



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK
LİSANS
TEZİ**

**EKSOJEN BDNF (BEYİN KÖKENLİ NÖROTROFİK
FAKTÖR)'NİN SIÇAN HİPOKAMPÜSÜNDEKİ AMPA RESEPTÖR
GluR1 ALTBİRİMİNE OLASI ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

BURCU SIRMATEL

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

ARALIK 2018



**EKSOJEN BDNF (BEYİN KÖKENLİ NÖROTROFİK FAKTÖR)'NİN
SIÇAN HİPOKAMPÜSÜNDEKİ AMPA RESEPTÖR GluR1 ALTBİRİMİNE
OLASI ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Burcu SIRMATEL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

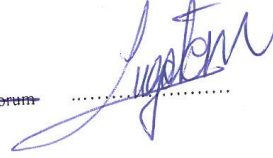
ARALIK 2018

Burcu SIRMATEL tarafından hazırlanan "EKSOJEN BDNF (BEYİN KÖKENLİ NÖROTROFİK FAKTÖR)'NİN SIÇAN HİPOKAMPÜSÜNDEKİ AMPA RESEPTÖR GluR1 ALTBİRİMİNE OLASI ETKİLERİNİN İNCELENMESİ" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ/~~OY ÇOKLUĞU~~ ile Gazi Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Çiğdem ÖZER

Fizyoloji A.D., Gazi Üniversitesi

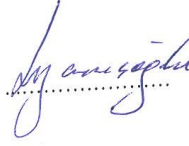
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Başkan: Prof. Dr. Lamia PINAR

Fizyoloji A. D., Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye: Prof. Dr. Ethem GELİR

Fizyoloji A. D, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Tez Savunma Tarihi: 19 /12/ 2018

Jüri üyeleri tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Burcu SIRMATEL

19.12.2018

EKSOJEN BDNF (BEYİN KÖKENLİ NÖROTROFİK FAKTÖR)'NİN SIÇAN
HİPOKAMPÜSÜNDEKİ AMPA RESEPTÖR GluR1 ALTBİRİMİNE OLASI
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Burcu SIRMATEL

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ARALIK 2018

ÖZET

Gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada, sıçanlarda eksojen olarak verilen BDNF'nin, hipokampal LTP sürecinde önemli rolleri bulunan AMPA reseptörleri üzerindeki uzun süreli etkisi araştırıldı. Long-Evans cinsi dişi sıçanlar Kontrol Grubu (KG, n=5) ve Deney Grubu (DG, n=5) olmak üzere 2 gruba ayrıldı. DG sıçanların sağ hipokampuslerine BDNF proteini (4 µg/gün), KG grubu sıçanlarına ise PBS (4 µg/gün), ozmotik minipompalar vasıtasıyla intrahipokampal olarak 7 gün boyunca verildi. Hafıza testi için Morris Su Tankı kullanıldı. Sol ve sağ hipokampal AMPA reseptör düzeyleri IHC yöntemle takip edildi. Hipokampal AMPA reseptör GluR1 alt biriminin IHC boyanma yoğunluk ve dağılımını göstermek için H-Skorlaması (HS) yapıldı. Davranış deneyi bulguları ve HS bulguları IBM SPSS Statistics 22 programı kullanılarak analiz edildi ve $p \leq 0,05$ olan değerler anlamlı olarak kabul edildi. Sonuç olarak Morris Su Tankı probe testlerinde DG grubu sıçanların, önceden gizli platformun bulunduğu üçgen kadranında geçirdikleri süreler, diğer kadrarlarda geçirdikleri sürelerle kıyasla anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0,05$). Buna karşın KG grubu sıçanların üçgen kadranında geçirdikleri süreler ile diğer kadrarlarda geçirdikleri süreler arasında anlamlı farklılık gözlenmedi ($p > 0,05$). BDNF proteini uygulamasının DG sıçanlarının sağ hipokampuslerinde, AMPA reseptör alt birimi GluR1 immünreaktivitesini şiddetli düzeyde arttırdığı ($p \leq 0,001$) ve bu artışın hücre membranına ilaveten hücre sitoplazmasında da görüldüğü tespit edildi. Ayrıca diğer gruplara kıyasla yine bu grubun sol hipokampuslerinde orta şiddetli tutulum gözlemlendi. Gerçekleştirdiğimiz bu çalışma, dişi sıçanlara uzun süreli verilen BDNF'nin, hipokampal AMPA reseptör üretimini ve AMPA membran düzeylerini arttırdığını ortaya koymaktadır. Ayrıca bulgularımız, bu etkinin uzaysal öğrenme ve bellek oluşumu üzerine olumlu yansımalarının olabileceğini göstermektedir.

Bilim Kodu : 1023

Anahtar Kelimeler : Eksojen BDNF, LTP, morris su tankı, öğrenme ve bellek, AMPA reseptörü

Sayfa Adedi : 144

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Çiğdem ÖZER

EXAMINATION OF POSSIBLE EFFECTS OF EXOGENOUS BDNF (BRAIN-
DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR) ON AMPA RECEPTOR GLUR1 SUBUNIT IN
RAT HIPPOCAMPUS

(M. Sc. Thesis)

Burcu SIRMATEL

GAZİ UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

DECEMBER 2018

ABSTRACT

This study, the long-term effect of exogenously administered BDNF on AMPA receptors, which have important roles in the hippocampal LTP process, has been investigated. Long-Evans female rats were used and the rats were divided into 2 groups: Control Group (KG, n=5) and Experimental Group (DG, n=5). BDNF protein (4µg/day) was administered to the right hippocampus of DG rats and PBS (4µg/day) was administered to the right hippocampus of KG rats via osmotic minipumps for 7 days. Morris Water Maze (MWM) was used for learning and memory task. Left and right hippocampal AMPA receptor levels were examined by immunohistochemical (IHC) method. The distribution and intensity pattern of AMPA receptor GluR1 subunit immunoreactivity was evaluated using H-score. Behavioral test findings and H-score findings were analyzed using IBM SPSS Statistics 22 program and $p \leq 0,05$ was considered significant. On probe trials of MWM task, after removal of the platform in triangle quadrant, DG group rats have expanded significantly higher duration in the triangle quadrant than other quadrants ($p < 0,05$). On the other hand, there were no significant differences in the durations between each quadrant in KG group rats ($p > 0,05$). It was also found that BDNF protein administration significantly increased the AMPA receptor subunit GluR1 immunoreactivity in the right hippocampus of DG rats and this increase was observed in the cell cytoplasm in addition to the cell membrane. In addition, moderately increased immunoreactivity was observed in the left hippocampus of this group compared to the control group. This study demonstrates that long-term administration of BDNF increases the AMPA membrane levels and production of hippocampal AMPA receptors in female rats. Our findings also show that this effect may have a positive effect on spatial learning and memory formation.

Science Code : 1023

Key Words : Exogenous BDNF, LTP, MWM, learning and memory, AMPA receptor

Page Number : 144

Supervisor : Prof. Dr. Çiğdem ÖZER

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 01/2017-26 proje numarasıyla desteklenmiştir.

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'ndaki eğitimim ve çalışmalarım süresince emeklerini, bilgilerini ve sevgilerini benden esirgemeyen, Prof. Dr. Lamia PINAR'a, Prof. Dr. Sibel DİNÇER'e, Prof. Dr. Deniz ERBAŞ'a, Prof. Dr. K. Gonca AKBULUT'a ve her konuda bana yol gösteren, güleryüzünü hiç esirgemeyen pek kıymetli hocam Doç. Dr. Şevin GÜNEY'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım süresince en karamsar olduğum anlarda yolumu aydınlatan, cesaretimi kaybettiğim anlarda beni daima yüreklendiren, emeğini, ilgisini, sevgisini ve desteğini hep hissettiğim, her çalışmamda beni özveriyle yönlendiren çok değerli hocam Prof. Dr. Çiğdem ÖZER'e sonsuz minnetlerimi sunarım.

Çalışmamda tecrübelerini, bilgilerini ve ilgilerini esirgemedi paylaşan Prof. Dr. Gülnur TAKE KAPLANOĞLU'na, Doç. Dr. Atiye Seda YAR SAĞLAM'a, Dr. Öğr. Üyesi Duygu TOZCU'ya, Arş. Gör. Dr. Cemile Merve SEYMEN'e ve Nida ASLAN KARAKELLE'ye teşekkürü bir borç bilirim.

İyi günümde kötü günümde her zaman yanımda olan, uzak şehirlerde olsak bile desteğini ve ilgisini hep yanıbaşımdayken hissettiğim, çalışmam boyunca da yardımını ve emeğini benden esirgemeyen canım dostum Nazlı Ecem DAL'a yürekten teşekkür ederim. Yoğun ve stresli sürecimde bana destek olan, yüzümü güldüren ve çalışmamı tamamlamamda ilgisi ve emeği geçen Demokan TÜYLÜ'ye, Can ÖZSARAÇ'a, Fermude GÜNSEVİNÇ'e ve Özlem SULTAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Yaşamımın her anında sonsuz sevgileri, emekleriyle hep yanımda olan, aldığım her kararda onların desteği sayesinde dimdik durabildiğim canım annem Saadet SIRMATEL'e ve canım babam Ünal SIRMATEL'e tüm içtenliğimle teşekkür ederim. Son olarak, eğitim hayatım ve çalışmamda, akademik kimliğimin gelişim sürecinde bana sonsuz katkısı olan, stresli ve dibe vurduğumu hissettiğim her anda desteğini, ilgisini ve sevgisini hep hissettiren, hayatımda çok kıymetli bir yere sahip olan yol arkadaşım Rüştü Bora BAKRIYANIK'a herşey için teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Hipokampus	5
2.1.1. Hipokampal anatomi.....	5
2.1.2. Hipokampal nörofizyoloji.....	17
2.1.3. Hipokampal fonksiyonlar	48
2.2. Nörotrofik Faktörler	69
2.2.1. BDNF.....	71
2.2.2. BDNF ve hipokampal sinaptik plastisite	74
3. GEREÇ VE YÖNTEM	81
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	81
3.1.1. Deney hayvanları	82
3.2. Yöntemler.....	87
3.2.1. Östrus sikluslarının tayini	87
3.2.2. Deney hayvanlarına verilecek kimyasalların hazırlanması	88

3.2.3. Ozmotik minipompaların doldurulması ve astarlanması	89
3.2.4. Stereotaksi	90
3.2.5. İnfüzyon ve perfüzyon aşaması	93
3.2.6. Davranış deneyi	94
3.2.7. Beyin dokusunun çıkartılması ve saklanması	98
3.2.8. İmmünohistokimyasal yöntem	98
3.2.9. İstatistiksel analizler	99
4. BULGULAR	101
4.1. Histolojik Bulgular	101
4.2. Davranış Deneyi Bulguları	106
5. TARTIŞMA	113
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	121
KAYNAKLAR	123
EKLER	139
EK-1. Etik Kurul Değerlendirme ve Onay	140
EK-2. Etik Kurul Değerlendirme ve Onay	142
ÖZGEÇMİŞ	144

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizim	Sayfa
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan araç ve gereçler	81
Çizelge 3.2. Grupların ayrıntılı deney koşulları.....	83
Çizelge 3.3. Morris Su Tankı davranış testi boyunca sıçanların suya bırakıldıkları kadranlar	97
Çizelge 4.1. Her iki grubun sağ ve sol hemisferlerdeki hipokampal dentat girus AMPA reseptör GluR1 altbiriminin immünohistokimyasal boyamanma dağılımı ve yoğunluğu için H-Skorlama değerleri.....	104
Çizelge 4.2. Morris Su Tankı'nın ilk dört günü boyunca her gün farklı lokasyonlardan havuza bırakılan sıçanların, suyun 2 cm altında bulunan gizli platformu günlük ortalama bulma süreleri	106

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. İyonotropik Glutamat reseptörleri	24
Şekil 2.2. Pekiştirme sürecinde hipokampal ve kortikal bağlantıların ilerleyişi.....	32
Şekil 2.3. Entorhinal korteksten hipokampüse gelen yollar	34
Şekil 2.4. Schaffer kollaterallerinde normal sinaptik iletim, LTP'nin indüklenmesi ve LTP'nin ekspresyonu.....	37
Şekil 2.5. Sessiz sinapslarda AMPAifikasyon mekanizması ve LTP	38
Şekil 2.6. LTP sürecinde presinaptik fasilitasyon mekanizması ve presinaptik nöronda meydana gelen değişimler	41
Şekil 2.7. E-LTP ve L-LTP boyunca postsinaptik nöronda meydana gelen değişimler.	43
Şekil 2.8. Modal bellek modeli	57
Şekil 2.9. Uzun süreli bellek tipleri	61
Şekil 2.10. Nörotrofinlerin ve pro-nörotrofinlerin reseptörleri aracılı etkileri	78
Şekil 2.11. Pro-BDNF'nin olgun BDNF'ye dönüşüm mekanizması ve TBS ile tetiklenen LTP'de BDNF/TrkB kompleksinin etkisi ile LFS aracılığıyla tetiklenen LTD'de pro-BDNF/p75NTR kompleksinin etkisi	79
Şekil 3.1. Deney uygulama takvimi	87
Şekil 3.2. Morris Su Tankı ve bulunduğu odanın şematik çizimi.....	95
Şekil 3.3. Morris Su Tankı deneyinde sıçanların havuza bırakıldıkları günlük lokasyonlar	97
Şekil 4.1. Her iki grubun sağ hemisferlerdeki hipokampal dentat girus AMPA reseptör GluR1 altbiriminin immünohistokimyasal boyamalarının yüzde dağılımı	105
Şekil 4.2. Her iki grubun sol hemisferlerdeki hipokampal dentat girus AMPA reseptör GluR1 altbiriminin immünohistokimyasal boyamalarının yüzde dağılımı	105
Şekil 4.3. KG grubunun Morris Su Tankı deneyinin ilk dört günü boyunca günlük ortalama platformu bulma süreleri	107
Şekil 4.4. DG grubunun Morris Su Tankı deneyinin ilk dört günü boyunca günlük ortalama platformu bulma süreleri	107

Şekil	Sayfa
Şekil 4.5. KG ve DG gruplarının Morris Su Tankı davranış deneyinin dört günlük öğrenme sürecinde ortalama platformu bulma sürelerinin karşılaştırılması.....	108
Şekil 4.6. Morris Su Tankı davranış deneyinin ilk dört günü boyunca KG ve DG gruplarının günlük platformu bulma süreleri	108
Şekil 4.7. Sıçanların Morris Su Tankı görevini öğrenme sürecinde ilk günden dördüncü güne gösterdikleri performans başarı yüzdelerinin kıyaslanması...	109
Şekil 4.8. KG grubu sıçanların Morris Su Tankı deneyinin öğrenme sürecindeki ilk dört günde, doksan saniye boyunca havuzda yüzme rotalarının temsili çizimleri	110
Şekil 4.9. DG grubu sıçanların Morris Su Tankı deneyinin öğrenme sürecindeki ilk dört günde, doksan saniye boyunca havuzda yüzme rotalarının temsili çizimleri	111
Şekil 4.10. Sıçanların Morris Su Tankı davranış deneyinin beşinci gününde (Probe Test) kadrarlarda geçirdikleri süreler	112
Şekil 4.11. DG grubu ve KG grubu sıçanların probe testinde doksan saniye boyunca havuzda yüzerken izledikleri rotaların temsili çizimleri	112

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Hipokampüsün dentat girusunun sıçan beyin atlasına göre belirlenmiş koordinatlarının metilen mavisi kullanılarak doğruluğunun gösterilmesi ...	90
Resim 3.2. Stereotaksik aparata sabitlenmiş sıçan.....	91
Resim 3.3. Stereotaksik ameliyat.....	91
Resim 3.4. Alzet Beyin İnfüzyon Kit 2'nin ve Alzet 1007D Ozmotik Minipompa'sının stereotaksik ameliyat ile yerleştirilmesi	92
Resim 3.5. Stereotaksik ameliyat bitimde insizyon bölgesinin kapatılması	93
Resim 3.6. İnfüzyon ve Perfüzyon süresince iyileşmiş sıçanlar	94
Resim 4.1. KG sol hemisferine ait AMPA reseptör Glur1 altbirimi boyaması	101
Resim 4.2. KG sağ hemisferine ait AMPA reseptör Glur1 altbirimi boyaması	102
Resim 4.3. DG sol hemisferine ait AMPA reseptör Glur1 altbirimi boyaması	103
Resim 4.4. DG sağ hemisferine ait AMPA reseptör Glur1 altbirimi boyaması	104

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılan bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

kDa	Kilo Dalton
kg	Kilogram
L	Litre
M	Molar
mg	Miligram
ml	Mililitre
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre

Açıklama

Kısaltmalar

5-HT	5-Hidroksitriptofan
AC	Adenylate Cyclase
ACh	Acetylcholine
AMPA	α-Amino-3-hidroksi-5-Metilizoksazole
	Propionik Asit
AMPA	AMPA Reseptörü
APV	2-Amino-5-Phosphono Valeric Acid
BDNF	Brain-Derived Neurotrophic Factor
C/EBP	CAAT-Enhancer-Binding Proteins
CA	Cornu Ammonis
Ca⁺²	Kalsiyum İyonu
CAM	Cell Adhesion Molecules
cAMP	cyclic Adenosine Mono Phosphate
Cl⁻	Klor İyonu
CNQX	Cyanquixaline
CRE	cAMP Response Element

Kısaltmalar**Açıklama**

CREB	cAMP Response Element Binding
DAG	Diaçilgliserol
DG	Dentat Girus
DH	Dorsal Hipokampüs
EC	Entorhinal Cortex
EEG	Elektroensefalografi
E-LTP	Erken-LTP
EPSP	Eksitatorik Postsinaptik Potansiyel
ERK	Extracellular Signal-Regulated Kinases
ERα	Estrogen Receptor α , Östrojen Reseptörü α
ERβ	Estrogen Receptor β , Östrojen Reseptörü β
fMRI	Fonksiyonel Manyetik Rezonans Görüntüleme
GABA	γ -aminobutirik asit
GAD	Glutamik Asit Dekarboksilaz
GAT	GABA Taşıyıcıları
GBR	GABA _B Reseptörü
GDNF	Glial Cell Derived Neurotrophic Factor
GIRK	G protein-coupled Inwardly-Rectifying Potassium Channels
Glu	Glutamat
GluR	Glutamat Reseptörü
GÜDAM	Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi
H⁺	Hidrojen iyonu
HCO₃⁻	Bikarbonat iyonu
HFS	High Frequency Stimulation, Yüksek Frekanslı Uyarım
IEG	Immediate Early Gen
IGF	Insulin-like Growth Factor
IgG	İmmünglobülin G
IHC	Immunohistochemistry
IL-6	İnterlökin-6

Kısaltmalar**Açıklama**

IP3	İnositol Trifosfat
IPSP	İnhibitörük Postsinaptik Potansiyel
K⁺	Potasyum İyonu
KA	Kainik Asit
KCC2	K ⁺ /Cl ⁻ Kotransporterı 2
KO	Knock Out
LEC	Lateral Entorhinal Cortex
LFS	Low Frequency Stimulation, Düşük Frekanslı Uyarım
L-LTP	Geç-LTP
LPP	Lateral Perforant Path, Lateral Perforant Yol
LTD	Long-Term Depression, Uzun Dönem Baskılama
LTP	Long-Term Potentiation, Uzun Dönem Kuvvetlendirme
M	Motif
M.A.	Molekül Ağırlığı
M2	Muskarinik Reseptör 2
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
MEC	Medial Entorhinal Cortex
Mg⁺²	Magnezyum İyonu
mGluR	Metabotropik Glutamat Reseptörü
MPP	Medial Perforant Path, Medial Perforant Yol
MWM	Morris Water Maze, Morris Su Tankı
Na⁺	Sodyum İyonu
NE	Norepinefrin
NFκB	Nükleer Faktör-Kappa B
NGF	Sinir Büyüme Faktörü, Nerve Growth Factor
NMDA	N-metil-D-aspartik asit
NO	Nitrik Oksit
NPY	Nöropeptid-Y
NR	NMDA Reseptörü

Kısaltmalar**Açıklama**

NSF	N-ethylmaleimide Sensitive Fusion Proteins
NT	Nörotrofin
NT-3	Nörotrofin-3
NT-4/5	Nörotrofin-4/5
NT-6	Nörotrofin-6
p75^{NTR}	p75 Nörotrofin Reseptörü
PBS	Phosphate Buffered Saline
PC1	Prohormon Convertase 1
PCA	<i>p</i> -kloroamfetamin
PCP	Phencyclidine, Fensiklidin
PI3K	Fosfatidilinositol 3-Kinaz
PKA	Protein Kinaz A
PKC	Protein Kinaz C
PKMζ	Protein Kinaz M Zeta
PLC	Fosfolipaz C
PRs	Progesteron Reseptörleri
PSD	Postsynaptic Density, Postsinaptik Yoğunluk
RIM1α	Rab3 Interacting Protein 1 α
SNARE	Soluble NSF Attachment Protein
TBS	Teta Burst Stimulation, Teta Patlaması Uyarımı
TCA	Tricarboxylic Acid, Trikarboksilik Asit
TNF-α	Tumor Necrosis Faktor- α
tPA	Doku Plasminojen Aktivatörü
Trk	Tropomyosin-Related Kinase, Tropomiyozin İlişkili Kinaz
VGAT	Veziküler GABA Taşıyıcıları
VGlut1	Veziküler Glutamat Taşıyıcısı 1
VH	Ventral Hipokampus
Zn⁺²	Çinko iyon

1. GİRİŞ

Bellek, uzun yıllardır filozofların ve bilim insanlarının ilgisini çeken, kompleks bilişsel fonksiyonlardan biridir. Canlılar için oldukça önemli olup, hayat boyu gerçekleştirilen edinimlerin bilinçli veya bilinçdışı olarak uygun koşullar altında tekrar kullanmak üzere depolanması ve hatırlanması olayıdır. Günlük hayatımızda basit diye adlandırabileceğimiz pek çok otomatik davranışlarımızdan tutun, kompleks eylemleri gerçekleştirdiğimiz davranışlarımıza kadar hemen hemen her şeyin perde arkasında bulunan, adeta gizli bir kahramandır. Öyle ki bu mekanizmanın önemini, onunla ilişkili sistemlerdeki patolojik bir bozuklukla karşılaşmadan büyük oranda farkedemeyiz. Esasen uzun yıllardır bilim camiasının ilgisini çeken bu konuya dair çalışmaların somutlaştırılması ve altında yatan mekanizmaların ortaya çıkartılıp aydınlatılmaya başlanmasında, H.M. kod adlı anterograd amneziden muzdarip hastanın rolü çok büyüktür.

