



**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI
BYF-YL-2009-0001**

**FARKLI SÜRELERDE UYGULANACAK OLAN
CUPRİZONUN WİSTAR-ALBİNO TÜRÜ SIÇANLARDA
SİNİRSEL DEMİYELİNİZASYON ÜZERİNE ETKİSİNİN
ELEKTROFİZYOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ**

Harun BAŞOĞLU

**DANIŞMAN
Yard. Doç. Dr. Hayrullah KÖSE**

AYDIN-2009

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI
BYF-YL-2009-0001**

**FARKLI SÜRELERDE UYGULANACAK OLAN
CUPRİZONUN WİSTAR-ALBİNO TÜRÜ SIÇANLARDA
SİNİRSEL DEMİYELİNİZASYON ÜZERİNE ETKİSİNİN
ELEKTROFİZYOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ**

Harun BAŞOĞLU

**DANIŞMAN
Yard. Doç. Dr. Hayrullah KÖSE**

AYDIN-2009

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Biyofizik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Harun BAŞOĞLU tarafından hazırlanan “Farklı Sürelerde Uygulanacak Olan Cuprizonun Wistar-Albino Türü Sıçanlarda Sinirsel Demiyelinizasyon Üzerine Etkisinin Elektrofizyolojik Olarak İncelenmesi” başlıklı tez, 28/08/2009 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Unvanı, Adı ve Soyadı :

Üniversitesi :

İmzası:

(Başkan) Doç. Dr. Mehmet Dinçer BİLGİN

ADÜ- Tıp Fakültesi

(Üye) Doç Dr. Nefati KIYLIOĞLU

ADÜ- Tıp Fakültesi

(Üye) Yard. Doç. Dr. Hayrullah KÖSE

ADÜ- Tıp Fakültesi

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen butezi,
Enstitü Yönetim Kurulunun Sayılı kararıyla/...../..... tarihinde onaylanmıştır.

Unvanı, Adı Soyadı

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Multipl skleroz (MS), merkezi sinir sisteminde miyelin yıkımını içeren, periferik sinir sistemini de etkileyebilen bir bozukluktur. MS beyinde görme, konuşma, yürüme gibi fonksiyonlar üzerindeki kontrol kabiliyetini bozmaktadır. Hastalık beyin ve omuriliğin birçok farklı noktasını etkilemesi, belirtilerin aniden ortaya çıkması veya kaybolması nedeniyle “Multipl” ismini almış ve beyin ile omuriliğin hasarlı alanlarında sertleşmiş dokular oluşması nedeniyle de “Skleroz” adı eklenmiştir. Psikolojik veya bulaşıcı bir hastalık olmayan MS için önleyici veya düzeltici bir tedavi henüz belirlenememiştir. Hastalığın nedeni tam olarak anlaşılamamış olmakla beraber genetik ve çevresel etkenlerin hastalığın ortaya çıkmasında etken olabileceği öne sürülmektedir.

Multipl Skleroz, 1868 yılında Paris Üniversitesi nöroloji profesörü Jean-Martin Charcot tarafından titreme belirtisiyle gelen hastada konuşma bozukluğu ve nistagmus bulgularında olduğunu fark etmesi ve hasta öldüğünde ise beynini incelemesinde plaklar göstermesiyle tanımlanmıştır.

Hastalık genelde 20-50 yaş aralığında ortaya çıkmaktadır. Ekvatordan uzak bölgelerde yaygın olarak görülmektedir. Bütün ırklarda görülmesine rağmen beyaz ırkta daha yaygındır. Hastalığın kalıtsallığına dair herhangi bir açıklama olmamasına rağmen, MS’li hastaların %15’inde akrabalık etkisi görülmüştür.

Araştırmacıların büyük çoğunluğu demyelinizasyonun tetiklenmesindeki erken dönem ve takibindeki remyelinizasyon üzerine odaklanmışlar ve neticesinde deneysel çalışmalar için MS modelleri oluşturmuşlardır. MS modellerinden biri de cuprizonun hayvanların yemine katılması suretiyle oluşturulmaktadır. Araştırmaların büyük çoğunluğu farelerde yapılmış ve halen bu konuda yayınlar ortaya çıkmasına rağmen, sıçanlarda bu konuda sınırlı sayıda araştırma yapılmıştır.

Bu çalışmada amaç nörotoksik bir madde olan cuprizon ağızdan gavaj yöntemiyle sıçanlara farklı sürelerde verilerek MS modeli oluşturmak ve modelin oluşup oluşmadığını elektrofizyolojik ve histopatolojik olarak incelemektir.

Bu alışma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından SAE-08001 kodlu proje olarak desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL ve ONAY	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
RESİMLER DİZİNİ	ix
1.GİRİŞ	1
1.2. Genel Bilgiler	2
1.2.1. Sinir Dokusu	2
1.2.1.1.Sinir Dokusunun Gelişimi	3
1.2.1.2. Nöronlar	4
1.2.1.3. Nöroglia	6
1.2.1.4. Uydu Hücreler	8
1.2.1.5. Mikroglialar	9
1.2.1.6. Ependimal Hücreler	9
1.2.1.7. Sinir Dokusunun Yaralanmalara Verdiği Yanıt	9
1.2.1.7.1. Sinir Dejenerasyonu	9
1.2.1.7.2. Sinir Rejenerasyonu	10
1.2.1.7.3. Tropik Faktörler	11
1.2.2. Sinir İmpulsu Oluşumu ve iletimi	12
1.2.3. Multipl Skleroz	15
1.2.3.1. Patofizyoloji	16
1.2.4. Deneysel Multipl Skleroz Modelleri	18
1.2.4.1 Cuprizon Modeli	19
2. GEREÇ ve YÖNTEM	21
2.1. Gereç	21

2.2. Yöntem	21
2.2.1. Hayvanlarda Uygulanan Cuprizon Dozunun Hesaplanması	21
2.2.2. Sıçanlarda Cuprizon Uygulaması	22
2.2.3. Elektromiyografi (EMG) Ölçümü	23
2.2.4. Sinir İleti Hızı Hesaplanması	26
2.2.5. Histopatoloji	27
2.2.5.1. Luxol Fast Blue ile Miyelin Boyama Protokolü	29
2.2.5.1.1. Solüsyonların Hazırlanması	29
2.2.5.1.2. Boyama Prosedürü	29
2.2.6. İstatistiksel Analiz	30
3. BULGULAR	31
3.1. Spinal Kord Motor Sinir İleti Hızı	31
3.2. Histopatolojik Değişimler	36
4. TARTIŞMA	50
5. SONUÇ	54
ÖZET	56
SUMMARY	58
KAYNAKLAR	60
ÖZGEÇMİŞ	68
TEŞEKKÜR.....	69

SİMGELER ve KISALTMALAR

BKAP	Birleşik Kas Aksiyon Potansiyeli
DL	Distal Latans
DOE	DeneySEL Otoimmün Ensafalomiyelit
EMG	Elektromiyografi
KMS	Karboksi Metil Selüloz
MS	Multipl Skleroz
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
NGF	Sinir Büyüme Faktörü (Neuron Growth Factor)
PL	Proksimal Latans
PSS	Periferik Sinir Sistemi
SSS	Santral Sinir Sistemi

ÇİZELGE

Tablo 2.1 Deney Grupları

Sayfa

22

ŞEKİLLER

		Sayfa
Şekil 1.1	Sinir hücresi yapı elemanları	5
Şekil 1.2	Merkezi sinir sisteminde nöroglial hücreler	7
Şekil 1.3	Aksiyon potansiyeli sürecinde sodyum ve potasyum iletkenliğindeki değişiklikler	14
Şekil 3.1	L1 seviyesinden verilen 10 mA uyarıya karşılık elde edilen grafik	31
Şekil 3.2	Şekil 3.2. L1 seviyesinden verilen 10 mA lik 5 ayrı grafiğin üst üste çakışık görüntüsü	32
Şekil 3.3	L6 seviyesinden 10 mA akıma karşılık 5 ayrı cevabın çakışık hali	32
Şekil 3.4	L6 seviyesinden 0,1-50 mA arası standart uygulamalarımızdan elde edilen cevapların üst üste görüntüsü	33
Şekil 3.5	L1 seviyesinden 0,1-50 mA arası standart uygulamalarımızdan elde edilen cevapların üst üste görüntüsü	33
Şekil 3.6	L6 seviyesinden 0,1-50 mA arası akımlarda alınan bütün değerlerin çakıştırılması	34
Şekil 3.7	Spinal Kord Motor Sinir İleti Hızları	35

RESİMLER

		Sayfa
Resim 2.1	4 mm çapında Ag/AgCl yüzey elektrotları	23
Resim 2.2	EL400 iğne elektrotları	24
Resim 2.3	EMG100B modülü ve MP100 (Biopac System) veri kayıt sistemi	24
Resim 2.4	İğne ve yüzey elektrotlarının sıçan vcduna yerleştirilme düzeni	25
Resim 2.5	STIMISOC sitimulus amplifikatörü	26
Resim 2.6	Kesme Diski	27
Resim 2.7	Beyin ve Beyincik	28
Resim 3.1	Kontrol grubu erkek sıçanlarda corpus collosum	37
Resim 3.2	Kontrol grubu sıçanlarda corpus collosum	37
Resim 3.3	Resim 3.3. Kontrol grubu sıçanlarda beyincik	38
Resim 3.4	Kontrol grubu sıçanlarda beyincik	38
Resim 3.5	KMS alan sıçanlarda corpus collosum	39
Resim 3.6	KMS alan sıçanlarda corpus collosum	39
Resim 3.7	KMS alan sıçanlarda beyincik	40
Resim 3.8	KMS alan sıçanlarda beyincik	40
Resim 3.9	4 hafta cuprizon alan sıçanlarda corpus collosum	41
Resim 3.10	4 hafta cuprizon alan sıçanlarda corpus collosum	41
Resim 3.11	4 hafta cuprizon alan sıçanlarda beyincik	42
Resim 3.12	4 hafta cuprizon alan sıçanlarda beyincik	42
Resim 3.13	5 hafta cuprizon alan sıçanlarda corpus collosum	43
Resim 3.14	5 hafta cuprizon alan sıçanlarda corpus collosum	43
Resim 3.15	5 hafta cuprizon alan sıçanlarda beyincik	44
Resim 3.16	5 hafta cuprizon alan sıçanlarda beyincik	44
Resim 3.17	6 hafta cuprizon alan sıçanlarda corpus collosum	45

Resim 3.18	6 hafta cuprizon alan sıçanlarda corpus collosum	45
Resim 3.19	6 hafta cuprizon alan sıçanlarda beyincik	46
Resim 3.20	6 hafta cuprizon alan sıçanlarda beyincik	46
Resim 3.21	6 hafta cuprizon alan sıçanlarda beyincik	47
Resim 3.22	6 hafta cuprizon alan sıçanlarda beyincik	47
Resim 3.23	7 hafta cuprizon alan sıçanlarda corpus collosum	48
Resim 3.24	7 hafta cuprizon alan sıçanlarda corpus collosum	48
Resim 3.25	7 hafta cuprizon alan sıçanlarda beyincik	49
Resim 3.26	7 hafta cuprizon alan sıçanlarda beyincik	49

1. GİRİŞ

Santral Sinir Sisteminde (SSS) miyelin kılıfı oligodendroglial hücrelerin stoplazmik çıkıntılarında oluşur. Schwann hücrelerinin periferik sinir sisteminde yaptığı şekilde bu çıkıntılar nöronal uzantıları konsantrik tarzda kuşatır. SSS indeki miyelinin görevi; periferik sinir sistemindeki gibi sinir hücre uzantılarının izolasyonunu sağlamak ve böylece hücre membranları boyunca elektriksel impulsların hızlı iletimine imkan vermektir. Birçok sebep miyelin kılıfının yapısını bozabilir ve böylece beyin içinde elektrik iletimi engellenerek sinirsel hastalığa neden olunur. Böyle durumlarda myelin primer olarak etkilenebildiği gibi, oligodendroglial hücre gövdesi veya her ikisi birden de incinebilir. Multipl skleroz (MS) normal olarak oluşan miyelinin hasara uğramasıyla meydana gelen edinilmiş demyelinizan hastalıktır (Kumar ve ark 2003).

MS'in kesin tedavisi bulunmamaktadır. Bu nedenle deney hayvanlarında multipl skleroz hastalık modeli oluşturup tedavi edici ilaçlar ve yöntemler geliştirmek çok önemlidir. Bu amaçla yapılan çalışmalarda farelerde cuprizon ile multipl skleroz hastalık modeli oluşturulmuştur (Skrupuletz ve ark 2008, Lindner ve ark 2008, Pons ve ark 2007) ancak sıçanlarda cuprizon modelinin oluşturulmasında araştırmacılar farklı sonuçlar yayınlamışlardır. Love (1988) Wistar-Albino türü sıçanlarda bu modelin işe yaramadığını bildirmesine rağmen Adamo ve ark (2006) yaptığı çalışmalarda genç sıçanlarda cuprizon ile multipl skleroz modeli oluşturulabileceğini bildirmiştir. Love (1988) Wistar-Albino türü dışındaki sıçanlarda da bu uygulamanın başarılı olabileceğini ileri sürmüştür. Buradan yola çıkarak türler arasındaki farklılıklarda farklı sonuçlar elde edilebileceği ve kullandığımız Wistar türü sıçanlar bizim laboratuvarlarımızda yüksek oranda kendi içinde melezlenmiş olmasından dolayı Love'ın kullandıklarından farklı olabileceği sonucuna varıldı. Yayınlanan çalışmalarda hem farelerde hem de sıçanlarda cuprizon uygulama sürelerinde farklılıkların olduğu görülmektedir. Denemelerin hepsinde cuprizon toz haldeki yeme eklenerek verilmiştir. Bu hayvanlar toz haldeki yemden burunlarıyla karıştırmak suretiyle

cuprizonun az olduğu taraflardan yiyebileceği ve sonuçta her hayvanın cuprizon alımının farklı olabileceği nedeniyle cuprizon uygulamasının ağızdan gavaj yontemiyle kendi laboratuvarımızdaki hayvanlarda değişik sürelerde uyguladığımızda cuprizon ile multipl skleroz modeli oluşturabileceği planlanmıştır. Böylece MS oluşmuş olan Wistar türü sıçanlarda sinirsel demiyelinizasyonun elektrofizyolojik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

1.2. GENEL BİLGİLER

1.2.1. Sinir Dokusu

İnsanda sinir sistemi yaklaşık 10 milyar nöron içerir (Junqueira ve ark 1993). Vücutta, sinir sistemi sinir dokularının tamamını kapsamaktadır ve tümleşik haberleşme ağı gibi bütün vücuda dağılmış durumdadır (Bloom ve Fawcett 1975, Junqueira ve ark 1989). Sinir sisteminin görevi i ve dış ortamda oluşan uyarıları almak, analiz etmek ve uygun cevabı ilgili organa (effektör organ) iletmektir (Wheater ve ark 1980). Anatomik olarak sinir sistemi merkezi sinir sistemi (MSS) ve periferik sinir sistemi (PSS) olarak ikiye ayrılmaktadır. Merkezi sinir sistemi beyin ve medulla spinalisi kapsarken periferik sinir sistemi, sinir ganglioları olarak adlandırılan küçük agregatları ve sinir liflerini içermektedir (Junqueira ve ark 1989).

Merkezi sinir sistemi i ve dış ortamdaki değişikliklere ne gibi yanıtların oluşturulacağı yönünde değerlendirme yapan ve karar veren merkezdır. Periferik sinir sistemi ise reseptörler aracılığıyla i ve dış ortamdan aldığı bilgileri merkeze, merkezin emirlerini ise bu emirler doğrultusunda yanıtı oluşturacak organa götüren sistemdir.

Yapı olarak temelde sinir dokusu 2 tip hücreden oluşur: genellikle sayısız uzun işlemler yapabilen nöronlar ve nöronları destekleme ve korumadan sorumlu aynı zamanda nöral aktiviteye, nöral beslenmeye katılan MSS'ni koruma işlevi yapan glial hücreler veya diğer adıyla nroglialardır (Junqueira ve ark 1989).

Merkezi sinir sisteminde sinir hücrelerinin gövdeleri gruplar halinde (çekirdek) toplanır ve bunlar uç noktalara belli bir uzaklıkta lokalize olur. Beyin ve omurilik gri madde ve beyaz maddelerden oluşur. Gri madde sinir hücre gövdeleri ve nöroglia hücrelerini kapsayan karmaşık bir ağ halinde izlenir. Beyaz madde ise sinir hücre gövdesi içermez; nöronal uzantılar ve nöroglialardan oluşur ve adını nöronal uzantıların etrafını saran beyaz bir yapı olan miyelinli liflerden alır (Junqueira ve ark 1989). Beyin sapı hem sinir hücrelerini hem de miyelinli lifleri yani hem gri maddeyi hem de beyaz maddeyi içerir (Junqueira ve ark 1993).

İç ve dış ortamda çeşitli enerji formlarındaki uyarılar özelleşmiş hücre yapıları olan reseptörler aracılığıyla elektrik enerjisine çevrilir (Bloom ve Fawcett 1975). Bu elektriksel enerji, nöronların membranlarının iç ve dış yüzeyindeki elektriksel potansiyeli değiştirerek diğer nöronlara aktarılır. Aksiyon potansiyeli veya sinir impulsu denilen bu yayılma, bilgiyi diğer nöronlara, kaslara ve bezlere aktarır (Junqueira ve ark. 1993).

1.2.1.1. Sinir Dokusunun Gelişimi

Embriyonik sürecin erken safhasında notokord gelişirken, ektodermden nörepitelyum oluşumunu uyarır ve sonrasında kalınlaşarak nöral plak oluşur. Nöral Plakın kenarları kalınlaşmaya devam ederek bükülür ve nöral oluğu oluşturur. Bu kenarlardaki kalınlaşma birbirlerine doğru devam ederek nöral tüp (oluk) oluşur (Gartner ve Hiatt 1997). Bu yapı nöronları, glial hücreleri, endim hücrelerini ve koroid pleksus'un epitelium hücrelerini içine alan santral sistemini oluşturur (Junqueira ve ark 1993).

Nöral Plakın lateral kenarlarındaki küçük hücre kütleleri nöral plak kompleksiyle birleşik değillerdir ve nöral kristayı oluştururlar. Gelişimin erken dönemlerinde bu hücre grupları nöral plak gelişiminden öteye göç ederler. Bu hücreler neticede birçok yapıyı oluştururlar (Gartner ve Hiatt 1997). Nöral kristadan köken alan yapılar şunlardır;

1. Adrenal medullanın kromaffin hücreleri
2. Deri ve derialtı dokularındaki melanositler
3. Odontoblastlar(dentin üretiminden sorumlu hücreler)

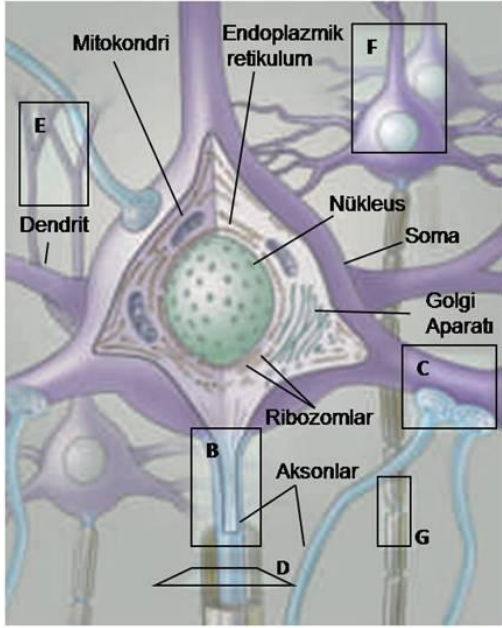
4. Piameter ve araknoid hücreleri
5. Kranial ve spinal duyu ganglionlarının duyu nöronları
6. Sempatik ve parasempatik ganglionların postganglionik nöronları
7. Periferik aksonların Schwann hücreleri
8. Periferik ganglionların Satellit hücreleri (Junqueira ve ark. 1993, Gartner ve Hiatt 1997)

1.2.1.2. Nöronlar

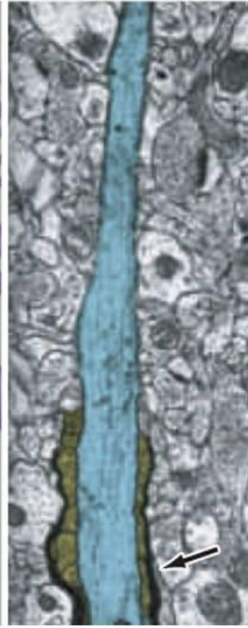
Sinir sisteminin iletişim aktivitelerini gerçekleştiren işlevsel birimine nöron denir (Berne ve ark 2008). Uyarıları almak, iletmek ve iletirmek; belli hücrel aktivite başlatmak; nörotransmitterleri ve diğer bilgi moleküllerini salgılamaktan sorumludur (Junqueira ve ark 1993).

Tipik bir nöron, algılayıcı yüzeyden meydana gelen hücre gövdesi, ya da soma ve nöronun bir diğer nöronla bağlantı noktaları ya da sinapsları oluşturan çok sayıda çalı benzeri dallanması olan dentritten oluşmuştur. Somadan uzanan diğer sinir parçasının adı ise aksondur. Aksonlar diğer nöronlarla ya da efektör hücrelerle sinaptik bağlantıları kurar (Berne ve ark 2008) (Şekil 1).

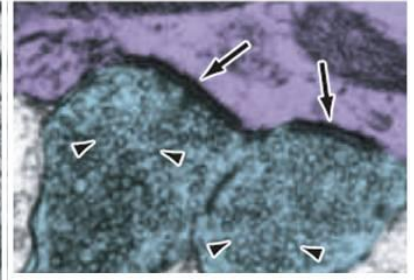
Sinir sistemde nöronlar arası bağlantı, nöral devreler aracılığıyla yapılan iletişim ağı sayesinde sinaptik olarak sağlanmış olur (Berne ve ark. 2008). Sinapslar sinyal iletilsinin kontrolü yönünden üstünlüğü olan bölgelerdir. Bazı sinapslar sinyalleri bir nörondan diğerine kolaylıkla iletirken, bazıları da ancak güçlkle iletir. Bundan başka, sinir sisteminin öteki alanlarından gelen kolaylaştırıcı ya da inhibe edici sinyaller, sinapsları bazen iletiye açarak, bazen de kapatarak kontrol ederler. Dahası bazı postsinaptik nöronlar çok sayıda impulsa cevap verirken, diğerleri ancak bir kaçına cevap verir. Böylece sinapslar çok defa zayıf sinyalleri duraklatıp, kuvvetlilerin geçmesine izin vererek, sıklıkla bazı zayıf sinyalleri seçip büyüterek ve çoğu kez sinyalleri tek bir yöne değil, çeşitli yönlere dağıtarak gönderme faaliyeti gösterirler (Guyton ve Hall 2006).



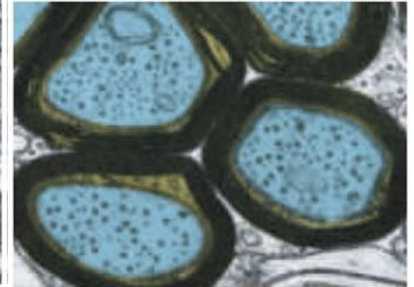
Şekil 1A.



Şekil 1B.



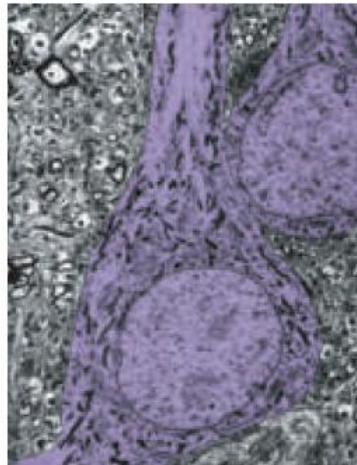
Şekil 1C.



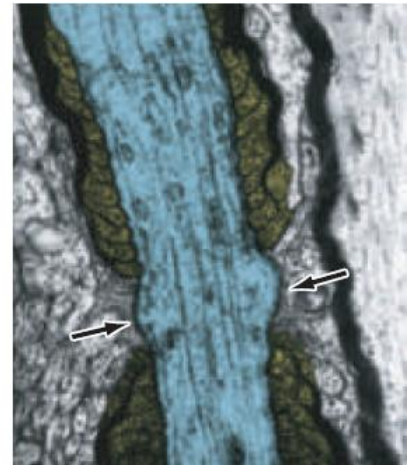
Şekil 1D.



Şekil 1E.



Şekil 1F.



Şekil 1G.

