

Piramidal Hücre Yoğunluğu Bakımından Yeni Zelanda Albino Tavşanlarında Sağ ve Sol Hipokampusun Karşılaştırılması

Hayri GENÇ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Atakum, Samsun-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 17.07.1995

Özet: Beyin hemisferleri arasında yapısal bir asimetrinin varlığından hareket edilerek, bu çalışmada tavşan hipokampusunun piramidal hücre yoğunluğu bakımından birbiri ile karşılaştırılması amaçlandı. Deneyleerde; ergin, evcil Yeni Zelanda ırkı albino tavşanlar kullanıldı. Hayvanlar derin anestezi altında nötral formalinle (% 10) intrakardiyal yoldan perfüze yapıldı. Kafatası açılarak beyin çıkarıldı.

Seri frontal kesitler tionin ile boyandı. Stereotaksik atlas yardımıyla kesit seviyeleri tesbit edildi. Dorsal hipokampusun piramidal hücreleri ışık mikroskopunda X400 büyütme ile sayıldı. Sayıma sadece çekirdek ve çekirdekcikleri belli olan hücreler dahil edildi. Mikroskop alanında bulunan hücre sayısı milimetreye düşen hücre sayısına çevrildi.

Elde edilen sonuçlar Student'in "t" testi kullanılarak karşılaştırılıp değerlendirildi. Sağ ve sol hipokampusta piramidal hücre yoğunluğu bakımından bir asimetrinin bulunduğu fakat asimetrinin istatistik açıdan önemli olmadığı anlaşıldı ($P>0.05$)

Anahtar Sözcükler : Tavşan, hipokampus, piramidal hücre, asimetri

A Comparison of the Right and Left Hippocampus in the Rabbit Brain in Terms of Cell Density

Abstract: The aim of this study was to investigate the structural asymmetry between the hemispheres by comparing the number of pyramidal cells in the right dorsal hippocampus with left dorsal hippocampus in the rabbit brain. Six adult domestic New Zealand rabbits were used in experiments. All animals were perfused intracardially with neutral formaline (10 %) under deep anaesthesia.

The serial frontal sections were stained with thionin. The rostro-caudal level of these sections were determined by using a stereotaxic atlas of the rabbit brain. The number of pyramidal neurons was determined by counting identifiable neurons which had distinct nucleus and nucleolus. The number of cell per millimeter was calculated in both side of dorsal hippocampus under light microscope with a magnification of 400 X.

The results were analysed by using "student t" test. It's identified that from the literary point of view density in the right and left hippocampal pyramidal cells have an asymmetry but not important statistically ($P>0.05$).

Key Words: Rabbit, hippocampus, pyramidal cell, asymmetry.

Giriş

—Beyin hemisferlerinin lateral ventrikülleri içine doğru çıkıntılar yapan hipokampus; subkulum, hipokampus ve girus dentatus gibi yapılardan meydana gelmiştir (1,2). Hipokampus, CA1, CA2, CA3 ve CA4 olmak üzere bölgelere ayrılmıştır (3).

İnsan beyinde hemisferler arasında yapısal bir asimetrisinin varlığı Galaburda ve arkadaşları (4) tarafından bildirilmiştir. Oke ve arkadaşları (5) beyinde norepinefrinin asimetrik dağılıdığının yayınlamışlardır. Diamond ve arkadaşları (6,7,8) erkek sıçanlardaki serebral korteks ölçümlerinin çoğunda sağ serebral korteksin soldan daha kalın olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca Diamond ve arkadaşlarına (7), göre hipokampus kalınlığı cinsiyete ve sağ-sol hemisferlere göre farklılık göstermektedir.

Fonksiyonel asimetrisinin kaynağı, yapısı ve sonuçları tam olarak tesbit edilememiştir. Fonksiyonel asimetriyi ağırlıktaki, büyüklükteki ve boyutlardaki farklılık ile açıklamak isteyen araştırmacılar vardır (9,10).

Beyin korteksinde veya korteks altı yapılarda bulunan nöronlar normalden daha fazla aktivite gösterip ve bu aktivite uzun süre devam ettiğinde beyinde histolojik değişmelerin olabileceği ileri sürülmüştür (11,12).

