



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NUCLEUS PEDUNCULOPONTINUS TEGMENTİ'DE
NÖROKİMYASAL ÖZELLİKLERİN GELİŞİMSEL OLARAK
İNCELENMESİ**

ÖZLEM SARIÖZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANATOMİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç.Dr. ÜMİT ŞEHİRLİ

İSTANBUL-2011

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Programın seviyesi : Yüksek Lisans (X) Doktora ()

Anabilim Dalı : ANATOMİ

Tez Sahibi : ÖZLEM SARIÖZ

Tez Başlığı : **Nucleus Pedunculopontinus Tegmenti'de nörokimyasal özelliklerin gelişimsel olarak incelenmesi**

Sınav Yeri : MARMARA ÜNİVERSİTESİ ANATOMİ ANABİLİM DALI

Sınav Tarihi : 21.07.2011

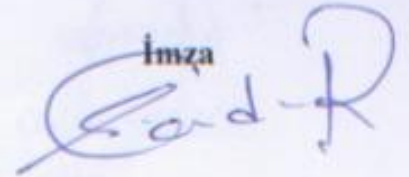
Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)

Kurumu

Prof. Dr. SAFİYE ÇAVDAR

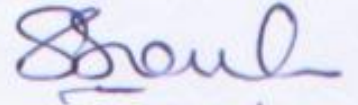
KOÇ ÜNİVERSİTESİ

İmza


Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)

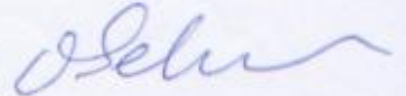
Doç. Dr. SERAP ŞİRVANCI

MARMARA ÜNİVERSİTESİ



Doç. Dr. ÜMİT ŞEHİRLİ

MARMARA ÜNİVERSİTESİ



Yukarıdaki jüri kararı Enstitü yönetim Kurulu'nun 26./07/2011 tarih ve 23 sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Gülden Z. OMURTAG

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

13.07.2011

Özlem SARIÖZ

TEŞEKKÜR

Anatomi Anabilim Dalında göre ve baŐladıđımdan günden beri akademik hayatı kendileriyle paylaŐma Őansına sahip olduğum bölüm baŐkanımız Prof.Dr. Safiye ÇAVDAR hocam ve tez danıŐmanım sayın Doç.Dr. Őmit ŞEHİRLİ hocama Őukranlarımı sunarım.

Tezimi hazırlama süresince her türlü desteklerini benden esirgemeyen Anatomi bölümünün tüm đretim yesi ve đretim elemanlarına sevgi ve teŐekkürlerimi sunarım

Hayattaki en büyük zenginliđim olan aileme gönülden teŐekkürü bir borç bilirim.

Temmuz 2011

Özlem SARIÖZ

KISALTMALAR VE SEMBOLLER LİSTESİ

PPN	Nucleus pedunculo pontinus tegmenti
PPNc	Nucleus pedunculo pontinus pars compacta
PPNd	Nucleus pedunculo pontinus pars dissipatus
GABA	Gamma-Aminobutyric Acid
REM	Rapid Eye Movement
SNr	Substantia nigra pars reticulata
SNC	Substantia nigra pars compacta
GPI	Globus pallidus pars internus
GPE	Globus pallidus externus
STN	Nucleus subthalamicus
MLR	Mesencephalic Locomotor Region
ChAT	Cholin acetyltransferase
GAD	Glutamic Acid Decarboxylase
LDTg	Nucleus laterodorsalis tegmenti
vGluT	Vesicular Glutamate Transporter
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
SMA	Supplementary Motor Area
DLPFC	Dorsolateral Prefrontal Cortex
OFC	Orbitofrontal Cortex
RF	Formatio reticularis
HBN	Habenula
SC	Medula spinalis

İÇİNDEKİLER

BEYAN	i
TEŞEKKÜR	ii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	iii
ŞEKİL VE TABLOLAR LİSTESİ	vi
ÖZET	1
SUMMARY	3
BÖLÜM I: GİRİŞ VE AMAÇ	5
BÖLÜM II: GENEL BİLGİLER	6
II.1. <i>Nucleus Pedunculopontinus Tegmenti</i>	6
II.1.1. Anatomi	6
II.1.2. Bağlantılar	8
II.1.3. Fizyoloji	14
II.1.4. İçerdiği Nöron Grupları	15
II.1.4.1. Kolinerjik nöron dağılımı	16
II.1.4.2. Gabaerjik nöron dağılımı	16
II.1.4.3. Glutamaterjik nöron dağılımı	18
II.1.5. Gelişimsel Özellikler	18
II.1.6. Nörokimyasal Özellikler	19
II.1.7. Elektrofizyolojik Özellikler ve Nöron Morfolojisi	20
II.1.8. İlaç Yanıtları	22
II.1.9. Derin Beyin Stimülasyonu ve PPN	23
II.1.10. Ödül ve öğrenme üzerine etkisi	24
II.1.11. Algılama ve dikkat	26
II.2. <i>Nucleus Pedunculopontinus Tegmenti</i> ile ilişkili hastalıklar	29

II.2.1.PPN'in Parkinson Hastalığındaki Rolü	29
II. 2.2.Anksiyete bozuklukları	29
II.3. Kalsiyum Bağlayıcı Proteinler	30
II.3.2. Kalbindin	31
BÖLÜM III. GEREÇ ve YÖNTEM	34
III.1.Araştırma Yöntemleri	34
III.1.1. Pedunculopontine nükleusun sınırlarının belirlenmesi	34
III.1.2. Kolinerjik Nöronların Tesbit Edilmesi	34
III.1.3. Kalbindin İçeren Nöronların Tesbiti	35
III.1.4. Nöron Görüntüleme	35
III.1.5.Boyanma alanlarının belirlenmesi	36
BÖLÜM IV: BULGULAR	37
IV.I. 7 günlük Sıçanda İmmunohistokimyasal Boyanmalar	37
IV.II. 14 günlük Sıçanda İmmunohistokimyasal Boyanmalar	37
IV.III. 21 günlük Sıçanda İmmunohistokimyasal Boyanmalar	38
BÖLÜM V: TARTIŞMA ve SONUÇ	43
KAYNAKLAR	48

ÖZGEÇMİŞ

ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil II.1** : Nucleus pedunculopontinus tegmentinin sıçan beyninde gösterimi.
- Şekil II.2** : Macaca mulatta 'ya ait coronal beyin kesitinde PPN
- Şekil II.3** : Basal ganglia döngüsü
- Şekil II.4** : PPN'in tüm mediolateral seviyeleri boyunca kolinerjik ve gabaerjik nöron dağılımları
- Şekil II.5** : PPN'den alınan ekstrasellüler tek hücre kaydı
- Şekil II.6** : PPN nöron ateşleme hızı, aksiyon potansiyeli, değişkenlik katsayısı
- Şekil II.7** : Primat PPN'ine gelen Major uyarılar
- Şekil II.8** : PPN' in major projeksiyonları
- Şekil II.9** : Sağlıklı ve Parkinson hastalığına sahip bireylerde basal ganglia döngüsü
- Şekil II.10** : PPN içerisindeki farklı nöron gruplarının şematik olarak representasyonu
- Şekil III.1** : Kolinasetil transferaz boyama yapılan PPN görüntüsü
- Şekil III.2** : 7 günlük sıçan PPN 'inde boyanmış kolinerjik ve CB + nöronlar
- Şekil III.3** : 14 günlük sıçan PPN 'inde boyanmış kolinerjik ve CB + nöronlar
- Şekil III.4** : 21 günlük sıçan PPN 'inde boyanmış kolinerjik ve CB + nöronlar

TABLULAR LİSTESİ

- Tablo II.1** : Nucleus pedunculo pontinus tegmenti'nin efferent bağlantıları
- Tablo II.2** : Nucleus pedunculo pontinus tegmenti'nin afferent bağlantıları
- Tablo II.3** : PPN' de bulunan ChAT, vGluT2 mRNA ve GAD mRNA immunoreaktivitesi gösteren 3 alt nöron grubunun oranları
- Tablo III.1** : 7., 14. ve 21. Günlük sıçanların nöron çaplarının karşılaştırılması
- Tablo III.2** : 7. ve 14.günlerdeki sıçanların nöron çap ortalamaları karşılaştırılması
- Tablo III.3** : 14. ve 21 günlerdeki sıçanların nöron çap ortalamaları karşılaştırılması
- Tablo III.4** : 7 ve 21. günlerdeki sıçanların nöron çap ortalamaları karşılaştırılması
- Tablo III.5** : 7.,14. ve 21 günlük sıçanların PPN bölgesinde bulunan kalbindin pozitif nöron sayıları karşılaştırılması
- Tablo III.6** : 14 ve 21 günlük sıçanların PPN bölgesinde bulunan kalbindin pozitif nöron sayıları karşılaştırılması
- Tablo III.7.** : 7 ve 14 günlük sıçanların PPN bölgesinde bulunan kalbindin pozitif nöron sayıları karşılaştırılması

ÖZET

Nucleus Pedunculopontinus Tegmenti (PPN) kaudal tegmentum yerleşimli, sınırları belirsiz bir beyin sapı nükleusudur. Lokomotor hareketlerin oluşumunda ve kontrolünde rol oynaması yanı sıra uyku uyanıklık, davranış, öğrenme, dikkatle de ilişkilendirilmiş olması sebebiyle son dönemlerde PPN ile yapılan çalışmalara ilgi artmıştır. Nöron yoğunluğuna göre anatomik olarak iki alt gruba; pars compacta (PPNc) ve pars dissipatus (PPNd) ayrılır. Bu nükleus içinde kolinerjik, glutamaterjik, dopaminerjik, noradrenerjik ve GABAerjik nöronlar tanımlanmıştır. GABAerjik nöronların uyku uyanıklık siklusunun düzenlenmesi, hareketin oluşması ve dikkat ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Son dönemde yapılan bir çalışma ile PPN'in sınırlarının klasik olarak kolinerjik nöronlar ile belirleniyor olmasına karşın GABAerjik nöronların sayısının kolinerjik nöronlardan daha fazla olduğu saptanmıştır.

PPN fonksiyonları gelişimin çeşitli dönemlerinde ortaya çıkmaktadır. Bazı lokomasyon paternleri (zıplama veya koşma) ikinci postnatal haftada, keşfetme davranışı ise daha sonra ortaya çıkmaktadır. PPN'de kolinerjik nöronların gelişimsel değişiminde kolinasetiltransferaz boyanması postnatal üçüncü günde azalmıştır ve ardından 14 ve 21 günlerde en üst noktaya ulaşan bir artış izlenmiştir. Motor hareketlerin kontrolü ve paradoksik uykunun düzenlenmesi PPN'deki kolinerjik nöronlarının gelişimsel dönemine bağlıdır. REM uykusunda 10. ve 30.günler arasında düşüş meydana gelmektedir. Davranışsal gelişimin daha iyi anlaşılabilmesi için kolinerjik sistemin dışında, monoaminerjik, GABAerjik ve glutamaterjik sistemlerin araştırılması gerekmektedir.

Bu çalışma ile PPN'de GABAerjik ve glutamaterjik nöronlar tarafından sentezlenen ve bir işaretleyici görevi gören kalsiyum bağlayıcı proteinlerden olan kalbindinin gelişimsel süreçteki değişimini inceledik. 7.,14., ve 21. Günlük sıçan beyinlerde yaptığımız immunohistokimyaal boyamalar sonucunda 7.günlükte ortalama 30, 14. Günlükte ortalama 11 ve 21 günlükte ortalama 150 nöronun kalbindin pozitif olduğunu gördük.

İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde 7 ile 14 ve 14 ile 21 günlük sıçanlarda kalbindin pozitif nöron sayıları karşılaştırdığında anlamlı bir farklılık gözlenmiştir (p=0.0075 ve p=0.0343).

Nöron çapları 7 günlüklerde ortalama 13 µm, 14 günlüklerde ortalama 11 µm ve 21 günlüklerde ortalama 13,5 µm olarak ölçülmüştür. Nöron çapları karşılaştırdığında 7 ile 21 ve 14 ile 21. günlerdeki sıçanların nöron çap ortalamaları arasında unpaired t-testine göre anlamlı bir farklılık gözlenmiştir (p=0.01) ve (p=0.0001).

Bu çalışma sonucunda belirtilen günler arasında PPN'de gelişimsel farklılıkların olduğu gösterilmiştir. Bunun yanı sıra geçmişte yapılan çalışmaları destekleyen ve katkı yapan sonuçlar elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Nucleus pedunculo pontinus tegmenti, kalbindin, GABAerjik, Glutamaterjik, Kolinerjik

SUMMARY

DEVELOPMENTAL INVESTIGATION OF NEUROCHEMICAL FEATURES IN NUCLEUS PEDUNCULOPONTINUS TEGMENTI

Pedunculopontine nucleus (PPN) is a brainstem nucleus with an obscure borders and located in the caudal tegmentum. In recent years, the number of studies related to PPN has been increasing due to its role in sleep/waking, behavior, learning, attention besides its role in generation and control of locomotion. PPN is divided into two parts according to the density of the cholinergic neurons; pars compacta (PPNc) and pars dissipatus. Besides cholinergic neurons, GABAergic, glutamatergic, dopaminergic and noradrenergic neurons have been described in the PPN.

There are studies which show that the GABAergic neurons are related to regulation of the sleep/waking cycle, generation of movement and attention. The borders of PPN has been determining according to cholinergic neurons. However, a very recent studies has shown that the number of GABAergic neurons is higher than the cholinergic neurons in PPN. The functions of the PPN develop at different developmental periods. Some of the locomotion patterns (running, jumping) start at the second postnatal week, discover starts in later period.

The acetylcholinesterase staining of the cholinergic neurons is decreased at 3. postnatal day and then a peak was at the 14 and 21 days was observed. The control of motor movements and regulation of paradoxical waking is dependant to the development of the cholinergic neurons in the PPN. There is a decrease in the duration of the REM sleep in between 10. and 30. days. The monoaminergic, GABAergic and glutamatergic systems should be investigated to understand the development of the behavior. In this study, the developmental change of a calcium binding protein calbindin in PPN was evaluated.

Calbindin is expressed by GABAergic and glutamatergic neurons. The number, location and diameters of calbindin positive neurons in PPN was evaluated in 7, 14 and 21 days rats. The mean number of neurons was 30 in 7 days, 11 in 14 days and 150 in 30 days rats. There were statistically significant differences between 7 and 14 days and 14 and 21 days rats ($p=0.0075$ ve $p=0.0343$ respectively). The

diameters of the neurons were 13 μm in 7 days; 11 μm in 14 days; 13,5 μm in 21 days.

There were statistically significant differences between 7 and 21 and also 14 and 21 days ($p=0.0001$ and $p=0.01$ respectively). This study indicates that there are critical developmental changes in PPN occur between these day intervals. These findings support and contribute to the findings of previous studies.

Key Words: Nucleus pedunculopontinus tegmenti, Calbindin, GABAergic, Glutamatergic, Cholinergic

BÖLÜM I. GİRİŞ ve AMAÇ

Kaudal tegmentumda yerleşimli sınırları belirsiz bir beyin sapı nükleusu olan PPN lokomotor hareketlerin oluşumunda ve kontrolünde rol oynaması yanı sıra uyku uyanıklık, davranış, öğrenme, dikkatle de ilişkilendirilmiştir.

PPN'in santral sinir sisteminin birçok bölgesine inen ve çıkan yollarla bağlantıları vardır. PPN'in *mesencephalon*'da yer alan lokomotor sistemin (MLR) bir parçası olduğu düşünülmektedir. PPN, REM uykusu ve uyanıklık modülasyonunda fonksiyonu olan retiküler aktive edici sistemin kolinerjik kolu olduğu gösterilmiştir. Davranışsal gelişimin daha iyi anlaşılabilmesi için kolinerjik sistemin dışında, monoaminerjik, GABAerjik ve glutamaterjik sistemlerin araştırılması gerekmektedir.

PPN içinde kolinerjik glutamaterjik, dopaminerjik, noradrenerjik ve GABAerjik nöronlar tanımlanmıştır. PPN son dönemlerde Parkinson hastalığının aksial semptomlarının tedavisi için potansiyel bir hedef haline gelmiştir. PPN'e uygulanan derin beyin stimülasyonu parkinson hastalarının yaşam kalitesini artırırken, PPN'e olan ilgiyi de arttırmaktadır.

Protein sentezi ve salınımı sırasında gerek duyulan önemli şaperon moleküller olan kalsiyum bağlayıcı protein ailesi üyesi kalbindin Alzheimer gibi nörodejeneratif rahatsızlıklarla ilişkilendirilmektedir.

Bu tez çalışması ile amacımız REM uykusu , Parkinson , anksiyete bozuklukları ile klinik önemi olan kalbindinin gelişimsel olarak 7.,14. ve 21. günlerdeki sıçan beynine ait *Nucleus Pedunculopontinus Tegmenti*'de incelenmesidir.

BÖLÜM II. GENEL BÖLÜM

II.1. *Nucleus Pedunculopontinus Tegmenti*

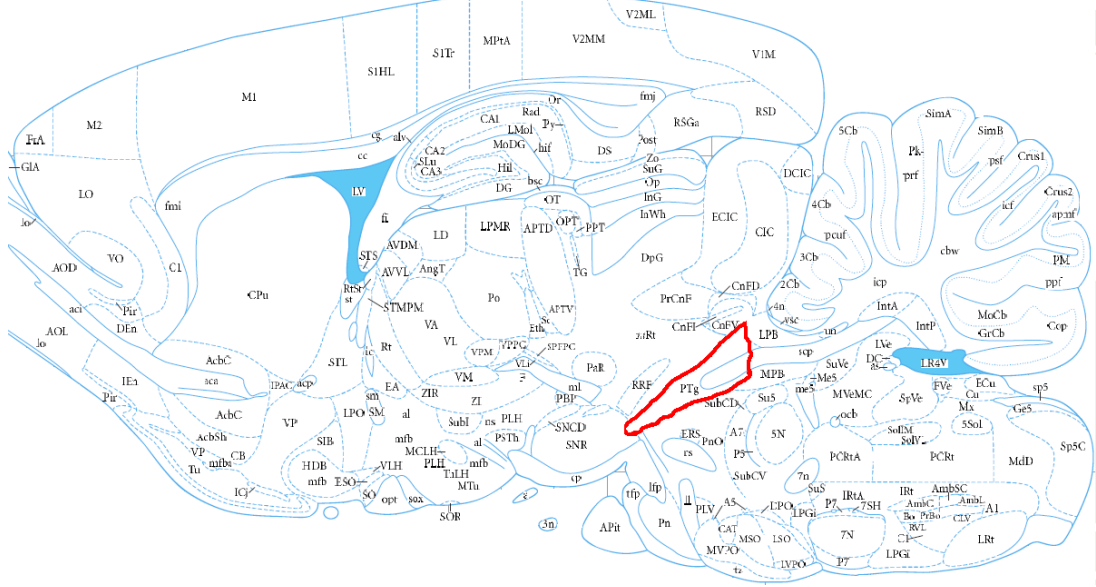
Tegmentum'un kaudal kısmında yerleşmiş olan *Nucleus Pedunculopontinus Tegmenti* (PPN) kolinerjik ve nonkolinerjik nöronlardan oluşmaktadır (1). Lokomotor hareketlerin oluşumunda ve kontrolünde rol oynadığı bilinen PPN'in basal çekirdeklerin yanı sıra farklı beyin bölgeleri ile de yoğun bağlantılar içermektedir (2). Son yıllardaki çalışmalar PPN'e olan ilginin arttığını göstermektedir. Bu ilgi, PPN'in bazı motor hareketlerin oluşmasıyla ilişkili olabileceğinin öne sürülmesi ile başlamıştır (3). Parkinson hastalığında görülen akinezi tedavisinde, derin beyin stimülasyonu uygulanan bir çekirdek olması da klinik önemini arttırmıştır (4). Motor fonksiyonlardaki rolü yanında PPN uyku uyanıklık, davranış, öğrenme, dikkatle de ilişkilendirilmiştir.

II.1.1. Anatomi

PPN kama şeklinde bir nükleus olup, substantia nigra pars reticulata'dan pedunculus cerebelli superior'a doğru dorsokaudal olarak uzanır (5). Rostral ucu nuclues ruber'in hemen altında, substantia nigra'nın dorsalinde bulunup, kaudale doğru locus coeruleus seviyesine devam eder (Şekil 1 ve Şekil 2).