Şekil 1. Sinir hücresi ve yapı elemanları. Şekil 1A. Sinir diyagramı. Şekil 1B. Aksonun başlangıç segmenti (mavi) miyelin tabakasına girişi. Şekil 1C. Sinaptik sonlanma (mavi renkli) ile sinaptik veziküller (ok uçları) dendritlerle (mor renkli) sinaps yaparken (oklarla işaretli). Şekil 1D. Aksonun iletim bölümü (mavi renkli) oligodendrosit gelişimi sayesinde (altın) kılıfla kaplanmıştır. Şekil 1E. Kortikal piramidal hücrelerin apikal dendritleri (mor renkli). Şekil 1F. Sinir hücre gövdesi (mor renkli) büyük yuvarlak çekirdekler tarafından doldurulmuştur. Şekil 1G. Miyelinli akson kısımları (mavi renkli) Ranvier düğümleri olarak bilinen miyelinlerin (mavi renkli) komşu segmentleri arasındaki boşluk. (Purves ve ark 2004)

Ardışık aksiyon potansiyelleri olarak kodlanan nöral aktivite, nöral devrelerine aksonlardan yayılarak ulaşır. Sinaptik iletide presinaptik sonlanmaya ulaşan aksiyon potansiyeli genellikle buradan bir nörotransmitter madde salgılatır. Bu nörotransmitter ya postsinaptik hücreyi bir ya da daha fazla aksiyon potansiyeli oluşturarak uyarır ya da postsinaptik hücrenin aktivitesini inhibe eder. Aksonların tek görevi nöral devrelerde bilgi iletmek olmayıp aynı zamanda aksonal taşınım aracılığı ile kimyasal maddeleri sinaptik terminallere yaklaştırıp uzaklaştırmaktır (Berne ve ark 2008).

Dentritler nöronal hücre gövdesinin uzantısıdır ve diğer nöronlardan gelen uyarıları sinaps adı verilen bağlantı noktalarından alır. Sinapsta presinaptik nöron kimyasal bir mesajcı olan nörotransmitter salgılar ve dentritlerle veya postsinaptik nöronun hücre gövdesiyle veya diğer hücrelerle iletişim kurar (Stanfield ve Germann 2008)

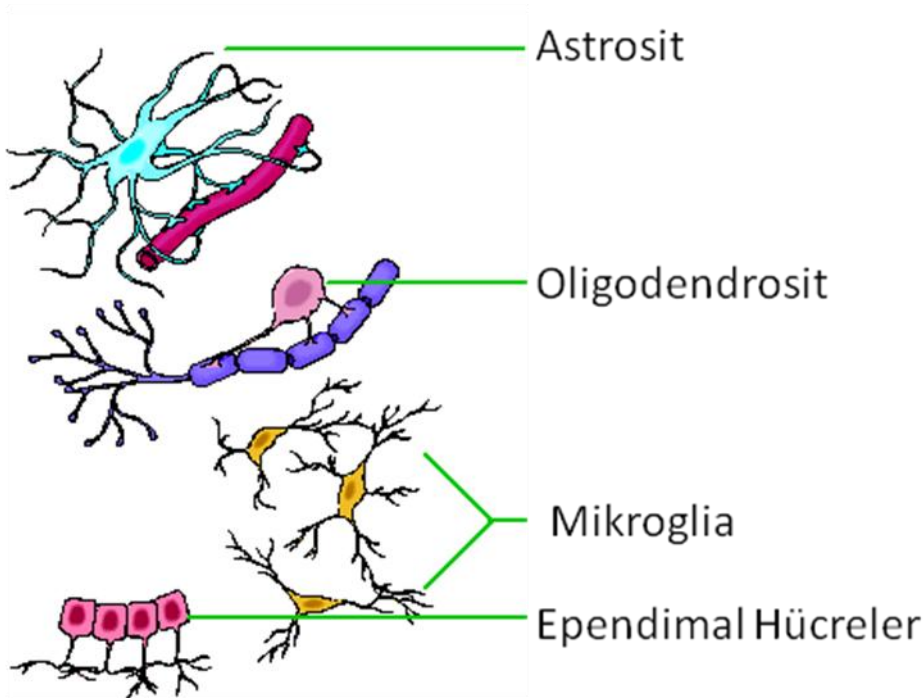
Bir nöronun aksonu somanın (ya da bazı zamanlarda dentritleri) akson sapı denilen özgünleşmiş bölgesinden başlar. Aksonun boyu nöronun tipine göre değişkenlik gösterir. Bazı aksonların boyu dentritler kadar küçük olmakla beraber, bazıları ise bir metreden daha uzun olabilmektedir. Akson yapısını, çoğunluğu hücre iskeleti olmak üzere düz endoplazmik retikulum oluşturmaktadır. Akson sapı ve aksonu, soma ve proksimal dentritlerden ayıran en önemli fark, yapısında kaba endoplazmik retikulum, serbest ribozom ve golgi aygıtının olmamasıdır. Bu nedenle aksonun hücre gövdesinden ayrılması dejenerasyona neden olur (Berne ve ark 2008).

1.2.1.3. Nöroglia

Gliyal hücreler, sinir sisteminde bulunan diğer hücresel elemanları oluşturur ve sayısal olarak sinir sistemindeki hücrelerin %90 ını oluştururlar. Sinyal iletimine direk olarak bir etkisi yoktur, bunun yerine sinir sistemin yapısal olarak entegre olurlar ve nöronların fonksiyonlarını yerine getirebilmeleri için önemlidirler (Stanfield ve Germann 2008).

Nöroglia (Şekil 1.2) sinir sisteminde bilginin kısa süreli iletiminde doğrudan bir katkı olmamakla beraber, bu işlevin gerçekleşmesine yardımcı olmaktadır. Örneğin, nöroglial hücrelerin bazı türleri aksonların etrafını miyelin kılıfı ile kaplaması, aksiyon potansiyelinin akson boyunca yayılmasını hızlandırmaktadır. İleti hızındaki bu artış ile bazı aksonların görece daha uzakta bulunan hücrelerle daha hızlı iletişim kurabilmesi mümkün olabilmektedir. Diğer aksonların ise nörotransmitter moleküllerin biyodejenerasyonu gibi metabolik fonksiyonları bulunmaktadır (Berne ve ark 2008).

Sinir sisteminde beş çeşit glial hücre bulunmaktadır: astrositler, oligodendrositler, endodermal hücreler, mikroglialar ve schwann hücreleridir (Stanfield ve Germann 2008). Nöroglial hücrelerden periferal sinir sisteminde bulunan Schwann hücreleri ve uydu hücreler ile merkezi sinir sistemindeki astrosit ve oligodendroglomalar nöronların aktivitesini destekler. Mikroglia ve endodermal hücreler santral nöroglial hücreler olarak tanımlanmaktadır (Berne ve ark 2008).



Şekil 1.2. Merkezi Sinir Sisteminde Nöroglial Hücreler [1]

Astrositler (şekillerinden dolayı bunlara yıldız hücre astrosit adı verilmiştir) çok sayıda uzun uzantıları olan en büyük nöroglialardır. Çekirdek hücrenin ortasına yerleşik yuvarlak biçimlidir ve kan kapilleri duvarına uzantılarının genişlemiş pedikülleri ile bağlanır (Junqueira ve ark 1993). Nitekim bu hücrelerin uzantıları sinaptik sonlanma gruplarını kaplamakta ve bunları komşu sinapslardan izole etmektedir. Astrositler ayaksı çıkıntıları ile kapillerler ve merkezi sinir sisteminin yüzeyindeki pia mater denilen bağ dokusu ile temas halindedirler. Ayaksı çıkıntılar merkezi sinir sistemine maddelerin serbestçe difüze olmasını engellemeye yardımcı olur. Astrositler K^+ iyonları ile nörotransmitter maddeleri aktif olarak geri alıp metabolize edebilmektedir. Bu özelliği nedeniyle astrositler nöronların hücre dışı ortamındaki iyonlar ile nörotransmitterlerin tamponlanmasını sağlamaktadır (Berne ve ark 2008). Astrositler sinir dokusu için yapısal destek sağlar ve uzantıları merkezi sinir sistemini koruyan kapalı bir bariyer oluşturur. Merkezi sinir sistemi yaralanmalarında, astrositler bir tip yara (scar) dokusu oluşturmak üzere yaranın etrafında çoğalırlar (Junqueira ve ark 1993).

Aksonlar kılıfını kaybedip soyulabilir. Pekçok akson glial hücre zarının spiral çok katlı paketlenmesi ile oluşan miyelin kılıf ile kaplıdır. Miyelin kılıfının olmadığı miyelinsiz aksonlar, periferik sinir sisteminde Schwann hücreleri ile kaplanmıştır. Merkezi sinir sisteminde miyelinli aksonlar oligodendroglia zarları tarafından sarılırken miyelinli olmayan aksonlar çıplaktır (Berne ve ark 2008).

Miyelin aksiyon potansiyeli iletim hızını, aksiyon potansiyeli sırasında oluşan iyonik akımı sadece ranvier düğümleri ile sınırlandırarak hızlandırır (akson üstündeki, kılıfı oluşturan hücreler arasındaki miyelinsiz kısım). Bunun sonucunda sinir uyarılarının düğümden düğüme atlaması ile karakterize zıplayıcı tarzda (saltatorik) ileti meydana gelir (Berne ve ark 2008).

1.2.1.4. Uydu Hücreler

Uydu hücreler dorsal kök ve kranial sinir ganglion hücrelerini sararak bu hücrelerin mikro çerçevesini astrositlerin yaptığı şekilde düzenler (Berne ve ark 2008).

1.2.1.5. Mikroglialar

Mikroglialar sessiz fagositlerdir. Merkezi sinir sisteminde bir hasarın ortaya çıkması durumunda, zedelenmeye bağlı olarak ortaya çıkan hücresel atıkları ortamdaki uzaklaştırır. Bu işlevlerinde mikroglialara nöroglialar ve merkezi sinir sistemine dolaşımdan gelen diğer fagositik hücreler yardım eder (Berne ve ark 2008).

1.2.1.6. Ependimal Hücreler

Ependimal hücreler merkezi sinir sistemini ventriküllerdeki beyin omurilik sıvısından(BOS) ayıran epitelyum tabakadır. Ependimal tabakayı aşan pek çok madde, beyin hücre dışı boşluğu ile beyin omurilik sıvısı arasında rahatlıkla hareket edebilmektedir. Beyin omurilik sıvısı ventriküler sistemde lokalize olan koroid pleksusun özelleşmiş ependimal hücreleri tarafından salgılanmaktadır (Berne ve ark 2008).

1.2.1.7. Sinir Dokusunun Yaralanmalara Verdiği Yanıt

Sinir dokusunun yaralanmasından sonra ortaya çıkan yanıtın nöron ve nöroglialar sorumludur. Ağır yaralanmalar hücre ölümüne neden olur. Sinir hücresinin kaybı durumunda, nöronlar postmitotik hücre olduklarından yenilenemezler (Berne ve ark 2008).

1.2.1.7.1. Sinir Dejenerasyonu

Travmatik bir olay nöronları hasarladığında veya aksonlarda bir kesi oluştuğunda, nöronlar tekrar eski yerlerini alamazlar. Çünkü nöronlar çoğalamazlar ve bu nedenle merkezi sinir sistemindeki hasarlar kalıcıdır (Gartner ve Hiatt 1997). Aksonun yeni protein

sentezleyememesi nedeniyle kesinin distalindeki akson ölür. Birkaç gün içinde akson ve beraberindeki sinaptik sonlanmanın tümü parçalanır. Miyelinli olan aksonlarda, miyelin kılıfı parçalara ayrılır ve sonrasında da fagosite edilerek ortamdan uzaklaştırılır (Berne ve ark 2008). Ancak periferik sinir liflerinde bir yaralanma veya kopma olduğunda nöron hasarı onarmaya çalışır (Gartner ve Hiatt 1997). Çünkü periferik sinir sistemindeki miyelin kılıfını oluşturan Schwann hücreleri canlı kalır ve bu hücreler bölünebilir. Bu aşamaların tümüne, sırasıyla ilk kez Waller tarafından tanımlandığından, wallerian dejenerasyonu ismi verilir. Nöronun tek yada en önemli sinaptik girdisinden aksonun sorumlu olduğu durumlarda, efektör hücrenin kesintiye uğradığı koşullarda, postsinaptik hücrelerde transnöronal dejenerasyon görülür ve bu süreç hücre ölümüne kadar gidebilir. Bu konuyla ilgili en iyi bilinen örnek, iskelet kas liflerinde görülen ve motor nöron innervasyonunun kesilmesinden sonra oluşan atrofidir (Berne ve ark 2008).

1.2.1.7.2. Sinir Rejenerasyonu

Aksonunu hasarlanma sonrası kaybeden nöron, yeni aksonlar rejenere edebilir. Hasarlanmış aksonun proksimalindeki gövdesinden filizler gelişir. Periferik sinir sisteminde uzamaya başlar ve yolağını bulduğu durumlara orijinal sinirin yolunu takip ederek büyür. Sinirin distal kısmında bulunan Schwann hücreleri wallerian dejenerasyonu sırasında canlı kalmanın yanında başkalaşarak önceki aksone ait yolun belirlenmesinde de rol alır. Filizlenen aksonun büyüyen kronik yapıları sıralanmış Schwann hücreleri arasından yolunu bulur ve sonunda da esas periferik hedef yapıyı yeniden innerve edebilir. Schwann hücreleri aksonu daha sonra tekrar miyelinle kaplar (Berne ve ark 2008). Miyelin tabakanın kalınlığı Schwann hücrelerinin etkileşim içinde olduğu aksondaki nöroglin seviyesiyle düzenlenerek aksonun çapını belirler ve akson çapı sinir ileti hızı ile doğru orantılıdır. Diğer bir deyişle akson çapı arttıkça sinir uyarılarının iletimi de artar (Michailov ve ark 2004, Willem ve ark 2006). Rejenerasyon hızı, yavaş aksonal taşınım hızı tarafından belirlenir ve 1mm/gündür (Berne ve ark 2008).

Merkezi sinir sisteminde de kesilen aksonlarda filizlenme olur. Ancak oligodendroglialar filizlerin takip edeceği yolu oluşturmadıklarından, bu filizlerin

izleyeceği yolak belli olmaz ve büyüyemez. Bu sınırlı büyümenin nedeni ise periferde tek bir Schwann hücresi tek bir aksonun miyelinizasyonunu sağlarken, santralde tek bir oligodendroglial hücrenin pek çok santral aksonu miyelinize etmesidir. Farklı olarak santral ve periferel rejenerasyon değişik kimyasal sinyallerle yönlendirilebilir. Diğer bir engel ise astrositler tarafından skar dokusunun oluşturulmasıdır (Berne ve ark 2008).

1.2.1.7.3. Tropik Faktörler

Tropik faktör büyümeyi uyaran maddelerin idamesi ve hücrelerin hayatiyetinin devam ettirilmesi olarak tanımlanabilir. Sadece Schwann hücrelerini etkileyen bir yara dolaylı olarak aksonal dejenerasyona neden olmakta ve bu aksonal bozulma Schwann hücrelerinin biyolojisinde değişime neden olduğu ve erişkin sinir sistem dokularının özelliklerini ve fonksiyonlarını korumada bu hücre tipleri arasındaki iletişimde karmaşa olduğu bildirilmektedir (Aquino 2007).

Akson büyümesi ve sinaptik bağlantıların korunmasından sorumlu değişik sayıda proteinin varlığı bilinmektedir. Bunlar içinde en ayrıntılı çalışılmış olan ise sinir büyüme faktörüdür (NGF). NGF ile ilgili ilk çalışmalarda, aralarında küçük dorsal kök ganglion hücreleri ile otonomik postganglionik nöronlarında bulunduğu nöral tepecikten kaynaklanan çok sayıda nöronun yapısının korunması ve büyümesinden sorumlu olduğu düşünülmüştür. Ancak günümüzde Merkezi sinir sistemindeki bazı nöronları da etkilediği bilinmektedir (Berne ve ark 2008). NGF'nin ana etkisi nöral kristadan köken alan sinir hücreleri üzerinedir. Sempatik sinir sistemindeki nöronlar NGF'ye özellikle bağlıdır. Eğer anti-NGF antibadileri yeni doğan bir fareye enjekte edilirse sempatik sinir lifleri kısmi olarak hasarlanırlar. İmmünolojik olarak da NGF'nin sempatik liflerde varlığı gösterilmiştir (Smith 2002).

Aralarında beyin kaynaklı büyüme faktörü, nörotropin 3, nörotropin 4, nörotropin 5 ve silier nörotropik faktöründe olduğu farklı büyüme faktörleri de tanımlanmıştır. Bu faktörlerden bazıları dorsal kök ganglion hücreleri ile motor nöronların büyümesini etkilemektedir. Büyük bir olasılıkla farklı ajanlara etki edebilen büyüme faktörü, periferel

ve santral sinir sistemindeki nöronların korunup büyümesini sağlamaktadır (Berne ve ark 2008).

Hedef hücreler tarafından salgılanan NGF, Hedef hücrenin sinaps yaptığı nörondaki özgün reseptöre bağlanır. Reseptöre bağlanan NGF hücre içine alınır ve NGF retrograd olarak somaya taşınır. NGF nükleusu doğrudan etkileyerek nörotransmitter sentezinden sorumlu enzimlerin yapılışını ve aksonal büyümeyi düzenleyebilir. NGF reseptörünün düşük affiniteli tipi ile yüksek affiniteli trozin kinaz reseptör TRK_A 'dan oluşan iki türü vardır. Diğer nörotrafik faktörlerde aynı düşük affiniteli reseptör ile yüksek affiniteli trozin kinaz reseptörü TRK_B ve TRK_C ' ye bağlanır (Berne ve ark 2008).

1.2.2. Sinir İmpulsu Oluşumu ve İletimi

Sinir impulsu membran depolarizasyonu sonucu nöronda oluşan elektriksel sinyaldir ve akson boyunca akson terminaline doğru devam eder. İmpulsun nöronların terminallerinden diğer nöronlara, kas hücrelerine veya bezlere ulaşımı sinapslarda meydana gelmektedir (Gartner ve Hiatt 1997).

Nöronlar ve diğer hücreler yaklaşık plazma membranında , -70 mV dinlenme potansiyelinde elektriksel olarak polarizedir. Kalın sinir liflerinin membran potansiyeli, sinir sinyallerinin iletilmediği istirahat durumunda, yaklaşık -90 mV'tur. Bu lifin içindeki potansiyelin lifin dışında, ekstrasellular sıvıdaki potansiyele göre 90 mV daha negatif olduğunu göstermektedir (Guyton ve Hall 2006). Bu potansiyel hücrenin içi ve dışı arasındaki iyon konsantrasyonu farklılığı nedeniyle yükselir. Memeli hücrelerinde K^+ iyonu konsantrasyonu hücre içinde hücre dışına göre daha yüksektir fakat Na^+ ve Cl^- iyonları konsantrasyonu hücre dışında hücre içine göre daha fazladır (Gartner ve Hiatt 1997). İyon gradientlerinin membran dinlenme potansiyelini (E_m) oluştururken nasıl rol oynadığı basit matematik bir model ile gösterilmektedir. Bir hücrenin plazma membranının iki tarafı arasında K^+ , Na^+ , Cl^- iyonlarının dağılımı dikkate alındığında aşağıdaki denklem, membranın iki tarafı arasındaki transmembran potansiyel farkını öngörmektedir:

$$E_m = \frac{g_K}{\Sigma g} E_K + \frac{g_{Na}}{\Sigma g} E_{Na} + \frac{g_{Cl}}{\Sigma g} E_{Cl}$$

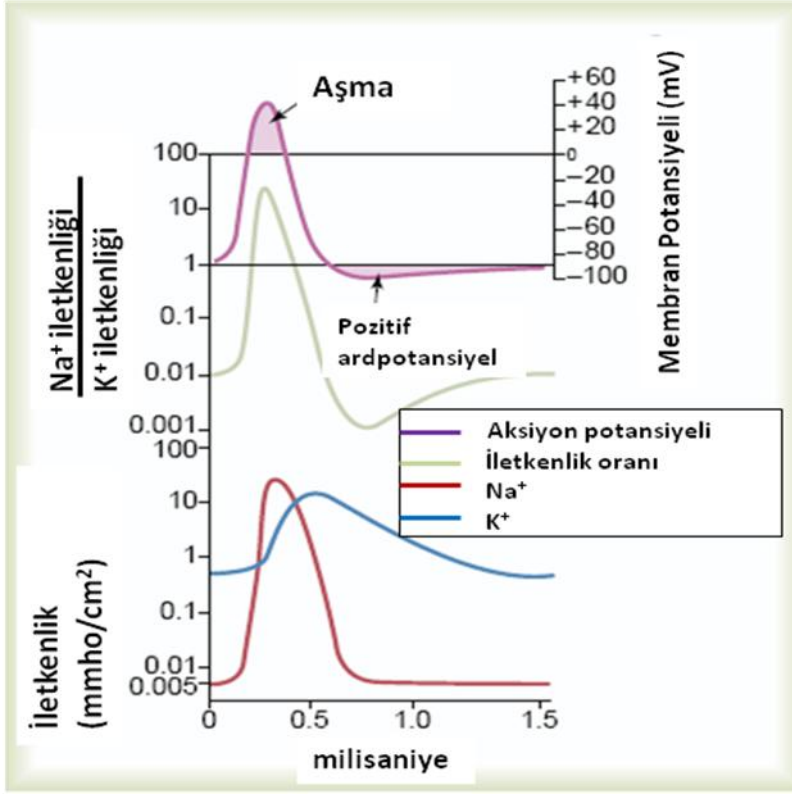
$$\Sigma g = (g_K + g_{Na} + g_{Cl})$$

burada

g , alt simgeyle belirtilen iyonun karşı zar iletkenliğini, E , alt simge ile belirtilen iyonun denge potansiyelini gösterir. İletkenlik direncin tersidir ($g=1/R$). Membran bir iyonun ne kadar geçirgen olursa membranın o iyonun karşı gösterdiği iletkenlik o kadar büyük olur (Berne ve ark 2008).

Plazmalemmadaki K^+ sızıntı kanalları K^+ iyonlarının konsantrasyon gradientine bağlı olarak hücre dışına serbest akışına izin vermektedir. Dinlenme durumunda bazı Na^+ ve Cl^- kanalları açık bulunması nedeniyle bazı Na^+ ve Cl^- iyonları hücre içine girerken daha fazla sayıda K^+ iyonu hücre dışına çıkmaktadır. Bu nedenle küçük net pozitif yük plazma membranının dışında birikir. Primer olarak K^+ sızıntı kanallarına bağlı olan dinlenme potansiyeli döneminde bile plazma membranındaki Na^+-K^+ pompası, Na^+ iyonunun hücre dışına K^+ iyonunun da hücre içine aktif olarak pompalanmasına yardım etmektedir. Bu aktif pompalamada her 3 Na^+ iyonunun hücre dışına atılmasına karşılık 2 K^+ iyonu hücre içine alınmaktadır. Birçok hücrenin plazma membranının potansiyeli genellikle sabittir. Diğer taraftan nöronlar ve kas hücrelerinin membran potansiyeli kontrollü değişimlere uğrayabilir buda elektriksel sinyalleri iletme kapasitesine sahip olmasına neden olur (Gartner ve Hiatt 1997).

Dinlenme durumunda membranın K^+ iyonlarına iletkenliği Na^+ iyonları iletkenliğine göre 50-100 defa daha büyük olduğu görülmektedir (Şekil 1.3). Bu sızma kanallarından K^+ iyonlarının sızıntısının Na^+ iyonlarına göre daha fazla olmasının sonucudur. Halbuki aksiyon potansiyeli başladığında, Na^+ kanalları ani olarak aktif olup Na^+ iletkenliğini 5000 kat artırır (Guyton ve Hall 2006).



Şekil 1.3. Aksiyon potansiyeli sürecinde sodyum ve potasyum iletkenliğindeki değişiklikler (Guyton ve Hall 2006).

Aksiyon potansiyeli plazma membran iletkenliğinin Na^+ ve K^+ iyonlarına karşı ardışık olarak artmasıyla oluşur. Bir nöronun uyarılmasıyla membranın küçük bir bölgesinde voltaj kapılı Na^+ kanalları açılır ve Na^+ iyonları hücre içine girmeye başlar (Şekil 1.3). Aksiyon potansiyeli pik yaptığı zaman Na^+ iletkenliği de yaklaşık aynı anda pik yapar ve daha sonra hızla azalır (Berne ve ark 2008). Sonuçta hücre içindeki Na^+ iyonları oldukça artar ve dinlenme durumunun tersi bir durum ortaya çıkmış olur (hücre içi dışına göre pozitif olur) ve bu duruma membranın depolarizasyonu denir. Sonra Na^+ kanalları 1-2 milisaniye kapalı kalır. Na^+ kanallarının kapalı kaldığı bu döneme refraktör periyot (refraktör dönem) denir ve kapanan kanallar inaktif hale gelirler. Bu periyot sırasında voltaj kapılı K^+ kanalları açılarak K^+ iyonlarının ekstrasellular sıvıya geçişine izin verir. K^+ iyonları geçişinde küçük bir hiperpolarize dönem olsa da sonunda dinlenme membran potansiyeline geri dönülür ve voltaj kapılı K^+ kanalları kapanarak refraktör periyot son bulur (Gartner ve Hiatt 1997).

Aksiyon potansiyelinin ilk bölümünde Na^+ iletkenliğinin K^+ iletkenliğine oranı bin kattan fazla artar. Bu nedenle, K^+ iyonlarının dışarı akışından çok Na^+ iyonu hücreye girer. Bu membran potansiyelini pozitif yapar, daha sonra Na^+ kanalları kapanırken potasyum kanalları açılır. İletkenlik oranı, K^+ iletkenliği için artarken Na^+ iletkenliği için azalır. Bu K^+ iyonlarının çok hızlı kaybına neden olur. Bu sırada içeriye Na^+ akışı yoktur. Sonuç olarak aksiyon potansiyeli hızla başlangıç noktasına geri döner (Guyton ve Hall 2006).