Çalışmanın amacı Yeni Zelanda ırkı albino tavşanlarda, piramidal hücre yoğunluğu bakımından sağ ve sol hipokampuslar arasında bir asimetrisinin bulunup bulunmadığını araştırmaktır.

Materyal ve Metot

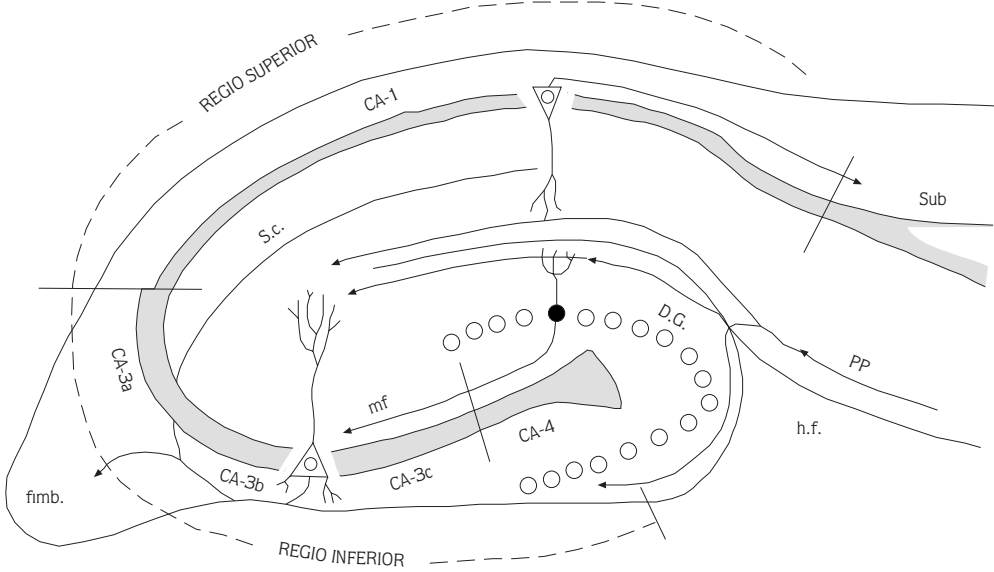
Deneylerde yaşları 4-6 ay, ağırlıkları 2-3 kg. olan erişkin, evcil erkek ve dişi Yeni Zelanda ırkı albino tavşanlar (*Oryctolagus cuniculus huxleyi*) kullanıldı. Deneye altı hayvan dahil edildi. Seksüel dimorfizmden bahseden ve bahsetmeyen çalışmalar bulunmaktadır (4,5,6,7,8). Çalışmamızda cinsiyet farklılığı göz önüne alınmadı. Hipokampusun daha belirgin olması ve nörolojik çalışmalarda fazla kullanılması bakımından tavşan tercih edildi.

Genel anestezi olarak uretan (1.25 gr/kg) kullanıldı. Perfüzyona derin anestezi altında intrakardiyal yoldan heparinli serum fizyolojik ile başladı ve nötral formaldehit ile devam edildi. Perfüzyondan hemen sonra kafatası açılarak beyin çıkarıldı ve yeni hazırlanmış % 10'luk formaldehit içerisinde +4 C'de saklandı. Dehidrasyon işlemi takiben parafin bloklara alındı. Bloklardan 100 mikronda bir 6 mikron kalınlığında alınan koronal kesitler tünin ile boyandı (13).

Kesit seviyeleri stereotaksik atlas (14,15) yardımıyla tesbit edililerek anterior-posterior yönünde (Bulbus olfaktoriustan serebelluma doğru) gruplandırıldı. Siesjö ve Wieloch'dan adapte edilen şekle göre (16) kesit seviyelerinden, sağ ve sol dorsal hipokampusun CA1, CA3 ve CA4 bölgelerindeki çekirdek ve çekirdekçikleri belli olan piramidal hücreler Nikon marka şaryolu ışık mikroskobunda 10 x 40 büyütme ile mikroskob alanı kaydırılarak sayıldı (Şekil 1). Bir mikroskob görüntü alanının çapı 450 mikron olarak ölçüldü. Her hayvan için ayrı ayrı tutulan tablolara, kesit seviye ve bölgelerine göre birim mikroskop alanından sa-

yılan hücreler not edildi. Kesit seviye ve bölgelerinden sayılan toplam uzunluk mikron olarak bulundu. Mikron olarak bulunan uzunluk milimetreye çevrildi. Toplam hücre sayısı, milimetre cinsinden sayım yapılan uzunluğa bölünerek milimetreye düşen hücre sayısı hesaplandı.