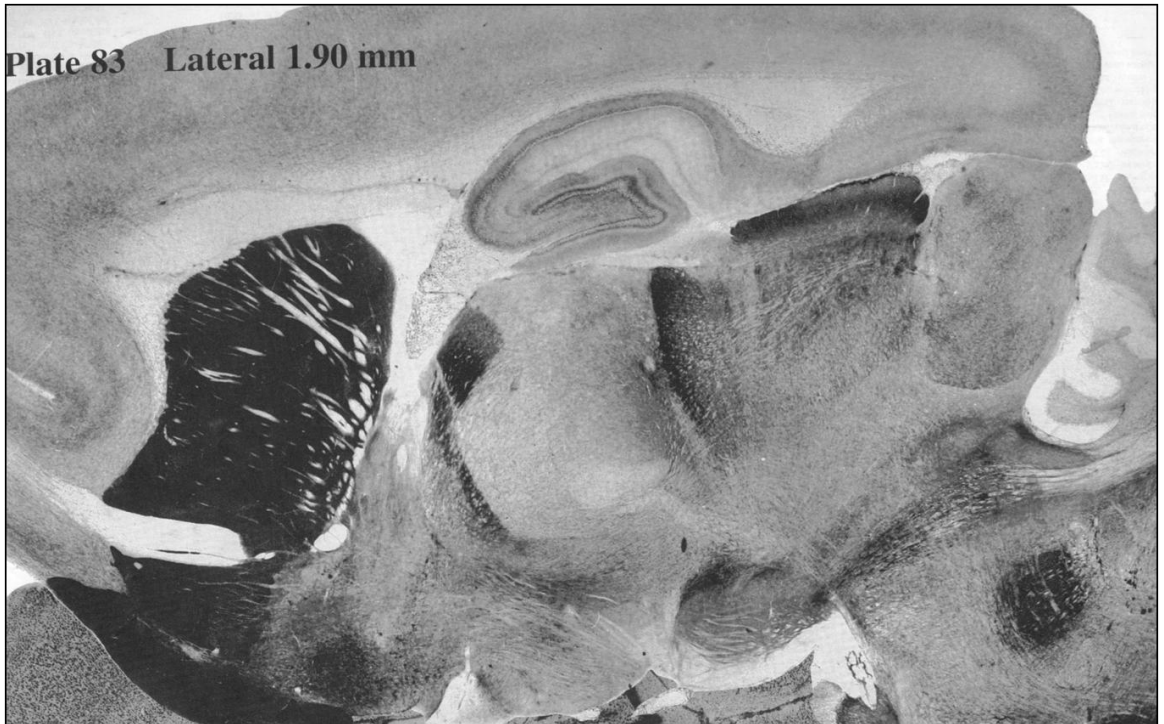
Olszewski ve Baxter, 1982 yılında insanda yaptıkları çalışma sonucunda PPN'i nöronların yoğunluklarına göre PPN pars compacta (PPNc) ve pars dissipatus (PPNd) diye iki kısma ayırmışlardır (6). PPNc nükleusun kaudalde kalan kısmıdır ve büyük nöronlardan oluşur. Bu nöronlar nükleusun dorsolateral kısmında yoğun olacak şekilde dizilim göstermişlerdir. PPNd ise nükleusun rostralkaudal hattında yerleşir, küçük ve orta boyutlu nöronlardan meydana gelir (6,13). PPNc kolinerjik nöronlardan oluşur. Bu iki farklı kısım içerdikleri kolinerjik nöron sayısı açısından farklılık göstermektedirler. PPN'deki çoğu hücrenin asetilkolin salgılamasına rağmen PPN'deki diğer pek çok hücre de farklı nörotransmitterler kullanmaktadır. PPN'de glutamaterjik (8,9), GABAerjik (10), dopaminerjik (11) nöronların bulunduğu gösterilmiştir.

(a)



Şekil 1: Nucleus pedunculopontinus tegmentinin sıçan beyinde gösterimi. (The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates Sixth Edition by George Paxinos and Charles Watson'dan alınmıştır).

(b)



uygulanan retrograd trase izleme boyaları çoğunlukla PPN'de boyanmaya neden olmuştur. Bu bölge bir miktar kolinerjik nöron içerse de genelde nonkolinerjik nöronlar içerir. İnen bağlantıların bazıları medulla spinalis'in servikal ve torakal bölgesinde *lamina indermediate*'da tek taraflı veya servikal bölgede *griseum centralis*'te bilateraldir (16-17),

2) Beyinsapı bağlantıları: *Formatio reticularis pontis ve medullaris* (18-23) , *nucleus motorius nervi trigemini* (24), *colliculus superior*, *nucleus oculomotorius*, *nuc.cuneiformis*, *nuc. parabrachialis*, *nuc. raphe dorsalis*, *cerebellum* ve duyu çekirdekleri. Kolinerjik ve nonkolinerjik efferent lifler *nuc. reticularis pontinus*'da bilateral olarak sonlanırlar (25).

PPN, *formatio reticularis*'in pons'ta yer alan kısmından medulla'da yer alan kısmına göre daha fazla lif alır. Asendan Retikular Aktivasyon Sistemi (ARAS) (*nuc. raphe*, *locus cereleus*, *nuc. tegmentalis laterodorsalis*, kontrolateral PPN) ile serotonerjik ve noradrenerjik bağlantıları vardır (26-30). Kontralateral PPN ile de kolinerjik bağlantıları mevcuttur (31).

3) Thalamus: PPN'nin kolinerjik nöronlarının thalamus ile dorsal asendan tegmental yollaklar aracılığıyla efferent bağlantıları vardır. PPN, *nuc. geniculatum mediale*, *nuc. geniculatum dorsolateralis*, ve *thalamus'un nuc.centrolateralis*, *nuc. dorsolateralis*, *nuc.ventroanterioris*, *nuc.ventrolateralis*'i yanı sıra yine *thalamus'un nuc. anteroventralis*, *nuc.ventromedialis*, *nuc.dorsomedialis* ve *nuclei reticularis intralaminaris* bağlantıları vardır. *Thalamus'un nuc. parafascicularis* ve *nuc. centromedianus*'u da PPN'den efferent lifler alırlar. PPN thalamusun *neocortex* ve *striatum*'a iletilerini etkiler. Asetilkolin (Ach), neokortikal sinaptik aktivitede önemli etkisi olan talamik ateşlemenin düzenlenmesinde rol oynar (32-33)

4) PPN'den kortikal projeksiyonları ve *ventral striatum'un* çıkış istasyonu olan hypothalamus lateraline ve kortekse yoğun kolinerjik innervasyon sağlayan *nucleus basalis magnocellularis* ile bağlantılar vardır (14,31). Bu kolinerjik nöronlara olan PPN bağlantılarının kolinerjik olup olmadığı net değildir, hatta nonkolinerjik olduğuna ilişkin bulgular vardır (34).

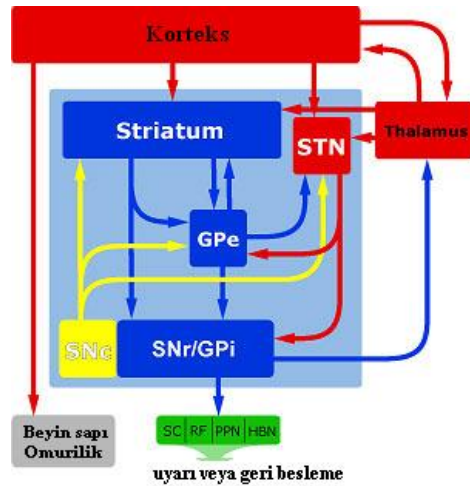
5) PPN basal ganglia ile de yoğun bağlantılara sahiptir.

PPN'den basal ganglia'nın çeşitli kısımlarını inerve eden glutamaterjik ve GABAerjik afferentleri olduğu gösterilmiştir. PPN *substantia nigra pars reticulata*

(SNr) ve *globus pallidus*'un iç kısmına (Gpi), *substantia nigra pars compacta* (SNc) ile bağlantıları mevcuttur (35,36). Bu nöronlar glutamat ve asetilkolin içerir (9). *Nuc. subthalamicus* (STN) ve sıçanda insandaki Gpi'ye denk gelen entopedunkular çekirdekdeki kolinerjik sonlanmaların PPN'den kaynaklandığı ve glutamat içerdiği düşünülmektedir (37). Mena-Segovia ve ark. (38) PPN'den *area tegmentalis ventralis*'e (VTA) glutamaterjik ve GABAerjik projeksiyoları göstermişlerdir. Bunun yanısıra STN'de ve VTA'daki dopaminerjik nöronların PPN'den gelen kolinerjik terminallerden uyarı (input) aldığı gösterilmiştir (39,40).

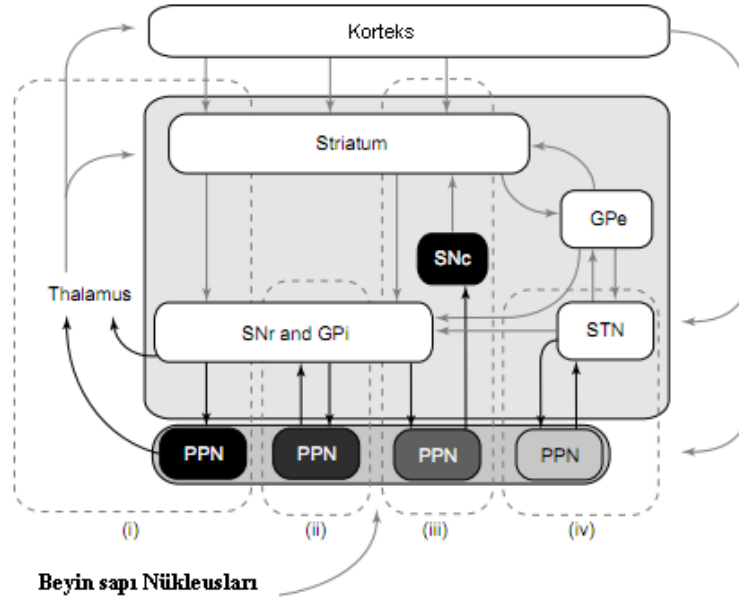
PPN'a *basal ganglia*'dan (SNr, Gpi) gelen liflerin PPN'ye GABAerjik ileti sağladıkları düşünülmektedir. Nigral GABAerjik aferentler glutamaterjik olduğu sanılan nonkolinerjik ve daha az miktarda kolinerjik nöronlarla bağlantıları içerir. SNr ve Gpi ile iki yönlü bağlantılarını gösteren çalışmalar mevcuttur. STN'e glutamaterjik bağlantıları gösterilmiştir. Basal ganglia'nın çıkış (output) çekirdeklerinin PPN nöronlarını doğrudan veya indirekt yoldan etkilediği düşünülmektedir (2). PPN'nin korteks-basal ganglia-talamokortikal döngüdeki rolünün hala araştırılması gerektiği düşünülmektedir.

Bu bilgiler ışığında aşağıda PPN'in basal ganglia döngüsündeki yeri aşağıdaki şemada verilmiştir (Şekil3a-b).



- PPN =nucleus pedunculopontinus tegmenti
- RF = formatio reticularis,
- HBN =habenula
- SC =medulla spinalis
- STN = nucleus subthalamicus
- GPe = globus pallidus'un dış kısmı
- GPi = globus pallidus'un iç kısmı
- SNr = substantia nigra pars reticulata
- SNc = substantia nigra pars compacta

Şekil 3a: Basal ganglia döngüsü. GABAerjik projeksiyonlar mavi, glutamaterjik kırmızı ve dopaminerjik sarı ile gösterilmiştir. Prof. Dr. Paul Bolam'ın web sayfasından alınmıştır. ([http://mrcanu.pharm.ox.ac.uk/groups/paul.html,\(02/04/2011\)](http://mrcanu.pharm.ox.ac.uk/groups/paul.html,(02/04/2011)))



Şekil 3b : Basal ganglia ve PPN arasındaki bağlantılar (i) PPN'in talamik hücrelere lifler gönderir, bu hücreler striatuma projekte olur. (ii) PPN ile basal ganglia çıkış nükleusları arasında karşılıklı bağlantılar mevcuttur. (iii) PPN SNc'deki dopaminerjik nöronları uyarır. (iv) PPN ve STN arasında karşılıklı ekstatuar olduğu varsayılan bir döngü vardır.

(Mena –Segovia 2004 yılı makalesinden alınmıştır).

Tablo 1: Nucleus pedunculopontinus tegmenti'nin efferent bağlantıları

Basal ganglia	
STN Caudal	Nomura et al. (1980), Carpenter et al. (1981), Saper and Loewy (1982), Edley and Graybiel (1983), Hammond et al.(1983), Lavoie and Parent (1994), Bevan and Bolam (1995), Muthusamy et al. (2007), Martinez-Gonzalez et al. (2009), Kita and Kita (2010)
EP/GPi Rostral	Saper and Loewy (1982), Gonya-Magee and Anderson (1983), Jackson and Crossman (1983), Woolf and Butcher (1986), Scarnati et al. (1988), Charara and Parent (1994), Lavoie and Parent (1994), Shink et al. (1997)
SN Rostral	Saper and Loewy (1982), Scarnati et al. (1984, 1987), Sugimoto and Hattori (1984), Woolf and Butcher (1986), Clarke et al. (1987), Gould et al. (1989), Nakamura et al. (1989), Bolam et al. (1991),

	Lavoie and Parent (1994), Futami et al. (1995), Oakman et al. (1995), 1999, Charara et al. (1996), Takakusaki et al. (1996)
VTA Caudal	Sugimoto and Hattori (1984), Oakman et al. (1995), Charara et al. (1996), Geisler and Zahm (2005), Mena-Segovia et al. (2005), Good and Lupica (2009)
STR	Saper and Loewy (1982), Nakano et al. (1990)
Thalamus	
MD Caudal	Steriade et al. (1988), Lavoie and Parent (1994)
VA Caudal	Caudal Smith et al. (1988)
VL Caudal	Caudal Smith et al. (1988)
VM Caudal	Caudal Smith et al. (1988)
Pf Caudal	Sugimoto and Hattori (1984), Kobayashi and Nakamura (2003), Kobayashi et al. (2007), Parent and Descarries (2008)
DG Caudal	Parent and Descarries (2008)
RT Caudal	Parent and Descarries (2008)
CM/CL/PV Caudal	Steriade et al. (1990), Erro et al. (1999), Krout et al. (2002)
Tectum	
IC Caudal	Mena-Segovia et al. (2008), Motts and Schofield (2009)
SC Caudal	Beninato and Spencer (1986), Hall et al. (1989), Krauthamer et al. (1995), Mena-Segovia et al. (2008)
Forebrain	
MgPA Rostral	Semba and Fibiger (1992), Losier and Semba (1993)
NbMC Rostral	Semba and Fibiger (1992)
Hypothalamus	Woolf and Butcher (1986), Hallanger et al. (1987), Ford et al. (1995)
LM-Sg	Hoshino et al. (2004)
RMTg	Jhou et al. (2009)
Brainstem	
PRF Caudal	Mitani et al. (1988), Semba et al. (1990), Takakusaki et al. (1996)
MVM Caudal	Skinner et al. (1990b)
MRF Caudal	Nakamura et al. (1989), Grofova and Keane (1991)
NPO Caudal	Garcia-Rill et al. (2001)
Spinal cord Caudal	Rye et al. (1988), Spann and Grofova (1989), Skinner et al. (1990a)

Tablo 2 | Nucleus pedunculopontinus tegmenti'nin afferent bağlantıları

Cerebral cortex	
FL	Semba and Fibiger (1992), Matsumura et al. (2000)
PAC	Schofield and Motts (2009)
MPC	Sesack et al. (1989)
Cerebellum	
DCN	Hazrati and Parent (1992)
Basal ganglia	
STN	Nauta and Cole (1978), Jackson and Crossman (1981), Hammond et al. (1983), Kita and Kitai (1987), Granata and Kitai (1989), Semba and Fibiger (1992), Florio et al. (2007)
EP/GPi Rostral	Smith et al. (1990), Moriizumi and Hattori (1992), Semba and Fibiger (1992), Shink et al. (1997), Parent et al. (2001)
SN Rostral	Noda and Oka (1986), Scarnati et al. (1987), Nakamura et al. (1989), Granata and Kitai (1991), Spann and Grofova (1991), Semba and Fibiger (1992), Saitoh et al. (2003)
VTA	Haber et al. (1990), Semba and Fibiger (1992)
STR	Semba and Fibiger (1992)
Tectum	
SC	Woolf and Butcher (1986), Redgrave et al. (1987), Semba and Fibiger (1992), Steininger et al. (1992)
Forebrain	
LC	Jones and Yang (1985), Habenula Semba and Fibiger (1992)
RMTg	Jhou et al. (2009)
ZI	Satoh and Fibiger (1986), Semba and Fibiger (1992), Kolmac et al. (1998)
DR	Caudal Vertes (1991), Steininger et al. (1997)
Brainstem	
LTDg	Satoh and Fibiger (1986), Cornwall et al. (1990), Semba and Fibiger (1992) Contralateral PPN Semba and Fibiger (1992)

(Martinez & Gonzales 2011 den alınmıştır).

II.1.3.Fizyoloji

Kedi ve sıçanlarda in vivo ateşleme özellikleri göz önüne alınarak iki tip nöron tanımlanmıştır. İlk tip yaygın üçlü- fazik dalga boyu içerisinde düşük fakat düzenli aktivite gösterirken, ikinci tip kısa ikili - fazik dalga boyu gösterir ve ateşlemeleri yüksek ve düzensizdir (41)

PPN lokomasyon, uyku uyanıklık, öğrenme gibi temel fonksiyonlarda görev alan bir yapıdır. Ancak bu çekirdekte bulunan nöronların işlevsel değişkenlik gösterdiği düşünülmektedir.

PPN farklı ateşleme paternleri göstermektedir. Bu durum aktivasyon veya inhibisyona bağlı olan değişiklikler olarak yorumlanmaktadır. Herbir nöronda nörotransmitter kombinasyonları ve de reseptör kombinasyonları bulunmaktadır. Tek bir nöron farklı fonksiyonlarda bulunabilir. Tek bir PPN nöronunun farklı fonksiyonlarda farklı fizyolojik özellikler göstermesi ve farklı nörotransmitter koekspresyonu birlikte ele alındığında, PPN hücrelerinin ateşleme paternine bağlı olarak değişken nörotransmitterler salma olasılığı düşünülmektedir (2). PPN'nin potansiyel görevinin postür modülasyonu ve yürüme başlangıcı için geribesleme sağlayan bir aktarma istasyonu olduğu düşünülmektedir. Bu görev thalamusa kolinerjik çıkan liflerle ve *cerebellum*'un çekirdeklerine bağlantıları ile ilişkilidir (3).

PPN'in *mesencephalon*'da yer alan lokomotor sistemin (MLR) bir parçası olduğu düşünülmektedir. MLR, bu alana yapılan stimulusun lokomotor aktiviteleri indüklemesi sonucu bu ismi almıştır. Elektrik stimulus sonrası bu ismi aldığından anatomik olarak sınırları kesin değildir (25). MLR stimülasyonu ile hareketin (adım atma) başlangıcı arasında 2 saniyelik tipik bir gecikme görülür. Bu durum lokomasyonun gitgide oluşan bir hareket olduğunu düşündürür. PPN'a yapılan hızlı bir stimulusun başlangıç yanıtı oluşturduğu ancak bu stimülasyonun artırıldığında adım hareketini oluşturduğu gösterilmiştir (1). PPN'in uyarılmasının bağlantılı olduğu alanlar (pons retiküler nöronlarında örneğin) üzerinde etkisi de uyarının frekansı ile ilişkilidir (42). Bu değişken yanıtların PPN terminallerinden değişken nörotransmitter salınımı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ateşleme hızı yanında ateşleme paterninin de farklı davranışlarla ilişkili olduğu düşünülmektedir: tonik ateşleme lokomasyonun başlangıcı ve sonlandırılması, burst (patlayıcı) ateşleme adım frekansı ile ilişkilidir (43). Fizyolojik özelliklerin de PPN içinde topografik bir dağılım gösterdiği ileri sürülmüştür. Burst ateşleme gösteren hücrelerin dorsal

kısımda, tonik ateşleme özelliğindeki hücrelerin ventral kısımda daha yoğun olduğu belirtilmektedir. Elektrod ile yapılan uyarılarda elektrodun dorsal ya da ventralde bulunmasına bağlı olarak lokomotor yanıtı ya da kas tonusu değişikliğine neden olduğu görülmüştür (44). Aynı PPN nöronu farklı görevlerde farklı ateşleme paterni göstermektedir (45).

PPN REM uykusu ve uyanıklık modulasyonunda fonksiyonu olan retiküler aktive edici sistemin kolinerjik kolu olduğu gösterilmiştir. PPN nöronları uyku uyanıklıkta hızlı ritmlerin senkronizasyonu sırasında ateşleme oranını artırır. Uyanıklık sırasında tonik aktivite, REM uyku sırasında burst aktivite ve yavaş uyku dalgası sırasında azalmış aktivite görülür (46). Son dönemde yapılan bazı çalışmalar kedi ve sıçanlarda PPN’de glutamat reseptörlerinin aktivasyonunun REM uykusunu indüklediği gösterilmiştir. Diğer çalışmalarda PPN GABA-B reseptör aktivasyonunun REM uykusunu baskıladığı gösterilmiştir (47). Beyin sapının rostralinde PPN’i de içeren kolinerjik nöronların yavaş osilasyonlar sırasında kortikal gamma aktivitesini module ettiği gösterilmiştir. Bu nedenle PPN’in uykuda şimdiye kadar anlaşılandan farklı bir role sahip olabileceği belirtilmektedir (48).

Bunun yanısıra, PPN’in öğrenmede de rolü olabileceği tartışılmaktadır (47).

II.1.4. İçerdiği Nöron Grupları

PPN nöron yoğunluğuna göre anatomik olarak iki alt gruba ayrılmıştır: pars compacta (PPNc) ve pars dissipatus (PPNd). PPNc çekirdeğin dorsolateral kısmında *caudal* yerleşim gösterir. PPNd hücreleri ise daha seyrek şekilde *pedunculus cerebelli superior* ve *tractus tegmentalis centralis* içinde yerleşmiştir. Bu iki kısım insanlarda, maymunlarda ve subprimatlarda tanımlanmıştır (6,9, 49 ,50,) PPN içinde kolinerjik (49) glutamaterjik (9), dopaminerjik (51), noradrenerjik ve GABAerjik (52) nöronlar tanımlanmıştır. Bu hücre tipleri arasında en çok kolinerjik nöronlarla ilgili çalışmalar yapılmıştır. PPN’in sınırları bu hücrelerin dağılımına göre tanımlanmıştır(13). Diğer hücrelerin PPN sınırlarına katkısı tam olarak bilinmemektedir. PPN çalışmalarındaki temel sorunlardan biri de sınırlarının tam olarak bilinmemesinden kaynaklanmaktadır (2). PPN’de glutamaterjik hücreleri ilk kez tanımlamışlardır ve bu hücrelerin bulunduğu alanların kolinerjik nöronlarla belirlenen klasik sınırlarla tam olarak örtüşmediğini saptamışlardır (8).