Klinik ve deneysel pek çok çalışmaya konu olmuş ve işlevleri dolayısıyla günümüzde de çokça çalışılan kortikal bölgelerden birisi olan “hipokampus”, H.M. vakası ile birlikte bellek araştırmaları için ön plana çıkmış ve bilimsel çalışmalarda edindiği konumla altın dönemini yaşamaya başlamıştır. Zamanla ilişkilendirilerek bellek, kısa dönem bellek ve uzun dönem bellek olmak üzere ikiye ayrılmış ve yapılan çalışmalarla kısa dönem belleğe giren bir bilginin, eğer gerekliyse, yeterince yapılan tekrarlar sonucu uzun dönem belleğe aktarılabilirliği ve bu aktarım için anahtar bölgenin hipokampus olduğu ortaya konulmuştur.

Mekân algısı çoğunlukla bilinçdışı olarak gerçekleştirdiğimiz ve başta insanlar olmak üzere tüm canlılar için hayati bir işlevdir. Uzayda bizim ve etrafımızdaki şeylerin konumlarına dair bilgiler kısacası uzaysal belleğimiz, hemen hemen tüm motor hareketlerimizin planlanması ve gerçekleştirilmesi için, doğal hayattaki düşman popülasyonların konumlarının, besin kaynaklarının yerlerinin, korunaklı yaşam alanlarının öğrenilmesi adına gereklidir. Uzaysal bellekle ilgili yapılan çalışmalar, yine hipokampüse ve onunla ilişkili medial temporal lob yapılarına işaret etmektedir. Beyinde bilateral olarak bulunan hipokampusun, özellikle sağ hemisferdeki Dentat Girus olarak adlandırılan kısmının uzaysal bellekle ilişkili olduğu anlaşılmış ve bunun sonucunda “bilişsel harita teorisi” ortaya atılmıştır.

Öğrenme ve hafızanın temelinde, “sinaptik plastisite” olarak adlandırılan, nöronları birbirine bağlayan sinapsların uzun dönem güçlendirilmesi (Long Term Potentiation; LTP) yani sayılarının arttırılması ile uzun dönem baskılama (Long Term Depression; LTD) ile sayılarının azaltılması mekanizmaları bulunmaktadır. Nöron kültüründe yapılan çalışmalar, hipokampal sinapslarda yüksek frekanslı “Tetanik” uyarımların (High Frequency Stimulation; HFS) LTP’yi tetiklediğini, buna karşın düşük frekanslı uyarımların (Low Frequency Stimulation; LFS) ise LTD’yi tetiklediğini ortaya koymaktadır. Bu şekilde aktivite bağımlı gerçekleştirilen sinaptik plastisite, birçok sinaptik yolağın tanımlanmasında ve gelişim süresince sinaptik bağlantıların şekillenmesinde, dolayısıyla sinaptogenezde hayati rol oynamaktadır.

LTP mekanizması ile bazen presinaptik nöronda, bazen postsinaptik nöronda, kimi zaman da her iki nöronda meydana gelen yapısal değişiklikler neticesinde uzun dönem bellek oluşur. Cajal’ın hipotezine (1913) göre, bilginin depolanması aktif nöronlar arasındaki sinaptik bağlantıların gücündeki değişikliklere dayanır [1]. Bu değişiklikler, presinaptik nörondan nörotransmitter salınımının arttırılması ya da postsinaptik hücrede nörotransmitterin bağlanacağı reseptör sayısının arttırılması şeklinde olabilir. Hipokampal LTP; Kısa-dönem Güçlendirme, Erken-LTP (Early-LTP; E-LTP) ve Geç-LTP (Late-LTP; L-LTP) olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır. Kısa-dönem güçlendirme ve E-LTP kısa süreli olup, hali hazırda var olan proteinlerin düzenlenmesi ile alakalıdır. L-LTP ise yeni transkripsiyon faktörlerinin sentezini, yeni gen ekspresyonunu ve yeni protein sentezini gerektirir ve saatler, günler hatta haftalar boyunca etkisini sürdürebilir. L-LTP’nin indüklenmesinin sonucunda Protein Kinaz A (PKA), Mitojen-ilişkili Protein Kinaz (MAPK), Ekstraselüler Sinyal İlişkili Protein Kinaz (ERK) gibi biyokimyasal yolların ve cAMP/Kalsiyum Cevaplı Element Bağlayıcı Protein (CREB) gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu ile sinapsların fonksiyonunda ve/veya yapısında değişiklikler meydana gelir. Hipokampüste hem eksitatorik hem de inhibitör sinapslar bulunur fakat özellikle yaygın olarak bulunan glutamaterjik eksitatorik sinapslar, LTP açısından oldukça önemlidir. Glutamat nörotransmitterinin iki iyonotropik reseptörü olan AMPA (α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolepropionik asit) ve NMDA (N-metil-D-aspartik asit) bu süreçte kritik rol oynamaktadır [2].

Salgı proteinlerinin küçük bir ailesi olan nörotrofinler, sinaptik plastisiteye düzenleyici etki yaparlar. Nörotrofinler; NGF (Nerve Growth Factor), BDNF (Brain Derived Neurotrophic

Factor), NT3 (Neurotrophin-3) ve NT4/5 (Neurotrophin 4/5)'den oluşmaktadır. Özellikle BDNF, nöronal farklılaşma ve hayatta kalmada anahtar molekül olup, sinaptik yapı ve fonksiyonların aktivite bağımlı değişiminin düzenlenmesinde rol oynar. BDNF, bir Tirozin Kinaz Reseptörü olan Tropomiyozin-ilişkili Kinaz B (TrkB)'ye yüksek affiniteyle bağlanarak etkisini gösterir. Gerek BDNF gerekse TrkB, hipokampüste geniş bir alanda bulunmaktadır. BDNF'nin ekspresyonu ve salınımının düzenlenmesi aktivite bağımlıdır. Yüksek frekanslı stimülasyon altında, NMDA reseptörü ya da voltaj kapılı Ca^{+2} kanalları aracılığıyla BDNF salınımı tetiklenir ve postsinaptik spinelerden ya da presinaptik akson terminallerinden salınır. BDNF salınımının ardından glutamaterjik sinapsların pre ve postsinaptik nöronlarında bulunan TrkB reseptörüne bağlanarak etkisini gösterir. BDNF'nin tetanik stimülasyona sinaptik yanıtı arttırarak E-LTP'nin indüklenmesini kolaylaştırır, ayrıca sinaptik proteinlerin fosforilasyonu ve dağılımının düzenlenmesi yoluyla sinaptik veziküllerin mobilizasyonunu regüle ettiği düşünülmektedir [3].

Hipokampal ve kortikal nöron kültüründe yapılan çalışmalara göre, BDNF'nin NMDA ve AMPA reseptör ekspresyonunu ve trafiğini modüle ettiği düşünülmektedir. E-LTP'nin indüklenmesini takiben oluşan Immediate-Early Gen (IEG) adı verilen hücre büyümesiyle alakalı genler, LTP'nin devamlılığında ve hafızanın sağlamlaştırılmasında rol oynar ve bu genlerin BDNF ile tetiklenen LTP'yi takiben eksprese edildiği de gözlemlenmiştir [4]. Ayrıca genetik ve farmakolojik çalışmalar L-LTP'nin başlatılması ve sürdürülmesi için BDNF'nin gerekli olduğunu göstermiştir. BDNF (+/-) knockout farelerde, L-LTP'nin indüklenmesinde belirgin bozulmalar gözlenmiş ve L-LTP bozulmasının gerçekleştiği BDNF knockout farelere, eksojen BDNF verilmesinin bu bozukluğu ortadan kaldırdığı tespit edilmiştir [5].

Yakın zamanlarda yapılan Alzheimer Hastalığı hayvan modeli çalışmalarına göre hastalığa bağlı bilişsel bozukluklar, hipokampus ve prefrontal korteksteki düşük BDNF düzeyi ile ilişkili olabilir [6]. Alzheimer Hastalığı hayvan modeli çalışmalarında ve bilişsel bozulmalar oluşturulan yaşlı sıçan modellerinde görülen öğrenme ve hafıza bozuklukları ve sinaps kaybı, BDNF verilerek geri döndürülebilmıştır [7]. Dolayısıyla BDNF proteiniyle ilgili yapılan çalışmalar, yaşa bağlı olarak ortaya çıkan bilişsel bozukluklar ve Alzheimer Hastalığı'nda olduğu gibi bilişsel bozukluklarla seyreden hastalıklar için yeni tedavi yollarının kapısını aralayabilecek potansiyele sahip olabilir.

Çalışmamızda öğrenme ve hafızanın moleküler mekanizması olan LTP sürecinde, BDNF'nin henüz tam olarak aydınlatılmamış etkilerini araştırmak amaçlandı. Bu amaçla çalışmanın ilk bölümünde, sıçanların sağ hipokampal dentat girus bölgelerine stereotaksik ameliyat ile eksojen rekombinant BDNF proteini uzun dönem olarak infüzyon şeklinde verildi. Çalışmanın ikinci bölümünde ise uzaysal öğrenme ve bellek ölçüm modellerinden biri olan Morris Su Tankı kullanılarak, verilen BDNF proteininin uzaysal hafızaya etkisinin gözlemlenmesi ve bu yolla sıçan hipokampal dokularında aktivite artışı sağlanması amaçlandı. Çalışmanın son aşamasında sakrifiye edilen sıçanlardan alınan hipokampal dokulardaki AMPA reseptör düzeyleri, İmmünohistokimyasal (IHC) yöntemle tayin edilerek, BDNF ile LTP sürecinde kritik rolleri olan bu reseptör arasındaki ilişkiyi göstermek amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hipokampus

Nöral Rosetta Taşı olarak görülen hipokampus, klinik ve deneysel pek çok çalışmaya konu olmuş, işlevleri itibariyle günümüzde de çokça araştırılmaya devam eden önemli bir beyin bölgesidir [8]. Serebral kortekste bilateral olarak neokorteksin altında, temporal lobun bazal medial yüzeyinde bulunur ve lateral ventrikülün dorsal hornu boyunca uzanan hipokampus, bir gri cevher yapısıdır. Güdüs el davranışları düzenleyen, öğrenme, hafıza ve emosyonel davranışlarımızda önemli bir rolü olan limbik sistemin (Latince *limbus*: sınır) bir parçası olan bu yapı, filogenetik olarak en eski beyin kısımlarından biridir [9].

Modern sinirbilim olarak ifade edilen pek çok disiplinden bilim insanının hipokampus ile ilgilenmesi için birçok sebep bulunmaktadır ve bu nedenle, hipokampus ve onunla ilişkili yapılar geçmişten günümüze çeşitli bilim dallarının çalışma alanına girmektedir. Basit bir ayrımla, hipokampusle ilgili çalışan psikologlar hafıza üzerinde dururken, nörofizyologlar nöral ve sinaptik plastisiteyi araştırmak için, bilişsel nörobilimciler ise nöral ağ modeli inşa etmek için onu kullanabilirler. Klinisyenler epilepsi veya Alzheimer hastalığı gibi nörolojik koşulların temellerini araştırmak ve tedavi yöntemi bulmak için hipokampal formasyonun patolojik bulgularını incelerler. Kısacası, hipokampus her bir uzmanlık alanı için bir şey ifade eder [10].

Özetle hipokampus geçmişten günümüze pek çok bilim dalının ortak ilgisini çekebilen, cezbedici bir yapı olmuştur. Bu yapıyla ilgili çalışmalar gelecekte de devam edecekmiş gibi gözükmektedir. Bizim çalışmamızın da başrol oyuncusu olan hipokampusün, konumuzla ilişkili anatomik, fizyolojik özellikleri ve çeşitli fonksiyonları bundan sonraki başlıklarda detaylıca anlatılmaya çalışılacaktır.

2.1.1. Hipokampal anatomi

İnsanlardan disekte edilen hipokampal yapı, şekli itibariyle koç boynuzlu bir Antik Mısır tanrısı olan Ammon'un boynuzlarına benzetildiği için, geçmişte "Cornu Ammonis" olarak adlandırılmıştır. Antik İskenderiye Tıp Okulu'nun alimleri hipokampusün koç boynuzu şeklindeki kuyruğunu gördüklerinde, bu kıvrımlı yapısından çok etkilenecek ona bu adı

vermişlerdir. Bu terminoloji hipokampal alt bölgeler için hala akronim olarak varlığını sürdürmektedir. Bolonyalı anatomist Giulio Cesare Aranzi 1564 yılı civarında ilk kez “Hipokampüs” (Hippocampus; Yunanca: ιππος, hippos = at, κᾰμπος, kampos = deniz) ismini, denizatına benzerliği nedeniyle kullanmıştır. Günümüzde de bu kullanım aynı şekilde devam etmektedir [10]. Hipokampüs ve karşılıklı etkileşim içerisinde olduğu anatomik yapılara hep birlikte “hipokampal formasyon” (formatio hippocampi) adı verilmektedir [11]. Hipokampal formasyonun hücre ve lif yolları, yerleşim düzeni tüm memelilerde oldukça benzerlik göstermektedir [10].

Öğrenme ve hafızada anahtar role sahip olan formatio hippocampi; hipokampüs (cornu ammonis, hippocampus proper), dentat girus (DG), subikulum, presubiculum, parasubiculum ve entorhinal korteks (EC) yapılarını kapsayan kortikal bir bölgedir [12]. Bu yapı, alt mediale doğru subikulum ve girus parahipokampalis ile devam eder. Hipokampüsün bir laminası içeriye doğru kıvrılarak, cornu ammonis olarak da adlandırılan “hipokampüs proper”ı oluştururken, diğer laminası ise “dentat girus”u oluşturur ve bu iki bölge hipokampal sulcus ile birbirinden ayrılır. Cornu ammonisin uca doğru genişleyen ön kısmı pes hippocampi olarak adlandırılır. Hipokampüsün ventrüküle bakan yüzü ependim hücre tabakası ile kaplıdır ve bu tabaka ile hipokampüs arasında, hipokampüsten çıkan efferent lifler tarafından oluşturulmuş alveus tabakası bulunur. Alveus lifleri, hipokampüs ve dentat girus arasında uzanarak fimbria hippocampi’yi oluşturur [13]. Fimbria hippocampi’nin ön ucu uncus olarak adlandırılırken, arka ucu ise alveus ile birlikte Crus fornicis’i meydana getirir. Alveustan gelip fimbriaya dâhil olan lifler fornixsin başlangıcını oluşturur. Duyu lifleri hipokampüsü fornixteki miyelinli lifler vasıtasıyla terkederler [11].

Hipokampüs histolojik olarak 6 tabakadan oluşmaktadır. Bunlar; alveus, stratum oriens, stratum pyramidale, stratum radiatum, stratum lacunosum ve stratum moleculare tabakalarıdır. Alveus, en dıştan saran tabaka olup, hipokampal ve subikular aksonlar tarafından ana efferent yolu oluşturur. Hipokampüs içerisindeki temel hücre tabakası olan piramidal nöronların farklı görünimleri ve farklı bağlantılarından yola çıkarak, 1934 yılında Lorente de Nó tarafından anatomik olarak 4 alt bölgeye ayrılmıştır: CA1, CA2, CA3 ve CA4 [14]. 1956 yılında Blackstad, bu alt bölgeleri daha kesin bir biçimde tanımlamıştır. Hipokampüsün CA1 bölgesi bu alanların en büyük kısmıdır ve subikuluma yakın konumlanmıştır. Sıçanlarda CA1 piramidal nöronlar insanlara göre daha yoğun paketlenmiştir [15]. CA1’in küçük ve dağınık triangular piramidal nöronları, entorhinal

korteks ve CA3 piramidal nöronlarından Schaffer Kollateralleri aracılığıyla bilgiler alır ve bu bilgileri işler. CA1 bölgesinin, kortikal bilgileri CA3 ve EC'den gelen bilgilerle kıyaslayan bir hata dedektörü gibi çalıştığı düşünülür. CA1 bölgesini terk eden lifler ise subikulum, entorhinal korteks ve prefrontal kortekse kadar uzanır [9]. Bu bölgedeki nöronlarında lezyon olan hastaların derin hafıza kayıpları yaşaması, bölgenin sağlıklı bir öğrenme ve hafıza için gerekli olduğunu göstermektedir [16]. CA2, insanlarda CA1 ve CA3 arasındaki bölgedir ve büyük, oval, yoğun paketlenmiş piramidal nöronlar içerir. Sıçanlarda, CA2 daha küçük ve daha az belirgindir. Bu bölge CA1 ile CA3 arasında bulunup, CA1 ve CA3'ün iki piramidal nöron sınıfının birleştiği yer olması nedeniyle, bazı araştırmacılar tarafından geçiş bölgesi olarak kabul edilmektedir. CA3, cornu ammonisın kıvrımına yakın konumlanmıştır ve dentat girusun hilumunun girişindedir. Bu bölge Schaffer kollateralleri aracılığıyla CA1 bölgesiyle bağlantılı olup, çıktıları subikulum, EC ve prefrontal kortekse kadar uzanır [9]. CA3 piramidal hücreleri CA2 ile benzer özelliklerdedir fakat ondan daha yoğun paketlenmişlerdir. Bu piramidal nöronlar ayrıca dentat granül hücrelerinden gelen mossy lifler ile yoğun bir şekilde innervasyon yapmasıyla ayırt edilebilirler. Dentat girusun çukurluğundaki bölge, Lorente de Nó tarafından CA4 olarak adlandırılmış olsa da, literatürde yaygın olarak “dentat hilus” olarak adlandırılır. Bu bölgede dağınık bir şekilde büyük nöronlar bulunmaktadır [15]. Dağınık popülasyona sahip piramidal hücrelerden oluşan CA4 bölgesi, hilumun içine kadar uzanır ve bu yapının üzerini dentat girus örter. Dentat girus hipokampal fissur ile CA1, CA3 ve CA4 bölgelerinden ve subikulundan ayrılmaktadır [17, 18].