Milimetreye düşen hücre sayısı bakımından sonuçlar Student'in "t" testi ile değerlendirildi.



Şekil 1. Hipokampusun organizasyonu. Sub: Subiculum, D.G.: Gyrus dentatus, h.f.: Hipokampal fissür, pp: Perforant yol, mf: Mossy lifleri, S.c: Schaffer kollateralleri, fimb: Fimbria. CA-1-CA-4 Piramidal hücre şeridi (Siesjö ve Wieloch, 1986).

Bulgular

Mikroskop alanı esas alınarak ve bu alan kaydırılarak, sağ dorsal hipokampus ile sol dorsal hipokampusun çeşitli bölgeleri hücre yoğunluğu bakımından karşılaştırıldı (Tablo 1). Tabloya göre sağ hipokampusta hücre yoğunluğu sol hipokampustakinden fazladır, fakat aradaki fark istatistik açıdan önemli değildir ($p>0.05$). Mikroskop alanı mm'ye çevrilerek hücre yoğunluğu mm cinsinden hesaplandı.

Buna göre sağ hipokampusun CA1 bölgesinde sayım yapılan piramidal hücre tabakasının uzunluğu 144.9 mm; bir mm'ye düşen hücre sayısı ise $241.7 \pm 6.1/\text{mm}$ (Ortalama \pm Standart Hata) olarak tesbit edildi. CA3a, CA3b ve CA3c bölgelerinden sayım yapılan tabakanın uzunluğu ile hücre yoğunlukları sırasıyla şöyledir: 24.8 mm, $305.1 \pm 25.0/\text{mm}$; 42.3 mm, $119.1 \pm 3.7/\text{mm}$; 18.0 mm, $255.6 \pm 17.3/\text{mm}$. Total olarak CA3'de 85.1 mm'de yapılan sayımda ortalama $226.7 \pm 14.8/\text{mm}$ hücre yoğunluğu bulundu. CA4'de 42.8 mm'lik uzunlukta $137.8 \pm 5.1/\text{mm}$; sağ hipokampusun toplamında ise 272.7 mm'de yapılan sayımda 1 mm'ye düşen piramidal hücre yoğunluğu $211.9 \pm 10.8/\text{mm}$ (Ortalama \pm Standart Hata) olarak tesbit edildi (Tablo 2).

Sol hipokampusta; CA1 bölgesinden sayım yapılan 131.4 mm'lik uzunlukta hücre yoğunluğu $239.2 \pm 5.1/\text{mm}$ idi. CA3a, CA3b ve CA3c bölgelerindeki uzunluk ile bunlara ait yoğunluklar da sırası ile 24.4 mm, $283.8 \pm 24.0/\text{mm}$; 42.3 mm, $115.7 \pm 3.6/\text{mm}$; 17.1 mm, $246.4 \pm 17.5/\text{mm}$ olarak bulundu. Total olarak CA3'de 83.8 mm'de yapılan sayımda $215.3 \pm 14.8/\text{mm}$ (Ortalama \pm Standart Hata); CA4'den 42.3 mm'de $130.7 \pm 2.2/\text{mm}$ ve sol hipokampusun toplamında 257.5 mm uzunlukta yapılan sayımda 1 mm'ye $203.2 \pm 10.4/\text{mm}$ (Ortalama \pm Standart Hata) piramidal hücre düştüğü bulundu (Tablo 2). Toplam olarak sağ ve sol hipokampuslar arasındaki yoğunluk farkı (% 4.1) istatistik açıdan önemsizdir ($p > 0.05$; Tablo 2).