Segovia PPN'in tüm mediolateral seviyeleri boyunca GABAerjik nöronların kolinerjik nöronlardan daha fazla yoğunlukta bulunduğunu göstermiştir.

Hatta bu nedenlerle bazı yazarlar PPN'in bir çekirdek değil de alan olarak tanımlanması gerektiğini belirtmektedir (11). Hatta bu nedenle gelecekte farklı bir anatomik tanımlama yapılması olasılığı da mevcuttur (2).

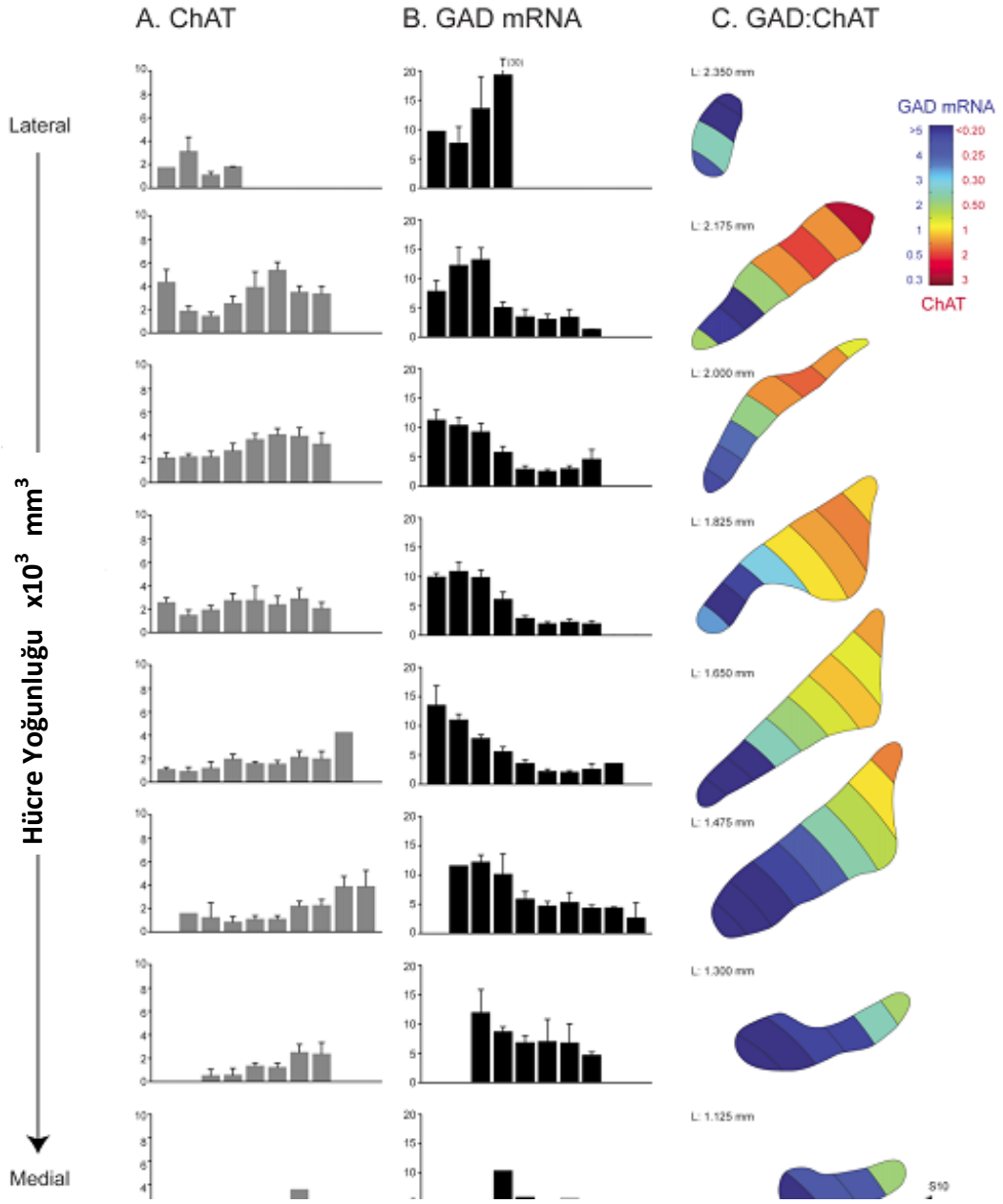
II.1.4.1. Kolinerjik nöron dağılımı

Kolinerjik nöronlar (formatio reticularis pontinus, thalamus, limbik sistem, colliculus superior, basal ganglia) ve REM (rapid eye movement) uykusu, göz hareketleri, uyku uyanıklık döngüsü, ödül teşvikli öğrenme ile ilişkili çeşitli beyin bölgelerini innerve ederler. PPN sınırları kolinerjik hücrelere göre tanımlanıyor olsa da kolinerjik hücreler PPN'deki hücrelerin ancak %50'sini oluşturmaktadır (53). Sıçanlarda yapılan çalışmada PPN içindeki ilk kolinerjik nörona bregmanın 2.3mm lateralinde rastlandığı belirtilmiştir. Kolinerjik nöronlar substantia nigra sınırına çok yakın olup lemniscus medialis ile sınırlanırlar. Rostral alanda bulunan kolinerjik nöronlar kaudal bölgedekilere oranla daha seyrek dağılımlıdır. Rostral segmentlerdeki nöronlar pedunculus cerebelli superior'u takip eden bir düzen gösterirken kaudal segmentlerde bulunan kolinerjik nöronlar herhangi bir düzen göstermezler. Total hücre sayıları açısından bakıldığında kolinerjik nöronların substantia nigradan uzaklaştıkça sayılarının arttığı ortaya çıkmaktadır (5).

II.1.4.2 Gabaerjik nöron dağılımı

Beyin sapında yaygın dağılım gösteren GABAerjik nöronlar uyku uyanıklık siklusunun düzenlenmesi (54), hareketin oluşması (55) ve dikkat (56) ile ilişkilidir. Pedunculopontine nükleusun sınırları kolinerjik nöronlar ile belirleniyor olsa da gabaerjik nöronların sayısı kolinerjik nöronlara oranla daha fazladır (57). GABAerjik nöronların geleneksel immunohistokimyasal yöntemlerle işaretlenmesinde yaşanan sorunlardan dolayı karakterizasyonları hakkında bilgi sahibi olmada güçlük yaratmaktadır. Mena Segovia ve arkadaşlarının 2009 yılında in situ hibridizasyon yöntemi ile yaptığı çalışmada GABAerjik nöronların dağılımının PPN'i fonksiyonel alt bölgelere ayırdığı, GABAerjik nöronların kolinerjik nöronların aksine rostrokaudal bir gradiyente sahip olduğu bulunmuştur. GABAerjik nöronlar kolinerjik nöronlarla ile içe içe geçmiş bir görüntü verirken, rostral PPN'de bulunan kolinerjik nöronların karakteristik özelliği olan tabakalanma benzeri bir düzende

yerleşmezler. PPN'in tüm mediolateral seviyeleri boyunca GABAerjik nöronların yoğunluğu kolinerjik nöronların yoğunluğundan fazladır ve GABAerjik nöronlar heterojen bir dağılım gösterir. Şekil 4'te dağılım farklılıkları gösterilmiştir (5).



Substantia Nigra'dan uzaklık

Şekil 4: PPN'in tüm mediolateral seviyeleri boyunca kolinerjik ve GABAerjik nöron dağılımları (Mena-Segovia J.2005 yılı makalesinden alınmıştır).

II.1.4.3. Glutamaterjik nöron dağılımı

Glutamat immunoreaktivitesi gösteren nöronlar sıçan (58,59) ve maymun (60) PPN ve LDTg nükleuslarında gösterilmiştir. İmmunokimyasal boyamalar sonucunda PPN'in sınırlarını belirleyen kolinerjik nöronların bir kısmının asetilkolin ile birlikte glutamat eksprese ederken bir kısmının da GABA eksprese ettiği gösterilmiştir. kolinerjik nöronların sıçanlarda (59) ve maymunlarda (60) glutamat immunoreaktivitesi gösterdiği çalışmalar bulunmaktadır. Kedi mesopontine tegmentumunda bulunan kolinerjik nöronların %50'sinin

GABA immunoreaktivitesi gösterdiği (61) bulunmuşken, sıçandaki kolinerjik nöronlarda GAD (GABA'nın sentezi için gerekli esansiyel bir enzim) immunoreaktivitesine rastlanmamıştır. PPN / LDTg 'nin nöronlarının in situ hibridizasyon ile karakterize edildiği Morales ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptıkları çalışmada ChAT, GAD ve vesiküler transporter proteinler olan vGluT1, vGluT2 and vGluT3'nin hücrel ekspresyonları ortaya çıkarılmıştır (62). Rye ve arkadaşlarının 1987'de yaptığı çalışmada sıçan PPN pars compacta bölgesinin tamamen kolinerjik nöronlardan oluştuğu bulunmuşken Morales ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışması ile kolinerjik glutamaterjik ve GABAerjik nöronların PPN 'in bütün seviye ve alt bölgelerinde bulunduğu açıklanmıştır. Pars compacta bölgesindeki glutamaterjik nöronların kolinerjik nöronların 1,5 katı olduğu, pars dissipata bölgesinde ise GABAerjik nöronların kolinerjik nöronların iki katı konsantrasyonda olduğu bulunmuştur (62).

Nöron Ekspresyonları

PPN	ChAT		vGluT2mRNA		GAD mRNA	
	%	n	%	n	%	n
Pars compacta (n = 2093)	31 ± 3	652	50 ± 4	912	19 ± 2	372
Pars dissipata (n = 3789)	23 ± 3	760	37 ± 2	1392	40 ± 4	1637
Toplam (PPN) (n = 5725)	27 ± 2	1412	43 ± 2	2304	31 ± 3	2009

Tablo 3. PPN' de bulunan ChAT, vGluT2 mRNA ve GAD mRNA immunoreaktivitesi gösteren 3 alt nöron grubunun oranları (Hui-Ling Wang 2009'dan alınmıştır.)

II.1.5. Gelişimsel Özellikler

PPN'in fonksiyonları gelişimin çeşitli dönemlerinde ortaya çıkmaktadır. Örneğin bazı lokomasyon paternleri (zıplama veya koşma) ikinci post natal haftada, keşfetme davranışı ise daha sonra ortaya çıkmaktadır (64). Neonatal memeliler

günlük yaşamlarının büyük kısmını uyuyarak geçirirler. Bu özellikle paradoksik uyku şeklindedir. Paradoksik uyku ikinci postnatal dönemde hızlıca kaybolmaktadır (65). Kolinasetiltransferaz aktivitesinin bu bölgede ikinci postnatal dönemde ciddi oranda azaldığı (66) ve bunun da gelişim sürecindeki lokomotor paternlerdeki değişikliklerle (64) korelasyon gösterdiği düşünülmektedir. Fakat mesopontin kolinerjik nöronların bu davranışsal ve fonksiyonel gelişimsel süreci nasıl etkiledikleri net değildir. PNN'de kolinerjik nöronların gelişimsel değişiminde kolinasetiltransferaz boyanması postnatal üçüncü günde azalmıştır ve ardından 14 ve 21 günlerde pik yapan bir artış izlenmiştir (66). Hücre boyutundaki artışın olduğu dönemle, NADPH-d boyanmasının görüldüğü nöronların elektriksel aktivitelerinin değiştiği dönem birbiriyle koreledir (67). Bu dönemde birçok motor patern anlamlı olarak değişim gösterir (64). PPN kolinerjik nöronlarının projeksiyonları yoğun olarak bazal ganglionlar, retiküler formasyon ve medulla spinalis bölgelerindedir (68). Bu bağlantıların motor fonksiyonların düzenlenmesinde etkili olduğu bilinmektedir (1,69). Bu bilgiler ışığında motor hareketlerin kontrolündeki gelişimsel dönem, PPN kolinerjik nöronlarının gelişimsel dönemine bağlıdır (66). Motor kontrole ek olarak PPN paradoksik uykunun düzenlenmesinden de sorumludur. (70). Bunun yanısıra, monoaminerjik nöronların paradoksik uykuyu inhibe ettiği bilinmektedir (71). Noradrenerjik sistemin gelişimi ise prenatal döneme denk gelmektedir ve noradrenalin sentezinin düzenleyici enzimi olan tirozin hidroksilaz aktivitesi postnatal yedinci günde yetişkin seviyesinin yarısına, postnatal ondördüncü günde ise yetişkin seviyesine ulaşmaktadır (72). Serotonin sentezinin düzenleyici enzimi olan triptofan hidroksilaz aktivitesi ise onsekizinci embriyonik günle postnatal yirmi ikinci günler arasında anlamlı olarak artmaktadır (73). Tüm bu davranışsal gelişimin daha iyi anlaşılabilmesi için kolinerjik sistemin dışında, monoaminerjik, GABAerjik ve glutamaterjik sistemlerin araştırılması gerekmektedir (66).

II.1.6. Nörokimyasal Özellikler

PPN nörokimyasal olarak değişken hücreler içerir. Bu çekirdekdeki nöronların acetilkolin (Ach), noradrenalin, serotonin (5-HT), glutamat, GABA içerdiğini bildiren çalışmalar mevcuttur. PPN, nörokimyasal olarak kolinerjik ve nonkolinerjik iki gruba ayrılır (4).

Kolinerjik nöronlar aynı zamanda NADPH, değişen boyutta glutamat ve GABA içerir. Bazı kolinerjik hücreler kalbindin, kalretinin, parvalbumin, enkephalin ve P maddesi içerir. Yeni yapılan bir çalışmada PPN'in kolinerjik hücrelerinde ürotensin II bulunduğu belirtilmektedir (2, 4). Urotensin II'nin PPN'deki kolinerjik nöronlara spesifik etkisi olduğu belirtilmektedir.

Nonkolinerjik nöronların önemli kısmının bazı peptidler içermesine rağmen henüz tanımlanmamış önemli nöron popülasyonları olabileceği düşünülmektedir. Nonkolinerjik nöronların nörokimyasal özelliklerinin kısmi olarak bilinebilmesinin bir nedeni de PPN'de güvenilir immunohistokimyasal sinyallerin alınmasındaki güçlüklerdir (2). PPN hücrelerin bazı nörokimyasal özellikleri çalışılmış olmasına karşın asetilkolinin diğer nörotransmitterlerle birlikte görülmesinin sistematik açıklaması yapılamamıştır (2).

II.1.7. Elektrofizyolojik Özellikler ve Nöron Morfolojisi

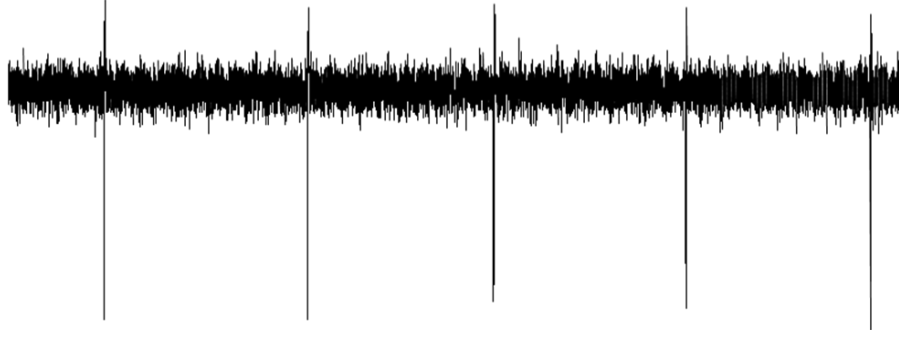
Intraselüler kayıtlara göre bazı araştırmacılar 3 tip nöron tarif ederken bazıları 2 tip nörondan bahsetmektedirler. Tip I hızlı şekilde inaktive olan inward (iç) kalsiyum akımı ve burst ateşleme özelliklerine sahiptir. Tip II transient outward (dış) potasyum akımına ve nonburst ateşleme özelliklerine sahiptir. Tip III ise her iki tipin özelliklerini de gösterebilmektedir. Tip II ve III göreceli olarak büyük nöronlardır. Bu nöronların hepsinin belli miktarının Ach içerdiği öne sürülmektedir.

Ekstraselüler kayıtlar iki ana grup göstermiştir. Bir grup düşük ve regüler spontan ateşlenen (0.5-8 diken/s) ve ikinci grupta dar diken ve daha yüksek deşarj oranı (10-20 diken/s) geniş diken ve düşük deşarj oranları olanların kolinerjik olduğu ve Tip II nöronlara karşılık geldiği diğer grubun da nonkolinerjik olup Tip I grubuna denk geldiği bildirilmektedir.

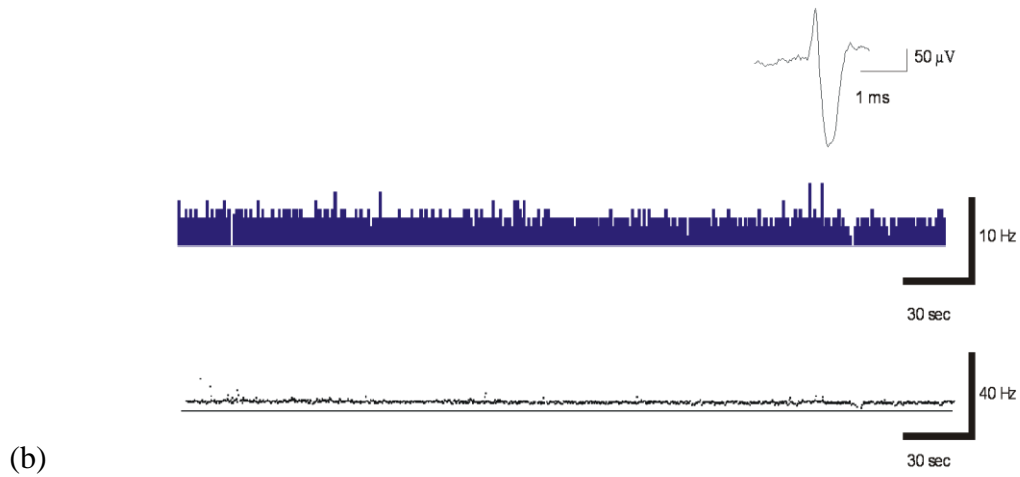
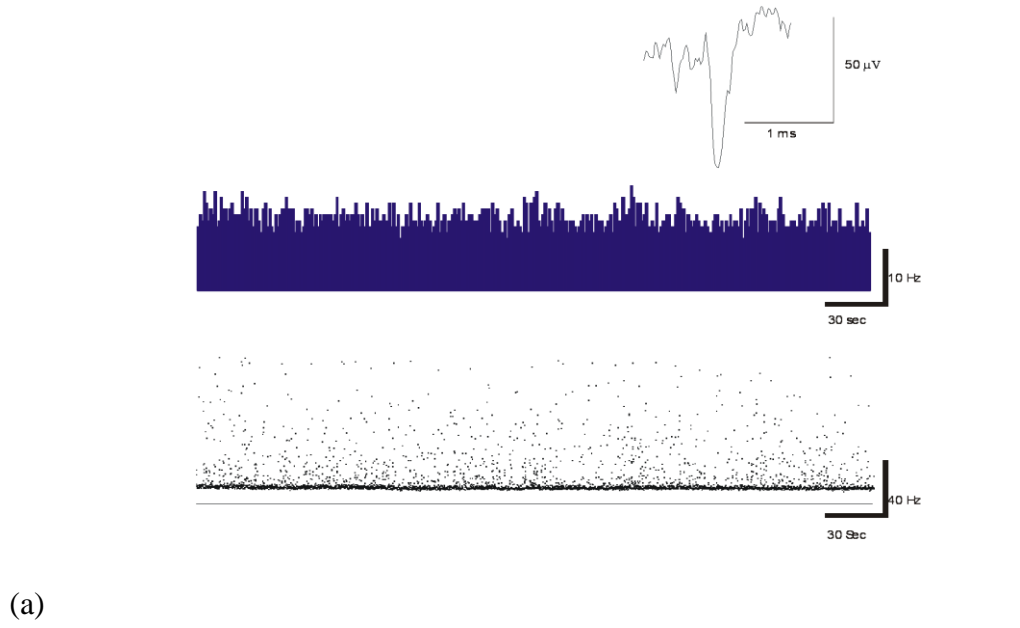
Ancak Şehirli ve Stanford'un çalışmasında ekstraselüler tek hücre kaydı ile elde edilen verilere göre en az 3 ana grubun olduğu ve bunların alt gruplarının olabileceğini düşündüren veriler elde edilmiştir (74).

PPN nöronlarının elektrofizyolojik özellikleri ve morfoloji ilişkisini ortaya koymaya amaçlayan çalışmalar mevcuttur. Kolinerjik nöronların gövdeleri 20 - 40 µm ve 3-6 dendrit içermekte, glutamerjik ve GABAerjik nöronlar ise 10-20 µm boyutunda nöron gövdesi, glutamaterjik nöronlarda 2-4 dendrit içermektedir (8,11,61,75). Glutamaterjik ve GABAerjik nöronların daha küçük gövdeleri (10-20 µm) olduğunu bildiren çalışmaların yanı sıra bazı çalışmalarda daha geniş gövdeli GABAerjik ve glutamaterjik nöronların aynı zamanda Ach de içerdiği görülmüştür (2). Yapılan diğer bir çalışmada da PPN'deki kolinerjik nöronların dendritlerinin yaşlanmayla birlikte morfolojik değişikliklere uğradığı gösterilmiştir (77).