Hipokampal formasyon içerisindeki bölgelerin her biri belli başlı hücre tabakalarından oluşmaktadır ve bunlar temel hücre tabakalarıdır. DG'nin temel hücre tabakasının nöronları “granül hücreleri”yken, CA bölgesinin temel hücre tabakasının nöronları “piramidal hücreler”dir. Granül ve piramidal hücreler eksitatorik glutamaterjik hücrelerdir [18]. Subikulum ve hipokampüsün piramidal hücreleri temel projektör nöronlardır. Bunlar dentat granül hücreleri ve hipokampal ara nöronlarla bağlantılıdır. Bu nöral sistemde oldukça çeşitli nörotransmitterler bulunmaktadır [15].

Hipokampüsün piramidal hücreleri büyük, triangular ya da oval şekilli nöronlardır ve stratum oriense kadar uzanan belirgin bazilar dendrit kümeleri varken, apikal dendritler bir ya da iki proksimal dala ayrılır. Bunlar, str. radiatum ve str. moleculare-lacunosum'a kadar uzanmaktadırlar. Hücre somaları çeşitli alt bölgelerin str. pyramidale bölgesinde çeşitli

yoğunluklarla paketlenmiştir. Str. pyramidale özellikle CA1 bölgesinde olmak üzere insanlarda kemirgenlerden daha dağınıktır. CA3 bölgesinde aksonlar diğer piramidal hücreler dahil komşu nöronlarla geniş lokal kollateral ağları kurarlar. CA1 bölgesindeki piramidal hücreler çoğunlukla ara nöronlarla bağlantı kurarken, komşu nöronlarla daha az lokal akson kollateralleri yaparlar. Piramidal hücrelere ek olarak hipokampüste oldukça çeşitlilikte ara nöronlar bulunmaktadır. Bu ara nöronlar şekillerine, lokasyonlarına ve nörofizyolojilerine göre birbirlerinden ayrılırlar. Basket hücreleri str. pyramidale'nin yakınına konumlanmıştır ve piramidal hücreleri aksosomatik sinapslar aracılığıyla inhibe ederler. Oriens/alveus ara nöronlar, moleculare-lacunosum ara nöronlar ve chandelier hücreler, piramidal nöronları akson başlangıç segmentinden inhibe ederler.

Dentat girus (DG), hipokampal formasyonun orta-rostrokaudal leviyesinde bulunan, C harfine benzer şekilde bir yapıdır. Hipokampal fissür ile CA bölgesinden ve subikulumdan ventral olarak ayrılmıştır [19]. DG, ileride bahsedilecek olan perforant yol için bir geçit görevi görür ki bu yol hipokampüsün majör girdi yollarından biridir [15]. DG'nin temel nöronları olan granül hücrelerinin gövdesi str. granulosumda konumlanır ve dendritleri moleküler tabakaya kadar uzanarak, tabaka II EC nöronlarından, perforant yol ile eksitatorik girdiler alır. DG'nin en derin tabakası, polimorfik hücre tabakası ya da hilus olarak adlandırılmaktadır ve çok çeşitli nöronlara sahiptir. Mossy lifler (granül hücre aksonları), polimorfik hücre tabakasındaki mossy hücreler dahil, bazı nöronların üzerine kollateraller vererek sinaps yapar. Mossy hücreler glutamaterjik nöronlardır ve granül hücrelerin üstüne ve septotemporal eksen boyunca inhibitorik ara nöronlara geri projeksiyonlar yaparlar [20]. Böylece granül hücreler ve mossy hücreler hem disinaptik hem trisinaptik feedback döngülerini oluştururlar. Bu feedback döngülerinin fonksiyonları hala bilinmemektedir [8].

Entorhinal korteks (EC) terimi Broadmann'ın 28. alanının sinonimidir ve iyi tanımlanmış 6 tabakaya sahiptir. I. tabaka aselüler ya da pleksiform tabaka olarak adlandırılırken, II. tabakası modifiye edilmiş piramidal ve stellat hücre adalarından oluşur. Bu hücre adalarının EC yüzeyinde oluşturduğu küçük çıkıntılar çıplak gözle görülebilmektedir. Siğile benzeyen bu çıkıntılar sayesinde EC'nin konumunun makroskobik olarak bulunması kolaylaşmıştır. EC'nin III. tabakası homojen piramidal hücre popülasyonları içerir ve bu nöronların dendritleri II. tabaka hücre adalarının arasındaki boşluklardan geçer. III. tabakanın altında bulunan IV. tabaka seyrek hücreler içermesiyle karakterizedir ve bu

hücre seyrekliğine bitişik olan hücreler V. tabakayı oluşturur. V. ve VI. tabakaları birbirinden ayırt etmek oldukça zordur [19]. EC, hipokampüse gelen temel kortikal inputlar için bir geçit bölgesi olup, medial (MEC) ve lateral (LEC) olarak ikiye ayrılır. II. ve III. tabaka nöronları hipokampüse, DG'ye ve subikuluma temel girdiler yollarken, V. ve VI. tabaka nöronları CA1'den ve subikulumdan feedbackler alır [21].

Subikulum, CA1 sınırında konumlanmaktadır ve bu iki yapı üst üste binerek karmaşık bir geçiş bölgesi oluşturur. Subikulum 3 tabakalı görünüme sahiptir: moleküler tabaka, piramidal hücre tabakası ve polimorfik tabaka [22, 23]. Moleküler tabaka hipokampal fissüre en yakın olan, en yüzeysel tabakadır ve komşu CA1 alanının stratum radiatum ve stratum lacunosum-moleculare'si ile devam eder. Subikular piramidal hücre tabakası moleküler ve polimorfik tabakalarca kuşatılmış olup, hipokampüsün piramidal hücre tabakasından daha incedir. Bu tabaka fazlaca piramidal hücre içerir fakat hücre paketlenmesinin elverişsiz olması nedeniyle hipokampüsün stratum pyramidale'sinden ince görünür. Polimorfik tabaka alveusa yakındır ve en derinde konumlanmıştır. CA1'in stratum oriens'i ile devam eder [24]. Subikulumun septal kompleksi, nükleus accumbens, anterior talamus ve mamiller çekirdeklerinin yanı sıra, EC'ye yapılan projeksiyonlar için ana subkortikal projeksiyonların kaynağıdır. Presubikulum, yoğun olarak paketlenmiş modifiye edilmiş piramidal nöronları içeren, tek, yüzeysel olarak yerleşmiş hücresel bir tabakadan oluşurken, parasubikulum, presubikulumdan ayırt edilmesi zor olan tek bir hücresel katman içerir.

Hipokampal bağlantılar

Hipokampüsün İntrinsik Yolları

Andersen ve ekibinin 1971'de ortaya attığı hipoteze göre, hipokampal formasyonun alt bölgeleri arasındaki sinaptik bağlantılar, her biri çoğunlukla bağımsız fonksiyonel bir birim olarak çalışan lamellalar yığını olarak düzenlenmiştir [25]. Daha sonraki anatomik kanıtlar, hipokampal formasyondaki tüm yolakların basitçe lamellar hipotez tarafından önerilenden çok daha karmaşık girdi, çıktı ve feedbacklerden oluştuğunu ortaya koymaktadır. Bu doğrultuda hipokampüs içinde birbirleriyle oldukça bağlantılı olan majör sinaptik yolları kabaca, transvers ya da diğer adıyla lamellar devreler, lokal devreler ve longitudinal yollar olarak ayırmak mümkündür [8].

Perforant yollar- lamellar trisinaptik yol

Hipokampal formasyon içindeki temel eksitatorik yol, dentat granül hücrelerinden hipokampal fissür boyunca uzanan, entorhinal korteksten gelen “perforant yol”dur. Perforant yol, EC’nin medialinden ve lateralinden gelen iki farklı güzergâha sahip olması ve farklı roller içermesi sebebiyle ikiye ayrılarak incelenir [26, 27]. Perforant yol ile gelen girdiler hipokampal dentat girusa, granül hücre dendritlerinin orta ve distal bölgelerinin üzerine Medial perforant yol (MPP) ve lateral perforant yol (LPP) olmak üzere iki farklı laminar girdi formu şeklinde girdi yollar. DG, korteksten bilgi alan hipokampal formasyonun ilk komponentidir. Birincil girdisi, entorhinal korteksin II. katmanından gelen aksonlardır. DG’ye girmek için bu akson demeti, subikulumu perfore etmesi (delerek geçmesi) sebebiyle bu yol “perforant yol” olarak adlandırılmıştır. DG tarafından alınan bilgi daha sonra tek yönlü bir devreyle büyük ölçüde CA3 ve CA1 alt bölgelerine aktarılır. Bu devre, anıların muhtemelen korteks bölgelerine iletilmeden hemen önce “depolandığı” yerdir. Son birkaç yılda, perforant yolunun DG’ye taşıdığı bilgi türlerinin fiziksel olarak ayrılabilceğini gösteren kanıtların sayısı giderek artmaktadır [26]. Her iki yol da entorhinal korteksin II. tabakasındaki piramidal ve satellat hücrelerden kaynaklansa da, hem farmakolojik [28] hem de elektrofizyolojik [29] olarak birbirinden ayırt edilebildiği bilinmektedir [30]. Mekânsal bilgi, entorhinal korteks tabaka II’nin medial yönlerinden kaynaklanan medial perforant yolun (MPP) lifleri tarafından taşınıyor gibi görünmektedir.

Perforant yol ile EC’den gelen bilgiler, hipokampusün transvers laminasını takip ederek, CA1 nöronlarına direkt ve indirekt olarak iki eksitatorik yol ile ulaşır. Direkt yol EC’nin III. tabakasındaki nöronlardan orijin alır. Bu nöronların aksonları, CA1 nöronlarının distal apikal dendritlerinde direkt olarak sinaps yaparlar. Bu perforant projeksiyonlar aynı zamanda temporoammonik yol olarak da adlandırılır. EC’nin II. tabakasındaki nöronlardan gelen bilgiler indirekt olarak CA1 nöronlarına ulaşırken, üç bölgede sinaps yaparak gelmesi nedeniyle sıklıkla “trisinaptik yol” olarak da isimlendirilir. Bu yolun ilk adımı perforant yol ile EC II. tabaka nöronlarının DG granül hücrelerine yaptığı projeksiyondur. İkinci adımda, mossy lifler olarak adlandırılan granül hücre aksonlarının, hipokampusün CA3 bölgesindeki piramidal hücrelerle yaptığı eksitatorik sinapslar görev alır. Son olarak, CA3 piramidal nöron aksonlarının Schaffer kollateralleri olarak adlandırılan dalları, CA1 piramidal hücre dendritlerinin proksimaline egiztatorik sinaps yaparak projekte olurlar.

EC'den gelen bilginin DG ile başlayıp, oradan CA3 bölgesine gelen ve ardından CA1 bölgesinde sonlanan bu ilerleyişi trisinaptik yolu meydana getirir [31].

CA1 nöronları aslında kortikal bilgileri, bahsedilen bu iki yol aracılığıyla da almaktadır. Böylece CA1 nöronları, direkt yoldan gelen girdi ile indirekt yoldan gelen bilgileri karşılaştırır. Direkt ya da indirekt olarak CA1'e gelen girdiler, CA1 piramidal hücrelerinden ayrılan bir akson dalı ile EC'ye geri gönderilirken [15], subikulum ve diğer medial temporal lob yapılarına da projeksiyonlar yapar [31]. Aslında CA1 piramidal hücreleri ağırlıklı olarak subikuluma projeksiyon yaparlar. Subikulum CA1'den gelen bilgiyi pre ve parasubikuluma gönderir. Buralarda işlenen bilgi son olarak subikular korteksten çıkarak EC'ye gelir [19, 32].

CA3 piramidal hücreleri hipokampus içine iki majör projeksiyon yapar. Tekrarlayan kollateral sistemi, diğer CA3 piramidal hücreleri üzerinde sinaps yapan CA3 aksonlarını içerir. Bu sistemi oluşturan aynı aksonların kollateralleri de Schaffer kollateral sistemi olarak adlandırılan bir yolla CA1 bölgesine ilerler. Schaffer kollaterallerinin projeksiyonları CA1'in transverse eksenini boyunca topografik organizasyon gösterir. Bu projeksiyon paternini anlamak için, CA tabakası boyunca hücrelerin DG'ye olan yakınlıkları açısından tarif edildiği anatomik terminolojiyi tanıtmak gerekir. DG'ye en yakın olan hücelere proksimal, uzak olan hücelere ise distal denilmektedir. Distal CA3 piramidal hücreleri, tercihen proksimal CA1 hücrelerine yani kökeni daha temporal seviyede olan hücelere projeksiyon yaparken, proksimal CA3 nöronlar kökeni daha septal seviyelerde olan distal CA1 hücrelerine projeksiyon yapar. CA1 ayrıca Schaffer kollaterallerinin proksimal-distal organizasyonuna karşılık gelen EC'den de girdiler alır. MEC III. tabaka nöronları proksimal CA1'e projekte olurken, LEC III. tabaka nöronları distal CA1'e projekte olurlar [21]. Böylece proksimal CA1, temel girdilerini MEC'den ve distal CA3'den alırken, distal CA1 temel inputlarını LEC ve proksimal CA3'den alır. Ayrıca subikulum da proksimal-distal eksen boyunca aynı tip ayrım gösterir. LEC III. tabaka, proksimal subikuluma ve MEC III. tabaka, distal subikuluma projeksiyon yapar. CA1 ve subikulumdan EC'nin V. ve VI. katmanlarına geri projeksiyonlar, bu topografiyi korur. Yani proksimal CA1 ve distal subikulum MEC'e, distal CA1 ve proksimal subikulum LEC'e projeksiyon yapar [21]. Bu anatomik ayrıştırma, hipokampal formasyonun iki farklı işlem akışının olduğunu akıllara getirmektedir. MEC ve LEC'in hipokampüse temel olarak farklı bilgi türlerini aktardığı düşünülmektedir. MEC, nesneler

ve olaylar ile ilgili bilgiler aktarırken, buna karşılık LEC yol entegrasyonunu temel alan uzamsal bilgi akışını sağlamaktadır [33, 34]. Ayrıca bu doğrultuda proksimal CA3 ve distal CA3'ün farklı hesaplama işlemleri gerçekleştirdiği hatırlanacak olursa [35, 36], muhtemelen CA1'in proksimal ve distal bölgelerinin de fonksiyonel olarak farklı olduğu düşünülebilir [37]. Bu anatomik organizasyonun fonksiyonel ilgisi bilinmese de DG/CA3 bölgelerinin bu girdi akışlarını birleştirerek hafızanın temsili için kritik bir yol olduğu anlaşılabilmektedir [8].

Lokal devreler

Hipokampusün alt bölgelerinde ve dentat girusta bulunan ara nöronlar ve temel hücreler lokal sinaptik devreleri şekillendirerek, hipokampal fonksiyonları önemli ölçüde etkilerler. Granül hücreler özellikle hilusdaki mossy hücrelerine olmak üzere pek çok ara nörona yaygın kollateraller gönderirken, CA3 piramidal hücreler ise yaygın lokal akson kollaterilizasyonuna sahiptirler. Bu yolla, komşu CA3 piramidal hücrelerini ve inhibitörük ara nöronları uyarırlar. Ayrıca CA3 ara nöronları, piramidal hücreler ve diğer ara nöronlarla inhibitörük sinapslar kurarlar. CA1 içindeki piramidal nöronlar ise, piramidal hücreleri ve diğer ara nöronları inhibe eden, çeşitli sınıftan ara nöronlara eksitatorik akson kollateralleri yollarlar [15].

Diğer yollar

Her iki hemisferdeki hipokampus, kontralateral hipokampüse ventral ve dorsal komissürler aracılığıyla lifler yollarken, CA1 ve CA3 piramidal hücreler, homotopik kontralateral bölgelere lifler göndermektedir. Buna ek olarak CA3, zıt CA1'e çapraz lifler gönderir ve ayrıca kontralateral dentat girusa da lifler yollar [15].

Hipokampal alt bölgeler arasındaki anatomik farklılıkların işlevsel etkileri

EC'den yaklaşık 300.000 nöron DG'de yaklaşık olarak 1.000.000 granül hücreye projekte olur. Buna kıyasla CA3, yaklaşık olarak 250.000 piramidal nörona ve CA1 ise 400.000 piramidal nörona sahiptir [38]. EC nöronlarının nispeten küçük bir kısmının, DG granül hücrelerinin büyük bir bölümü üzerine projekte olması, DG'nin ayrışma paterni sergilediği hipotezini doğrurur. Bunun aksine, geniş çaplı tekrarlama özelliğine sahip CA3 piramidal

nöronlarının DG ve/veya EC girdilerinden gelen paternin tamamlanmasını gerçekleştirdiği düşünülerek, anıların bozulmuş veya eksik girdilerden hatırlanmasına olanak vereceğini akla getirir [39, 40]. CA3'deki tekrarlayan bağlantılar, tek-denemeli öğrenme ve sıralı öğrenmede rol oynuyor olabilir [41-43]. Son olarak CA1 piramidal nöronlarının CA3'den olduğu gibi EC'den de inputlar aldığını ve böylece geri hatırlanacak bilgileri CA3'ten gelen mevcut giriş ile karşılaştırabilen bir hata dedektörü gibi çalışıyor olabileceğini daha önce belirtmiştik [8, 44].

Hipokampüsün affarent yolları

Kortikal ve subkortikal kaynaklardan gelen yollar, hipokampüsün girdilerini oluştururlar. Hipokampal devreleri düzenleyen bu ekstrasik girdiler, başlıca amigdaloid kompleksten, medial septal bölgeden, talamustan, supramamillar bölgeden, monoaminerjik beyin sapı çekirdeklerinden olmak üzere çeşitli kortikal alanlardan gelmektedir. Hipokampal formasyonun ekstrasik bağlantılarının klasik görünümü, Papez'in (1937) yapmış olduğu çalışmalara dayanmaktadır [45]. Buna göre, hipokampüs pek çok kortikal bölgeden duyuşsal bilgileri alır ve sonucunda emosyonel yanıtların oluşmasını sağlayacak yer olan mamiller çekirdeğe fimbria ve forniks aracılığıyla ilettiği düşünülür. Fakat günümüzde forniks aracılığıyla mamiller komplekse gelen liflerin büyük bir çoğunluğunun subikulum tarafından sağlandığı bilinmektedir [19].

Subikulum dorsolateral prefrontal korteksten girdi alırken, EC ise orbitofrontal korteks, temporal ve parahipokampal korteks, koku soğani, amigdala, medial septum, raphe nükleus, locus ceruleus, talamus ve hipokampüsün CA3 bölgesi dâhil pek çok bölgeden girdi alır. Ayrıca bu bölgelerin çoğunun birbirleriyle karşılıklı bağlantılar içerdiği de bilinmektedir [15]. Direkt ve indirekt yolları hatırlarsak eğer, hipokampüse gelecek olan bilgiler özellikle EC aracılığıyla geldiğinden, kortikal kaynaklar ile EC arasındaki bağlantılar da oldukça önemlidir. Superior temporal girus, ventral insular korteks, posterior orbitofrontal korteks, dorsolateral frontal korteks, medial frontal korteks, singulat korteks ve retrosplenial korteks direkt olarak EC'ye projeksiyonlar yapar [46]. Buna karşılık EC, bu bölgelerin çoğunluğuna resiprokal projeksiyonlar gönderir [47].

Hipokampal formasyona subkortikal alanlardan gelen bilgiler alveus aracılığıyla gelmektedir. Bu alvear lifler hipokampusa geçip, hipokampusun CA1 kısmı ile

subikulumun iç tabakasına dağılırlar. Hipokampüse gelen subkortikal kaynaklı girdiler içerisinde septum, hipotalamus, raphe nükleus ve locus ceruleus bulunur. Bu girdiler düzenleyicidir ve doğrudan karşıt olarak hipokampal aktiviteyi kontrol ederler. Septal girdiler asetil kolin ve GABA içerirken, locus ceruleus lifleri norepinefrin, raphe nükleus lifleri ise serotonin içerir. Bu nörotransmitterler hipokampal piramidal hücrelere eksitatorik nörotransmitterlerden daha yavaş ve daha tonik etki ederler [15].

