamasına rağmen tarafsız sayım çerçevesinin ortasına yerleştirilen (+) işaretinin hippokampus dokusunun üzerine isabet etmesinden dolayı bu adımda optik disektör yapılmaktadır. Kesitin üst yüzeyinden alt yüzeyine kadar olan mesafede üst (5 µm) ve alt (x µm) yüzeylerde güvenlik kuşakları bırakılarak, (h) kadar bir derinlikte optik disektörler yapılmaktadır. (C) ve (D) Optik disektör uygulaması, kesit yüzeylerinde meydana gelen kayıp partiküllerden sakınmak için, kesitin her iki yüzeyinden de belirli bir mesafe uzaklaşarak kesitin merkezinde sayım yapılmasını önermektedir. Optik disektörde sayıma başlanacak yüzeydeki güvenlik kuşağının mesafesi daima sabit kalırken (örneğimizde üst yüzeydeki güvenlik kuşağı daima 5 µm), alt güvenlik kuşağı ise kesitin kalınlığına göre değişebilmektedir 44
Şekil 2.2.	Optik parçalama metodu kullanılarak hücre sayımı hesaplamalarının yapıldığı sistemin genel görüntüsü 47
Şekil 3.1.	Kontrol, Fenthion ve Fenthion+Atropin grubu ratların hippocampus CA bölgesindeki nöron sayılarının karşılaştırması. Piramidal hücre sayısı fenthion grubu ratlarda en düşük olarak, kontrol grubu ratlarda ise en yüksek olarak saptandı. Fenthion+atropin uygulanan ratlarda ise kontrol grubuna daha yakın olarak bir azalma bulundu. Her üç grup arasında görülen bu farklılıklar istatistiksel olarak da anlamlı idi (p<0,05) 51

Şekil 3.2.	Kontrol, Fenthion ve Fenthion+Atropin grubu ratların hippocampus CA bölgesindeki nöronların yüzey alanlarının karşılaştırması. Yüzey alan ortalaması Fenthion grubunda anlamlı derecede artmış bulundu ($p<0,05$)	51
Şekil 3.3.	Şekil 3.3: Kontrol, Fenthion ve Fenthion+Atropin grubu ratların hippocampus CA bölgesindeki nöronların çevre ölçümlerinin karşılaştırması. Çevre ortalaması Fenthion grubunda anlamlı derecede artmış bulundu ($p<0,05$)	52
Şekil 3.4.	Şekil 3.4: Kontrol, Fenthion ve Fenthion+Atropin grubu ratların hippocampus CA bölgesindeki nöronların yarıçap ölçümlerinin karşılaştırması. Yarıçap ortalaması Fenthion grubunda anlamlı derecede artmış bulundu ($p<0,05$)	52
Resim 3.1.	Kontrol grubu ratlara ait hippocampus (2x büyütme)	53
Resim 3.2.	Kontrol grubu hippocampus CA2 bölgesindeki piramidal nöronları izlenmektedir. (10x büyütme)	54
Resim 3.3.	Kontrol grubu hippocampus CA bölgesi piramidal nöronları izlenmektedir. (40x büyütme), (Oklar: piramidal hücreler)	55
Resim 3.4.	Kontrol grubu hippocampus CA bölgesi piramidal nöronları izlenmektedir. (100x büyütme), (Oklar: piramidal hücreler)	56
Resim 3.5.	Fenthion grubu ratlara ait hippocampus CA bölgesinde gross yapının bozulmadığı gözlenmektedir (2x büyütme), (CA: Cornu ammonis, GD: Gyrus dentatus, V: ventrikül)	57
Resim 3.6.	Fenthion grubu hippocampus CA bölgesi piramidal nöronları izlenmektedir. Küçük büyütmede hippocampus'un gross yapısının çok bozulmadığı gözlenmektedir.(10x büyütme)	58
Resim 3.7.	Fenthion grubu hippocampus CA bölgesi piramidal nöronları izlenmektedir. Şişme (siyah ok), karyolizis ve piknozis (beyaz ok) gözlenmektedir (40x büyütme)	59
Resim 3.8.	Fenthion grubu hippocampus CA bölgesi piramidal nöronları izlenmektedir. Şişme (siyah ok), karyolizis ve piknozis (beyaz ok) gözlenmektedir (100x büyütme)	60
Resim 3.9.	Fenthion+Atropin grubu hippocampus CA bölgesi piramidal nöronları izlenmektedir (2x büyütme), (CA: Cornu ammonis, GD: Gyrus dentatus, V: ventrikül)	61
Resim 3.10.	Fenthion+Atropin grubu hippocampus CA bölgesi piramidal nöronları izlenmektedir (10x büyütme), (CA: Cornu ammonis, V: ventrikül)	62
Resim 3.11.	Fenthion+Atropin grubu hippocampus CA bölgesi piramidal nöronları izlenmektedir. Morfolojik değişiklikler açısından kontrol grubuna benzer görünümündedir (40x büyütme)	63

Resim 3.12. Fenthion+Atropin grubu hippocampus CA bölgesi piramidal nöronları izlenmektedir (100x büyütme), (Beyaz ok: Piknotik hücre)

TABLÖLAR

	Sayfa
Tablo 3.1. Gruplara ait vücut ve beyin ağırlıklarının karşılaştırması. Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir	48
Tablo 3.2. Kontrol, Fenthion ve Fenthion+Atropin grubu ratların hippocampus CA bölgesindeki nöron sayıları ile nöronların alan, çevre ve yarıçap ölçümlerinin karşılaştırılması. Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir	50

1. GİRİŞ

İnsanın yaşayan canlılar içinde en gelişmiş organizmaya sahip olduğu kabul edilir. Bu da diğer canlılarda bulunan özelliklerin en gelişmiş şekliyle insanda bulunmasını gerektiğini ortaya koyar. Bu özelliklerden biri olan sinir sistemi organizmanın kendi fonksiyonlarını sürdürmesini ve çevresi ile etkileşimini sağlayan kontrol mekanizmasını oluşturur (*Gökmen, 2003*).

Çalışmamızda incelenen formatio hippocampi limbik sistemin bir parçasıdır. Limbik lob ilk olarak 1878'de Broca tarafından tanımlanmıştır. İnsanlarda davranış ve emosyonel olayların düzenlenmesini sağlayan anatomik yapıların tümüne limbik sistem denir. Limbik sistem organizmanın kendisini korumasına yönelik işlemleri düzenler ve türün devamında önemli rol oynar (*Arıncı ve Elhan, 2001*). Limbik sistem genel olarak; visseral işlevlerde, emosyonel davranışlarda, bellek ve öğrenmede rol oynar (*Gökmen, 2003*). Limbik sistemin bir parçası olan formatio hippocampi'nin de bellek, öğrenme ve anksiyete, korku gibi duyguların dışı vurulması ile ilişkili rolü bilinmektedir (*Moser ve ark., 1993; Bannerman ve ark., 2004*).

Dünyada en yaygın olarak kullanılan toksik maddelerden birisi olan organofosfat bileşikler, tarım alanında kullanılması, kolay erişilebilir olması ve intihar amacıyla alınmasına sık rastlanmasından dolayı önemlidir. Yılda 3 000 000 organofosfatlı bileşiklerle zehirlenme olgusu görüldüğü, ve bu zehirlenmeler sonucunda yılda 100 000 - 300 000 ölüm olgusu görüldüğü tahmin edilmektedir (*Thiermann ve ark., 1999; Eyer, 2003*). Organofosfat bileşiklerinin kötü amaçlı kullanımı ve sistemik toksik etkilerinden dolayı, birçok ülkede kullanımına kısıtlama veya yasaklama getirilmiştir. Ancak ülkemizde üretimi ve kullanımı yaygın olarak devam etmektedir (*Wexler, 2005; Çinkiloğlu, 2007; Sevgiler, 2007*). Bu nedenle organofosfat zehirlenmesi dünyada ve ülkemizde halen önemli bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır.

Organofosfatlara maruz kalmış insanlarda görülen bellek ve öğrenme sorunları gibi nörotoksik belirtiler hippocampus'daki nörotoksik değişikliklerin neler olabileceği sorusunu akla getirmektedir. Bu sorunun yanıtını araştıran çalışmalar literatürde bulunmaktadır. Ancak bir organofosfat bileşiği olan fenthion'un hippocampus'da nöron sayısı ve morfolojisi üzerine etkisini inceleyen stereolojik bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca, organofosfat zehirlenmelerinde tedavide ilk ilaç olarak verilen atropinin fenthion toksisitesine karşı hippocampus'daki koruyucu etkisini stereolojik yöntemlerle inceleyen bir çalışma literatürde bulunamamıştır.

Bu nedenlerden dolayı, hippocampus CA bölgesi nöronlarını stereolojik yöntem ile inceleyerek, nöron sayısı ve morfolojisindeki olası değişiklikleri bulmak ve organofosfat zehirlenmesine maruz kalmış insanlarda görülen belirtiler ile arasında ilişki olup olmadığını mevcut literatür eşliğinde tartışmayı amaçladık.

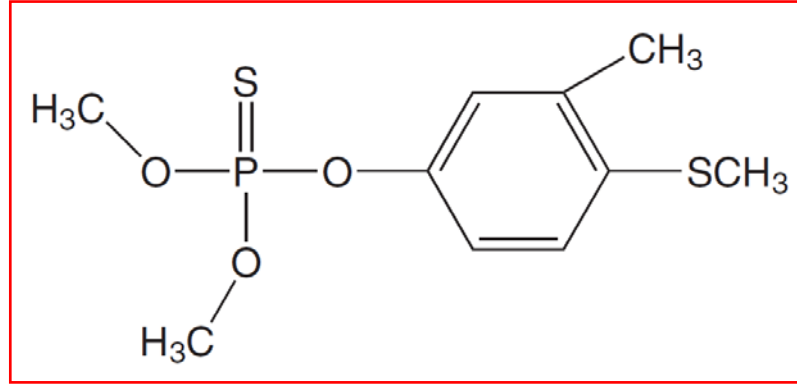
1.1. Fenthion

1.1.1. Fenthionun Özellikleri

Fenthion (*O,O*-dimetil-*O*-(4-metilmerkapt)-3-metilfeniltio-fosfat, $C_{10}H_{15}O_3PS_2$) geniş spektrumlu bir organofosforlu insektisittir. Molekül ağırlığı 278.33 kDa olup lipofilik karakterde bir bileşiktir (Çinkiloğlu, 2007). Yaklaşık 200 farklı organofosfor ester bileşiği bulunmaktadır ve bütün organofosfor bileşikleri soman, sarin gibi sinir gazlarından türetilmiştir (Ecobichon, 2003) (Şekil 1.1).

Kaynama noktası 0.01 mmHg'da 87 °C, erime noktası 7.5 °C, buhar basıncı 4 mPa (20 °C'de), çözünürlüğü 20 °C suda 2 mg/L dir (gliserid yağları ve birçok organik çözücüde çözünebilir). Saf bileşik renksiz sıvı görünümünde, teknik bileşik ise sarı-kahverengi renklidir (Tsatsakis ve ark., 2003; Piner, 2005; Sevgiler, 2007).

Organofosfatların esas toksisite mekanizması asetilkolin esteraz enziminin inhibe edilmesine dayanır. Bu inhibisyon sonucu sinaptik aralıkta asetilkolin birikir ve buna bağlı olarak santral ve periferik sinir sisteminde kolinerjik iletim bozulur (Wexler, 2005).



Şekil 1.1. Fenthionun kimyasal yapısı (Wexler, 2005).

1.1.2. Fenthionun Kullanıldığı Alanlar

Fenthion, 1960 yılında üretime sunulmuş olup ülkemizde 1966 yılından beri üretilmekte ve kullanılmaktadır. Fenthion'dan bahçe ve tarlalarda zararlı böcekleri öldürmek amacıyla yararlanılır. Ayrıca sığır, domuz ve evcil hayvanlarda kene, bit ve pire gibi dış parazitlere karşı deriye uygulanarak kullanılmaktadır. Süs balığı üretilen havuzlarda zararlı sineklerin larvalarını öldürmek için sulu çözeltileri kullanılır. Etkili bir avisid olan fenthion tarımsal faaliyetlere zararlı olduğu kabul edilen bazı kuşlara karşı geçmişte kullanılmıştır.

Fenthion'un sığır eti ve yağındaki kalıntılara bağlı olarak diyet ile alımı sonucu maruziyet oluşabilir. Sivrisinek kontrolü amacıyla kullanıldığında düşük dozda geniş alanlara uygulandığından dolayı insanlar için maruziyet riskinin az olduğu kabul edilmektedir. Su yüzeyinde önemli bir birikim olmadığı için içme suyu önemli bir maruziyet kaynağı olarak görülmemektedir (Wexler, 2005).

1.1.3. Fenthion'un Biyolojik Etkileri

1.1.3.1. Genel Etkileri

Fenthion; solunum, sindirim, oral müköz membranlar, konjonktiva ve ayrıca lipofilik olduğu için deri yoluyla hızlı bir şekilde kan dolaşımına geçer (*Kamanyire ve Karalliedde, 2004; Wexler, 2005*). İdrar ve gaita yoluyla vücuttan atılır. İdrarda atılan ana metabolitleri sülfoksit ve sülfon formlarıdır. Fare, rat ve tavşan için fenthion'un intraperitoneal ve dermal LD₅₀ değerleri sırasıyla, 125-330 mg/kg ve 330-800 mg/kg olarak bulunmuştur (*Wexler, 2005*). Ratlarda oral LD₅₀ değeri 180-298 mg/kg olarak bildirilmektedir (*Extoxnet, 1993*).

Asetilkolin, otonom sinir sistemindeki tüm ganglionlarda, beyindeki sinapsların bir kısmında, kas iskelet kavşağında, sempatik sistemdeki bazı postganglionik sinir uçlarında ve adrenal medulla'da bulunan bir nörotransmitterdir. Asetilkolin esteraz enzimi sinaps aralığında bulunan astilkolin'i parçalayarak inaktive eder. Fenthion tarafından asetilkolin esteraz'ın inhibe edilmesi sinaps aralığında asetilkolin'in birikmesine yol açar. Bu da parasempatik sistemde aşırı aktivasyona yol açarak akut kolinerjik sendroma neden olur (*Kamanyire ve Karalliedde, 2004*). Buna bağlı olarak, nöromüsküler kavşak, merkezi sinir sistemi, kardiyovasküler sistem, ürogenital sistem ve endokrin sistem etkilenir. Ayrıca karaciğer hasarına ve lipid peroksidasyonuna sebep olurlar. Tripsin, α -kimotripsin, elastaz aktivitelerini ve kolinesterazları inhibe ederler. Fenthion reaktif oksijen türleri ve serbest oksijen radikallerin oluşmasına neden olarak karaciğer ve beyinde lipid peroksidasyonuna, DNA'nın tek kolunda kırıklara ve laktat dehidrogenazın ekstrasellüler sıvıya sızıntısında artışa yol açar. Ratlarda yapılan kronik fenthion toksisitesi çalışmalarında kolinesteraz inhibisyonuna ek olarak epididim ve nazolakrimal kanalda patoloji saptanmıştır (*Gökalp, 2003; Wexler, 2005*).

Pestisid olarak sıklıkla fenthion kullanan işçilerde başka pestisid bileşikleri kullanan işçilere ve kontrol gruplarına göre bilişsel işlevlerde bozulma ve daha yüksek maküler dejenerasyon insidansı gözlenmiştir. Gözdeki toksik etkiler bir yıl boyunca subkutan olarak fenthion verilen ratlarda da izlenmiştir. Bunun retinadaki

biyokimyasal süreçler üzerindeki uzun süren etkilere bağlı olabileceği düşünülmektedir (*Wexler, 2005*).

Fenthion karsinojen olarak değerlendirilmemektedir (*Wexler, 2005*). Ayrıca potent antiandrojen aktivitesinin olduğu bildirilmiştir. Bu etki dihidrotestosteronun androjenik aktivitesini antagonize etmesine bağlıdır (*Kitamura ve ark., 2003*).

Fenthion'a oral ve dermal maruziyete bağlı akut pankreatit ve kanda amilaz yüksekliği bildirilmiştir (*Kamanyire ve Karalliedde, 2004*). Ayrıca rat çalışmalarında da fenthion'un pankreatite neden olduğu gösterilmiştir. Organofosfat zehirlenmesi tedavisinde kullanılan atropinin pankreas duktuslarında hipertansiyona yol açan aşırı kolinerjik uyarıyı azaltarak organofosfatlara bağlı pankreatiti önlediği ileri sürülmüştür (*Ela ve ark., 2008*).

1.1.3.2. Akut Organofosfat Zehirlenmesi

İnsanlarda akut organofosfat zehirlenmesine bağlı toksik etkiler sırasıyla, akut kolinerjik sendrom, intermediyat sendrom (İMS) ve gecikmiş polinöropati (GPNP) olmak üzere birbirini izleyen üç evreye ayrılır:

1- Akut kolinerjik sendrom: Organofosfatlı bileşiğe maruziyetten sonra sonra ilk ortaya çıkan tablodur. Asetilkolin esteraz enziminin irreversible inhibisyonu sonucu sinaptik aralıkta asetilkolin artışı ve buna bağlı olarak parasempatik sistemin aşırı aktivasyonu söz konusudur. Akut kolinerjik sendromda oluşan bulgu ve belirtiler şu şekilde özetlenebilir:

Hafif: Baş ağrısı, baş dönmesi, anksiyete, bulanık görme, bulantı ve miyozis. Substernal rahatsızlık hissi, dil ve gözkapaklarında fasikülasyonlar, iştahsızlık.

Orta: Gözyaşı ve tükürük salgısında artış, abdominal kramplar, bulantı, diyare, kusma, terleme, bradikardi, tremor ve solunum sıkıntısı, hipertansiyon, kas fasikülasyonları.

Ağır: Solunum sıkıntısı, miyozis veya midriyazis, non-reaktif pupilla, dispne, pulmoner ödem, siyanoz, sfinkter kontrolü kaybı, kas spazmları, konvülsiyon,

hipotansiyon, bradikardi veya taşikardi, kardiyak iskemi, kardiyak disritmi, hipokalemi, hiperglisemi, akut pankreatit, koma ve solunum yetmezliğine bağlı ölüm (*Olson, 2006; WHO-UNEP, 2006*).

2- İntermediyat sendrom (İMS): Akut kolinerjik sendromun belirti ve bulguları azaldıktan sonra ortaya çıkan ve maruziyetten 2-4 gün geçince görülen bazı semptom ve bulgularla karakterize klinik bir tablodur. Yaklaşık %20 ile %68 arasında değişen oranlarda görüldüğü bildirilmektedir (*Singh ve Sharma, 2000*). İMS'nin karakteristik özellikleri arasında solunum kaslarında ve ekstremitelerin proksimal kaslarında zayıflık sayılabilir. Diğer bir belirtisi ise motor kraniyal sinirler tarafından innerve edilen kaslarda zayıflıktır (*De Bleeker ve ark, 1992; Karalliedde ve ark., 2006; Jayawardane ve ark, 2008*). Sık görülmesi ve solunum yetmezliğine yol açabilmesi nedeniyle İMS organofosfatlara bağlı mortalite ve morbiditeyi arttıran önemli bir faktördür. Ancak İMS'nin patofizyolojisi iyi bilinmemektedir. Daha önce öne sürülen mekanizmalar arasında çeşitli kolinerjik reseptörlerin duyarlılığında değişimler, kas nekrozu, uzamış asetilkolin esteraz inhibisyonu, oksim tedavisinin yetersiz uygulanması, postsinaptik asetilkolin reseptörlerinin down regülasyonu ve desensitizasyonu, post sinaptik membrandan asetilkolin salınımında yetersizlik ve oksidatif strese bağlı miyopati sayılmaktadır (*Yang ve Deng, 2007*). Fenthion'un İMS'ye yol açtığı bildirilmiştir (*Wexler, 2005*).

3- Gecikmiş polinöropati (GPNP): GPNP belli bazı organofosfat bileşiklerinin yol açtığı nadir olarak ortaya çıkan bir toksisitedir. Santral ve periferik sinir sisteminde, tek veya kısa süreli bir maruziyetten 1-4 hafta sonra bazı uzun aksonlarda görülen distal dejenerasyon ile karakterizedir. Alt ekstremitelerde kramp tarzı kas ağrıları, distal kısımlarda uyuşma ve parestezi görülür. Bunları ilerleyici güçsüzlük, alt ekstremitelerde derin tendon reflekslerinin baskılanması izler. Yürüyüş bozuklukları, piramidal bulgular ortaya çıkar. Hastalığın ilerlemesiyle bir iki gün içerisinde EMG'de denervasyon bulguları ile beraber sinirde uyarılamama görülür. Bazı vakaların sinir biyopsilerinde ikincil dejenerasyon ve aksonal dejenerasyon görülmüştür (*Jokanovic ve ark., 2002; Lotti ve Moretti, 2005*). Sinir dokusundaki nöropati target esteraz adı verilen bir enzimin fosforilize ve buna bağlı olarak inhibe olması sonucu GPNP gelişir. Ancak mekanizması iyi bilinmemektedir (*Kamanyire ve Karalliedde, 2004*;

Jokanovic ve ark., 2010). Fenthion ve GPNP ilişkisi konusunda literatürde farklı görüşler bulunmaktadır. Wexler'e göre (2005) fenthion GPNP'ye neden olmaz. Ancak diğer bir yazara göre (*Jokanovic ve ark., 2010*) fenthion da GPNP'ye neden olan organofosfatlı bileşikler arasında sayılmaktadır.

1.1.3.3. Oksidatif Stres ile Organofosfatların İlişkisi

Oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki denge bozulduğu zaman oksidatif stres oluşmaktadır. Bu denge ya antioksidan enzimlerin tükenmesinden ya da reaktif oksijen türlerinin aşırı birikmesinden dolayı bozulur. Hidrojen peroksit (H_2O_2), superoksit anyonu ($O_2\cdot^-$), hidroksil radikali ($HO\cdot$) gibi reaktif oksijen türleri lipid peroksidasyonuna, enzim inaktivasyonuna ve DNA hasarı oluşturarak oksidatif strese yol açarlar (*Yürümez ve ark., 2007*). Fenthion'un da içinde bulunduğu bazı organofosfatların oksidatif stres ve oksidatif doku hasarına neden olabileceği, bunun da toksik belirtilere katkıda bulunabileceği belirtilmektedir (*Bagchi ve ark., 1995*). Trevisan ve ark. (2008) bir OF olan malation'un düşük dozlarda verilmesine bağlı olarak antioksidan savunma mekanizmasının olumsuz etkilendiğini bildirmişlerdir. Akut maruziyetten farklı olarak, subkronik veya kronik maruziyetin etkilerinin esas mekanizması olarak oksidatif stres kabul edilmektedir. Akut veya subakut olarak düşük dozlarda bile alındığında oksidatif strese bağlı etkiler ortaya çıkmaktadır. Bu etkilerin karaciğer, böbrek, kas, bağışıklık sistemi, hematolojik sistemde görüldüğü (*Lukaszewicz-Hussain, 2010*) ve lipoperoksidasyon ile ilgili olduğu bildirilmiştir (*Possamai ve ark., 2007*).

1.1.3.4. Santral Sinir Sistemi Üzerine Etkileri

Antikolinesteraz bileşiklerine subkronik ve düşük doz maruziyet memeli hipokampusunda ciddi nörotoksisiteye yol açmaktadır (*Veronesi ve ark., 1990*). Akut organofosfat zehirlenmesine bağlı görülen akut kolinerjik sendrom, İMS ve GPNP organofosfatlara bağlı nörotoksisite içinde değerlendirilmektedir (*Jokanovic ve Kosanovic, 2010*). Bu üç nörolojik sendroma ek olarak akut veya bazen de düşük

dozda ve kronik maruziyete bağlı olarak birtakım davranış değişiklikleri gözlenmiş ve bunlara “Organofosfatlara bağlı kronik nöropsikiyatrik bozukluk” adı verilmiştir. Bu değişiklikler arasında uyuklama hali, konfüzyon, letarji, emosyonel dengesizlik ve yorgunluk sayılabilir. Ayrıca daha önce organofosfatlara maruz kalmış kişiler ile kontrol gruplarını karşılaştıran çalışmalarda, bu hastalarda, motor reflekslerde ve psikomotor testlerde bozukluklar, hafıza zayıflığı, görsel hafızada problemler, dikkati yoğunlaştıramama, hassasiyet gerektiren motor işlevlerde bozulma, depresyon, anksiyete gibi nöropsikiyatrik rahatsızlıklar ortaya çıktığı gösterilmiştir. Yüksek doz maruziyetten sonra distoni, koreatetoz, dişli çark belirtisi gibi ekstrapiramidal sistem belirtileri görölmüştür. Düşük dozda ve kronik olarak organofosfatlara maruz kalan tarım işçilerinde anksiyete düzeyi yüksek bulunmuştur (*Singh ve Sharma, 2000*).

Akut maruziyete bağlı kolinerjik kriz sonrası kronik nörotoksisite gelişebileceği konusunda yazarlar arasında görüş birliği vardır. Ayrıca kronik nörotoksisitenin ortaya çıkması ile akut kolinerjik atakların şiddeti arasında bir bağ olmadığı bildirilmiştir (*Jamal ve ark., 2002; Costa, 2006*). Ancak, düşük dozda ve kronik maruziyet hakkındaki çalışmalarda ve derleme yayınlarda, kolinerjik semptomlara neden olmayacak kadar düşük doz organofosfatın, nöropsikiyatrik bozukluklara ve davranış değişikliklerine yol açmayacağını savunan yazarlar olduğu gibi (*Costa, 2006*), tersini savunan araştırmacılar da vardır. Hayvan deneyleri ve insanlardaki olgularla ilgili yayınların analizini yapan Jamal ve ark. (2002) nöropsikiyatrik bozukluk gelişebileceği yönündeki kanıtların ağırlıkta olduğunu bildirmişlerdir.

1.2. Atropin

Parasempatolitik ilaçlar (Antimuskarinik ilaçlar) düz kas, dış salgı bezi, kalp hücreleri gibi efektör hücrelerin muskarinik tipteki kolinerjik reseptörlerini bloke eden ilaçlardır. Reseptör blokajından sonra farmakolojik etkilerinin oluşması efektör organlar üzerinde varolan parasempatik tonusun azalmasına veya ortadan kalkmasına bağlıdır. Parasempatik inervasyonu olmayan damar sisteminde bu nedenle belirgin bir spesifik etkileri yoktur. Organların çoğunda ikili otonomik inervasyon olduğu için

parasempatolitik ilaçlar tarafından parasempatik tonusun kaldırılması sempatik tonusun egemen duruma geçmesine neden olur (*Kayaalp, 1993*).

Parasempatolitik ilaçlar grubuna giren atropin bir belladon alkaloididir. Kimyasal bakımdan hyosyamin'in rasemik şeklidir (D,L-hyosyamin) (*Kayaalp, 1993*). Ağız yolundan alınan atropin ve skopolamin mide-barsak kanalından tamamiyle ve çabuk absorbe edilir. Etkiler, alınışlarından sonra 1 saat içinde başlar ve 3-4 saat kadar sürer. Gözdeki midriyazis bunun bir istisnasını oluşturur; bu etkinin ortadan kalkması genellikle 24 saati bulur. Kuvaterner amin türevlerinin ağızdan alınan dozlarının ancak 1/10 – 1/4'ü absorpsiyona uğrar. Atropin'in yarıya yakın bir kısmı, karaciğerde bulunan esterazlar tarafından hidroliz edilir. Kalan kısmı değişmeden idrarla atılır. Eliminasyon yarılanma ömrü 2.5 saattir (*Kayaalp, 1993*).

Atropin organofosfat zehirlenmesi tedavisinde kullanılan esas ilaçlardan birisi olup muskarinik postsinaptik membranda asetilkolinin kompetatif antagonistidir. Aşırı muskarinik uyarılmayı geriye döndürür ve tükürük salgısı artışı, abdominal kramp ve terleme gibi semptomların tedavisinde etkilidir. Ancak otonom ganglion ve nöromüsküler kavşaktaki nikotinik reseptörler üzerine etkili olmayıp, kas zayıflığını geri döndürmez. Atropin'in ilk dozu intravenöz yoldan 2 mg başlanır ve tam atropinizasyon sağlanıncaya kadar her 5- 15 dakikada bir tekrarlanır. Bronşiyal salgıların ve terlemenin azalıp kuruması, pupilla dilatasyonu, kalp atım hızının 100/dk'yı geçmesi atropinizasyonun sağlandığını gösterir. (*Singh ve Sharma, 2000; Olson, 2006; Fidan ve ark., 2007; Ela ve ark., 2008*). Atropin tedavisi maruz kalınan bileşiğe bağlı olarak 3-5 gün devam ettirilir. Atropin kan beyin bariyerini geçerek artmış asetilkolin'in yol açtığı ekstrapiramidal sistem etkilerini geri çevirir (*Singh ve Sharma, 2000*).