Tablo 1. Kesit Seviyelerine Göre Dorsal Hipokampusta Piramidal Hücre Yoğunluğu

Ant-Post Kes. Sev.	Bölge	Sağ*	Sol*	t	%Hücre farkı	p
13.5	CA1	255.5 \pm 7.6	252.5 \pm 11.0	0.2007	1.15	>0.05
	CA3a	363.0 \pm 19.2	333.6 \pm 21.0	0.9418	8.09	>0.05
	CA3b	127.0 \pm 6.5	123.2 \pm 7.0	0.3659	3.02	>0.05
	CA3c	285.0 \pm 18.8	268.0 \pm 16.8	0.6005	3.50	>0.05
	CA4	258.3 \pm 24.9	247.2 \pm 23.3	0.3152	4.28	>0.05
	CA4	138.5 \pm 8.1	133.3 \pm 11.3	0.3409	3.73	>0.05
	Total	233.8 \pm 17.4	225.5 \pm 16.6	0.3373	3.53	>0.05
13	CA1	249.7 \pm 10.6	248.6 \pm 13.6	0.0574	0.43	>0.05
	CA3a	328.3 \pm 35.4	318.3 \pm 37.3	0.1771	3.04	>0.05
	CA3c	266.9 \pm 18.4	258.7 \pm 21.0	0.2683	3.07	>0.05
	CA3	240.4 \pm 24.2	233.2 \pm 24.1	0.2059	3.00	>0.05
	CA4	153.3 \pm 15.6	136.6 \pm 10.8	0.7990	10.82	>0.05
	Total	224.8 \pm 16.4	217.0 \pm 16.6	0.3221	3.50	>0.05
12.5	CA1	238.2 \pm 5.4	232.9 \pm 6.5	0.5793	2.24	>0.05
	CA3a	302.3 \pm 29.8	273.6 \pm 31.7	0.6725	9.48	>0.05
	CA3b	112.0 \pm 2.6	109.9 \pm 1.0	0.8672	2.38	>0.05
	CA3c	274.0 \pm 21.8	252.4 \pm 11.9	0.7940	7.88	>0.05
	CA3	229.5 \pm 22.4	211.8 \pm 20.6	0.5645	7.69	>0.05
	CA4	134.1 \pm 7.2	128.4 \pm 6.1	0.5520	4.25	>0.05
	Total	212.1 \pm 15.2	199.3 \pm 14.1	0.6040	6.03	>0.05
12	CA1	243.5 \pm 5.1	222.7 \pm 6.3	0.0840	8.50	>0.05
	CA3a	227.0 \pm 18.3	209.8 \pm 20.1	0.5762	7.60	>0.05
	CA3b	111.8 \pm 3.7	107.6 \pm 3.8	0.7245	3.76	>0.05
	CA3c	196.6 \pm 21.8	189.4 \pm 19.4	0.2256	3.66	>0.05
	CA3	178.4 \pm 15.0	168.9 \pm 14.0	0.4510	5.32	>0.05
	CA4	125.4 \pm 5.4	125.0 \pm 7.0	0.0411	0.31	>0.05
	Total	176.8 \pm 10.7	170.9 \pm 10.3	0.3924	3.35	>0.05

*=Hücre sayısı / mm = Ortalama \pm Standart Hata

Ant-Post = Bulbus olfactoriustan serebelluma doğru alınan anterior-posterior kesit seviyeleri

Tablo 2. Bölgelere Göre Dorsal Hipokampusun Piramidal Hücre Yoğunluğu

Bölge	mm	Hücre Yoğunluğu /mm±SEM		Sol (n=6)	t	%Hücre farkı	p
		Sağ (n=6)	mm				
CA1	144.9	241.7±6.1	131.4	239.2±5.1	0.2557	1.05	>0.05
CA3a	24.8	305.1±25.0	24.4	283.8±24.0	0.5318	6.98	>0.05
CA3b	42.3	119.2±3.7	42.3	115.7±3.6	0.5959	2.78	>0.05
CA3c	18.0	255.6±17.3	17.1	246.4±17.5	0.3250	3.62	>0.05
CA3	85.1	226.7±14.8	83.8	215.3±14.8	0.4696	5.01	>0.05
CA4	42.8	137.8±5.1	42.3	130.7±2.2	1.0909	5.14	>0.05
Total	272.7	211.9±10.8	257.5	203.2±10.4	0.5015	4.11	>0.05

n= Hayvan Sayısı

Tartışma ve Sonuç

Sunulan çalışmada yaş ve generasyon farkı olmamasına dikkat edildi. Böylece yaşlılığın sebep olabileceği hücre kaybı ile generasyon farklılığının yol açabileceği hücre sayısı farklılığı ihtimalinin önüne geçildi.