Membran depolarizasyonu, repolarizasyon, hiperpolarizasyon ve dinlenme membran potansiyelinin oluşturduğu döngüye aksiyon potansiyeli denir. Saniyede 1000 uyarı şiddeti oranında hep ya da hiç cevabı oluşabilmektedir. Membran depolarizasyonu aksonun bir noktasında voltaj kapılı Na^+ kanallarının açılmasıyla oluşur ve akson boyunca kısa mesafelerde pasif olarak yayılırken komşu kanalların açılmasıyla tetiklenerek sonraki aksiyon potansiyelinin oluşmasını sağlar. Bu defa depolarizasyon dalgası veya uyarı akson boyunca iletilir. Vücutta, bir uyarı ilk depolarizasyon noktasından akson terminaline doğru sadece bir yönde iletilir. Refraktör periyot sırasında kapalı Na^+ kanallarının inaktivasyonu depolarizasyon dalgasının geriye doğru yayılımını önlemektedir (Gartner ve Hiatt 1997).

1.2.3. Multipl Skleroz

Multipl skleroz, merkezi sinir sisteminde miyelin yıkımını içeren, periferik sinir sistemini de etkileyebilen bir bozukluktur. Demiyelizasyon bozuklukları sonradan edinilen bir rahatsızlıktır ve aksonları nispeten koruyan miyelinlerin dejenerasyonu ile ortaya çıkmaktadır (Huether ve McCance 2004). Hastalığın doğal seyri miyelin kaybı gösteren plakların beyindeki sayı ve dağılımına göre farklılık gösterir. Bazı hastalarda hafif derecede bozukluk gösterip sadece birkaç atakla seyrederken, bazılarında haftalar ve aylar içinde ölüme varan acımasız bir gidiş gösterir (Kumar ve ark 1995). Merkezi sinir sisteminde miyelinizan bozukluklar primer ve sekonder olmak üzere alt sınıflara ayrılmıştır. Multipl skleroz ve onun varyasyonları primer kategoride yer almaktadır. İkinci kategoride ise multipl skleroz haricindeki demiyelinizan bozukluklar gelmektedir. MS vakaları genelde 20 ile 50 yaşları arasında ortaya çıkmaktadır. Erkek / kadın oranı yaklaşık $\frac{1}{2}$ dir. MS merkezi sinir sistemi demiyelinizan hastalıklarının en yaygınıdır ve yetişkinliğin

erken döneminde nörolojik sakatlanmalara bağı olarak ortaya çıkmaktadır (Huether ve McCance 2004). Entelektüel gerileme genellikle erken devrede görülmez. Hastalık ilerledikçe remisyona daha eksik olur. Bütün hastalarda maluliyet tam olarak ortaya çıkmasa da, son evrede sıklıkla beyin ve omurilikte yaygın demiyelinizasyona bağı olarak sallanarak yürüyüş, idrar ve gaita tutamama ve felç görülür. Henüz bilinen etkili bir tedavisi yoktur. Bununla beraber ataklar esnasında sık kullanılan ACTH ve arasıra kullanılan diğere immün baskılayıcı ilaçlar biraz yarar sağlarlar (Kumar ve ark 1995). Hastalık ekvatorlardan uzak bölgelerde yaygın olarak görülmektedir. Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada da görülme sıklığı 100 000 kişide 30 ile 80 kişi arasındadır. MS bütün ırklarda görülmesine rağmen beyaz ırkta daha yaygındır. Hastalığın kalıtsallığına dair herhangi bir açıklama olmamasına rağmen, MS'li hastaların %15'inde akrabalık etkisi görülmüştür (Huether ve McCance 2004). Asyalı ve Afrikalı şahıslar ile Amerikalı yerlilerde multipl skleroz önemli ölçüde seyrekdir. Göçmenler üzerinde yapılan çalışmalarda; hastalığın sık görüldüğü bölgelerden seyrek görülen tropikal bölgelere göçenlerde veya ters yönde göçenlerde şayet 15 yaşından sonra taşınmışlarsa hastalık riskinin doğum yerlerindeki riske benzer olduğu, ancak çocuk olarak yer değiştirme durumunda ise riskin yeni memlekete adapte olduğu görülmüştür (Kumar ve ark 1995).

1.2.3.1. Patofizyoloji

MS, sinir sisteminin viral saldırıya uğradığı zaman genetik olarak duyarlı kişilerde merkezi sinir sisteminde sonradan görülen normal olmayan immün cevapla ortaya çıkmaktadır. T hücreleri tek miyelin proteinine otreaktif olmaya başlar. Demiyelinizasyon, sürecin patolojik modelinin ana bileşenidir (Huether ve McCance 2004). Tanımlandığı üzere multipl sklerozda demiyelinizasyon, lezyon içine ilerleyen lenfositik infiltrasyonla karakterlidir. Lenfositler T4 (yardımcı) ve T8 (supressör) hücrelerden ibarettir. Bazı hastalarda supressör hücre sayısındaki ani düşmeler, klinik semptomların alevlenmesine eşlik eder (Kumar ve ark 1995). Bu sürecin patolojik özellikleri sistemik immün sistemi ve merkezi sinir sisteminde ve beyaz madde de demiyelinizan lezyonlar (plaklar ve yaygın lezyonlar) arasında oluşmaktadır (Huether ve McCance 2004). Beyin ve medulla spinalisin dış görünüşü çoğunlukla normaldir.

Kesitlerde plak denilen, çok sayıda, düzensiz şekilli, keskin sınırlı demiyelinizasyon sahaları görülür. Görünümleri lezyonun yaşına bağlı olarak değişir. Başlangıçta hafif pembe ve şişmiştir. Gri ve beyaz cevherde ortaya çıkabilir. Çapça zor seçilebilenlerden santimetrelerce çapta olanlara kadar değişkenlik gösterirler. Seyrek olarak çok az sayıda veya beyin ve medulla spinalisin büyük bir kısmını tutabilir. Ventrikül köşelerinde yerleşme eğilimi göstermeleriyle beraber santral sinir sisteminde herhangi bir yerde görülebilirler (Kumar ve ark 1995).

Akut dönemdeki plak oluşumu plakların içinde ve etrafında inflamator ödem ile perivenular demiyelizasyon ve kısmi demiyelinizasyon oluşumuyla karakterizedir. Semptomlar genellikle olayın başlamasının erken dönemlerinden haftalar sonra kısmi veya tamamen hafifler (Huether ve McCance 2004). Mikroskopik olarak, erken devrede miyelin kaybı küçük venler ve venüller çevresinde görülür. Bu damarlar çevresinde mononükleer hücreler ve lenfositler vardır. Demyelinizasyon arttıkça bu perivenüler odak genişleyerek makroskopik olarak görünür bir plak haline gelir (Kumar ve ark 1995).

Demyelinizasyon ve plak oluşumunun kronik döneminde gliosis (glial yaralar ile aksonlarda dejenerasyon) ile karakterizedir. Gitgide artan fonksiyon kayıpları genellikle 20 yaş ve üzerinde kalıcı sorunlara neden olabilmektedir (Huether ve McCance 2004). Aktif olarak genişleyen plaklar içinde demiyelizan alanlarla normal doku arasındaki sınırdaki lenfositik iltihabi infiltrasyon vardır. Plakta oligodentrositler kaybolmuştur. Fakat belirgin cevap özelliğinde astrositoz ve çok sayıda nötral lipid yüklü makrofajlar görülür. Plaklar boyunca seyreden aksonlar belirgin şekilde azalmıştır. Eski aktif olmayan plakların keskin sınırları vardır. Bunlarda ağır miyelin kaybı, oligodendrositlerin ileri ölçüde kaybı veya yokluğu ile dağınık fibriller astrositler görülür. Aksonlar rölatif olarak korunmuş olsalar da sıklıkla biraz kayıp söz konusudur (Kumar ve ark 1995).

Teşhis için MS'de plakların oluşumu göz önünde bulundurulmasına rağmen yaygın lezyonlar aktif olarak ilerleyen vakaların patolojik bulgularında geneldir. Bu lezyonlar bazen normal beyin dokusunun etrafını saran ödemlerle birlikte bulunmaktadır. Plaklarla yaygın lezyonlar arasında ilişki bilinmemektedir (Huether ve McCance 2004).

1.2.4. Deneysel Multipl Skleroz Modelleri

Multipl Skleroz üzerine çalışan araştırmacıların büyük çoğunluğu demiyelinizasyonun tetiklenmesindeki erken dönem ve takibindeki remiyelinizasyon üzerine odaklanmışlardır (Rodriguez 2007) ve neticesinde deneysel çalışmalar için MS modelleri oluşturulmuştur. Torkildson ve ark (2008) ve Rodriguez (2007) tarafından önerilen bu modeller şöyle sıralanabilir;

1. Deneysel Otoimmün Ensefalomyelit (DOE):

DOE'de miyelin antijen ile immunizasyon veya myelin spesifik T-lenfositlerinin pasif transferinin indüklemesiyle merkezi sinir sisteminde inflamasyona bağlı demiyelinizasyon oluşur (Rodriguez 2007). Deneyler ilk önce maymunlar üzerinde denenmiş daha sonra içinde fare ve sıçanların da bulunduğu birçok türde deneme yapılarak geniş bir immünogenetik, histopatolojik ve terapatik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Histopatoloji ve hastalığın klinik bulguları hayvanların genetik geçmişine, antijenik materyal kaynağına ve antijenin uygulama şekline bağlı olarak değişmektedir. Bugün en genel DOE formları:

- a. miyelin oligodendrosit protein veya proteolipid proteinden oluşan ensafolitogenik peptitin subkutan enjeksiyonu ile aktif DOE oluşturması.
- b. miyelin reaktif CD4⁺ Th1 lenfositlerinin hayvanlara intravenöz olarak enjeksiyonu ile adaptif transfer DOE (AT-DOE) oluşturulması (Mix ve ark 2008).

2. Virüs-indükleme Modeli (Theiler Virüsü, mürin hepatit virüsü):

Theiler virüs-indüklemesiyle oluşan ensefalitte, fareler nörotropik picornavirüs Theiler mürin ensefalomyelit virüs (TMEV) ile enfekte edilirler ve ilerleyen CD4(+) T-hücrelerinin aracılığıyla demiyelinizan hastalık oluşmaktadır (Torkildson ve ark. 2008). Theiler virüs demiyelinizasyon yapabilmesi için merkezi sinir sisteminin sürekli enfekte edecek şekilde yerleşmelidir. Multijenik kontrol altında virüslere dayanıklı ve demiyelinizasyona hassas fare ırklarında birçok çalışma yayınlanmıştır. Theiler virüsün immün tanınması demiyelinizasyona duyarlılığı doku uyuşma kompleksi sınıf I genleri ve T hücre reseptör genleri aracılığıyla olmaktadır (Welsh ve ark 2009).

3. Demyelinizasyonun toksik modeli (Lizolesitin, Etidiyum bromid, Cuprizon): Lizolesitin veya etidiyum bromidin neden olduğu akut lokal demiyelinizasyon modelinde merkezi sinir sisteminde hızlı remiyelinizasyonun olduğunu göstermiştir (Morell ve ark. 1998). Cuprizon modeli toksik demiyelinizan modelidir ve deney hayvanlarının cuprizon ile beslenmelerine dayanmaktadır (Torkildson ve ark. 2008).

1.2.4.1. Cuprizon Modeli

Cuprizon modeli toksik bir demiyelinizasyon modelidir. Bu modelde genç olgun fareler cuprizon (bis-siklo-hegzanon oksaldehidrazon) ile beslenir. Bu da kalıcı demiyelinizasyona neden olmaktadır (Matsushima ve Morell, 2001, Torkildsen ve ark, 2008). Nörotoksinin kesilmesinden 4 gün sonra remiyelinizasyon kendiliğinden oluşmaya başlar ve bu nedenle cuprizon modeli demiyelinizasyonu sağlamak ve remiyelinizasyonu gözlemek için iyi bir çalışma modelidir (Torkildsen ve ark 2008). Cuprizon ile demiyelinizasyon oluşumu, kolayca izlenebilen, oligodendrositler haricinde hiçbir hücreye zarar vermeyen güzel bir modeldir (Ludwin ve ark, 1994). Cuprizon modeli ilk defa Swiss farelerinde gerçekleştirilmiş olmasına rağmen son zamanlarda en çok C57BL/6 soyuna ait farelerle yapılan deneylerle ilgili yayınlar mevcuttur. Bu soy başka soylar tarafından melezlenmemiş olduğundan genetik ve fenotip olarak düzgün dağılım gösterir ve bu nedenle de çalışmalarda en çok tercih edilen soydur (Torkildsen ve ark 2008).

Cuprizon uygulamasının spesifik olarak oligodendrositlerin ölümüne neden olması tam olarak açıklanamamakla birlikte cuprizonun bakır şelat olmasından dolayı bakıra bağlı mitokondrial enzimleri sitokrom oksidaz ve monoamine oksidazı inhibe ettiği düşünülmektedir (Torkildsen ve ark 2008). Bakır, bakır-çinko süperoksit dismutas ve seruloplasmin dahil birçok metaloenzim için temel elementtir. Bakırın bağlanması ispatlanmamasına rağmen patolojide gözlendiği kabul edilmektedir. Cuprizon ile beslenme bakır eksikliği ve Merkezi Sinir Sisteminde demiyelinizasyona neden olmaktadır. Bu demiyelinizasyon erken gözlemlenebilen bir olaydır ve merkezi sinir sisteminde oligodendrositler hariç diğer hücrelerde herhangi bir zararı bulunmamaktadır. Karaciğerde megamitokondria da büyüme veya kümelenme oluşmasına rağmen bu konuda biraz sert

tartışmalarda olmuştur (Matsushima ve Morell 2001). Karaciğer mitokondrilerinde bu değişim oksidatif fosforilasyondaki önemli bileşenlerin aktivite eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Bakır sitokrom oksidazda elektron taşıma işinde gerekmektedir (Suziki ve Kikkawa 1969). Venturini (1973)'ye göre cuprizon uygulaması, mitokondrial enzimlerden monamine oksidazda olduğu gibi beyin aktivitesinde sitokrom oksidaza bağlı düşüklüğe neden olmaktadır. Beyin bakır seviyesi de düşmektedir. Bu ve diğer anormallikler, hayvanlara uygulanmadan önce cuprizon bakır şelatlanmışsa görülmemektedir. Bu nedenle hayvanlara cuprizon doz ayarı, bakırın bağlanmasına bağlı olarak patolojik sonuçlara göre yapılır (Matsushima ve Morell 2001). Bu hipoteze karşı Carlton (1967) bakır uygulanması ile cuprizon bağlı toksisitenin düşmesine ait bir durum gözlemlenmiştir.(Matsushima ve Morell 2001, Torkildsen ve ark 2008).

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Gereç

Araştırmada toplam 44 adet 1 yaşında 350 ± 8 gr. erkek Wistar Albino türü sıçan kullanıldı. Sıçanlar Adnan Menderes Üniversitesi Deneysel Hayvanları Ünitesinden sağlandı. Çalışma süresince sıçanlar $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ çevre sıcaklığı ve 12/12 saat aydınlık /karanlık siklusunun sağlandığı bir odada kafeslerde barındırıldı. Sıçanlar Best Yem (Gebze) tarafından üretilen pelet formdaki fare-sıçan yetiştirme yemi ile beslendi. Yem ve su erişimi serbest bırakıldı. Deneysel sonunda hayvanlar servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi. Bu çalışmadaki deneysel prosedürleri Adnan Menderes Üniversitesi Deneysel Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Hayvanlara Uygulanan Cuprizon Dozunun Hesaplanması

Literatürde sıçanlarda MS oluşturmak için çeşitli cuprizon dozları önerilmektedir. Cuprizon uygulaması hayvanların standart yemine % 0.5, %1, %2 oranlarında karıştırılmak suretiyle yapılmaktadır (Love 1988). Bu çalışmada ortalama doz olan %1 cuprizon uygulaması tercih edildi. Bu çalışmada cuprizon uygulaması cuprizonun hayvanların günlük yemine karıştırmak yerine ağızdan gavajla vermek suretiyle gerçekleştirildi. Bunun için her hayvana kilosuna orantılı olarak ağızdan gavajla verilmesi gereken cuprizon miktarları hesaplandı. Bunu yapmak için önce sıçanların günlük ortalama yem tüketimlerini hesapladı. Elde ettiğimiz günlük yem tüketim miktarının %1'ine karşılık gelen miktarda cuprizonu ağızdan gavajla verdi. Hayvanların canlı ağırlık başına günlük

yem tüketimlerini 69 ± 3 gr/kg olarak hesaplandı. Bunun % 1'i olan $0,69 \pm 3$ gr/kg cuprizon miktarı hayvanların canlı ağırlık başına günlük cuprizon dozuna karşılık gelmektedir.

2.2.2. Sıçanlara Cuprizon Uygulanması

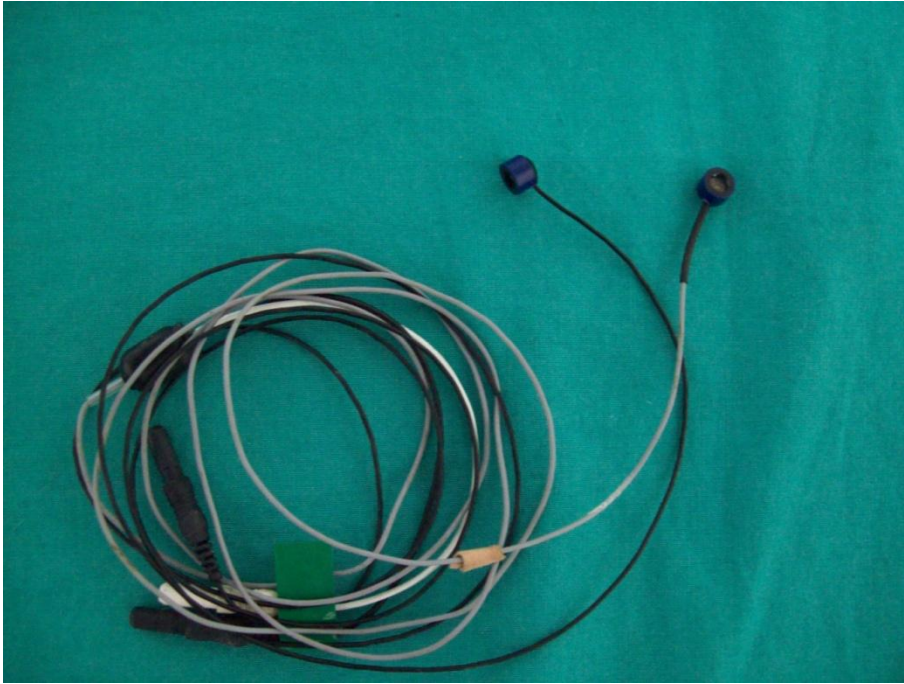
Sıçanlar kendi aralarında rastgele 6 gruba ayrıldı. Cuprizon daha önceden hazırlanmış olan %1 lik dolgu maddesi Karboksi-metil-seluloz (KMS) çözeltisi içerisinde hazırlandıktan sonra ağızdan gavajla her gün, her gruba değişik sürelerde olacak şekilde uygulandı (Tablo 2.1). KMS-cuprizon karışımı gavaj uygulamasından hemen önce hazırlanıp tüketildi. KMS stok solüsyonu ise haftalık olarak hazırlandı. Bunun için KMS saf su ile %1'lik derişimde hazırlandıktan sonra +4 °C de saklandı. Gavaj yapılacak hayvanların kilosunda %20 ve üzeri düşüş olduğunda cuprizon uygulamasına ara verildi. Kilosu normal aralığa ulaşan deneklerin cuprizon uygulamasına tekrar başlandı. Cuprizon KMS ile herhangi bir tepkimeye girmeyen bir maddedir ve KMS içinde cuprizon ilave edildikten sonra vorteks te karıştırıldı ve homojen bir KMS-cuprizon süspansiyonu elde edildi.

Tablo 2.1. Deney Grupları

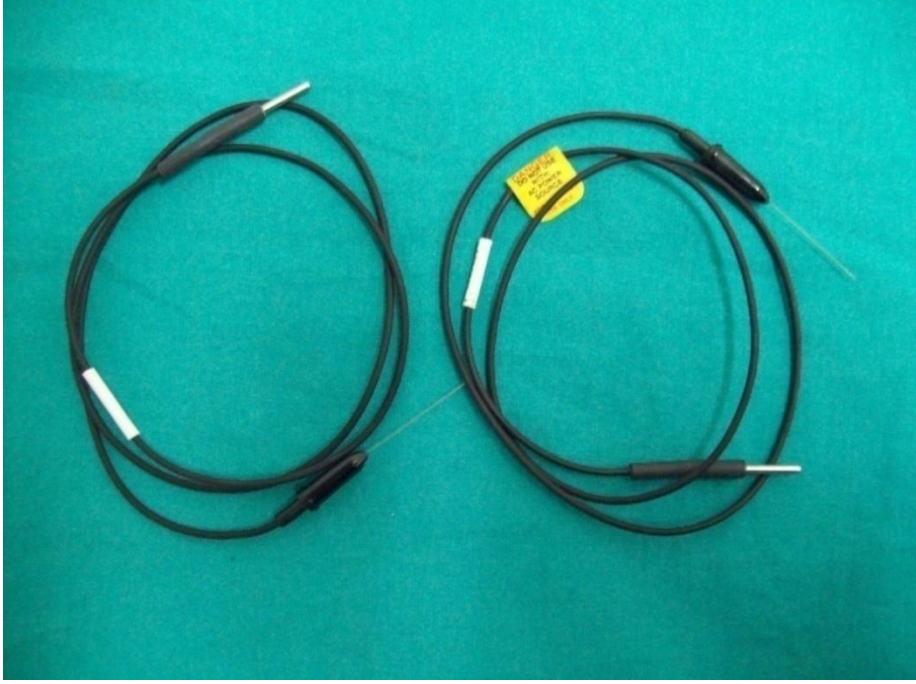
Grup Adı	n	Uygulanan Madde	Uygulama Süresi
Kontrol	6	Madde verilmedi	Ø
1. Kafes	8	0,69 gr/kg Cuprizon (%1 KMS ile karışık)	4 Hafta
2. Kafes	6	0,69 gr/kg ,%1 KMS	6 Hafta
3.Kafes	8	0,69 gr/kg Cuprizon (%1 KMS ile karışık)	5 Hafta
4.Kafes	8	0,69 gr/kg Cuprizon (%1 KMS ile karışık)	6 Hafta
5.Kafes	8	0,69 gr/kg Cuprizon (%1 KMS ile karışık)	7 Hafta

2.2.3. Elektromiyografi (EMG) Ölçümü

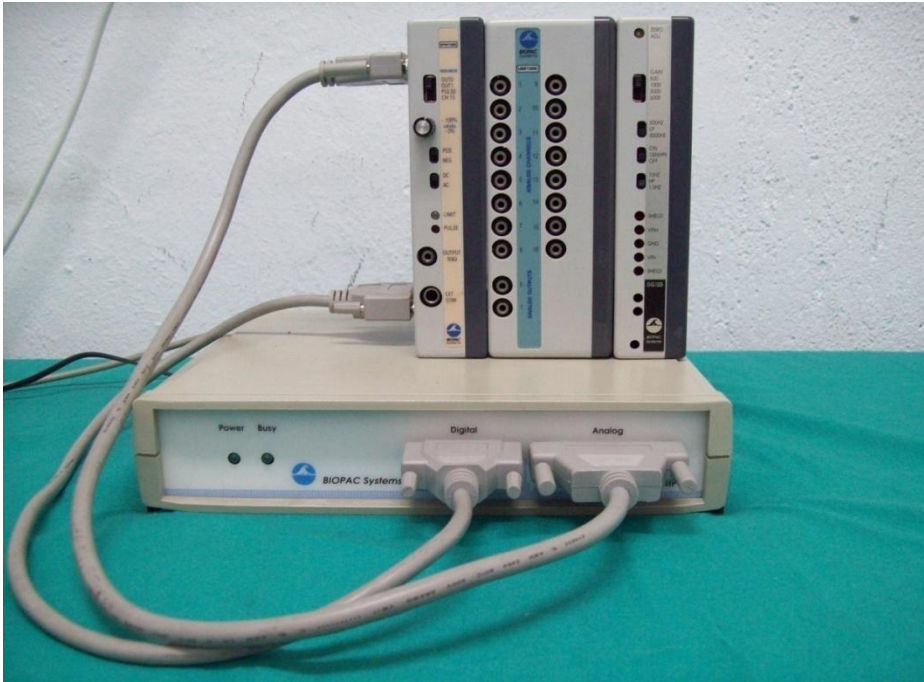
Bütün sıçanlar ölçüm başlamadan önce 100 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg xylazin anestezisi ile uyutuldu. Sıçanlar bütün işlemler süresince yerle temasını önlemek için plastik köpük üzerinde tutuldu. Hayvanların sol arka bacağına gastroknemius kasının bulunduğu yüzey tıraşlanarak tüyler uzaklaştırıldı ve bu bölge alkol ile temizlendikten sonra 4 mm çapında Ag/AgCl yüzey elektrotları (EL254S) yerleştirilerek plasterle sabitlendi (Resim 2.1). Kasın orta bölgesine aktif (+) elektrot tendon bölgesine de referans elektrot (-) yerleştirildi. Toprak elektrotu gerekli olduğunda EL400 iğne elektrotunun (Resim 2.2) *Guluteus Superficialis* kasına batırılmasıyla sağlandı. EMG sinyalleri EL254S elektrotları yardımıyla alındıktan sonra EMG100B modülüne ve oradan da MP100 (Biopac System Inc., Goleta, CA, USA) veri kayıt sisteminde (Resim 2.3) işlenerek 3GHz, Pentium-4 tabanlı bilgisayarda kayıt edildi.