Hipokampüsün efferent yolları

Fimbria ve forniks, hipokampal formasyonun klasik efferent sistemini oluşturur. Prekomissural forniks temel olarak lateral septal nükleusu innerve eder. Forniksten çıkan bu liflerin küçük bir kısmı subikulum ve EC'den gelirken, liflerin ana kaynağı hipokampüstür [48]. Postkomissural forniksin majör kaynağı ise subikulumdur ve buradan gelen lifler mamiller çekirdek için temel girdileri sağlamaktadırlar [49]. Hipokampüsten çıkan temel çıktı CA1 piramidal hücrelerinin aksonlarıdır. Bunlar; subikuluma, entorhinal kortekse, lateral septal nükleusa, koku soğanına, nucleus accumbense, amigdalaya ve hipotalamusa projekte olurlar. CA1 ve CA3 piramidal hücrelerinden septal projeksiyonlar özellikle yoğunudur [15].

Hipokampal Formasyonun Eksensel Farklılıkları

Hipokampal formasyon içerisinde fonksiyonel olarak eksensel farklılıklar gözlemlenmektedir. Hipokampüsün temel sitoarşitektonik planı aslen Ramon y Cajal (1901) ve Lorente de Nó (1934) tarafından yapılmıştır [14, 50]. Onların öncü çalışmaları, CA1'deki küçük piramidal nöronların farklı morfolojik özelliklerini ve CA3'te ve CA2'de büyük piramidal nöronları göstermiştir. Cajal, hipokampüste dorsal-ventral eksen boyunca farklılıklara dikkat çeken ilk kişidir. O aslen, entorhinal korteksten gelen iki perforant yolu, bağlantı noktalarını referans alarak “superior” ve “inferior” olarak ayırmıştır. Sonrasında bu bölgeler “dorsal” ve “ventral” hipokampüs olarak isimlendirilmiştir [49]. Lorente de Nó, “ammonik sistem”i longitudinal (uzunlamasına) eksen boyunca farklı afferent girdilerine göre üç ana segmente ayırmıştır. Bu bölümlerin her birinin sınırları ile ilgili ayrıntılı açıklamalarda bulunmasa da, özel yapısal özelliklere sahip olduklarını belirtmiştir [51]. Bu özellikler en basit şekliyle sıçan hipokampüsünde gözlemlenebilmektedir. Sıçan hipokampüsü; rostral-dorsal-medial uçta septal nükleuslardan uzanan, diensefalonun

üzerinde ve çevresinde bükülen, kaudal-ventral-lateral uçlarda temporal lob içine uzanan, uzun ve “C” harfi şeklinde bir yapıdır. Böylece hipokampüsün ana eksenini septotemporal eksen (dorsal-ventral ya da longitudinal olarak da adlandırılır) olarak adlandırılırken, ortogonal eksenini ise transvers eksen olarak adlandırılır. Primatlarda posterior hipokampüs sıçanların septal (dorsal) hipokampüsüne karşılık gelirken, anterior hipokampüs sıçanların temporal (ventral) hipokampüsüne karşılık gelmektedir.

Hipokampal formasyona ait entorhinal projeksiyonlar, hipokampüsün septotemporal eksenini boyunca topografik bir eğilim gösterir. LEC’de lateral olarak ve MEC’de dorso-kaudal olarak konumlanmış hücreler hipokampüsün septal seviyelerine projeksiyon yaparken, LEC’de medial olarak ve MEC’de rostro-ventral olarak konumlananlar hipokampüsün temporal seviyelerine projeksiyon yaparlar [21, 52]. Böylece enine (transverse) eksen boyunca bir projeksiyonun anatomik organizasyonu olduğu gibi, hipokampüsün septotemporal eksenini boyunca karşılık gelen bir organizasyon seviyesi de vardır. Hipokampüsün septal ve temporal yarıları arasındaki anatomik bağlantı, hücre fizyolojisi ve lezyonların davranışsal etkileri arasındaki farklılıklar, hipokampüsün septal (dorsal) ve temporal (ventral) konumlarının farklı işlevlere sahip olduğunu düşündürmektedir.

Dorsal hipokampüs, primatlarda posterior hipokampüse karşılık gelir ve temel bilişsel fonksiyonlar sergiler. Ventral hipokampüs ise primatlarda anterior hipokampüse karşılık gelir ve stres, emosyon ve duygusal etkiler ile ilişkilidir. Çarpıcı bir şekilde, dorsal hipokampüste gen ekspresyonu bilgi işleme süreciyle ilişkili kortikal bölgelerle koreleyken, ventral hipokampüsteki gen ekspresyonu ise emosyon ve stres ile ilişkili amigdala ve hipotalamus gibi bölgelerle koreledir. Soğuk bilişsel hipokampüs, deklaratif anıların emosyonel içeriğini dikkate almadan ya da hiç kullanmadan onlara geçit görevi görür. Bu görüşe göre, hipokampal disfonksiyon “salt” (pure) amneziye neden olur. Fakat literatür ayrıca hipokampüsün öteki tarafını da gösterir; sıcak hipokampüs, yakından emosyonla ilişkilidir, stres yanıtlarını regüle eder ve onun disfonksiyonu, depresyon gibi afektif bozukluklara neden olur. Hipokampüsün rostral/kaudal-dorsal/ventral boyutları boyunca gen ekspresyonu ve anatomik projeksiyon paternlerinin farklı olması, hipokampüsün ayrı yapılara veya zonlara ayrılabilmesini akla getirmektedir. Hipokampüsün; soğuk kognitif fonksiyonuna hizmet eden rostral/dorsal zon ve

sıcak/afektif hipokampüse karşılık gelen kaudal/ventral zon şeklinde bir dizi ayrı yapı olarak düşünülebileceği iddia edilir [51].

Moser ve Moser'in (1998) derlemesinde, hipokampüsün dorsal (septal kuyruk) ve ventral (temporal kuyruk) parçalarının farklı roller sergilemesi nedeniyle, onun bütünsel, bölünemez bir yapı sergileyemeyeceği öne sürülür [53]. Onların argümanları üç temel datadan oluşmaktadır. İlki; önceki anatomik çalışmalara göre dorsal hipokampus (DH) ve ventral hipokampus (VH)'ün girdi ve çıktı bağlantılarının farklı olmasıdır [54]. İkincisi; mekânsal hafıza DH'ye bağlı görünürken, VH'ye bağlı görünmemektedir [55]. Üçüncüsü; VH lezyonu stres yanıtlarını ve emosyonel davranışı değiştirirken, DH lezyonları bunu yapmamaktadır [56]. Sıçanlarda mekânsal bilişi ölçmek için bilgilendirici deneysel görevlerden biri çalışmamızda da yer verdiğimiz Morris Su Tankı'dır. Burada hayvanlar havuzun dışında konumlandırılmış yer belirteçlerini kullanarak gizlenmiş lokasyona doğru yüzmelidirler [57]. Bu görev açık bir şekilde DH ve mekânsal hafıza ile ilişkilidir. Bu konuyla ilgili yapılan bir çalışmada, DH'nin %25'i kadar azıyla sınırlı lezyonların, su labirenti edinimini bozduğu ve ventral bölgeye ek hasar verilmesinin bozukluğu daha kötü bir duruma sokmadığını ortaya koyulmuştur [55]. VH ile sınırlı lezyonların ise bu davranışı etkilemediği bulunmuştur. Su tankı görevini öğrenen sıçanların DH'sinde büyük oranda gen ekspresyonunun belirgin bir şekilde değiştiği gösterilmiş ve bu durumun sağ DH'de soldan daha fazla olduğu gözlemlenmiştir [58]. Maguire (1997), bu durumu bir taksi sürücüsünün şehir içinde kompleks rotaları hatırlarken, sol değil sağ posterior hipokampüsünde anterior hipokampüse kıyasla daha çok aktivite artışı göstereceği örneğiyle açıklamıştır [59]. Morris su tankı gibi radyal arm maze de uzaysal hafızayı test eden bir yöntemdir [60]. Radyal arm maze kullanılarak yapılan bir çalışmada, DH lezyonlarının uzaysal hafızada defisitlere sebep olduğu bulunurken, yine VH lezyonlarının böyle bir soruna neden olmadığı gösterilmiştir [61]. Primatlarda posterior hipokampus sıçan DH'sine karşılık gelirken, anterior kısmının analogu VH'dir. Sözcüksel materyalleri hatırlarken de tercihen insan posterior hipokampüsü anteriordan daha fazla aktive olur. Fakat burada sol sağdan daha iyi aktivasyon gösterir [62]. Bu çalışmalar bize, DH'nin yani posterior hipokampüsün özellikle mekânsal hafızada rol oynayarak navigasyon için önemli olduğunu göstermektedir. Buna karşılık VH daha çok emosyonel durumlarla ilişkilendirilmektedir. Örneğin en hayati duygulardan birisi olan korku duygusu, büyük oranda amigdala ile ilişkilendirilir ve korku hafızası için amigdala, hipokampüsün sadece VH tarafından direkt hipokampal girdi almaktadır [63].

2.1.2. Hipokampal nörofizyoloji

Hipokampal Nörotransmitterler ve Reseptörler

1932 yılında Nobel ödülü alan İngiliz nörofizyolog Sir Charles Scott Sherrington, bir sinir hücrecini diğerine bağlayan “sinaps” terimini icat etmiştir [64]. Sherrington’ın keşfinden bu yana sinapslar üzerinde yoğun bir şekilde çalışılmıştır. Sinapsların bu kadar dikkat çekmesinin pek çok nedeni bulunmaktadır. Öncelikle, bireysel bir nöron tarafından sağlanan sinapslardan geçen bilgi, sinapsların bütünleştirici işlevlerinin sonucunu yansıtmaktadır. Bazı önemli istisnalar haricinde sinapslar, presinaptik nörondan postsinaptik nörona doğru bilgiyi aktaran bir “kapı” görevi görürler. Bu temel özelliklerinin yanı sıra sinaptik iletimin plastisitesi, hafızanın düzenlenmesi ve depolanmasının hücresel boyutunu temsil eden en önemli özelliğidir [10].

İnsanlık tarihi boyunca, nöronlar ya da sinapslar hakkında herhangi bir bilgiye sahip olmamalarına rağmen insanlar, sinapslar üzerine etki eden kimyasallar üreten bitkiler ve hayvanlar keşfetmişlerdir. Bu kimyasalların bazıları hoş giden etkileri nedeniyle, bazıları hastalıkların tedavisi için, kimisi ise yırtıcı hayvanlar ya da düşman kabilelerden korunmak amacıyla kullanılmıştır. Daha yakın dönemlere geldiğimizde bilim insanları doğal olanlardan çok daha güçlü etkilere sahip kimyasallardan yapay ilaçlar üretmeye başlamışlardır. Bilim insanlarının bu alandaki çalışmaları sayesinde sinir sisteminin temel çalışma prensipleri ve hücresel mekanizmaları aydınlatılmaya başlanmıştır. Sinir sisteminde bütün davranışlarımızın temellerinin şekillendirilmesi, yukarıda da bahsettiğimiz nedenlerden ötürü sinapslarda gerçekleşir. Sinapslardaki aktivite, presinaptik nöronda sentezlenen nörotransmitterler ile dolu sinaptik veziküllerin oluşturulması ile başlar. Bu veziküller sinaptik aralığa boşalacakları presinaptik membrana taşınırlar. Presinaptik nöron membranında ateşlenen aksiyon potansiyeli zar boyunca yayılarak presinaptik membrana ulaştığında, voltaja-duyarlı Ca^{+2} kanalları açılarak hücre içi Ca^{+2} derişimi artar. Ca^{+2} , presinaptik nörondan sinaptik veziküllerin salınması için anahtar moleküldür. Çünkü Ca^{+2} iyonları, sinaptik veziküllerin üzerinde ve presinaptik membran üzerinde bulunan proteinlerin etkileşime girmesini sağlayarak, veziküllerin füzyonunu gerçekleştirir. Böylece nörotransmitterler sinaptik aralığa salınmış olurlar. Nörotransmitter molekülleri, postsinaptik membranda bulunan eksitatorik ya da inhibitörük postsinaptik potansiyellerin (EPSP-IPSP) üretilmesini sağlayan reseptörleriyle etkileşime girerler.

Genellikle bu reseptörlerin kendileri ya bir iyon kanalıdır ya da bir iyon kanalını aktive ederler. Nörotransmitterlerin yarattığı etkiler çoğunlukla kısa sürelidir. Çünkü presinaptik membrandaki taşıyıcı kanallar vasıtasıyla ya geri alınırlar ya da sinaptik aralığa salınan enzimler tarafından parçalanırlar. Ayrıca bazı nörotransmitterlerin sentezi ve salınımı, presinaptik otoresseptörlerce düzenlenmektedir [65]. Kolay anlaşılması adına en sade haliyle anlatılan sinaptik iletişim esasen çok daha karmaşıktır. Bir presinaptik nöron birden fazla postsinaptik nöronla bağlantı kurabilir ve ya bir postsinaptik nöronla birden fazla sayıda presinaptik aktif bölgeler oluşturulabilir. Beyinde milyarlarca nöronun birbirleriyle karmaşık ağlar çerçevesinde iletişim kurduklarını düşünürsek, bir presinaptik nöronun aynı zamanda başka bir sinaps açısından değerlendirildiğinde postsinaptik nöron olacağını ya da bir postsinaptik nöronun aynı zamanda başka bir sinaps için presinaptik nöron olacağını hayal etmek zor değildir. Histolojik ve morfolojik açıdan değerlendirildiğinde sinapslar, presinaptik membrandaki aktif bölgede meydana gelen özelleştirmelerle ve postsinaptik membranda arttırılmış membran yoğunluğuyla birlikte, diğer zar kısımlarından oldukça farklı görünüme sahiptir. Membrandaki bu “postsinaptik yoğunluk” a (PostSynaptic Density, PSD) sahip sinapslar, bu nedenle asimetric ya da tip I sinapslar olarak adlandırılır. Bu asimetric sinapslar genellikle eksitatorik karaktere sahip olup, özellikle yoğun olarak glutamat reseptörleri ve onunla ilişkili makromolekülleri içerirler. GABA(γ -aminobutirik asit)erjik inhibitörük sinapslar genellikle bu PSD’den yoksun olup, bu sinapslara simetric ya da tip II denmektedir [10].

Nörotransmitterlerin postsinaptik hücrede depolarizasyon oluşumu (EPSP) ya da hiperpolarizasyon oluşumu (IPSP) şeklinde iki genel etkisinin olması sebebiyle, iki tip nörotransmitter vardır: eksitatorik ve inhibitörük. Lokal nöral devreler tarafından gerçekleştirilen aktivitelerin birçoğunda, beyin içerisinde bilginin bir yerden bir yere aktarılmasını sağlayan bu nörotransmitterler arasındaki eksitatorik ve inhibitörük etkiler dengelenir. Beyinde sinaptik haberleşmede çoğunlukla rol oynayan iki nörotransmitter molekülü bulunur. Bunlardan biri glutamat olup eksitatorik etki gösterir, diğeri ise GABA olup inhibitörük etki gösterir. Bunlar haricindeki diğeri nörotransmitterler genellikle bilgi taşımaktan ziyade düzenleyici etkilerde bulunarak, belirli beyin işlevlerinde yer alan belirli nöronal devreleri aktive etme ya da engelleme görevi görürler. Örneğin asetilkolin (ACh) serebral korteksi aktive ederek öğrenmeyi kolaylaştırırken, norepinefrin (NE) dikkati arttırarak algılanan bir sinyale karşı verilen yanıtı hızlandırır [65].

Hipokampüsün nöronal fonksiyonları nöron devrelerinin bağlantılarına, eksitatorik ve inhibitör sinaptik mekanizmalara, pasif nöronal membran özelliklerine ve aktif nöronal membran akımlarına bağlıdır. Hipokampal sinapslar nöromusküler kavşaktan farklı olarak, genellikle aksonal varikositler halinde bulunmaktadır. Bu bölgeler literatürde sıklıkla akson terminalleri olarak geçmesine rağmen kullanılan “terminal” terimi yanıltıcı olup, varikosit teriminin kullanılması daha doğrudur. Bu varikositler birçok akson boyunca düzenli aralıklarla ortaya çıkmaktadırlar. Bu bölgelerdeki nörotransmitter sentezi, veziküler paketlenme, salınım ve tekrarlayan endositozlar için gereken enerjiyi karşılamak üzere sıklıkla mitokondriler bulundurur [66]. Hipokampüste en bol bulunan sinapslar dendritik spinlerde bulunan küçük glutamaterjik sinapslar olup, postsinaptik yoğunluğunda özellikle AMPA ve NMDA reseptörleri içerirler. Bu sinapslar perforant yoldan dentat granül hücrelerine gelen sinapslarda, Schaffer kollaterallerinden CA1 hücrelerine gelen sinapslarda ve CA3 hücrelerine gelen asosiyasyonel-komissural projeksiyonlarda bulunurlar. Ayrıca CA1 ve CA3 hücrelerine perforant yoluyla gelen monosinaptik sinapslar ve CA1 piramidal nöronlarından çıkıp önce subikulumda sonra da entorhinal kortekse ulaşan sinapslar da bu özelliktedirler. Dentat giristan CA3 hücrelerine uzanan mossy lifleri, granül hücrelerinin ince, miyelinsiz aksonları olup, pek çok farklı tipte sinapslar içerir. Öncelikle hipokampal diğer sinapslardan oldukça büyüktürler ve diğer glutamaterjik terminallerde baskın olarak bulunan küçük, belirgin presinaptik veziküllere ek olarak oldukça yoğunlaştırılmış veziküller de içermektedirler. Bu yoğunlaştırılmış veziküller, dinorfin ve Zn^{+2} gibi moleküller içermekte olup, salınımları aktiviteye bağımlı olarak düzenlenmektedir. Bu sinapsların postsinaptik kısımları CA3 nöronlarının apikal dendritlerinin proksimal bölgelerinde çok dallanmış bir yapı olarak karşımıza çıkmaktadırlar. Bu sinapslarda baskın olarak bulunan AMPA reseptörlerine ek olarak, kainat reseptörleri de bulunmakta ve NMDA reseptörleri ise oldukça az gözlenmektedir. Ayrıca eksitatorik piramidal nöronların küçük ve direkt olarak hipokampal ara nöronların soma veya dendritleriyle yaptıkları sinapslar da bulunmaktadır. Bu sinapsların haricinde hipokampüs içerisinde akso-aksonal tipte sinapslara ise çok nadir rastlanmaktadır [10]. Hipokampal formasyon içerisinde pek çok nörotransmitter ve reseptör olmasına rağmen hem temel projeksiyon devrelerinde hem de lokal eksitatorik devrelerde glutamaterjik eksitatorik sinapsların rolü oldukça büyüktür. Eksitatorik sinapslar hipokampüste geniş yer tutmasına karşın, hipokampal GABAerjik inhibitör devreler bu eksitatorik aktivitelerin düzenlenmesinde oldukça önemli olup, özellikle lokal geribesleme (feedback) mekanizması olarak karşımıza çıkmaktadırlar [15]. Hipokampüsteki temel tabakaların

hücreleri olan granül ve piramidal hücreler eksitatorik glutamaterjik hücrelerdir. Buna karşın hipokampal ara nöronlar inhibitör GABAerjik özelliktedir. Hipokampüsün temel afferentlerini oluşturan Entorhinal korteks tabaka II piramidal hücreleri de eksitatorik glutamaterjiktir. Dolayısıyla hipokampüsün ana yolağı olan trisinaptik devre glutamaterjiktir ve entorhinal kortekten gelen bilgi hipokampüse tek yönlü bir biçimde glutamaterjik olarak akmaktadır [18]. Devam edilen bölümde özellikle eksitatorik glutamaterjik sinapslara ve inhibitör GABAerjik sinapslara yoğunlaşarak, bu nörotransmitterler ve reseptörleri detaylı şekilde ele alınacaktır. Ayrıca androjenlerden özellikle östrojenin, hipokampal sinaptik iletimdeki rollerine değinilecektir.