1.3. Organofosfat Zehirlenmelerinde Tedavi

OF zehirlenmeleri hızlı tanı ve tedavi gerektiren ciddi bir durumdur. Solunum yetmezliği esas mortalite nedeni olduğu için solunum desteği yoğun bakım şartları ve uygun tedavi gereklidir. Özellikle İMS'de solunum desteği önemlidir. GPNP'de ise standart tedaviler etkisiz olup steroidler veya bir proteaz inhibitörü olan fenilmetilsülfonil florid denenmektedir (*Husain ve ark., 2010*).

Laboratuvar bulguları

1. Rutin klinik laboratuvar testleri yardımcı değildir.
2. Plazma ve kırmızı kan hücrelerinin kolinesteraz düzeyi belirgin olarak azalmıştır.
3. Serum lipaz ve amilazının yükselmesi pankreatitin göstergesidir (*True ve Dreisbach, 2003*).

Tedavi

A. Akut zehirlenme

Acil girişimlerin uygulanması

- a. Hava yolunun açık olmasının sağlanması gerekir
- b. Yapay solunum ve O² desteği uygulanmalıdır
- c. Yüksek dozlarda atropin verilerek atropinizasyonun sağlanması gerekir
- d. Deri ve müköz membranlar bol miktarda su ve sabunla yıkanarak kontaminasyona son vermeye çalışılmalıdır.
- e. Semptomlar gelişmemişse su ile lavaj yapılarak ağızdan alınan materyalin vücuttan uzaklaştırılması gerekir veya ipeka şurup ile kusma sağlanmalıdır (*True ve Dreisbach, 2003*).

Antidot verilmesi

- a. **Atropin:** Semptomların varlığında 2 mg atropinin intramüsküler verilmesi ve göz kapakları ve dildeki tremorlar, miyozis, tükürükteki artma, terleme, nabız yavaşlaması, müsküler faskülasyonlar, solunum güçlüğü, pulmoner ödem ve

kalp bloğu gibi parasempatik toksisite belirtileri kontrol edilene kadar her 3-8 dakikada bir tekrarlanması gerekir. Semptomların sürekli kontrol altında tutulabilmesi için 2 mg atropinin sıkça tekrarlanması gerekebilir. İlk 2 saat içinde 12 mg gibi yüksek dozda atropin güvenle verilebilmektedir. Atropin tedavisinin kesintiye uğraması hızlı gelişen öldürücü pulmoner ödem veya solunum yetmezliği ile sonuçlanabilir.

- b. Kolinesteraz reaktivatörleri:** Karbaril intoksikasyonunda kullanılmamalıdır. Yalnızca maksimum atropin uygulaması ile birlikte kullanılabilir (True ve Dreisbach, 2003).

Genel girişimlerin uygulanması

Pulmoner sekresyonlar, postural drenaj veya aspirasyon yapılarak uzaklaştırılmalıdır. Morfin, Aminofilin, Barbitüratlar, Fenotiazinler ve diğer solunum deprese edici ilaçlardan kaçınılmalıdır. Ayrıca konvülsiyonların tedavi edilmesi gerekir. Akut Pankreatite bağlı hiper glisemi varsa insülin ile tedavi edilmelidir (True ve Dreisbach, 2003).

B. Kronik zehirlenme

Kan kolinesteraz düzeyinin azalması ile fark edilen fosfat esterlerinin absorpsiyonu, kolinesteraz düzeyi normale dönene kadar daha fazla maruz kalımdan kaçınma gerekliliğinin göstergesidir (True ve Dreisbach, 2003).

Prognoz

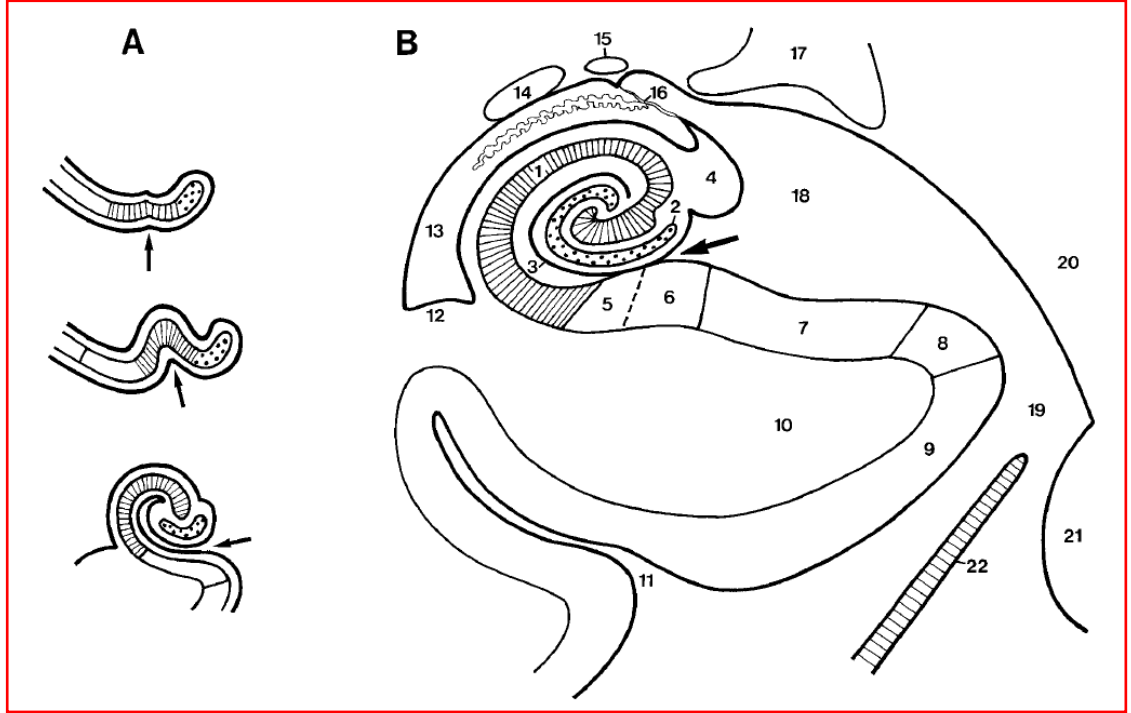
Akut zehirlenmelerde ilk 4-6 saat çok kritiktir. Tedaviden sonra semptomlardaki düzelme iyi değerlendirilmelidir ki; hastanın yaşayabilmesi için gereken tedavi sağlanmış olsun. Teorik olarak atropin ve yapay solunum desteği ile kombine tedavi, tedavi edilemediğinde öldürücü olan dozun 50 ile 100 katına kadar da koruyucu olabilmektedir (True ve Dreisbach, 2003).

1.4. Formatio hippocampi (*Hipokampal Formasyon*)

Formatio hippocampi (*FH*); hippocampus, gyrus dentatus, entorinal korteks ve subiküler kompleksden meydana gelmiştir. Hippocampus'a denizataına benzerliğinden ötürü anatomist Arantius tarafından bu isim verilmiş olup, koronal kesitlerinde dış yüzü koç boynuzuna benzediği için de *Cornu Ammonis* (*Ammon'un boynuzu*) olarak da isimlendirilmiştir (*Songur, 2001a; Crossman, 2005*).

1.4.1. Gelişimi

Embriyolojik olarak FH fissura choroidea eğrisinin dış bölümünden oluşur. Bu bölgede gelişen kortekste nöral progenitörler çoğalıp göç eder ve hemisfer duvarı kalınlaşarak bir kabarıklık oluşturur. Bu kabarıklık ventrikülün medial tarafına doğru çıkıntı belirmesine neden olur. Bu çıkıntıdan da hippocampus şekillenir. Hippocampus ilk olarak üst kısımda hemisferin medial duvarında görülür. Bu sırada lamina terminalis'in önündedir. Arkaya uzanıp temporal uca ulaşarak burada area piriformis'e yaklaşır. Hippocampus'un çevresindeki marjinal bölgeye nöroblastlar göç ederek gyrus dentatus'u oluşturur. Hippocampus ve gyrus dentatus'un her ikisi de paraterminal alandan arkaya doğru, fissura choroidea üstünden geçer. Öne doğru temporal uca ulaşır area piriformis ile devamlılık gösterirler. Sığ bir oluk olan sulcus hippocampalis FH boyunca hemisferin medial yüzeyinde uzanır. Hippocampus hücrelerinden gelen efferent lifler medial kenar boyunca toplanarak fissura choroidea'nın hemen üzerinde öne ilerler. Ön tarafta ventrale dönüp lamina terminalis'in lateral kısmına girerler ve corpus mamillaris ve çevresindeki çekirdeklerde sonlanırlar. Bu efferent hipokampal lifler fimbria hippocampi ve fornix'i meydana getirir (*Songur, 2001a; Crossman, 2005*).



Şekil 1.2. Gyrus dentatus (noktalı alan) ve cornu ammonis'in (taralı alan) gelişimi. Oklar sulcus hippocampalis'in yüzeysel kısmını göstermektedir. 1, cornu ammonis; 2, gyrus dentatus; 3, sulcus hippocampalis (derin parçası); 4, fimbria; 5, prosubiculum; 6, subiculum; 7, presubiculum; 8, parasubiculum; 9, entorhinal alan; 10, gyrus parahippocampalis; 11, sulcus collateralis; 12, kollateral kabarıklık; 13, ventriculus lateralis'in cornu inferior'u; 14, nucleus caudatus'un cauda'sı; 15, stria terminalis; 16, fissura choroidea ve plexus choroideus; 17, corpus geniculatum laterale; 18, lateral part of the fissura transversa'nın lateral kısmı; 19, cistern ambiens; 20, mesencephalon; 21, pons; 22, tentorium cerebelli (Duvernoy, 2005)

1.4.2. Anatomisi

1.4.2.1. Hippocampus

Hippocampus; yaklaşık 5-8 cm uzunluğunda ventriculus lateralis'in cornu inferius'unun tabanı boyunca uzanan bir gri cevher parçasıdır. Subiculum ve gyrus parahippocampalis medialis'in üzerinde yer alır. Hemisferin alt kısmına bakan bölümü konkav, ventriculus lateralis'e bakan bölümü ise konveks olup epandim ile örtülüdür. Geniş olan anterior kısmına *pes hippocampi* adı verilir ve bu yapının üzerinde 2-3 adet yüzeysel oluk bulunur. Bu oluklar arasında kalan çıkıntılara

digitationes hippocampi adı verilir. Hippocampus'un yukarıda *ventriculus lateralis*'e komşu yüzünü örten beyaz cevher kısmına *alveus hippocampi* adı verilir. Burası ependim ile kaplıdır. Ependimin altında *alveus*'un lifleri medialde toplanarak *fimbria fornicis*'i oluşturur. Hippocampus alt mediale doğru subiculum ve gyrus parahippocampalis ile devam eder. Arkada ise corpus callosum'un splenium kısmının altına kadar uzanır (Songur, 2001a).

Gyrus parahippocampalis'in posterior kısmı dar olup superiorundaki düz yüzeyine *subiculum* adı verilir. Subiculum sulcus hippocampalis ile hippocampus'tan ayrılır. Gyrus parahippocampalis'in anteriora doğru uzanan kısmına ise *lobus piriformis* denir ve *uncus* ile entorinal kompleksten oluşur (Arıncı ve Elhan, 2001; Taner, 2004; Crossman, 2005; Duvernoy, 2005).

1.4.2.2. Gyrus Dentatus

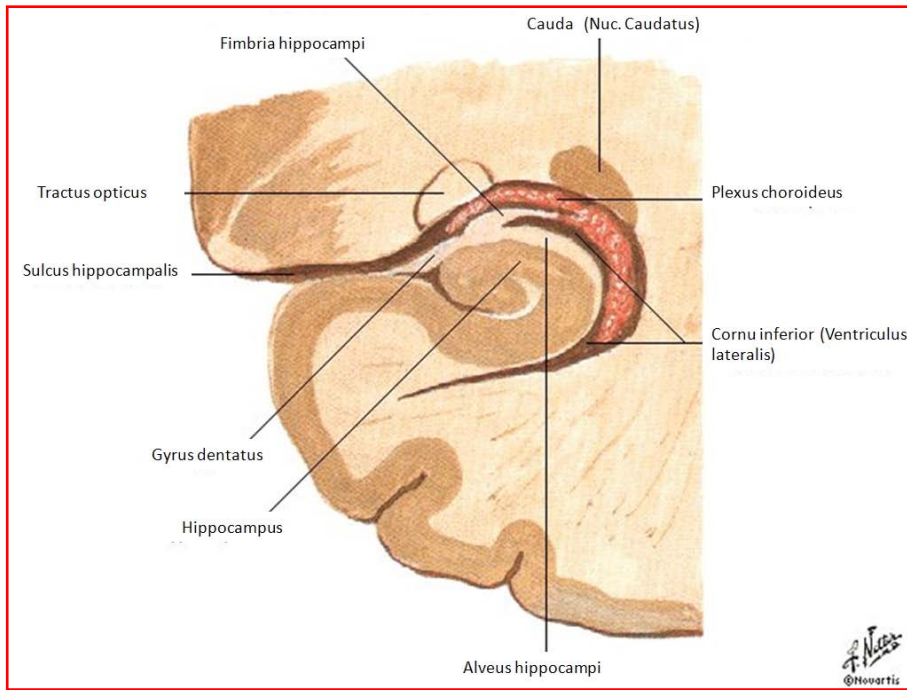
Gyrus parahippocampalis ile hippocampus arasında bulunan, çentikli, ince bir gri cevher bölümüdür. İnferiorda subiculum, lateralde hippocampus, medialde ise *fimbria fornicis* ile ilişkilidir. *Fimbria* ile gyrus dentatus'un medial kenarı arasında *sulcus fimbriodentatus* bulunur. Gyrus dentatus ile gyrus parahippocampalis'in subikular uzantısı arasında *sulcus hippocampalis* uzanır. Gyrus dentatus posteriorda *gyrus fasciolaris* ve sonrasında *indusium griseum* ile devamlılık gösterir. Anteriorda ise *uncus*'un çentiği ile devam eder ve mediale dönüp Giacomini Bandı ile birleşir (Songur, 2001a).

1.4.2.3. Subikular Kompleks

Subikular kompleks; subiculum, presubiculum ve parasubiculum olmak üzere üç bölüme ayrılır. FH'nin ana subkortikal projeksiyonları buradaki piramidal nöronlardan çıkar. Bu lifler entorinal korteks yanında nucc. septales, nucc. mamillares, nuc. accumbens ve anterior talamus'a giderler. (Songur, 2001a; Crossman, 2005).

1.4.2.4. Entorinal korteks

Entorinal korteks (*Brodmann 28. alanı*) gyrus parahippocampalis'in bir bölümü olup primer koku merkezinden çok sayıda lifler alır ve *sekonder koku merkezi* olarak bilinir. Burası kokunun algılandığı yerdir. Rostrale doğru corpus amygdaloideum'un anterior sınırına kadar uzanır. Kaudalde ise hippocampus alanının bir kısmı ile örtüşür. Entorinal korteksin daha primitif seviyeleri bulbus olfactorius'dan projeksiyonlar alırken kaudal bölgeleri primer olfaktör uyarı almazlar. Hippocampus'a çoğunlukla entorinal korteksten lifler gelir. Medial ve lateral perforant yollar hippocampus ve gyrus dentatus'un tümünü uyarır. (*Songur, 2001a; Crossman, 2005*)



Şekil 1.3. Hippocampus ve fornix, coronal kesit, posterior bakış (*Netter, 2005*)

1.4.3. Histolojisi

1.4.3.1. Hippocampus

Hippocampus, cornu ammonis teriminin baş harfleri olan CA olarak da ifade edilebilir. Hücre yapısındaki farklılıklara göre CA1, CA2 ve CA3 gibi farklı alanlara bölünmüştür. CA1 subiculum'a, CA3 ise gyrus dentatus'a en yakın olan alan olup daha sonra CA3 ile gyrus dentatus arasında insanlarda CA4 tanımlanmıştır (*Songur, 2001a*).

Histolojik olarak, ventriküler yüzeyden başlayarak derine doğru hippocampus'a ait tabakalar şu şekilde sıralanır:

1- *Alveus hippocampi*: FH'nin bütün ventriküler yüzeyini örten bu tabaka hippocampus'a ait efferent ve afferent lifler içerir. Efferent lifler subikular ve hipokampal piramidal hücre aksonlarından oluşur. Bu aksonlar fimbria fornicis'e gider. Afferent lifler ise esas olarak septum'dan gelir. (*Duvernoy, 2005; Songur, 2001a; Crossman, 2005*).

2- *Stratum oriens*: Esas olarak piramidal hücrelerin bazal dendritleri ile internöronların yerleştiği tabakadır. Buradaki çoğu nöron aksonları alveus liflerine katılır. Diğer hücre aksonları ise, en derinde yer alan moleküler tabakaya kadar uzanır. CA3 bölgesindeki piramidal hücre aksonlarından ayrılan Schaffer kollaterallerinin bir bölümü burada sonlanır (*Songur, 2001a; Crossman, 2005; Duvernoy, 2005*).

3- *Stratum pyramidale*: Karakteristik olarak bu tabakada piramidal ve Golgi Tip II hücreleri çoğunluktadır. Piramidal hücrelerin gövdesi üçgen şeklinde olup tabanı alveus'a dönüktür. Hücrenin tabanından çıkan aksonlar stratum oriens'i geçerek alveus'a ulaşır. Bu aksonlar esas olarak nucc. septales'e gider. Ancak bir bölümü başka piramidal nöronlarla sinaps yapan asosiyasyon lifleri olup karşı taraf hippocampus'una da geçtikleri düşünülmektedir. Ayrıca Schaffer kollateralleri stratum radiatum'da CA1 bölgesindeki piramidal nöronların apikal dendritlerine ulaşır. Hippocampus'a asıl şeklini veren buradaki piramidal hücrelerin dizilimidir (*Songur, 2001a; Crossman, 2005; Duvernoy, 2005*).

Bu tabakadaki piramidal hücrelerin apekslerinden çıkan apikal dendritler stratum moleculare'ye kadar ulaşır. Ayrıca stratum oriens'de dallanan bazal dendritlere de sahiptirler. Bu nedenle piramidal nöronlar çift piramidal olarak da adlandırılırlar (Duvernoy, 2005).

Piramidal tabakada, değişik yollar takip eden kısa aksonlu hücreler de mevcuttur. Bunlardan biri olan sepet hücreleri çoğunlukla stratum oriens ve stratum pyramidale arasındaki geçiş bölgesinde bulunur. Bu hücrelerin aksonları alveus hippocampi'ye geçmez, aksi yönde ilerleyerek piramidal hücrelerin çevresinde yoğun bir ağ yaptıktan sonra stratum radiatum'a geçerler. Bu hücreler hippocampus'un iç aktivitesini düzenler (Songur, 2001a).

4- *Stratum lucidum*: CA3 alanındaki piramidal hücrelerin proksimal dendritleri ile bağlantı sağlayan yosunsu lifler içerir. İnsanlarda diğer primatlara göre daha az belirgin olup CA1 ile CA2 alanlarında bulunmaz (Songur, 2001a; Crossman, 2005; Duvernoy, 2005).

5- *Stratum radiatum*: Geniş bir ağ yapısında olup piramidal tabakanın sınırından ışınsal olarak uzanan dallara sahiptir. CA2 ve CA3 hücrelerine hippocampus'un diğer seviyelerinden asosiyasyon lifleri ve subkortikal yapılardan (örn. nucc. septales ve area supramammillaris) afferentler gelir. Schaffer kollateralleri adı verilen ve CA3 ile CA2'deki piramidal hücrelerden CA1'e gelen lifler de burada sonlanır (Songur, 2001a; Crossman, 2005; Duvernoy, 2005).

6- *Stratum lacunosum*: Entorinal korteksten gelen önemli afferent lifler burada sonlanır. Entorinal korteksten gyrus dentatus'a giden projeksiyon lifleri (perforan yol) bu tabakadan geçerken piramidal hücrelerin distal apikal dendritleriyle sinaps yaparlar (Songur, 2001a; Crossman, 2005; Duvernoy, 2005).

7- *Stratum moleculare*: İnce sinir lifleri ve çok az sayıda internöron içerir (Songur, 2001a; Crossman, 2005; Duvernoy, 2005).

Bazı yazarlar tarafından 5., 6. ve 7. tabakalar "*stratum moleculare*" adı altında tek bir tabaka olarak kabul edilirken, bazı kaynaklar da 6. ve 7. tabakaları "*stratum lacunosum-moleculare*" ismiyle incelemektedir (Songur, 2001a; Duvernoy, 2005).

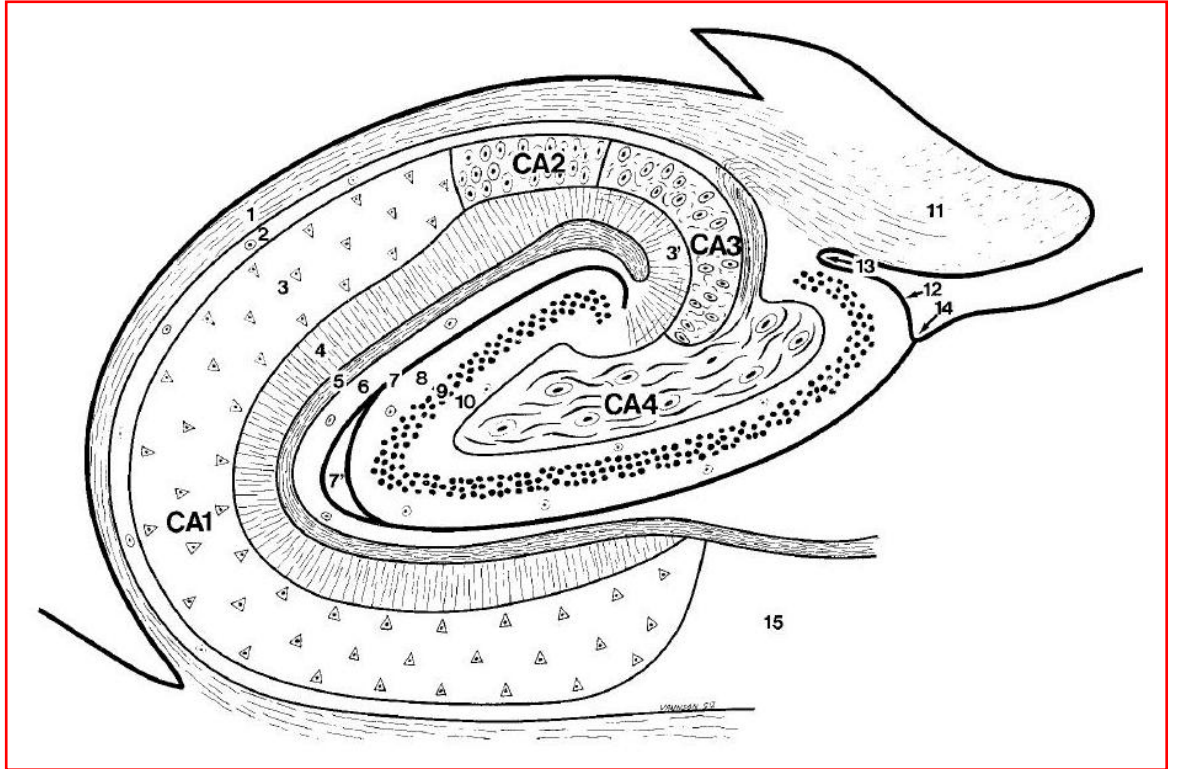
1.4.3.2. Gyrus Dentatus

Gyrus dentatus FH'nin en küçük kompleksi olup üç tabakadan oluşur. Bu tabakalar sulcus hippocampi'nin dorsal yüzeyinden fimbria hippocampi'ye doğru şu şekilde sıralanır.

1- *Stratum moleculare*: Entorinal korteksin ikinci ve üçüncü tabakalarından perforan yol aracılığı ile lifler alır. Bu lifler moleküler tabakanın dış üçte ikilik kısmındaki granüler hücrelerinde sonlanır. Granüler hücrelerden ayrılan yosunsu lifler CA3 piramidal hücrelerinin proksimal dendritlerinde sonlanır. CA3 piramidal hücreleri Schaffer kollateralleri aracılığı ile CA1 alanındaki stratum radiatum'da sonlanan lifler gönderir. CA1 alanı ise esas olarak subiküler komplekse lif gönderir. Stratum moleculare cornu ammonis'deki aynı adlı tabakadan sulcus hippocampalis ile ayrılır. Ancak iç üçte birlik kısmı stratum granulosum ile temas halinde olup burada kommissural ve septal lifler bulunur. (Songur, 2001a; Crossman, 2005; Duvernoy, 2005).

2- *Stratum granulosum*: Küçük nöronların oluşturduğu yoğun bir granüler hücre tabakasını içerir. İnsanda yaklaşık olarak 9×10^6 sayıda granüler hücre bulunur. Tek bir dendrit herbir granüler nöron gövdesinin bazal ucundan çıkarak stratum moleculare'ye uzanır. Yosunsu lif adını alan aksonları ise hippocampus'ta piramidal hücre aksonları boyunca ilerleyerek, piramidal hücrelerin apikal dendritlerinin bazal kısımları ile sinaptik bağlantılar yapar. Granüler ve moleküler hücre tabakası bazen "*fascia dentata*" olarak ta adlandırılırlar. Granüler hücre tabakası, gyrus dentatus'un ana tabakası olup granüler nöronların hücre gövdelerini içerir. Bu nöronlar küçük yuvarlak ve yoğun bir şekilde bulunurlar. Aksonları yosunsu lif adını alır ve polimorfik tabakaya geçip CA4 ve CA3'e ulaşırlar (Songur, 2001a; Crossman, 2005; Duvernoy, 2005).

3- *Stratum polymorphica (multiforme)*: Değişik tipte piramidal hücreler ve sepet hücreleri içerir. Bu hücrelerin lifleri (*asosiyasyon lifleri*) gyrus dentatus'ta kalır ve FH'nin başka bölgelerine çıkmazlar. Granüler tabakanın CA4 ile bağlantısını sağlar. Granüler nöronların aksonları buradan geçer (Songur, 2001a; Crossman, 2005; Duvernoy, 2005).



Şekil 1.4. Cornu ammonis ve gyrus dentatus alanları

Cornu Ammonis: **1**, alveus; **2**, stratum oriens; **3**, stratum pyramidale; **3'**, stratum lucidum; **4**, stratum radiatum; **5**, stratum lacunosum; **6**, stratum moleculare; **7**, vestigial sulcus hippocampalis (rezidüel boşluk, **7'**).

Gyrus dentatus: **8**, stratum moleculare; **9**, stratum granulosum; **10**, stratum polymorphica; **11**, fimbria; **12**, margo denticulatus; **13**, sulcus fimbriodentatus; **14**, sulcus hippocampalis superficialis; **15**, subiculum (Duvernoy, 2005).

1.4.3.3. Entorinal Korteks

Entorinal korteks diğer neokorteks bölgelerinden farklı görünümde olup altı tabakaya ayrılır:

1.tabaka: Aselüler ve pleksiform görünümündedir.

2.tabaka: Selüler görünümde olup büyük piramidal ve stellat hücre adacıklarından oluşur. Bu hücre adacıkları entorinal korteksin ayırt ettirici bir özelliği olup *verrucae hippocampae* adı verilen çıplak gözle görülebilen küçük kabarıklıklar oluştururlar ve entorinal korteksin sınırını gösterirler.

3. tabaka: Orta büyüklükteki piramidal hücrelerden oluşur.

4. tabaka: *Lamina dissecans* adı verilir. Yoğun liflerden oluşur ve hücre bulunmaz.

5. tabaka: Beş veya altı sıra şeklinde dizilmiş büyük piramidal hücrelerden oluşur.