Yapılan çalışmalara karşın PPN nöronlarının alt tiplerinin nörokimyasal özellikleri açık bir şekilde ortaya konamamıştır. Bu durum asetilkolin ve de diğer nörotransmitterler açısından geçerlidir. Açık olan tek şey tüm nöronların farklı nörotransmitterlerin etkisinde olduğudur (4).



Şekil 5. PPN'den alınan ekstrasellüler tek hücre kaydı.



Şekil 6. PPN nöron ateşleme hızı, aksiyon potansiyeli, değişkenlik katsayısı **a)** Olası non-kolinerjik bir nöronun AP süresinin ölçümü, hızı ve frekansı **b)** Olası kolinerjik bir nöronun AP süresinin ölçümü, hızı ve frekansı

II.1.8. İlaç Yanıtları

İlaç çalışmaları GABA ve Ach'in PPN'in kolinerjik aktivitesini ve lokomosyonu azalttığını gösterirken glutamatın PPN'in kolinerjik atıviteyi artırdığı ve lokomosyonu artırdığını göstermiştir.

Asetilkolin agonisti olan karbakolun kobaylardan alınan beyin kesitlerine mikroinjeksiyonları doza bağlı hiperpolarizasyona ve kolinerjik PPN nöronlarının ateşleme oranında azalmaya neden olmuştur. Bu etkiler atropin ile bloke edilmiştir.

Şehirli ve Stanford (74) çalışmasında 90 hücre kaydı değerlendirilmeye uygun bulunmuştur. Ekstrasellüler tek hücre kaydı sırasında kesite karbakol, dopamin ve serotonin uygulanmıştır. Elde edilen veriler ateşleme hızı, nöronun ateşleme paternini gösteren varyans katsayısı ve aksiyon potansiyeli ile ilaçlara yanıtlara göre değerlendirilmiştir. Ateşleme hızı <10Hz, varyans katsayısı <%40 ve aksiyon potansiyeli süresi >2ms olan nöronlar literatürdeki bilgilerin ışığında muhtemel kolinerjik nöronlar olarak kabul edilmiştir. Ateşleme hızı <10Hz, varyans katsayısı <%40 ve aksiyon potansiyeli süresi <2ms olan nöronlar ile ateşleme hızı >10Hz, varyans katsayısı <%40 ve aksiyon potansiyeli süresi <2ms olan nöronlar iki ayrı grup olarak sınıflandırılmıştır. Ancak bu genel sınıflamanın yanında alt grup olabilecek hücre grupları da mevcuttur.

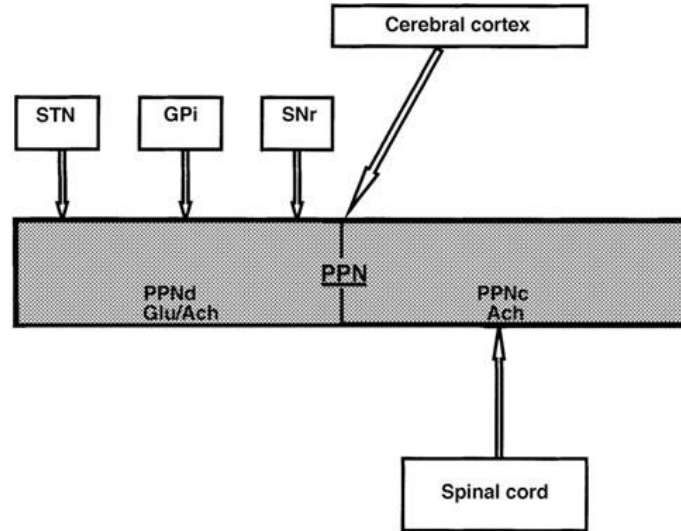
Birinci grupta, karbakol hücrelerin %55'inde eksitasyon %36'sında inhibisyona neden olmuştur. Bu bulgular literatürle farklılık göstermektedir. Diğer iki grupta da karbakol hem inhibisyon hem de eksitasyon yanıtlarına neden olmuştur (74).

Bikukulin'in banyo sıvısına uygulanması kolinerjik nöronlarda *IPSP*'leri bloke ettiği gösterilmiştir. Pikrotoksin ya da bikukulin'in PPN bölgesine mikroenjeksiyonlarının doza bağlı olarak lokomosyonu artırdığı ve benzer zaman etkisi gösterdiği ancak musimol'ün intakt sıçanlarda lokomosyonu inhibe ettiği gösterilmiştir (15). PPN'in farmakolojik özellikleri birçok çalışmada araştırılmıştır. Ancak çalışmalarda kolinerjik nöronlara ağırlık verilmesine karşın nonkolinerjilere daha az önem verilmiştir. Yöntemlerdeki ve ilaç konsantrasyonlarındaki büyük farklılıklar sonuçlarda da büyük farklılıklara neden olmuştur (25). Parkinson hastalığında beyindeki histamin dopamin uyarı sistemleri normal iken locus coeruleus (noradrenalin), PPN ve ön beyin (acetylcholine), median raphe (serotonin)

ve lateral hypothalamus (orexin) gibi çoğu uyarı sistemi hasarlıdır. Modefinil gibi stimulanlar hastaların tedavisinde kısmen etkilidir. Anti h3 ve sodyum oxibate ilaçlar ile tedavi uygulanması ise daha etkili olmaktadır. Sonuç olarak PPN'e yapılan uyarılar uygulanma sıklıklarına göre hastalar üzerinde uyarıcı veya sedatif etkiler yaratabilir (77).

II.1.9. Derin Beyin Stimülasyonu ve PPN

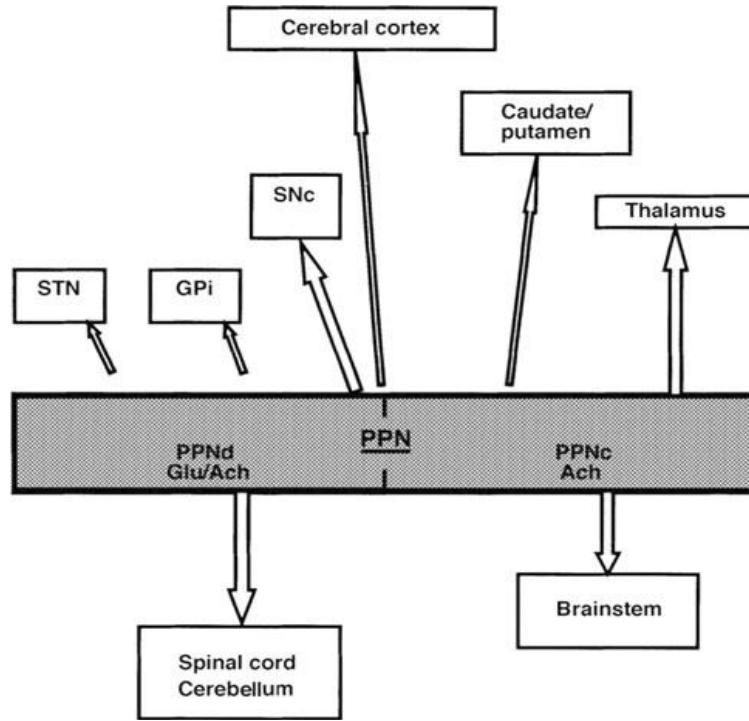
PPN hareketin başlatılması ve sürdürülmesinde önemli rol oynadığı hayvan çalışmaları ile gösterilmiştir. (23,43). PPN son dönemlerde Parkinson hastalığının aksial semptomlarının tedavisi için potansiyel bir hedef haline gelmiştir. Yaşam kalitesinin düşmesine sebebiyet veren duruş ve yürüyüş bozuklukları dopaminerjik terapilere direnç gösterir. Önceleri PPN'in kolinerjik nöronlardan oluştuğu öne sürülse de daha sonraları nonkolinerjik nöronlarında varlığına dikkat çekilmiştir. Nonkolinerjik nöronlar çoğunlukla glutamaterjik olmasının yanı sıra noradrenarjik, dopaminerjik, GABAerjik ve peptiderjiktir



Şekil 7: Primat PPN'ine gelen Major uyarılar (Pahapill and Lozano 2000).

Nucleus subthalamicus (STN), cerebral korteksten gelen glutamaterjik, globus pallidus internustan (GPI)'tan ve substantia nigra pars retikulatadan (SNr) gelen GABAerjik ve omurilikten gelen duyu uyarıları primat PPN'ine gelen major afferent liflerdir. (15). PPN'in çıkan kolinerjik projeksiyonları talamik bölgelere giderek öncelikle intralaminar nükleusları innerve ederler. (9) Çıkan diğer yollar ise PPNd kısmından basal ganglia yapılarına, özellikle de STN, substantia nigra compacta

(SNc) ve globus pallidus'a bağlantı sağlayan liflerdir (9,15). İnen PPN projeksiyonları, pons, nucleii pontinus et medullaris, formatio reticularis, locus coeruleus, raphe nuclei ve medulla spinalis (1,15,78). PPN mesencephalik lokomotor bölgenin bir parçasını oluşturduğu, beyni çıkarılmış hayvanlara verilen uyarı vasıtasıyla lokomasyonun kontrol edilmesi ile açıklanmıştır (1,79) . Son dönem yapılan çalışmalardan Takakusaki ve arkadaşlarının beyni çıkarılmış kedilerde yaptıkları çalışmada, PPN'in dorsal kısmının uyarılması ile azalan lokomotor aktivite ve düşen kas tonusunda indüklenmenin gerçekleştiği görülmüştür. Uyarının ventral PPN'e verildiği durumda ise hipotoninin indüklendiği belirtilmiştir. (69).



Şekil 8: PPN' in major projeksiyonları (Pahapill and Lozano 2000).

Romigi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PPN'e derin beyin stimülasyonu sonucunda ise gece uykusunun stabilite ve devamlılığının iyileştiği görülmüştür. faz 2 uykusunun %30 arttığı, uyanıklığın % 70 azaldığı, REM uykusunda anlamlı bir artış gözlemlendiği ortaya konulmuştur. (80).

II.1.10.Ödül ve öğrenme üzerine etkisi

PPN'in ödül ile ilişkili olabileceğine dair ilk teori Van Der Kooy ve arkadaşları tarafından öne sürülmüştür. (81) PPN ve dopamin içeren nöronlar ödül ile farklı şekilde ilişkilidir. Yapılan hayvan deneylerinde, hayvanların su ve yiyecekten

mahrum olmadıkları durumlarda PPN etkin rol üstlenirken, su ve yiyecekte mahrum oldukları durumda ise dopamin nöronları etkin rol oynamaktadır. Bu 'iki motivasyon sistemi' hipotezi bir soru haline geldi çünkü ne ppn ne de dopamin nöronlarının spesifik olarak mahrumiyet veya mahrum olamama durumları ile ilişkili olmadıkları görüldü (82). PPN'ün postaki dopaminerjik nöronlarda ateşleme aktivitesi yaratan uyarılar gönderir ve ipsilateral striatumda dopamin akışını yönetir. SNC'nin kolinerjik stimülasyonu dopamine bağlı davranışların düzenlenmesinde görev alır (83). PPN 'deki bileteral lezyonlar doğal ödüllere verilen edimsel cevabı (84) ve pavlovun bağlantıladığı gibi birincil pekiştiriciler ile (yemek ,su ,seks) ilişkilendirildiklerinde pekiştiricilik özelliği kazanılabilen ışık ve ses gibi ikincil pekiştiricilere olan cevabı bozar. (85) PPN lezyonları aynı zamanda nikotin , (86) eroin (87) ve D- amphetamine (88) gibi kötüye kullanılan maddelerin kendi kendine intravenöz kullanımında değiştirmiştir. Edimsel testlerdeki doğal ödüllere karşı cevabın bozulması temel motivasyonel süreçlerdeki bir bozukluğa bağlı değildir çünkü ana kafesteki yeme içme durumu normaldir.(89) ve tat algılaması değişmemiştir. (90) problemin istemek ve beğenmekten (82) ziyade uygun davranışı seçmekte olduğu anlaşılmaktadır.

PPN deki kolinerjik nöronlar limbik motivasyon sistemi ve beyin sapında bulunan motor bölümler arasında aracı olarak görev yapar. Sıçan Snc'nin kolinerjik karşıtı uyarıları-ki bunlar PPNc den gelen ana kolinerjik afferentlerdir -hareketin başlatılması ve performansın arttırılmasını sağlarlar. Mikroenjeksiyon ile karbakol uygulanan kolinerjik PPN nöronlarının inhibisyonunun motor performansı düşürebileceği amphetamine uygulanan nükleus accumbens ile açıklanmıştır.(91). PPNd'nin nonkolinerjik nöronlarının basal ganglia ve limbik yapılardan afferent lifler alması PPN'in basal gangliadan aldığı motor lifler ve striatal- pallidial komplekten gelen motivasyonu teşvik edici uyarılar pons, medulla ve medulla spinalisteki motor yapıların aktivasyonunu arttırıcı bir arayüz olmuştur.(78) Teşvik ve motivasyonu etkileyici faktörler motor fonksiyonlarını etkiler. PPN aktivasyonu motor planlamayı geliştirir (15).

II.1.11. Algulama ve dikkat

PPN davranış ve davranış pekiştiricileri arasındaki ilişkiden dolayı öğrenme ile ilgili bir nükleustur ve postaki dopaminerjik nöronlara gelen bilginin büyük bir kısmını sağlar.

Duyusal bilginin işleme sürecinde de rol oynadığına dair netlik kazanmamış fikirler öne sürülmüştür. PPN'in görsel ve işitsel stimuluslardan sorumlu olduğu bilinir (92). Colliculus superiorun PPN'e projekte olduğu düşünülmektedir (93) fakat kesin duyu inputlarının tanımlanması başarılması hedeflenen bir amaç olsa da yine de ilişkiyi açıklayabilmek için önemli bir bilgidir. Deneyler sıçanlardaki bilateral ekzitoksik lezyonların

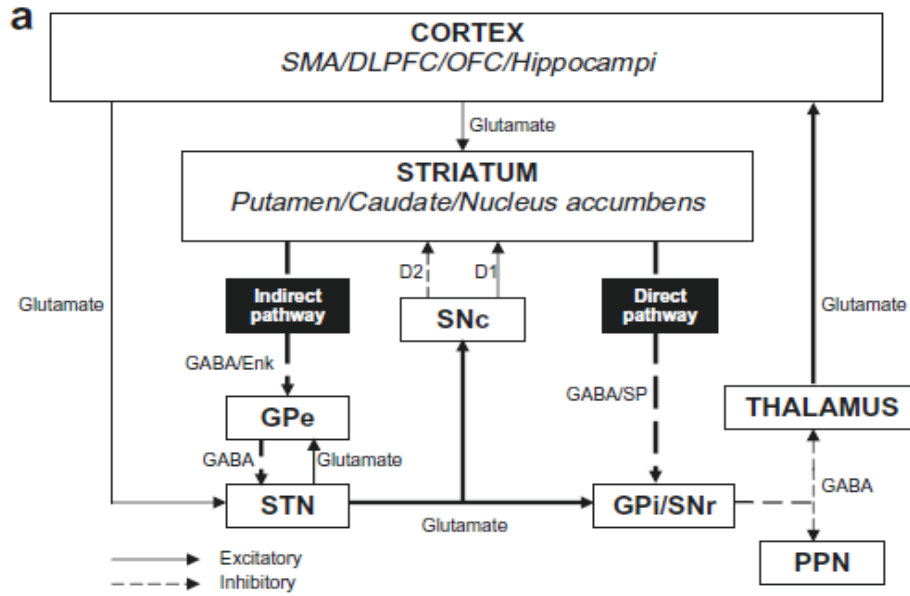
dikkat performansında kusurlara yol açtığını göstermiştir. Elektrofizyolojik çalışmalardan gelen veriler ile bu iddialar desteklenmiştir. Dormont ve arkadaşları kediler üzerinde yaptıkları çalışmada kedilere zorunlu bir işleme sinyali arkasından yiyecek ödülüne ulaşmak için asılı kalma hareketi yapmaları öğretilmiştir. Bu esnada alınan nöron kayıtlarında cevap sürelerinin olağanüstü hızlı olduğu görülmüştür (ortalama cevap süresi 8 ms) (92). Kobayashi ve arkadaşlarının primatlarda yaptığı çalışmada bu sonuçları desteklemektedir. Gözün kısa ve hızlı hareketleri sırasında nöronlarda ateşleme aktivitesinin gerçekleştiği görülmüştür. Elektrofizyolojik çalışmalar PPN'in çoklu modal duyu bilgisi aldığı, bu bilgilerin hedef bağlantılı davranışların performansında etkili olduğu, PPN 'in bu bilgilerin entegrasyonu ile ilişkili olduğu önerilmiştir (94).

II.2 Nucleus Pedunculopontinus Tegmenti ile ilişkili hastalıklar

II.2.1.PPN'in Parkinson Hastalığındaki Rolü

Parkinson substantia nigra da bulunan dopaminerjik nöronların kaybı ile tanımlanan bir hastalık olup, tremor, kas rijiditesi, bradikinezi, duruş ve yürüyüş bozuklukları ile karakterizedir. Basal ganglia'nın PPN üzerindeki rolü doğrudan ya da dolaylı yollara bağlıdır. STN'den gelen glutamaterjik ve Gpi ve SNr'dan gelen GABAerjik projeksiyonlar PPN'e basal gangliadan gelen temel *input*lardır. Bu yollar ve nörotransmitterler PPN fonksiyonlarında önemli rol oynarlar. Parkinson modelinde basal ganglia aşırı aktiftir ve PPN nöron aktivitesinde belirgin değişikliklere neden olur. Bu durumda basal ganglia çıkış (output) çekirdeklerinden PPN'e gelen artmış inhibe edici etki ve STN'den gelen artmış uyarıcı etki PPN nöronlarında ateşlemede artma ya da azalma şeklinde farklılıklara neden olur (15,38). Ancak etkilenen hücrelerin hangi tipte olduğu bilinmemektedir. Bu değişikliklerin

Parkinson Hastalığında görülen akinezinin altında yatan neden olduğu düşünülmektedir ve GABA-A reseptör blokajı ile düzelme sağlanabilmektedir (95). Son dönemde yapılan bir çalışmada Parkinson hastalığında kolinerjik nöronlarda kayıp ve küçülme olduğu ancak nöron kaybının boyutundaki değişimlerden daha fazla olduğu vurgulanmıştır. Nonkolinerjik nöronlardaki değişikliklerin hastalığın daha ileri safhalarında ortaya çıktığı belirtilmektedir (96).

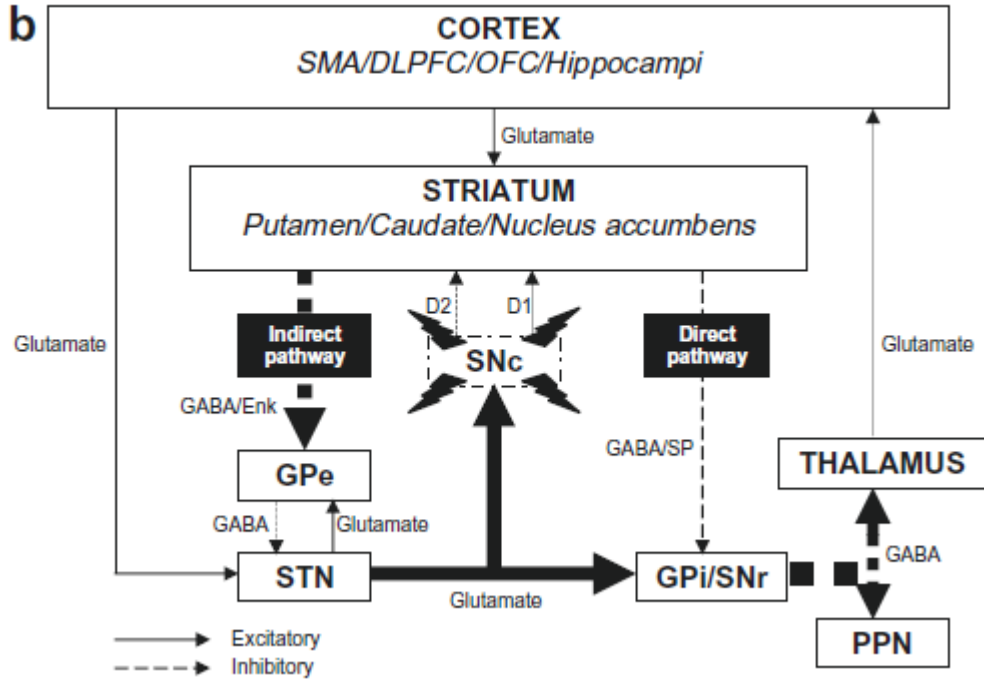


Şekil 9 : Basal Ganglia Döngüsü a) Sağlıklı bireyde b) Parkinson hastalığına sahip bireyde

Basal ganglia döngüsündeki bozukluklar Parkinson hastalığının patofizyolojisinde merkezi rol oynamaktadır. Paralel nöral bağlantılar basal ganglia ile korteks, thalamus ve beyinsapı arasında entegrasyonu sağlar (97) motor döngü içinde direkt ve indirekt olmak üzere iki yol vardır. Direkt yol striatumu GPi ve SNr'ye bağlar. GPi ve SNr inhibitör GABA nöronlarını thalamus ve PPN'e gönderirir. Talamik outputlar ise ekstatuar glutamaterjik lifler yoluyla prefrontal ve motor kortekse projekte olur. Major beyin sapı nükleusu olan PPN lokomasyon sürecinde yer alan mesensefalik lokomotor bölgenin bir parçasıdır. İndirekt yolda ise yine striatum GPi ve SNr ile bağlantılıdır. Fakat bu döngüde inhibitör lifler öncelikle globus pallidusun eksternal kısmındaki (GPe) sinaptik bağlantılardan geçer. GPe GABAerjik

bağlantılar aracılığı ile STN üzerinde inhibitör etki yaratır. İndirekt yolun son basamağı STN'dan çıkan glutamaterjik uyarılar GPi/SNr output nükleuslarına ulaşır. Klasik olarak bu kompleksin striatal dopaminerjik nöronlarca meydana getirilen sinyal vasıtasıyla sürdürüldüğü düşünülmektedir. SNc'dan çıkan dopaminerjik nöronların projeksiyonu ile striatumun aktivasyonu gerçekleşir. Direkt yolda D1 reseptörü bulunurken indirekt yolak D2 reseptörlerini içermektedir. Striatal nöronlarda D1 reseptörünün düzenlemesi GPi'deki inhibisyonun artmasına sebep olur. Bu durum talamus ve PPN'in baskılanmasını azaltır. Böylece korteksin eksitasyonu artar ve hareket gerçekleşir.