Hücre sayımında, sayılan görüntü alanının milimetre olarak hesaplanmasında doku çekmesi dikkate alınmadı. Literatürde de doku çekmesinin hesaba katılmadığı görüldü (17).

Wasterlain ve Plum (18), 10 gün süreyle, günde bir elektrokonvulsif nöbet geçiren ve erişkin olmayan sıçanların beyinleride protein ile RNA'nın azaldığını, bunun hücre sayısındaki azalmadan ileri geldiğinin bildirmiştir.

Anterior-posterior kesit seviyelerine göre bütün bölgelerde 1 mm'ye düşen piramidal hücre sayısı sağ hipokampusta sola göre daha fazlaydı. Ancak aradaki fark istatistik açıdan önemli değildi ($p>0.05$; Tablo 1).

Bizim elde ettiğimiz bulguları destekleyen ve desteklemeyen çalışmalar bulunmaktadır. Nitekim insan beyinde hemisferler arasında yapısal bir asimetrinin varlığı Galaburda ve arkadaşları (4) tarafından bildirilmiştir. Oke ve arkadaşları (5), beyinde norepinefrinin asimetrik dağıldığını yayınlamışlardır. Diamond ve arkadaşları (6,7,8), erkek sıçanlardaki serebral korteks ölçümlerinin çoğunda, sağ serebral korteksin soldan daha kalın olduğunun göstermişlerdir. Ayrıca Diamond ve arkadaşlarına (7) göre hipokampus kalınlığı cinsiyete ve sağ-sol hemisferlere göre farklılık göstermektedir.

Dowling ve arkadaşları (19), Long evans erkek sıçanlarda ölçüm yaptıkları 9 alanın hep-

sinde, sağ serebral korteksin soldan daha kalın olduğunu ve çevresel faktörlerin korkital bölgelerdeki asimetri derecesini etkilediğini bildirmektedirler.

Galaburda ve arkadaşları (20), sıçanların primer görme kortekslerinin hacimleri arasında bir asimetrinin bulunduğunu bunun nöron sayısındaki farklılıktan kaynaklanabileceğini açıklamışlardır. Fonksiyonel asimetriyi ağırlıktaki, büyüklükteki ve boyutlardaki farklılık ile açıklamak isteyen araştırmacılar bulunmaktadır (9,10). Harris ve Dam (11,12) beyinde bulunan nöronların normalden daha fazla aktivite göstermeleri ve bu aktivitenin uzun süre devam etmesi durumunda beyinde histolojik değişmelerin olabileceğini belirtmişlerdir.

Çiftçi ve arkadaşları (21), erişkin erkek albino sıçanların dorsal hipokampusundan aldıkları anterior kesitlerde sol CA1 ve CA3 bölgesinin sağ tarafa göre daha çok hücre ihtiva ettiğinin göstermişlerdir. Ayrıca posterior kesitlerde sağ tarafta sola göre daha çok hücre bulunduğu aynı çalışmada vurgulanmaktadır. Dişi sıçanlarda ise dorsal hipokampusun anterior bölgesinin sağ tarafında, sola göre daha çok piramidal hücre olduğunu, posterior kesitlerde de anterior bölgesinin tam tersi bir durum olduğunu belirtmişlerdir.

Bulgularımıza göre sağ ve sol hipokampusta piramidal hücre yoğunluğu bakımından istatistik olarak önemli bir fark bulunmamıştır. % olarak hücre farkı bakımından asimetrinin bulunması, hemisferler arasındaki hacim farklılığına, sağ hemisferin sola göre daha geniş olmasına, fonksiyon ve aktivite farklılığına bağlanabilir.