6. tabaka: Bu tabaka beşinci tabakadan ancak peririnal korteks sınırına yakın kısımlarda ayırt edilebilir. Buradaki hücreler angüler demet (perforan yol aksonlarından oluşan ve subikular kompleksin derininde yer alan subkortikal beyaz cevher parçası) etrafından geçerek presubiculum ve parasubiculum'un altında uzanırlar (*Duvernoy, 2005*).

1.4.3.4. Subikular kompleks

Subiculum; yüzeyel moleküler tabaka, piramidal hücre tabakası ve derin polimorfik tabaka olmak üzere üç tabakadan meydana gelir. Yüzeyel moleküler tabaka piramidal hücrelerin apikal dendritlerini içerir. Presubiculum; subiculum'un medialinde olup sıkışık olarak düzenlenmiş yüzeyel piramidal hücreler içerir. Bu yoğun hücre tabakasının yüzeyinde pleksiform hücre tabakası bulunur. Presubiculum'un derinindeki hücreler ya subiculum'un medial uzantısı ya da entorinal korteksin derin kısımlarının lateral uzantısı olarak değerlendirilebilir.

Parasubiculum'un da bir yüzeyel pleksiform ve bir de primer hücre tabakası vardır. Entorinal kompleks ile subikular kompleksin bütünü arasındaki sınırı oluşturur. Paracubiculum'un derinindeki hücre tabakaları entorinal kompleksin derin tabakalarından ayırt edilemez (*Songur, 2001a; Crossman, 2005*).

1.4.4. Hipokampal Yollar

1.4.4.1. Afferent yollar

Hippocampus dolaylı da olsa tüm duyuşal uyarıları içeren afferent liflere sahiptir. Polisinaptik yol; entorinal korteks, gyrus dentatus, CA3, CA1 ve subiculum'dan oluşun uzun bir nöron zinciridir. Morfolojik olarak entorinal alan, gyrus dentatus, cornu ammonis ve subiculum'dan oluşur. Fonksiyonel olarak FH'yi oluştururlar. Polisinaptik yolun başlangıcı entorinal korteksin ikinci tabakasıdır (*Duvernoy, 2005*).

1- Perforan yollar: Entorinal korteksin ikinci tabakasından çıkan aksonlar subiculum'u delerek esas olarak gyrus dentatus'un stratum moleculare'sinde sonlanır. Bu lifler glutaminerjik olup gyrus dentatus üzerinde uyarıcı etkiye sahiptir.

2- Yosunsu (mossy) lifler: Gyrus dentatus'dan CA3 alanına giderler. Glutaminerjik liflerdir.

3- Schaffer kollateralleri: CA3 ve CA2'den CA1 alanına uzanan piramidal hücre lifleridir.

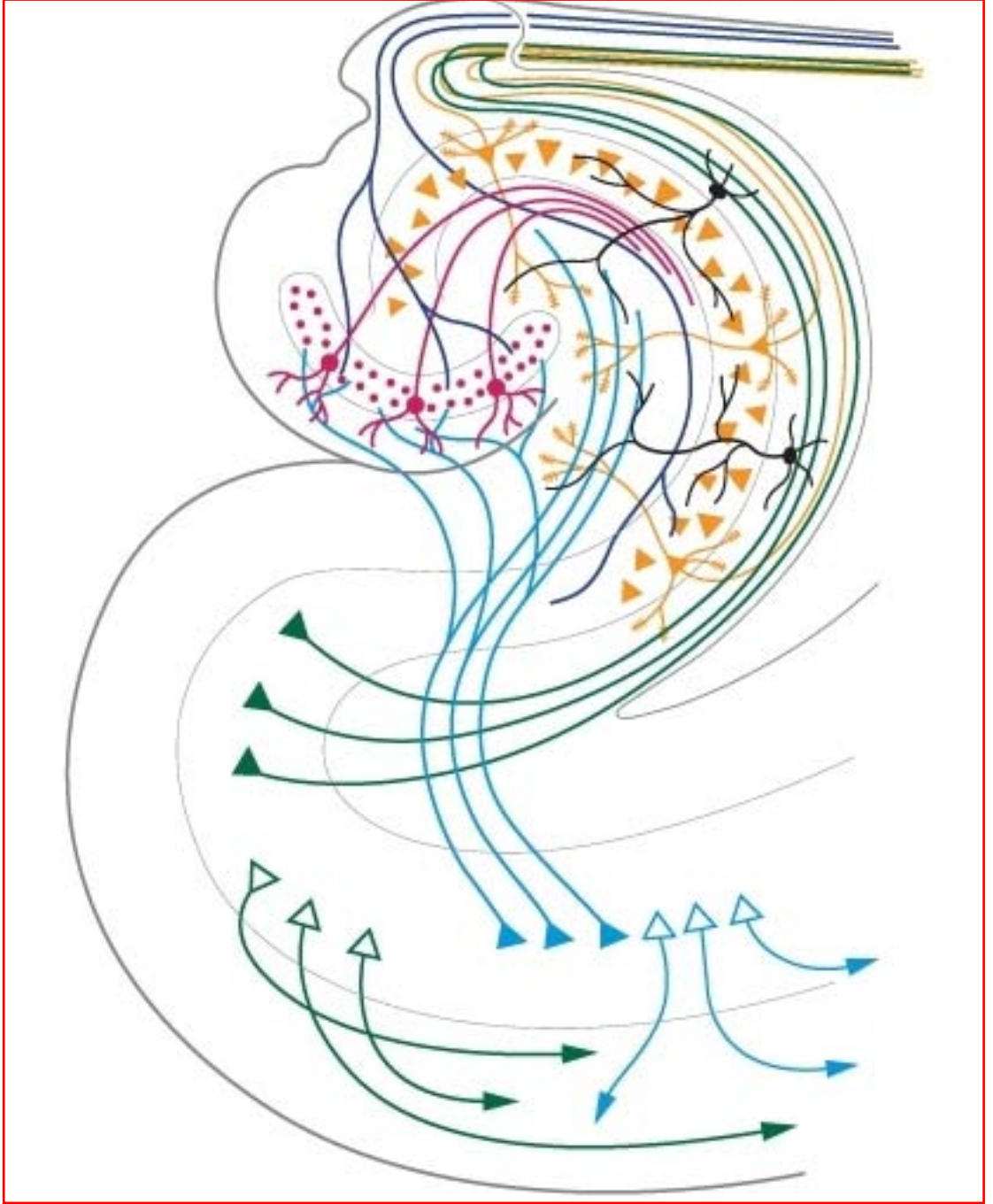
4- Alvear lifler: Subkortikal alanlardan gelen bu lifler alveus'tan hippocampus'a geçerek CA1 kısmı ile subiculum'un iç tabakasına dağılırlar.

Hippocampus, gyrus parahippocampalis'ten de uyarılar alır ve bu uyarıları fornix yolu ile corpus mamillare, area septalis ve bazı hipotalamik nukleuslara nakleder. Ayrıca hippocampus, fornix aracılığı ile nucc. anteriores thalami, area hypothalamica posterior, corpus mamillare, area septalis, substantia innominata, area tegmentalis ventralis, nucc. raphe ve nuc. parabrachialis'ten lifler alır (*Songur, 2001a; Crossman, 2005; Duvernoy, 2005*).

1.4.4.2. Efferent yollar

Fornix hippocampus'un en büyük efferent yoludur. Hippocampus ve subiculum'dan başlayan ve sayıları 1,2-2,7 milyon arasında değişen miyelinli lifler, alveus'tan *fimbria hippocampi*'ye geçer. Buradan *crus fornicis*, *corpus fornicis*, *columna fornicis* yolunu izler. Her iki *crus fornicis* arasında çapraz yapan liflere *commissura hippocampi* (*Lyra Davidis*, *psalterium*) adı verilir. Fornix içerisindeki lifler aşağıdaki bölgelere dağılır:

- 1- *Commissura anterior*'un arkasından geçerek *nuc. medialis thalami*'de sonlanmak üzere *corpus mamillare*'ye gelirler.
- 2- *Nucc anteriores thalami*'de sonlanmak üzere *commissura anterior*'un arkasından geçerler.
- 3- *Mezensefalon tegmentumu*'nda sonlanmak üzere *commissura anterior*'un arkasından geçerler.
- 4- *Nucc. septales*, *lateral preoptik alan* ve *hypothalamus*'un ön bölgelerinde sonlanmak üzere *commissura anterior*'un önünden geçerler.
- 5- *Nucc. habenulares*'e ulaşmak üzere *stria medullaris thalami*'ye katılırlar (*Snell, 2000; Songur, 2001a; Crossman, 2005; Duvernoy, 2005*).



Şekil 1.5. Gyrus dentatus, hippocampus (cornu ammonis), subiculum ve gyrus parahippocampalis'in bağlantıları. *Sarı:* Cornu ammonis'deki piramidal hücrelerin gövdeleri dendritleri ve aksonları

Mor: Fimbria'dan cornu ammonis'e gelen afferent lifler *Blue:*Entorinal korteksten perforan yol ile gelen afferentler

Siyah: Sepet nöronlar

Magenta: Gyrus dentatus nöronları ve yosunsu lifleri oluşturan aksonları.

Yeşil: Subiculum'dan fornix'e giden alveus yoluyla giden lifler (Crossman, 2005)

1.4.5. Fizyolojisi ve Kimyası

FH'deki üç yolda glutamat ve aspartat ana eksitatör transmitter olarak bulunur. Bu yolların birincisi perforant yol (entorinal korteksten başlayıp gyrus dentatus'da sonlanır), ikincisi yosunsu lifler (gyrus dentatusdaki granüler hücrelerden başlayıp CA3 alanındaki piramidal hücrelerde sonlanır), üçüncüsü ise CA3 piramidal hücrelerinin Schaffer collateralleridir (CA1 piramidal hücrelerinde sonlanırlar) (*Songur, 2001a*).

Gyrus dentatus'daki granüler hücre tabakasının derin kısımlarında GABAerjik nöronlar bulunur (sepet hücreleri). GABA reseptörleri en yoğun olarak gyrus dentatus'un moleküler hücre tabakasında bulunur. Hippocampus'ta ise GABAerjik hücreler çoğunlukla stratum oriens'de bulunur (*Songur, 2001a*).

Ayrıca FH'de birçok peptit içeren nöronlar da bulunur. Bir opioid peptit olan *dynorphin* gyrus dentatus'taki granül hücrelerinde ve CA3 alanına uzanan yosunsu liflerde bulunur. Enkefalinin ise entorinal kortekste başlayan liflerde bulunduğu düşünülmektedir (*Songur, 2001a*).

Papez Devresi

Hippocampus'un dış bağlantılarını genellikle "Papez Devresi" ifade eder. Hippocampus ve gyrus cinguli hasarı olan hastalarda ortaya çıkan duygusal bozukluklara dayanarak James Papez (1883-1958) tarafından 1937 yılında tarif edilmiştir. Papez Devresi sırasıyla; hippocampus, fornix hippocampi, corpus mamillare, tractus mamillothalamicus, nucc. anteriores thalami, gyrus cinguli, gyrus parahippocampalis ve hippocampus'a geri bağlantılar yapan nöronları kapsar. Yapılan araştırmalarda duygusal tepkilerle ilgili rolünden daha çok, esas olarak bellek işlevleriyle ilgili olduğu ortaya çıkmıştır. Bu devrenin ana bileşenlerinin lezyonlarında bellek bozuklukları ortaya çıkar. Papez devresinde liflerin çoğunluğu corpus mamillare'ye gider. Corpus mamillare'deki nöronların hippocampus'un teta ritmi ile eşzamanlı uyarı çıkardığı gösterilmiştir. Bu ritmik aktivite hippocampus'un corpus mamillare'ye olan etkisine bağlıdır. Benzer şekilde anterior thalamus'un da teta ritmine uygun uyarı yaptığı ve böylece bu ritmin tüm Papez devresinde

tekrarlandığı savunulmaktadır. Bu olgunun bellek kontrolü ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca Duygusal tepkilerin olabilmesi için bu devrenin sağlam olması gerekir (*Songur, 2001a; Vertes ve ark., 2001*).

Hippocampus'un teta ritmi büyük amplitüdü, sinüzoidal dalgalar olup memelilerde elektro ensefalogramda (EEG) kaydedilen en büyük senkronize sinyaldir. Ratlarda REM uykusu ve motor aktivite sırasında gözlenir ve hippocampus'un bellek işlevleriyle ilgilidir. Kısa süreli bellekten orta ve uzun süreli belleğe bilginin aktarılması ve depolanmasında rol oynadığı ileri sürülmektedir (*Vertes, 2005*). Buna göre, uyku ve bellek arasındaki ilişki açısından iyi ve kaliteli bir uykunun bellekteki bilgilerin pekiştirilmesinde rol oynadığı ileri sürülebilir.

REM evresinde hippocampus'a işaret eden seratonerjik nucc. raphe aktiftir. Derin uykuda neokorteksteki EEG kayıtları düzenli ve senkronize ritim gösterirken, hippocampus EEG kayıtları desenkronizedir. Uyanıklık durumunda ise neokortikal kayıtlar desenkronize olmasına rağmen; hippocampus yavaş ve düzenli bir ritim gösterir. Hippocampus'un EEG dalgaları ritmik sinüzoidal tipteki "teta dalgaları"dır. Bu durum yapının spontan aktivitesini ve bilincin değişik devrelerle ilişkili olduğunu gösterir. Hippocampus; uzun süreli bir sinaptik ilişki türü olan long term potentiation (LTP) özelliğine sahiptir. Bunun yanı sıra iskemiye seçici duyarlılık gösterir. Hippocampus'un bir diğer özelliği ise hipereksitabilitesidir. Örneğin hafif elektriksel uyarılar, hippocampus bölgelerinde uyarı kesildikten sonra saniyeler süren lokal epileptik nöbetlere sebep olur. Bu da hippocampus'un normal koşullarda bile uzun süren sinyaller yaydığını gösterir (*Songur, 2001a; Songur, 2001b*).

Hippocampus'ta monoaminerjik, kolinerjik, GABAerjik afferentler bulunur. Örneğin; glutamat ve aspartat, hippocampus 'tan en çok salgılanan eksitatör transmitter olarak bilinirler. Somatostatin-immünoreaktif lifler, stratum lacunosum ve stratum oriens'te; glutamat dekarboksilaz (*GAD*)-immünoreaktif lifler, stratum pyramidale, stratum radiatum ve stratum oriens'te; kolesistokinin (*CCK*)-immünoreaktif lifler ise özellikle stratum pyramidale'de gösterilmiştir. Bunun yanında; hippocampus'un pek çok alanlarında vazoaaktif intestinal polipeptid (*VIP*); CA3'e giden yosunsu liflerde de bir opioid peptid olan dinorfin yaygın olarak bulunur (*Songur, 2001a; Songur, 2001b*).

1.4.6. Fonksiyonları

Görme, işitme, koku dokunma, iç organ duyuları gibi hemen her türlü duyuşsal uyarı hippocampus'ta işlenip ventral thalamus, hypothalamus ve limbik sistemin diğer bölümlerine gönderilir. Bu şekilde hippocampus limbik sistemi etkileyerek davranışın şekillenmesine katkıda bulunur (*Songur, 2001a; Songur, 2001b*).

Emosyonel davranışların düzenlenmesinde esas rolün hippocampus'tan çok corpus amygdaloideum'a ait olduğu kabul edilmektedir. Bazolateral amigdalar çekirdekten çıkan lifler önce nuc. thalamicus dorsomedialis'e, buradan da prefrontal kortekse gider. Bu liflerin kişinin davranışını etkilediği düşünölmektedir. Ayrıca corpus amygdaloideum'un özellikle korku ile ilişkili olduğu ve diğer duygulara bağlı otonomik tepkileri de düzenlediğine inanılmaktadır (*Bannerman ve ark.,2004; Duvernoy, 2005*). Ancak özellikle ağrı tarafından oluşturulan emosyonel davranışların düzenlenmesinde hippocampus'un de rolü olduğu kabul edilmektedir (*Duvernoy, 2005*).

Hippocampus'tan gelen lifler prekomissural fornikten geçerek ventral striatuma ulaşır. Ventral striatum (*nuc. accumbens*) aynı isimli devrenin esas merkezidir. Bu döngünün emosyonel durumlara motor tepkilerin kontrolünde rol oynadığı ve uyuşturuu bağımlılığının ortaya çıkmasında rol aldığı düşünölmektedir (*Duvernoy, 2005*).

Hippocampus içinde dorsal ve ventral bölgeler arasında işlevsel bir ayrım olduğu bilinmektedir. Hippocampus'un dorsal parçasının esas görevinin nesnelerin yerini öğrenme ve bu bilgiyi gerektiğinde bellekten geri çağırma işlevi (uzamsal öğrenme) ile ilgili olduğu düşünölmektedir (*Czerniawski ve ark.,2009*). Dorsal hippocampus'un lezyonlarında bu işlevlerle ilgili bozukluklar ortaya çıkar (*Ferbinteanu ve McDonald, 2001; Pothuizen ve ark., 2004*) ve ayrıca belirtilerin şiddeti ile lezyonun genişliği arasında ilişki bulunmuştur. Buna karşılık hippocampus'un ventral kısımlarının uzamsal öğrenme üzerine etkisinin çok az olduğu görölmüştür (*Moser ve ark., 1993*). Ratlarda yapılan öğrenme ile ilgili labirent deneylerinde, hippocampus'ta sitotoksik lezyonlar oluşturulmuş ve dorsal hippocampus lezyonlarında konumsal bellek ve öğrenme işlevlerinin bozulduğu gösterilmiştir.

Aynı deneylerde ventral hippocampus lezyonlarının bu işlevlere etkisinin olmadığı bulunmuştur (*Bannerman ve ark.,2004*).

Dorsal hippocampus'un görevinin esas olarak konumsal bellek ve öğrenme ile ilgili olması hippocampus'un bu kısmına gelen liflerin yapısı ile de uyumludur. Yani görsel-konumsal uyarılar entorinal alan, peririnal alan ve korteksin primer duyu alanlarından (asosiyasyon korteksi aracılığı ile) hippocampus'un arka üçte ikilik kısmına gelir. Tersine koku duyu gibi diğer duyu tipleri dorsoventral eksen boyunca daha eşit dağılım gösterir. Buna göre, konumsal uyaranlardan çok diğer uyaran tiplerine (kokudan oluşan ipuçları gibi) bağlı bellek fonksiyonlarının dorsal hippocampus'a daha az bağımlı olduğu söylenebilir (*Bannerman ve ark., 2004*).

Hippocampus'un ventral kısımlarının emosyonel durumlar, aksiyete, korku ve stres ile ilişkili davranışları düzenlediği bulunmuştur. Bu da yapı ile uyumludur. Ventral hippocampus'un anksiyete ve benzeri duygularla ilgili merkezi sinir sistemi yapıları ile daha fazla bağlantı kurduğu düşünülmektedir. Bu yapılar arasında prefrontal korteks ve amygdala sayılabilir. Bu sonucusuyla ventral hippocampus'un bağlantısı karşılıklıdır (*Bannerman ve ark., 2004; Rogers ve ark., 2006; Czerniawski ve ark., 2009*).

Bellek kısa, orta ve uzun süreli olarak incelenir. Bunlardan kısa süreli bellek saniyeler ile, orta süreli bellek dakika-birkaç saat ile, uzun süreli bellek ise saat-günler-yıllar ile ilgilidir (*Kesner ve Hopkins, 2006*). Hippocampus'un orta ve kısa süreli bellekte önemli rol oynadığı bilinmektedir. Kısa süreli bellek (yakın bellek), yeni bilgilerin depolanması için gerekli olup hippocampus olmadan sözel veya sembolik anıların kalıcı olması mümkün değildir (*Songur, 2001a*).

Hippocampus'un geniş lezyonlarında kısa ve orta süreli belleğin her ikisinde kayıp olduğu gösterilmiştir. Küçük lezyonlarında ise kısa süreli belleğin kısmen korunduğu bulunmuştur. İnsanlarda hippocampus lezyonlarına bağlı bellek bozuklukları orta süreli olarak ortaya çıkmakta, kısa süreli belleğin korunduğu görülmektedir. Bu durumun, insanlarda bilateral ve tam lezyon oluşma ihtimalinin çok düşük olmasına ve dolayısıyla sağlam kalan hippocampus dokusunun kısa süreli bellek işlevlerine yeterli olmasına bağlı olabileceği öne sürülmektedir (*Kesner ve Hopkins, 2006*).

Diğer yandan, sağ hippocampus görsel, sol hippocampus ise sözel bellek ile ilgili fonksiyonlarda daha fazla aktivite göstermekte ve bu bölgelerin lezyonlarında da ilgili belleklerde kayıp gelişmektedir (*Songur, 2001a*).

Hippocampus'un endokrin fonksiyonu da vardır. Örneğin; hippocampus ön bölgesinde östradiolü konsantre eden nöronlar saptanmıştır. Rat deneylerinde ise hippocampus'un uyarılması ile ovulasyonda inhibisyon meydana geldiği gösterilmiştir. Ayrıca fornix'in kesilmesi ile ACTH salınımında bozukluk saptanmıştır (*Songur, 2001a*).

1.4.7. Lezyonları

Genel olarak hippocampus'un uyarılması ile kızgınlık, sakinlik veya hiperseksualitenin herhangi biri ortaya çıkar. Hafif uyarılmasında ise, uyarım bittikten sonra bile saniyelerce süren bir epileptik nöbet görülür. Bu nöbetler sırasında birey koku, görme, işitme, dokunma ve benzeri tarzda hallüsinasyonlar tanımlar. Birey bilinçlidir ve hallüsinasyonların gerçek olmadığını bilir (*Guyton, 1987; Dere, 2000*).

1939 yılında Cluver ve Bucy, maymun temporal lobunun büyük bir kısmını çift taraflı çıkarmak suretiyle davranış değişikliklerini incelemişlerdir. 1950 yılında, insanda hippocampus'u içine alacak şekilde temporal lobun medial parçalarının iki taraflı çıkarılmasından sonra uysallık, beslenme alışkanlığında değişiklik, psişik körlük, hiperseksualite ile beraber, belirgin bir şekilde bellek kaybının olduğu görülmüştür. Bu tabloya Cluver-Bucy Sendromu adı verilir (*Moss ve ark., 1981; Aktan, 1997; Dere, 2000*).

Metabolik (*alkolizm, kronik malnutrisyon veya tiamin eksikliği gibi*) veya mekanik (*enfarktüs, kanama veya cerrahi gibi*) nedenlerden dolayı, hippocampus'un iki taraflı lezyonu sonucu yeni hatıraların kaydedilememesi ile ilgili bir amnezi durumu vardır ki, buna Korsakoff Sendromu (*Dismnezik Sendrom*) adı verilir. Bu hastalar rahatsızlanmadan önce öğrendiği karmaşık işleri başarabilirler. Fakat bundan çok daha basit, ancak yeni öğrenilmiş becerileri uygulayamazlar. Ayrıca geçmişi ile ilgili

konfabulasyon adı verilen hayal veya konfüzyon tarzı saçma deneyimler anlatır veya cevap verirler, hatta buna kendileri de inanırlar (*Kocatiürk, 1986; Noback ve Demarest, 1986; Dere, 2000*).

Yakın zamana kadar yaşlanma sürecinde, hippocampus'taki hücre sayısının önemli ölçüde azaldığı, bunun da yaşlılıkta görülen bunamaya sebep olabileceği düşünülüyordu. Fakat, son zamanlarda yapılan çalışmalar sonucu, yaşlanma ile hippocampus'taki hücre kaybı arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadığı anlaşılmıştır. Yalnız, Alzheimer Hastalığına yakalanmış insanların hippocampus CA1, CA2 ve CA3 alanlarına ait piramidal hücre sayısında bir azalma tespit edilmiştir (*Selkoe, 1993*). Papez devresindeki corpus mamillare ve anterior talamik nükleusların lezyonlarında insanlarda amnezi ortaya çıkmıştır. Wernicke-Korsakoff Sendromu'nda corpus mamillare'de veya anterior talamik nükleuslarda lezyona bağlı şiddetli anterograd amnezi görülmüştür (*Vertes ve ark, 2001*).

1.5. Stereolojik Metotlar

Stereoloji, gerçekte üç boyutlu olan beyin, böbrek, testis, akciğer, ince bağırsak, hücre gibi biyolojik yapılar ile maden filizi gibi metalurjik örneklerin iki boyutlu kesitlerinden elde edilen verilerden hareketle, onların üç boyutlu yapı ve özellikleri ile ilgili bilgiler sağlayan bilim dalıdır. Beyindeki toplam nöron sayısı, sinaps yoğunluğu veya toplam beyin hacmi; böbrekte korteks-medulla oranı, toplam glomerül sayısı veya bir glomerüldeki hücre sayısı; testisteki seminifer tübüllerin ve vücudumuzdaki kapiller damarların toplam uzunlukları, akciğerlerdeki alveollerin ve ince bağırsakların toplam yüzey alanları; bir hücredeki toplam mitokondri sayısı vb. gibi sayı, uzunluk, alan ve hacim gibi parametreler de niceliksel veriler elde edilerek somut yorumlar yapılabilmektedir.

Yeni stereolojik metotların kullanılmadığı çalışmalarda çeşitli hata kaynakları ile karşılaşılır. En fazla karşılaşılan hata kaynakları ise, hücrelerin küre biçimli çekirdeklere sahip ve kesitlerin kalınlıksız iki boyutlu düzlemler oldukları gibi çalışılan yapı ile ilgili ön kabullerin yapılmasıdır. Eğer bu ve benzeri hata kaynakları görmezden gelinirse, çalışma sonuçları gerçek değerden sistematik bir biçimde

sapma gösterebilir. Böyle bir yaklaşımda, her zaman yanlış sonuçlar elde edileceğini söylemek mümkün değilse de, tesadüfen gerçek değerdeki sonuçların elde edilmesi durumunda dahi, hataların etkileri gizli ve belirlenemez olduğu için, sonuçların ne derece gerçeği yansıttığı belirlenemeyeceğinden, bu tip çalışmaların güvenilirliğinden söz edilemez. Stereolojide, böyle hata kaynaklarından etkilenmesi muhtemel olan yöntemler, taraflı (biased) metotlar olarak nitelendirilmektedir (*Howard ve Reed, 1998*).

Gerçekte "kesit" kavramı, üç boyutlu katı bir yapı içerisinde geçen ve kalınlığı olmayan iki boyutlu düzlemler için kullanılır. Halbuki biyolojik örneklerden herhangi bir mikrotomda alınan kesitler, aslında belli bir kalınlığa sahip olan dilimlerdir. Kesitlerin kalınlıkları ne kadar küçük olursa olsun, ihmal edilip doğrudan iki boyutlu düzlemler olarak değerlendirilemezler. Çünkü kesit kalınlığı arttıkça, kesit düzleminde gözlenen maksimum çaptaki tanecik izdüşüm sayısında da artma gözlenmekte, dolayısıyla biyolojik örneklerden alınan kesitler, ister ışık, isterse elektron mikroskobu için olsun, kalınlıkları da dikkate alınarak değerlendirilmelidirler. Bu durum ilk kez 1927'de Holmes tarafından klasik kitabı olan Petrografik Metotlar'da tarif edilmiş olup "Holmes Etkisi" olarak bilinmektedir.

Holmes etkisinin fark edilmesinden sonra, çeşitli araştırmacılar bu problemin üstesinden gelmek için bir çok düzeltme faktörleri öne sürmüşlerdir. Bunlardan en ünlüsü ve en çok kullanılanı, Abercrombie'nin düzeltme faktörüdür. Abercrombie kesit kalınlığına ve tanecik büyüklüğüne bağlı olarak ortaya çıkan sayım hatalarını anlattığı çalışmasını 1946 yılında yayınlamıştır. Buna göre, sayımı yapılan taneciklerin gerçek sayısı; sayım sonucunda elde edilmiş olan tanecik veya tanecik parçalarının izdüşüm sayısının, kesit kalınlığı / (kesit kalınlığı + ortalama tanecik yüksekliği) şeklinde ifade edilen bir düzeltme faktörü ile çarpımına eşit olmalıdır (*Abercrombie 1946*). Bu ifade, şu şekilde formülize edilmektedir:

$$N = N_s \times \frac{t}{t + \bar{D}}$$

N = Düzeltme sonucu elde edilen tanecik sayısı,

N_s = Sayım sonucu elde edilen tanecik izdüşüm sayısı,

t = kesit kalınlığı,

\bar{D} = Ortalama tanecik yüksekliği.