Eksitatorik glutamaterjik sinapslar

Glutamat, merkezi sinir sistemindeki temel eksitatorik nörotransmitter olup [67], glutamat amino asidinin sinir sisteminde nörotransmitter işlevi gördüğünün ilk kanıtı, 1959 yılında Curtis ve ekibinin çalışmasıyla ortaya koyulmuştur [68]. Ayrıca hipokampüsün de başlıca uyarıcı nörotransmitteri olup, özellikle öğrenme ve hafızanın moleküler temeli olan uzun-dönem güçlendirme (LTP) ve uzun-dönem baskılama (LTD) olaylarının da kilit molekülüdür [69]. Bu nörotransmitter bir amino asit olup, hücrede gerçekleştirilen çeşitli metabolik süreçler sırasında üretilir. Glutamat, trikarboksilik asit (TCA) döngüsünün bir ara metaboliti olan α -ketoglutarat molekülünden türev alır. Sinir hücrelerinde glutamat, aspartat amino asitinden aspartat amino transferaz enzimi ile ve 2-oksooglutarattan glutamat dehidrogenaz enzimi ile sentezlenmektedir [18]. Ayrıca glutamattan glutamik asit dekarboksilaz enzimi ile GABA nörotransmitterinin oluşumu gerçekleştirilir [31] Glutamat hipokampal nöronları depolarize eder ve salındıktan sonra nöronlar ve glialar tarafından geri alınır. Özellikle astrositlerce geri alınan glutamat, glutamin sentaz enzimiyle dekarboksile edilir. Glutamin ya astrositlerdeki metabolik olaylarda kullanılmakta ya da presinaptik nörona diffüze olarak, presinaptik terminallerde glutaminaz enzimi ile tekrar glutamata dönüştürülüp bir sonraki salınım için kaynak veziküller oluşturulmaktadır. Glutamatın dört farklı reseptörü bulunmaktadır. Bu reseptörlerden üçü iyonotropik olup, glutamat bağlandığında direkt olarak açılan ligand kapılı kanallardır. İyonotropik glutamat reseptörleri isimlerini uyarıldıkları dört yapay ligandtan alırlar. AMPA (α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolepropionik asit) reseptörü, NMDA (N-metil-D-aspartat) reseptörü (Şekil 2.1) ve kainat reseptörü. Diğer glutamat reseptörü ise G protein bağlı metabotropik reseptör olup, ikincil haberci sistemleri üzerinden indirekt olarak kanal açar.

Bu reseptörlerin pek çok alt türünün olduğu düşünülmeyle birlikte, bunların bir kısmının presinaptik otoreseptör işlevi gördükleri bilinmektedir [10, 65]. NMDA reseptörleri APV (2-amino-5-fosfonovalerik asit) ilacıyla seçici olarak bloke olurken, AMPA ve kainat reseptörleri ise APV'den etkilenmeyip CNQX (6-siyano-7-nitrokuinoksalin-2,3-dion) ilacıyla bloke olurlar. Bu nedenle bu iki iyonotropik reseptör bazen non-NMDA reseptörler olarak da literatürde yer almaktadır. İyonotropik glutamat reseptörleri aktive olduğunda her zaman nöronda depolarizasyon meydana getirirken, metabotropik glutamat reseptörleri hem eksitasyon hem inhibisyon meydana getirebilir [31].

AMPA reseptörleri (AMPArs) 3 farklı ana kısımdan oluşur: ekstraselüler amino-terminal domaini, ekstraselüler ligand bağlayıcı domaini ve transmembran domaini. Bunlar arasından transmembran domaini, 3 transmembran α -heliks motifi (M1, M3 ve M4) ve 1 ilmik motifi (M2) içermektedir. M1 ve M3 motifleri membranın derinliklerine kadar uzanarak zarın sitoplazmik tarafına çıkmaktadır. Ekstraselüler amino-terminal domaini, glutamat bağlamaz fakat metabotropik glutamat reseptörlerinin glutamat bağlayan domaini ile homologdur. İyonotropik glutamat reseptörlerinde bu domain, glutamat haricindeki diğer ligandlar aracılığıyla reseptör fonksiyonunu ve diğer sinaptik moleküllerle etkileşim içerisinde olup, sinaptik gelişimi düzenler. AMPA reseptörleri GluR1, GluR2, GluR3 ve GluR4 olmak üzere 4 hetero-oligomerik proteinden oluşan altbirimlere sahiptir. Ayrıca bu altbirimler sırasıyla GluRA, GluRB, GluRC ve GluRD olarak da isimlendirilir. Her bir reseptör kompleksinin bu 4 altbirimi de içerdiği düşünülmektedir. Fakat yetişkin hipokampusunda özellikle "GluR1 ve GluR2'den oluşan" ve "GluR3 ve GluR2'den oluşan" olmak üzere iki AMPA reseptör tipi baskın olarak bulunmaktadır [70]. Olgunlaşmamış hipokampus ve diğer olgun beyin bölgelerinde GluR4 ekspresyonu gerçekleşir ve eksprese olan bu GluR4, GluR2 ile bir reseptör oluşturmak için bir kompleks meydana getirir [71]. AMPA reseptör altbirimlerinin ekstraselüler ve transmembran kısımları oldukça benzer olmasına rağmen intraselüler kuyruk kısımlarının farklılığı nedeniyle birbirlerinden ayırt edilirler. Şu ana kadar tanımlanan AMPA reseptörleriyle etkileşimli proteinlerin çoğunun, hedef proteinlerin C-terminal kuyruklarıyla protein-protein etkileşimi yapan tekli ya da çoklu PDZ alanları bulunmaktadır. GluR1 altbiriminin etkileşim içinde olduğu stoplazmik proteinlerden birisi aynı zamanda NMDA reseptör altbirimleriyle de etkileşim yaparken, diğeri hücre iskeleti elemanlarından özellikle aktin ile AMPA reseptör bağlantısını sağlamaktadır. Ayrıca AMPA reseptörleri, etkileşim halinde olduğu PDZ alanları içeren proteinler vasıtasıyla SNARE ve NFS gibi

membran füzyon proteinleriyle de bağlantılar kurarlar. Tüm bunlar PDZ alanları içeren proteinlerin, AMPA reseptör trafiğini ve onların membran üzerindeki stabilizasyonunu kontrol etmede önemli rolleri olduğunu göstermektedir [71]. Her ne kadar birçok detay üzerinde çalışılsa da, AMPA reseptörlerinin PDZ içeren proteinlerle etkileşimleri, spesifik alt-hücrel bölgelere yönlendirilmesini ve kümelenmesini önemli ölçüde etkileyerek hem nöronal membran yüzeyindeki hem de hücre içi havuzlardaki stabilizasyonunu sağlamaktadır [72].

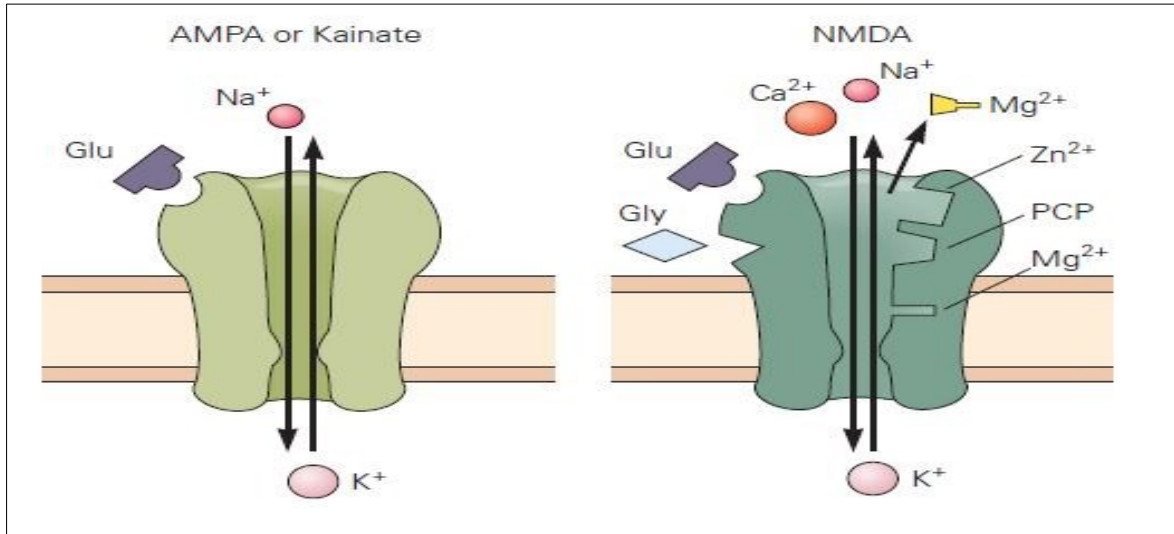
Eccles ve meslektaşları (1964), spinal motor nöronlarında Na^+ ve K^+ 'a geçirgen glutamat-kapılı kanalların açılması sonucu EPSP'lerin oluştuğunu tespit etmişlerdir [73]. AMPA reseptörleri hipokampüste neredeyse tüm eksitatorik sinapslarda bulunur ve katyon-seçici kanal kapısı görevi görür. Dinlenme membran potansiyellerinde kanal akımının büyük bir çoğunluğunu Na^+ iyonları oluştursa da kanal, diğer tek değerlikli küçük katyonlar için de geçirgendir. Bu nedenle K^+ akımı da depolarizasyon potansiyelleri yaratabilmektedir. Sinaptik glutamat temizlendikten sonra AMPA reseptörleri hızla deaktive olur. Eğer glutamat sinaptik aralıkta temizlenmezse, AMPA reseptörleri hızla kapanır ve nispeten yavaş iyileştikleri duyarsız bir duruma geçerler. Bağlanan reseptörler sürekli açık kalmazlar. Diğer ligand kapılı iyon kanallarıyla ortak olarak açılır, açık-kapalı durumları arasında geçişler gösterir ve hatta açık durumdayken bile tercih edilen iletkenlik seviyeleri arasında dalgalanma meydana gelir. Çoğu kinetik şemaya göre, reseptörün açılması için iki glutamat molekülünün bağlanması gerekmektedir. Hem kanalın açılma olasılığı hem de iletkenliği, fosforilasyon edilerek düzenlenir ve bu fosforilasyon mekanizması sinaptik plastisitede önemli rollere sahiptir. Ayrıca altbirim kompozisyonuna bağlı olarak AMPA reseptörleri Ca^{+2} 'a da geçirgenlik gösterebilir [74]. Bu geçirgenlik, GluR2 altbiriminin iyon kanalına bakan yüzeyinde arjinin amino asidini bulundurup bulundurmamasına göre düzenlenmektedir. Bu altbirim genomik sekansa göre kodlandığında, glutamin amino asidinin bulunduğu pozisyon post-translasyonel olarak arjinin amino asidi ile yer değiştirir. GluR2 altbiriminin geçirdiği bu değişim, reseptörün Ca^{+2} 'a karşı geçirgen olmamasına neden olur ve temel hücrelerdeki çoğu glutamat reseptörü bu özelliğe sahiptir. Eğer reseptör GluR2 altbirimi içermezse Ca^{+2} 'a geçirgendir ve bazı hipokampal ara nöronlardaki AMPA reseptörleri bu tiptedirler [10, 75].

Kainat reseptörleri AMPA reseptörlerine pek çok açıdan benzemektedir. AMPA reseptörleri gibi heteromultimerik yapıda olup, GluR5, GluR6, GluR7 ve KA1, KA2 olmak

üzere 5 farklı altbirimin farklı kombinasyonlarından oluşmaktadırlar. Bununla birlikte, bu altbirimlerin hepsi aynı statüye sahip değildir, çünkü sadece KA1 veya KA2'den oluşan reseptörler işlevsizdir. Kainat reseptörleri de AMPA reseptörleri gibi hızlı açılıp hızlı duyarsızlaşırlar ve Ca^{+2} geçirgenlikleri glutamin-arjinin değişimine bağlıdır [10]. Bazı kanıtlar presinaptik kainat reseptörlerinin, nörotransmitter salınımını [76], akson uyarılabilirliğini [77] ve sinaptik plastisiteyi [78] düzenlemede önemli rollere sahip olduğunu ortaya koymuştur [10].

NMDA reseptörleri NR1 ve NR2 olmak üzere 2 temel altbirimden oluşmuş heteromultimerik yapılardır. Fakat NR2 altbiriminin de kendi içinde A'dan D'ye olacak şekilde 4 farklı alt tipi bulunmaktadır. NR1 altbirimi glutamat bağlama özelliğine sahip olmasa da glisin bağlanma bölgesi içermektedir ve glisin, reseptör için bir ko-agonist görevi gördüğünden oldukça önem arz etmektedir. Diğer taraftan NR2A-D altbirimleri glutamat bağlanma bölgesi içermekte olup, 4 gen tarafından kodlanıp, beynin farklı bölgelerinde ve gelişimin farklı basamaklarında değişik oranlarda eksprese edilirler [10]. NMDA reseptörünün birbirinden farklı en az 6 bağlanma bölgesi olduğu düşünülmektedir. Bunlardan 4 tanesi reseptörün ekstraselüler bölgesinde, 2 tanesi ise iyon kanalı ile birlikte transmembran alanında yerleşik durumdadır. (Şekil 2.1) NMDA reseptörleri pek çok ilginç özelliğe sahiptir. Bunlardan ilki bu ligand kapılı kanalın, Na^{+} ve K^{+} 'a ek olarak Ca^{+2} 'a da geçirgen olmasıdır. Özellikle Ca^{+2} girişi hücre için oldukça önemlidir. Çünkü Ca^{+2} iyonu hücre içerisinde bulunan çeşitli enzimlere bağlanan ve çoğunlukla onları aktive eden ya da engelleyen bir ikincil haberci görevi görmektedir. İkincisi, kanalın açılması için sadece glutamatın bağlanması yeterli olmayıp, kofaktör olarak ekstraselüler glisin'e gereksinim duymasıdır. Normal şartlar altında ekstraselüler glisin konsantrasyonu, NMDA reseptörünün glutamat ile aktive olabilmesi için yeterlidir. Üçüncüsü, NMDA reseptörünün ligand kapılı bir kanal olmasına rağmen aynı zamanda da voltaja duyarlı bir kanal olmasıdır. Membran potansiyelindeki değişiklikler intrinsik voltaj sensörlerince kanalda konformasyonel değişiklikler meydana getirir. Reseptörün aktive olabilmesi için bu değişme ihtiyacı vardır, çünkü dinlenim membran potansiyelinde (-65 mV) kanalın porunda sıkıca Mg^{+2} bağlayan bir bölge bulunmaktadır ve bu Mg^{+2} iyonik akımı engelleyen bir blokaj görevi görür. Bu blokajının kalkması için membranın, örneğin AMPA reseptör kanallarının açılması yoluyla depolarize olması gerekmektedir. NMDA reseptörünün diğer bir ilginç özelliği de halüsinojenik bir ilaç olan PCP'ye (fensiklidin, melek tozu) duyarlı olmasıdır. PCP bağlanan bölgesi Mg^{+2} iyonunun bağlandığı kısımdan

farklı bir bağlanma bölgesine sahip olup, yine membranın por kısmında bulunmaktadır ve NMDA antagonisti gibi davranarak Ca^{+2} geçişini engellemektedir [31]. NMDA reseptörünün diğer iyonotropik reseptörlerden bir diğer farkı da oldukça yavaş kinetiğe sahip olup, glutamat ile aktive olduktan sonra yüzlerce milisaniye boyunca açık kalarak, bu süre boyunca devamlı iyon geçişine izin vermesidir. Bu yavaş kinetiğinin sebebi, glutamatın reseptöre bir kere bağlandığında, bu bağlantıyı uzun süre boyunca kesmemesidir. Glutamatın bağlı olduğu bu süre boyunca iyon kanalı tekrar tekrar açılabilir.



Şekil 2.1. İyonotropik glutamat reseptörleri (E.R. Kandel ve ekibinin 2013 basımı “*Principles of Neural Science*” kitabının 10. Bölümünde 215. Sayfadasındaki “Figure 10-4 A”dan alınarak Türkçeleştirilmiştir) [31]

Metabotropik glutamat reseptörleri (mGluR) 7 transmembran segmentten oluşur ve nükleotid-bağlayıcı G proteinlerine bağlıdırlar. mGluR reseptörleri çoğu etkisini bu G proteini aracılığıyla gerçekleştirir. İki konformasyonel durumda bulunur ve glutamatın bağlanmasıyla aktif halde stabilize olurlar. Metabotropik glutamat reseptörleri 3 sınıfta incelenir. Grup I reseptörler (mGluR1 ve mGluR5) genellikle postsinaptik membranda lokalize olup, sinaptik yarığın etrafını sarma eğilimindedirler. G proteinleri ile fosfolipaz C (PLC)’ye bağlanırlar ve aktivasyonları sonucu hem inositol trifosfat (IP3) hem de diaçilgliserol (DAG) moleküllerinde artış meydana getirerek, katyon-seçici iletkenlik aracılığıyla yavaş bir EPSP oluşturabilir ve hücre içi depolarından Ca^{+2} salınımı tetikleyebilirler. Grup II reseptörler (mGluR2 ve mGluR3) ve grup III reseptörler (mGluR4, mGluR6, mGluR7 ve mGluR8) ise çoğunlukla presinaptik membranda bulunur ve G proteinleri aracılığıyla adenilat siklaz (AC)’ı inhibe ederek etkilerini gösterirler. Mossy liflerindeki mGluR2 reseptörleri, glutamat salınım bölgesinin uzağına konumlanmış

bir biçimde aksonal zar üzerinde bulunmaktadır. Konumları nedeniyle bu reseptörler, sinaptik aralıktan kaçan glutamat moleküllerini yakalamaktan sorumlu otoreseptörler olarak görev alıyor olabilirler [79]. Ayrıca bazı metabotropik reseptörlere GABAerjik sinapslarda da rastlanması, bir şekilde komşu sinapslardan bu sinapslara gelen glutamat moleküllerini yakalayıp, sinaptik aralıktan temizlemek amacıyla bir dedektör gibi çalıştıkları fikrini vermektedir [10].

Inhibitör GABAerjik sinapslar

Beyindeki sayısız nöronal bağlantıları gözünüzde canlandırdığınızda, eğer inhibitör sinapslar olmasaydı nöronal sinyal iletimlerinin nasıl olacağını bir düşünün? Aktive etmek istediğiniz, belli bir hareketi yapmanızı sağlayacak bir sinirsel A yolağı hayal edin. A yolağının aktivasyonunu başlatan ilk nöronu uyarmak istediğinizde bu nöron, diğer pek çok nöronla bağlantılar kurmuş olduğu için, A yolağına dâhil olmayan başka nöronları da aktive edecektir. A yolağı haricinde aktive olan bu diğer nöronlar, bağlı oldukları diğer nöronları, onlar diğerlerini, onlar diğerlerini... A yolağını aktive etmek isterken neredeyse tüm beyninizi aktive etmiş olurdunuz. Bu nedenle sinir sisteminde inhibitör sinapslar oldukça önem kazanmaktadır. Merkezi sinir sisteminde başlıca inhibisyon sorumlu nörotransmitterler GABA ve glisinidir. Glisin genellikle spinal kord ve beyin sapında etkilken, GABA hipokampus dâhil olmak üzere diğer beyin bölgelerinde daha yaygındır [65].

GABA (γ -aminobütirik asit) nörotransmitteri nöron sitoplazmasında, glutamik asit dekarboksilaz (GAD) enzimi ile glutamat amino asidinden bir karboksil grubunun çıkartılmasıyla [80] ya da glutaminaz enzimi ile glutaminden üretilir [81]. GABA, merkezi sinir sisteminde en yaygın bulunan inhibitör etkiye sahip nörotransmitterdir [82]. Beyinde GAD enziminin iki izoformu bulunmaktadır: GAD65 ve GAD67. GAD65, GABAerjik nöronların presinaptik terminallerinde bulunurken, GAD67 hücre gövdesi ve dendritlerinde yaygın dağılım gösterir. GAD enziminin bu farklı formlarının düzenledikleri işlevler de birbirinden farklıdır. GAD65, nörotransmitter havuzu oluşturmak için GABA üretirken, GAD67 aktivitesi temel olarak metabolik GABA havuzu oluşturur [18]. Hücre somasında üretilen GABA moleküllerinin veziküllere taşınmasına, Veziküler GABA Taşıyıcıları (VGAT) aracılık eder. Fakat bu taşıyıcıların GABAerjik terminallerde bulunmaması, veziküler GABA birikimi için gerekli olmadıklarını düşündürmektedir.