Resim 2.1. 4 mm çapında Ag/AgCl yüzey elektrotları (EL254S)

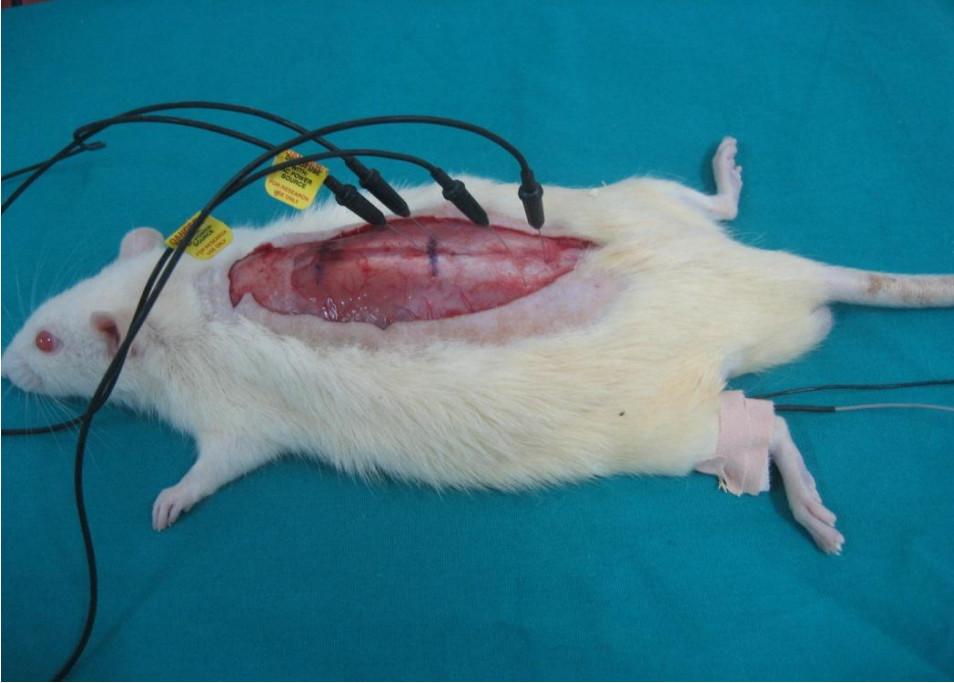


Resim 2.2. EL400 iğne elektrotları



Resim 2.3. EMG100B modülü ve MP100 (Biopac System) veri kayıt sistemi

Elektrik uyarısı vermek için hayvanın sırt derisi spinal cord çizgisi üzerinden makasla kesilerek açıldı. Lumbar kemiklerin lumbar 1 (L1) ile lumbar 2 (L2) omurları arasına ve lumbar 2 (L2) ile lumbar 3 (L3) omurları arasına EL400 monopolar iğne elektrotlarıyla (Şekil 5) girilerek epidural uyarı verilmesi sağlandı. Bu uyarı noktası distal uyarı noktası olarak adlandırıldı. Daha sonra aynı iğne elektrotlarıyla lumbar 4 (L4) ile lumbar 5 (L5) ve lumbar 5 (L5) ile lumbar 6 (L6) omurları arasına girilerek epidural uyarı verildi (Resim 2.4). Buradaki uyarı noktası da proksimal uyarı noktası olarak adlandırıldı. Elektrik uyarılarının verilebilmesi için monopolar iğne elektrotları STIMISOC stimulus amplifikatörüne (Resim 2.5), amplifikatörde MP100 veri-kayıt sistemine bağlı olan STI100 sistem stimülatörüne bağlandı. Elektrik uyarıları 7V kare puls dalga şeklinde 0.1ms süresince verildi. Uyarı akımları 50 Hz frekansında ve 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20 ve 50 mA değişen değerlerinde verildi ve her bir akım değeri için birleşik kas aksiyon potansiyeli (BKAP) kaydı alındı. Bu akım değerleri arasında supramaksimal uyarı olarak 10 mA ve üzeri değerler görüldüğünden 10 mA değerinde uyarı verildiğinde alınan BKAP'ların analizi yapıldı



Resim 2.4. İğne ve yüzey elektrotlarının sıçan vücuduna yerleştirilme düzeni



Resim 2.5. STIMISOC stimulus amplifikatörü

2.2.4. Sinir İleti Hızı Hesaplanması

İğne elektrotlarıyla spinal kord uyarıldıktan sonra gastrocnemius kası üzerinden EMG kayıt elektrotlarıyla elde edilen potansiyel olan BKAP'ların analiziyle sinir ileti hızı hesaplanmaktadır. Elektrik uyarısı verilmeye başlandığı andan BKAP'ın başlangıç noktasına kadar geçen süre latans süresi olarak adlandırılır. Latans süresi içinde sinir iletim süresi, nöromuskuler ileti zamanı ve kas membranında elektriksel ileti zamanını da içermektedir (Pehlivan 1997).

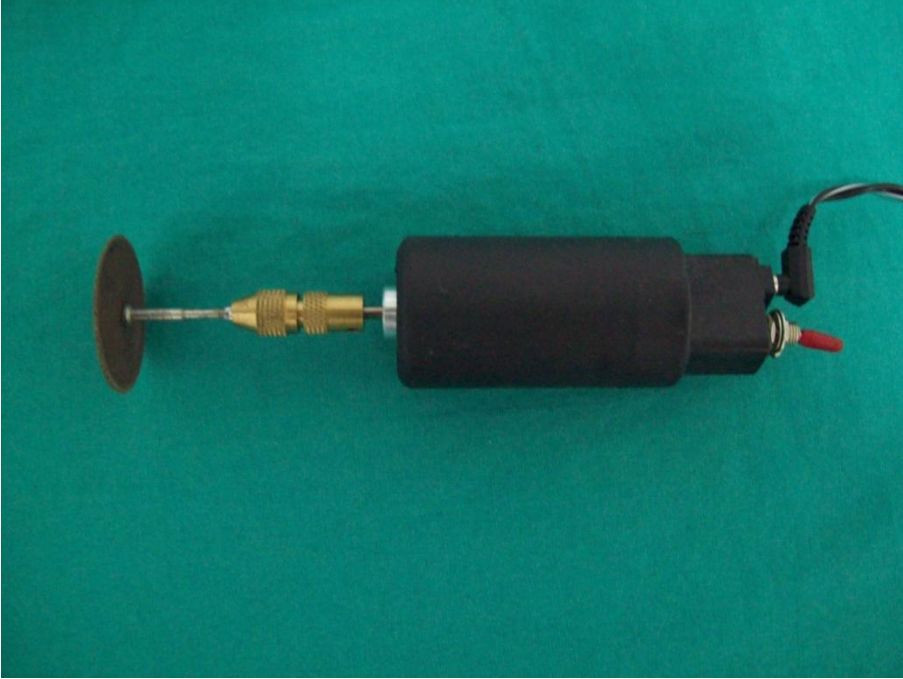
Distal uyarı noktasından verilen uyarı sonucunda elde edilen BKAP'ın latans süresine distal latans (DL) adı verildi. Kayıt koşulları değiştirilmeksizin proksimal uyarı noktasından verilen uyarı sonucunda elde edilen BKAP'ın latans süresine de Proksimal latans (PL) olarak adlandırıldı. DL değerinden PL değerinin çıkarılmasıyla latans farkı (Δt) değeri elde edildi. Proksimal uyarı noktası ile distal uyarı noktası arasında kalan mesafe (ΔX) ölçüldü. Mesafenin latans farkına bölünmesiyle sinir ileti hızı elde edildi.

$\Delta X = DL$ ile PL arası mesafe (metre)

$\Delta t = DL - PL$ saniye (s) \longrightarrow Sinir ileti hızı = $\Delta X / \Delta t$ [m/s]

2.2.5. Histopatoloji

Histopatolojik incelemeleri için, EMG ölçümlerinden sonra sıçanlara servikal dislokasyon ile ötenazi uygulandı. Kafadaki deri ve kaslar uzaklaştırıldıktan sonra kafa oksipitalin altından kesildi. Kafatası kemikleri beyin dokusuna zarar vermemek için kesme diski (Resim 2.6) ile kesildi. Beyin ve beyincik bir bütün olarak çıkarıldı (Resim 2.7). Beyincik kesilerek ayrıldıktan sonra beyin dokusu üç parçaya ayrıldı. Daha sonra doku örnekleri nötral tamponlanmış %10'luk konsantrasyonda formalin çözeltisi içerisinde 48 saat bekletildi. Rutin doku takibi yapıldı. Tamponlu formol solüsyonu Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Patoloji bölümünden hazırlanmış halde temin edildi.



Resim 2.6. Kesme Diski



Resim 2.7. Beyin ve Beyincik

Doku takibinde sırası ile dokular birer saat iki adet % 10'luk formalinde, % 80'lik etil alkol, %90 lık etil alkol, iki defa % 96'lık etil alkol, iki defa absolüt alkol, iki defa ksilol de bekletildi. İki defa iki saat parafin işleminden geçirildikten sonra parafine gömülen dokulardan 0,6 mikron kalınlığındaki kesitler 40 santigrat derece su banyosundan sonra polilislinli lamlara alındı. Dokular 37 santigrat derece etüvde bir gece bırakıldı. Sabah 15 dakika 58 °C etüvde bekletilen preparatlar 15 dakika etüvde yine 58 °C derecede ksilol içerisinde, 15 dakika 58 °C etüvde bulundurulan dokular tekrar etüvde 15 dakika ksilol içerisine konuldu. Daha sonra dışarıda oda sıcaklığındaki ksilol da 15 dakika bekletilen preparatlar ksiloldan çıkarılarak boymaya hazır duruma getirildi.

2.2.5.1. Luxol Fast Blue ile Myelin Boyama Protokolü

2.2.5.1.1. Solüsyonların Hazırlanması

0.1% Luxol fast blue solüsyonu:

Luxol fast blue,----- 0.1 g
Etil Alkol, 95% ----- 100 ml
Glacial asetik asit ----- 0.5 ml

0.1% Kresil violet solüsyonu:

Cresyl violet (cresyl fast violet) ----- 0.1 g
Distile su ----- 100 ml
Kullanılmadan önce 10 damla glacial asetik asit damlatıldı

0.05% Lityum karbonat solüsyonu:

Lityum karbonat ----- 0.05 g
Distile su ----- 100 ml

2.2.5.1.2. Boyama Prosedürü

1. Deparafinize edilen dokular %95'lik etil alkolden geçirildi.
2. Luxol fast blue solüsyonu içinde 56 °C'de bir gece bekletildi.
3. %95'lik etil alkol içinde çalkalandı.
4. Distile suda çalkalandı.
5. Lityum karbonat solüsyonu içinde 30 saniye differansiye edildi.
6. Differansiye işlemine %70'lik etil alkolde 30 saniye devam edildi.
7. Distile su içinde çalkalandı.

8. Mikroskopta, gri madde ile beyaz maddenin ayırt edilebilir olup olmadığı kontrol edildi.
 9. Gri madde ile beyaz madde ayırt edilemiyorsa 5. Basamaktan itibaren tekrarlandı.
 10. Saf su içine koyuldu.
 11. Kresil violet solüsyonunda 30 saniye bekletildi.
 12. Distile su ile çalkalandı.
 13. %95'lik etil alkolde 2 defa çalkalandı.
 14. %100 etil alkolden geçirildi
 15. Ksilenden geçirildi.
 16. Kanada balzamu kullanılarak lamelle kapatıldı.
- Miyelin tabakalar mavi renkte, nöronlar ve nisl cisimcikleri eflatun ile mor renkte boyandığı görüldü.

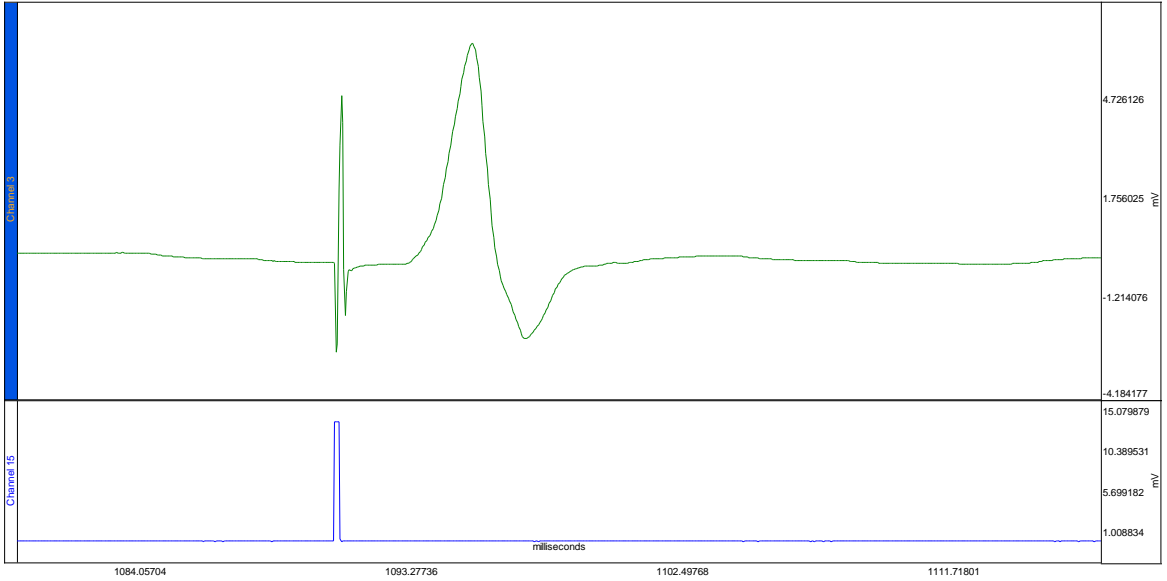
2.2.6. İstatistiksel Analiz

Sinir ileti hızları hesaplandıktan sonra istatistiksel analizler GraphPad Prism 5 programı kullanılarak yapıldı. Gruplara tek yön varyans analizi (ANOVA) testi uygulandıktan sonra Dunnet multiple karşılaştırma testi uygulanarak kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki ilişki araştırıldı. Sinir ileti hızı sonuçları Hız \pm Standart Hata olarak verilmiştir.

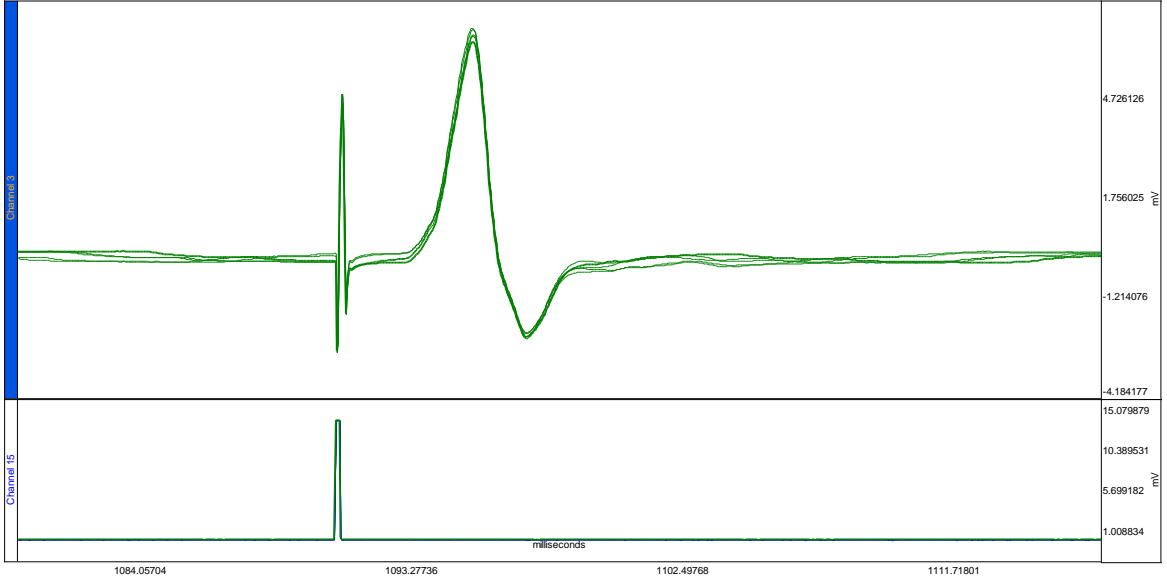
3. BULGULAR

3.1. Spinal Kord Motor Sinir İleti Hızı

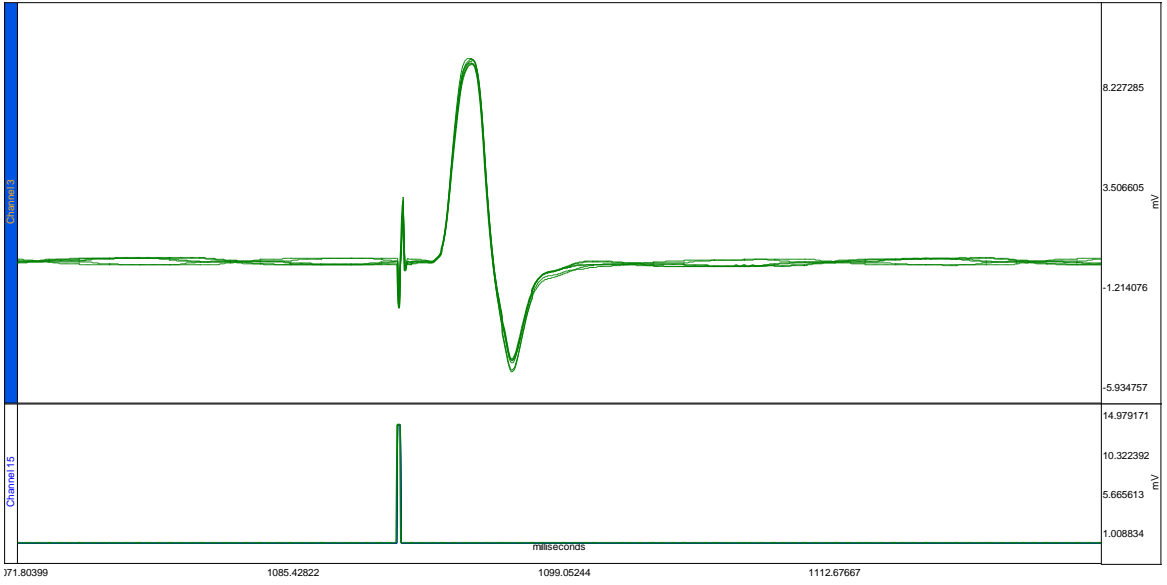
Karboksi-metil-selulozda (KMS) süspansiyon edilmiş Cuprizon ile 4, 5, 6, ve 7 hafta sürelerinde ağızdan gavajla beslenen, sadece KMS ile beslenen ve normal beslenen erkek sıçanlarda spinal kord L1 ve L6 arası motor sinir ileti hızı EMG yardımıyla ölçüldü. Şekil 3.1. tipik bir EMG kaydını göstermektedir. Motor ileti hızı hesaplanabilmesi için supramaksimal uyarı gerekmektedir. Bunu elde etmek için aynı hayvanın aynı noktalarında değişik amperde uyarılar verilerek supramaksimal uyarı tespiti yapıldı. Şekil 3.4, 3.5, 3.6 aynı noktadan değişik şiddette verilen uyarılara cevap olarak ortaya çıkan EMG kaydını göstermektedir. Buradan L1 uyarıları için supramaksimal cevap 10 mA den yukarı uyarılarda elde edildi (Şekil 3.2, 3.3.).



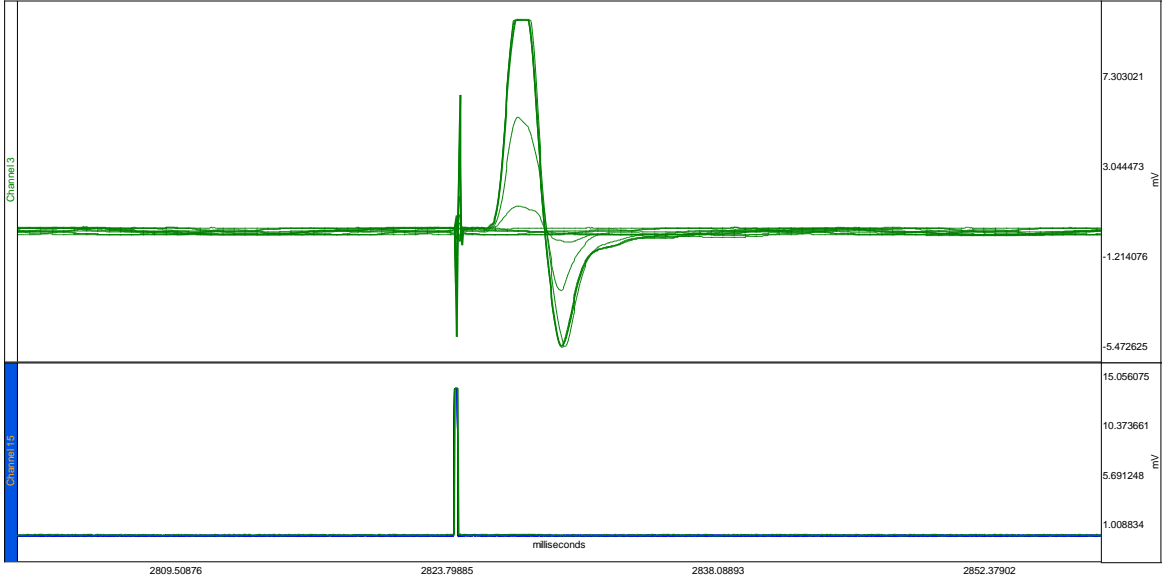
Şekil 3.1. L1 seviyesinden verilen 10 mA uyarıya karşılık elde edilen grafik.



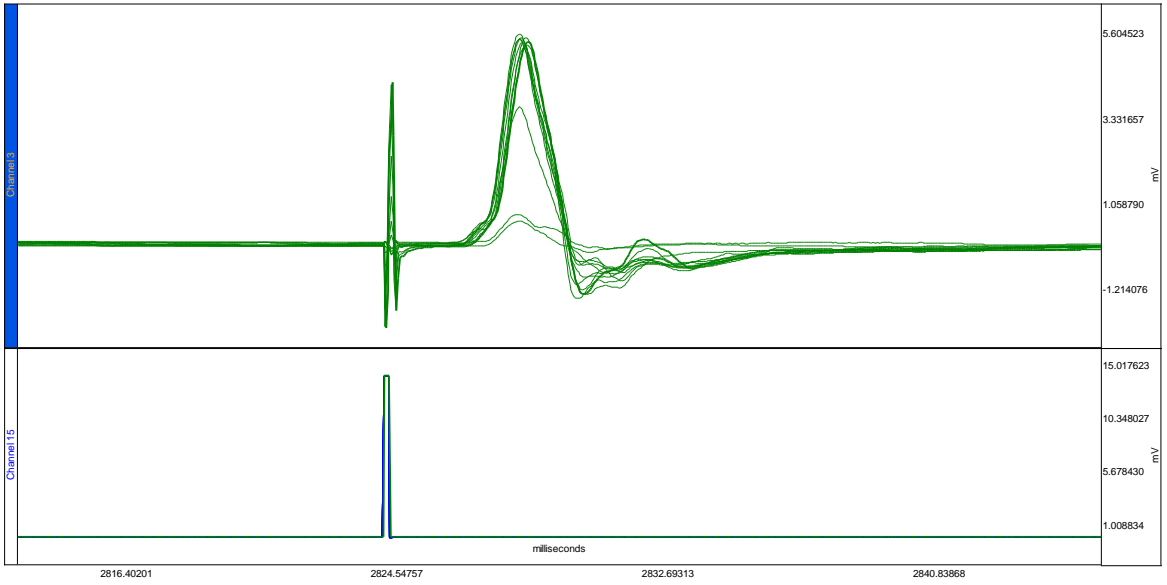
Şekil 3.2. L1 seviyesinden verilen 10 mA lik 5 ayrı grafiğin üst üste çakışık görüntüsü



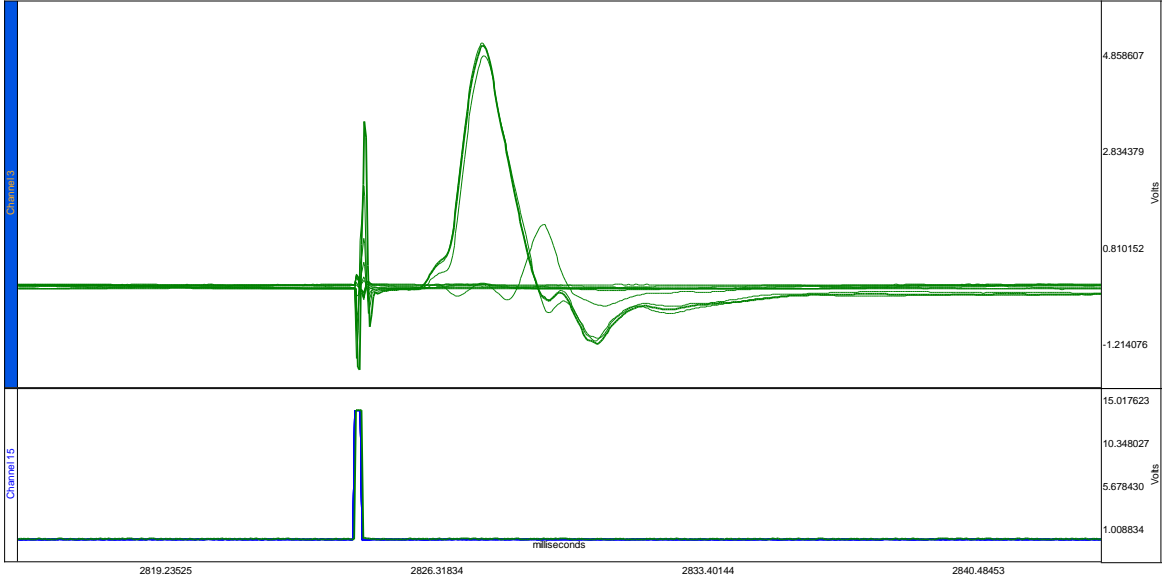
Şekil 3.3. L6 seviyesinden 10 mA akıma karşılık 5 ayrı cevabın çakışık halı.