Bu duruma göre, örneğin, kesit kalınlığının ortalama tanecik yüksekliğine eşit veya ona yakın ($t \cong \bar{D}$) bir değerde olması halinde, düzeltme sonucu elde edilen tanecik sayısı, kesitlerde izdüşüm sayımı sonucunda elde edilen tanecik sayısının yaklaşık yarısı kadar olacaktır. Bu düzeltme faktörünün çeşitlemeleri (modifikasyonları) sayılabilecek diğer bir çok denklem, farklı araştırmacılar tarafından değişik zamanlarda gündeme getirilmiştir (*Konigsmark, 1970; Willams ve Rakic, 1988*). Stereolojik metotların uygulama alanı bulmasından sonraki yıllarda bile, hatalı olan yanları ortaya konmuş olmasına karşın, yine bir çok araştırmacı tarafından kaynak olarak gösterilmeye devam edilmektedir (*Willams ve Rakic, 1988*).

Gerçekte, Abercrombie ve diğer araştırmacıların önerdikleri düzeltme faktörleri, hatalı sonuçlar elde edilmesine sebep olmaktadır. Abercrombie tarafından önerilen düzeltme faktörü, diğer araştırmacıların önerdikleri düzeltme faktörlerinin temelini oluşturduğu için, bu metodun hatalı sonuçlar üretmesine sebep olan özelliklerine göz atmak, diğer araştırmacıların önerdikleri metotların hata kaynakları hakkında da bir fikir edinmek için yeterli olacaktır.

Öncelikle, Abercrombie'nin yöntemi taraflıdır yani gerçek değerden sistematik olarak sapma göstermektedir. Bizzat Abercrombie, kendi metodunun, hücre sayısını %5-10 oranında fazla hesaplamaya meyilli olduğunu belirtmektedir (*Abercrombie 1946*). Ayrıca, tanecik yüksekliğinin belirlenmesi de önemli bir meseledir. Bu değerın ölçülmesi, pratik olarak imkansız olduğundan, tanecik yüksekliği yerine "tanecik çapı" ölçülerek kullanılmaktadır. Bu ise, çalışılan taneciklerin küre biçimli oldukları gibi bir varsayımda bulunduğunu göstermektedir. Özellikle taneciklerin küre şeklinde olmadığı, basık veya büzülmüş olduğu durumlarda, tanecik yüksekliği ile tanecik çapı arasında oldukça önemli bir fark meydana gelecektir. (*Willams ve Rakic, 1988*).

Bir diğer önemli husus, dokudan kesit alma işlemi esnasında, bıçağın kesit yüzeyindeki tüm tanecikleri kestiği şeklindeki varsayımın gerçekte ne derece doğru olduğunun değerlendirilmesidir. Bıçak taneciğe geldiği zaman, onu sadece "bazen" keser. Bazen ise, ki çoğunlukla da böyle olur, tanecikleri ya olduğu yerde iterek veya yerinden çıkararak kesilmemesine veya yerinden düşmesine sebep olur. Dolayısıyla, kesit alma işlemi esnasında, taneciklerin hangi oranda kesilip kesilmediğini

belirlemek mümkün olmadığından, bu durum da düzeltme faktörünün hatalı hesaplamasına neden olmaktadır (*Willams ve Rakic, 1988*).

Bir dokudan alınan kesitlerin kalınlığının ısı, nem, gömme ortamının tipi ve bıçağın kesme açısı gibi etkilere bağlı olarak oldukça farklılık gösterebilir. Bu metot kesitler arasında meydana gelebilecek kalınlık değişimlerinden de önemli oranda etkilenir (*Willams ve Rakic, 1988*).

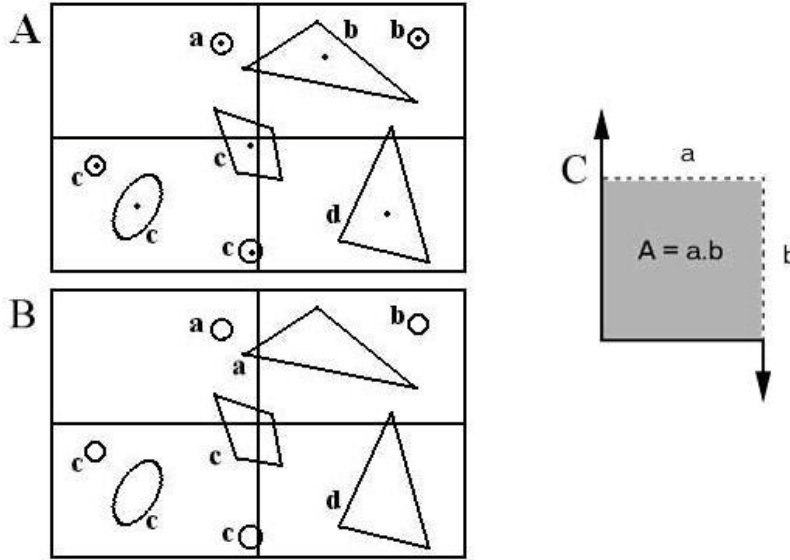
Abercrombie ve diğer araştırmacılar tarafından önerilen düzeltme faktörleri, farkına varılmış olan sayım hatalarının düzeltilmesi amacıyla ortaya atılmış, fakat, özellikle yeni stereolojik metotların icadı ile birlikte, eksik yönleri daha iyi anlaşılmış ve tüm bu eksikliklerin üstesinden yeni stereolojik metotlar kullanılarak gelinmiştir.

1.5.1. Sistematik Rastgele Örneklemeye Stratejisi

Stereolojik metotların etkinliğinin ana unsurunu sistematik rastgele örneklemeye (SRÖ) stratejisi oluşturur. Bu örneklemeye biçiminin temel özelliği, örneklemenin sistematik olmasına karşın ilgilenilen yapının her noktasına eşit örneklenme şansı tanınmasıdır. Histolojik çalışmalarda, araştırma konusu olan yapı ya da organdan elde edilen kesitlerin tümü tek tek incelenebilir, fakat genellikle bu tür bir çalışma gereksiz yere zaman ve emek kaybına neden olacağından, çalışmanın etkinliğinden söz etmek mümkün olmayacaktır. Böyle durumlarda elde edilen kesitler arasından belli oranlarda bir seçim yapılması gerekmektedir. Seçilen örneklerin ilgili yapıyı en iyi biçimde temsil edebilmesi için, yapının her bir noktasının eşit örneklenme şansına sahip olması gerekmektedir. SRÖ, belli bir örneklemeye aralığı ile, ilk aralık içinden rastgele bir noktadan başlanmak şartıyla, ilgilenilen yapının tamamının örneklenmesidir. Önceden belirlenen örneklemeye aralığı, örneklemenin sistematik olmasını, ilk aralık içinde rastgele bir noktadan başlanması ise, örneklemenin rastgele olmasını sağlar. SRÖ'de örnek sayısı arttırıldıkça, yapının her noktasına eşit örneklenme şansı tanındığı için, örneklemenin yapıyı temsil edebilirliği de artar ve gerçek değere sistematik bir biçimde yaklaşılır (*Howard ve Reed, 1998; Aslan, 1999*).

1.5.2. Tarafsız Sayım Çerçevesi

Tanecik sayımı yapmak için tanecik izdüşümlerinden yararlanılan durumlarda, kesitlerde ortaya çıkan tanecik izdüşümlerinin belli bir alanla sınırlandırılarak sayılmaları gerekmektedir. Eski metotlarda, kare veya dikdörtgen biçimindeki çerçeveler kesitler üzerine yerleştirilerek, doğrudan bu çerçeveler içine düşen tanecik izdüşümlerinin sayılması yöntemi kullanılmıştır. Daha sonraları, bu tip bir yaklaşımın tanecik sayısını fazla hesap etmeye sebep olduğu anlaşılınca köşegenlerinden biri boyunca ikiye ayrılmış olan bir sayım çerçevesi kullanılmaya başlanmıştır. Bu çerçevedeki sayım kuralı, çerçeve kenarlarının bir tarafına isabet eden tanecikler sayılırken, diğer tarafa isabet edenler sayım dışı bırakılırlar. Yani iki yasak kenara, iki de serbest kenara sahip bir sayım çerçevesidir. Bu yasak ve serbest kenarların kesiştiği köşelerden biri yasak köşe, diğeri de serbest köşe olarak belirlenmiştir. Fakat bu çerçevenin de gerçek tanecik değerini vermekten uzak olduğu daha sonra tarafsız sayım çerçevesinin ortaya çıkışı ile matematiksel olarak ispatlanmıştır (Şekil 1.6.) (Gundersen, 1977).



Şekil 1.6. Tarafsız sayım çerçeveleri. (A) Tanecik izdüşümlerinin merkezi noktaları esas alınarak sayım yapılmaktadır. Buna göre (a) çerçevesinde bir, (b)'de iki, (c)'de dört ve (d)'de ise bir tanecik sayılır. (B) Bu çerçevelerde ise (C)'de gözlenen tarafsız sayım çerçevesi kuralına göre sayım yapılır. Buna göre de sayılan tanecik izdüşüm sayısı yine aynıdır. Fark, yalnızca bazı taneciklerin farklı çerçevelerce sayılmasıdır. Örneğin üçgen biçimli izdüşümün çoğu (b) çerçevesinde görülmesine rağmen (a) çerçevesince sayılmaktadır (Aslan, 1999'dan alınmıştır).

Tarafsız sayım çerçevesi, en genel olarak kullanılan şekliyle, bir kalın ve düz, bir de ince ve kesikli iki tip çizgi ile gösterilen dört kenara sahip basit bir dikdörtgen veya karedir. Görünüşte pek fazla bir değişikliği olmamasına rağmen, sayım kuralları açısından diğer sayım çerçeveleri ile oldukça farklılık gösterir. Temel olarak, ince ve kesikli çizgiler “serbest” kenarlar, kalın ve devamlı çizgiler de “yasak” kenarlardır. Yani kesikli çizgilere rastlayan izdüşümler sayılırken, devamlı çizgilere isabet eden izdüşümler sayım dışı bırakılır (*Mayhew, 1991*).

Tarafsız sayım çerçevesinin en önemli özelliği, yasak kenarların uzantıdır. Bu uzantılar, çerçevenin yerleştirildiği görüntü alanının tamamını kaplayacak şekilde, biri kendi doğrultusunda diğeri ise serbest kenar doğrultusunda uzanırlar (*Gundersen, 1977*).

1.5.3. Disektör

Taneciklerin sayımı için etkin ve tarafsız stereolojik metotların temeli 1984’de Sterio tarafından, disektörün yeniden tarif edilmesi ile atılmıştır (*Sterio, 1984*). Üç boyutlu stereolojik bir sonda olan disektörün en önemli özelliği, tanecikleri büyüklükleri ile değil, sayıları ile orantılı bir olasılıkla örneklemesidir. Bunun için disektör sayım metodu, taneciklerin büyüklüğü, şekli ya da yönelimi hakkında herhangi bir varsayımda bulunmaksızın tanecik sayımında kullanılabilir. Disektörün en basit şeklinde, iki ardışık veya birbirlerinden belli bir uzaklıkla ayrılmış olan iki kesit kullanılır ve bunun için disektör adını alır (*West, 1993*). İki kesit arasındaki mesafe “disektör yüksekliğidir”. Sayılmak istenen herhangi bir taneciğin kesit çiftlerinden birinde bulunup, diğerinde bulunmayan izdüşümleri ilgili alana yerleştirilen tarafsız sayım çerçevesinin sayım kurallarına göre sayılır ve bu tip taneciklere disektör tanecik (Q-) adı verilir. Bu şekilde ilgilenilen yapının tümünden geçen seri kesitlerden sistematik olarak seçilerek elde edilen kesit çiftlerinde sayım yapılır. Sayım yapılan kesite örnek kesit (look-up section), kontrol yapılan kesite ise gözlem kesiti (reference section) denmektedir. Eğer tanecik sayımı kesit çiftlerinden ilkinde yapılırsa kesit alma yönüne göre taneciklerin üst uçları, ikincisinde yapılırsa taneciklerin sonları sayılmış olur. Burada gerekli olan, kesitlerde takip edilen tanecik

izdüşümlerinin aynı taneciğe ait olup olmadığının belirlenmesidir. Disektörle yapılan sayım kayıp kep (lost caps) ve fazla yansıma'dan (over projection) etkilenmez (*Sterio, 1984; Mayhew, 1991*).

Çalışmamızın amaçları;

1. Bir organofosfat bileşiği olan fenthion'un hippocampus CA bölgesindeki piramidal nöronlar üzerine toksik etkisini stereolojik yöntemlerle ve ışık mikroskopisi düzeyinde incelemek,
2. Atropinin, fenthion'un muhtemel nörotoksitesine karşı koruyucu etkisi olup olmadığını araştırmaktır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Hayvanlar

Çalışmada 18 adet 200-250 g ağırlıkları arasında yetişkin Wistar albino tipi erkek rat kullanıldı. Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulundan izin alındıktan sonra, Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezinden ratlar alındı. Ratlar oda ısısında 25 ± 2 °C, $50 \pm \%15$ nem ortamında normal pellet yemle beslendi ve çalışmaya başlamadan 5 gün önce laboratuvara alınarak ortama uyum sağlaması için bekletildi.

2.2. Deney

Çalışmada kontrol grubu, Fenthion grubu ve Fenthion+Atropin grubu olmak üzere üç grup oluşturuldu. Bu gruplara alınan ratlar, Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezinden alınan ve laboratuvara uyum sağlamış 18 adet rat arasından rastgele olarak seçildi.

Kontrol grubunu oluşturan ratlara (6 adet) 0,8 g/kg serum fizyolojik subcutan olarak tek doz verildi ve bunu takiben ilk 4 saat boyunca saatte bir olmak üzere 2 mg/kg serum fizyolojik intraperitoneal olarak verildi.

Fenthion grubunu oluşturan ratlara (6 adet) 0,8 g/kg fenthion subcutan olarak tek doz verildi. Bunu takiben ilk 4 saat boyunca saatte bir olmak üzere 2 mg/kg serum fizyolojik intraperitoneal olarak verildi.

Fenthion+Atropin grubunu oluşturan ratlara (6 adet) 0,8 g/kg fenthion subcutan olarak tek doz verildi ve bunu takiben ilk 4 saat boyunca saatte bir olmak üzere 2 mg/kg atropin sülphate intraperitoneal olarak verildi. Atropin sülphate'nin ilk

dozu fenthion ile beraber başlandı, bunu takiben her 1 saat sonra aynı doz 4 kez tekrarlandı. Ratlar bu işlemlerin yapılmasının 5. gününde perfüze edildiler.

2.2.2. Perfüzyon

Ratlar, içinde pamuk emdirilmiş eter bulunan bir kavanoz içinde 2-3 dakika derin anesteziye girmeleri için bekletildiler. Ratlar anesteziye girdikten sonra pens ve makas yardımı ile toraks derisi ve toraks ön duvarı, kesilerek kalbin atriumları ayırt edilecek şekilde ksifoid boyuna doğru açıldı. Sol ventrikülden 0.5 ml heparin insülin enjektörü ile verildikten sonra, ince uçlu bir makas ile sağ atrium kesildi ve kelebek seti ile etüvde 37 °C'ye kadar ısıtılmış serum fizyolojik verilmeye başlandı. Kan tamamen boşalınca kadar serum fizyolojik verilmeye devam edildi. Sonrada %10'luk formalin ile fiksasyona başlandı. Fiksasyona başladıktan kısa bir süre sonra ratların başında ve ayaklarında kasılmalar gözlemlendi. Sonra da ratların kafaları makasla gövdelerinden ayrıldı; kafa derileri alınıp kafatasları çıkarıldı ve beyinler, bazal kısımlarındaki sınırlar önden arkaya doğru kesilerek çıkartıldıktan sonra %10'luk formalin içerisinde onbeş gün bekletildikten sonra doku takip işlemleri yapıldı.

2.3. Histolojik işlemler

2.3.1. Doku takibi

Doku takibi için aşağıdaki işlemler uygulandı:

1. Akar suda yıkama.....1 gece
2. %70'lik Alkol.....1 saat
3. %80'lik Alkol.....1 saat
4. %96'lık Alkol.....1 saat
5. %100'lük Alkol.....1 saat
6. Ksilen.....1 saat
7. Ksilen.....1 saat
8. Paraplast.....1 gece oda sıcaklığında
9. Paraplast.....2 saat 60 °C
10. Bloklama

2.3.2. Kesitlerin alınması

Çalışmamız esnasında kesitler, önceden 10 cc distile su 10 cc %10'luk formol içerisinde 1 g jelatin eritilmesiyle oluşan formol-jelatin karışımı sürülmüş ve 1 saat 40 °C'de bekletilerek kurutulan lamlara, 40 µm kalınlığında coronal yönde 1/7 örnekleme ile kesitler alındı. Lamlara alınan kesitlerin kurummasına izin vermeden, içinde bir miktar su bulunan cam şalelere alıp 40 °C deki etüvde bir gece bekletildi. Böylece lamlara kuvvetli bir biçimde yapışan kesitler boyanmaya hazır hale getirilmiş oldular.

2.3.3. Boyama

Doku kesitlerinin boyanması için %1'lik Cresyl fast violet kullanarak aşağıdaki işlemler uygulandı.

1. Ksilen.....15 dakika
2. Ksilen.....15 dakika
3. Ksilen.....15 dakika
4. %100'lük Alkol.....10 dakika.
5. %96'lık Alkol.....10 dakika.
6. %80'lik Alkol.....10 dakika.
7. %70'lik Alkol.....10 dakika.
8. Distile su.....10 dakika.
9. Cresyl fast violet.....6-7 dakika (40°C de).
10. Distile su.....5 dakika.
11. %96'lık Alkol.....Boyanın çoğu uzaklaşınca kadar.
12. Cresyl fast violet ayrıştırıcısı (60 ml kloroform + 44 ml %96'lık alkol 9 damla glasiyal asetik asit) çekirdek ve Nissl farklılaşması sağlanıncaya kadar.
13. %96'lık Alkol.....5 dakika.
14. %100'lük Alkol.....10 dakika.
15. Ksilen.....10 dakika.
16. Ksilen.....1 saat.
17. Entellan ile kapatma.

2.4. Optik Parçalama

Stereolojik literatüre “*optical fractionator*” olarak geçmiştir. Bir organda veya belirli bir yapıdaki toplam tanecik sayısının tarafsız ve etkin bir biçimde hesaplanmasını sağlayan metottur. Optik parçalama, incelenecek bölge hacminin uniform SRÖ ile elde edilen belli bir bölümünde optik disektörle nöron ya da herhangi bir hücre veya hücre topluluklarının oluşturduğu taneciklerin sayımından ibarettir. Pratikte, bu ilgilenilen bölgenin tümünden geçen kesitlerden SRÖ ile elde edilen belli bir bölümünün, nöron ya da herhangi bir tanecik içerdiği düşünülen kesit alanlarının ve kesit kalınlığının belli bir oranının sistematik örneklenmesi ile uygulanmaktadır (*Gundersen, 1986; Gundersen ve ark., 1988*).

Optik parçalama, histolojik işlemlerin fiksasyon, takip, gömme, kesit alma, boyama gibi herhangi bir aşaması esnasında tanecikler arası mesafede ve/veya taneciklerde oluşabilen büzüşme ya da genişlemeden etkilenmez. Optik parçalamanın bu özelliğinden dolayı, gömme ve boyama aşaması esnasında ölçümü oldukça zor olan büzüşmenin meydana geldiği frozen, vibratom, selloidin, ve parafin kesitlerin incelenmesi mümkün olur (*Hopwood, 1996*).

Optik parçalamada, optik disektörün özelliklerinden dolayı organ ya da yapıdaki taneciklerin büyüklüğünden, şeklinden, yöneliminden, kesit alma yönünden etkilenmeden tanecik sayımı yapılır. Çünkü her bir tanecik bir kez sayılma şansına sahiptir (*Gundersen, 1986*).

Tanecik sayısını hesaplamak için parçalama örnekleme şeması kullanıldığı zaman ne ilgilenilen bölgenin hacmini ne de bölgenin kesitlerdeki izdüşüm alanlarını bilmeye gerek vardır. Sadece gerekli olan şey ilgilenilen bölgenin sınırlarının belirlenmesidir. $V_{(ref)} \times N_v$ ile toplam tanecik sayısı (N) hesaplanmak istendiğinde $V_{(ref)}$ hesabı için bölgenin sınırlarının olabildiğince kesin bir biçimde belirlenmesi gerekir. Hücrelerin diffüz olarak organize olduğu ve ektopik kümelenme durumlarında ilgilenilen bölgenin kesin sınırlarının belirlenmesi sıklıkla problem oluşturur. Sınırların belirlenmesindeki varyasyon doğrudan $V_{(ref)}$ hesabının

varyasyonunu, bu da toplam nöron sayısı hesabının varyasyonunu etkiler (*Mayhew, 1991; Hopwood, 1996; Howard ve Reed, 1998; Aslan, 1999*).

2.4.1. Örneklem Oranları

2.4.1.1. Kesit Örneklem Oranı

Parçalama örneklem şeması ile ilgilenilen yapının toplam hacminin bilinmesine gerek duyulmadan, yapıdaki toplam tanecik hesabı $V_{(ref)} \times N_v$ ile elde edilene göre daha kısa sürede ve daha az emek sarf edilerek elde edilir. Bunun için, ilgilenilen yapı başından sonuna kadar kesilir. Elde edilen tüm kesitlerden SRÖ ile en az 15-20 kesit elde kalacak şekilde kesit örnekleme yapılır. Örnekleme sistematikliği belli bir kesit örnekleme aralığında yapılması ile sağlanır. Bu ise şu şekilde belirlenir: Diyelim ki elimizde toplam olarak “n” tane kesit olsun, bu kesitlerden en az 20 tanesi elimizde kalabilmesi için $n/20 = x$ ’den yola çıkarak her x’inci kesiti aldığımızda elimizde 20 kesit kalmış olur. Burada “x” kesit örnekleme aralığıdır. Örnekleme rastgele olabilmesi ise 0 ile x arasındaki örneklenecek ilk kesitin rastgele olarak belirlenmesi temeline dayanır. Bunun için 0 ile x arasındaki (x dahil) kesitlerden biri ya rastgele sayı tablosundan veya kesit numaralarının her biri ayrı bir kağıda yazılıp içlerinden biri rastgele çekilerek seçilir. 0 ile x arasındaki kesit m’inci kesit olsun. Bu durumda örneklenen kesit numaraları şöyle olur: $\{m, m+x, m+2x, m+3x, \dots, m+9x\}$. Kesitlerin SRÖ şeması ile örnekleme neticesinde, yapının her yerinin eşit kesilme şansına sahip olması sağlanır. Burada kesit örnekleme oranı (KeÖO) $1/x$ olur (*Gundersen, 1986*).

2.4.1.2. Alan Örneklem Oranı

Sistematik rastgele örneklem ile seçilmiş olan kesitlerdeki ilgilenilen bölgenin izdüşüm alanı önceden belirlenmiş aralıklarla x ve y eksenleri boyunca taranır. Her hangi bir eksen boyunca gerçekleştirilen her harekete adım aralığı denir. Her adımla izdüşüm alanı üzerinde bir alan taranır ki bu alana adım alanı denmektedir. X ve y eksenleri boyunca gerçekleştirilen uzunlukların çarpımı ile adım alanı elde edilir.

Partikül sayımları bu alanın tamamında değil, partikül büyüklüğüne göre ebadı belirlenen ve adım alanı içine yerleştirilen tarafsız sayım çerçevesi alanında yapılır (Gundersen, 1977). İşte bu alan parçalama oranına, alan örnekleme oranı (AÖÖ) denmektedir ve aşağıdaki gibi ifade edilir (Gundersen, 1986):

$$AÖÖ = \frac{a (\text{çerçeve})}{a(\text{adım})}$$

2.4.1.3. Kalınlık Örnekleme Oranı

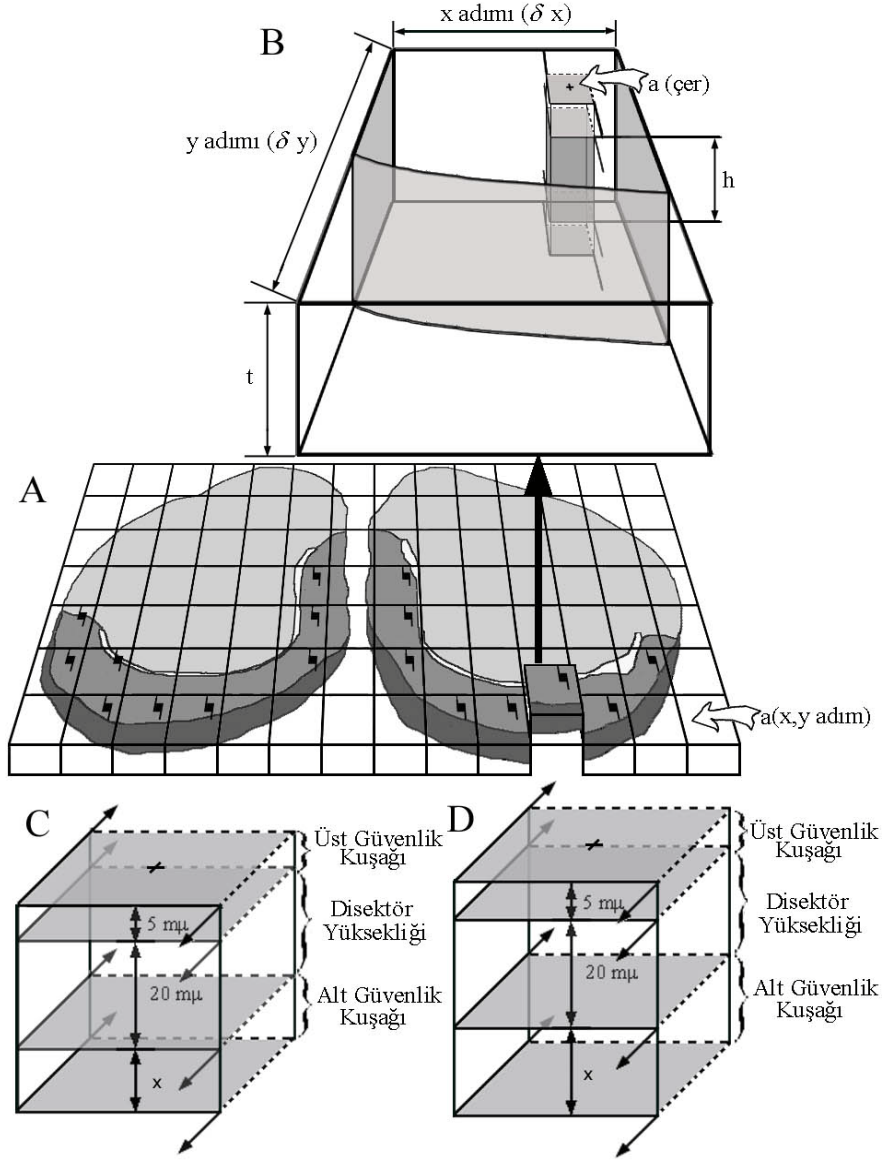
X ve y eksenleri boyunca gerçekleştirilen adımlama ile ilgilenilen yapının izdüşümüne isabet edilmişse, bu alanda tarafsız sayım çerçevesinin kurallarına göre partikül sayımı gerçekleştirilir. Fakat optik disektör sayım kuralları gereği, kesit kalınlığının tamamı boyunca değil önceden belirlenmiş belli bir oranında sayım yapılmaktadır. Bu ise hem kesit alma esnasında kesit yüzeylerinden partikül dökülmesini ifade eden ‘lost caps’ problemini ortadan kaldırmakta, hem de kesit kalınlığını kesin bir biçimde bilinmesi gerekliliğini ortadan kaldırmaktadır. Çünkü optik disektör kuralları gereği kesitin alt ve üst yüzeylerinden kesit içine doğru güvenlik mesafeleri bırakılmaktadır. Partikül sayımları bu güvenlik mesafeleri arasında, miktarı önceden belirlenmiş disektör yüksekliği boyunca yapılmaktadır (Şekil 2.1). İşte bu disektör yüksekliğinin kesit kalınlığına oranına kalınlık örnekleme oranı (fraksiyonu) (KaÖÖ) denmektedir ve aşağıdaki şekilde gösterilir (Gundersen, 1986):

$$KaÖÖ = \frac{h (\text{disekt ör})}{t}$$

2.4.1.5. Optik Disektör

Disektörün sayım kuralı olan birbirine paralel iki komşu ya da yakın kesit üzerindeki partikül izdüşümlerinin olup olmamasına bakılarak partikül sayımı 1984’de Sterio tarafından yeniden detaylı bir şekilde tanımlanmıştır. Bundan birkaç yıl sonra yüksek sayısal açıklığa sahip objektifler kullanılarak kalın histolojik kesitlerde ince optik

kesitler alınabileceğinin farkına varıldı. Odak düzlemi veya optik kesit, kesit kalınlığı boyunca belli bir mesafede, kesit üst yüzeyinden alt yüzeyine veya alt yüzeyinden üst yüzeyine doğru hareket ettirilerek, birbirini takip eden optik kesit serilerinde disektör sayım kurallarının uygulanması ile partikül sayımı gerçekleştirilir. Partikül sayımı şu şekilde yapılır: Dokunun belli bir hacmi içinde odaklama ile hareket edilirken görüntü alanına giren yeni partiküller ya da gözden kaybolan partiküller disektör partikül olarak sayılırlar. Odaklama ekseni boyunca yapılan doku içindeki ilerleme mikroskop tablasına monte edilmiş bir mikrokator yardımı ile ölçülür. Kesitin kesilme yüzeylerindeki fiziksel bozukluklardan (lost caps) kaçınmak için sayım yapılan hacim kesit kalınlığının merkezi bölümü ile sınırlı tutulur, yani kesitin alt ve üst yüzeyinden kesit kalınlığı merkezine doğru partikül sayımının yapılmadığı birer mesafe bırakılır ki bunlara “*alt ve üst güvenlik mesafeleri*” adı verilir. Bu sayım metodu literatüre “*optik disektör*” olarak geçmiştir. Fiziksel olarak ayrı iki kesitin kullanıldığı orijinal yaklaşıma, optik disektörden ayırt etmek için artık “*fiziksel disektör*” denmektedir (Gundersen, 1986; Aslan, 1999).