Buna alternatif olarak indirekt yolda striatal nöronlardaki D2 reseptörlerinin stimülasyonu GPe'nin inhibisyonunun azalmasına yol açar. Sonuç olarak STN'deki daha büyük bir inhibisyon daha az GPi aktivasyonuna sebebiyet verir. Azalan GPi aktivitesi talamusun daha fazla aktivasyonuna izin verir. Bu da hareketin oluşmasını kolaylaştırır. Sonuç olarak striatumda dopamin salınımı hem direkt hemde indirekt yollar ile hareketin oluşmasını kolaylaştırıcı etki yaratır. Bu durumun motor hareket üzerinde ince ayar etkisi yarıttığına inanılmaktadır (98).



Parkinson hastalığındaki motor döngüye bakılacak olursa motor döngüdeki doğal dengenin bozulması striatumdaki dopaminin tükenmesinden kaynaklanır.(şekil b) Dopaminerjik uyarı kaybı GPi/SNr output nükleuslarının aşırı aktivasyonuna bu

durumda PPN ve thalamusun baskılanmasının artmasına neden olur. Gerek direkt, gerekse indirekt yol ile motor hareketin aktivasyonu zayıflayacaktır. Motor döngüdeki bu model hastalığın akinetik özelliklerinin açıklanmasını sağlar ayrıca klinik çalışmalar, fonksiyonel görüntüleme, elektrofizyolojik ve biyokimyasal çalışmalar ile desteklenir (99,100).

II. 2.2. Anksiyete bozuklukları

Çeşitli anksiyete bozuklukları Parkinson hastalarında sık olarak görülmektedir. Anksiyetenin kronik hastalığa bir yanıt olabileceği gibi Parkinson hastalığında beyin sapı dopaminerjik, noradrenerjik ve serotonerjik nöronların hasarı sonucu da oluşabileceği düşünülmektedir REM uyku davranış bozukluğu (RDB) REM uykusu sırasında normal iskelet kası atonisinin kaybı ve rüya durumu ile ilişkili ekstremiteler hareketleriyle karakterizedir REM uykusunun oluşumundan sorumlu anatomik alanlar beyin sapı nükleuslarında lokalizedir (101,102). Pons'ta yer alan pedunkulopontin nükleus (PPN) ve laterodorsal tegmental trakt nükleusu (LDTN) REM uykusu sırasında aktiftir ve rostral medulla'daki magnosellüler nükleus ile kaudal medulla'daki paramedian retiküler nükleusa projekte olurlar. Bu meduller çekirdeklerin aktivasyonu sonucu REM uykusu sırasında kas tonusu kaybolur (103). RDB'nin patofizyolojisinde özellikle peri-lokus seruleus bölgesi, PPN ve LDTN gibi beyin sapı bölgeleri sorumlu tutulmaktadır (104). İlk RDB olgusunun detaylı beyin sapı incelemesinde lokus seruleus nöronlarının sayısında belirgin azalma, PPN ve LDTN nöronlarının sayısında da belirgin artış bulunmuş ve yazarlar bunu lokus seruleusun monoaminerjik aktivitesinde azalma nedeniyle PPN ve LDTN'un disinhibisyonunun azalması ve/veya kolinerjik nöronların aktivitesinde artışın RDB'na yol açabileceği şeklinde yorumlamışlardır (105). RDB'nun patofizyolojisinde dopaminerjik disfonksiyon da anatomik, farmakolojik ve fonksiyonel nörogörüntüleme çalışmalarında saptanmıştır, fakat hala RDB'nun primer nedeninin dopaminerjik disfonksiyon olduğuna dair yeterli veri yoktur.

İlişkili olduğu diğer hastalıklar: 15. Kromozomda meydana gelen bir delesyon sonucu ortaya çıkan Prader Willi sendromu görülen kadavralarda yapılan çalışmada ppndeki acetilkolin içeren nöron sayısında ciddi bir azalmanın olduğu gözlenmiştir. Bu azalmanında bu sendromu taşıyan hastalardaki hipotoni ve rem uykusu bozuklukları ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. (106)

II.3. Kalsiyum Bağlayıcı Proteinler

Kalsiyum iyonu kas kasılması, adezyon, sekresyon, hareket, büyüme, farklılaşma, gen ekspresyonu ve hücre ölümü gibi çeşitli hücrel fonksiyonların düzenli işlevi için gerekli esansiyel bir mineraldir. Hücrenin kalsiyum konsantrasyonundaki bir değişim ikincil haberci mekanizmaları için bir sinyal görevi görmektedir. Kalsiyum bağlayıcı proteinler sinyal iletiminde aracı bir rol üstlenerek, hücrel fonksiyonların düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadırlar.

Kalsiyum bağlayıcı proteinler ayrıca protein sentezi ve salınımı sırasında gerek duyulan önemli şaperon moleküllerdir. Bu proteinler başlıca kalsiyumun tamponlanması, taşınımı ve çeşitli enzim aktivitelerinin kontrolünde rol oynarlar. Kalsiyum bağlayıcı proteinler belirgin bir dizi ve yapısal benzerlik gösterir, ancak fonksiyonları geniş biyolojik çeşitliliğe sahiptir. Kalsiyum bağlayıcı proteinlerin hücre içi dağılımındaki dengesizlikler hipertansiyon, kalp hastalıkları, diyabet, manik depresyon ve Alzheimer gibi çeşitli hastalıklara yol açmaktadır. Birçok kalsiyum bağlayıcı proteinin hücre canlılığı, apoptozis ve kanserin ilerlemesinde önemli bir rolleri bulunmuştur.

Kalsiyum bağlayıcı proteinler ailesi içinde parvalbumin, kalretinin, kalbindin gibi proteinlerinde bulunduğu 240 adet proteinden oluşur. İlk karakterize edileni parvalbumindir. Boyutları ve albumin çözünürlüğü ile isimlendirilmiştir. Kalbindin (D28k and D9k) ağırlığında ve vitamin d bağımlı eksprese olan bir proteindir. (107) bu kategorideki üçüncü protein olan calretitin ise ismini başlangıç sentez yeri olan retinadan almıştır. Calretinin başlangıçta sıçan beyinde western blot yöntemi kullanılarak tanımlanmış 29 kd ağırlığında bir proteindir. (108.), calretitin yoğun olarak visual sistemin periferal duyu nöronları (retinal ganglion hücreleri) vestibular (tip 1 tüsü hücreler), işitme sistemi (korti organı) eksprese olur. Santral sinir sisteminde en çok bulunan molekülerden biridir (109).

GABA nöronları üzerlerinde taşıdıkları kalsiyum bağlayıcı proteinin çeşidine göre sınıflandırılabilirler. Bunlar; parvalbumin, kalbindin (CB), kalretinin pozitif olarak gruplandırılabilirler.

II.3.2. Kalbindin

Kalsiyum bağlayıcı proteinlerin pek çok türünün sinir sistemi içinde var olduğu bilinmektedir (110,111,112). Kalsiyum nörotransmitterlerin sentezi, membran geçirgenliği enzim aktiviteleri, aksonal taşınım, nöronal uyarım gibi fizyolojik olayların gerçekleşmesinde hayati öneme sahip bir moderatördür. Bununla birlikte kalsiyumun bir tampon olarak sinyal aktarımında ne kadar aktif bir rol oynadığı veya sinir sistemi içinde kendilerine spesifik fonksiyonları bilinmemektedir.

Kalbindin D-28k öncelikle uzun aksonlu nöronlar ile talamik projeksiyon nöronları, strionigral nöronlar, nucleus basalis Meynert nöronları, beyincik purkinje hücreleri geniş omurilik retinal, kohlear ve vestibular ganglion hücreleri ilişkilidir. Bununla birlikte kısa aksonlu hücreler ile omurilik internöronları ve serebral korteks internöronlarında da bulunur. Kalbindin D-28k içeren hücrelerin çoğu nörodegeneratif hastalıklara daha yatkın olduğu belirtilmektedir (113).

Nucleus pedunculo-pontinus gibi kolinerjik nöronları varlığı ile ortaya çıkan basal önbeyin bölgesi de uyku uyanıklık, öğrenme ve hafıza ile ilişkili olduğu bilinen bir bölgedir. Bu bölgedeki GABAerjik nöronları kalsiyum bağlayıcı proteinlerle olan ilişkisine göre alt gruplara ayırmayı amaçlayan (114) çalışmanın sonucunda % 90 oranında parvalbumin (+) çıkan hücrelerin aynı zamanda GAD (+) olduğu , %10 oranındaki kalbindin veya kalretinin (+) hücrelerin ise GAD (+) olduğunu bulmuşlardır. Kalbindin ve kalretinin içeren hücrelerin glutamaterjik basal önbeyin nöronları ile projekte olduklarını ortaya koymuşlardır.

Kalsiyum bağlayıcı proteinlerin gelişim süreçlerindeki varlıklarını inceleyen çalışmalara bakıldığında (115., 116) kalbindin, kalretinin ve parvalbuminin insan beyinciği gelişimsel sürecinde farklı dönemlerde ortaya çıktıklarını bulmuşlar. Kalbindin ve parvalbuminin genellikle birlikte gelişim gösterdiği bu sayede üç farklı kalsiyum bağlayıcı proteinin de gelişimin farklı aşamalarında farklı fonksiyonlara sahip olabileceğini savunmuşlardır. Kalbindine korteks ve serebellar nükleuslarda

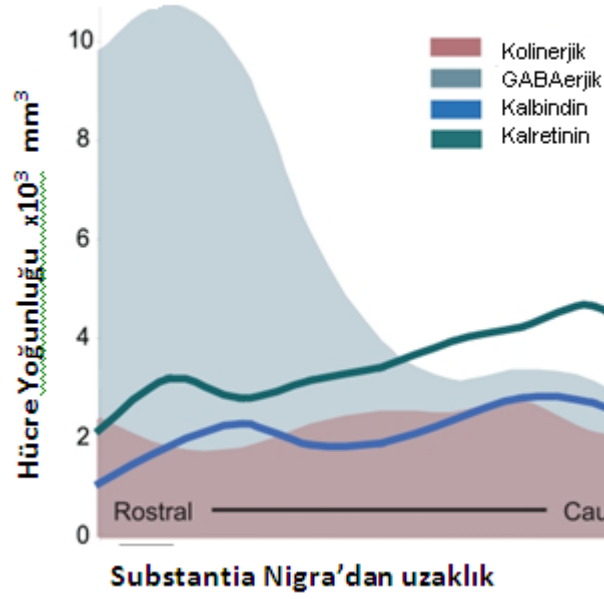
hamileliğin 14. haftasında ilk defa rastlandığını ve gelişim süreci boyunca da miktarının azaldığını bulmuşlardır (117).

Beynin farklı bölgelerindeki nöronların; hipcampus (118) korteks (119) basal ganglia (120) kalsiyum bağlayıcı proteinler sentezledikleri ve aynı transmitteri kullanıyor olabilmelerine rağmen farklı fonksiyonel özelliklere sahip oldukları gösterilmiştir.

Kalsiyum bağlayıcı proteinlerin maymun(121) ,sıçan (122) ppn nöronları tarafından eksprese edildiği gösterilmiştir. Kalretinin ve Kalbindin sıçan ppn indeki kolinerjik nöronların sayısına benzer nöronlarca sentez edildiklerini (123) ortaya koymuştur. Kolinerjik nöronlarca nadiren eksprese edilseler de yaygın olarak gabaerjik ve glutamaterjik nöronlarca sentezlenmeleri gabaerjik ve glutamaterjik nöronların alt gruplarının olabileceğini göstermişlerdir (124).

Seto-Ohshima 2003 yılında Hungtinton hastalığından ölen kişilerin beyinlerinde yaptığı çalışmada neostriatum bölgesindeki calbindin içeren nöronların önemli derece azaldığını bulmuş kalsiyum mekanizmasının HD üzerinde etkili olabileceğini savunmuştur (125).

Pierre-Yves Côté and André Parent 2003 yılında yaptıkları çalışmalarda maymunlarda ppn ve nucleus basalisteki kolinerjik nöronların ikili immunhistokimyasal boyama yaparak cb varlığını incelemişler, sonuçta ppn deki kolinerjik nöronların cb den yoksun olduğunu nucleus basalisteki kolinerjik nöronların ise cb içerdiğini ortaya koymuşlardır. Bu sonuçlar doğrultusunda ise Alzheimer hastalığı patogenezinde rolü olmayan ppn e rağmen nucleus baslisin hastalığın üzerinde etkisi olmasından yola çıkarak calbindin varlığının sadece Alzheimer hastalığı değil diğer nörodejeneratif rahatsızlıklarda da etkin olabileceğini öne sürmüşlerdir (126). Diğer bir kalsiyum bağlayıcı protein olan kalretinin varlığının ise Parkinson hastalığı üzerinde koruyucu etkisi olduğuna dair çalışmalar yapılmıştır (127).



Şekil 10 : PPN içerisindeki farklı nöron gruplarının şematik olarak gösterilmesi (Martinez Gonzales 2011 yılındaki makalesinden alınmıştır).

Son dönemde yapılan çalışmalarda kalbindin içeren hücrelerin erişkin sıçan PPN'deki dağılımı incelenmiş, GABAerjik nöronlar rostral PPN'de yoğunluk gösterirken kolinerjik, glutamaerjik ve kalbindin, kalretinin içeren nöronların caudalde yoğunlaştığı gözlemlenmiştir.

PPN 300 µm'lik aralıklarla bölgelere ayrıldığında rostral ve caudalde yoğun bulunarak nükleusun orta bölgelerinde bu yoğunluğun düştüğü bildirilmiştir (124).

Bu çalışmanın devamı olarak kalbindinin gelişimsel süreçteki dağılımının incelendiği bu çalışmanın yapılan diğer çalışmalarla bütünlük göstereceğini düşünmekteyiz.

BÖLÜM III. Gereç ve Yöntem

III.1.Araştırma Yöntemleri

Marmara Üniversitesi deney hayvanları araştırma ve uygulama merkezinden temin edilen wistar sıçanlar doğumlarının ,7.gün ,14.gün , ve 21. Günlerinde alınarak % 4 lük paraformaldehit ile transkardiyak perfüze edilip, beyinleri çıkarılmıştır. 1 gecelik postfiksasyon sonrasında %30 luk sükröz solusyonu içerisine saklanmıştır. 40 um luk kesitler mikrotom kullanılarak alınmış ve free-floating kesitlere immunohistokimyasal boyamalar uygulanmıştır. Çalışmamızda her bir hayvan grubu için 4'er tane olmak üzere 12 sıçan kullanılmıştır.

III.1.1. Pedunclopontine nükleusun sınırlarının belirlenmesi

PPN'in sınırları Ch5 ve Ch6 sınırları kolinerjik nöron gruplarından oluşur (Mesulam et al., 1983).. Kolinerjik nöronların tesbiti için kolinasetil transferaz boyası ile boyama gerçekleştirilir.Pedunclopontine tegmental nükleus ve laterodorsal tegmental nükleusun sınırlarının tanımlanılmasında kullanılan kolinerjik nöronların dışında bu nükleuslar glutamaterjik ve gabarjik nöronlarda içerirler.

III.1.2. Kolinerjik Nöronların Tesbit Edilmesi : Kolinerjik nöronlara spesifik nörotransmitter olan asetilkolin *kolin asetil transferaz enzimi tarafından* kolin ve asetil-CoA'dan sentez edilir. Anti kolinasetil transferaz antikoru kullanılarak yapılan immunohistokimyasal boyama yöntemi ile *kolin asetil transferaz* enzimini sentezleyen kolinerjik hücreler tesbit edilir.

Anti kolinasetil transferaz boyama :

1.40 um luk free- floating kesitler Salin Fosfat Tamponu (PBS) tamponu içerisinde alınarak 3x10 dakika yıkanır.

2. Birincil antikor içeren serum + PBS solusyonunda oda ısısında 1 gece bekletilir.

%0.3 Triton X (Merck 108643)

PBS(Sigma Aldrich P4417 PBS Tablet)

%1 nonimmun serum (Sigma D9663 Donkey Serum)

1/500 'lik Anti-Choline Acetyltransferase antikor (Milipore AB144P)

3. 3x10 dakika PBS ile yıkanır.

4. Sekonder antikor ile oda ısısında 2 saat bekletilir.

% 0.3 Triton X (Merck 108643)

PBS(Sigma Aldrich P4417 PBS Tablet)

%1 nonimmun serum (Sigma D9663 Donkey Serum)

1/400 'lik Donkey anti- goat IgG Cy3 antikor (Milipore AP180C)

5. 3x10 dakika PBS ile yıkanır.

III.1.3. Kalbindin İçeren Nöronların Tesbiti: Kolinerjik boyama yapılan kesitlere Kalbindin monoklonal antikor ile ikincil boyama yapılır.

Kalbindin boyama

1. Birincil antikor içeren serum + PBS solusyonunda oda ısısında 1 gece bekletilir.

%0.3 Triton X (Merck 108643)

PBS(Sigma Aldrich P4417 PBS Tablet)

%1 nonimmun serum (Sigma D9663 Donkey Serum)

1/500 'lik Kalbindin D28K antikor (Santa- Cruz Biotechnology CB955)

2. 3x10 dakika PBS ile yıkanır.

3. Sekonder antikor ile oda ısısında 2 saat bekletilir.

% 0.3 Triton X (Merck 108643)

PBS(Sigma Aldrich P4417 PBS Tablet)

%1 nonimmun serum (Sigma D9663 Donkey Serum)

10 mg/ml Alexa Fluor 488 Donkey anti Mouse IgG (invitrogen A21202)

4. 3x10 dakika PBS ile yıkanır.

5. Kesitler jelâtinli lamlar üzerinde fırça yardımı ile alınır, kurumaya bırakılır.

6. Flouromount DPX ile lamlar kapatılır.

III.1.4. Nöron Görüntüleme

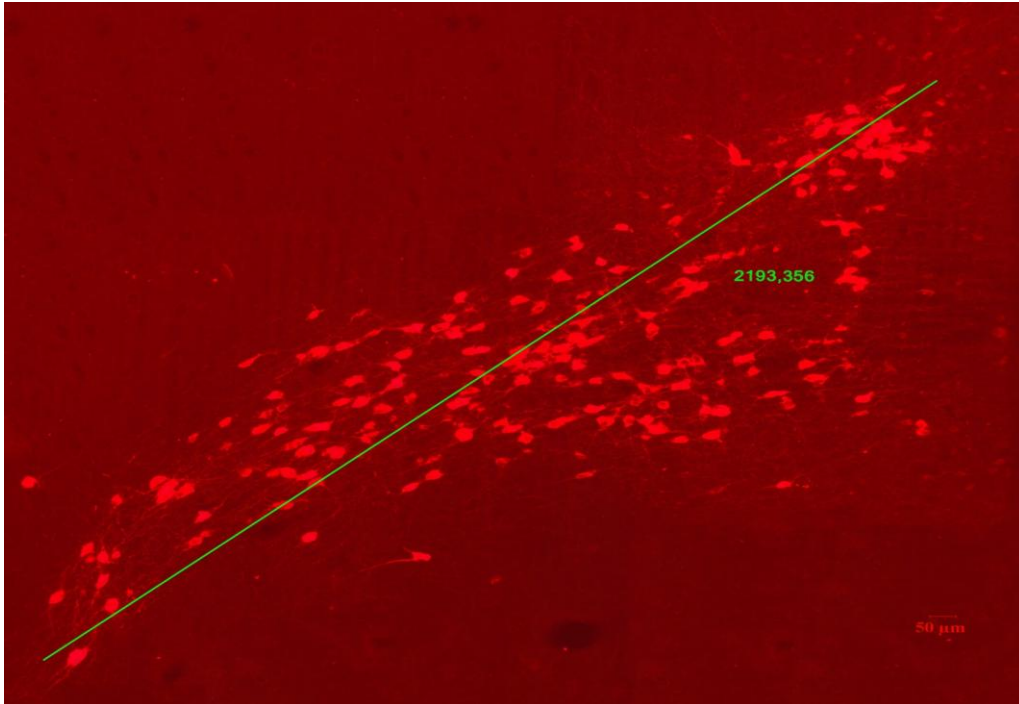
Olympus BX51 model floresan mikroskop ile kolinerjik boyanan hücreler uygun filtre (UMWG2) ile bakılarak PPN'in sınırları belirlenir. Belirlenen bu sınırlar içindeki bölgede uygun filtre (UMWIBA3) kullanılarak kalbindin pozitif boyama

gösteren hücreler tesbit edilir, X40'lık objektifte fotoğraflanarak; nöron tipleri, nükleus içindeki boyanma alanları ve nöron çapları kaydedilir.