Şekil 3.4. L6 seviyesinden 0,1-50 mA arası standart uygulamalarımızdan elde edilen cevapların üst üste görüntüsü.

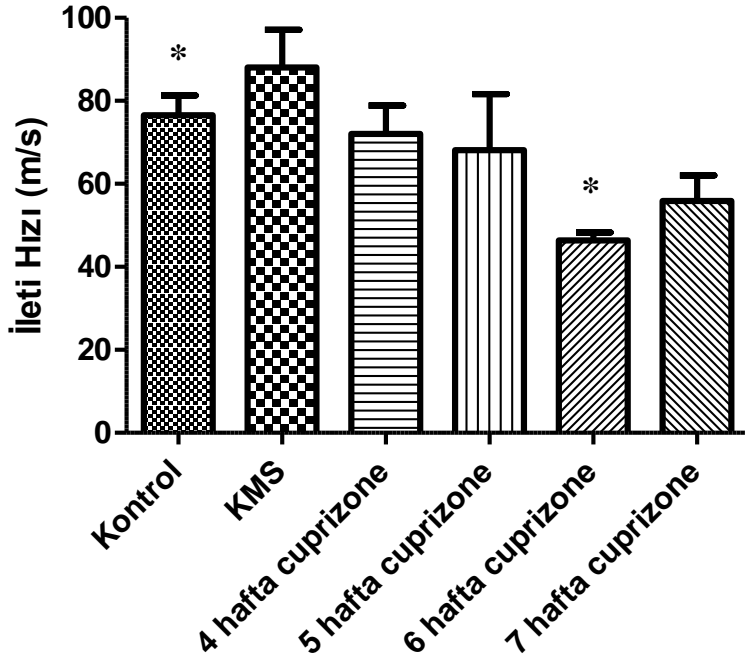


Şekil 3.5. L1 seviyesinden 0,1-50 mA arası standart uygulamalarımızdan elde edilen cevapların üst üste görüntüsü.



Şekil 3.6. L6 seviyesinden 0,1-50 mA arası akımlarda alınan bütün değerlerin çakıştırılması

Normal yemle beslenen sıçanların spinal kord motor sinir ileti hızı $76,54 \pm 4,76$ m/s (Hız \pm Standart Hata (SH)) olarak hesaplandı. Sinir ileti hızı sadece KMS ile beslenenlerde $88,04 \pm 9,11$ m/s, 4 hafta cuprizon uygulananlarda $72,01 \pm 6,90$ m/s, 5 hafta cuprizon alanlarda $68,10 \pm 13,53$ m/s, 6 hafta cuprizon ile beslenenlerde $46,35 \pm 1,95$ m/s ve 7 hafta cuprizon ile beslenenlerde $55,89 \pm 6,11$ m/s olarak hesaplandı (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Spinal Kord Motor Sinir İleti Hızları (* gruplar arasındaki anlamlılığı göstermektedir, $p < 0.05$)

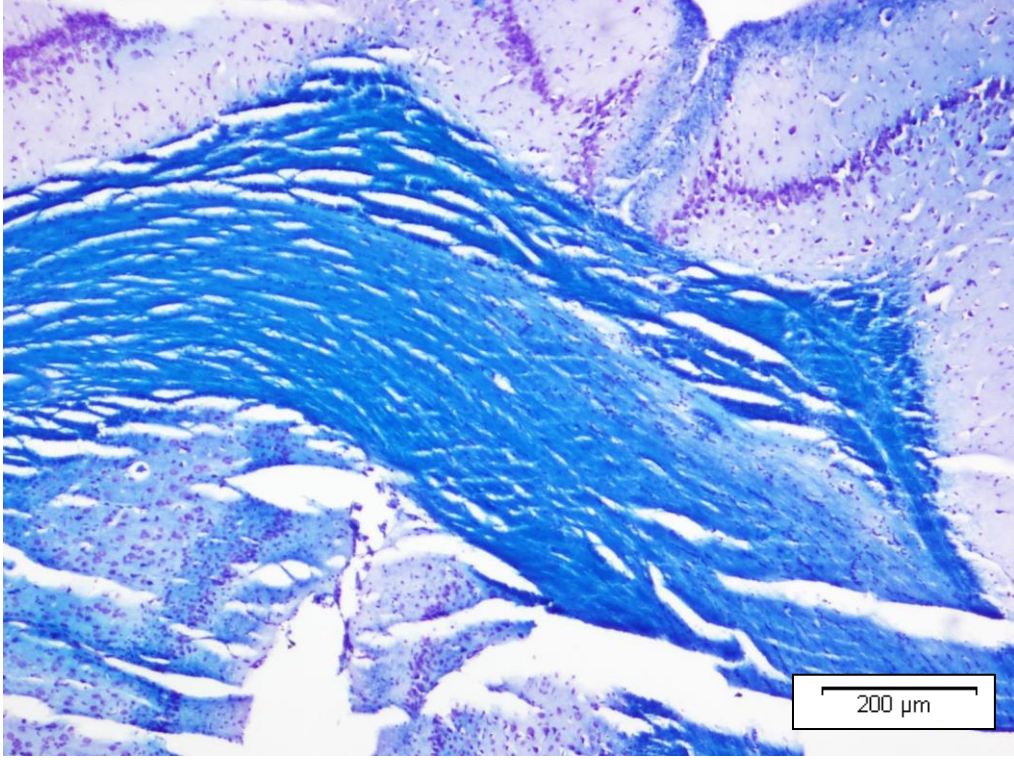
Kontrol grubu, KMS ile beslenen, 4 hafta ve 5 hafta cuprizon ile beslenen sıçanların motor sinir ileti hızlarında belirgin bir farklılık görülmedi. 5 hafta cuprizon ile beslenen sıçanların motor sinir ileti hızlarında standart hatanın yüksek olduğu belirlendi. 6 hafta cuprizon ile beslenen sıçanların motor sinir ileti hızları ortalaması kontrol grubuna göre daha düşük görüldü. 7 hafta cuprizon ile beslenenlerde ise motor sinir ileti hızının 6 hafta cuprizon ile beslenenlere oranla daha yüksek olduğu görüldü.

Gruplara tek yön varyans analizi (ANOVA) testini uygulandığında p değeri 0,0087 olarak hesaplandı. Bu grupların ortalamaları arasında anlamlı farklılıkların olduğunu göstermektedir ($p < 0,05$). Gruplara Dunnet multipl karşılaştırma testi uygulanarak kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki ilişki araştırıldı. Sonuçta sadece kontrol grubu ile 6 hafta cuprizon ile beslenenler arasında anlamlı bir farklılık olduğu ($p < 0,05$), kontrol grubu ile diğer gruplar arasında böyle bir farkın olmadığı belirlendi.

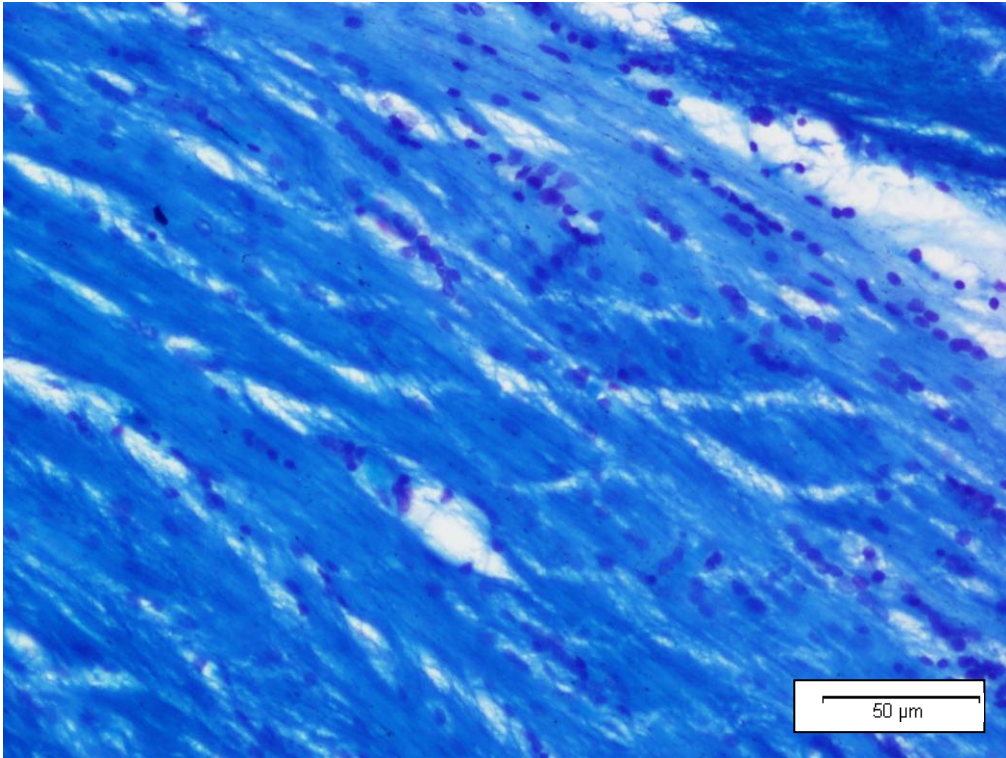
3.2. Histopatolojik Değişimler

Cuprizon alan sıçanlara ait beyin ve beyincik kesitlerinin LFB ile boyanması sonucunda ışık mikroskobunda corpus collosum (CC) ve beyincik incelendi. Miyelinli bölgeler mavi renkte boyanırken demiyeline alanlarda ise pembe renk değişiminin olduğu görüldü (Resim 3.1-3.26).

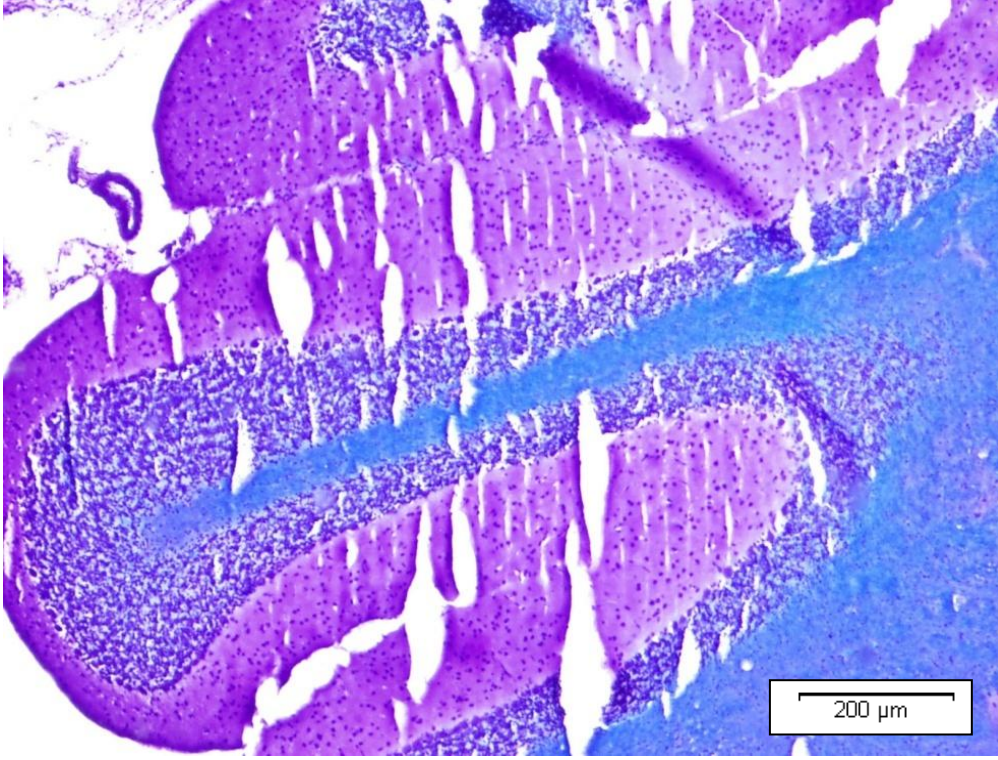
Kontrol, KMS ile beslenen ve 4 hafta cuprizon ile beslenen gruplarda demiyeline alanlar görülmedi. 5 hafta, 6 hafta ve 7 hafta cuprizon ile beslenen sıçanlarda demiyeline alanların verdiği pembe renk değişimi görüldü. Bu değişimler her hayvanda standart olmadığı gibi aynı hayvana ait diğer kesitler arasında da farkların olduğu görüldü. Bu da demiyelinizasyonun oligodendrositlerin tamamında değil kısmi dejenerasyon şeklinde olduğunu göstermektedir. 6 ve 7 hafta cuprizon ile beslenen sıçanlarda demiyeline alanların 5 hafta cuprizon ile beslenenlere oranla daha belirgin olduğu görüldü. Beyincikte nadiren spongiyiform vakuolosyonlar görüldü.



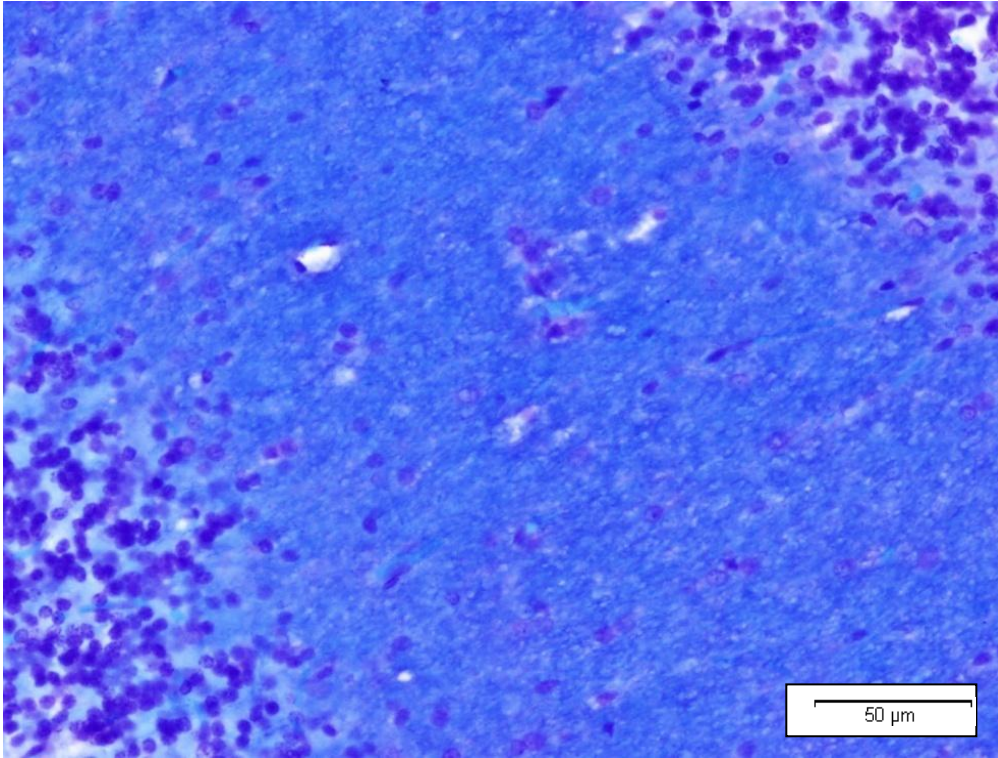
Resim 3.1. Kontrol grubu erkek sıçanlarda corpus collosum



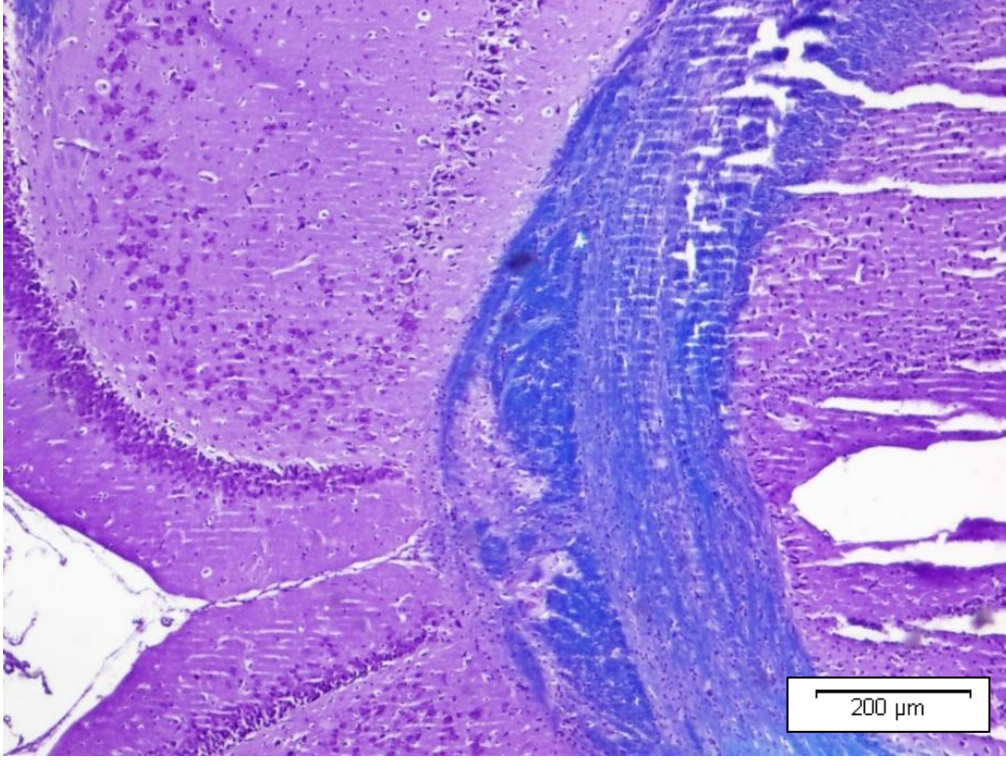
Resim 3.2. Kontrol grubu sıçanlarda corpus collosum



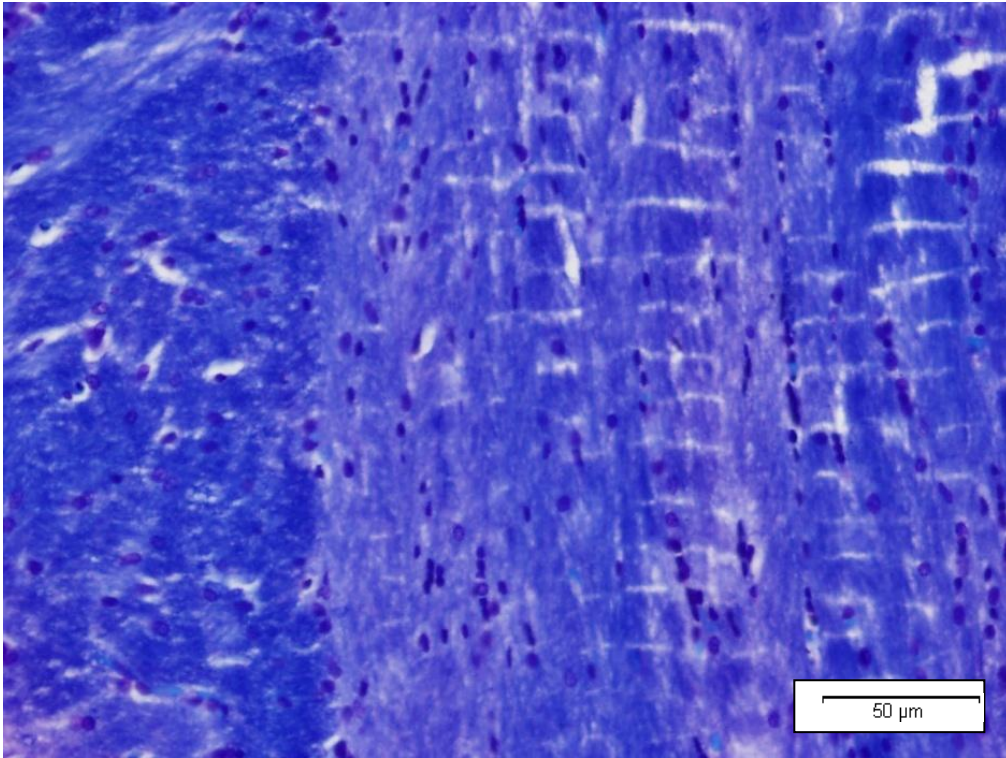
Resim 3.3. Kontrol grubu sıçanlarda beyincik



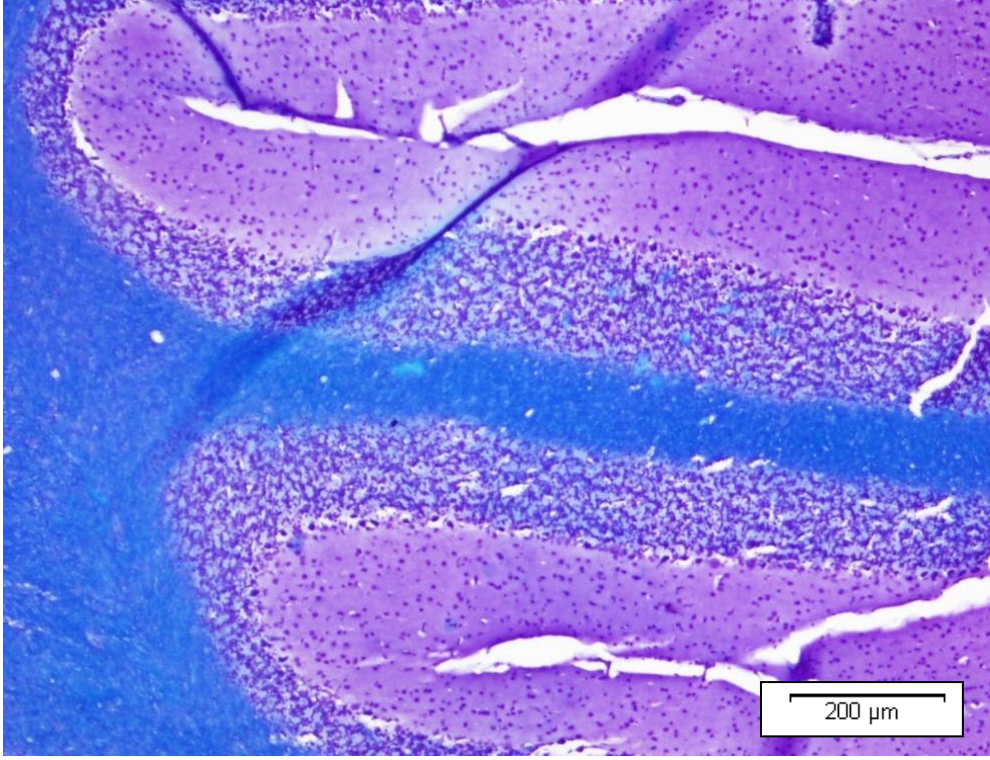
Resim 3.4. Kontrol grubu sıçanlarda beyincik