Şekil 2.1. (A) da adımlama esnasında tarafsız sayım çerçevesi ortasında bulunan (+) işaretinin hippocampus dokusu üzerine isabet eden yerlerinde optik disektör yapılmaktadır. Bu şekilde adımlardan biri (B) daha büyük bir büyütmede şematize edilmiştir. Adımın bir bölümünde doku bulunmamasına rağmen tarafsız sayım çerçevesinin ortasına yerleştirilen (+) işaretinin hippocampus dokusunun üzerine isabet etmesinden dolayı bu adımda optik disektör yapılmaktadır. Kesitin üst yüzeyinden alt yüzeyine kadar olan mesafede üst (5 μm) ve alt (x μm) yüzeylerde güvenlik kuşakları bırakılarak, (h) kadar bir derinlikte optik disektörler yapılmaktadır. (C) ve (D) Optik disektör uygulaması, kesit yüzeylerinde meydana gelen kayıp partiküllerden sakınmak için, kesitin her iki yüzeyinden de belirli bir mesafe uzaklaşarak kesitin merkezinde sayım yapılmasını önermektedir. Optik disektörde sayıma başlanacak yüzeydeki güvenlik kuşağının mesafesi daima sabit kalırken (örneğimizde üst yüzeydeki güvenlik kuşağı daima 5 μm), alt güvenlik kuşağı ise kesitin kalınlığına göre değişebilmektedir (Aslan 1999'dan alınmıştır).

2.4.2. Optik Parçalamanın Uygulanması

2.4.2.1. Parçalama Örnekleme Şeması

Kesit Örnekleme Oranı (KeÖO):

Hippocampus'un sınırlarının ve toplam kesit sayısının belirlenmesi için yapılan ön çalışmada, hippocampus'un coronal kesitlerinden, ~40 µm kalınlıkta alınan, toplam 91- 112 kesit elde edildi. Optik parçalama için gerekli olan en az 20 kesiti elde edebilmek için 1/6 örnekleme yapmak gerektiği saptandı. Yani her 6 kesitte 1 kesit aldığımız zaman elimizde yaklaşık olarak 15-20 kesit kalmaktadır. Örnekleme arttırıldığı zaman gerçek değere daha yakın sonuçlar elde edilebileceğinden dolayı, elde kalan kesit sayısı 20'dan daha fazla olmasına rağmen, KeÖO 1/6 olarak belirlendi. Bu uygulama ile örneklemenin sistematik olması sağlandı. Alınacak ilk kesitin ilk 6 kesit içinden rastgele bir biçimde belirlenmesi ile de, örneklemenin rastgele olması sağlandı. Bunu sağlamak için 6 ayrı kağıda birden yediye kadar rakam yazılıp kağıtlar katlandı, içlerinden biri ilk kesiti belirlemek için seçildi ve her hayvan için bu işlem tekrar edildi. Sistematik rastgele örnekleme yaklaşımı ile örneklenen yapının her yerine eşit örnekleme şansı tanınmaktadır.

Alan Örnekleme Oranı:

Alan örnekleme için öncelikle adım alanını belirlemek gerekir. Bunun için bir hayvandan örneklenen tüm kesitlerdeki hippokampus sınırları içinde, en az 200 nöron sayabilmek için (her adımda en az 1 nöron sayılacağından) 200 adımda sayım yapmak gerektiğinden, her noktası (P(a)) 1 cm²'yi temsil eden noktalı bir sayım cetveli kullanılarak kesitlerin toplam yüzey alanı hesaplandı. Tüm kesitlerdeki hippokampusun toplam yüzey alanının 200'e bölünmesi ile de bir adım alanının 90 000 µm² olması gerektiği saptandı. Buradan da her bir x ve y eksenini için uzunluğun 300 µm olması gerektiği hesaplandı.

Adım Alanı= Toplam Nokta Sayısı x p(a) x Büyütme Derecesi/200,

$$\text{Adım Aralığı} = \sqrt{\text{Adım Alanı}} = \sqrt{90\,000 \mu\text{m}^2} = 300 \mu\text{m}$$

Bu işlem için immersiyon objektifi ile hücreler gözlemlendiği zaman bir çerçeveye içine bir hücre düşebilmesi için en uygun alanın $400 \mu\text{m}^2$ olduğu hesaplandı. Bu durumda alan örnekleme oranı:

$$A\ddot{O}O = \frac{400 \mu\text{m}^2}{90000 \mu\text{m}^2} = \frac{1}{125}$$

Kalınlık Örnekleme Oranı (KaÖO):

Ortalama kesit kalınlıklarının (\bar{t}) $26 \mu\text{m}$ civarında olduğu tespit edildi. Disektör yüksekliğinin (h) $15 \mu\text{m}$, üst güvenlik kuşağının ise $5 \mu\text{m}$ olmasına karar verildi. Bu durumda kalınlık örnekleme oranı:

$$Ka\ddot{O}O = \frac{h(15 \mu\text{m})}{t}$$

Optik Disektör ile Sayım:

Nöron sayımları Rize Üniversitesi Tıp Fakültesi Morfoloji binasındaki Stereoloji Araştırma Laboratuvarında bulunan Leica DM 4000B marka mikroskop ve Stereo Investigator 9 programı ile 63x Leica objektifte yapıldı (Şekil 2.2). Hipokampusun CA bölgesindeki toplam nöron sayısı aşağıdaki formüle göre yapıldı.

$$N = \sum Q \times \frac{1}{Ke\ddot{O}O} \times \frac{1}{A\ddot{O}O} \times \frac{1}{Ka\ddot{O}O}$$

ΣQ : Örneklenen kesitlerde hippocampus sınırları içine düşen disektörlerde sayılan nöronların toplam sayısı,
KeÖÖ: Kesit örnekleme oranı,
AÖÖ : Alan örnekleme oranı,
KaÖÖ :Kalınlık örnekleme oranı



Şekil 2.2. Optik parçalama metodu kullanılarak hücre sayımı hesaplamalarının yapıldığı sistemin genel görüntüsü

3. BULGULAR

Çalışmamızda grupların dağılımı (homojenitesi) Shapiro Wilk Testi ile analiz edildi. Gruplara ait veriler normal dağılım gösterdiğinden, gruplar arası karşılaştırmalarda “ANOVA (varyans analizi) testi” kullanıldı. Yine varyanslar homojen olduğu için, ikili karşılaştırmalarda ise çoklu karşılaştırma testlerinden “Tukey testi” kullanıldı.

Gruplara ait vücut ve beyin ağırlıkları **Tablo 3.1.**'de gösterilmiştir. Bu tablo sonuçlarına göre tüm grupların vücut ve beyin ağırlıklarının karşılaştırmalarında anlamlı bir fark olmadığı görüldü.

Tablo 3.1: Gruplara ait vücut ve beyin ağırlıklarının karşılaştırması. Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

Gruplar	Vücut Ağırlığı* (g)	Beyin Ağırlığı* (g)
I- Kontrol (n:6)	219,5±13,37	2,242±0,053
II- Fenthion (n:6)	224,5±15,98	2,323±0,082
III- Fenthion + Atropin (n:6)	214,4±12,99	2,277±0,114

* Değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Gruplara ait ratların hippocampus CA bölgelerindeki piramidal nöron sayıları karşılaştırmaları **Tablo 3.2**'de gösterilmiştir. Bu tabloya göre; piramidal nöron sayıları kontrol grubunda 620 803±30 818; fenthion verilen grupta 459 291±47 077; fenthion+atropin verilen grupta ise 551 328±51 710 olarak bulundu. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, CA bölgelerindeki piramidal hücre sayısı yalnız fenthion verilen grupta %26, fenthion+atropin grubu ratlarda ise %11,6 oranında azalmıştı. Toplam piramidal hücre sayısı en düşük olarak fenthion grubu ratlarda, en yüksek olarak ise kontrol grubu ratlarda saptandı. Fenthion+atropin uygulanan ratlarda ise

kontrol grubuna daha yakın olarak bir azalma bulundu. Her üç grup arasında görülen bu farklılıklar istatistiksel olarak da anlamlı idi ($p<0,05$).

Çalışmamızda gruplara ait alan, çevre ve yarıçap değerleri de **Tablo 3.2**'de gösterilmiştir. Bu tabloda belirtildiği üzere kontrol grubuna ait alan, çevre ve yarıçap ölçümleri sırası ile $103\ 151\pm 18\ 219\ \mu\text{m}^2$; $1\ 272\pm 98,67\ \mu\text{m}$ ve $179,5\pm 15,41\ \mu\text{m}$ olarak bulundu. Fenthion verilen grupta ise bu değerler sırası ile $264\ 284\pm 35\ 144\ \mu\text{m}^2$; $1\ 977\pm 133,3\ \mu\text{m}$ ve $286,5\pm 20,77\ \mu\text{m}$ olarak gözlemlendi. Fenthion grubunda gözlenen bu artışlar istatistiksel olarak da anlamlı idi (her üç parametre için $p=0.000$).

Fenthion+Atropin grubunda alan, çevre ve yarıçap ölçümleri sırası ile $98\ 682\pm 15\ 091\ \mu\text{m}^2$; $1219\pm 92,75\ \mu\text{m}$ ve $175,3\pm 15,12\ \mu\text{m}$ idi. Fenthion grubu ile karşılaştırıldığında her üç parametrede istatistiksel olarak da anlamlı bir düşüş olduğu görüldü. Ayrıca Fenthion+Atropin grubu ile Kontrol grubunun karşılaştırmasında parametreler arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

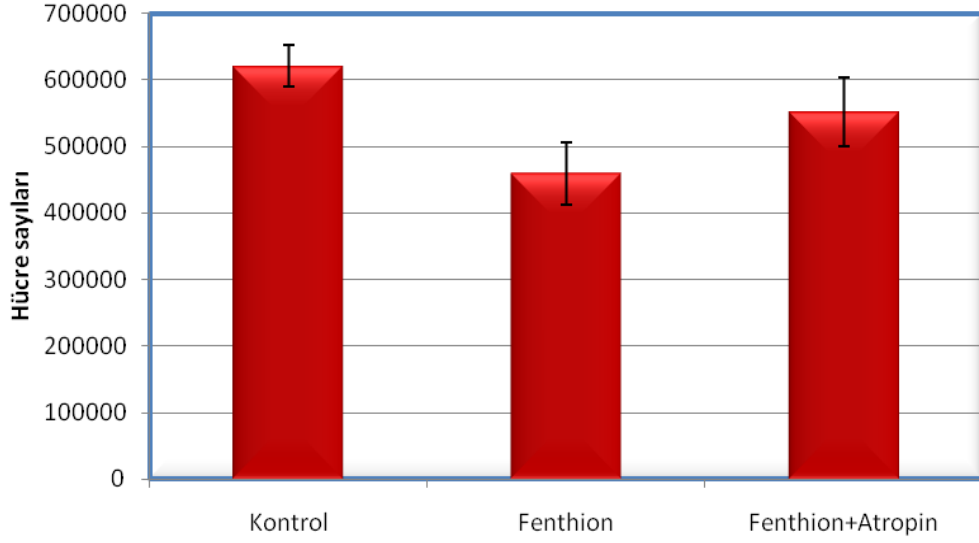
Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, CA bölgelerindeki piramidal hücrelerin alanında fenthion verilen grupta %15,6 oranında artış görüldü. Fenthion+Atropin verilen grupta ise kontrole göre %4,3 oranında azalma görüldü. Piramidal hücrelerin yarıçap karşılaştırmasında; kontrol grubuna göre fenthion verilen grupta %59,6 oranında artış, Fenthion+Atropin verilen grupta ise %2,4 oranında azalma görüldü. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, CA bölgelerindeki piramidal hücrelerin çevresinde fenthion verilen grupta %55,4 oranında artış görüldü. Fenthion+Atropin verilen grupta ise kontrole göre %4,16 oranında azalma görüldü.

Ayrıca, morfolojik olarak Fenthion grubu ratların hippocampus CA bölgelerindeki nöronların sitoplazmasında şişme, karyolizis ve hücrelerde piknozis olduğu gözlemlendi. Hücre çekirdeğinin şişmesi ile nöronların yüzey alanı, çevreleri ve yarıçaplarında ciddi miktarda artış görüldü. Fenthion+Atropin grubundaki ratların hippocampus CA bölgelerindeki nöronlarda piknozis gözlenirken, nöron yüzey alanı, çevresi ve yarıçapında ciddi değişiklikler gözlenmedi.

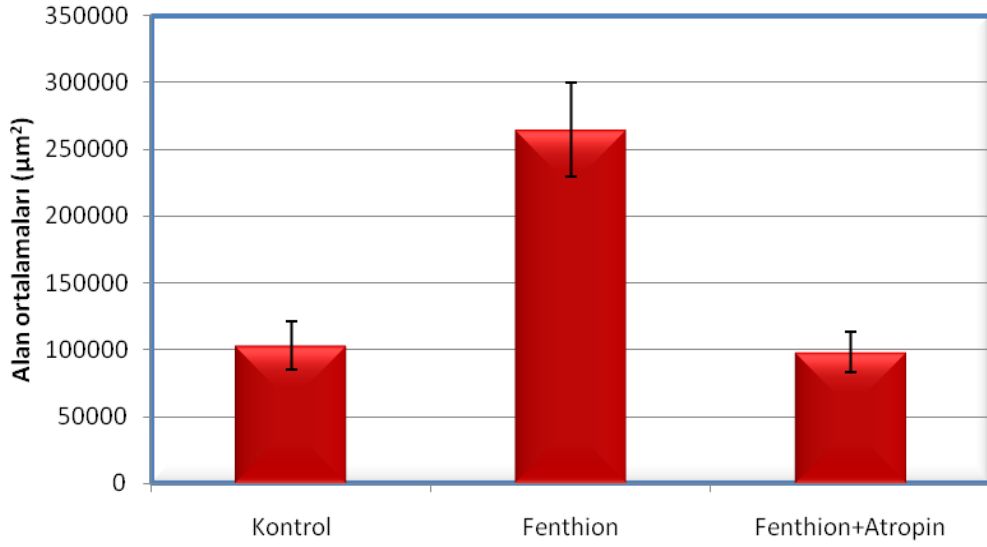
Tablo 3.2: Kontrol, Fenthion ve Fenthion+Atropin grubu ratların hippocampus CA bölgesindeki nöron sayıları ile nöronların alan, çevre ve yarıçap ölçümlerinin karşılaştırılması. Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

PARAMETRE	GRUP	SAYI	DEĞERLER	P
Hücre (sayı)	Kontrol	6	620 803±30 818 ^c	0,000*
	Fenthion	6	459 291±47 077 ^a	
	Fenthion+Atropin	6	551 328±51 710 ^b	
Alan (µm ²)	Kontrol	6	103 151±18 219 ^a	0,000*
	Fenthion	6	264 284±35 144 ^b	
	Fenthion+Atropin	6	98 682±15 091 ^a	
Çevre (µm)	Kontrol	6	1 272±98,67 ^a	0,000*
	Fenthion	6	1 977±133,3 ^b	
	Fenthion+Atropin	6	1219±92,75 ^a	
Yarıçap (µm)	Kontrol	6	179,5±15,41 ^a	0,000*
	Fenthion	6	286,5±20,77 ^b	
	Fenthion+Atropin	6	175,3±15,12 ^a	

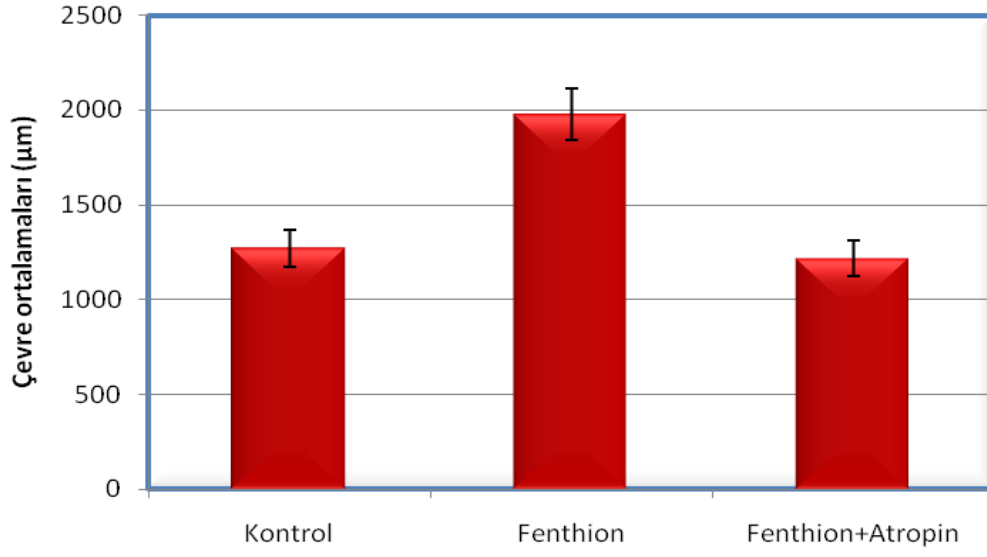
* %5 önem seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır (p<0,05).



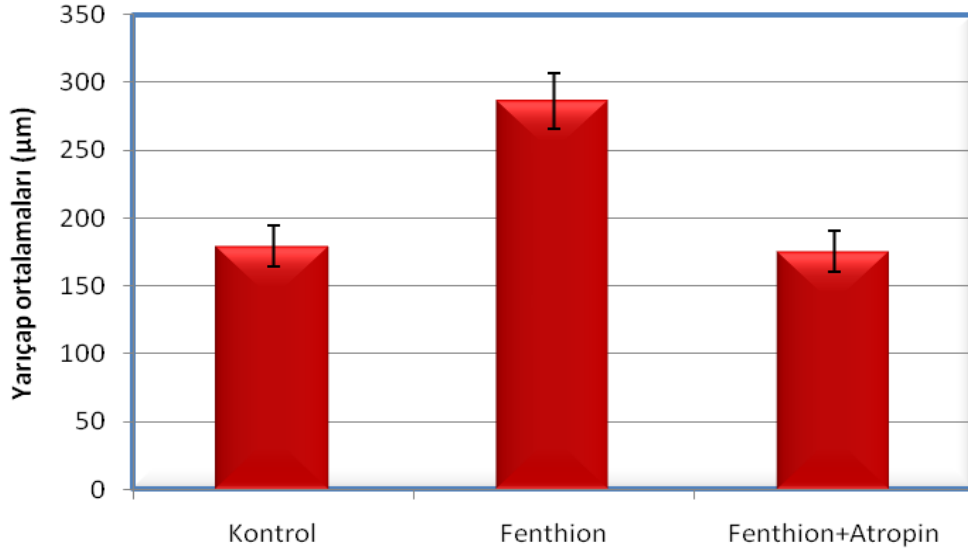
Şekil 3.1: Kontrol, Fenthion ve Fenthion+Atropin grubu ratların hippocampus CA bölgesindeki nöron sayılarının karşılaştırması. Piramidal hücre sayısı fenthion grubu ratlarda en düşük olarak, kontrol grubu ratlarda ise en yüksek olarak saptandı. Fenthion+atropin uygulanan ratlarda ise kontrol grubuna daha yakın olarak bir azalma bulundu. Her üç grup arasında görülen bu farklılıklar istatistiksel olarak da anlamlı idi ($p < 0,05$).



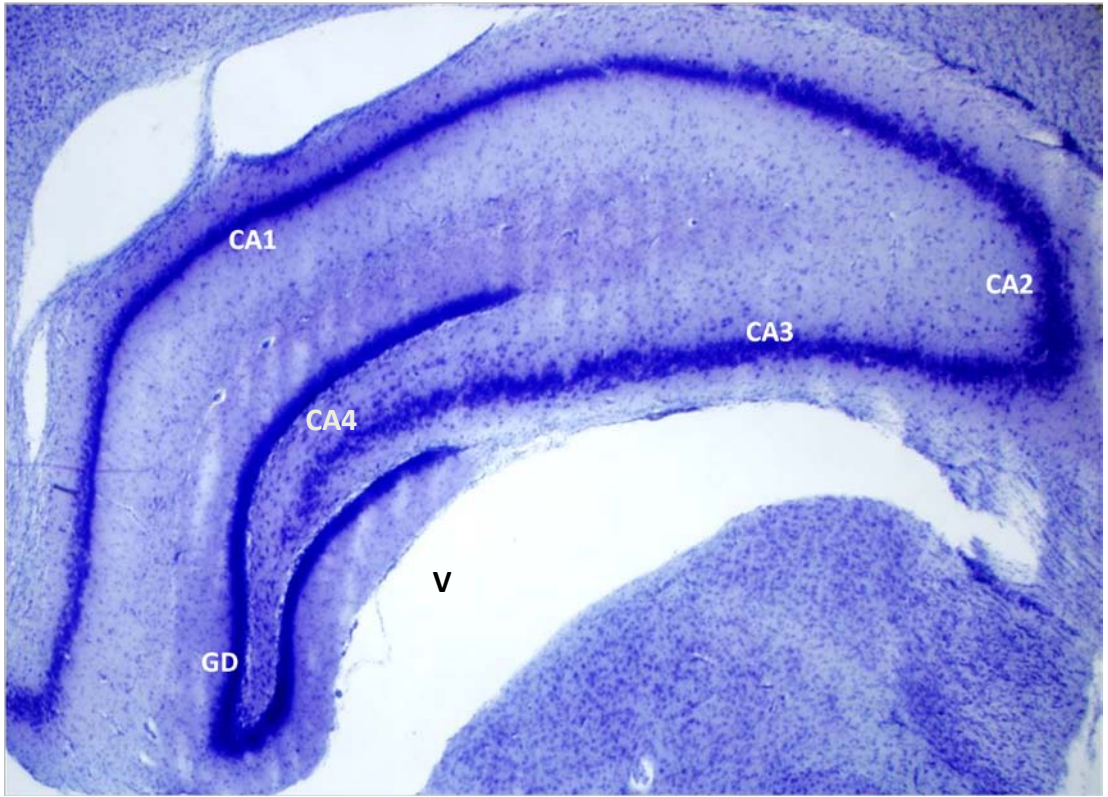
Şekil 3.2: Kontrol, Fenthion ve Fenthion+Atropin grubu ratların hippocampus CA bölgesindeki nöronların yüzey alanlarının karşılaştırması. Yüzey alan ortalaması Fenthion grubunda anlamlı derecede artmış bulundu ($p < 0,05$).



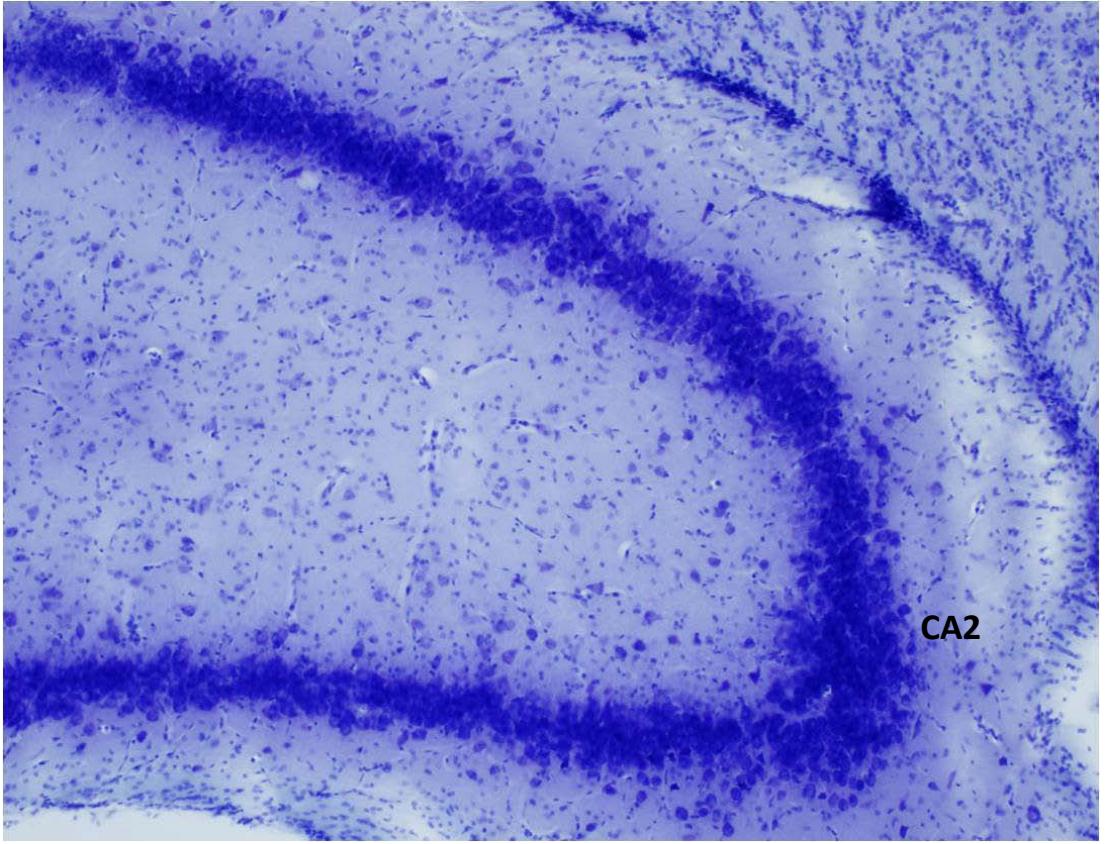
Şekil 3.3: Kontrol, Fenthion ve Fenthion+Atropin grubu ratların hippocampus CA bölgesindeki nöronların çevre ölçümlerinin karşılaştırması. Çevre ortalaması Fenthion grubunda anlamlı derecede artmış bulundu ($p<0,05$).