Veziküler ekzositozu takiben, GABA molekülleri sinaptik yarığa difüze olur ve geniş bir aileden oluşan GABA taşıyıcıları (GAT1, GAT2, GAT3 ve GAT4) tarafından yakalanırlar. Bu taşıyıcılar sadece astrositik membranda değil, aynı zamanda hipokampal ara nöron ve temel hücre membranlarında da bulunurlar ve GABA ile birlikte Na^+ iyonu da taşırlar. GABA'nın, GABA_A ve GABA_B olmak üzere iki reseptörü tanımlanmıştır. GABA_A reseptörü iyonotropik bir reseptör olup, GABA ile aktive olmasının sonucunda bir klor kanalı haline gelerek, hücre içerisine klor iyonu (Cl^-) girişine sebep olur. Klor iyonunun anyonik bir iyon olması nöronun hiperpolarize olmasına neden olarak, postsinaptik membranda IPSP oluşturur. GABA_B reseptörü ise G-proteini bağlı metabotropik bir reseptör olup, aktivasyonu sonucu bir K^+ kanalını kontrol eder [10].

GABA_A reseptörleri heteropentamerik yapıda olup, oldukça fazla altbirimden (α_{1-6} , β_{1-3} , γ_{1-3} , δ , ϵ , π , θ) oluşmaktadır. Bu altbirimlerden α_1 , α_2 , α_4 , β_3 , γ_2 ve δ özellikle dentat girusta bulunurken, CA bölgesinin temel altbirimleri α_1 , α_2 , α_5 , β_3 ve γ_2 'dir [83]. NMDA reseptörleri gibi GABA_A reseptörleri de oldukça karmaşık özelliklere sahiptir. Bu reseptörler birbirinden farklı en az 5 bağlanma bölgesi içerirler. GABA_A reseptörünün başlıca bağlanma bölgesi GABA (γ -aminobütirik asit) için olup, Muskimol bu bölgeye doğrudan agonist etki yaparken, Bikukulin ilacı doğrudan antagonist etki göstererek bölgeyi bloke eder. Reseptör üzerinde ayrıca benzodiazepinler, barbituratlar ve bir nörotoksin olan pikrotoksin için bağlanma bölgeleri bulunmaktadır. Bunlardan barbituratların ve benzodiazepinlerin tümü GABA_A reseptör aktivitesini tetikleyici etkide bulunarak, GABA agonisti görevi görürler ve etki ettikleri bölge aynı zamanda progesteron gibi steroidlerin de bağlanma noktasıdır. Pikrotoksin ise reseptör aktivitesini baskılayarak nöbet oluşumlarına sebebiyet verebilmektedir.

GABA_A reseptörleri sadece anyonlara geçirgen olup, dominant olarak Cl^- iyonun taşınmasını sağlar. Fakat reseptör aynı zamanda düşük seviyelerde olsa da bikarbonat (HCO_3^-) iyonuna da geçirgenlik gösterir. Reseptörün uyarılması postsinaptik membranı hiperpolarize eder. Fakat gelişimin erken dönemindeki nöronlarda bu durum farklılık gösterir. Çünkü bu nöronlarda hücre içi Cl^- seviyesinin düşük tutulmasını sağlayan temel ekstrüzyon mekanizması olan K^+/Cl^- kotransporter KCC2 taşıyıcısı yeterince eksprese edilmediğinden, hücre içi Cl^- konsantrasyonu yüksektir. Bu hücrelerde elektrokimyasal gradiyent Cl^- tarafından domine edilmektedir ve mevcut Cl^- iyonlarını hücre dışarısına vererek depolarizasyon oluştururlar. Normal depolarizasyon mekanizmasından farklı olan

bu ilginç durum “depolarize edici IPSP’ler” olarak adlandırılmaktadır. Yetişkin beyninden alınan akut dilimlerdeki piramidal nöronların dendritlerine agonistinin eksojen olarak verilmesi, GABA’nın oluşturduğu depolarize edici bu etkinin bir analogudur [84]. Bu durumun altında yatan mekanizmada intraselüler Cl^- birikiminin sonucu olarak uyarılan GABA_A reseptörlerinin rol oynadığı düşünülmektedir. Buna ek olarak reseptörün HCO_3^- iyonlarına karşı geçirgenliği de bu etkisinde rol oynuyor olabilir [10].

GABA_B reseptörleri ise GBR_1 ve GBR_2 olmak üzere iki altbirimden oluşan heterodimerik bir yapı göstermektedir. GABA_B reseptörleri hem presinaptik hem postsinaptik hem de ekstrasinaptik membran bölgelerinde bulunmaktadır. Reseptör presinaptik membranda G proteini aracılığıyla voltaja duyarlı N-tipi Ca^{+2} kanalları ve yüksek voltaj kapılı P/Q-tipi Ca^{+2} kanallarıyla bağlantılı olup, bu kanallar üzerinde negatif yönlü bir etki göstererek nörotransmitter salınımını kontrol etmektedir. Postsinaptik tarafta ise tetiklediği ikincil haberci sinyal kaskatı ile G-protein kapılı iç-düzeltici K^+ kanallarının (G protein-gated inward-rectifying K^+ channels, GIRK) açılmasını sağlar. Bu kanalların aktivasyonu birkaç yüz milisaniye boyunca süren, yavaş bir IPSP meydana getirir ve yavaş etkisi nedeniyle GABA_A reseptörlerinden ayrılır. Yavaş kinetiğine ek olarak, yaptığı etkinin Cl^- iyonu bağımsız olması da GABA_B ’nin bir diğer ayırt edici özelliğidir. Ayrıca bu reseptörlerin ekstrasinaptik membranda bulunması nedeniyle aktive olabilmesi için, birden fazla presinaptik terminal tarafından salınan GABA’nın birikimine ihtiyacı vardır [10].

Hipokampal sinapslarda östrojenin rolü

Östrojen, özellikle de menopozdan sonra hızla düşen östrojen seviyesi, kadınlarda Alzheimer Hastalığı’nın prevalansının yüksek olmasında rol oynuyor olabilir [85]. Östrojen, genç yetişkin dişi sıçanların hipokampal CA1 bölgesindeki piramidal hücre dendritlerine gelen sinapsları artırır [86]. Hem sıçanlarda hem de farelerde sinapsların östrojen tarafından düzenlenmesi, presinaptik ve postsinaptik hücre taraflarının iş birliğini içerir. Androjenlerin efektör hücrede meydana getirdikleri etkilerini nükleer reseptörleri aracılığıyla yaptığı bilinmesine rağmen hipokampal dokuda nükleer reseptör miktarının az olması nedeniyle östrojen, hipokampal sinapslardaki etkisini farklı tipte reseptörler aracılığıyla gösterir. Sıçan ve farelerde yapılan çalışmalar, presinaptik ve postsinaptik kısımlarda bulunan östrojen-duyarlı reseptörler (Östrojen Reseptör α ($\text{ER}\alpha$), Östrojen Reseptör β ($\text{ER}\beta$) ve Progestin Reseptörleri (PRs) gibi) aracılığıyla östrojenin sinaptik

modülasyonu gerçekleştirdiğini ortaya koymuştur [87]. Hipokampal formasyondaki öncü ışık mikroskopik çalışmalar, nükleer ER α immünreaktivitesinin inhibitör GABA_A reseptörleri ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Daha detaylı analizlerle, bu nükleer reseptörlerin ek olarak, ER α immünreaktivitesinin bazı nöronlar ve bazı temel hücrelerin (piramidal ve granül) endozomlarında plazmalemma ile sitoplazmik yüzü ile bağlantılı olduğu ortaya çıkartılmıştır. Bu ektranükleer ER α reseptörleri, hipokampal formasyon boyunca yaygın olmasına rağmen özellikle östrojen aracılı sinaptik plastisitenin gözlemlendiği, CA1 stratum radiatum tabakasında daha yoğunudur. Hipokampal hücre ve hücrealtı bölgelerde ER β immünreaktivitesi de ER α immünreaktivitesine benzer dağılım göstermekle beraber, bazı farklılıklar da bulundurmaktadır. Aralarındaki farklılıklardan biri, ER β immünreaktivitesinin ekstra-nükleer kısımlarda daha yoğun olmasıdır. Ayrıca ER β immünreaktivitesinin özellikle içzarlar ve mitokondri olmak üzere hücre organelleriyle ilişkili olması, nöronal uyarılabilirlik ve sinaptik plastisite gibi Ca^{+2} sinyali tarafından kontrol edilen süreçlerle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bunlara ek olarak ER β reseptörleri, bazı piramidal ve granül hücrelerinin plazma membranında ve dendritik spinlerinde de bulunmaktadır. Bu reseptörün özellikle Mossy fiber yolunda, presinaptik akson terminallerinde küçük sinaptik vezikül havuzlarıyla ilişkili olduğu gözlemlenmiştir. Progesteron Reseptörleri (PRs), ektranükleer bölgelerde bulunmaktadır ve yoğunlukla temel hücrelerden gelen postsinaptik yoğunluk (Postsynaptic Density, PSD) ile yakından ilişkili olan asimetrik sinapslardaki dendritik spinlerde bulunmaktadır. Ayrıca bu reseptörler, yoğunlukla astrositler olmak üzere glialarda da bulunmaktadır. Bu lokalizasyonları nedeniyle PR reseptör aktivasyonunun, eksitatorik nörotransmisyonu etkilediği düşünülmektedir [88].

Sinaptofizin, küçük sinaptik veziküllerle ilişkili presinaptik bir proteindir. Buna karşılık sintaksin ise presinaptik membran ile ilişkilidir. Bu iki protein de presinaptik membrana nörotransmitter veziküllerinin kenetlenmesi sürecinde rol oynamaktadır [89]. Östrojen dişi sıçanlarda ve farelerde, presinaptik CA1 nöronlarında sinaptofizin ve sintaksin seviyelerini düzenliyor gibi görünmektedir. Ovariectomize sıçanlara östrojen türevlerinin birkaç gün verilmesini takiben, CA1 nöronlarında sinaptofizin [90] ve sintaksin [91] seviyelerinde artış gözlemlenmiştir. Buna karşın presinaptik terminallerden salınan glutamat seviyelerine östrojenin direkt bir etkisinin olmadığı ve ovariectomize sıçanlara ne estradiol verilmesinin ne de ER-seçici agonistlerinin verilmesinin hipokampüste veziküler glutamat taşıyıcısı 1 (VGluT1) seviyelerini değiştirmediği gözlemlenmiştir [92]. Ayrıca östrojen, presinaptik

terminallerden salınan GABA miktarını da direkt olarak etkilemiyor gibi görünse de hipokampal nöron kültüründe östrojenin, GABA sentezini veya taşınmasını bloke ederek disinhibisyon oluşturduğu gözlemlenmiştir. Östrojenin GABAerjik ara nöronlardaki bu etkisinin Nöropeptid-Y (NPY) bağlantılı olduğu düşünülmektedir. [87, 93].

Postsinaptik bir protein olan spinofilin (spinophilin), dendritik spinlerde bol bulunan aktin bağlayıcı bir proteindir. PSD-95 ise postsinaptik glutamat reseptörlerinin ve postsinaptik yoğunluğunun (PSD) diğer bileşenlerinin organizasyonunda yer alan bir iskele proteinidir. Ovariectomize sıçanlarda estradiol tedavisi, hem PSD-95 hem de spinofilin seviyelerini arttırmıştır [92]. Dişi sıçanlarda CA1 hücrelerinde östrojen tarafından tetiklenen spinogenez, glutamaterjik NMDA reseptörlerinin aktivasyonu ile önemli bir şekilde ilişkilidir. Estradiol uygulaması yapılan ovariectomize dişi sıçanların hipokampuslerinde membrana bağlı NMDA reseptör seviyesinde artış gözlemlenmiş ve bu artış muskarinik M2 reseptör antagonisti tarafından bloke olmuştur. Bu durum östrojenin NMDA reseptörü ile olan ilişkisinin asetil kolin aracılı olduğunu düşündürmüştür [94]. Östrojen tarafından tetiklenen spinogenez, eşzamanlı verilen NMDA reseptör antagonisti ile bloke olurken, AMPA reseptörü ya da kainat reseptörü antagonistleri ile bu etki gözlemlenmemiştir. Bu nedenle östrojenin dendritik spin oluşumunu tetikleme sürecinde, bu iki reseptörün doğrudan etkisinin olmadığı söylenebilir [87, 95].

Hipokampal sinaptik plastisite

Yaşanılan her deneyim yeni bir bellek potansiyeli oluşturur. Yeni anılar genellikle daha kırılgan olup daha kolay bozulabilmekteyken, eski anılar daha kalıcı olabilmektedir [96]. Bir bilginin öğrenilmesi ve bilgiye dair bellek oluşturulması için, temel olarak o bilgi ile ilişkili nöronların arasındaki sinaptik bağlantıların kuvvetlenmesi gerekir. Bilgi, akılda kalıcılığına göre kısa dönem bellek ve uzun dönem bellek olarak iki formda kodlanır. Öğrenme ve bellek ile ilgili bilgiler “hipokampal fonksiyonlar” başlığı altında ileride detaylıca anlatılacaktır. Burada değinilmesi gereken husus, hipokampus ile ilişkisinden dolayı özellikle bir uzun dönem bellek formu olan epizodik belleğin, nöronal ve moleküler oluşum sürecidir. Epizodik belleğin de dâhil olduğu eksplisit bellek, 4 farklı süreçle düzenlenmektedir; bilgi önce *kodlanır*, sonra *depolanır*, depolanan bilgi *sağlamlaştırılır* ve *geri çağırma* yoluyla hatırlanır.

Kodlama, yeni bilgilerin katıldığı ve bellekteki mevcut bilgilerle bağlandığı süreçtir. Bu sürecin kapsamı, öğrenilen materyalin ne kadar iyi hatırlanacağını belirlenmesi için kritik öneme sahiptir. Hafızanın devam etmesi ve iyi hatırlanabilmesi için, gelen bilgilerin iyice kodlanması gerekmektedir. Psikologların “derin kodlama” olarak adlandırdıkları bu durum, yeni eklenecek bilginin, bellekte zaten iyi bir şekilde oluşturulmuş bilgi ile ilişkilendirilmesidir. Bilgi kodlama aşamasındayken, daha iyi motive olduğunda daha güçlü kodlanmaktadır [31].

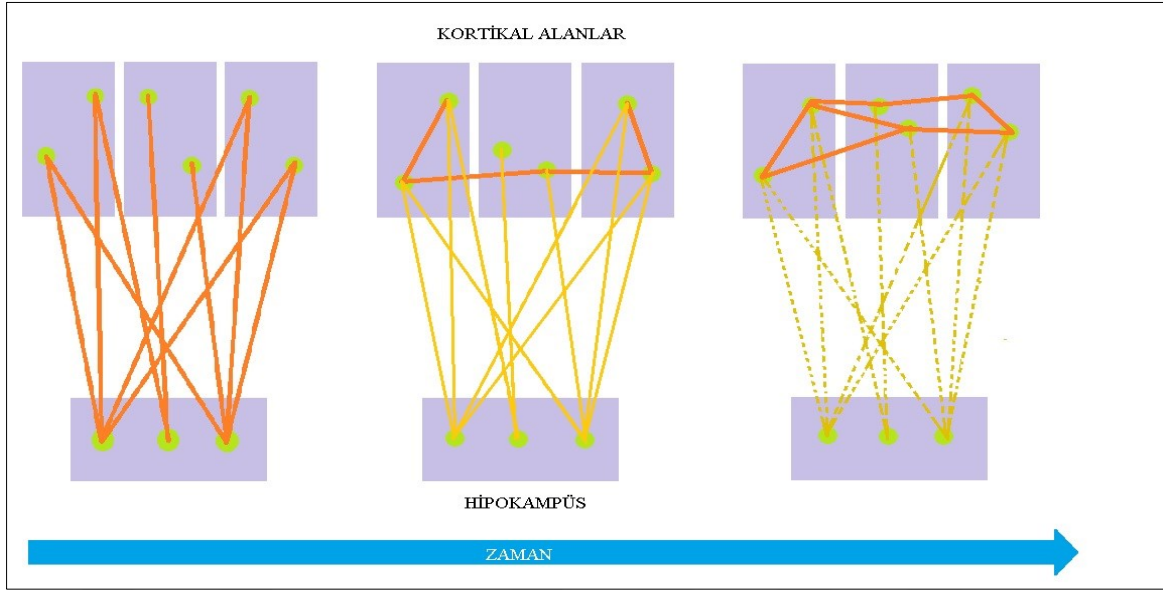
Depolama, belleğin zamanla muhafaza edildiği nöral mekanizmalara ve yerlere karşılık gelmektedir. Uzun süreli depolama ile ilgili dikkat çekici özelliklerden biri, neredeyse sınırsız kapasitesinin olmasıdır ya da diğer bir deyişle depolanacak bilgilerin miktarı için bilinen bir sınırın olmamasıdır. Buna karşın çalışan belleğin depolama kapasitesi çok sınırlı olup, genellikle tek seferde birkaç bilginin tutulmasına olanak tanıyacak kadardır [31].

Pekiştirme (Konsolidasyon), geçici olarak depolanan veya değişken olan bilgilerin daha istikrarlı hale getirilmesi süreci olup, sonraki bölümde bahsedilecek olan Uzun Dönem Güçlendirme (Long-term Potentiation, LTP) mekanizması ile işleyen, sinapslarda yapısal değişikliklere yol açan, gen bölgelerinin aktivasyonu ve yeni proteinlerin sentezlenmesini gerektiren olayları tetikler [31].

Geri çağırma ise, depolanan bilginin kullanılması için hatırlandığı süreçtir. Esasen farklı yerlerde kodlanan farklı bilgi türlerinin akıla getirilmesi olayıdır ve plastik bir süreç olmasından dolayı yanılsamalara ve deformasyonlara maruz kalabilmektedir [31]. Genellikle yeni anıların kırılgan olmasının nedeni, henüz yeterince sağlamlaştırılmamış olmasıdır. Bilgi ne kadar sağlamlaştırılırsa, geri çağırılma sürecinde deformasyona uğrama olasılığı da o kadar azalmaktadır. Yeni anıların travma nedeniyle kaybolması sık gözlemlenen bir durumdur. Beyin travması geçirmiş bir kişinin yalnızca travma anında ve sonrasında yaşadıklarını değil, travmadan hemen önce yaşadıklarını da hatırlamaması tipik bir durumdur. Hafıza kaybı literatürde “amnezi” olarak adlandırılmakta ve amnezinin iki türü bulunmaktadır ki bunlar; yeni anılar oluşturma yeteneğinin kaybı olarak bilinen “anterograd amnezi” (ileriye dönük amnezi) ve amneziye sebep olan etkenden önceki olayları hatırlama yeteneğinin kaybı olarak bilinen “retrograd amnezi” (geriye dönük amnezi)’dir [96]. Retrograd amnezilerde genellikle uzak anılar ile ilgili bellek daha az

etkilenirken, yakın anıların belleği daha çok etkilenmektedir [97]. Yakın anıların eski anılardan daha az pekiştirmeye maruz kalmasından kaynaklanan kırılganlıkları nedeniyle gözlemlenen bu durum, “dereceli amnezi” olarak adlandırılmaktadır [98]. Bu nedenle, bellek oluşumunda ve belleğin korunmasında pekiştirme süreci oldukça önem kazanmaktadır. Sinapslarda meydana gelen pekiştirme süreci değişkenliklere açık bir işlem olmasından dolayı, sıklıkla “sinaptik plastisite” olarak adlandırılmaktadır.