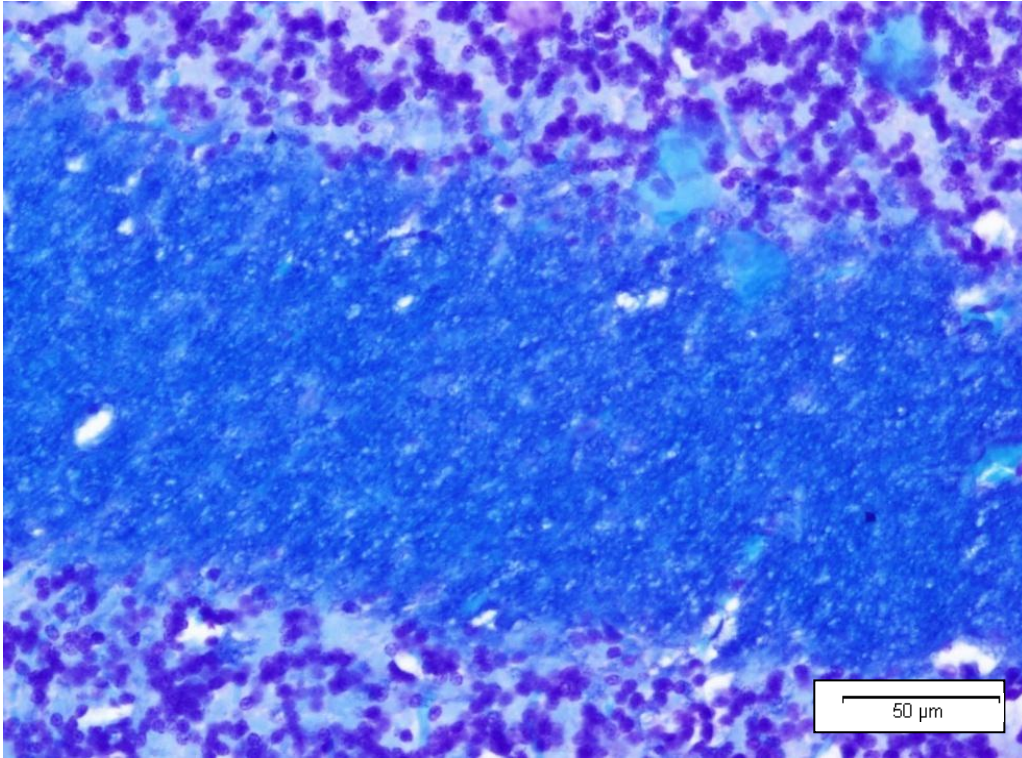
Resim3.5. KMS alan sıçanlarda corpus collosum



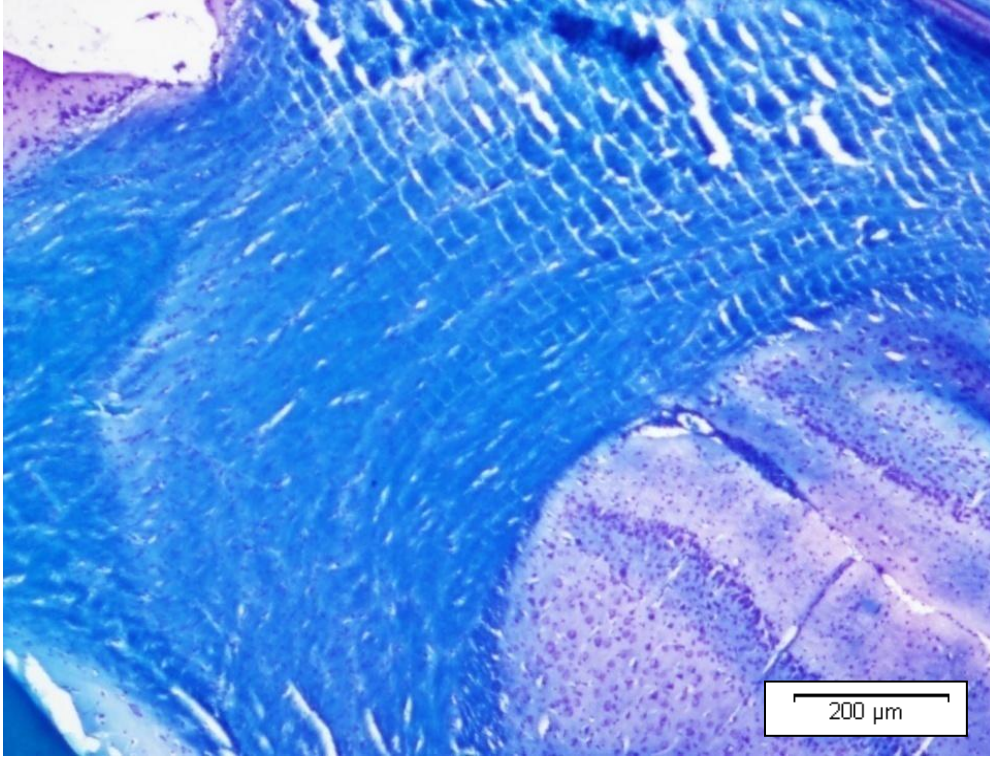
Resim 3.6. KMS alan sıçanlarda corpus collosum



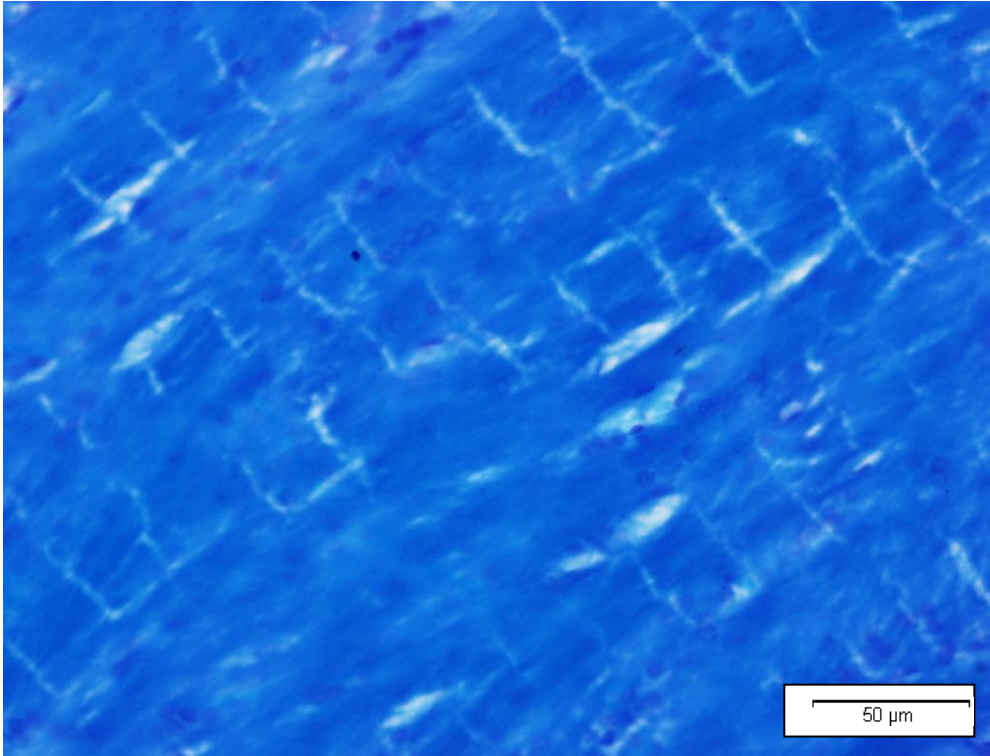
Resim 3.7. KMS alan sıçanlarda beyincik



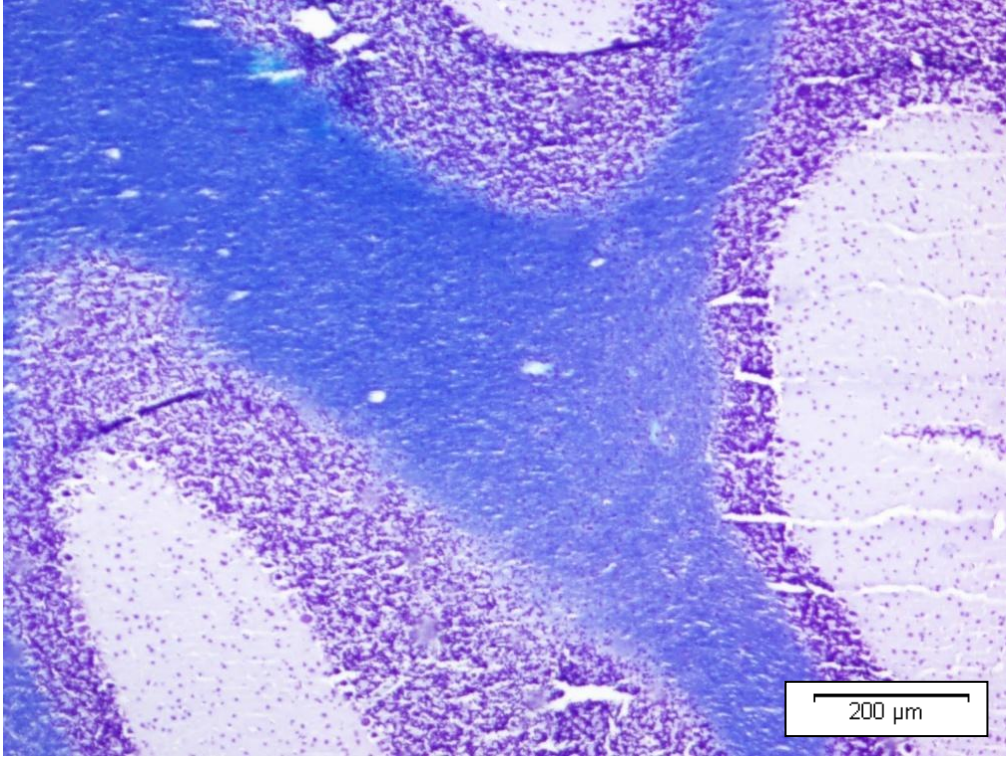
Resim 3.8. KMS alan sıçanlarda beyincik



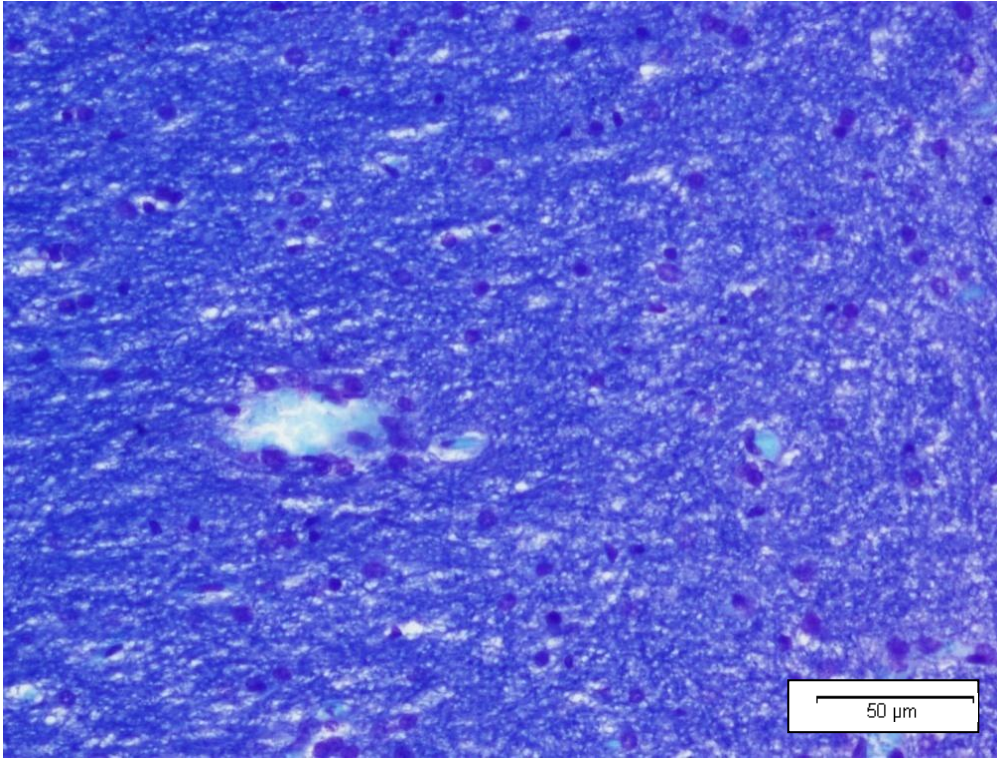
Resim 3.9. 4 hafta cuprizon alan sıçanlarda corpus collosum



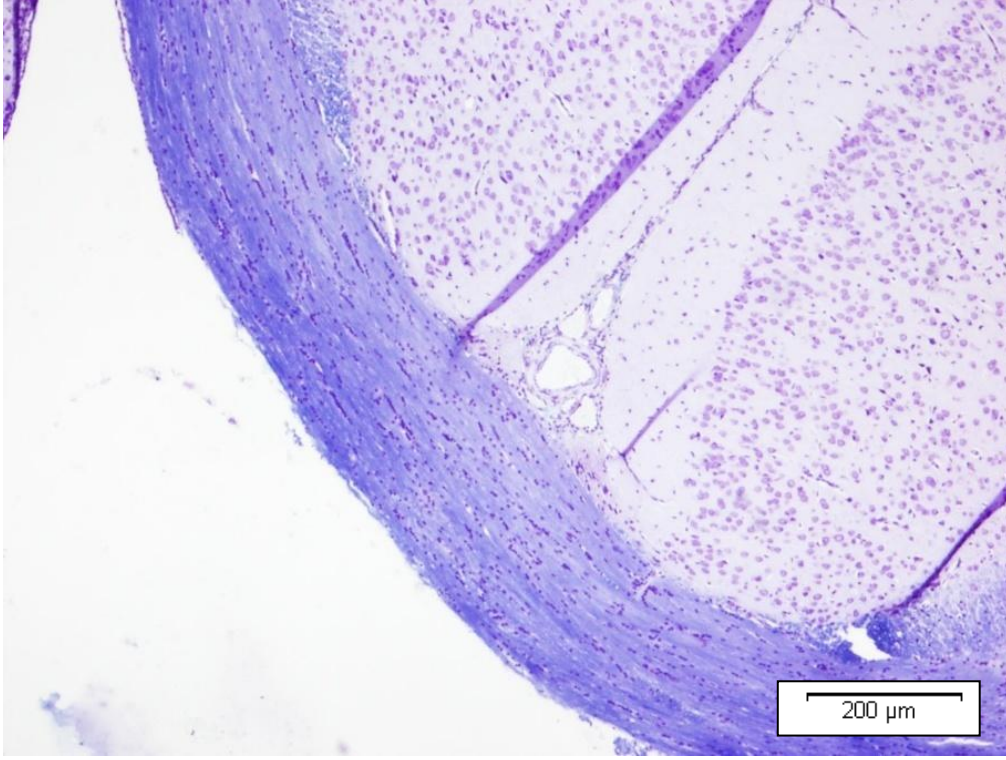
Resim 3.10. 4 hafta cuprizon alan sıçanlarda corpus collosum



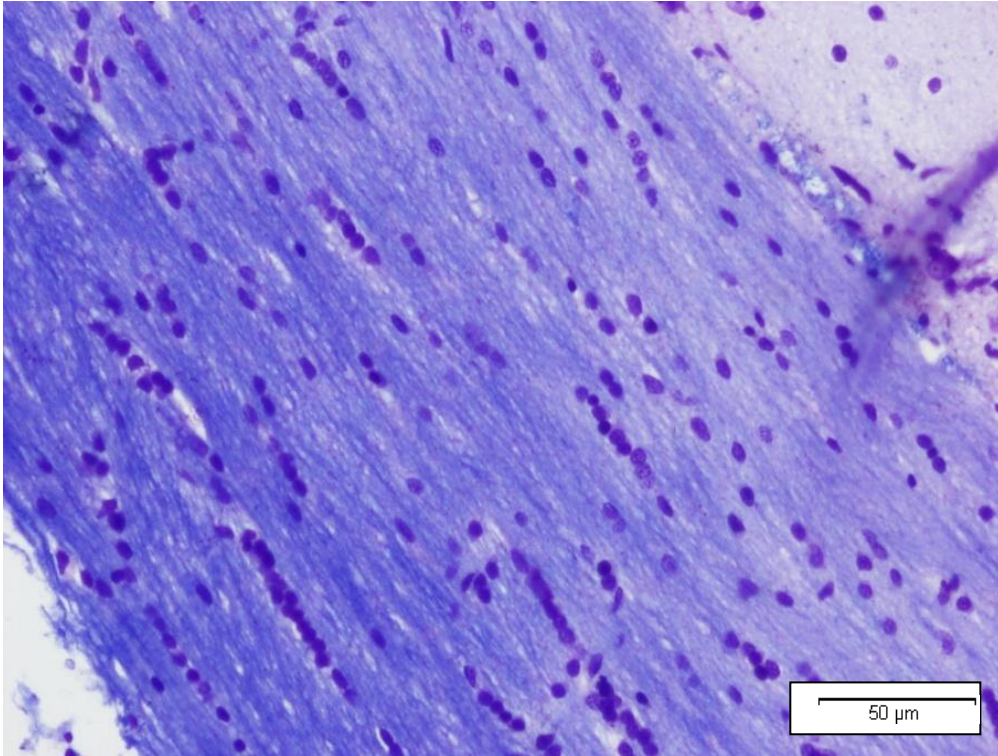
Resim 3.11. 4 hafta cuprizon alan sıçanlarda beyincik



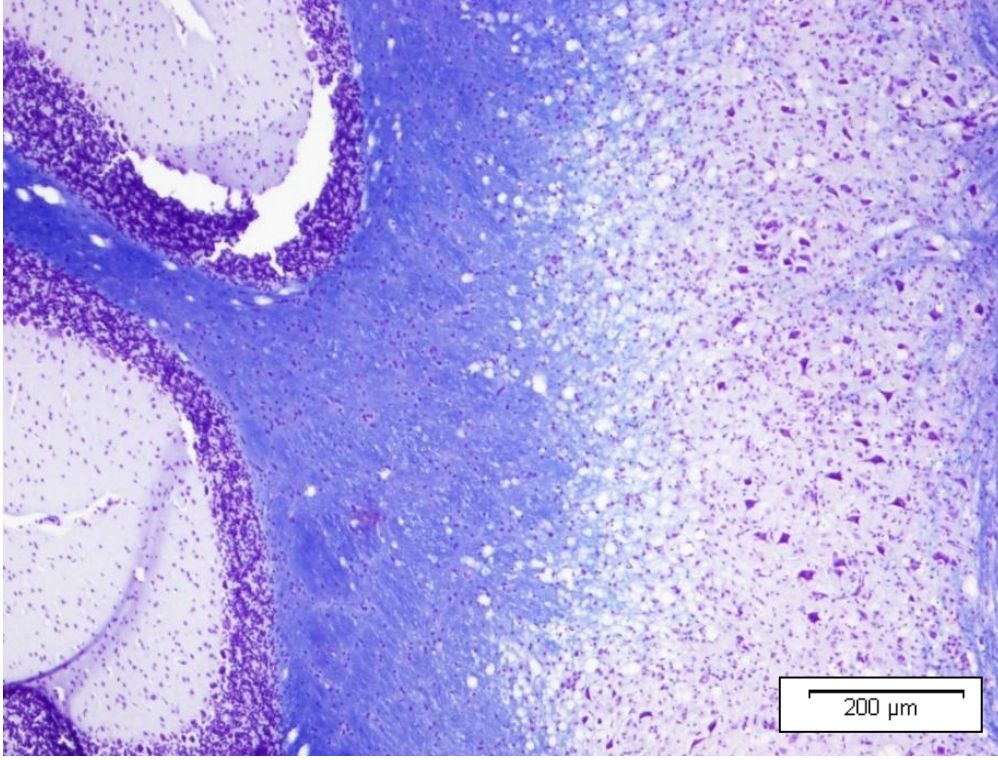
Resim 3.12. 4 hafta cuprizon alan sıçanlarda beyincik



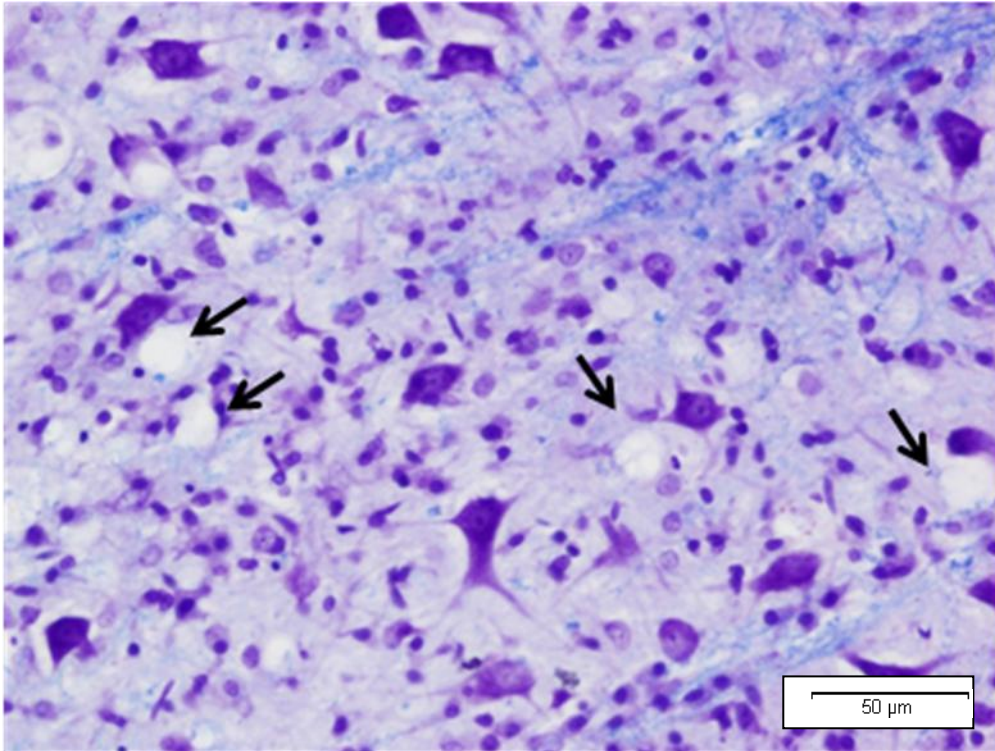
Resim 3.13. 5 hafta cuprizon alan sıçanlarda corpus collosum



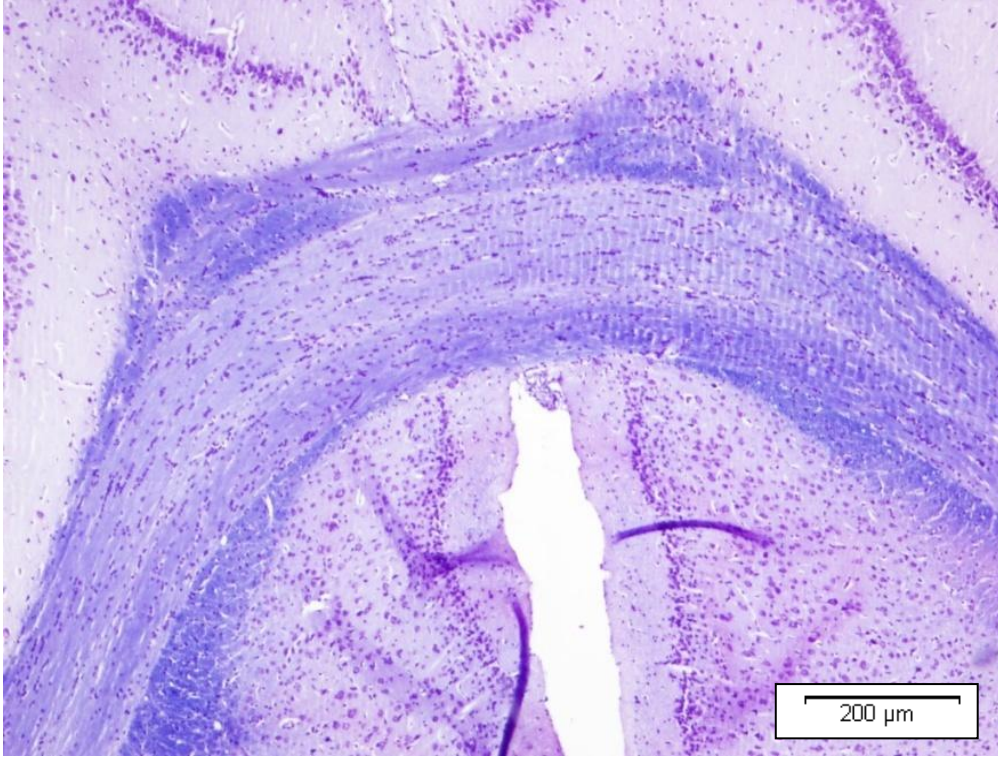
Resim 3.14. 5 hafta cuprizon alan sıçanlarda corpus collosum



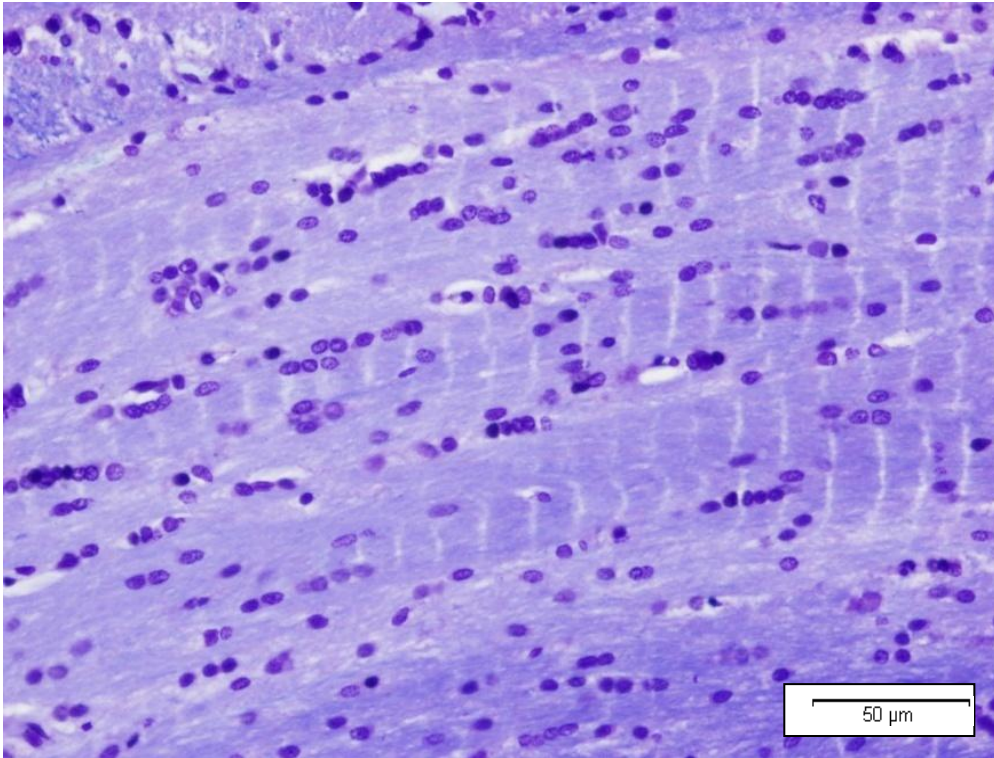
Resim 3.15. 5 hafta cuprizon alan sıçanlarda beyincik



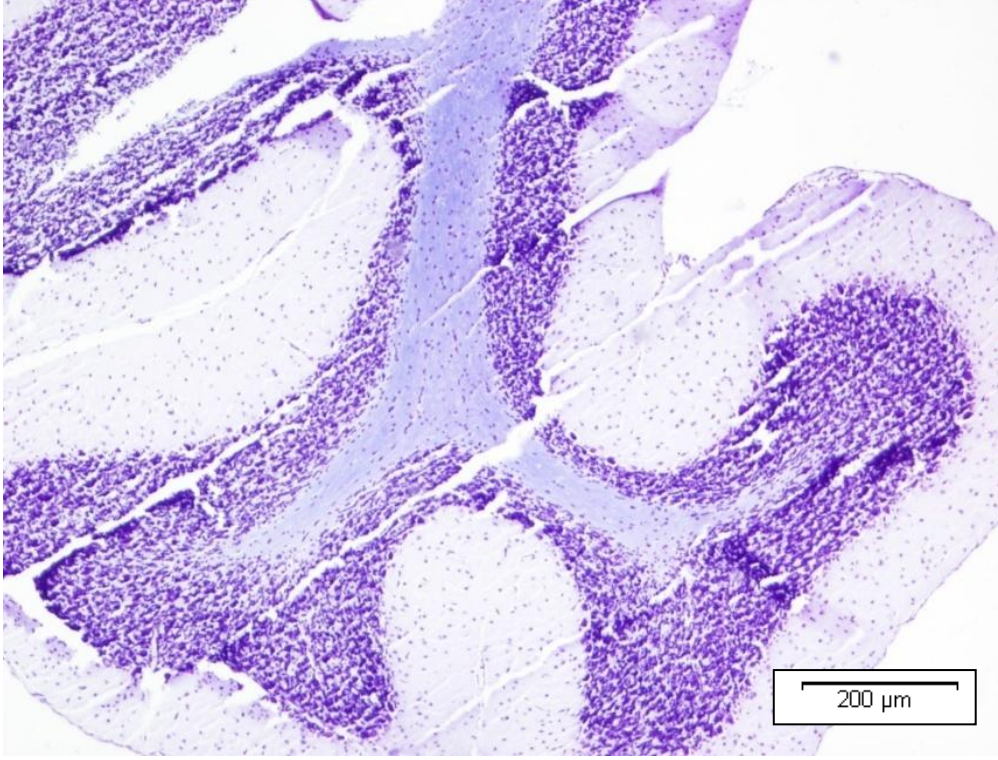
Resim 3.16. 5 hafta cuprizon alan sıçanlarda beyincik. Oklar seyrek gözlenen vakuolasyonu göstermektedir.