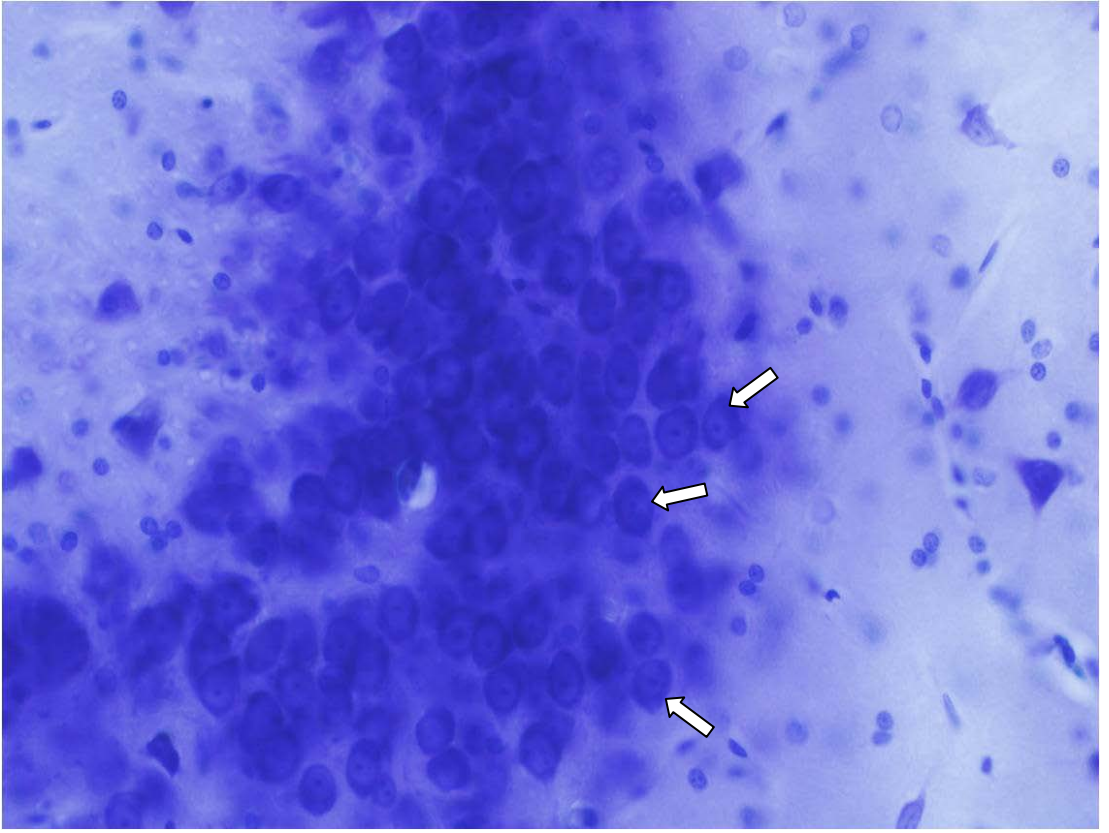
Şekil 3.4: Kontrol, Fenthion ve Fenthion+Atropin grubu ratların hippocampus CA bölgesindeki nöronların yarıçap ölçümlerinin karşılaştırması. Yarıçap ortalaması Fenthion grubunda anlamlı derecede artmış bulundu ($p<0,05$).



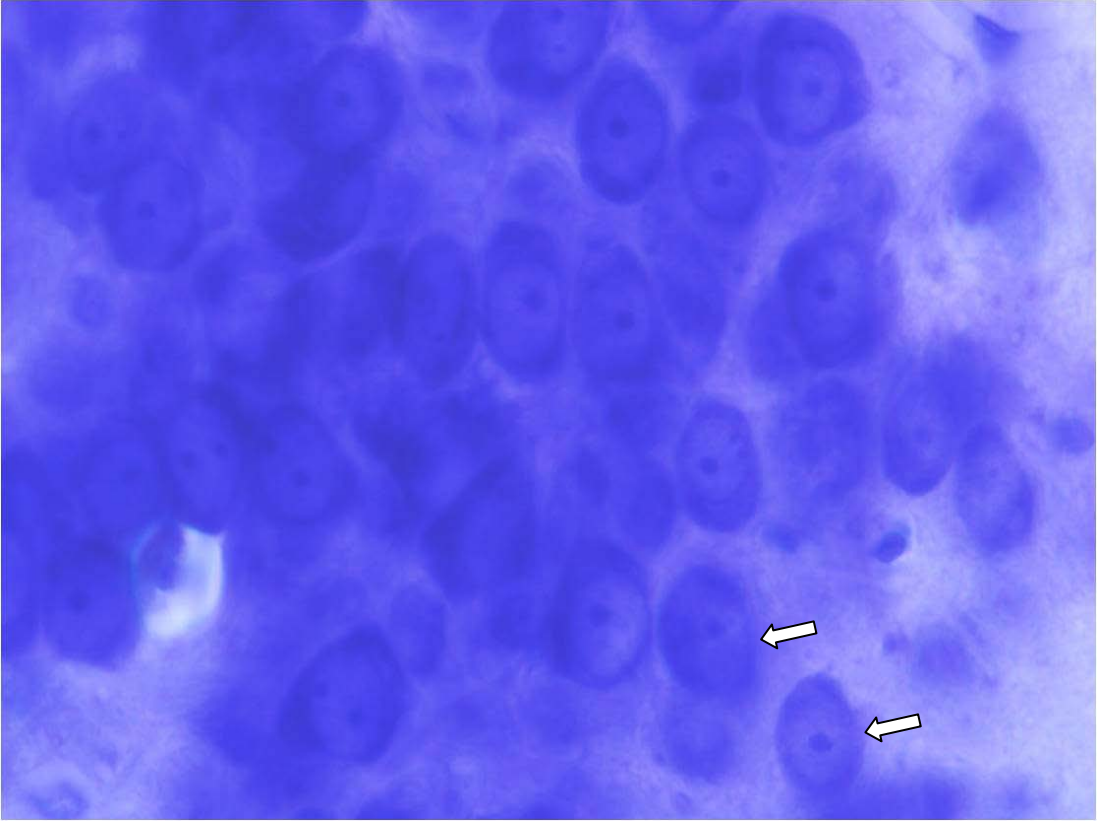
Resim 3.1. Kontrol grubu ratlara ait hippocampus (2x büyütme).
(CA: Cornu ammonis, GD: Gyrus dentatus, V: ventrikül)



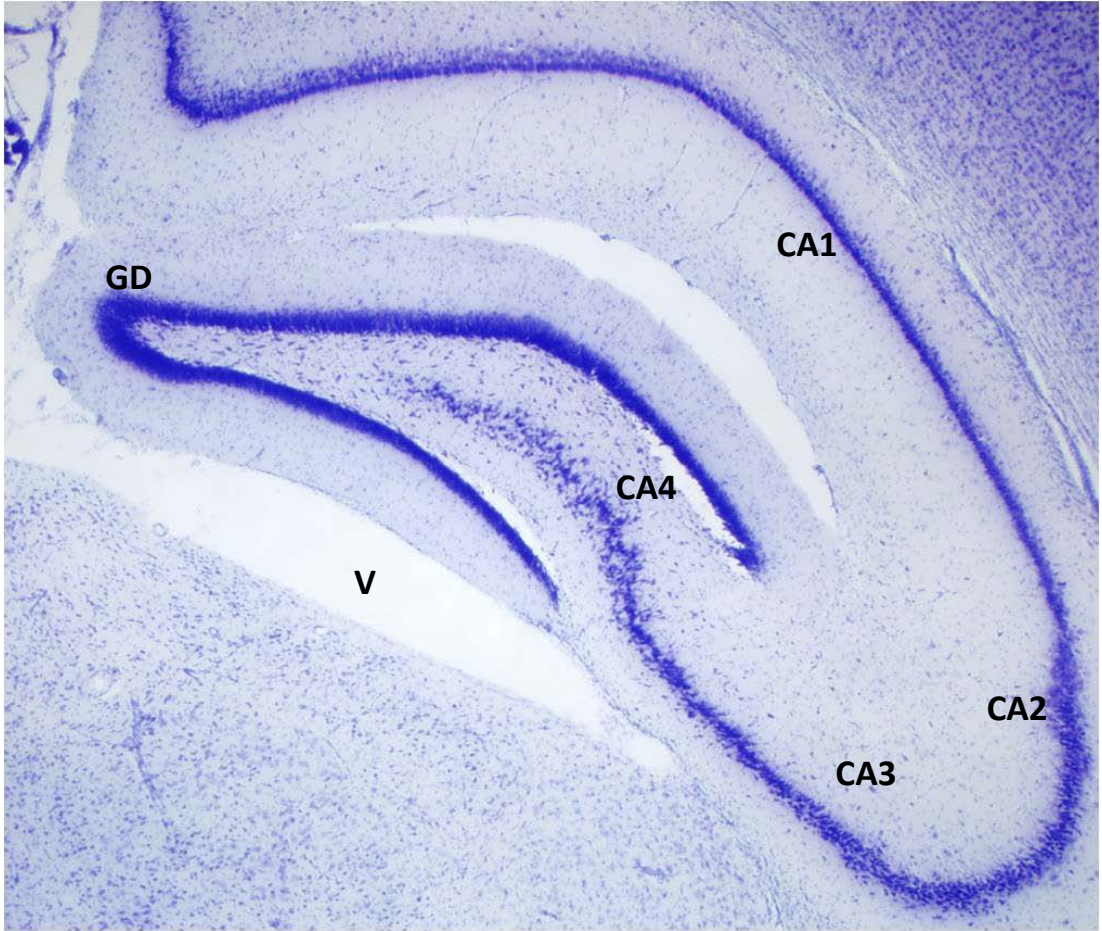
Resim 3.2. Kontrol grubu hippocampus CA2 bölgesindeki piramidal nöronları izlenmektedir. (10x büyütme)



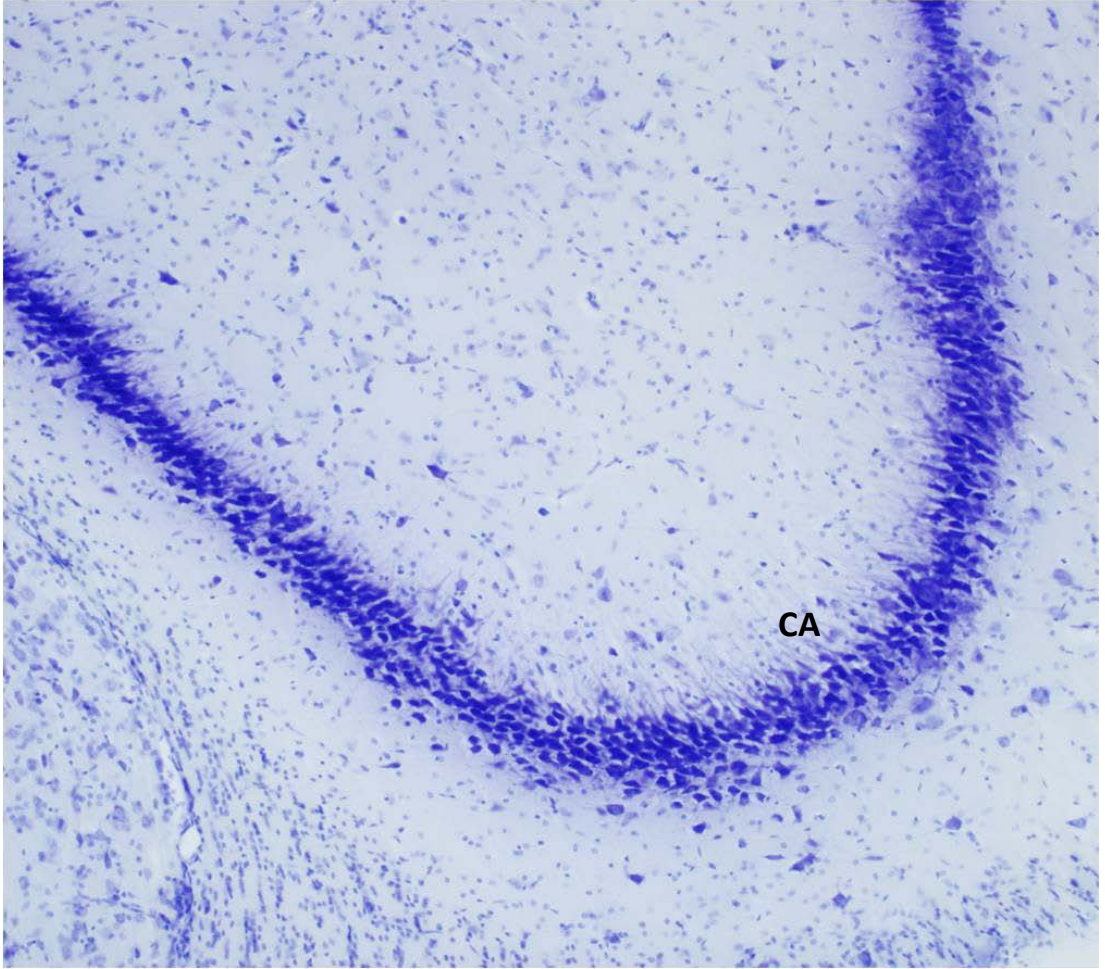
Resim 3.3. Kontrol grubu hippocampus CA bölgesi piramidal nöronları izlenmektedir. (40x büyütme), (Oklar: piramidal hücreler).



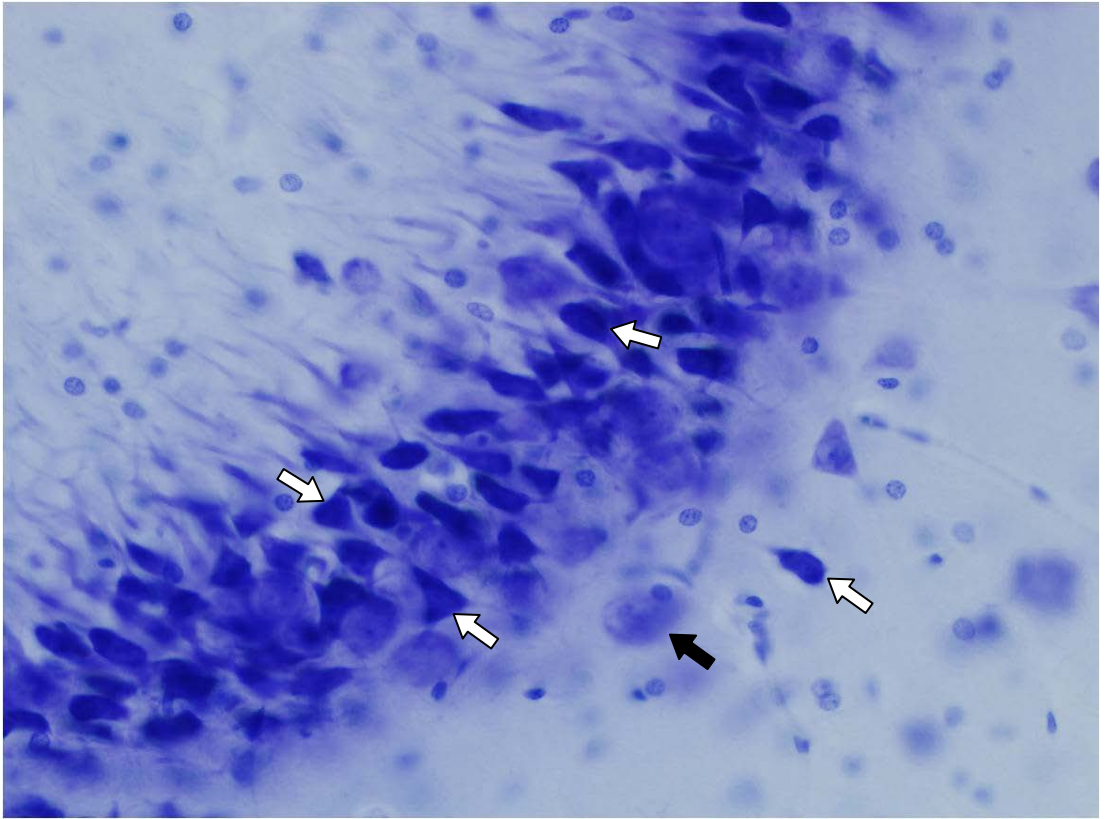
Resim 3.4. Kontrol grubu hippocampus CA bölgesi piramidal nöronları izlenmektedir. (100x büyütme), (Oklar: piramidal hücreler).



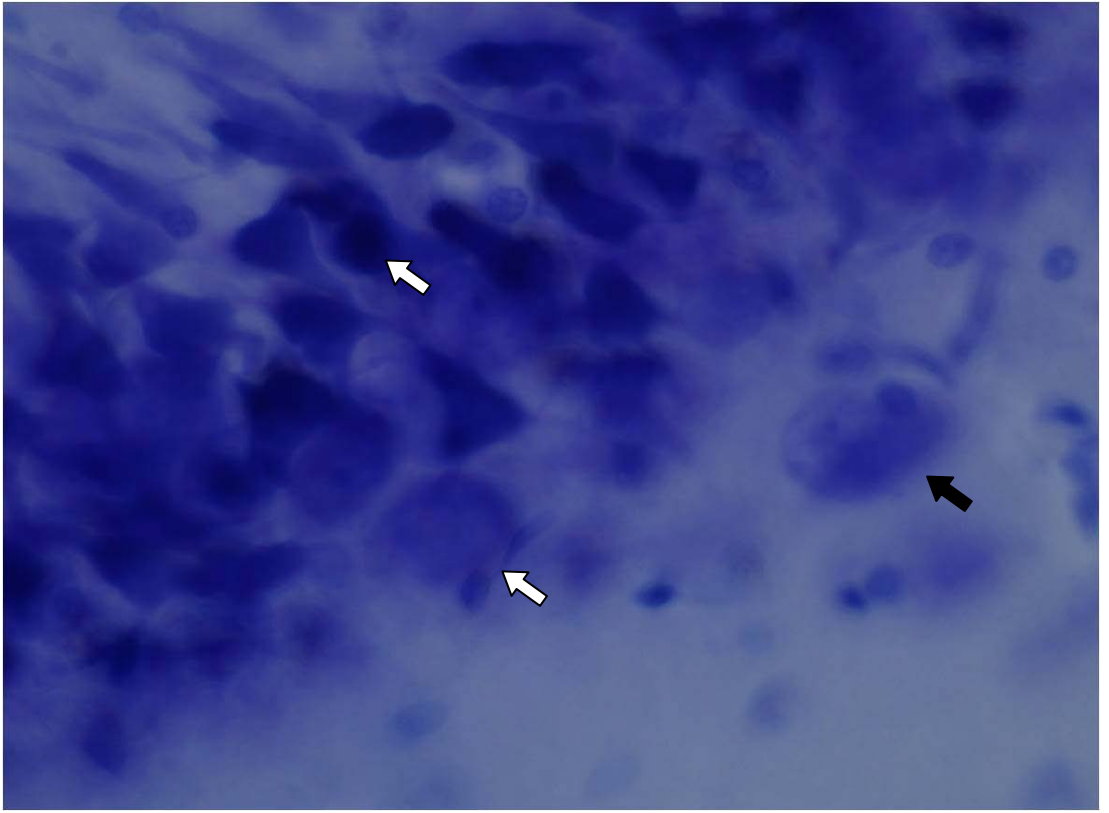
Resim 3.5. Fenthion grubu ratlara ait hippocampus CA bölgesinde gross yapının bozulmadığı gözlenmektedir (2x büyütme), (CA: Cornu ammonis, GD: Gyrus dentatus, V: ventrikül)



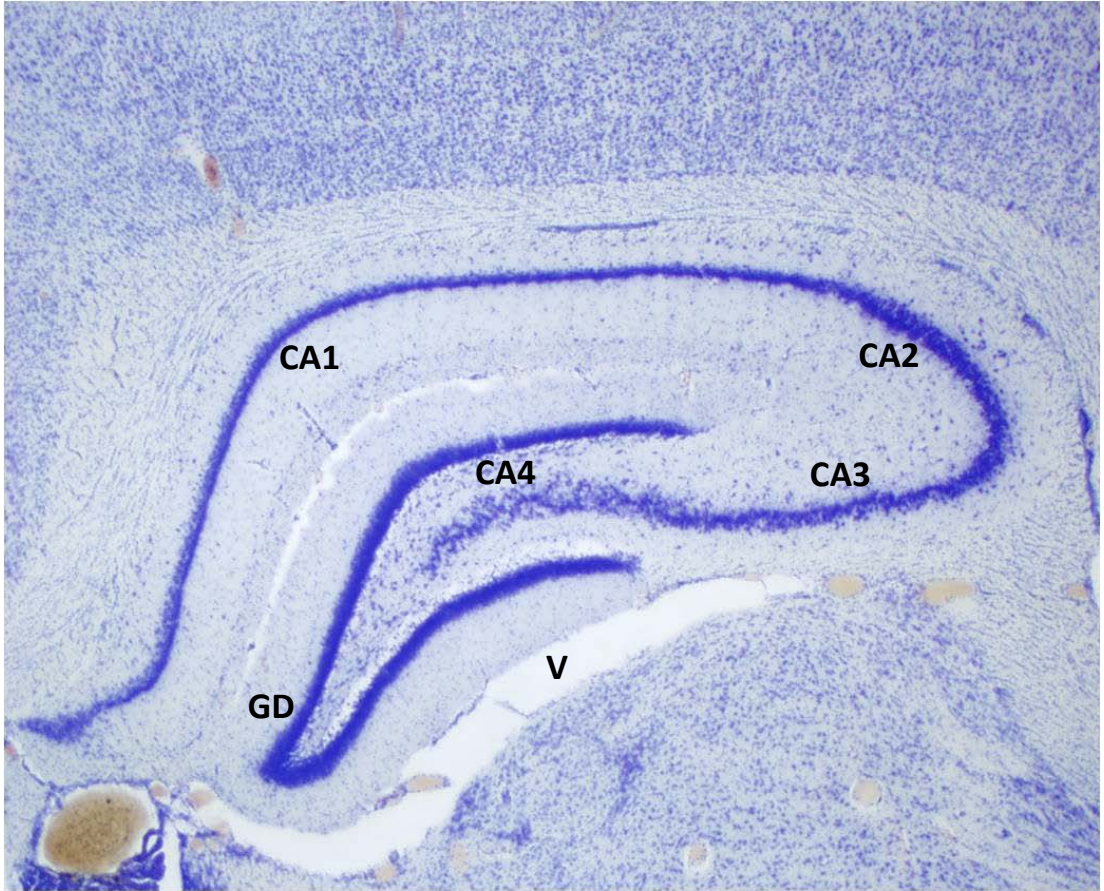
Resim 3.6. Fenthion grubu hippocampus CA bölgesi piramidal nöronları izlenmektedir. Küçük büyütmede hippocampus'un gross yapısının çok bozulmadığı gözlenmektedir. (10x büyütme).



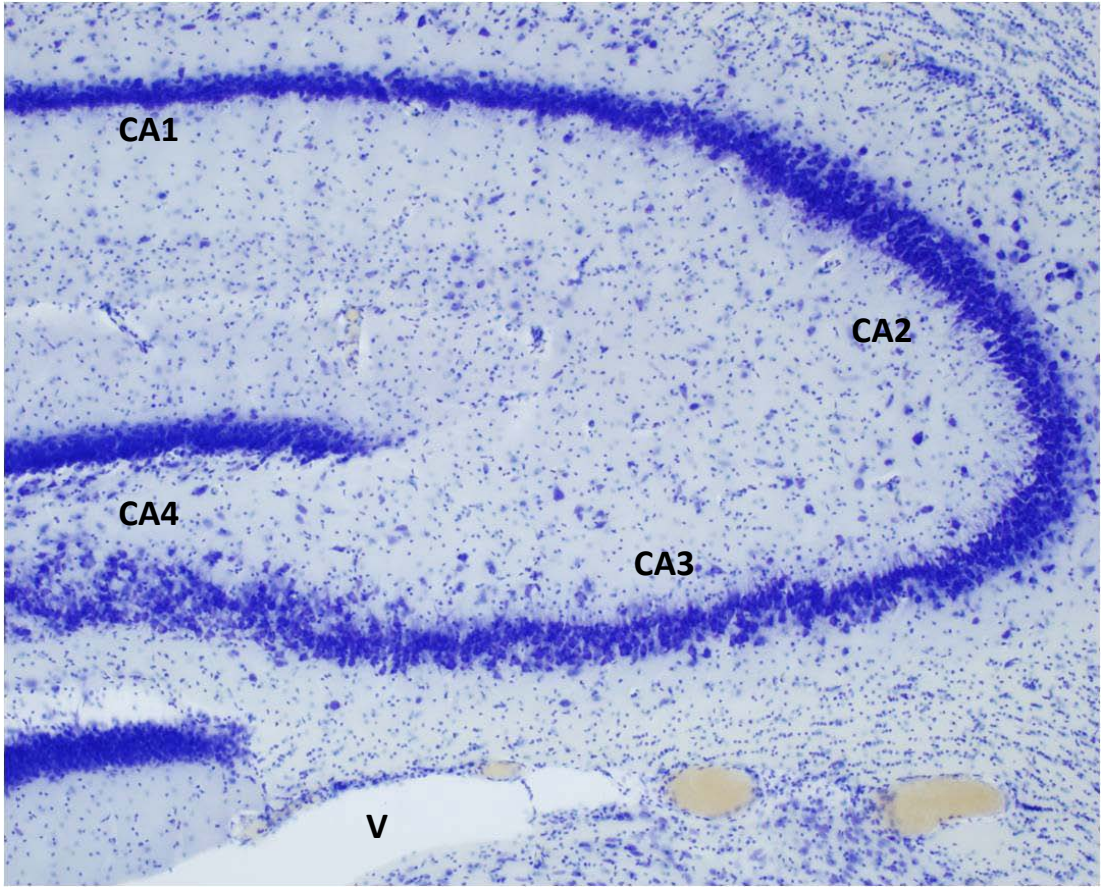
Resim 3.7. Fenthion grubu hippocampus CA bölgesi piramidal nöronları izlenmektedir. Şişme (siyah ok), karyolizis ve piknozis (beyaz ok) gözlenmektedir (40x büyütme).