III.1.5.Boyanma alanlarının belirlenmesi

Düzensi bir şekle sahip olan PPN, kama benzeri görüntüsü ile substantia nigra *pars reticulata*

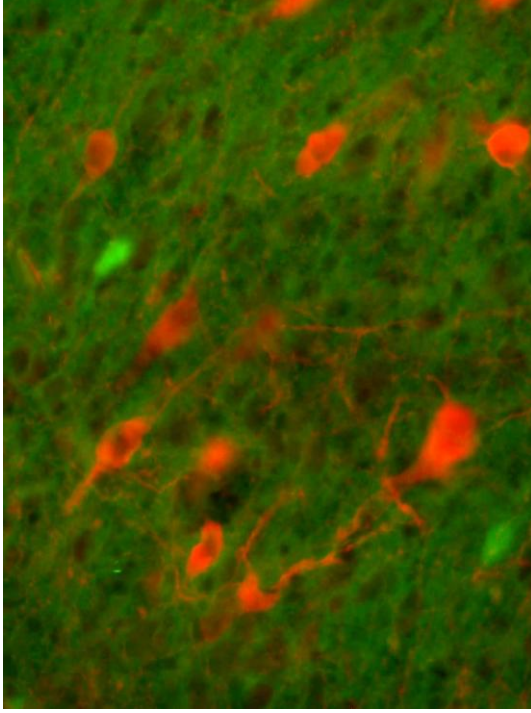
dan dorsokaudal olarak pedunculus cerebelli superior'a doğru uzanır. PPN'in şekli ve büyüklüğü mediolateral seviye farkına bağlı olarak değişir. Kolinasetiltransferaz boyama ile nükleusun sınırları belirlenmiştir. Nükleusun orta bölgelerinden alınan bir görüntü Şekil 3'te verilmiştir. Rostrokaudal uzunluk ~2193,356 um olarak ölçülmüştür. Alanın tamamı rostral (yaklaşık 460 um), median(yaklaşık 860 um) ve kaudal (860 um) olmak üzere üç bölgeye ayrılmıştır. İşaretlenen nöronların konumları bölgeler arasındaki nöron yoğunluklarını gelişimsel olarak karşılaştırmak amacı ile bu üç alandaki buldukları yere kaydedilmiştir. Nöronların konumlarının yanı sıra çap ölçümleri alınıp, nöron tipleri belirtilmiştir. Nükleusun bölgeleri veya gelişimsel süreçleri arasında nöron çapları açısından bir farklılık olup olmadığı incelenmiştir.



Şekil 11: Kolinasetil transferaz boyama yapılan PPN görüntüsü

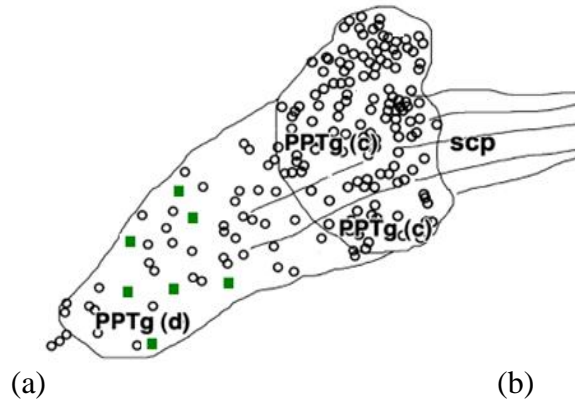
Bölüm IV: Bulgular

IV.I. 7 günlük Sıçanda İmmunohistokimyasal Boyanmalar

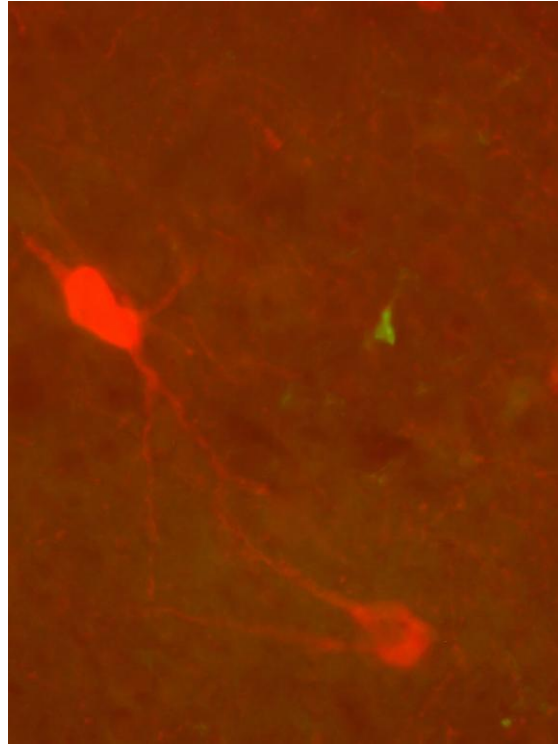


Şekil 12 : 7 günlük sıçan PPN 'inde boyanmış kolinerjik ve CB + nöronlar (a)

CB + Nöronların nükleus içerisindeki rostral yönelimli dağılımları (b)

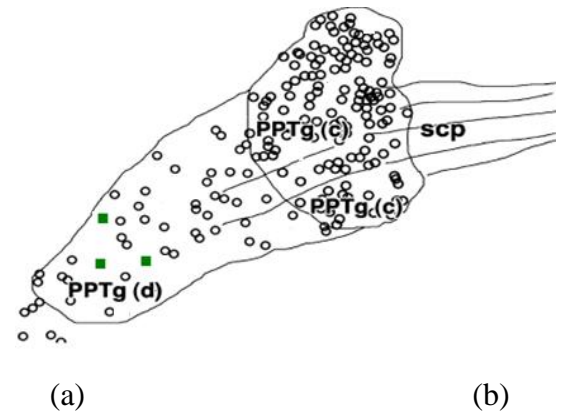


IV.II. 14 günlük Sıçanda İmmunohistokimyasal Boyanmalar

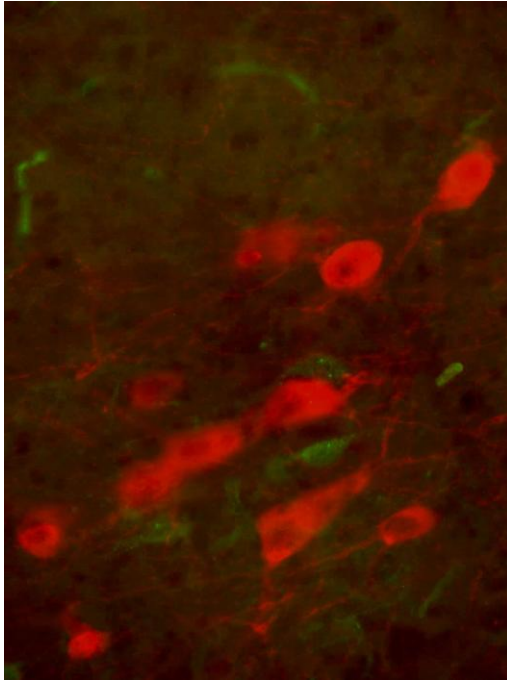


Şekil 13: 14 günlük sıçan PPN 'inde boyanmış kolinerjik ve CB + nöronlar (a)

CB + Nöronların nükleus içerisindeki rostral yönelimli dağılımları (b)

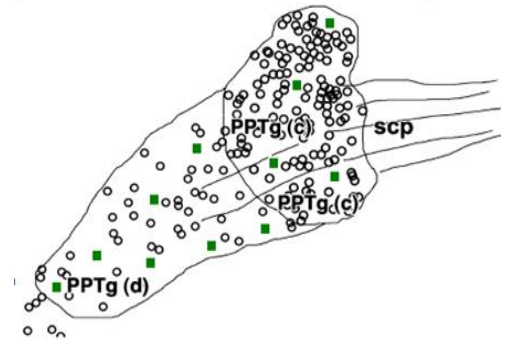
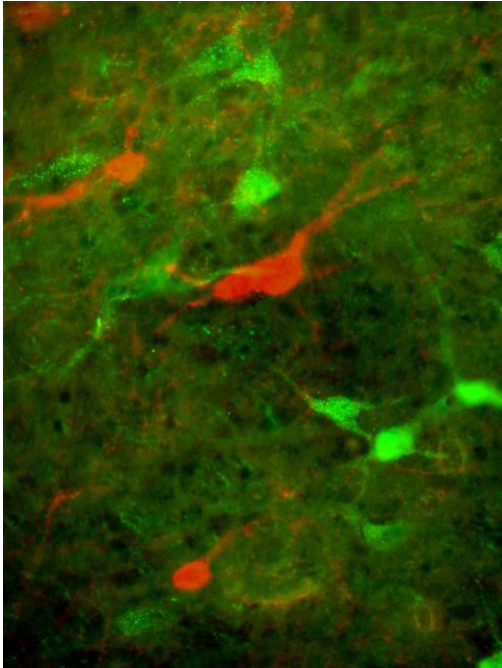


IV.III. 21 günlük Sıçanda İmmunohistokimyasal Boyanmalar



(a)

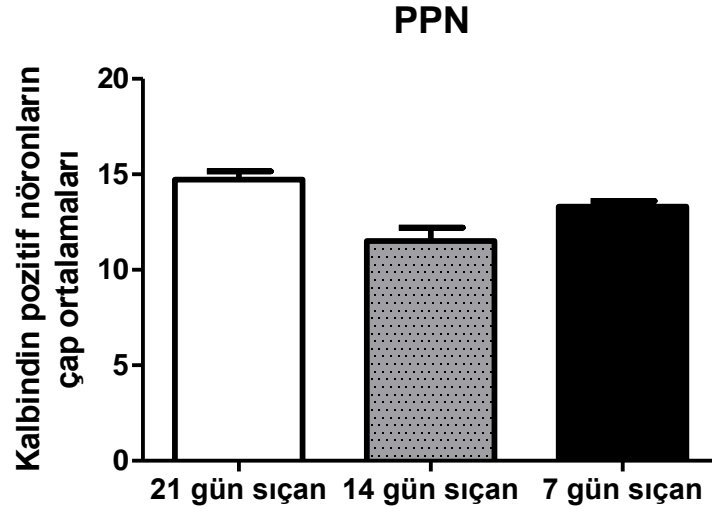
(b)



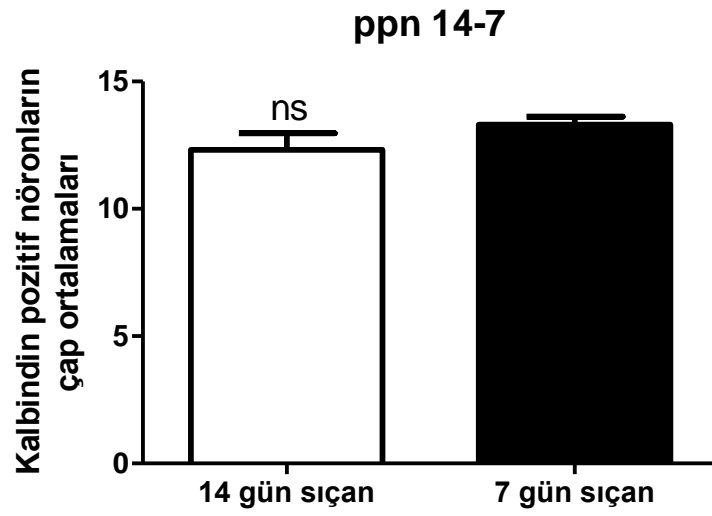
(c)

Şekil 14: 21 günlük sıçan PPN 'inde boyanmış kolinerjik ve CB + nöronlar (a-b)

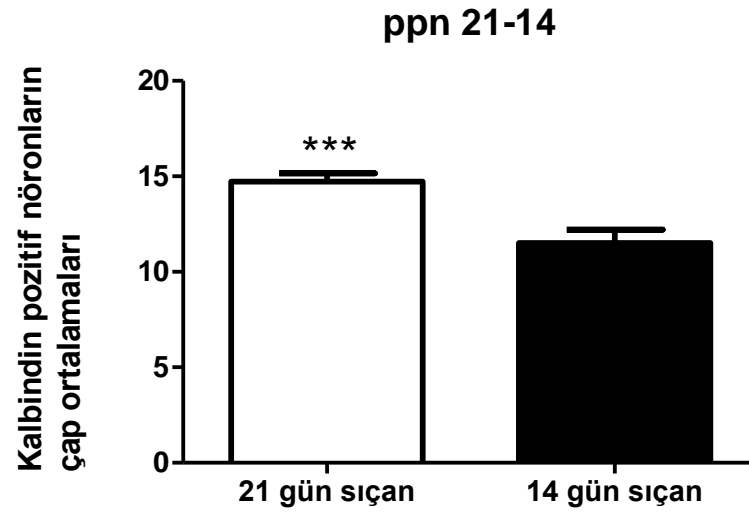
CB + Nöronların nükleus içerisindeki homojen dağılımları (c)



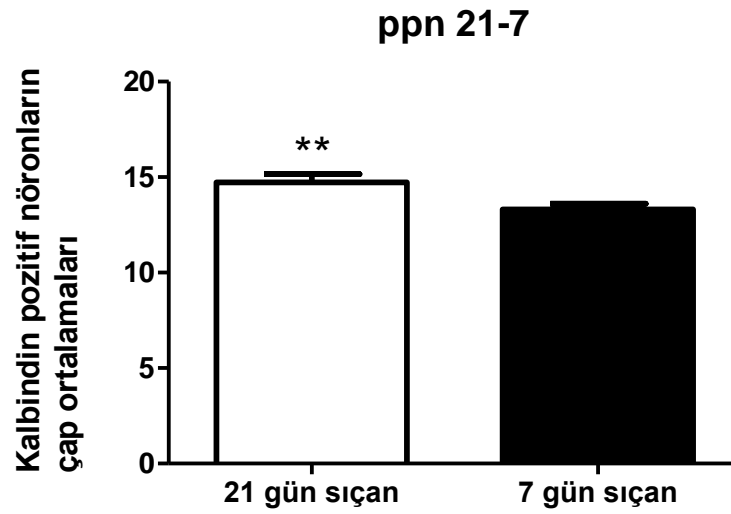
Tablo 4. 7., 14. ve 21. Günlük sıçanların nöron çaplarının karşılaştırılması



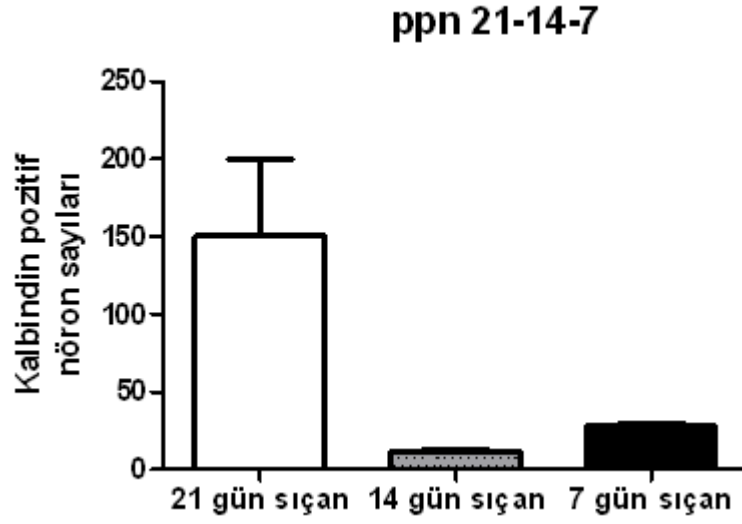
Tablo 5. 7. ve 14.günlerdeki sıçanların nöron çap ortalamaları arasında unpaired t-testine göre anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. (p=0.1262)



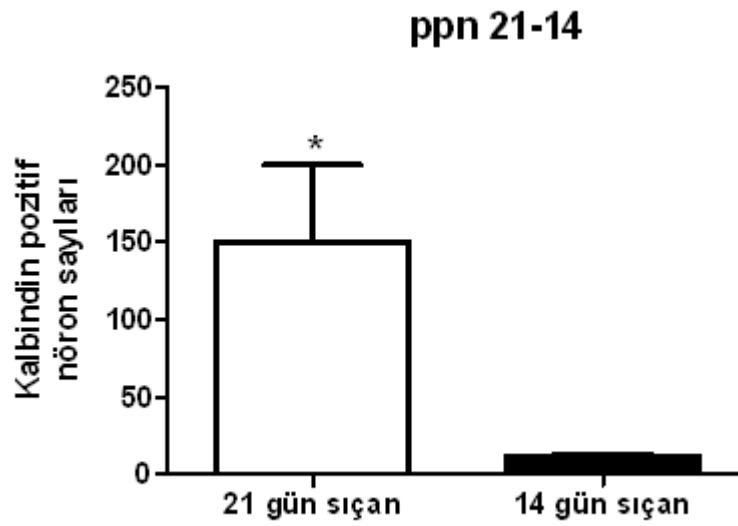
Tablo 6. 14 ve 21 .günlerdeki sıçanların nöron çap ortalamaları arasında unpaired t-testine göre anlamlı bir farklılık gözlenmiştir. (p=0.0001)



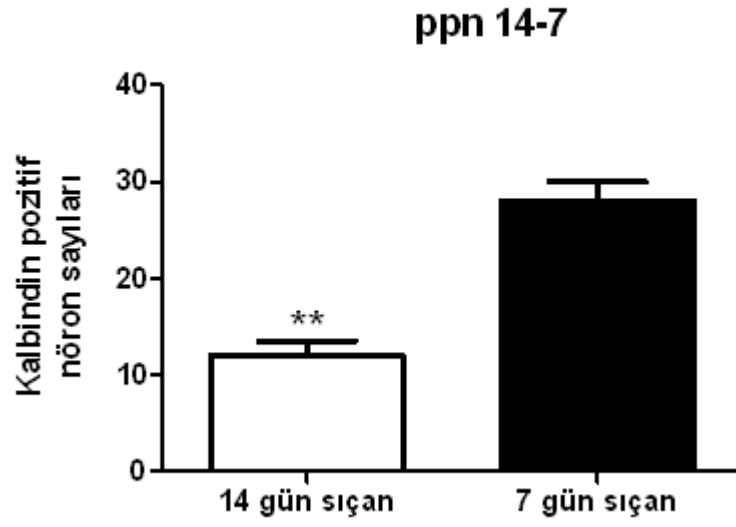
Tablo 7. 7 ve 21 .günlerdeki sıçanların nöron çap ortalamaları arasında unpaired t-testine göre anlamlı bir farklılık gözlenmiştir. (p=0.01)



Tablo 8. 7., 14., ve 21 günlük sıçanların PPN bölgesinde bulunan kalbindin pozitif nöron sayıları karşılaştırılması



Tablo 9. 14 ve 21 günlük sıçanların PPN bölgesinde bulunan kalbindin pozitif nöron sayıları karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık gözlenmiştir ($p=0.0343$)



Tablo 10. 7 ve 14 günlük sıçanların PPN bölgesinde bulunan kalbindin pozitif nöron sayıları karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık gözlenmiştir ($p=0.0075$)

Bölüm V: Tartışma ve Sonuç

PPN *pons ve medulla spinalis*'teki motor hareketi yapan yapılar ile basal ganglia ve limbik sistem arasında önemli bir anatomik role sahiptir. GABAerjik ve glutamaterjik uyarılar alır ve mesensefhalik dopaminerjik nöronlar ile karşılıklı bağlantıları mevcuttur. PPN'nin frontostriatal bilginin işleme sürecinde anahtar role sahip olduğu düşünülmektedir (128). Yaygın olarak kabul edilen görüşe göre PPN'in farklı boyutlarda ve farklı kimyasal özellikte nöronlardan meydana geldiği kabul görülmektedir. Kolinerjik nöronlar PPN içerisinde çok daha az oranda bulunup rostrokaudal hat boyunca heterojen şekilde repesante olmuşlardır. Geniş oranlarda GABAerjik ve glutamaterjik nöronlar ile iç içe geçmiş bir dağılım göstermektedirler (62,129). GABAerjik nöronlar kolinerjik ve glutamaterjik nöronlara kıyasla rostral PPN'de çok daha yoğun bulunmaktadır (124). Rostral PPN'in aksine kaudal PPN'de glutamaterjik nöron oranı fazladır (62).

Martinez-Gonzalez'in Nisan 2011 de yayınladıkları çalışmaya kadar PPN'deki aynı nöron gruplarının farklı nörokimyasal bir marker ile birlikte eksprese olabileceği tanımlanmamıştır. Beynin farklı bölgelerindeki nöronlar, hipokampus (118); korteks (119) ve basal ganglia gibi (120) kalsiyum bağlayıcı proteinler sentezlemektedirler. Bu sentez ile nöronlar aynı nörotransmitteri kullanmalarına rağmen farklı fonksiyonel özelliklere sahip olmaktadır ve kalsiyum bağlayıcı proteinler nöronların çeşitli alt gruplar ayrılmasında yararlı işaretleyicidirler. Kalsiyum bağlayıcı proteinlerin varlığı maymun PPN 'inde (121,126) sıçan PPN'inde (122) gösterilmiştir. Aslında sıçan PPN'indeki kolinerjik nöronların sayısı ile kalbindin ve kalretinin eksprese eden nöronların sayısı hemen hemen aynıdır (123). Kalsiyum bağlayıcı proteinler nadir olarak kolinerjik nöronlarda eksprese olsalar da yaygın olarak GABAerjik ve glutamaterjik nöronlarda eksprese olmaları ile GABAerjik ve glutamaterjik nöronların fonksiyonel alt tiplerini ortaya koyarlar (124).