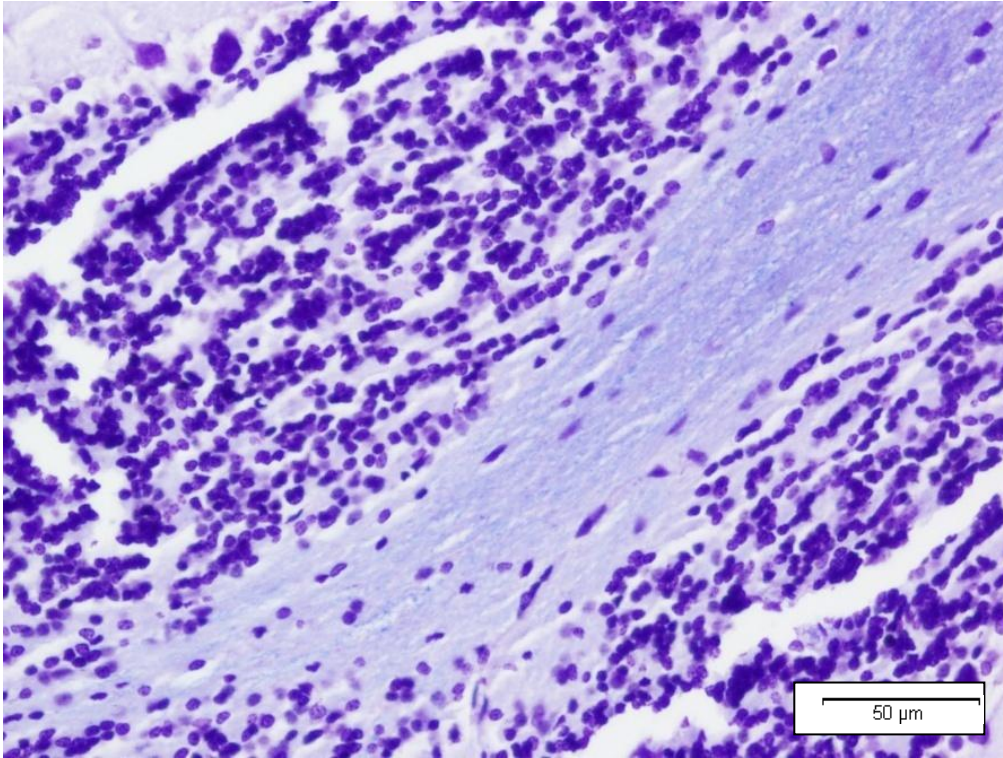
Resim 3.17. 6 hafta cuprizon alan sıçanlarda corpus collosum



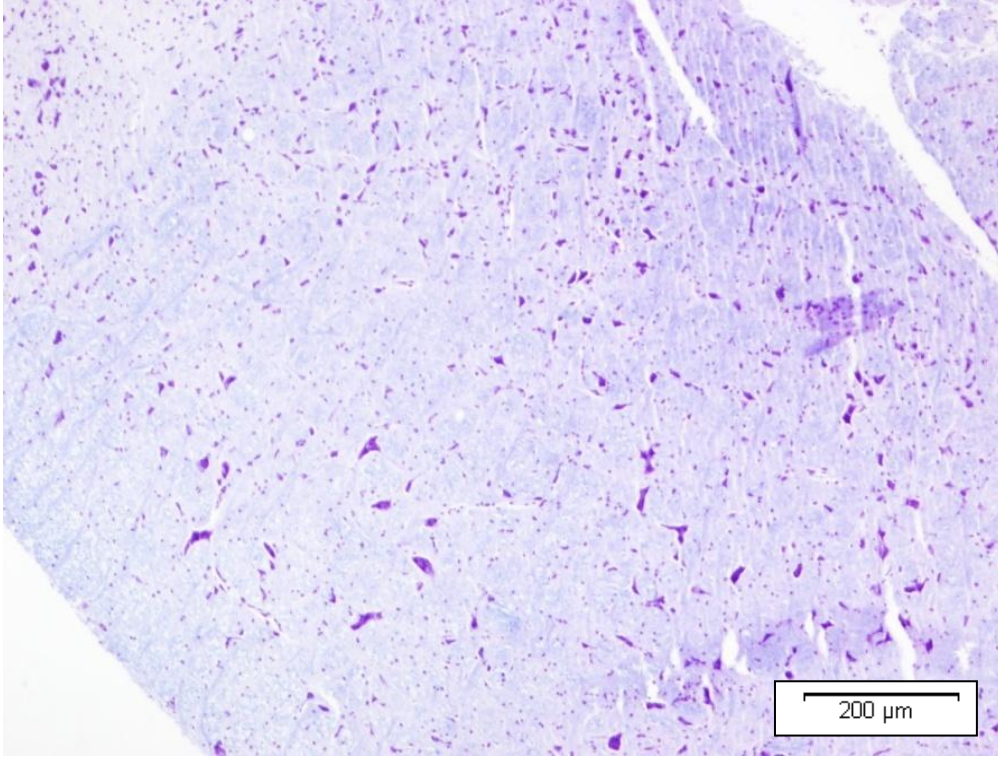
Resim 3.18. 6 hafta cuprizon alan sıçanlarda corpus collosum



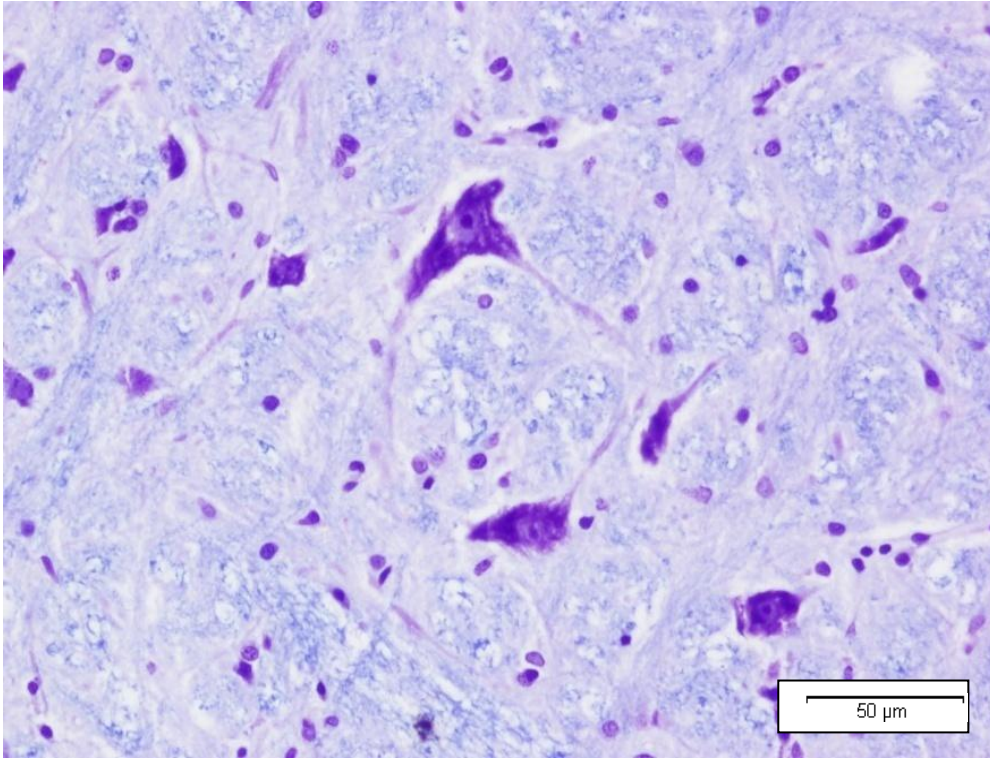
Resim 3.19. 6 hafta cuprizon alan sıçanlarda beyincik



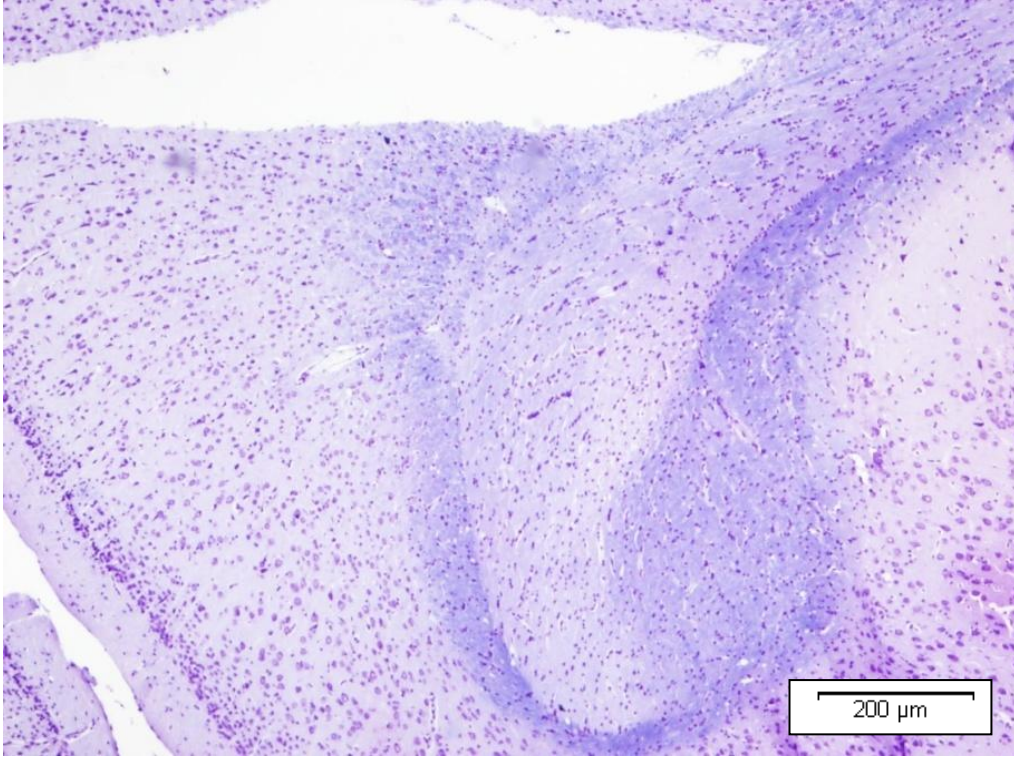
Resim 3.20. 6 hafta cuprizon alan sıçanlarda beyincik



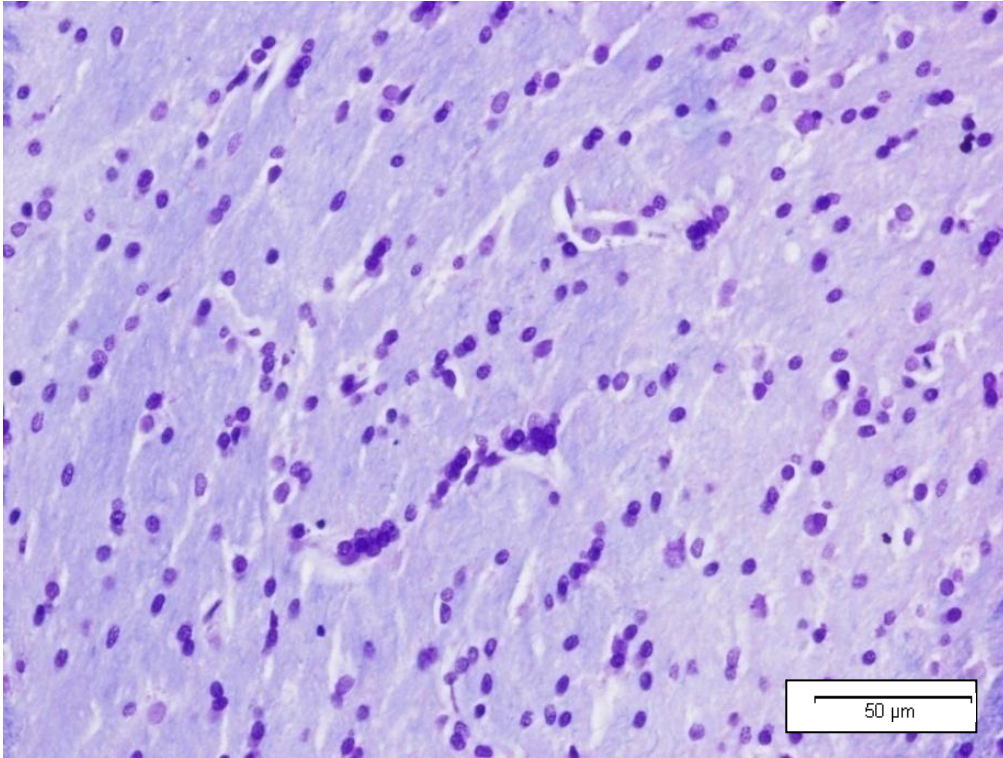
Resim 3.21. 6 hafta cuprizon alan sıçanlarda beyincik



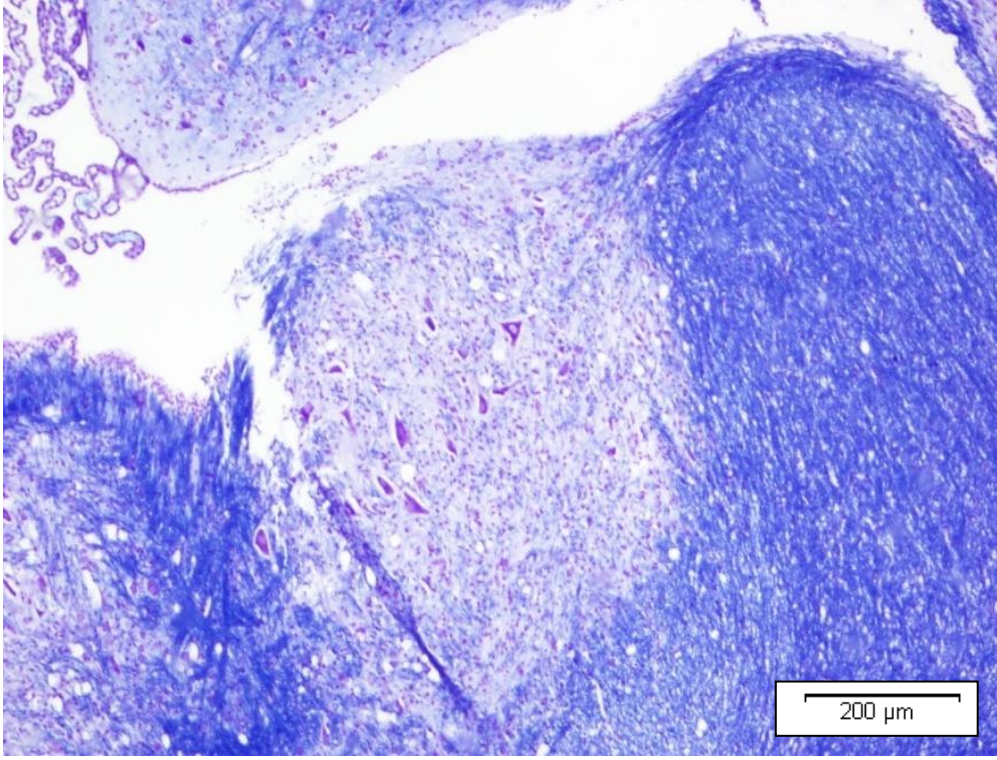
Resim 3.22. 6 hafta cuprizon alan sıçanlarda beyincik



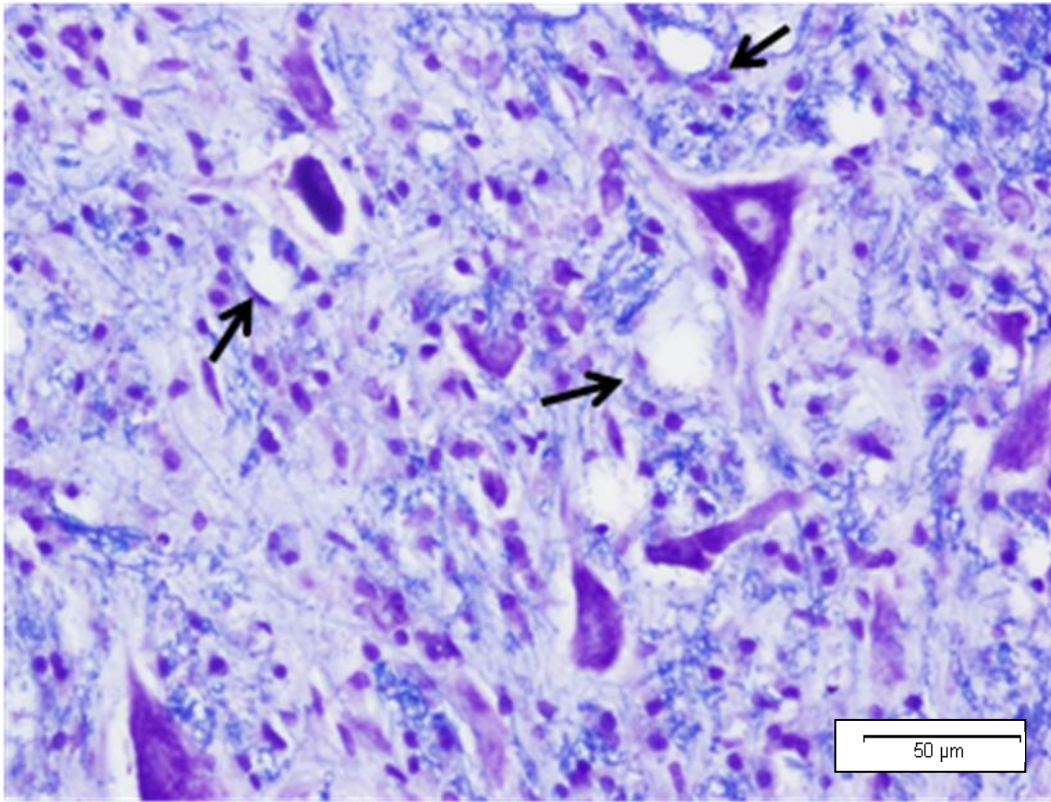
Resim 3.23. 7 hafta cuprizon alan sıçanlarda corpus collosum



Resim 3.24. 7 hafta cuprizon alan sıçanlarda corpus collosum



Resim 3.25. 7 hafta cuprizon alan sıçanlarda beyincik



Resim 3.26. 7 hafta cuprizon alan sıçanlarda beyincik (x20). Oklar seyrek gözlenen vakuolasyonu göstermektedir.

4. TARTIŞMA

Genç erişkin farelerin cuprizon ile birkaç hafta beslenmesinin beyinde özellikle corpus collosum'da şiddetli demyelinizasyona neden olduğu iyi bilinmektedir (Morell ve ark 1998, Jurevics ve ark 2001, Liebetanz ve Merkler 2006). Bu çalışmada cuprizon kaynaklı demyelinizasyon hasarının wistar albino türü sıçanlarda karakterize etmek amacıyla değişik gruplara farklı sürelerde cuprizon KMS ile süspansiyon haline getirilerek ağızdan gavajla verilmiştir. Bu yöntem sayesinde her hayvan kilosuna oranla standart bir cuprizon dozu almıştır.

Birçok çalışma yapılmasına karşın cuprizonun demyelinizasyona neden olmasının mekanizması tam bilinmemektedir. Burada yaygın olan görüşe göre cuprizonun bakır şelat gibi davrandığı, hayvanlar cuprizonla beslendiklerinde bakırı bağladığı ve demyelinizasyonun bakır eksikliğinden kaynaklandığı ileri sürülmektedir. Merkezi sinir sistemindeki diğer hücrelerin etkilenmemesi ise cuprizonun ilginç bir yönüdür (Pasquini ve ark 2007). Ventrone (1973)'e göre cuprizon farelerde beyin içerdiği bakır miktarını azaltmaktadır. Bakır-şelat cuprizon uygulaması ise bu azalmayı engellemektedir ve ne beyaz maddede vakuolasyon ne de enzim aktivitesinde bir azalma görülmektedir. Bu da demyelinizasyonun bakır eksikliğinden kaynaklandığı tezini destekler yöndedir. (Love 1988). Bizim çalışmada da histopatolojik incelemelerde 5 ve 7. hafta cuprizon uygulanan deneklerin beyincikte artmış vakuolazisyon gözlenirken 4-7 haftalar arası cuprizon kullanılan deneklerdeki corpus collosum preparatlarında vakuolazisyon gözlenmemiştir. .

Love (1988), cuprizon cerebellar beyaz maddede, dişli çekirdeklerin göbeğinde ve superior cerebellar peduncle'da intramyelinik ödeme neden olduğunu bildirmektedir. Ödem piknozlarla ilişkilidir fakat farelerde cuprizon etkisinin tersine, nadiren oligodendrositlerde de dejenerasyon görülmüştür. Cuprizon ile beslemeye devam edilmesine rağmen belirgin aksonal rejenerasyonlar görülmüştür (Love 1988). Altı haftalık

cuprizon uygulaması ile hem elektrofizyolojik hem de histopatolojik olarak demyelinizasyon görülmüştür. Yedi haftalık cuprizon uygulaması ise bir remyelinizasyon olduğunu düşündüren sonuçlar vermiştir ve aksonal dejenerasyon açısından bakıldığında verilerimizin Love (1988) verilerini destekler niteliktedir. Aksonal dejenerasyonun sinir iletim hızını etkileyebileceği öngörülmesi ile elektrofizyolojik ölçümler gerçekleştirilmiştir ve 6 hafta cuprizon alan sıçanların sinir ileti hızı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık olduğu ($P<0,05$), kontrol grubu ile diğer gruplar arasında böyle bir farkın olmadığı belirlenmiştir.