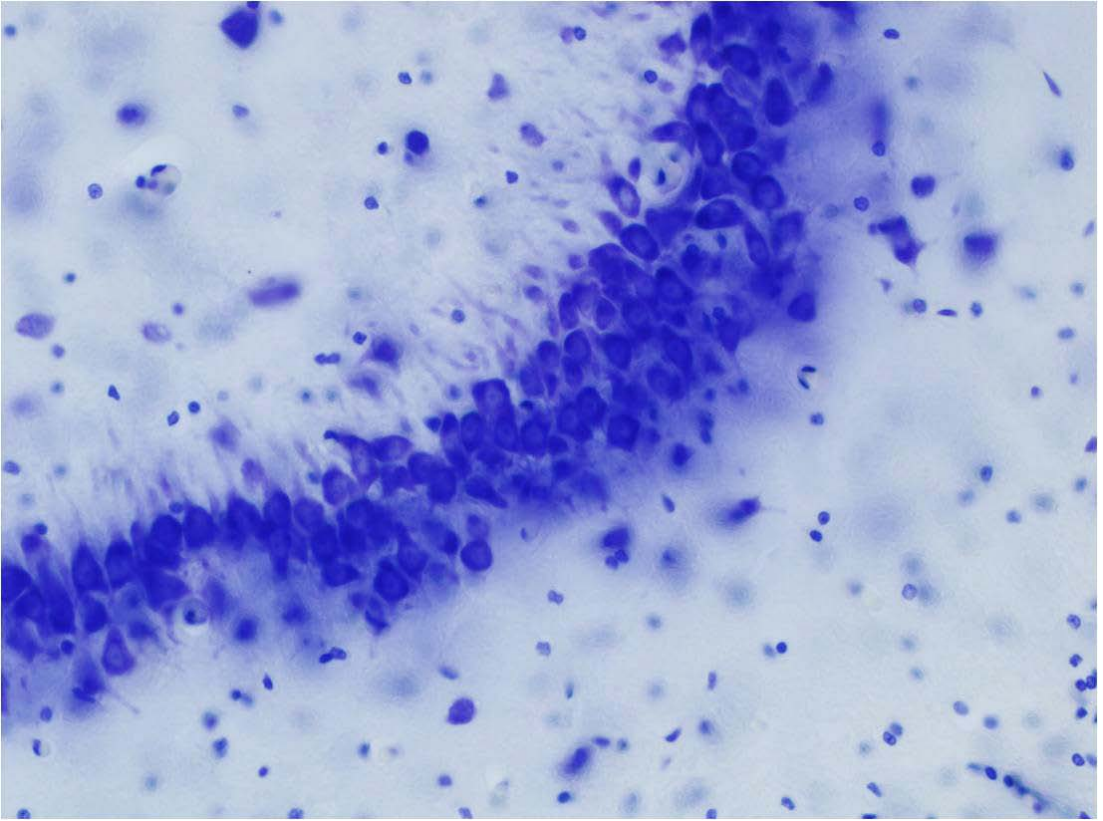
Resim 3.8. Fenthion grubu hippocampus CA bölgesi piramidal nöronları izlenmektedir. Şişme (siyah ok), karyolizis ve piknozis (beyaz ok) gözlenmektedir (100x büyütme)



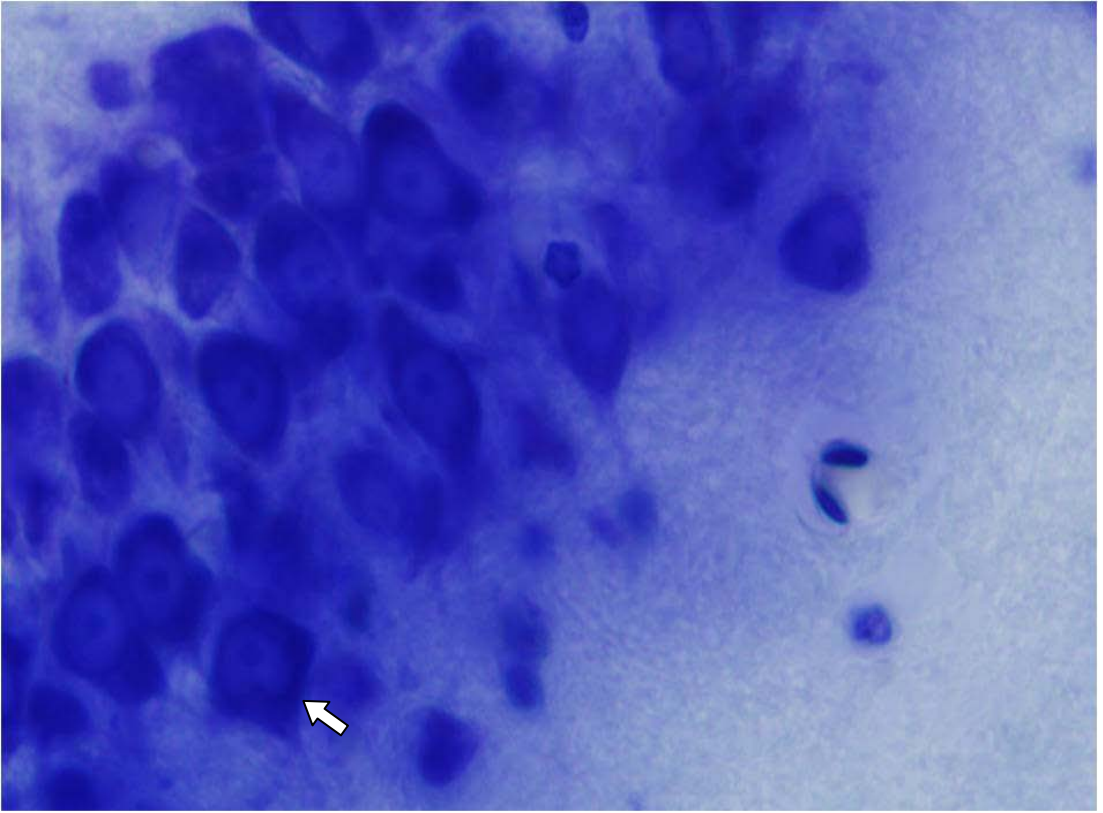
Resim 3.9. Fenthion+Atropin grubu hippocampus CA bölgesi piramidal nöronları izlenmektedir (2x büyütme), (CA: Cornu ammonis, GD: Gyrus dentatus, V: ventrikül).



Resim 3.10. Fenthion+Atropin grubu hippocampus CA bölgesi piramidal nöronları izlenmektedir (10x büyütme), (CA: Cornu ammonis, V: ventrikül).



Resim 3.11. Fenthion+Atropin grubu hippocampus CA bölgesi piramidal nöronları izlenmektedir. Morfolojik değişiklikler açısından kontrol grubuna benzer görünümüdür (40x büyütme).



Resim 3.12. Fenthion+Atropin grubu hippocampus CA bölgesi piramidal nöronları izlenmektedir (100x büyütme), (Beyaz ok: Piknotik hücre).

4. TARTIŞMA

Organofosfat bileşikleri dünyada en yaygın olarak kullanılan toksik maddelerden birisidir. Kolayca erişilebilir olması, tarımsal alanda sık ve bilinçsizce kullanılması ve intihar amaçlı alınması organofosfat toksisitesini önemli bir problem haline getirmiştir. Yılda 3 000 000 organofosfatlı bileşiklerle zehirlenme olgusu görüldüğü, ve bu zehirlenmeler sonucunda yılda 100 000 - 300 000 ölüm olgusu görüldüğü tahmin edilmektedir (*Thiermann ve ark., 1999; Eyer, 2003*). Organofosfat bileşiklerinin kötü amaçlı kullanımı ve sistemik toksik etkilerinden dolayı, birçok ülkede kullanımına kısıtlama veya yasaklama getirilmiştir. Buna karşılık ülkemizde üretimi ve kullanımı yaygın olarak devam etmektedir (*Wexler, 2005; Çinkiloğlu, 2007; Sevgiler, 2007*). Bu nedenle organofosfat zehirlenmesi dünyada ve Ülkemizde halen önemli bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır.

Organofosfat bileşiklerine maruz kalan insanlarda bellek ve öğrenme sorunları ortaya çıkmaktadır. Hayvan çalışmalarında da benzer bulgular görülmüştür (*Jamal ve ark., 2002; Costa, 2006*). Emosyonel davranışların düzenlenmesinde esas rol oynayan hippocampus'un ayrıca öğrenme ve bellek işlevleri ile ilişkili olduğu bilinmektedir (*Songur ve ark., 2001; Vertes, 2001; Songur ve ark., 2003; Vertes, 2005; McNaughton, 2006; Bas ve ark., 2007*).

Çalışmamızda bir organofosfat bileşik türeviden olan fenthion'un hippocampus CA bölgesindeki piramidal nöronlar üzerine olan toksik etkisinin ışık mikroskopik düzeyde incelenmesi amaçlanmıştır ve bu doğrultuda ilgili nöronlarda görülen morfolojik - morfometrik değişiklikler araştırılmıştır. Çalışmamız sonucunda gruplara ait hippocampus CA bölgesinin makroskopik yapısında bozulma gözlenmedi. Fenthion'un etkisi ancak piramidal hücrelerin toplam sayısı, alanı, yarıçapı ve çevre ölçümleri gibi niceliksel analizler sonucunda saptanabildi. Perikaryal şişme, karyolizis ve piknozis gibi morfolojik değişiklikler de ancak yüksek büyütmelerde göze çarpıyordu.

Çalışmamızda fenthiona maruz bırakılan ratlarda beşinci günde CA bölgesindeki piramidal hücre sayısı kontrol grubuna göre Fenthion grubunda %26, Fenthion+Atropin grubunda ise %11,6 oranında azalmış olarak bulundu. Bu azalmalar, fenthion'un hippocampus'ta toksik etki meydana getirdiğini göstermektedir. Bir organofosfat bileşiği olan "klorpirifos" ile yapılan çalışmalarda rat ve fare hippocampus piramidal hücrelerinde perikaryal şişme, piknozis ve nöron sayılarında azalma görülmüştür (*Roy ve ark., 2005; Mitra ve ark.,2008*). Roy ve ark. (2005) çalışmalarında klorpirifos'a bağlı toplam nöron sayısındaki azalmanın 1/3 oranında olduğunu bulmuşlardır. Biz de çalışmamızda bu oranı 1/4 olarak bulduk. Gupta ve arkadaşlarının (2007) bir çalışmasında, organofosfatlı bileşikler gibi irreversibl asetilkolin esteraz inhibisyonu yapan karbafuran'ın hippocampus CA bölgesindeki nöronlarda hasara yol açtığı gösterilmiştir. Bu çalışmalara ait veriler bizim çalışmamızda elde edilen bulgular ile uyumludur.

Organofosfat ile zehirlenen insanlarda bellek sorunları, konsantrasyon ve öğrenmede bozulma, anksiyete bozuklukları, depresyon, emosyonel dengesizlik gibi belirtilerin ortaya çıktığı görülmüştür (*Jokanovic ve Kosanovic, 2010*). Ayrıca hayvan deneylerinde de organofosfat verilmesini takiben anksiyete ve depresyonla ilişkili davranışların görüldüğü bildirilmiştir (*Assini ve ark., 2005*). Stallones ve Beseler (2002) çifçilerde organofosfat zehirlenmesiyle depresyon sıklığı arasında ilişki olduğunu bulmuşlardır. Emosyonel davranışla ilişkili olan hippocampus'un, belleğe yeni bilgilerin kaydedilmesi, özellikle konumsal verilerin anlam kazanması ve bunların uzun süreli belleğe aktarılması gibi işlevleri de vardır. Bu nedenle öğrenme ve duygusal tepkilerin kontrolü ile yakın ilişkilidir (*Duvernoy, 2005*). Akut organofosfat maruziyetini takiben, serebral korteks ve hippocampus'ta lipit peroksidasyonuna bağlı oksidatif hasar meydana geldiği gösterilmiştir (*Brocardo ve ark., 2005*). Bu nedenle davranış ve hafıza değişikliklerinin temelinde hippocampus'da meydana gelen oksidatif hasar etken olabilir. Bununla birlikte yukarıda belirtilen bellek, konsantrasyon bozukluğu, anksiyete ve depresyon gibi bulguların, bizim de çalışmamızda gözlemlediğimiz, CA bölgesindeki nöronların azalmasına bağlı olarak da gelişebileceği düşünülebilir.

Fenthion'a bağılı olarak gelişen hippocampus CA bölgesi piramidal hücre sayısındaki azalmaları diğerk toksik ajanlar ile de karşılaştırmak mümkündür. Prenatal olarak verilen diklofenak sodyum'un, 20 haftalık ratların CA bölgesi nöron sayılarında %12 oranında azalmaya yol açtığı bulunmuştur (*Gökçimen ve ark., 2007*). Çalışmamızda bu oran fenthion verilen grupta %26 olarak bulundu. Bu fark fenthion'un diklofenak sodyum'a göre daha toksik bir madde olmasından kaynaklanabilir. Başka bir çalışmada da Sarsılmaz ve ark. (2007) neonatal dönemde formaldehite maruz bırakılan ratlarda postnatal 30. ve 90. günlerde hippocampus CA bölgesinde toplam nöron sayılarını incelemiştir. Formaldehit iki ayrı konsantrasyonda verilmiş, yüksek konsantrasyon grubunda postnatal 30. günde %22, düşük konsantrasyon grubunda ise %19 oranında hücre azalması görülmüştür. Bu sonuçlar bizim çalışmamızın Fenthion grubunda görülen azalma oranına (%26) yakındır. Bu doğrultuda fenthion'un hippocampus için en az formaldehit kadar toksik olduğu söylenebilir.

Hippocampus'un özellikle gyrus dentatus bölgesinde yeni nöronların oluştuğı gösterilmiştir. Bunun işlevi net olarak bilinmemektedir, ancak belleğe yeni bilgilerin depolanması ve kaydedilen anıların zamansal sürekliliğı ile ilişkili olabileceğı bildirilmiştir (*Balu ve Lucki, 2009*). Ethanol (*Nixon and Crews, 2002; Gil-Mohapel ve ark., 2010*), formaldehit (*Aslan ve ark., 2006*) gibi toksik ajanlar, stres (*Gould ve ark., 1998*), glukokortikoidler (*Gould ve ark., 1992*), opiyatlar (*Eisch ve ark., 2000*) inflamasyon (*Ekdahl ve ark., 2003*) ve yaşlılık (*Kuhn ve ark., 1996*) erişkin nörogenezisini baskılayan faktörlerdir. Hipokampal nörogenezdeki baskılanmanın bilişsel süreçlerdeki değişiklikleri açıklayabileceğı savunulmaktadır Ayrıca, nörogenezdeki değişikliklerin özellikle depresyon başta olmak üzere kronik strese bağılı çeşitli psikiyatrik hastalıkların patogeneğinde rol oynayabileceğı düşünülmektedir (*Eisch ve Nestler, 2002*). Ayrıca bir organofosfat bileşiğı olan "soman" verilen ratların gyrus dentatus'unda nörogenezi azalttığı bulunmuştur (*Joosen ve ark., 2009*). Çalışmamızda gyrus dentatus'da hücre sayımı yapmadık. Fenthion'un hippocampus CA bölgesinde total piramidal hücre sayısında azalmaya ve piknoziste artışa neden olduğunu gözlemledik. Yukarıdaki veriler ışığında fenthionun da nörogenezisi baskılayabileceğı ve bilişsel fonksiyonları etkileyebileceğini düşünüyoruz.

Çalışmamızda fenthion verilen grubun CA bölgesindeki piramidal hücrelerin alan, yarıçap ve çevre ölçümlerinde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sırasıyla %156; %59,6; %55,4 oranında artışlar görüldü. Roy ve ark. (2005) bir organofosfat bileşiği olan klorpirifos'un hippocampus'da hem nöron hem de glial hücrelerde perikaryal şişmeye neden olduğunu gözlemişlerdir. Bu etkinin altında yatan iki olası mekanizmayı öne sürmüşlerdir. Birincisi, oksidatif stres, transkripsiyon faktörlerinin ortaya çıkmasını etkileyerek ve apoptozise neden olarak doğrudan nöron hasarına yol açar. Bu şekilde ozmotik dengede değişikliklere ve sonuçta perikaryal şişmeye sebep olur. İkincisi ise membran sentezinde nörit formasyon yolağını değiştirerek hücre gövdesinin büyümesini arttıracak değişikliklere yol açmasıdır. Klorpirifos nöronlarda akson ve sinaps oluşumunu baskılar. Bu olası mekanizmalar başka çalışmalarda da ileri sürülmüştür (*Campbell ve ark., 1997; Das ve Barone, 1999; Sachana ve ark., 2001*).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, Fenthion+Atropin verilen grupta CA bölgesindeki piramidal hücrelerin alan, yarıçap, çevre ölçümlerinde sırasıyla %4,3; %2,4 ve %4,16 oranında azalmalar görüldü. Ancak bu azalmalar istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu bulgular atropinin fenthiona bağlı nöronal şişme-inflamasyonu tamamen düzelttiğini göstermektedir. Ayrıca fenthion grubunda görülen total piramidal hücre sayısındaki kaybın (%26 oranında), atropin verilen grupta –kontrol grubu kadar olmasa da- anlamlı bir şekilde artması (%20), atropinin apoptozis ve hücre azalmasını kısmen düzelttiğini göstermektedir.

Organofosfatların oksidatif stres oluşturduğuna ilişkin çok sayıda çalışma vardır (*Bagchi ve ark.,1995; Possamai ve ark.,2007; Yürümez ve ark., 2007; Lukaszewicz-Hussain, 2010*). Gupta ve ark. (2007), organofosfat bileşiği olmasa da onlar gibi etki eden karbafuran'a bağlı gelişen hippocampus CA bölgesinde nöronal hasarın koruyucu madde olarak memantin ve atropin verilmesiyle düzeldiğini bulmuşlar ve bu maddelerin koruyucu etkisi olduğunu iddia etmişlerdir. Bu etkiyi memantin ve atropin'in serbest radikalleri ve lipoperoksidasyonu azaltarak oluşturduğu nöroprotektif etkiye bağlamışlardır. Ancak yazarlar koruyucu madde olarak sadece atropin veya memantin verilmesinin bir etkisi olmadığını bildirmektedirler. Bizim çalışmamızda sadece atropin verilmesi nöron sayısı ve özellikle morfolojisi

açısından koruyucu etki göstermiştir. Bunun nedeni karbafuran ile fenthion'nun farklı etki göstermesi olabilir.

Fidan ve ark. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada atropin sülfat'ın değişik miktar ve sürelerde verilmesinin fenthion'a bağlı organ hasarı üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Fenthion verilen tüm gruplarda nöronlarda şişme, piknozis, karyoreksis, lenfosit infiltrasyonu ve motor nöron nekrozu gibi değişiklikler olduğu görülmüştür. Fenthion verilen tüm gruplar içinde nöronal histopatolojik değişikliklerin en az olduğu grubun ilk dört saat içinde 2 mg/kg intraperitoneal atropin verilen grup olduğu saptanmıştır (Fidan ve ark., 2007). Çalışmamızda da koruyucu etkinin en yüksek düzeyde sağlanabilmesi için atropin aynı süre ve miktarda verildi.

Asetilkolin'in beyin hasarı sırasında yıkıcı etki gösteren uyarıcı bir nörotransmitter olduğu ve kolinerjik krizde aşırı artış gösterdiği bilinmektedir (Hayes ve ark., 1986; Saija ve ark.,1988). Fidan ve ark. (2007) atropin'in kolinerjik etkileri azaltıcı etkisinin fenthion nörotoksitesini önlediğini, ancak bu koruyucu etkinin tam olmadığını bildirmektedirler. Buna dayanarak fenthion'un beyin dokusunda kolinerjik uyarı dışında başka yollarla da toksik etki yaptığını savunmaktadırlar. Literatürde organofosfat nörotoksitesinin oksidatif stresi arttırmak yoluyla da ortaya çıktığına ilişkin çalışmalar vardır (Bagchi ve ark.,1995; Possamai ve ark.,2007; Yürümez ve ark., 2007; Lukaszewicz-Hussain, 2010). Ayrıca rat deneylerinde gözlenen davranış anormallikleri ile asetil kolin esteraz inhibisyon düzeyi arasında her zaman korelasyon bulunmadığı ve organofosfatların nöronlar üzerindeki etkisinin hem AChE inhibisyonuna neden olarak hem de başka yollarla ortaya çıkabileceği savunulmuştur (Prendergast ve ark., 2007).

Bu bilgiler ışığında atropin'in oksidatif stresi önlemede yeterli olmadığı söylenebilir. Çalışmamızda Fenthion grubuna göre Fenthion+Atropin grubunda hem nöron sayıları hem de özellikle morfometrik bulgular açısından atropin'in koruyucu etkisi gözlemlenmiştir. Ancak nöron sayısı, kontrol grubuna göre Fenthion+Atropin grubunda da anlamlı derecede azalmış olarak bulunmuştur. Bu bulgumuzun, atropin'in kolinerjik etkileri azaltıcı etkisinin fenthion nörotoksitesini kısmen önlediği görüşünü (Fidan ve ark., 2007) desteklediği söylenebilir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Literatürde fenthion da dahil olmak üzere organofosfatların nörotoksitesisi hakkında hem histopatolojik hem de biyokimyasal çalışmalar vardır. Ancak fenthion'un hippocampus CA bölgesi piramidal nöronlar üzerine etkisi ile ilgili daha önce yapılmış stereolojik bir çalışmaya rastlanmadı. Bu açıdan çalışmamıza ait parametre ve bulguların ilk olduğunu düşünüyoruz.
2. Fenthion hipocampus CA bölgesindeki total piramidal hücre sayılarını belirgin bir şekilde azaltır; apoptozisi arttırır; hücrelerin alan, çevre ve yarıçapını arttırır, yani sitoplazmasında şişmeye neden olur.
3. Fenthion'un yukarıda belirtilen zararlı etkileri atropin ile kısmen (toplam hücre sayısı ve piknozis) veya tamamen (hücresel şişme) düzeltilebilir. Atropin fenthion'un nörotoksik etkilerine karşı koruyucu ve düzeltici etkilere sahiptir.
4. Çalışmamızda atropin'in fenthion maruziyetinin ilk dört saati içinde ve yeterli dozda verilmesinin önemi ortaya konulmuştur. Bu bakımdan, insanlarda görülen organofosfat zehirlenmelerinde erken tanı konulmasının ve diğer uygun tedavilerle birlikte atropinin de erkenden yeterli süre ve dozda verilmesinin nörotoksik belirtileri azaltmak açısından önemli olduğu ortaya çıkmıştır.

ÖZET

Rat Hippocampus'unda Fenthiona Bağlı Hasar Üzerine Atropinin Etkisinin Stereolojik ve Morfometrik Metotlarla İncelenmesi

Tarımsal alanda insektisid olarak yaygın bir şekilde kullanılan organofosfatlar toksik özellikli olup zehirlenmeleri ülkemizde ve dünyada sık görülmektedir. Akut-geç dönem zehirlenme belirtilerine ek olarak, bellek ve öğrenme sorunları, konfüzyon-letarji, anksiyete-depresyon, dikkat bozukluğu ve hassasiyet gerektiren motor işlevlerde bozulma gibi nöropsikiyatrik rahatsızlıklar ortaya çıkabilir. Hippocampus'un bellek, öğrenme ve emosyonel davranışlar ile ilişkili fonksiyonları bilinmektedir. Çalışmamızın amacı, bir organofosfat bileşiği olan fenthion'un hippocampus CA bölgesindeki piramidal nöronlar üzerine toksik etkisini stereolojik yöntemlerle ve ışık mikroskopisi düzeyinde incelemek ve atropinin koruyucu etkisi olup olmadığını araştırmaktır.

Çalışmamızda 18 adet 200-250 g ağırlıkları arasında yetişkin Wistar albino tipi erkek rat kullanıldı. Ratlar Kontrol, Fenthion ve Fenthion+Atropin olmak üzere üç gruba ayrıldı. Kontrol grubuna 0,8 g/kg serum fizyolojik (SF) subkutan olarak tek doz verildi ve bunu takiben 2 mg/kg/h SF dört saat boyunca intraperitoneal olarak uygulandı. Fenthion grubuna 0,8 g/kg fenthion subkutan olarak tek doz verildi. Fenthion ile birlikte 2 mg/kg/h SF dört saat boyunca intraperitoneal olarak uygulandı. Fenthion+Atropin grubuna ise tek doz olarak 0,8 g/kg fenthion subkutan verildi. Fenthion'u takiben 2 mg/kg/h atropin dört saat boyunca intraperitoneal olarak uygulandı. Deneyin beşinci gününde ratlar perfüze edilerek beyinleri çıkarıldı. Sağ hemisferler rutin histolojik takipten geçirilerek bloklanarak ardışık kesitler alındı ve Cresyl Fast Violet ile boyandı. Örneklerde stereolojik metotlardan optik parçalama yöntemi kullanılarak hippocampus CA bölgesindeki piramidal hücreler sayıldı. Ayrıca piramidal hücrelerin alan, çevre ve çap ölçümleri yapıldı.

İncelemeler sonucunda piramidal hücre sayıları kontrol grubunda $620\ 803 \pm 30\ 818$; fenthion verilen grupta $459\ 291 \pm 47\ 077$; fenthion+atropin verilen grupta ise $551\ 328 \pm 51\ 710$ olarak bulundu. Her üç grup arasında görülen bu farklılıklar istatistiksel olarak da anlamlı idi ($p < 0,05$).

Kontrol grubuna ait hücre alanı, çevresi ve yarıçap ölçümleri sırası ile $103\ 151 \pm 18\ 219\ \mu\text{m}^2$; $1\ 272 \pm 98,67\ \mu\text{m}$ ve $179,5 \pm 15,41\ \mu\text{m}$ olarak bulundu. Fenthion verilen grupta ise bu değerler sırası ile $264\ 284 \pm 35\ 144\ \mu\text{m}^2$; $1\ 977 \pm 133,3\ \mu\text{m}$ ve $286,5 \pm 20,77\ \mu\text{m}$ olarak gözlemlendi. Fenthion grubunda gözlenen bu artışlar istatistiksel olarak da anlamlı idi (her üç parametre için $p = 0.000$). Fenthion+Atropin grubunda alan, çevre ve yarıçap ölçümleri sırası ile $98\ 682 \pm 15\ 091\ \mu\text{m}^2$; $1\ 219 \pm 92,75\ \mu\text{m}$ ve $175,3 \pm 15,12\ \mu\text{m}$ idi. Fenthion grubu ile karşılaştırıldığında her üç parametrede istatistiksel olarak da anlamlı bir düşüş olduğu görüldü. Ayrıca Fenthion+Atropin grubu ile Kontrol grubunun karşılaştırılmasında parametreler arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

Fenthion grubu ratların hippocampus CA bölgesindeki hücrelerin sitoplazmasında şişme, karyolizis ve hücrelerde piknozis olduğu gözlemlendi. Hücre çekirdeğinin şişmesi ile nöronların yüzey alanı, çevreleri ve yarıçaplarında ciddi miktarda artış görüldü. Fenthion+Atropin grubundaki ratların hippocampus CA bölgesindeki nöronlarda piknozis gözlenirken, nöron yüzey alanı, çevresi ve yarıçapında ciddi değişiklikler gözlenmedi.

Sonuç olarak fenthion hippocampus CA bölgesindeki total piramidal hücre sayılarını belirgin bir şekilde azaltır; apoptozisi artırır; hücrelerin alan, çevre ve yarıçapını arttırarak sitoplazmasında şişmeye neden olur. Fenthion'un zararlı etkileri atropin ile kısmen veya tamamen düzeltilebilir. Atropin, fenthion'un nörotoksik etkilerine karşı koruyucu ve düzeltici etkilere sahiptir.

Anahtar kelimeler: Atropin sülfat, Fenthion, Hipokampus, Organofosfat, Rat, Stereoloji

SUMMARY

Investigation of the effect of atropine sulphate on the fenthion-induced injury in the rat hippocampus by stereological and morphometric methods

Organophosphates, which are toxic compounds used extensively as insecticides in agriculture, frequently cause intoxications both in our country and in the world. In addition to the acute and delayed symptoms of intoxication neuropsychiatric disorders such as confusion, lethargy, anxiety, depression, attention deficits, impaired motor steadiness and dexterity. Hippocampal functions related to memory, learning and emotions are well known. The aim of our study was to investigate the toxic effect of fenthion on pyramidal neurons in CA area of hippocampus using stereologic methods and light microscopy and to determine whether atropine has protective effect or not.

Eighteen male adult Wistar albino rats weighing 200-250 g were used. Rats were divided into three groups, namely Control, Fenthion and Fenthion+Atropin. Control group received a single dose of 0,8 g/kg subcutaneous saline followed by 2 mg/kg/h saline intraperitoneally for four hours. Fenthion group received single dose of 0,8 g/kg subcutaneous fenthion followed by 2 mg/kg/h saline intraperitoneally for four hours. Fenthion+Atropin group received a single dose of 0,8 g/kg subcutaneous saline followed by 2 mg/kg/h atropin intraperitoneally for four hours. On the fifth day animals were sacrificed using cardiac perfusion method and brains were removed. Right hemispheres were embedded in paraffin; sequential sections were obtained and stained with Cresyl Fast Violet. The optical disector/fractionator sampling method was used to estimate total neuronal number in hippocampus CA region. Area, circumference and radius of neurons were measured.

Pyramidal cell number was found to be $620\ 803 \pm 30\ 818$, $459\ 291 \pm 47\ 077$ and $551\ 328 \pm 51\ 710$ in Control group, Fenthion group and Fenthion+Atropin group, respectively. These differences among the groups were statistically significant ($p < 0,05$).

In the Control group area, circumference and radius of neurons were $103151 \pm 18219 \mu\text{m}^2$; $1272 \pm 98,67 \mu\text{m}$ ve $179,5 \pm 15,41 \mu\text{m}$, respectively. In the Fenthion group area, circumference and radius of neurons were $264284 \pm 35144 \mu\text{m}^2$; $1977 \pm 133,3 \mu\text{m}$ ve $286,5 \pm 20,77 \mu\text{m}$, respectively. These increases in the Fenthion group were statistically significant (for all of the three parameters $p=0.000$). In the Fenthion+Atropin group area, circumference and radius of neurons were $98682 \pm 15091 \mu\text{m}^2$; $1219 \pm 92,75 \mu\text{m}$ ve $175,3 \pm 15,12 \mu\text{m}$, respectively. Compared to Fenthion group, a statistically significant decrease was observed in all of the three parameters. There was no statistically significant difference between parameters of Fenthion+Atropin group and Control group.

Swelling, pyknosis and karyolysis were observed in the cytoplasm of cells in hippocampus CA area in Fenthion group. Swelling of the cells caused an increase in area, circumference and radius of neurons. While there was no significant neuronal surface area, circumference and radius changes in hippocampus CA area in Fenthion+Atropin group, pyknosis was seen in the same group.