Retrograd amnezinin dereceli olması “standart pekiştirme modeli”nin oluşturulmasına yol açmıştır. Bu modele göre, belleğin (epizodik) yukarıdaki dört aşaması temel olarak hipokampüse dayanmaktadır ve hipokampus özellikle sağlamlaştıma ve geri çağırma oldukça önemlidir. Buna karşın pekiştirmesi tamamlanan bir anıyı sonrasında geri çağırma artık hipokampüse dayanmamaktadır. (Şekil 2.2) Pekiştirme sürecindeki adımlar şu şekilde ilerlemektedir; öncelikle gelen bilgiler kortekste birçok duyuşsal ve bilişsel alanları etkinleştirerek kortekse yayılır. Bu yayılma sürecinde korteks ile hipokampus arasındaki etkileşim oldukça kuvvetlidir. Hipokampusun buradaki görevi gelen bilgilerle alakalı bu kortikal etkinlikleri koordine etmektir. Pekiştirmenin temel mekanizması, hipokampusun bir anıyla bağlantılı nöral etkinliği yinelediği “yeniden-etkinleştirme”dir. Yani korteks ile hipokampus arasında kurulan bağlantıların anının bilinçli bir şekilde tekrarlanması yoluyla güçlendirilmesidir. Bu güçlendirmeler uyku esnasında da gerçekleşebilir [99]. Bu etkinlik, kortikal alanlar arasında bağların oluşturulmasıyla sonuçlanır. Kortekste farklı alanlar doğrudan bağlanana kadar güçlendirme devam eder ve bağlantılar tamamlandıktan sonra artık hipokampüse gerek kalmaz. Bu nedenle uzak geçmişteki anıları hatırlayabilmek için kortikal etkinlik yeterli olmaktadır [96]. Bir sonraki bölümde pekiştirme sürecinin, öğrenme ve bellek oluşturmaının moleküler mekanizması olan hipokampal LTP anlatılacaktır.



Şekil 2.2. Pekiştirme sürecinde hipokampal ve kortikal bağlantıların ilerleyişi (E. Bruce Goldstein’in 2013 yılında yayımlanan “*Bilişsel Psikoloji*” isimli kitabının 7. Bölümünde 340. Sayfadaki “Şekil 7.21”den alınmıştır) [96]

LTP

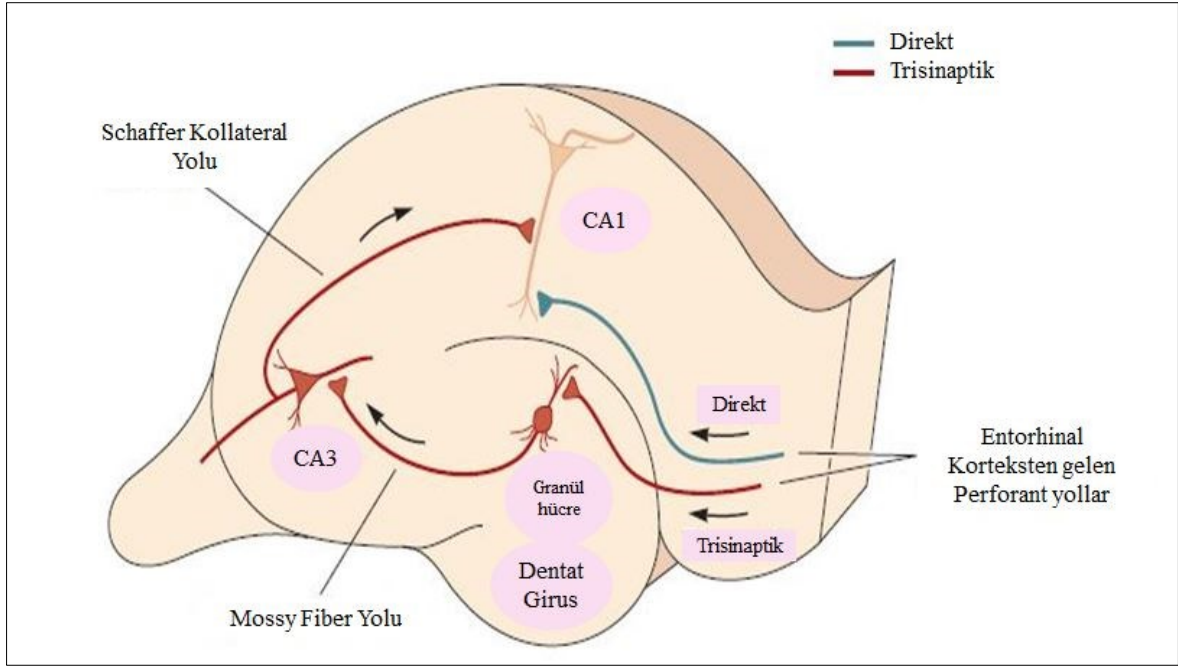
Kanadalı psikolog Donald Hebb’in (1949) sinapsların bellekteki rolü üzerine gerçekleştirdiği öncü çalışmasından kısa süre sonra yayımlanan anterograd amnezili hasta H.M. ile ilgili çalışmaların ışığında, uzun dönem hafızanın kodlanması ve sağlamlaştırılmasından sorumlu temel yapının hipokampus olduğu ortaya çıkmıştır. Ardından 1973 yılında İngiliz fizyolog Tim Bliss ve Norveçli fizyolog Terje Lomó, hipokampal afferentlerin tekrarlayan elektriksel stimülasyonunun uzun dönem güçlendirme (LTP) şeklinde sinaptik iletim gücünde kalıcı bir modifikasyona yol açtığını gösteren ilk ana kanıtı oluşturan çalışmalarını ortaya koymuşlardır [100]. Bu çalışmada dentat granül hücrelerine yüksek frekanslı stimülasyon (high-frequency stimulation, HFS) uygulayarak (ki bu durum literatürde sıklıkla tetanik stimülasyon (tetanus) olarak geçmektedir), bu hücrelerin hipokampal eksitatorik sinapslarında günlerce sürebilen hızlı ve uzun süreli güç artışı üretmişlerdir [101]. Tim Bliss (1973) ve bu alandaki diğer önemli araştırmacılar, küçük memelilerde hücresel ve moleküler seviyelerde LTP’nin karakterizasyonuna yoğunlaşırken, bu alandaki çalışmalarıyla Nobel ödülü almış olan Erik R. Kandel ve meslektaşları (1967) ise deniz salyangozu *Aplysia*’da ilişkisel olmayan öğrenme (non-asosiyatif) ile ilişkisel öğrenmenin (asosiyatif) basit formlarını oluşturan nöral devrelerin anlaşılmasını temellendirmişlerdir [102].

Hipokampal LTP ile ilgili öncü çalışmalar genellikle in vitro olarak yapılmış, LTP'nin deney hayvanlarının davranışlarına olan yansması ve in vivo olarak doğrulanması ancak 1983 yılında Alman fizyolog Krug ve ekibi tarafından ortaya koyulmuştur [103]. Bundan bir yıl sonra ise in vivo olarak LTP'nin sıçanlarda saatlerce ve günlerce sürebileceği ve mekanizmasının protein sentezine bağlı olduğu gösterilmiştir [104]. Ardından 2006 yılında Mark Bear ve ekibi tarafından farelerde gerçekleştirilen ilişkisel korku koşullandırması çalışmasında, LTP'nin yeni bir bilgiyi öğrenmeyle bağlantılı olarak sinaptik bellek depolanmasına olanak sağladığının ilk somut kanıtı ortaya koyulmuştur [105].

Öğrenme ve hafızanın temelinde “sinaptik plastisite” denilen, tekrarlı uyarıların neticesinde nöronları birbirine bağlayan sinapsların güçlenmesi ve sayılarının artması mekanizması bulunmaktadır [106]. Aktivite bağımlı sinaptik plastisite birçok sinaptik yolağın tanımlanmasında ve gelişim süresince sinaptik bağlantıların şekillenmesinde, dolayısıyla sinaptogenezde hayati rol oynar. Cajal'ın hipotezine (1913) göre bilginin depolanması, aktif nöronlar arasındaki sinaptik bağlantıların gücündeki değişikliklere dayanır. Bu değişiklikler, presinaptik nörondan artan nörotransmitter salınımı ya da postsinaptik hücrede nörotransmitterin bağlanacağı reseptör sayısının artması şeklinde olabilir [1]. Sinaptik plastisitenin moleküler mekanizması Long-Term Potentiation (LTP) yani Uzun-Dönem Güçlendirmedir. LTP mekanizması ile bazen presinaptik nöronda, bazen postsinaptik nöronda, kimi zaman da her iki nöronda meydana gelen yapısal değişiklikler neticesinde uzun dönem hafıza oluşur [31]. Sinaptik plastisite özellikle CA3 ve CA1 piramidal nöronları arasındaki Schaffer kollaterallerinde yüksek oranda görülür ve yapılan çoğu araştırmada özellikle bu yolaktaki sinapslar üzerine yoğunlaşmıştır [107-109].

Hipokampus, multimodal duyuşal ve uzaysal bilgileri yakınındaki entorhinal korteksten alır ve hipokampusün başlıca çıktısı, CA1 bölgesindeki piramidal nöronlardan tekrar entorhinal kortekse, subiküluma ve diğer medial temporal lob yapılarına projekte olur. Entorhinal korteksten gelen bilgilerin CA1 nöronlarına iki eksitatorik yolak ile ulaştığından “hipokampal anatomi” başlığı altında bahsedilmiştir. Fakat konunun daha açık bir şekilde anlaşılması adına kısaca özet geçmek gerekirse, bu iki yolak direkt ve indirekt perforant yollar olup, direkt yolak entorhinal korteksin III. tabaka nöronlarından orijin alıp, bu nöronların aksonları CA1 nöronların distal apikal dendritlerine sinaps yapmaktadır. Buna karşın entorhinal korteksin II. tabaka nöronlarından gelen bilgiler indirekt yolla CA1

nöronlarına trisinaptik yolak ile ulaşmaktadır. Bu yoldaki ilk sinaps II. tabaka nöron aksonları ile dentat granül hücreleri arasında, ikinci sinaps mossy fiber olarak adlandırılan granül hücre aksonları ile hipokampal CA3 nöronları arasında ve üçüncü sinaps ise Schaffer kollateralleri olarak adlandırılan CA3 nöron aksonları ile CA1 piramidal hücreleri arasında kurulur. (Şekil 2.3)



Şekil 2.3. Entorhinal korteksten hipokampüse gelen yollar (E.R. Kandel ve ekibinin 2013 basımı “*Principles of Neural Science*” kitabının 67. Bölümünde 1491. Sayfadaki “Figür 67-2”den alınarak Türkçeleştirilmiştir) [31]

Timothy Bliss ve Terje Lomo 1973 yılındaki yaptıkları çalışmada, bu trisinaptik yolun başlangıç basamağının, önceki aktiviteye karşı çok hassas olduğunu bulmuşlardır. Yukarıda da bahsettiğimiz gibi, kısa HFS ya da diğer adıyla tetanik stimülasyon (tetanus) uyguladıklarında, dentat granül nöronlarının sinapslarındaki EPSP’lerin amplitüdünde uzun süreli artışla birlikte LTP oluşumunu da gözlemlemişlerdir. HFS’ler ayrıca trisinaptik yoldaki her üç sinapsta ve direkt yoldaki sinapslarda da LTP’yi indüklemektedir. Deney hayvanlarına elektrotlar implante edilerek oluşturulan LTP, günler ve hatta haftalarca sürebilir. Bu farklı yolaklardaki LTP gözlemlmelerine göre, sinaptik plastisite tek tip LTP mekanizmasıyla işlememekte ve dolayısıyla bu yolaklardaki LTP’ler birbirinden farklılıklar göstermektedir. Buna karşın bahsedilen süreçler, aynı zamanda pek çok önemli benzerlikler de sergiler. LTP’nin her türü homosinaptik olup, güçlendirilen yolaklardaki sinaptik aktivite ile indüklenir. LTP’nin pek çok formu farklı tip reseptörler ve iyon

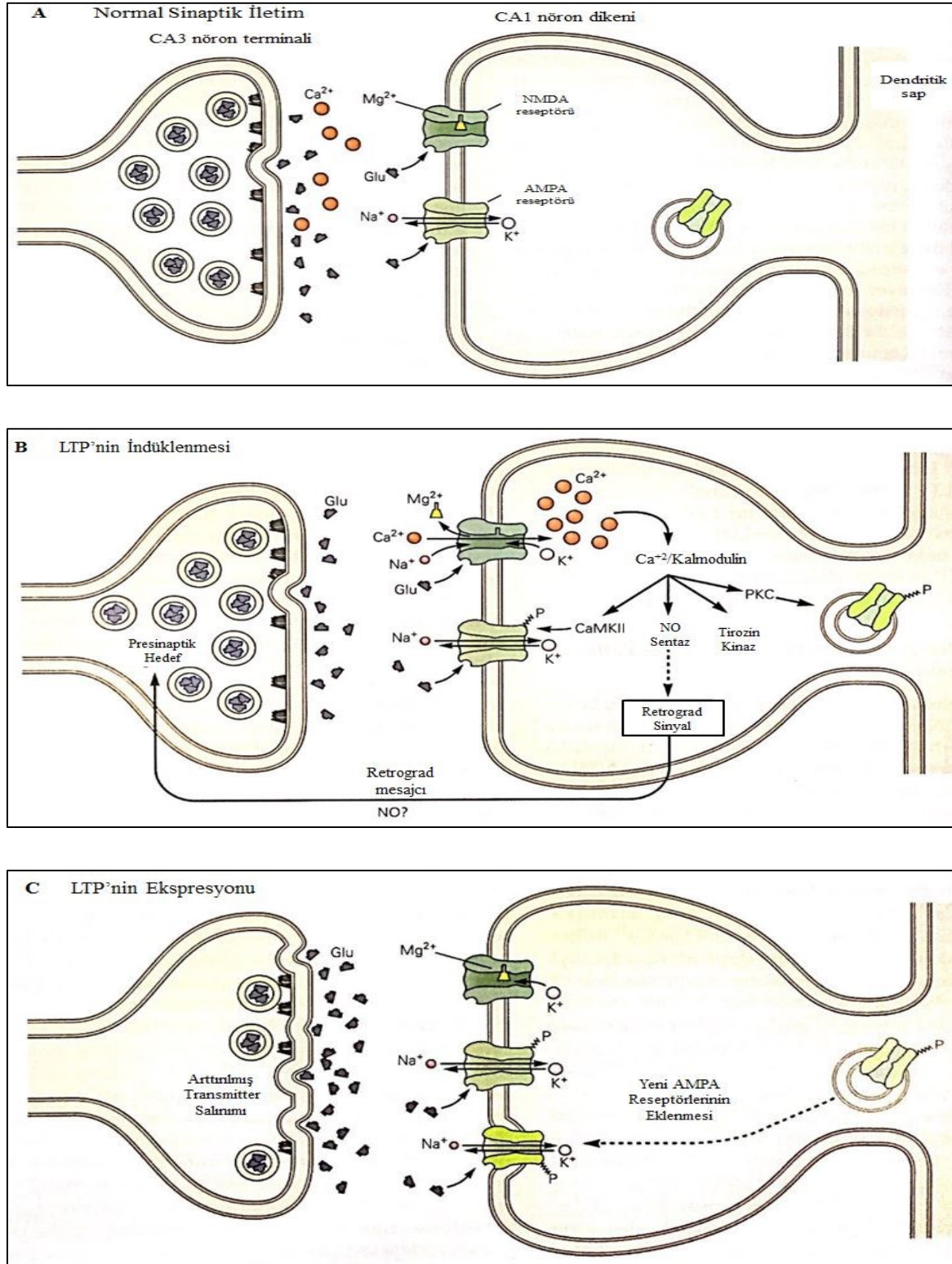
kanallarının devreye girmesine bağılı olarak değişiklikler gösterir. Bu da aynı zamanda, LTP'nin farklı formlarında farklı ikincil haberci sistemlerinin devreye girmesi manasına gelir. Örneğin Schaffer kollateralleri ile CA1 piramidal nöronları arasındaki sinaplarda kısa 100 Hertz (Hz)'lik tetanik uyarıma cevaben LTP'nin indüklenmesi, NMDA antagonisti APV varlığında tamamen bloke olurken, direkt yoldaki sinapslarda sadece kısmi bir inhibisyon yaratmakta ve mossy fiber ile CA3 sinapslarında ise LTP'yi hiç etkilememektedir [31]. LTP mekanizmalarındaki benzerlikler ve farklılıkların daha iyi anlaşılması için farklı hipokampal sinapslardaki süreçleri inceleyelim.

İlk olarak Mossy fiber yolunda gerçekleşen LTP'nin mekanizmasına bakalım. Öncelikle presinaptik nörondan glutamat salındığında, postsinaptik CA3 nöron membranındaki AMPA ve NMDA reseptörlerine bağlanarak etkisini gösterir. Bu yoldaki sinaptik iletimde NMDA reseptörleri sadece küçük roller oynamaktadır, çünkü söz konusu reseptörlerin bloke edilmesi bu sinapslardaki LTP'yi etkilememektedir. Çünkü postsinaptik nörondan ziyade, bu yoldaki LTP tetanik uyarım boyunca presinaptik terminallere büyük oranlarda hücre içi Ca^{+2} gitmesiyle tetiklenir. Presinaptik hücrede Ca^{+2} , Ca^{+2} /Kalmodulin bağımlı adenilat siklaz kompleksini aktive eder ve cAMP yapımı çoğalarak, Protein Kinaz A (PKA) aktivasyonu artar. Bunun sonucunda PKA, ekzositoz için önemli olan diğer presinaptik proteinlerle etkileşim kuran bir sinaptik vezikül proteini olan RIM1 α (Rab3 interacting protein 1 α)'yı fosforile ederek, presinaptik terminallerden salınan glutamat miktarı arttırır ve böylece presinaptik güçlendirme yani LTP gerçekleştirilmiş olur. Bu yolda ayrıca, norepinefrin (NE)'in β -adrenerjik reseptörüne bağlanması ile presinaptik fasilitasyon (kolaylaştırma) sağlanabilir. Böylece adenilat siklaz aktivasyonu arttırılır [31].

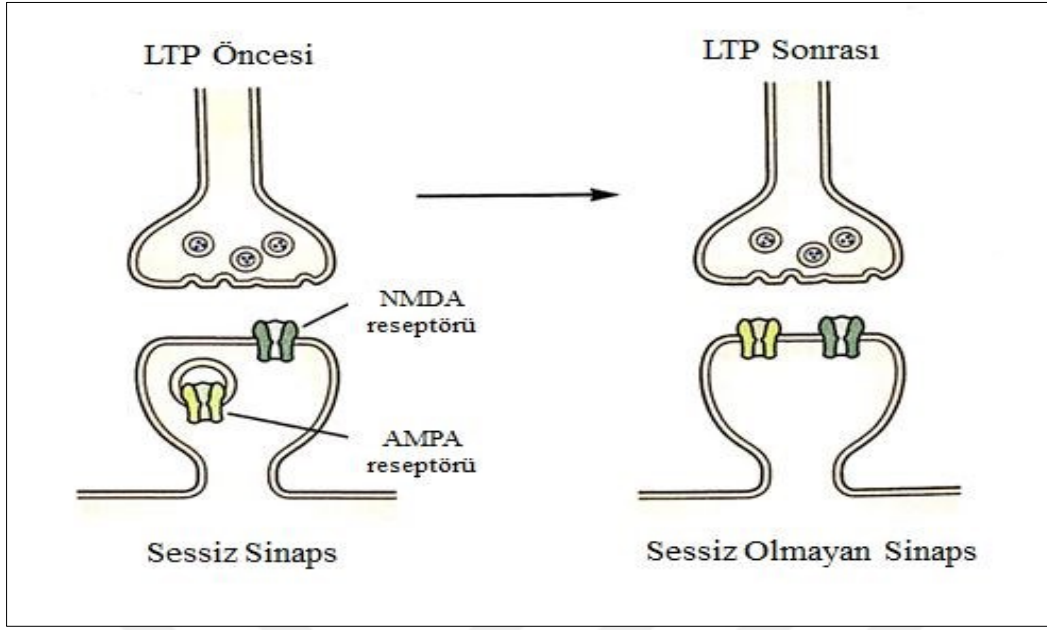
Schaffer kollaterallerindeki LTP'de, öğreilecek bilgiyi taşıyan CA3 nöronun akson terminalinden salınan glutamat nörotransmitteri, postsinaptik CA1 nöron membranında bulunan AMPA ve NMDA reseptörlerine bağlanarak etkisini gösterir [106]. Mossy fiber'deki LTP'nin aksine buradaki LTP, NMDA reseptör aktivasyonu gerektirmektedir. NMDA ve AMPA reseptörleri iyonotropik reseptörler olmasına rağmen NMDA reseptörünün aktive olması için sadece glutamatın bağlanması yeterli değildir. NMDA reseptörü yapısı gereği, nöron dinlenim zar potansiyelindeyken Mg^{+2} bağlanma bölgesine Mg^{+2} bağlıdır ve bu durum NMDA reseptörünün açılmasını engeller. Bu nedenle öncelikle zarda bulunan AMPA reseptörleri açılır ve hücre içersine Na^{+} girişı olur. Hücre içinde artan pozitif yük, hücre membranının zar potansiyelini artırarak Mg^{+2} blokajının ortadan

kalkmasına ve böylece NMDA reseptörünün aktifleşmesine sebep olur. NMDA reseptörünün aktifleşmesi ile hücreye Na^+ 'un yanı sıra Ca^{+2} iyonu girişi de gerçekleşir. Ca^{+2} , Kalmodulin Bağımlı Protein Kinaz II (CaMKII) aracılığıyla; Nitrik Oksit (NO), Protein Kinaz C (PKC) gibi ikincil haberci moleküllerini aktive eder; sinaptik havuzda bekleyen AMPA reseptörlerinin membrana transloke olmasını ve yeni AMPA reseptörlerinin sentezlenmesini sağlayarak sinaptik aktivitenin kuvvetlenmesine sebep olur (Şekil 2.4) [1, 106, 110].