Kaynaklar

1. Demeter, S., Rosene, D.L., Van Haesen, C.W., Interhemispheric pathways of the hippocampal formation, presubiculum and entorhinal and posterior parahippocampal in the Rhesus monkey: The structure and organization of the hippocampal commissures. *J. Comp. Neurol.* 233, 30-47, 1985.
2. Amaral, D.G., and Witter, M.P., The three-dimensional organization of the hippocampal formation: A review of anatomical data. *Neuroscience*, 31(3), 571-591, 1989.
3. Cohen, D.H., Sherman, S.M., The nervous system. In: Berne, R.M., Levy, M.N.(Edit) *Physiology the C.V. Mosby Company*, St. Louis, Toronto, 1983.
4. Galaburda, A.M., LeMay, M., Kemper, T.L., Geschwind, N., Right-Left Asymmetries in the Brain, *Science*, 199, 852-856, 1978.
5. Oke, A., Lewis, R., Adams, R.N., Hemispheric Asymmetry of Norepinefrine Distribution in the Rat Thalamus, *Brain Res.*, 188, 269-275, 1980.
6. Diamond, M.C., Johnson, R.E., Ingham, C.A., Morphological Changes in the Young, Adult and Aging Rat Cerebral Cortex, Hippocampus and Diencephalon. *Behavioral Biology*, 14, 163-174, 1975.
7. Diamond, M.C., Murphy, G.M., Akiyama, K., Johnson, R.E., Morphological Hippocampal Asymmetry in Male and Female Rats. *Experimental Neurology*, 76, 553-565, 1982.
8. Diamond, M.C., Johnson, R.E., Young, D. and Singh, S.S., Agerelated Mophologic Differences in the Rat Cerebral Cortex and Hippocampus: Male-Female, Right-Left, *Exp. Neurol.*, 81, 1-13, 1983.
9. Geschwind, N., Galaburda, A.M. (eds) *The Biological Foundations* pp: 1-232, Cerebral Dominance, Harward Üniv. Press. Cambridge, 1984.

10. Tan, Ü., Çalışkan, S., Allometry and Asymmetry in the Dog Brain: The Right Hemisphere is Heavier Regardless of Paw Preference. *Int. J. Neuroscience*, 35, 189-194, 1987.
11. Harris, A.B., Structural and Chemical Changes in Experimental Epileptic Foci, In: Lockard, J.S., Ward, A.A.Jr., Eds. *Epilepsy. A Window to Brain Mechanisms*, New York, Raven Press, 149-164, 1980.
12. Dam, A.M., Hippocampal Neuron Loss Epilepsy and After Experimental Seizures, *Acta Neurol Scandinav*, 66, 601-642, 1982.
13. Aker, O.N., *Laboratuvar El Kitabı Hususi Boyama Teknikleri*, Ankara Örnek Matbaası, 1954.
14. Bures, J., Petran, M., *Electrophysiological Methods in Biological Research*, 3 d Ed. Academic Press, 1967.
15. Urban, I., Richard, P., *A Stereotaxic Atlas of the New Zealand Rabbit's Brain*, 83 pp (Thomas, Springfield) 1972.
16. Siesjö, B.O. and Wieloch, T., Epileptic Brain Damage: Pathophysiology and Neurochemical Pathology In: A.V:Woodbury and R.J.Porter (Eds.) *Advances in Neurology*, New York, 44, 813-947, 1986.
17. Dam, M., Bolwing, T., Hertz, M., Bajorec, J., Lamax, P. and Dam, A.M., Does Seizures Activity Produce Purkinje Cell Loss. *Epilepsia*, 25, 747-751, 1984.
18. Wasterlain, C., Plum, F.: Vulnerability of Developing Rat Brain to Electroconvulsive Seizures. *Arch. Neurol*, 29, 38-45, 1973.
19. Dowling, G.A., Diamond, M.C., Murphy, G.M. and Johnson, R., A Morphological Study of Male Rat Cerebral Cortical Asymmetry, *Experimental Neurology*, 75, 51-67, 1982.
20. Galaburda, A.M., Aboitiz, F., Rosen, G.D., Sherman, G.F., *Histological Asymmetry in the Primary Visual Cortex of the Rat: Implications Mechanisms of Cerebral Asymmetry*, *Cortex*, 22, 151-160, 1986.
21. Çiftci, N., Taşçı, N., Açar, E., Kaplan, S., Ayyıldız, M., Marangoz, C., Erkek ve Dişi Sıçanlarda Dorsal Hipokampusun Piramidal Hücre Tabakasında Nöronal Asimometri, *Istanbul Tıp Fakültesi 9. Kurultayı*, 22-25 Eylül, 32-37, 1987.