Fenthion significantly reduces total pyramidal neuronal number in hippocampus CA area, increases apoptosis, causes neuronal swelling and increase in area, circumference and radius of neurons. Toxic effects of fenthion can be reduced completely or partly by atropin. Atropin has protective effects on the neurotoxicity caused by fenthion

Keywords: Atropin sulphate, Fenthion, Hippocampus, Organophosphate, Rat, Stereology

KAYNAKLAR

- ABERCROMBIE, M. (1946). Estimation of nuclear populations from microtome sections. *Anat Rec*, **94**:239-247.
- AKTAN, Z.A. (1997). Limbik Sistem. *Sendrom*, **9** (1):65-9.
- ARINCI, K., ELHAN, A. (2001) *Anatomi Cilt2*. Güneş kitabevi, Ankara, sy. 320.
- ASLAN, H. (1999). Bir ve yedi günlük civcivlerin hippocampuslarındaki toplam nöron sayısının optik parçalama metodu ile hesaplanması. Uzmanlık Tezi. Samsun 19 Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı.
- ASLAN, H., SONGUR, A., TUNC, A.T., OZEN, O.A., BAS, O., YAGMURCA, M., TURGUT, M., SARSILMAZ, M., KAPLAN, S. (2006). Effects of formaldehyde exposure on granule cell number and volume of dentate gyrus: a histopathological and stereological study. *Brain Res*, **1122**:191-200.
- ASSINI, F.L., ZANETTE, K.D. , BROCARD, P.S., PANDOLFO, P., RODRIGUES, A.L.S., TAKAHASHI, R.N. (2005). Behavioral effects and ChE measures after acute and repeated administration of malathion in rats. *Environ Toxicol Pharmacol*, **20**:443-449.
- BAGCHI, D., BAGCHI, M., HASSOUN, E.A., STOHS, S.J. (1995). In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species, DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides. *Toxicology*, **104**:129-40.
- BALU, D.T., LUCKI, I. (2009). Adult hippocampal neurogenesis: Regulation, functional implications, and contribution to disease pathology. *Neurosci Biobehav Rev*, **33**:232-252.
- BANNERMAN, D.M., RAWLINS, J.N.P., McHUGH, S.B., DEACON, R.M.J., YEE, B.K., BAST, T., ZHANG, W.N., POTHUIZEN, H.H.J., FELDON, J. (2004). Regional dissociations within the hippocampus—memory and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev*, **28**:273–283.
- BROCARD, P.S., PANDOLFO, P., TAKAHASHI, R.N., RODRIGUES, A.L., DAFRE, A.L. (2005). Antioxidant defenses and lipid peroxidation in the cerebral cortex and hippocampus following acute exposure to malathion and/or zinc chloride. *Toxicology*, **207**:283-91.
- CAMPBELL, C.G., SEIDLER, F.J., SLOTKIN, T.A. (1997). Chlorpyrifos interferes with cell development in rat brain regions. *Brain Res Bull*, **43**:179-189.
- COSAR, M., SONGUR, A., SAHIN, O., UZ, E., YILMAZ, H.R., YAGMURCA, M., OZEN, O.A. (2008). The neuroprotective effect of fish n-3 fatty acids in the hippocampus of diabetic rats. *Nutr Neurosci*, **11**:161-166.
- COSTA, L.G. (2006). Current issues in organophosphate toxicology. *Clinica Chimica Acta*, **366**: 1-13.

CROSSMAN, A.R. (2005). Neuroanatomy. In: *Grays anatomy*. Ed.: Standring, S. 39th ed. Elsevier Inc., sy. 264,405-408.

CZERNIAWSKI, J., YOON, T., OTTO T. (2009). Dissociating space and trace in dorsal and ventral hippocampus. *Hippocampus*, **19**:20–32.

ÇINKILOĞLU, E. (2007). *Cyprinus carpio*'da beyin dokusunda fenthionun antioksidant savunma sistemi, lipid peroksidasyonu ve asetilkolinesteraz enzim aktivitesine N-asetilsistein modülatörlüğünde etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.

DAS, K.P., BARONE, S., (1999). Neuronal differentiation in PC12 cells is inhibited by chlorpyrifos and its metabolites: is acetylcholinesterase inhibition the site of action? *Toxicol Appl Pharmacol*, **160**:217-230.

DE BLEECKER, J., VAN DEN NEUCKER, K., WILLEMS, J. (1992).The intermediate syndrome in organophosphate poisoning: presentation of a case and review of the literature. *J Toxicol Clin Toxicol*, **30**:321-9.

DERE, F. (2000). Nöroanatomi (3. Cilt). Nobel Tıp Kitabevi, Adana, sy. 428.

DUVERNOY, H.M. (2005). The Human Hippocampus. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.

ECOBICHON, D.J. (2003). Pesticides. In: *Casarett & Doull's Essentials of Toxicology*. Ed.:Klaassen, C.D.,Watkins III J.B. McGraw-Hill.

EISCH, A.J., NESTLER, E.J. (2002). To be or not to be: adult neurogenesis and psychiatry. *Clin Neurosci Res*, **2**: 93–108.

EKDAHL, C.T., CLAASEN, J.H., BONDE, S., KOKAIA Z., LINDVALL, O. (2003). Inflammation is detrimental for neurogenesis in adult brain. *Proc Natl Acad Sci U.S.A*, **100**:13632-13637.

ELA, Y., FİDAN, H., ŞAHİN, O., KILBAŞ, A., BAŞ, O., YAVUZ, Y., KÜÇÜKER, H., ALTUNTAŞ, İ. (2008). Influence of atropine therapy on fenthion-induced pancreatitis. *Clin Toxicol (Phila)*, **46**:141-5.

EXTOXNET. (1993). Fenthion.

Erişim:[<http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/dienochlor-glyphosate/fenthion-ext.html>]. Erişim tarihi: 15.11.2010.

EYER, P. (2003). The role of oximes in the management of organophosphorus pesticide poisoning. *Toxicol Rev*, **22**: 165-90.

FERBINTEANU, J., MCDONALD, R.J. (2001). Dorsal/ventral hippocampus, fornix, and conditioned place preference. *Hippocampus*, **11**:187–200.

FİDAN, H., ŞAHİN, O., ELA, Y., KILBAŞ, A., BAŞ, O., YAVUZ, Y., ŞAHİN, D.A., ALTUNTAŞ, İ. (2007). Influence of different atropine therapy strategies on fenthion-induced organ dysfunction in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, **100**:308-15.

GIL-MOHAPEL, J., BOEHME, F., KAINER, L., CHRISTIE, B.R. (2010). Hippocampal cell loss and neurogenesis after fetal alcohol exposure: Insights from different rodent models. *Brain Res Rev*, **64**:283-303.

GOKCİMEN, A., RAGBETLİ, M.C., BAS, O., TUNC, A.T., ASLAN, H., YAZICI, A.C., KAPLAN, S. (2007). Effect of prenatal exposure to an anti-inflammatory drug on neuron number in cornu ammonis and dentate gyrus of the rat hippocampus: a stereological study. *Brain Res*, **1127**:185-92.

GOULD, E., CAMERON, H.A., DANIELS, D.C., WOOLLEY C.S., MCEWEN, B.S. (1992). Adrenal hormones suppress cell division in the adult rat dentate gyrus. *J Neurosci*, **12**:3642-3650.

GOULD, E., TANAPAT, P., MCEWEN, B.S., FLUGGE, G., FUCHS, E. (1998). Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.*, **95**:3168-3171.

GÖKALP, O., MOLLAOĞLU, H., YILMAZ, H.R., ALTUNTAŞ, İ. (2003). Organofosfat insektisit Fenthion'un rat amilaz ve lipaz enzimleri üzerine etkisi: Vitamin E ve C'nin rolü. *SDÜ Tıp Fak Derg*, **10**:21-23.

GÖKMEN, F. (2003). Sistemetik Anatomi. Güven Kitabevi, İzmir, sy.616,714

GUNDERSEN, H.J.G. (1977). Notes on the estimation of the numerical density of arbitrary particles: The edge effect. *J Microsc*, **111**:219-223.

GUNDERSEN, H.J.G. (1986). Stereology of arbitrary particles. *J Microsc*, **143**: 3-45.

GUNDERSEN, H.J.G., BAGGER, P., BENDTSEN, T.F., EVANS, S.M., KORBO, L., MARCUSSEN, N., MØLLER, A., NIELSEN, K., NYENGAARD, J.R., PAKKENBERG, B. (1988). The new stereological tools: disector, fractionator, nucleator, and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS*, **96**: 857-881.

GUPTA, R.C., MILATOVIĆ, S., DETTBARN, W., D., ASCHNER, M., MILATOVIĆ, D. (2007). Neuronal oxidative injury and dendritic damage induced by carbofuran: Protection by memantine. *Toxicol Appl Pharmacol*, **219**:97-105.

GUYTON, A.C. (1987). Textbook of Medical Physiology (Türkçe 1. baskı). Merck Yayıncılık, İstanbul, sy. 980-1.

HAYES, R.L., STONNINGTON, H.H., LYETH, B.G., DIXON, C.E., YAMAMOTO, T. (1986). Metabolic and neurophysiologic sequelae of brain injury: a cholinergic hypothesis. *Cent Nerv Syst Trauma*, **3**:163-73.

HOPWOOD, D. (1996). Fixation and fixatives. In: *Theory and Practice of Histological Techniques*. Ed.: Bancroft J.D, Stevens, A. First Published, Churchill Livingstone, Pearson Professional Limited, sy.23-47.

HOWARD, C.V., REED, M.G. (1998). Unbiased Stereology: Three dimensional measurement in microscopy. Oxford, Bios Scientific Publishers, sy.1-37.

- HUSAIN, K., ANSARI, R.A., FERDER, L. (2010). Pharmacological agents in the prophylaxis/treatment of organophosphorous pesticide intoxication. *Indian J Exp Biol*, **48**: 642-50.
- JAMAL, G.A., HANSEN, S., JULU, P.O.O. (2002). Low level exposures to organophosphorus esters may cause neurotoxicity. *Toxicology*, **181-182**: 23-33.
- JAYAWARDANE, P., DAWSON, A.H., WEERASINGHE, V., KARALLIEDDE, L., BUCKLEY, N.A., SENANAYAKE, N. (2008). The spectrum of intermediate syndrome following acute organophosphate poisoning: a prospective cohort study from Sri Lanka. *PLoS Med*, **5**:147.
- JOKANOVIC, M., KOSANOVIC, M. (2010). Neurotoxic effects in patients poisoned with organophosphorus pesticides. *Environ Toxicol Pharmacol*, **29**:195-201.
- JOKANOVIC, M., KOSANOVIC, M., BRKIC, D., VUKOMANOVIC, P. (2011). Organophosphate induced delayed polyneuropathy in man: An overview. *ClinNeurol Neurosurg*, **113**:7-10.
- JOKANOVIC, M., STUKALOV, P.V., KOSANOVIC, M. (2002). Organophosphate induced delayed polyneuropathy. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord*, **1**:593-602.
- JOOSEN, M.J., JOUSMA, E., VAN DEN BOOM, T.M., KUIJPERS, W.C., SMIT, A.B., LUCASSEN, P.J., VAN HELDEN, H.P. (2009). Long-term cognitive deficits accompanied by reduced neurogenesis after soman poisoning. *Neurotoxicology*, **30**:72-80.
- KAMANYIRE, R., KARALLIEDDE, L. (2004). Organophosphate toxicity and occupational exposure. *Occup Med (Lond)*, **54**:69-75.
- KARALLIEDDE, L., BAKER, D., MARRS, T.C. (2006). Organophosphate-induced intermediate syndrome: aetiology and relationships with myopathy. *Toxicol Rev*, **25**:1-14.
- KAYAALP, O. (1993). Tıbbi Farmakoloji. Feryal Matbaası, Ankara, sy.2311-2315.
- KESNER, R.P., Hopkins, R.O. (2006). Mnemonic functions of the hippocampus: A comparison between animals and human. *Biol Psychol*, **73**: 3-18.
- KITAMURA, S., SUZUKI, T., OHTA, S., FUJIMOTO, N. (2003). Antiandrogenic activity and metabolism of the organophosphorus pesticide fenthion and related compounds. *Environ Health Perspect*, **111**:503-508.
- KOCATÜRK, U. (1986). Açıklamalı Tıp Terimleri Sözlüğü (3. baskı). Sevinç Matbaası, Ankara, sy.627.
- KONIGSMARK, MW. (1970) Methods for the counting of neurons. In: *Contemporary research methods in neuroanatomy*. Ed.: Nauta, WSH., Ebesson, SOE. Springer, Newyork sy.315-340.
- KUHN, H.G., DICKINSON-ANSON, H., GAGE, F.H. (1996). Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J Neurosci*, **16**:2027-2033.

- LOTTI, M., MORETTI, A. (2005). Organophosphate-induced delayed polyneuropathy. *Toxicol Rev*, **24**:37-49.
- LUKASZEWICZ-HUSSAIN, A. (2010). Role of oxidative stress in organophosphate insecticide toxicity – short review. *Pestic Biochem Physiol*, **98**:145-150.
- MAYHEW, T.M. (1991). Review article: The new stereological methods for interpreting functional morphology from slices of cells and organs. *Exp Physiol*, **76**:639-665.
- MCNAUGHTON, N. (2006). The role of the subiculum within the behavioural inhibition system. *Behav Brain Res*, **174**:232-250.
- MITRA, N.K., SIONG, H.H., NADARAJAH, V.D. (2008). Evaluation of neurotoxicity of repeated dermal application of chlorpyrifos on hippocampus of adult mice. *Ann Agric Environ Med*, **15**:211-216.
- MOSER, E., MOSER, M.B., ANDERSEN, P. (1993). Spatial learning impairment parallels the magnitude of dorsal hippocampal lesions, but is hardly present following ventral lesions. *J Neurosci*, **13**:3916-25.
- MOSER, M.B., MOSER, E.I. (1998). Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus*, **8**:608-19.
- MOSS, M., MAHUT, H., ZOLA, M.S. (1981). Concurrent discrimination learning of monkeys after hippocampal, entorhinal or fornix lesions. *J Neurosci*, **1**:227-40.
- NETTER, F.H. (2005). İnsan Anatomisi Atlası. Nobel Tıp Kitabevleri.
- NIXON, K., CREWS, F.T. (2002). Binge ethanol exposure decreases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurochem*, **83**:1087–1093.
- NOBACK, C.R., DEMAREST, R.J. (1986). The Nervous System. 3rd Ed. McGraw-Hill Book Comp, New York, sy. 265-266.
- OLSON, K.R. (2006). Poisoning. In: *Current Medical Diagnosis & Treatment*. Ed.:Tierney, L.M., McPhee, S.J., Papadakis, M.A. 45. Baskı. McGraw-Hill. sy. 1614, 1632.
- POSSAMAI, F.P., FORTUNATO, J.J. , FEIER, G., AGOSTINHO, F.R., QUEVEDO, J., WILHELM FILHO, D., DAL-PIZZOL, F. (2007). Oxidative stress after acute and sub-chronic malathion intoxication in Wistar rats. *Environ Toxicol Pharmacol*, **23**:198-204.
- POTHUIZEN, H.H., ZHANG, W.N., JONGEN-RÊLO, A.L., FELDON, J., YEE, B.K. (2004). Dissociation of function between the dorsal and the ventral hippocampus in spatial learning abilities of the rat: a within-subject, within-task comparison of reference and working spatial memory. *Eur J Neurosci*, **19**:705-12.
- PRENDERGAST, M.A., SELF, R.L., SMITH, K.J., GHAYOUMI, L., MULLINS, M.M., BUTLER, T.R., BUCCAFUSCO, J.J., GEARHART, D.A., TERRY, A.V.JR. (2007). Microtubule-associated targets in chlorpyrifos oxon hippocampal neurotoxicity. *Neuroscience*, **146**:330-9.
- ROGERS, J.L., HUNSAKER, M.R., KESNER, R.P. (2006). Effects of ventral and dorsal CA1 subregional lesions on trace fear conditioning. *Neurobiol Learn Mem*, **86**:72-81.

ROY, T.S., SHARMA, V., SEIDLER, F.J., SLOTKIN, T.A. (2005). Quantitative morphological assessment reveals neuronal and glial deficits in hippocampus after a brief subtoxic exposure to chlorpyrifos in neonatal rats. *Brain Res Dev Brain Res*, **155**:71-80.

SACHANA M., FLASKOS, J., ALEXAKI, E., GLYNN, P., HARGREAVES, A.J. (2001). The toxicity of chlorpyrifos towards differentiating mouse N2a neuroblastoma cells. *Toxicol In Vitro*, **15**:369-372.

SAIJA, A., ROBINSON, S.E., LYETH, B.G., DIXON, C.E., YAMAMOTO, T., CLIFTON, G.L., HAYES, R.L. (1988). The effects of scopolamine and traumatic brain injury on central cholinergic neurons. *J Neurotrauma*, **5**:161-70.

SARSILMAZ, M., KAPLAN, S., SONGUR, A., COLAKOGLU, S., ASLAN, H., TUNC, A.T., OZEN, O.A., TURGUT, M., BAŞ, O. (2007). Effects of postnatal formaldehyde exposure on pyramidal cell number, volume of cell layer in hippocampus and hemisphere in the rat: a stereological study. *Brain Res*, **1145**:157-67.

SELKOE, D.J. (1993). Physiological production of the beta-amyloid protein and the mechanism of the alzheimer's disease. *Trends Neurosci*, **16**: 403- 9.

SEVGİLER, Y. (2007). *Oreochromis niloticus*'da karaciğer ve böbrek dokularında fenthionun NAC ve BSO modülatörlüğünde glutasyon metabolizmasına oksidatif etkileri. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.

SINGH, S., SHARMA, N. (2000). Neurological syndromes following organophosphate poisoning. *Neurol India*, **48**: 308.

SNELL, R.S. (2000). Klinik Nöroanatomi. Nobel Tıp Kitabevi, sy. 300

SONGUR, A. (2001a). Sıçanlarda solunan formaldehitin postnatal gelişim sürecinde formatio hippocampi üzerine etkilerinin morfolojik olarak incelenmesi. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

SONGUR, A., ÖZEN, O.A., SARSILMAZ, M. (2001b). Hipokampus. *T Klin Tıp Bilimleri*, **21**:427-431.

SONGUR, A., AKPOLAT, N., KUS, I., OZEN, O.A., ZARARSIZ, I., SARSILMAZ, M. (2003). The effects of the inhaled formaldehyde during the early postnatal period in the hippocampus of rats: a morphological and immunohistochemical study. *Neurosci Res Commun*, **33**:168-178.

STALLONES, L., BESELER, C. (2002). Pesticide poisoning and depressive symptoms among farm residents. *Ann Epidemiol*, **12**:389-94.

STERIO, DC. (1984). The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the disector. *J Microsc*, **134**:127-136.

TANER, D. (2004). Fonksiyonel nöroanatomi. ODTÜ Yayıncılık, Ankara, sy.227.

THIERMANN, H., SZINICZ, L., EYER, F., WOREK, F., EYER, P., FELGENHAUER, N., ZILKER, T. (1999). Modern strategies in therapy of organophosphate poisoning. *Toxicol Lett*, **107**:233-9.

TILSON, H.A., VERONESI, B., MCLAMB, R.L., MATTHEWS, H.B. (1990). Acute exposure to tris(2-chloroethyl) phosphate produces hippocampal neuronal loss and impairs learning in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, **106**:254-69.

TREVISAN, R., ULIANO-SILVA, M., PANDOLFO, P., FRANCO, J.L., BROCARDO, P.S., SANTOS, A.R., FARINA, M., RODRIGUES, A.L., TAKAHASHI, R.N., DAFRE, A.L. (2008). Antioxidant and acetylcholinesterase response to repeated malathion exposure in rat cerebral cortex and hippocampus. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, **102**:365-9.

TRUE, B.L., DREISBACH, R.H. (2003). Zehirlenme El Kitabı. Güneş Kitabevi, sy.129-131.

TSATSAKIS, A.M., TSAKIRIS, I.N., TZATZARAKIS, M.N., AGOURAKIS, Z.B., TUTUDAKI, M. ALEGAKIS, A.K. (2003). Three-year study of fenthion and dimethoate pesticides in olive oil from organic and conventional cultivation. *Food Addit Contam*, **20**:553-559.

VERONESI, B., JONES, K., POPE, C. (1990). The neurotoxicity of subchronic acetylcholinesterase (AChE) inhibition in rat hippocampus. *Toxicol Appl Pharmacol*, **104**: 440-56.

VERTES, R.P. (2005). Hippocampal theta rhythm: A tag for short-term memory. *Hippocampus*, **15**:923-935.

VERTES, R.P., ALBO, Z., VIANA DI PRISCO, G. (2001). Theta-rhythmically firing neurons in the anterior thalamus: implications for mnemonic functions of Papez's circuit. *Neuroscience*, **104**:619-625.

WEST, MJ. (1993). New stereological methods for counting neurons. *Neurobiol Aging*, **14**: 275-285.

WEXLER P. (2005) Encyclopedia of Toxicology. Vol 2, 2nd Ed., Academic Press, sy.325-328.

WHO-UNEP. (2006). Sound management pesticides and diagnosis and treatment of pesticide poisoning. World Health Organization.

Erişim: [http://www.who.int/whopes/recommendations/IPCSPesticide_ok.pdf].

Erişim tarihi:15.11.2010

WILLAMS, WR., RAKIC, P. (1988). Three-dimensional counting: an accurate and direct method to estimate numbers of the cells in sectioned material. *J Comp Neurol*, **278**:344-352.

YANG, C.C., DENG, J.F. (2007). Intermediate syndrome following organophosphate insecticide poisoning. *J Chin Med Assoc*, **70**:467-72.

YURUMEZ, Y., CEMEK, M., YAVUZ, Y., BİRDANE, Y.O., BUYUKOKUROGLU, M.E. (2007). Beneficial effect of N-acetylcysteine against organophosphate toxicity in mice. *Biol Pharm Bull*, **30**:490-4.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Muhsin Toktaş

Doğum Yeri ve Tarihi: Gediz, Kütahya, 11 Eylül 1974

Öğrenim Durumu:

Derece	Bölüm/Program	Okul / Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lisans	Tıp Fakültesi	Ankara Üniversitesi	1999
Y. Lisans	Tıp Fakültesi	Ankara Üniversitesi	1999
Doktora	Anatomi (Tıp)	A.Kocatepe Üniversitesi	2010

Yabancı Dil: İngilizce (ÜDS: 96.250)

Projelerde Yaptığı Görevler :

1- Willis Poligonu (Circulus arteriosus Cerebri) Varyasyonlarının MR-Anjiyografi Yöntemi Kullanılarak İncelenmesi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğrenci Projeleri, Araştırmacı, 2010.

Bilimsel Kuruluşlara Üyelikler:

1- Anatomi ve Klinik Anatomi Derneği

2- Türk Tabipler Birliği

Katıldığı Bilimsel Kongreler:

1- Uluslararası Katılımlı 11. Ulusal Anatomi Kongresi (26-29 Ekim 2007, Denizli)

2- 10. Uluslararası Klinik Anatomi Kongresi (2-5 Eylül 2009, İstanbul)

4- 9. Ulusal Sinir Bilimleri Kongresi (13-17 Nisan 2010, İstanbul)

4- 13. Ulusal Anatomi Kongresi (28 Ekim-1 Kasım 2010, Girne / KKTC)

Katıldığı Bilimsel Sempozyumlar ve Seminerler:

1- Hasta Hakları ve Sağlık Çalışanlarının Hukuki Sorumlulukları-2007 Sempozyumu (9 Kasım 2007, Afyonkarahisar)

Katıldığı Bilimsel Kurslar:

1- Klinik ve Deneysel Çalışmalarda Stereolojik Yöntemler Kursu (27-29 Haziran 2006, Afyonkarahisar)

2- Acil Hekim Sertifika Programı, Temel Modül Eğitimi (9-13 Nisan 2007, Eskişehir)

3- 155.Travma ve Resüsitasyon Kursu (5-8 Haziran 2007, Eskişehir)

4- Çocuklarda İleri Yaşam Desteği Uygulayıcı Kursu (27-30 Mayıs 2008, Eskişehir)

5- Deneysel Hayvanları Kullanımı Eğitim Programı (6-10 Nisan 2009, Isparta)

6- Elektrofizyoloji kursu (13 Nisan 2010, İstanbul)

7- Sinir Sistemi Görüntüleme Kursu (13 Nisan 2010, İstanbul)

8- Kadavrada Üroonkolojik Cerrahi Anatomi Diseksiyon Kursu (29 Nisan-1 Mayıs 2010, Mersin)

ESERLER

A. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler :

A1. Songur A, Gonul Y, Ozen OA, Kucuker H, Uzun I, Bas O, **Toktas M.** “Variations in the Intracranial Vertebrobasilar System”, Surg Radiol Anat. 30:257–264(2008).

A2. Songur A., Uygur R, Akcer S, **Toktas M,** “Fenestrated Brachial Vein Perforated by The Lateral Root of Median Nerve: A Case Report”, International Journal of Experimental and Clinical Anatomy. 3:65-68. (2009)

A3. Songur A, **Toktas M,** Alkoc O, Acar T, Uzun I, Bas O, Ozen OA. “Abdominal aorta and its branches: morphometry - variations in autopsy cases”, Eur J Gen Med. 7(3):321-325 (2010).

A4. Ucok K, Aycicek A, Mollaoglu H, Genc A, Akkaya M, **Toktas M,** Alkoc OA, Unlu M. “Respiratory variables during wakefulness in patients with obstructive sleep apnea and associations with anthropometric measurements” , Eur J Gen Med, 7,250-258 (2010).

B. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

B1. Songur A, Eser O, Alkoc OA, **Toktas M**, Caglar V, Kaner T “Vertebral Hemangiomas” 10th Congress of European Association of Clinical Anatomy, İstanbul, Turkey, PPr-77, 2009.

B2. Songur A., Uygur R, Akcer S, **Toktas M**, “Fenestrated brachial vein perforated by the lateral root of median nerve: case report,” 10th Congress of European Association of Clinical Anatomy, Istanbul, Turkey, P-177, 2009.

B3. Songur A, **Toktas M**, Alkoc O, Acar T, Bas O, Uzun I, Ozen OA “Abdominal Aorta And Its Branches: Morphometry, Variations and Their Correlations” 10th Congress of European Association of Clinical Anatomy, Istanbul, Turkey, P-178, 2009.

B4. Kaner T, Songur A, **Toktas M**, Alkoc O, Caglar V, Eser O “Comparison of Disc and Body Volumes in Degenerated and Non-Degenerated Lumbar Discs: A Stereological Study” 10th Congress of European Association of Clinical Anatomy, Istanbul, Turkey, P-186, 2-5 September 2009. (Kabul Tarihi: 31 Mart 2009).

B5. Uçok K, Aycicek A, Mollaoglu H, Genc A, Akkaya M, **Toktas M**, Alkoc OA, Unlu M “Respiratory Variables and Anthropometric Measurements in Obstructive Sleep Apnea” 10th Congress of European Association of Clinical Anatomy, Istanbul, Turkey, P-179, 2009.

C. Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler :

C1. Baş O, Paktaş Y, Özen OA, Songur A, Üçok K, Mollaoglu H, **Toktaş M**. “Erkek Voleybolcuların Üst Ekstremitelerine Ait Bazı Antropometrik Ölçümler” Kocatepe Tıp Dergisi 7:45-48/ Eylül 2006

D. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

D1. **Toktaş M**, Songur A, Alkoc O, Üzün İ, Özen OA, Baş O, Acar T. “Aorta Abdominalis Ve Varyasyonları” 11. Ulusal Anatomi Kongresi, Cilt 1, S55, Denizli, 2007.

D2. Songur A, Gönül Y, Baş O, Özen OA, **Toktaş M**, Küçükler H, Üzün İ. “Vertebrobaziler sistem varyasyonları” 11. Ulusal Anatomi Kongresi, Cilt 1, S57, Denizli, 2007.

D3. Uygur R, Özen OA, Baş O, **Toktaş M**, Songur A. “Gait Problem Can Be Quickly Overcome By The Good Assessment of The Lower Extremity Development” 11. Ulusal Anatomi Kongresi, Cilt 1, S27, Denizli, 2007.

D4- Songur A, Akcer S, Gonul Y, **Toktas M**, Uzun I. “Variations of circle of Willis” 13. Ulusal Anatomi Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 2010, Kıbrıs.

D5-Turamanlar O, Ozen OA Akcer S, **Toktas M**. “One of the founders of modern anatomy in Turkey: Hasan Mazhar Pasha” 13. Ulusal Anatomi Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 2010, Kıbrıs