Kalbindin sentezleyen hücrelerin gelişimsel süreçteki değişimlerini incelediğimiz çalışmamızda 7., 14. ve 21. günlük sıçanlara ait beyin kesitlerinde yapılan immunohistokimyasal boyamalar sonucunda 7 ile 14 ve 14 ile 21 günlük sıçanların PPN bölgesinde bulunan kalbindin pozitif nöron sayıları karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık gözlenmiştir (sırasıyla $p=0.0075$ ve $p=0.0343$).

PPN üzerinde yaptığı elektrofizyolojik REM uykusu çalışmalarında Jouvett-Mounier sıçanlarda 10 ile 30. postnatal günler arasında REM uykusunda düşüş meydana geldiğini, bu düşüşün büyük kısmı 12 ile 21. günler arasında gerçekleştiğini bulmuştur (65). Garcia Rill ise major değişikliğin 10 ile 15: günler arasında olduğunu savunmuştur (130). REM uykusundaki bu düşüş mekanizmasının artan REM uykusu eğilimi ile karakterize olan sızofreni, anksiyete ve depresyon gibi hastalıkların başlangıcında rol oynayabileceğine dair hipotezler ortaya konulmuştur (131). REM uykusunda tesbit edilen gelişimsel düşüşün rastlanıldığı 14 -21 günler arasındaki günlerde çalışmamızda saydığımız kalbindin boyanan hücre sayısında artış olması uyumluluk göstermektedir.

REM uykusu ve uyanıklığı düzenleyen retiküler aktive edici sistemin kolinerjik parçası olan PPN 'in uyarılması REM uykusunu arttırırken (132) PPN lezyonları da REM uykusunu düşürmüştür (133). PPN nöronları uyanıklık ve REM uykusu süresince düşük burst aktivite göstermektedir. REM uykusundaki düşüşü gelişimsel farklılıklar ile açıklamaya çalışan Garcia-Rill ve arkadaşlarının çalışmasında PPN nöronları gelişimsel dönem boyunca GABA aganosti muscimol (GABAa reseptörüne spesifik) ve yine GABA agonisti baklofen (GABAb reseptörüne spesifik) ile module edilmiştir. Sonuçta REM uykusunda meydana gelen gelişimsel düşüş boyunca GABA a reseptörünün aktivasyonu ile eksitasyondan inhibisyona doğru bir kayan bir tablo ortaya çıkmaktadır. GABAb reseptörü ise daha az göze çarpıcı şekilde inhibitördür (131). Gelişimin erken dönemlerinde 12. ve 16. günler arasında GABA a reseptörünün aktivasyonu PPN nöronlarının depolarizasyonuna yol açmaktadır. REM uykusundaki gelişimsel düşüş süresince 17-21. günlerde hiperpolarizasyona sebep olmaktadır.

PPN diğer mesopontin nükleuslardan glutamaterjik lifler almaktadır. Glutamaterjik liflerin uyarılma durumlarının oluşumuyla yakın ilişkili olduğuna inanılmaktadır. Christen Simon ve arkadaşlarının yeni yayınladıkları çalışmada postnatal 9 ile 17. günler arasındaki glutamat reseptörlerinin alt tiplerindeki gelişimsel değişikliklerin PPN nöronlarının cevaplarına katkısı olup olmadığı araştırılmıştır. PPN hücre tiplerinin glutamaterjik eksitabilitesindeki değişiklikler REM uykusundaki gelişimsel düşüşün temelini oluşturur(134)

Bay (2006) ve Simon (2011) çalışmaları da glutamaterjik ve gabaerjik kökenli olduğu bilenen kalbindin pozitif nöronların gelişimsel olarak 7, 14 ve 21. günler arasındaki değişikliklerin anlamlı ipuçları verebileceğinden daha spesifik incelenmesi gerektiğini işaret etmektedir.

Diğer taraftan gruplar arasındaki nöron çap ortalamalarına bakıldığında ise 7 ile 21. ve 14 ile 21. günlerdeki sıçanların nöron çap ortalamaları arasında unpaired t-testine göre anlamlı bir farklılık gözlenmiştir (sırasıyla $p=0.01$ ve $p=0.0001$). Ninomiya ve arkadaşlarının (2005) kolinerjik nöronların gelişimini inceledikleri çalışmada 14 ve 21. günler arasında nükleusların çaplarının arttığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda 14.günde nöron çapı yaklaşık 12 mikron iken 21.güne gelindiğinde 15 mikron olarak ölçülmüştür. Genel olarak 14 ve 21. Günler arasında nöron çaplarında artış meydana geldiğini söyleyebiliriz.

Çalışmamız sırasında karşılaşılan sorunlardan birisi GABA nöronlarının geleneksel immunohistokimyasal yöntemlerle boyanmasında karşılaşılan zorluklardır. Belirttiğimiz kalbindin boyanan hücre sayısı gabaerjik ve glutamaterjik nöronların toplamıdır. gabaerjik ve glutamaterjik nöronların ayrı olarak sayımlarının yapılabilmesi için in situ hibridizasyon yöntemi kullanılmalıdır.

Côté and André Parent 2003 yılında yaptıkları çalışmalarda maymunlarda PPN ve nucleus basalisteki kolinerjik nöronların ikili immunohistokimyasal boyama yaparak kalbindin varlığını incelemişler, sonuçta PPN'deki kolinerjik nöronların kalbindinden yoksun olduğunu nucleus basalisteki kolinerjik nöronların ise kalbindin içerdiğini ortaya koymuşlardır (126). Bu sonuçlar doğrultusunda ise Alzheimer hastalığı patogenezinde rolü olmayan PPN' e rağmen nucleus basalis'in hastalığın üzerinde etkisi olmasından yola çıkarak kalbindin varlığının sadece Alzheimer hastalığı değil diğer nörodejeneratif rahatsızlıklarda da etkin olabileceğini öne sürmüşlerdir. Diğer bir kalsiyum bağlayıcı protein olan kalretinin varlığının ise Parkinson hastalığı üzerinde koruyucu etkisi olduğuna dair çalışmalar yapılmıştır (127).

Uyanıklık ve REM uykusu ile ilişkili olduğu gösterilmiş olan PPN nöronları uyanıklık sırasında tonik, REM uykusu sırasında tonik ve burst, yavaş dalgalı uykuda ise azalan aktivite gösterirler (135). Kobayashi ve arkadaşları postnatal 12- 21.

günlük sıçanlarda PPN nöronlarında meydana gelen nörokimyasal değişiklikleri incelemişlerdir. Bu çalışma hücrese düzeyde uyku uyanıklık siklusu ve uyarılma ile ilgili gelişimsel bilgiler sunmuştur. Bu bilgiler doğrultusunda PPN'e gelen gultamatergic ve serotonerjik liflerdeki gelişimsel düzensizliğin REM uykusundaki düşüşe yol açtığı hipotezini ortaya koymuşlardır (136). Temel olarak yenidoğanda REM uykusu temel uykunun %50 seviyesindeyken (yaklaşık 8 saat), yetişkinde % 15'ini oluşturmaktadır (yaklaşık 1 saat). REM uykusundaki bu ana düşüş doğum ile ergenlik dönemi arasında olur. Sıçanda ise gelişimsel düşüş 10. ile 30. günler arasında olmaktadır. Sıçanda bu dönemdeki REM uykusu toplam uykunun %70'i oranından %15'e düşmektedir. Bilim adamlarına göre gelişimsel dönemdeki bu düzensizlik arşatırılıp uyku inhibitör sürecine ilişkin tedavi uygulanabilirse REM uykusu bozukluğuna bağlı, anksiyete, şizofreni, bipolar ve unipolar depresyon gibi hastalıklar üzerinde olumlu sonuçlar elde edilebilir (137).

Kobayashi ve arkadaşaları düşüşün olduğu dönemi şu şekilde açıklamaktadır. 12-21 günler arasındaki sıçanlara glutamat enjekte etmişler. Glutamat NMDA(N-metil-D-spartik asit) ve kainik asit glutamat reseptörlerini aktif hale geçirir. NMDA Uyanıklığın sağlanamsında etkin rol oynarken kainik asit ise REM uykusuna geçişi sağlar. Uyanıklığın sağlanmasında etkin olan NMDA başlangıçta yüksek uyarılara cevap verirken zamanla daha düşük uyarılara cevap verir, uyku durumuna geçişte etkin olan kainik asit ise başlangıçta daha düşük uyarılara cevap verirken zamanla daha yüksek seviyede uyarana cevap vermektedir. Böylelikle NMDA daha etkin olmaya başlayacağından uyanıklık durumu gerçekleşir. Bu kritik düşüşün 15 ve 16. Günler arasında başladığı gözükmektedir (136). İnsanda REM uykusu bozukluğuna bağlı, anksiyete, şizofreni, bipolar ve unipolar depresyon gibi hastalıkların ortaya çıktığı dönemin 15- 25 yaşlar arasında olduğu ve ergenlik dönemine rastladığı göz önüne alınırsa ve bu dönemde insanda da REM uykusunun azaldığı dönem olması anlamlıdır.

Nucleus pedunculo pontinus tegmenti'de farklı nörokimyasal özellikleri bulunan nöronlara çeşitli görevler adledilmiştir. Ninomiya motor kontrolün gelişiminde PPN'deki kolinerjik nöronların gelişiminin rol oynadığını (66), Garcia Rill uyku uyanıklık siklusunun düzenlenmesinde gelişimsel değişikliklerin etkisini

çalışmalarında göstermiştir (131). Winn'in çalışmaları ödül destekli öğrenme üzerine PPN'in etkisini ortaya koymuş olsa da bu alanda gelişimsel çalışmalar yapılmamıştır.

Literatür çalışmaları ile elde edilen sonuçlar, ortaya çıkan gelişimsel farklılıkların bazı fonksiyonel farkların oluşmasıyla ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu çalışmamız sonucunda kalbindin miktarının gelişimsel olarak değişimi için elde ettiğimiz değişim günleri literatürdeki çalışmalar ile paralellik göstermektedir.

PPN'deki gabaerjik ve glutamaterjik nöronların gelişimsel değişimi ile ilgili henüz yeterli çalışma yoktur. Bu nörotransmitterlerin rutin immünohistokimyasal yöntemlerle işaretlenmesindeki zorluklar bu çalışmaların olmamasının temel nedenlerindedir. Bu çalışmamızla gabaerjik ve glutamaterjik nöronları işaretlediği bilinen Ca bağlayıcı bir protein olan kalbindinin gelişimsel değişimi ortaya konmuştur.

KAYNAKLAR

1. Garcia-Rill E. (1991). The pedunculopontine nucleus. *Prog Neurobiol*, 36:363–389.
2. Mena-Segovia J, Ross HM, Magill PJ, Bolam JP.(2005). The pedunculopontine nucleus: towards a functional integration with the basal ganglia. Springer
3. Pahapill PA, Lozano AM. (2000). The pedunculopontine nucleus and Parkinson's disease. *Brain*, 123(Pt 9):1767–1783.
4. Pereira EA, Muthusamy KA, De Pennington N, Joint CA, Aziz TZ. (2008). Deep brain stimulation of the pedunculopontine nucleus in Parkinson's disease. Preliminary experience at Oxford. *Br J Neurosurg*, 22 Suppl 1:S41-4.
5. Mena-Segovia J, Micklem BR, Nair-Roberts RG, Ungless MA, Bolam JP. (2009 Aug 1). GABAergic neuron distribution in the pedunculopontine nucleus defines functional subterritories. *J Comp Neuro*, 515(4):397-408.
6. Olszewski J, Baxter D. *Cytoarchitecture of the human brain stem*, 1st ed. Philadelphia: Lippencott; 1954.
7. Jenkinson N, Nandi D, Muthusamy K, Ray NJ, Gregory R, Stein JF, Aziz TZ. (2009 Feb 15). Anatomy, physiology, and pathophysiology of the pedunculopontine nucleus. *Mov Disord*, 24(3):319-28.
8. Clements JR, Grant S. (1990). Glutamate-like immunoreactivity in neurons of the laterodorsal tegmental and pedunculopontine nuclei in the rat. *Neurosci Lett*, 120:70–73.
9. Lavoie B, Parent A. (1994). Pedunculopontine nucleus in the squirrel monkey: distribution of cholinergic and monoaminergic neurons in the mesopontine tegmentum with evidence for the presence of glutamate in cholinergic neurons. *J Comp Neurol*, 344:190–209.
10. Ford B, Holmes CJ, Mainville L, Jones BE. (1995). GABAergic neurons in the rat pontomesencephalic tegmentum: codistribution with cholinergic and other tegmental neurons projecting to the posterior lateral hypothalamus. *J Comp Neurol*, 363:177–196.

11. Rye DB, Saper CB, Lee HJ, Wainer BH. (1987). Pedunculopontine tegmental nucleus of the rat: cytoarchitecture, cytochemistry, and some extrapyramidal connections of the mesopontine tegmentum. *J Comp Neurol*, 259:483–528.
12. Losier BJ, Semba K. (1993). Dual projections of single cholinergic and aminergic brainstem neurons to the thalamus and basal forebrain in the rat. *Brain Res*,;604:41–52.
13. Semba K, Reiner PB, Fibiger HC. (1990). Single cholinergic mesopontine tegmental neurons project to both the pontine reticular formation and the thalamus in the rat. *Neuroscience*, 38:643– 54.
14. Semba K, Reiner PB, McGeer EG, Fibiger HC. (1988). Brainstem afferents to the magnocellular basal forebrain studied by axonal transport immunohistochemistry, and electrophysiology in the rat. *J Comp Neurol*, 267:433– 53.
15. Pahapill PA, Lozano AM. (2000). The pedunculopontine nucleus and Parkinson's disease. *Brain*, 123:1767 –83.
16. Goldsmith M, van der Kooy D. (1988 Apr 5). Separate non-cholinergic descending projections and cholinergic ascending projections from the nucleus tegmenti pedunculopontinus. *Brain Res*, 445(2):386-91.
17. Rye DB, Lee HJ, Saper CB, Wainer BH. Medullary and spinal efferents of the pedunculopontine tegmental nucleus and adjacent mesopontine tegmentum in the rat. *J Comp Neurol*, 1988;269: 315– 41.
18. Jones BE. (1990). Immunohistochemical study of choline acetyltransferaseimmunoreactive processes and cells innervating the pontomedullary reticular formation in the rat. *J Comp Neurol*, 295:485– 514.
19. Lydic R, Baghdoyan HA. (1993). Pedunculopontine stimulation alters respiration and increases ACh release in the pontine reticular formation. *Am J Physiol*, 264:R544– 54.
20. Mitani A, Keihachiro I, Hallanger AE, Wainer BH, Kataoka K,McCarley RW. (1988). Cholinergic projections from the laterodorsal and pedunculopontine tegmental nuclei to the pontine gigantocellular tegmental field in the cat. *Brain Res*, 451:397–402.

21. Nakamura Y, Tokuno H, Moriizumi T, Kitao Y, Kudo M. (1989). Monosynaptic nigral inputs to the pedunculopontine tegmental nucleus neurons which send their axons to the medial reticular formation in the medulla oblongata. An electron microscopic study in the cat. *Neurosci Lett*, 103:145–50.
22. Rye DB, Lee HJ, Saper CB, Wainer BH. (1988). Medullary and spinal efferents of the pedunculopontine tegmental nucleus and adjacent mesopontine tegmentum in the rat. *J Comp Neurol*, 269: 315– 41.
23. Skinner RD, Kinjo N, Ishikawa Y, Biederman JA, Garcia-Rill E. (1990). Locomotor projections from the pedunculopontine nucleus to the medioventral medulla. *NeuroReport*, 1:207–10.
24. Fay RA, Norgren R. (1997). Identification of rat brainstem multisynaptic connections to the oral motor nuclei using pseudorabies virus. II. Facial muscle motor systems. *Brain Res Rev*, 25:276– 290.
25. Lee HJ, Rye DB, Hallanger AE, Levey AI, Wainer BH. (1988). Cholinergic vs. non-cholinergic efferents from the mesopontine tegmentum to the extrapyramidal motor system nuclei. *J Comp Neurol*, 275:469– 92.
26. Honda T, Semba K. (1994). Serotonergic synaptic input to cholinergic neurons in the rat mesopontine tegmentum. *Brain Res*, 647:299– 306.
27. Leonard CS, Llina's RR. (1994). Serotonergic and cholinergic inhibition of mesopontine cholinergic neurons controlling REM sleep: an in vitro electrophysiological study. *Neuroscience*, 59:309– 30.
28. Hou YP, Manns ID, Jones BE. (2002). Immunostaining of cholinergic pontomesencephalic neurons for $\alpha 1$ versus $\alpha 2$ adrenergic receptors suggests different sleep–wake state activities and roles. *Neuroscience*, 114:517– 21.
29. Williams JA, Reiner PB. (1993). Noradrenaline hyperpolarizes identified rat mesopontine cholinergic neurons in vitro. *J Neurosci*, 13:3878–83.
30. Jones BE, Yang TZ. (1985). The efferent projections from the reticular formation and the locus coeruleus studied by anterograde and retrograde axonal transport in the rat. *J Comp Neurol*, 242:56– 92.

31. Semba K, Fibiger HC. (1992). Afferent connections of the laterodorsal and the pedunculopontine tegmental nuclei in the rat: a retro- and anterograde transport and immunohistochemical study. *J Comp Neurol*, 323:387– 410.
32. McCormick DA, Prince DA. (1986). Acetylcholine induces burst firing in thalamic reticular neurons by activating a potassium conductance. *Nature*, 319:402– 5.
33. Swadlow HA, Gusev AG. (2001). The impact of “bursting” thalamic impulses as a neocortical synapse. *Nat Neurosci*, 4:402 – 8.
34. Rasmusson DD, Clow K, Szerb JC. (1994). Modification of neocortical acetylcholine release and electroencephalogram desynchronization due to brainstem stimulation by drugs applied to the basal forebrain. *Neuroscience*, 60:665–77.
35. Spann, B.M. and Grofova, I. (1989). Origin of ascending and spinal pathways from the nucleus tegmenti pedunculopontinus in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 283:13.
36. Spann, B.M. and Grofova, I. (1991). Nigropedunculopontine projection in the rat: an anterograde tracing study with Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin (PHA-L). *J.Comp.Neurol*, 311-375.
37. Clarke, N.P., Bevan, M.D., Cozzari, C., Hartman, B.K., and Bolam, J.P. (1997). Glutamate-enriched cholinergic synaptic terminals in the entopeduncular nucleus and subthalamic nucleus of the rat. *Neuroscience*, 81:371.
38. Mena-Segovia J, Bolam J.P. and Magill P.J. (2004). Pedunculopontine nucleus and basal ganglia: distant relatives or part of the same family. *Trends Neurosci*, 27:585.
39. Bolam J.P, Francis C.M, and Henderson Z. (1991). Cholinergic input to dopaminergic neurons in the substantia nigra: a double immunocytochemical study. *Neuroscience*, 41:483.
40. Garzon M, Vaughan R.A, Uhl G.R, Kuhar M.J, and Pickel V.M. (1999). Cholinergic axon terminals in the ventral tegmental area target a subpopulation of neurons expressing low levels of the dopamine transporter. *J Comp Neurol*, 410:197.

41. Wilson SAK. (1914). An experimental research into the anatomy and physiology of the corpus striatum. *Brain*, 36:427–492
42. Garcia-Rill E, Skinner R.D, Miyazato H, and Homma Y. (2001). Pedunculo-pontine stimulation induces prolonged activation of pontine reticular neurons. *Neuroscience*, 104:455.
43. Garcia-Rill E. and Skinner R.D. (1988). Modulation of rhythmic function in the posterior midbrain. *Neuroscience*, 27:639.
44. Takakusaki K, Shiroyama T, Kitai ST. (1997). Two types of cholinergic neurons in the rat tegmental pedunculo-pontine nucleus: electrophysiological and morphological characterization. *Neuroscience*, 79:1089–109.
45. Kobayashi ve Isa. (2002). Sensory-motor gating and cognitive control by the brainstem cholinergic system. *Neural Netw*, 15:731.
46. Steriade M, Datta S, Pare D, Oakson G, and Curro Dossi RC. (1990). Neuronal activities in brain-stem cholinergic nuclei related to tonic activation processes in thalamocortical systems. *J Neurosci*, 10:2541.
47. Winn P. (2006 Oct) How best to consider the structure and function of the pedunculo-pontine tegmental nucleus: evidence from animal studies. *J Neurol Sci*, 25;248(1-2):234-50. Epub 2006 Jun 9. Review.
48. Mena-Segovia J, Sims HM, Magill PJ, Bolam JP. (2008 Jun). Cholinergic brainstem neurons modulate cortical gamma activity during slow oscillations. *J Physiol*, 15;586(Pt 12):2947-60. Epub 2008 Apr 25.
49. Mesulam MM, Mufson EJ, Wainer BH, Levey AI. (1983). Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1–Ch6). *Neuroscience*, 10:1185– 201.
50. Geula C, Schatz CR, Mesulam MM. (1993 May). Differential localization of NADPH-diaphorase and calbindin-D28k within the cholinergic neurons of the basal forebrain, striatum and brainstem in the rat, monkey, baboon and human. *Neuroscience*, 54(2):461-76.
51. Rye DB, Saper CB, Lee HJ, Wainer BH. (1987). Pedunculo-pontine tegmental nucleus in the rat: cytoarchitecture, cytochemistry, and some extrapyramidal connections of the mesopontine tegmentum. *J Comp Neurol*, 259:483– 528

52. Jones BE. (1991). Paradoxical sleep and its chemical/structural substrates in the brain. *Neuroscience*, 40(3):637-56.
53. Manaye KF, Zweig R, Wu D, Hersh LB, De Lacalle S, Saper CB, and German DC. (1999). Quantification of cholinergic and select non-cholinergic mesopontine neuronal populations in the human brain. *Neuroscience*, 89:759.
54. Brown RE, McKenna JT, Winston S, Basheer R, Yanagawa Y, Thakkar MM, McCarley RW. (2008). Characterization of GABAergic neurons in rapideye-movement sleep controlling regions of the brainstem reticular formation in GAD67-green fluorescent protein knock-in mice. *Eur J Neurosci*, 27:352–363
55. Takakusaki K, Oohinata-Sugimoto J, Saitoh K, Habaguchi T. (2004). Role of basal ganglia-brainstem systems in the control of postural muscle tone and locomotion. *Prog Brain Res*, 143:231–237.
56. Inglis WL, Olmstead MC, Robbins TW. (2001). Selective deficits in attentional performance on the 5-choice serial reaction time task following pedunculopontine tegmental nucleus lesions. *Behav Brain Res*, 123: 117–131.
57. Wang H, Morales M. (2009). Pedunculopontine and laterodorsal tegmental nuclei contain distinct populations of cholinergic, glutamatergic and GABAergic neurons in the rat. *Eur J Neurosci*.
58. Clements JR, Grant S. (1990 Nov). Glutamate-like immunoreactivity in neurons of the laterodorsal tegmental and pedunculopontine nuclei in the rat. *Neurosci Lett*, 27;120(1):70-3.
59. Clements JR, Toth DD, Highfield DA, Grant SJ. (1991). Glutamate-like immunoreactivity is present within cholinergic neurons of the laterodorsal tegmental and pedunculopontine nuclei. *Adv Exp Med Biol*, 295:127-42.
60. Lavoie B, Parent A. (1994 Jun 8). Pedunculopontine nucleus in the squirrel monkey: cholinergic and glutamatergic projections to the substantia nigra. *J Comp Neurol*, 344(2):232-41.
61. Jia HG, Yamuy J, Sampogna S, Morales FR, Chase MH. (2003 Dec 5). Colocalization of gamma-aminobutyric acid and acetylcholine in neurons in the laterodorsal and pedunculopontine tegmental nuclei in the cat: a light and electron microscopic study. *Brain Res*, 992(2):205-19.