Cammer (1999), cuprizona bağlı hücre hasarının neonatal sıçan beyninden elde edilen oligodendrositlerle zenginleştirilmiş glial hücre kültürlerinde ve karışık glial hücre kültürlerinde oluştuğunu göstermiştir. Love (1988) un çalışmalarından sonra 2006 yılına kadar sıçanlarda in-vivo cuprizon çalışmaları ile ilgili literatür bilgisi bulunmamaktadır. Adamo ve ark. (2006), süttten kesilmiş olgun wistar sıçanların 2 hafta süresince % 0.6 cuprizon içeren yemle beslenmesi sonucunda merkezi sinir sistemindeki miyelinlerde hasar görüldüğünü bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise %1 lik cuprizonun gavaj yolu ile verilmesi sonucu benzer şekilde kısmi MSS hasarı histopatolojik olarak gözlenmiştir.

Blackmore (1973) göre cuprizondan etkilenmiş erişkin hayvanların demiyelinizasyon ve remiyelinizasyon büyüklüğü ve oranı yenidoğanlardan etkilenenlerinkilerle yakın seviyede olması cuprizonun oligodendroglialara etkisinin yaşa bağlı olmadığını göstermektedir (Politis ve ark., 1980). Bu iddianın tersine, Matsushima ve Morell (2001) demiyelinizasyonun oluşması için cuprizon uygulama süresi uygulanacak hayvanın yaşına göre değişiklik gösterdiğini, bazı çalışmalarda süttten kesilmiş genç farelerde 4 haftalık cuprizon uygulaması ile demiyelinizasyon görülürken daha yaşlı farelerde demiyelinizasyon 8 haftaya kadar olan cuprizon uygulaması sonucu görüldüğünü bildirmiştir. Irvine ve Blackmore (2006) yaptıkları çalışmada demiyelinizasyon dağılımının genç erişkin ve yaşlı farelerde benzer olduğunu ve demiyelinizasyon genişliğinin genç erişkin farelerde çok az büyük olabileceğini bunun yanında elektron mikroskopuyla demiyeline alanlar ve bunun dışında kalan yani hasara seyirci kalan, demiyeline olmayan alanlardaki aksonlar kesilerek karşılaştırıldığında demyelinizasyonun yaş ile arttığını bildirmişlerdir. Bu sonuçlar bu çalışmada kullanılan 1 yaşında yetişkin sıçanların erişkin farelerdeki cuprizon etkisi gibi olabileceğini düşündürmektedir.

Adamo ve ark (2006), Love (1988) ile kendi sonuçlarının arasında farklılık olmasının nedenini morfolojik gelişimin tam olarak bilinmemesine dayandırmaktadır. Çünkü Love wistar sıçanlarda cuprizon ile demiyelinizasyon oluşumu olmadığını, bununla birlikte diğer sıçan türlerinde cuprizona bağlı merkezi demiyelinizasyon oluşumunun muhtemel olduğunu bildirmiştir. Kullandığımız wistar türü sıçanlar bizim laboratuvarlarımızda yüksek oranda kendi içinde melezlenmiş olmasından dolayı % 100'e yakın oranda saf ırk olarak kabul edilebilir, buna karşılık Love'ın kullandığı ırkın saflığı hakkında net bilgiler mevcut değildir. Aynı zamanda daha önceden yapılmış denemelerin hepsinde cuprizon toz haldeki yeme eklenerek verilmiştir. Bu durumda hayvanlar toz haldeki yemi burunlarıyla karıştırmak suretiyle cuprizonun az olduğu taraflardan yiyebileceği, cuprizonlu yemin kokusunu ve tadını sevmeyen hassas hayvanların ise uzun süre aç durabileceği ve sonuçta her hayvanın cuprizon alımının farklı olabileceği tezinden hareketle cuprizon uygulamasının ağızdan gavaj yöntemiyle kendi laboratuvarımızdaki hayvanlarda değişik sürelerde uyguladığımızda daha sağlıklı sonuçlar vereceğini düşünülmüştür.

Bu çalışmada miyeline spesifik boyama ile yapılan histopatoloji çalışmalarının sonuçlarında corpus collosumda demiyelinizasyon görülmektedir. Bu sonuçlar Adamo ve ark (2006) ve Pasquini ve ark (2007) çalışmalarıyla uyumluluk göstermektedir. Buna ek olarak beyincik de histopatolojik olarak incelendiğinde lokal demiyelinizasyon alanları ve artmış vakuolizasyonlar görülmektedir. Beyincikte 5 hafta ve 7 hafta cuprizon alan sıçanlarda lokal demiyeline alanlar ve vakuolasyonlar belirgin olarak görüldü. 6 hafta cuprizon alan sıçanların beyinciklerinde vakuolizasyonlar görülmezken demiyeline alanın 5 ve 7 hafta cuprizon alanlara oranla daha büyük olduğu gözlemlendi. Benzer şekilde Mason ve ark.(2001) nın farelerle yaptığı deneyde cuprizon ile uzun süreli beslenen farelerde hem demiyelinizasyon hem de demiyelinizasyonun gözlemlendiği cuprizon ile beslemeye devam edildiğinde kronik lezyonların oluştuğunu bildirmişlerdir.

İnsanda ve hayvanlarda EMG ile güvenilir sinir ileti hızı ölçümleri yapılmıştır. İnsanlarda EMG ile sinir ileti hızı ölçümü klinikte hastalık teşhisinde de kullanılan bir parametredir. Ortalama motor sinir ileti hızları; insan spinal kordunda 100 m/s (Berne ve Levy 2008), köpeklerde 70 m/s (Sekiguchi ve ark. 2008), F dalga ileti hızı 77 m/s (Okuno ve ark 2002), tavşanlarda 35 m/s (Driscoll ve ark. 2002) ve A tipi sinirlerde yaklaşık 55

m/s (Jia ve ark. 2008), kedilerin F dalga ileti hızı 97 m/s (Okuno ve ark 2008), domuzlarda 58 m/s (Szentkuti ve ark 1990) ve sakral sinir kökünde yaklaşık 70 ile 80 m/s (Corneford 2001), kobaylarda ise 70 m/s (Hort-Legrand ve ark. 2006) olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada ise wistar-albino türü sıçanlarda spinal kordta sinir ileti hızı $76,54 \pm 4,76$ m/s olarak hesaplanmıştır.

Bu çalışmada ölçülmemekle beraber sıçanlarda sinir ileti hızı genellikle periferik sinirlerden hesaplanmaktadır (Hort-Legrand ve ark. 2006). Sıçanlarda siyatik sinirlerden ölçülen motor sinir iletim hız değerleri değişik çalışmalarda yaklaşık olarak 60 m/s (Stevens ve ark. 2000; Cotter ve Cameron 2003), 35 m/s (Obrasova ve ark. 2004) ve 55 m/s (Li ve ark. 2005) olarak hesaplanmıştır.

Cuprizon oligodendrositleri etkileyen bir nörotoksik olduğundan dolayı spinal kordu da etkileyebileceğini düşünülmüştür. Çünkü oligodendrositler merkezi sinir sisteminde beyin beyincik ve spinal kordta dağılmış olarak bulunmaktadır. Spinal kordta bir dejenerasyon sinir ileti hızını da etkileyebileceğinden dolayı bu çalışmada spinal kord sinir ileti hızı incelenmiştir. Sıçanlarda spinal kord sinir ileti hızı ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamakla beraber cuprizon etkisiyle sinir iletim hızındaki değişimi gösteren bulgularımız histopatolojik sonuçlar ile desteklenmektedir.

5. SONUÇ

Multipl skleroz henüz tedavisi bulanamamış bir hastalıktır ve deney hayvanları modelleri oluşturmak ve sonrasında tedavi edici muhtemel ilaçların denenmesiyle tedaviye biraz daha yaklaşmak bu sorunu çözmek adına atılabilecek önemli bir adımdır.

Cuprizon ile multipl skleroz modeli oluşturmak uzun yıllardır tartışılan, farelerde başarılı olunan ancak sıçanlardaki denemelerde farklı sonuçların yayınlandığı bir modeldir.

- Sıçanlarda spinal kordta sinir ileti hızı ölçümüyle MS oluşumu arasında ilişkinin ilk kez belirlendiği çalışma olup demiyelinizasyona bağlı olarak sinir iletim hızının düştüğü gösterilmiştir.
- Bir yaşındaki erkek sıçanlarda cuprizon ile MS oluşumunun gösterilen ilk çalışmadır.
- Yeme katılarak uygulanan cuprizon modellerinin aksine cuprizonun ağızdan gavajla verilmesi yöntemi de ilk kez bu çalışmada gösterilmiştir.
- Hayvanlara sadece %1 lik KMS verilmesi ile bunun sinir ileti hızında ve sinir dejenerasyonunda bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir.
- 5 ve 7 hafta cuprizon uygulanan sıçanlarda beyincikte vakuolasyonların ve sinir dejenerasyonunun olduğu gösterilmiştir.
- Cuprizon uygulanan grupların histopatoloji bulgularının incelenmesi sonucu hazırlanan preparatlarda corpus collosum bölgesinde vakuolasyona rastlanmamıştır.
- 7 hafta cuprizon alan sıçanlarda corpus collosumda kısmi dejenerasyonlar görülürken, sinir ileti hızının 6 hafta cuprizon alanlara uygulananlara kıyasla yüksek olması MS'in ataklarla seyreden tipine benzer olduğunu düşündürmektedir.

Bu çalışma sıçanlarda cuprizonun ağızdan gavajla 6 hafta verilmek suretiyle MS modelinin oluşturulabileceği sonucunu ortaya çıkarmıştır. Bunun yanında 6 haftanın sonunda sıçanların büyük çoğunluğunda demiyelinizasyon oluşumu hem sinir ileti hızında hem de histopatoloji sonuçlarında görülmüştür. Çalışmamızda MS oluşumunda spinal sinir ileti hızı denemesinin histopatoloji sonuçlarını destekler sonuçlar vermesi

MS'de spinal sinir ileti hızında hayvan modellerinde gösterilebilecek bir parametre olabileceği tezimizi desteklemiştir.

ÖZET

Multipl Skleroz (MS), merkezi sinir sisteminde miyelin yıkımını içeren, periferik sinir sistemini de etkileyebilen bir bozukluktur. Demiyelizasyon bozuklukları sonradan edinilen bir rahatsızlıktır ve aksonları nispeten koruyan miyelinlerin dejenerasyonu ile ortaya çıkmaktadır. Cuprizon modeli toksik demiyelinizan modelidir ve deney hayvanlarının cuprizon ile beslenmelerine dayanmaktadır. Bu çalışmanın amacı cuprizon modelinin wistar-albino türü sıçanlarda denenmesi ve sinir iletim hızındaki değişimlerin elektrofizyolojik olarak incelenmesidir.

Sıçanlar kendi aralarında 6 gruba ayrıldı. Cuprizon daha önce hazırlanmış olan %1 lik Karboksi-metil-seluloz (KMS) içerisinde karıştırıldıktan sonra ağızdan gavajla her gün, her gruba değişik sürelerde olacak şekilde uygulandı. Deney süresinin sonunda hayvanların medulla spinalisten EMG yardımıyla motor sinir ileti hızları ölçüldü. İğne elektrotlarıyla spinal kord uyarıldıktan sonra gastroknemius kası üzerinde EMG kayıt elektrotlarıyla elde edilen potansiyel olan Birleşik kas aksiyon potansiyellerinin (BKAP) analiziyle sinir ileti hızı hesaplandı. Hayvanlar sakrifiye edildikten sonra beyin ve beyincik dokularından histopatolojik inceleme yapıldı.

Normal yemle beslenen sıçanların spinal kord motor sinir ileti hızı $76,54 \pm 4,76$ m/s (Hız \pm Standart Hata (SH))olarak hesaplandı. Bu değer KMS ile beslenenlerde $88,04 \pm 9,11$ m/s, 4 hafta cuprizon ile beslenenlerde $72,01 \pm 6,90$ m/s, 5 hafta cuprizon ile beslenenlerde $68,10 \pm 13,53$ m/s, 6 hafta cuprizon ile beslenenlerde $46,35 \pm 1,95$ m/s ve 7 hafta cuprizon ile beslenenlerde $55,89 \pm 6,11$ m/s olarak hesaplandı.

Cuprizon uygulanan sıçanlarda motor sinir ileti hızları 4. haftadan itibaren düşme eğilimine girdi. Bu düşüş 6. haftada maksimum olarak gözlemlendi. 7. Hafta da ise motor sinir

ileti hızında artış görölmeye başlandı. Bu da bize Cuprizon modeli için wistar-albino türü sıçanlarda 6 hafta cuprizon uygulamasının MS için uygun olabileceğini gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Cuprizon; Multipl Skleroz; Sinir İleti Hızı; Spinal Kord; Wistar-Albino Sıçan

SUMMARY

Multiple Sclerosis is a disease that affects the Central Nervous System (CNS) by destructing myelin shield and also can affects the peripheral nervous system. Demyelination is acquired characteristics disease and appears with the degeneration of myelin which protects the axons. Cuprizone model is a toxic demyelination model and depends on feeding the animal by cuprizone. The purpose of this experiment is to try the cuprizone model on Wistar-Albino rats and to investigate the changes of spinal nerve conduction velocity by electrophysiological study.

Rats are separated 6 different groups. After adding and mixing the cuprizone in 1% carboxymethyl cellulose (CMC) had given to the groups in different time period by gavage from mouth, every day. At the end of the experiments spinal nerve conduction velocity was measured by EMG. After stimulating the spinal cord by needle electrodes, Compound muscle action potential (CMAP) detected from the above level of gastrocnemius muscle by EMG surface record electrodes and then spinal nerve conduction velocity calculated by analyzing the CMAP. Cerebrum and cerebellum were taken for histopathological investigation after the animals sacrificed.

Spinal cord nerve conduction velocity (SNCV) of rats who feed with normal fodder was calculated as 76.54 ± 4.76 m/s (Velocity \pm Standart Error (SE)). SNCV of the rats who feed with CMC was calculated as 88.04 ± 9.11 m/s, who feed with cuprizone during 4 weeks 72.01 ± 6.90 m/s, who feed with cuprizone during 5 weeks 68.10 ± 13.53 m/s, who feed with cuprizone during 6 weeks 46.35 ± 1.95 m/s, who feed with cuprizone during 7 weeks 55.89 ± 6.11 m/s.

SNCV of the rats who had feed with cuprizone began tendency of decrease after 4th weeks. These reductions were observed as maximum at 6th weeks. At 7th week increments

were observed at SNCV. These results indicated us 6 weeks of cuprizon feedings could be suitable to bring into existence of MS for Wistar-Albino type rats.

Key Words: Cuprizon; Multiple Sclerosis; Nerve Conduction Velocity; Spinal Cord; Wistar-Albino Rats

KAYNAKLAR

Adamo AM, Paez PM, Escobar Cabrera OE, Wolfson M, Franco PG, Paquini JM, Soto EF (2006) *Remyelination after cuprizone-induced demyelination in the rat is stimulated by apotransferrin*. *Experimental Neurology*, 198: 519-529

Aquino JB (2007) *Neural crest in development and repair*. Thesis for doctoral degree. Division of Molecular Neurobiology, Department of Medical Biochemistry and Biophysics Karolinka Institute, Stokholm, Sweden. Sayfa 9

Berne RM, Levy MN, Koeppen BM, Stanton BA (2008) *Fizyoloji*. Öncü Basımevi 5. Baskı Sayfa: 81-86

Bloom W, Fawcett DW (1975) *A Textbook of Histology*. WB Saunders Co. Sayfa: 333-340

Cammer W (1999) *The neurotoxicant, cuprizone, retards the differentiation of oligodendrocytes in vitro*. *Journal of Neurological Sciences*, 168: 116-120

Cornefjord M, Olmarker K, Otani K, Reydevik B (2001) *Effects of Diclofenac and ketoprofen on nerve conduction velocity in experimental nerve root compression*. *Spine* 26: 2193-2197

Cotter MA, Cameron NE (2003) *Effect of the NAD(P)H oxidase inhibitor, apocynin, on peripheral nerve perfusion and function in diabetic rats*. *Life Sciences*. 73:1813-1824.

Driscoll PJ., Glaby MA, Lawson GM (2002) *An in-vivo study of peripheral nerves in continuity: biomechanical and physiological response to elongation*. *Journal of Orthopaedic Research* 20: 370-375

Gartner LP, Hiatt JL (1997) *Color Textbook of Histology*. WB Saunders CO. Pennsylvania Sf: 155-185.

Guyton AC, Hall JE (2006) *Textbook of Medical Physiology*. 11th edition Elsevier Saunders Pennsylvania Sf:57-71

Hort-Legrand C, Noah L, Mériguet E, Mésangeau D (2006) *Motor and sensory nerve conduction velocities in yucatan minipigs*. Lab. Anim. 40: 53-57

Huether SE, McCance KL (2004), *Understanding Pathophysiology*. 3 th edition, page:416-417

Irvine KA, Blakemore WF (2006) *Age increases axon loss associated with primary demyelination in cuprizone-induced demyelination in C57BL/6 mice*. Journal of Neuroimmunology 175: 69-76

Jia X, Zhen G, Putten A, Zhang J, Chen T (2008) *Improved long-term recording of nerve signal by modified intrafascicular electrodes in rabbits*. Microsurgery 2008; 28:173-178

Junqueiro LC, Carneiro J, Kelley RO (1993) *Temel Histoloji*. Barış Kitapevi İstanbul-Türkiye (Çeviri: D. Erdoğan) sayfa:196-230

Jurevics H, Hostettler J, Muse ED, Sammond DW, Matsushima GK, Toews AD, Morell P (2001) *Cerobraside synthesis as a measure of the rate remyelination following cuprizone-induced demyelination in brain*. Journal of Neurochemistry, 77: 1067-1076

Kumar V, Cotran RS, Robbins SL (2003) *Robbins Temel Patoloji*. 7.Baskı Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. İstanbul-Türkiye (Çeviri Prof. Dr. Uğur Çevikbaş)

Kumar V, Cotran RS, Robbins SL (1995) *Temel Patoloji* (Basic Pathology, 5 th edition), 2. baskı Nobel Tıp Kitapevleri : 729-731 sayfalar

Li F, Drel VR, Szabo C, Stevens MJ, Obrosova IG (2005) *Low-Dose Poly(ADP-Ribose) Polymerase Inhibitor-Containing Combination Therapies Reverse Early Peripheral Diabetic Neuropathy*. Diabetes 54: 1514–1522

Lindner M, Heine S, Haastert K, Garde N, Fokuhl J, Linsmeier F, Grothe C, Baumgartners W, Stangel M (2008) *Sequential myelin protein expression during remyelination reveals fast and efficient repair after central nervous system demyelination*. Neuropathology and Applied Neurobiology 34: 105-114

Love S (1988) *Cuprizone neurotoxicity in the rat: morphologic observations*. Journal of Neurological Sciences, 84: 223-237

Ludwin SK., MBBCh, FRCP (C) (1994) *Central nervous system remyelination: Studies in chronically damaged tissue*. the American Neurological Association Annals of Neurology Volume 36

Liebetanz D, Merkler D (2006) *Effects of commissural de-and remyelination on motor skill behaviour in the cuprizone mouse model of multiple sclerosis*. *Experimental Neurology*, 2002: 217-224

Mason JL, Langaman C, Morell P, Suzuki K, Matsushima GK (2001) *Episodic demyelination and subsequent remyelination within the murine central nervous system: changes in axonal caliber*. *Neuropathology and Applied Neurology* 27: 50-58

Matsushima GK, Morell P (2001) *The neurotoxicant, cuprizone, as a model to study demyelination and remyelination in the central nervous system*. *Brain Pathology*, 11: 107-116

Michailov GV, Sereda MW, Brinkmann BG, Fischer TM, Haug B, Birchmeier C, Role L, Lai C, Schwab MH, Nave KA (2004) *Axonal neuroglin-1 regulates myelin sheath thickness*. *Science* 304: 700-703

Mix E, Reinecker HM, Zettl UK (2008) *Animal models of multiple sclerosis for development and validation of novel therapies-potential and limitations*. *Journal of Neurology* 255: 7-14

Morell P, Barret CV, Mason JL, Toews AD, Hostettler JD, Knapp GW, Matsushima GK (1998) *Gene expression in brain during cuprizone-induced demyelination and remyelination*. *Molecular and Cellular Neuroscience* 12: 220-227

Obrosova IG, Li F, Abatan OI, Forsell MA, Komjati K, Pacher P, Szabo C, Stevens MJ (2004) *Role of Poly(ADP-Ribose) Polymerase Activation in Diabetic Neuropathy*. *Diabetes* 53: 711-720.

Okuno S, Kobayashi T, Orito K (2008) *F-Wave conduction velocity, persistence, and amplitude for the tibial nerve in clinically normal cats*. *Am. J. Veterinary Research* 69(2): 261-4

Okuno S, Kobayashi T, Orito K (2002) *F-wave latency and F-wave conduction velocity for the tibial nerve in clinically normal dogs*. *Am J Veterinary Research* 2002; 63(9):1262-4

Pasquini LA, Calatayud CA, Bertone Una AL, Millet V, Pasquini JM, Soto EF (2007) *The neurotoxic effect of cuprizone on oligodendrocytes Depends on the presence of Pro-inflammatory Cytokines Secreted by Microglia*. *Neurochem Res*, 32: 279-292

Pehlivan F (1997) *Biyofizik*. 2.baskı Hacettepe Taş Kitapçılık Ankara sf:173-175

Politis MJ, Schaumberg HH, Spencer PS (1980) *Neurotoxicity of Selected Chemicals* , *Experimental and Clinical Neurotoxicology* – Chapter 42 Section C page 616-617

Pons NF, Torrente M, Colomina MT, Vilella E (2007) *Behavioral deficits in the cuprizone-induced murine model of demyelination/remyelination*. Toxicology letter 169: 205-213

Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hall WC, Lamantia AS, McNamara JO, Williams SM (2004) *Neuroscience*. 3rd edition, Sinauer Associates, Inc. Sunderland, MA USA

Rodriguez M (2007) *Effectors of Demyelination and remyelination in the CNS: Implications for multiple sclerosis*. Brain Pathol 17:219-229

Sekiguchi M, Aoki Y, Konno S, Kikuchi S (2008) *The effect of Cilostazol on nerve conduction velocity and blood flow*. Spine 33(24): 2605-2611

Skripuletz T, Lindner M, Kotsiari A, Garde N, Fokuhl J, Linsmeier F, Trebst C, Stangel M (2008) *Cortical demyelination is prominent in the murine cuprizone model and is strain-dependent*. The American Journal of Pathology 172: 1053-61

Smith CUM (2002) *Elements of Molecular Neurobiology*. 3rd Edition. John Wiley & Sons Ltd. sf: 456

Stanfield CL, Germann WJ (2008) *Principles of Human Physiology*. 3th edition Pearson education, inc. sf: 168-175

Stevens MJ, Obrosova I, Cao X, Huysen CV, Greene DA (2000) *Effects of DL- α -Lipoic acid on peripheral nerve conduction, blood flow, energy metabolism, and oxidative stress in experimental diabetic neuropathy*. Diabetis 49: 1006-1015

Szentkuti L, Schlegel O, Sallai J (1990) *Neuromuscular transmission in the gastrocnemius muscle of young domestic and wild pigs*. Zentralbl Veterinarmed A 37(5): 339-47.

Torkildsen O., Brunborg LA., Myhr KM., Bo L. (2008) *The cuprizone model for demyelination*. Acta Neural Scand 117(Suppl. 118): 72-76

Welsh CJ, Steelman AJ, Mi W, Young CR, Storts R, Welsh TH, Meagher MW (2009) *Neuroimmune interactions in a model of multiple sclerosis*. Neuroimmunomodulation 1153: 209-219

Wheater PR, Burkitt HG, Daniels VG (1980) *Basic Histopathology*. Medical Division of Longman Group Limited Edinburgh-England

Willem M, Garratt AN, Novak B, Citron M, Kaufmann S, Rittger A, DeStrooper B, Saftig P, Birchmeier C, Haass C (2006) Control of peripheral nerve myelination by the β -Secretase BACE1. Science 314: 664-666

[1] www.dmacc.edu erişim tarihi 28/08/2009

ÖZGEÇMİŞ

27 Şubat 1981’de Karabük’te doğdum. İlköğrenimi mi Gökçebey/Zonguldak’ta tamamladıktan sonra Zonguldak Anadolu Öğretmen Lisesinde Lise öğrenimimi tamamladım. Daha sonra İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Fizik bölümünü kazandım ve 2006 yılında mezun oldum. Aynı yıl Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladım.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamda ilgi, yardım ve hoşgörüsünü eksik etmeyen danışmanım Yrd. Doç. Dr. Hayrullah KÖSE'ye, ADÜ Biyofizik anabilim dalı başkanı Doç. Dr. M. Dinçer BİLGİN'e, Çalışmalarım sırasında bilgi ve desteğiyle yardımcı olan ADÜ Nöroloji anabilim dalından Doç. Dr. Nefati KIYLIOĞLU'na, Histoloji çalışmalarımda yardımını esirgemeyen Uzman Doktor N. Tülin BOYLU'ya ve Patoloji teknikeri Şirin hanıma sonsuz destek ve anlayışlarından dolayı teşekkür ederim. Beni bugünlere getiren aileme sabır ve özverilerinden dolayı teşekkür ederim.