62. Wang HL, Morales M. (2009 Jan). Pedunculopontine and laterodorsal tegmental nuclei contain distinct populations of cholinergic, glutamatergic and GABAergic neurons in the rat. *Eur J Neurosci*, 29(2):340-58.
63. Rye DB, Saper CB, Lee HJ, Wainer BH. (1987 May 22). Pedunculopontine tegmental nucleus of the rat: cytoarchitecture, cytochemistry, and some extrapyramidal connections of the mesopontine tegmentum. *J Comp Neurol*, 259(4):483-528.
64. Bolles RC, Woods PJ. (1964). The ontogeny of behavior in the albino rat. *Anim. Behav*, 12, 427-441.
65. Jouvet-Mounier D, Astic L, Lacote D. (1970). Ontogenesis of the states of sleep in rat, cat, and guinea pig during the first postnatal month. *Dev. Psychobiol*, 2, 216-239.
66. Ninomiya Y, Kayama Y, Koyama Y. (2005 Dec). Postnatal development of cholinergic neurons in the mesopontine tegmentum revealed by histochemistry. *Int J Dev Neurosci*, 23(8):711-21. Epub 2005 Nov 9.
67. Kobayashi T, Homma Y, Good C, Skinner RD, Garcia-Rill E. (2003 Jan 10). Developmental changes in the effects of serotonin on neurons in the region of the pedunculopontine nucleus. *Brain Res Dev Brain Res*, 140(1):57-66.
68. Wainer BH, Steininger TL, Roback JD, Burke-Watson MA, Mufson EJ, Kordower J. (1993). Ascending cholinergic pathways: functional organization and implications for disease models. *Prog Brain Res*. ;98:9-30
69. Takakusaki K, Habaguchi T, Ohtinata-Sugimoto J, Saitoh K, Sakamoto T. (2003). Basal ganglia efferents to the brainstem centers controlling postural muscle tone and locomotion: a new concept for understanding motor disorders in basal ganglia dysfunction. *Neuroscience*, 119(1):293-308.
70. Koyama Y, Kayama Y, Sakai K. Different physiological properties of two populations of PS-on neurons in the mesopontine tegmentum. In: Mallick, B.N., Inoue, S. (Eds.), *Rapid Eye Movement Sleep*. 1999. Narosa Publishing House, New Delhi, pp. 221-232.

71. Sakai K. Anatomical and physiological basis of paradoxical sleep. In: McGinty, D.J., Drucker-Colin, R., Morrison, A., Parmeggiani, L. (Eds.), *Brain Mechanism of Sleep*. 1985. Raven Press, New York, pp. 111–137.
72. Szabat, E., Vanhatalo, S., Soynila, S. (1998). The ontogenic appearance of tyrosine hydroxylase-, serotonin-, gamma-aminobutyric acid-, calcitonin gene-related peptide-, substance P-, and synaptophysin-immunoreactivity in rat pituitary gland. *Int. J. Dev. Neurosci*, 16, 449–460.
73. Vogel GW, Feng P, Kinney GG. (2000 Feb). Ontogeny of REM sleep in rats: possible implications for endogenous depression. *Physiol Behav*, 68(4):453-61.
74. Şehirli ÜS and Stanford IM Characterisation of pedunculopontine neurons, in vitro. British Neuroscience Association Meeting, Harrogate, 2007.
75. Ichinohe N, Teng B, Kitai ST. (2000 Jun). Morphological study of the tegmental pedunculopontine nucleus, substantia nigra and subthalamic nucleus, and their interconnections in rat organotypic culture. *Anat Embryol (Berl)*, 201(6):435-53.
76. Lolova IS, Lolov SR, Itzev DE. (1997 Sep). Aging and the dendritic morphology of the rat laterodorsal and pedunculopontine tegmental nuclei. *Mech Ageing Dev*, 97(3):193-205.
77. Arnulf I, Leu-Semenescu S. (2009 Dec). Sleepiness in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*, 15 Suppl 3:S101-4.
78. Inglis WL, Winn P. (1995 Sep). The pedunculopontine tegmental nucleus: where the striatum meets the reticular formation. *Prog Neurobiol*. ;47(1):1-29
79. Skinner RD, Garcia-Rill E (1984 Dec) The mesencephalic locomotor region (MLR) in the rat. *Brain Res*. 10;323(2):385-9.
80. Romigi A, Placidi F, Peppe A, Pierantozzi M, Izzi F, Brusa L, Galati S, Moschella V, Marciani MG, Mazzone P, Stanzione P, Stefani A. (2008). Pedunculopontine nucleus stimulation influences REM sleep in Parkinson's disease. *Eur J Neurol*.; 15 (7):e64-5.
81. Bechara A, van der Kooy D. (1992). A single brain stem substrate mediates the motivational effects of both opiates and food in nondeprived rats but not in deprived rats. *Behav Neurosci*, 106:351– 63.

82. Berridge KC, Robinson TE. (1998 Dec) What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience? *Brain Res Brain Res Rev.* ;28(3):309-69
83. Winn P, Farrell A, Maconick A, Robbins TW. (1983). Behavioural and pharmacological specificity of the feeding elicited by cholinergic stimulation of substantia nigra in the rat. *Behav Neurosci*, 97:794–809.
84. Alderson HL, Brown VJ, Latimer MP, Brasted PJ, Robertson AH, Winn P.(2002) The effect of excitotoxic lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus on performance of a progressive ratio schedule of reinforcement. *Neuroscience.* ;112(2):417-25
85. Winn P. (1998 Dec). Frontal syndrome as a consequence of lesions in the pedunculopontine tegmental nucleus: a short theoretical review. *Brain Res Bull.* 47(6):551-63..
86. Corrigall WA, Coen KM, Zhang J, Adamson KL. (2001 Nov) GABA mechanisms in the pedunculopontine tegmental nucleus influence particular aspects of nicotine self-administration selectively in the rat.). *Psychopharmacology Berl* ;158(2):1907
87. Olmstead MC, Munn EM, Franklin KB, Wise RA. (1998 Jul) Effects of pedunculopontine tegmental nucleus lesions on responding for intravenous heroin under different schedules of reinforcement. *J Neurosci.*1;18(13):5035-44.
88. Alderson HL, Latimer MP, Blaha CD, Phillips AG, Winn P. (2004). An examination of d-amphetamine self-administration in pedunculopontine tegmental nucleus-lesioned rats. *Neuroscience.* ;125(2):349-58.
89. Dunbar JS, Hitchcock K, Latimer M, Rugg EL, Ward N, Winn P. (1992 Sep)Excitotoxic lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus of the rat. II. Examination of eating and drinking, rotation, and reaching and grasping following unilateral ibotenate or quinolinate lesions. *Brain Res.* 4;589(2):194-206
90. Olmstead MC, Inglis WL, Bordeaux CP, Clarke EJ, Wallum NP, Everitt BJ, Robbins TW. (1999 Aug) Lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus

increase sucrose consumption but do not affect discrimination or contrast effects. *Behav Neurosci.*;113(4):732-43

91. Brudzynski SM, Wu M, Mogenson GJ.(1988 Jun) Modulation of locomotor activity induced by injections of carbachol into the tegmental pedunclopontine nucleus and adjacent areas in the rat.*Brain Res.* 7;451(1-2):119-25.
92. Dormont JF, Conde´ H, Farin D. (1998). The role of the pedunclopontine tegmental nucleus in relation to conditioned motor performance in the cat. I. Context-dependent and reinforcement-related single unit activity. *Exp Brain Res*, 121:401– 10.
93. Redgrave P, Mitchell IJ, Dean P. (1987). Further evidence for segregated output channels from superior colliculus in rat: ipsilateral tectopontine and tecto-cuneiform projections have different cells of origin. *Brain Res*, 413:170– 4
94. Kobayashi Y, Isa T. (2002). Sensory-motor gating and cognitive control by the brainstem cholinergic system. *Neural Netw*, 15:731– 41.
95. Nandi D, Aziz TZ, Giladi N, Winter J and Stein JF. (2002). Reversal of akinesia in experimental parkinsonism by GABA antagonist microinjections in the pedunclopontine nucleus. *Brain*, 125:2418.
96. Rinne JO, Ma SY, Lee MS, Collan Y, R oytt  M. (2008 Nov) Loss of cholinergic neurons in the pedunclopontine nucleus in Parkinson's disease is related to disability of the patients.*Parkinsonism Relat Disord.* ;14(7):553-7. Epub 2008 Mar 10
97. Alexander GE, DeLong MR, Strick PL, et al. (1986). Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annu Rev Neurosci*, 9:357–81.
98. Simon J.G. Lewis Roger A. Barker . (2009).Understanding the dopaminergic deficits in Parkinson’s disease: Insightsinto disease heterogeneity*Journal of Clinical Neuroscience* 16 620–625
99. Mitchell IJ, Clarke CE, Boyce S.(1989). Neural mechanisms underlying parkinsonian symptoms based upon regional uptake of 2-deoxyglucose in

- monkeys exposed to 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine. *Neuroscience*, 32:213–26.
100. 24. Jahanshahi M, Jenkins IH, Brown RG, et al. (1995). Self-initiated versus externally triggered movements. I. An investigation using measurement of regional cerebral blood flow with PET and movement-related potentials in normal and Parkinson's disease subjects. *Brain*, 118:913–33.
 101. Jones BE. (1991). Paradoxical sleep and its chemical structural substrates in the brain. *Neurosci.*;40:637-656.
 102. Shiromani PJ, Siegel JM. (1990). Descending projections from the dorsolateral pontine tegmentum to the paramedian reticular nucleus of the caudal medulla in the cat. *Brain Res*;517:224-228.
 103. Hendricks JC, Morrison AR, Mann GL.(1982).Different behaviors during paradoxical sleep without atonia depend on pontine lesion site. *Brain Res.*;239:81-105.
 104. Boeve BF, Silber MH, Ferman TJ. (2004) REM sleep behavior disorder in Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *J Geriatr Psychiatry Neurol.*;17(3):146-157
 105. Schenck CH, Garcia-Rill E, Skinner RD. (1996). A case of REM sleep behavior disorder with autopsy-confirmed Alzheimer's disease: postmortem brain stem histochemical analyses. *Biol Psychiatry.*;40:422-425.
 106. Hayashi M, Miyata R, Tanuma N. (2011 Jun). Decrease in acetylcholinergic neurons in the pedunculopontine tegmental nucleus in a patient with Prader-Willi syndrome. *Neuropathology*, ;31(3):280-5.
 107. Lander ES, Linton LM, Birren B, NusbaumC, Zody MC, Baldwin J.(2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*;409:860–921
 108. Pochet R, Parmentier M, Lawson DE, Pasteels JL.(1985 Oct) Rat brain synthesizes two 'vitamin D-dependent' calcium-binding proteins.*Brain Res.* 21;345(2):251-6
 109. Cheron G, Servais L, Dan B. (2008). Cerebellar network plasticity: from genes to fast oscillation. *Neuroscience*, 153:1–19.
 110. Celio MR, Heizmann CW.(1981 Sep).Calcium-binding protein parvalbumin as a neuronal marker. *Nature.* 24;293(5830):300-2.

111. Baimbridge KG, Celio MR, Rogers JH. (1992 Aug) Calcium-binding proteins in the nervous system. *Trends Neurosci.* ;15(8):303-8.
112. Härtig W, Brückner G, Brauer K, Seeger G, Bigl V.(1996 Aug) Triple immunofluorescence labelling of parvalbumin, calbindin-D28k and calretinin in rat and monkey brain. *J Neurosci Methods.* ;67(2):89-95
113. Celio MR.(1990) Calbindin D-28k and parvalbumin in the rat nervous system. *Neuroscience.* ;35(2):375-475
114. Gritti I, Manns ID, Mainville L, Jones BE. (2003 Mar) Parvalbumin, calbindin, or calretinin in cortically projecting and GABAergic, cholinergic, or glutamatergic basal forebrain neurons of the rat. *J Comp Neurol.* 24;458(1):11-31
115. Yu MC, Cho E, Luo CB, Li WW, Shen WZ, Yew DT.(1996 Jan) Immunohistochemical studies of GABA and parvalbumin in the developing human cerebellum. *Neuroscience.* ;70(1):267-7
116. Yew DT, Luo CB, Heizmann CW, Chan WY. (1997 Oct). Differential expression of calretinin, calbindin D28K and parvalbumin in the developing human cerebellum. *Brain Res Dev Brain Res.* 20;103(1):37-45
117. Kwong WH, Chan WY, Lee KK, Fan M, Yew DT. (2000 Sep). Neurotransmitters, neuropeptides and calcium binding proteins in developing human cerebellum. *Histochem J.* ;32(9):521-34.
118. Acsády L, Halasy K, Freund TF.(1993 Feb). Calretinin is present in non-pyramidal cells of the rat hippocampus--III. Their inputs from the median raphe and medial septal nuclei. *Neuroscience.* ;52(4):829-41
119. Staiger JF, Masannek C, Schleicher A, Zusratter W.(2004 Jan). Calbindin-containing interneurons are a target for VIP-immunoreactive synapses in rat primary somatosensory cortex. *J Comp Neurol.* 6;468(2):179-89.
120. Parent M, Lévesque M, Parent A.(2001 Oct) Two types of projection neurons in the internal pallidum of primates: single-axon tracing and three-dimensional reconstruction. *J Comp Neurol.* 15;439(2):162-75
121. Fortin M, Parent A.(1999 Jan) Calretinin-immunoreactive neurons in primate pedunculo-pontine and laterodorsal tegmental nuclei. *Neuroscience.* ;88(2):535-47

122. Dun NJ, Dun SL, Hwang LL, Förstermann U. (1995 May) Infrequent co-existence of nitric oxide synthase and parvalbumin, calbindin and calretinin immunoreactivity in rat pontine neurons. *Neurosci Lett.* 26;191(3):165-8
123. Martinez-Gonzalez, C., Micklem, B. R., Bolam, J. P., and Mena-Segovia, J.(2009). Neurons containing calcium-binding proteins are topographically organized in the pedunclopontine nucleus. Program No. 845.17. 2009 Neuroscience Meeting Planner. Chicago, IL: Society for Neuroscience, 2009.
124. Martinez-Gonzalez C, Bolam JP, Mena-Segovia J.(2011 Apr) Topographical organization of the pedunclopontine nucleus. *Front Neuroanat.* 5;5:22
125. Seto-Ohshima A, Emson PC, Lawson E, Mountjoy CQ, Carrasco LH.(1988 Jun) Loss of matrix calcium-binding protein-containing neurons in Huntington's disease. *Lancet.* 4;1(8597):1252-5
126. Côté PY, Parent A.(1992 Oct) Calbindin D-28k and choline acetyltransferase are expressed by different neuronal populations in pedunclopontine nucleus but not in nucleus basalis in squirrel monkeys *Brain Res.* 16;593(2):245-52.
127. Tsuboi K, Kimber TA, Shults CW. (2000 Jun).Calretinin-containing axons and neurons are resistant to an intrastriatal 6-hydroxydopamine lesion. *Brain Res.* 2;866(1-2):55-64
128. Winn P.(1998 Dec) . Frontal syndrome as a consequence of lesions in the pedunclopontine tegmental nucleus: a short theoretical review. *Brain Res Bull.* 47(6):551-63
129. Mena-Segovia J, Micklem BR, Nair-Roberts RG, Ungless MA, Bolam JP. (2009 Aug) GABAergic neuron distribution in the pedunclopontine nucleus defines functional subterritories. *J Comp Neurol.* 1;515(4):397-408 130.
130. Garcia-Rill E, Charlesworth A, Heister D, Ye M, Hayar A. (2008 May)The developmental decrease in REM sleep: the role of transmitters and electrical coupling. *Sleep.* ;31(5):673-90.
131. K. D. Bay, K. Mamiya, C. H. Good, R. D. Skinner, Garcia-Rill Alpha-2 Adrenergic Regulation of Pedunclopontine Nucleus Neurons During Development. *Neuroscience* 141 (2006) 769–779

132. Thakkar M, Portas C, McCarley RW. Chronic low-amplitude electrical stimulation of the laterodorsal tegmental nucleus of freely moving cats increases REM sleep. *Brain Res* 1989; 723:223–227.
133. Webster HH, Jones BE. Neurotoxic lesions of the dorsolateral pontomesencephalic tegmentum-cholinergic cell area in cat. II. Effects upon sleep-waking states. *Brain Res* 1988; 458:285–302.
134. Christen Simon, Abdallah Hayar and Edgar Garcia-Rill. (2011) Responses of developing pedunculo pontine neurons to glutamate receptor agonists *J Neurophysiol* 105:1918-1931
135. Steriade M, Datta S, Pare D, Oakson G, and Curro Dossi R. (1990) Neuronal activities in brain-stem cholinergic nuclei related to tonic activation processes in thalamocortical systems. *J Neurosci* 10: 2541–2559
136. T. Kobayashi, C. Good, K. Mamiya, R. D. Skinner, and E. Garcia-Rill. (2004.) Development of REM sleep drive and clinical implications. *J Appl Physiol* 96: 735–746
137. Kobayashi T, Good C, Biedermann J, Barnes C, Skinner RD, Garcia-Rill E. (2004 Apr) Developmental changes in pedunculo pontine nucleus (PPN) neurons. *J Neurophysiol.* ; 91(4)1470-81



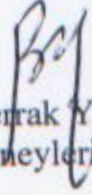
MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURULU
PROJE ONAY FORMU

PROJENİN ADI : Nucleus Pedunculo pontinus tegamntide Nörokimyasal Değişikliklerin gelişimsel olarak incelenmesi
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ : Doç.Dr.Ümit ŞEHİRLİ
PROJEDEKİ ARAŞTIRICILAR : Arş.Gör.Özlem SARIÖZ
PROJENİN YÜRÜTÜLECEĞİ LABORATUVAR : M.Ü.Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı laboratuvarı
ONAY TARİHİ VE ONAY SAYISI : 23.09.2010- 57.2010.mar

Sayın : Doç.Dr.Ümit ŞEHİRLİ

“Nucleus Pedunculo pontinus tegamntide Nörokimyasal Değişikliklerin gelişimsel olarak incelenmesi” isimli projeniz Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından incelenerek onaylanmıştır

Çalışmalarınızda başarılar dileriz.


Prof.Dr. Benrak YEĞEN
Hayvan Deneyleri Etik Kurul
Başkan


Prof.Dr. Zafer GÖREN


Prof.Dr. Göksele ŞENER

Prof.Dr. Ayşen YARAT


Doç.Dr. Haniil TUĞTEPE


Öğr. Gör. Dr. Gürkan SERT

Vet. Hek. Dilek ÖZBEYLİ

Av. Serkan DURAN


Av. Onur GİR

Not: Deneylerin yapılması sırasında ortaya çıkan zorluklar, deney protokolünde yapılması gereken değişiklikler, “Deney Hayvanları Araştırma Etik Kurulu’na” bildirilmelidir. Bütün yazışmalarda, proje onay tarihi ve onay sayısı belirtilmelidir. Araştırmacıların proje ile yapılan bütün yayınlarda proje onay tarih ve numarası belirtmesi zorunludur

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Özlem	Soyadı	SARIÖZ
Doğum Yeri	Gölcük	Doğum Tarihi	10.04.1983
Uyruğu	TC	TC Kimlik No	38786011644
E-mail	OZLEMSARIOZ@MSN.COM	Tel	05336234500

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Yüksek Lisans	Marmara Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi	2009
Lisans	Marmara Üniversitesi Biyoloji Öğretmenliği	2007
Lise	Kdz.Ereğli Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi	2001

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1. Araştırma Görevlisi	Marmara Ünivesitesi Tıp Fakültesi Anatomi ABD	2

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	iyi	iyi	iyi

Yabancı Dil Sınav Notu #								
KPDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
	64							

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	80,935		

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Office	iyi