İlginç bir şekilde hipokampal piramidal nöron çiftlerinden alınan kayıtların bazılarında, aksiyon potansiyelinin stimülasyonu bir nöronda başarısız olurken, diğerinde sinaptik yanıtı neden olmaktadır. Bu durumun nedeni, postsinaptik membranda bazen sadece NMDA reseptörünün bulunmasıdır. Böyle sinapslara “sessiz sinaps” denmektedir. Çünkü bu sinapsların Mg^{+2} blokajını aşmak için gereken AMPA kaynaklı eksitatorik postsinaptik pozitif akımları bulunmamaktadır. Bu durum, sessiz sinapslardaki LTP’nin Roberto Malinow’un (2004) ifadesiyle “AMPAfikasyon” işlemi içermesi gerektiğini göstermektedir [111]. AMPAfikasyon tabiri, normalde AMPA reseptöründen yoksun olan postsinaptik membrana, sinaptik havuzda bulunan AMPA reseptör veziküllerinin ya da yeni üretilen AMPA reseptörlerinin eklenmesi yoluyla membranın “AMPAlandırılması” manasına gelmektedir. Bunun için, aynı postsinaptik nöronun hem sessiz hem de sessiz olmayan sinapslarına LTP ile fazlaca glutamatın salınması gerekmektedir. Bu durum sessiz olmayan sinapslarda büyük sayıda AMPA reseptörlerinin açılmasına neden olarak, büyük çapta bir postsinaptik depolarizasyon doğurur. Oluşan depolarizasyon nöron boyunca yayılarak hem sessiz hem de sessiz olmayan sinapslardaki NMDA reseptörlerinin Mg^{+2} blokajının kalkmasına neden olur. Böylece sessiz sinapslarda NMDA reseptörü aracılığıyla postsinaptik hücreye giren Ca^{+2} , endozomal geri dönüşüm veziküllerinde depolanan intraselüler reseptör havuzundan, postsinaptik membrana AMPA reseptörlerinin katılımına neden olur. Bu reseptörlerin plazma membranı ile kaynaşması, endozomal AMPA reseptörlerinin sitoplazmik kuyruklarının PKC tarafından fosforilasyonu ile tetiklenir (Şekil 2.5) [31].



Şekil 2.4. Schaffer Kollaterallerinde (A) normal sinaptik iletim, (B) LTP'nin indüklenmesi ve (C) LTP'nin ekspresyonu (E.R. Kandel ve ekibinin 2013 basımı "*Principles of Neural Science*" kitabının 67. Bölümünde 1495. Sayfadaki "Figür 67-4" den alınarak Türkçeleştirilmiştir) [31]



Şekil 2.5. Sessiz sinapslarda AMPAfikasyon mekanizması ve LTP (E.R. Kandel ve ekibinin 2013 basımı “*Principles of Neural Science*” kitabının 67. Bölümünde 1496. Sayfasındaki “Figür 67-5 C”den alınarak Türkçeleştirilmiştir) [31]

Schaffer kollaterallerinde LTP, Hebbian öğrenme kurallarına uygunluk gösterir. Bu yolaktaki LTP, “kooperativite” olarak adlandırılan, çok sayıdaki afferent aksonun hemen hemen aynı anda meydana gelen aktivasyonunu gerektirir. Bu gereklilik daha önce de bahsedilen NMDA reseptörünün voltaja duyarlı olarak Mg^{+2} blokajından kurtulması için büyük bir depolarizasyona ihtiyaç duymasından kaynaklanmaktadır. Diğer bir önemli özelliği, bu yolaktaki LTP’nin “birleşimci” olmasıdır. Normalde zayıf olan girdi postsinaptik depolarizasyon üretmek için yetersiz kalacakken, bu özellik ile zayıf girdi, güçlü girdi ile eşleştirilerek ya da birlikte aktifleştirilerek postsinaptik membranda eşik üstü depolarizasyon üretilebilmesine neden olur. LTP’nin üçüncü kilit özelliği ise sinaps “spesifikliğidir”. Belirli bir sinaps güçlü bir sinaptik stimülasyon periyodu boyunca aktive edilmezse, o bölgedeki NMDA reseptörleri glutamata bağlayamaz ve böylece güçlü postsinaptik depolarizasyona rağmen aktive edilemez. Sonuçta bu sinaps LTP’ye katılmaz. LTP’nin bu üç önemli özelliği öğrenme ve bellek oluşumunun anahtar düzenleyicileridir [31, 112].

Hipokampal LTP; Kısa-dönem Güçlendirme, Erken-LTP (E-LTP) ve Geç-LTP (L-LTP) olmak üzere 3 aşamadan oluşur. Kısa-dönem güçlendirme ve E-LTP, kısa sürelidir ve hücrede hali hazırda var olan proteinlerin düzenlenmesi ile alakalıdır. Bu aşamada protein sentezine, cAMP (siklik Adenozin Monofosfat) ya da PKA aktivasyonuna gerek yoktur. L-

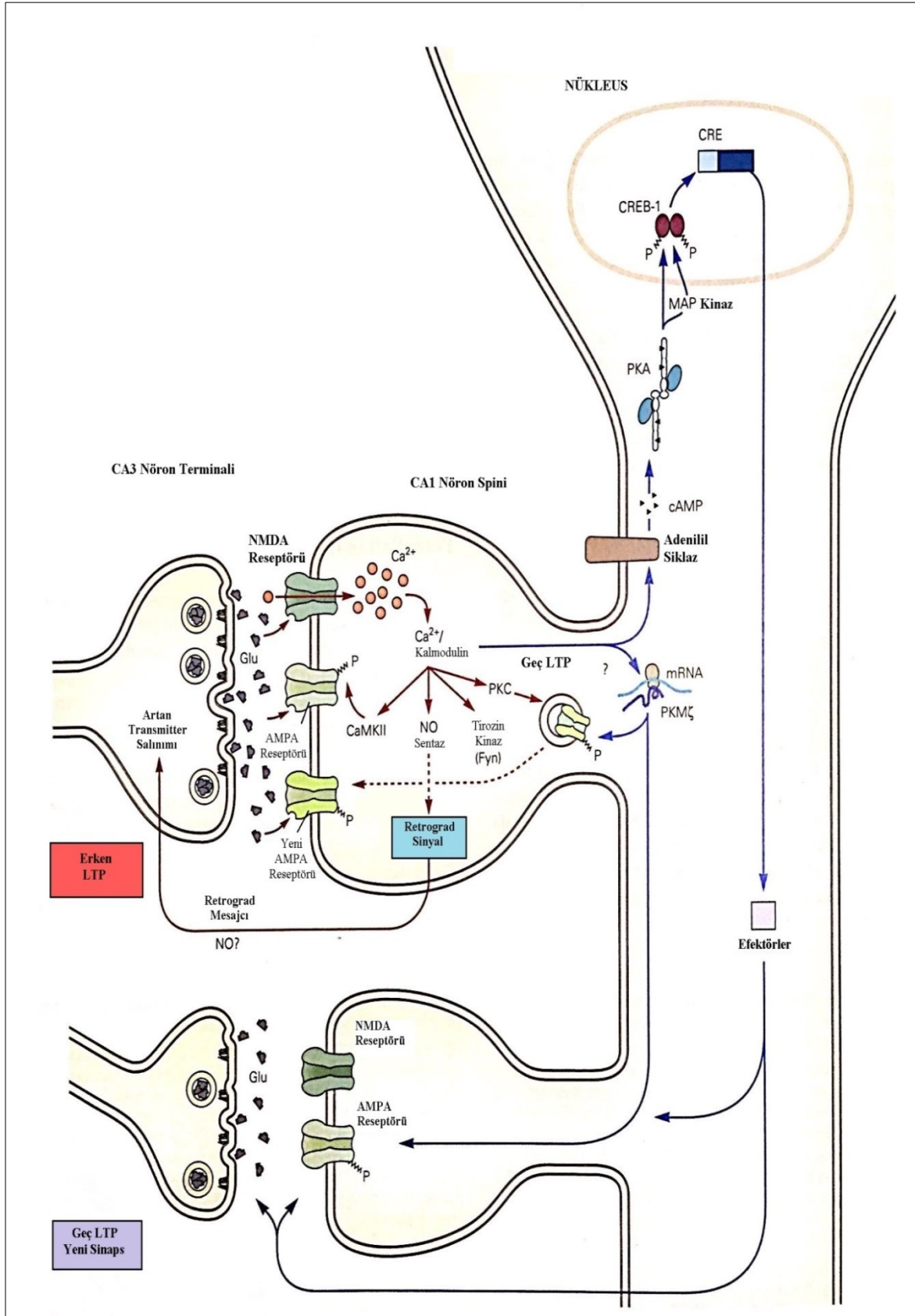
LTP ise yeni transkripsiyon faktörlerinin sentezini, yeni gen ekspresyonunu ve yeni protein sentezini gerektirir ve saatler, günler hatta haftalar boyunca etkisini sürdürebilir [113]. L-LTP'nin indüklenmesinin sonucunda PKA, Mitojen-ilişkili Protein Kinaz (MAPK), Ekstraselüler Sinyal İlişkili Protein Kinaz (ERK) gibi biyokimyasal yolların ve cAMP/Kalsiyum Cevaplı Element Bağlayıcı Protein (CREB) gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu ile sinapsların fonksiyonunda ve/veya yapısında değişiklikler meydana gelir [2].

Mossy fiber ve Schaffer kollateralleri yollarında E-LTP'nin mekanizmaları farklı seyretmesine rağmen, L-LTP oldukça benzer şekilde ilerler. Bahsedilen iki yolda da L-LTP'de, cAMP ve PKA sinyal yollarına ve yeni proteinlerin sentezini yöneten CREB transkripsiyon faktörüne gereksinim vardır. Esasen L-LTP'nin devamlılığını sağlayan anahtar molekül, 1993 yılında Todd Sacktor ve ekibi tarafından keşfedilen bir PKC izoformudur [114]. Protein Kinaz M ζ (PKM ζ) olarak isimlendirilen bu kinaz, diğer PKC moleküllerinden farklı özelliklere sahip olup, atipik bir yapı sergilemektedir. PKC'nin çoğu izoformu 2 domainden oluşur: katalitik domain ve regülatör domain. Regülatör domain normalde katalitik domainin aktif bölgesine bağlanarak onu inhibe eder ve böylece katalitik bölgedeki fosforilaz enziminin çalışmasını düzenler. Diaçil gliserol (DAG), fosfolipidler ve Ca⁺²'un regülatör domaine bağlanması, regülatör domainin katalitik domain üzerindeki inhibisyonunun kalkmasına sebep olarak, fosforilaz enziminin serbest hale gelmesini sağlar ve böylece substrat proteinleriyle etkileşim kurabilir. PKC proteinlerinin bu genel yapısına karşın PKM ζ molekülünün regülatör domaini bulunmamaktadır. Bu, proteinin üretildiği andan itibaren hücrede hep aktif formda bulunduğu manasına gelmektedir [115]. Hipokampal dilimlerde elektrofizyolojik uyarım sonrası, PKM ζ ekspresyonu postsinaptik olarak artmaktadır [116]. PKM ζ 'nin inhibisyonu E-LTP'yi etkilemezken, L-LTP'yi bloke eder. Hatta LTP indüklendikten birkaç saat sonrasında PKM ζ blokerının verilmesi, kurulmuş olan L-LTP'nin geri döndürülmesine neden olmaktadır [31]. PKM ζ postsinaptik membranda özellikle AMPA reseptör trafiğini düzenlemekte olup, L-LTP ile aşırı ekspresyonu, protein sentezi inhibitörleri verilse dahi bozulmamaktadır. Kısacası bu anahtar molekülün protein sentezinden bağımsız bir davranış sergilediği görülmektedir [117].

Özellikle yoğun bir şekilde çalışılmış ve hemen hemen pek çok noktası aydınlatılmış olan CA3-CA1 sinapslarındaki LTP sürecinde, presinaptik ve postsinaptik nöronlarda meydana

gelen olaylar şu şekilde sıralanabilir. Öncelikle presinaptik nöron depolarizasyonunu sağlayan fasilitatör serotonerjik üçüncü nöronun etkisinden bahsetmemiz gerekir. Fasilitatör nörondan salınan serotonin (5-Hidroksitriptofan; 5-HT), presinaptik metabotropik Gq protein bağlantılı 5-HT reseptörlerini aktive ederek PLC oluşumunu tetikler. PLC, membran fosfolipidlerinden DAG oluşumu uyarır. DAG molekülü PKC aktivasyonunu gerçekleştirir. PKC ise rezerve transmitter havuzundaki veziküllerin presinaptik membrana transloke olmasını ve füzyonunu uyararak presinaptik membrandan salınan glutamat miktarını artırır. Fasilite edici serotonerjik nöronun presinaptik membran üzerinde başka bir metabotropik reseptörü daha bulunmaktadır. Gs protein bağlı bu reseptör, adenilat siklaz enzim aktivasyonunu gerçekleştirerek cAMP üretimini artırır. cAMP, PKA'nın regülasyon bölgesine bağlanarak katalitör bölgesinin aktive olmasını sağlar. Aktive olan PKA, rezerve transmitter havuzuna yeni veziküllerin eklenmesini ve membrana translokasyonunu uyarmasının yanı sıra presinaptik K^+ kanalını fosforile ederek hücre içi pozitif yük miktarının artmasını da sağlar. Böylece voltaja duyarlı Ca^{+2} kanalının açık kalmasını teşvik ederek, veziküllerin membrana translokasyonunu sağlayan presinaptik Ca^{+2} konsantrasyonunu artırır. Fasilitatör serotonerjik nöron uyarımının uzun süreli olması durumunda PKA, MAPK sentezini uyarır ve bu iki molekül nükleusa taşınarak CREB-1 transkripsiyon faktörünün çalışmasını engelleyen CREB-2 proteinini fosforile ederek CREB-1 aktivasyonunu sağlar. Aktive olan CREB-1, hem cAMP yanıtı element (cAMP response element; CRE) geninin hem de Immediate Early Gen (IEG)'lerin transkripsiyonunu uyarır. IEG transkripsiyonu ile Ubiquitin hidrolaz enzim aktivasyonu gerçekleşir. Bu enzim PKA'nın regülasyon altbiriminin degrade olmasına neden olarak, PKA'nın kalıcı olarak aktive olmasını sağlar. Bu durum K^+ kanallarını uzun süre inaktive ederek, presinaptik depolarizasyonun daha uzun süremesini, presinaptik hücreye daha fazla Ca^{+2} girmesini ve daha fazla nörotransmitter salınmasını tetikler. Ayrıca IEG'ler, bazı geç genlerin aktivasyonunu uyuracak CAAT (sitozin-adenin-adenin-timidin) promotoruna bağlanan CAAT-arttırıcı-bağlayıcı proteinlerinin (CAAT-enhancer-binding proteins; C/EBP) ekspresyonunu gerçekleştirerek yeni presinaptik terminallerin büyümesini, yani sinaptogenezi sağlayan proteinlerin oluşumunu uyarır. (Şekil 2.6)

Presinaptik nöronda bu değişimler meydana gelirken, salınan glutamat nörotransmitterleri postsinaptik membrandaki AMPA ve NMDA reseptörlerine bağlanır. NMDA reseptörünün aktifleşmesi için sadece glutamat molekülünün bağlanması yetmediğini, postsinaptik membran potansiyelinin artmasına da ihtiyacı olduğundan daha önce bahsetmiştik. Reseptörün bu voltaja duyarlı özelliğinden dolayı glutamat öncelikli olarak AMPA reseptörlerini aktive ederek, hücre içi Na^+ derişimini artırır ve böylece membran voltajı NMDA reseptörlerinin aktive olabileceği düzeye gelir. E-LTP’de bu postsinaptik NMDA reseptörlerinin aktivasyonu ile hücre içerisine giren Ca^{+2} iyonları Kalmodulin (Calmodulin) ile kompleks oluşturur. Oluşturulan kompleks CaMKII kinazını aktive eder. CaMKII molekülü postsinaptik hücrede çoklu yanıtları tetiklemektedir. Memrandaki AMPA reseptörlerinin açık kalma süresini artırır, PKC’yi aktive ederek rezervuar AMPA reseptörlerinin membrana transloke olmasını ve böylece membran AMPA reseptör miktarının artmasını sağlar. NO sentaz enzimini aktive ederek NO (nitrik oksit) gazı üretimini uyarır. NO gazının buradaki etkisi henüz kesinleşmemiş olmakla beraber bir Retrograd sinyal olarak hareket edip presinaptik hücreden salınan nörotransmitter miktarını arttırdığı düşünülmektedir. L-LTP’de ise oluşturulan Ca^{+2} /Kalmodulin kompleksi, henüz tam olarak bilinmeyen bazı aracı molekülleri devreye sokarak PKM ζ translayonunu gerçekleştirir. PKM ζ hem var olan sinaps için yeni AMPA reseptör veziküllerinin oluşumunu uyarır hem de yeni oluşturulan postsinaptik membrana AMPA reseptörlerinin translokasyonunu sağlar. Ca^{+2} /Kalmodulin ayrıca adenilat siklazı aktive edip, cAMP üretimini arttırarak PKA ve MAPK üretimini uyarır. Bu proteinler nükleusa taşınarak CREB-1’i fosforile eder. CREB-1 CRE gen transkripsiyonunu aktive ederek yeni sinaps oluşumu için gereken efektör proteinlerin üretimini sağlar. (Şekil 2.7) Bu bahsedilen pre ve postsinaptik değişimler sonucu hem var olan sinapsların kuvvetlendirilmesi hem de yeni sinapsların oluşturulması gerçekleşir. Tüm bu hücrel moleküler değişimler bir bilginin öğrenilmesi sırasında o bilgi ile ilişkili nöron havuzundaki hücreler arasında meydana gelir. Böylece öğrenilen bilgi ile ilişkili herhangi bir uyarın tüm nöron havuzunu devreye sokabilir. Kısacası “hatırlamak” dediğimiz olayın temelinde bu süreç yatmaktadır. Ayrıca hayat boyu belleğimize kodladığımız her yeni bilgi, bu şekilde yeni bağlantılar oluşturmak suretiyle önceki bilgilerle ilişkilendirilerek, bellek oluşturulur [31, 106].



Şekil 2.7. E-LTP ve L-LTP boyunca postsinaptik nöronda meydana gelen değişimler (E.R. Kandel ve ekibinin 2013 basımı “*Principles of Neural Science*” kitabının 67. Bölümünde 1502. Sayfadaki “Figür 67-9”dan alınarak Türkçeleştirilmiştir) [31]

LTD

Erik R. Kandel'in kitabında (2013) da belirttiği üzere, sinaptik bağlantılar sadece güçlendirilir ve asla zayıflatılmazsa, sinaptik iletim hızla doyum noktasına ulaşır. Yani sinaptik bağlantının gücü, daha fazla geliştirmenin mümkün olmadığı bir noktaya gelir. Ancak bilindiği gibi bireyler yeni anıları bir ömür boyu öğrenebilir ve depolayabilirler. Kandel'in paradoks olarak tanımladığı bu durum, nöronların LTP'ye karşı koymak için sinaptik fonksiyonu ters yönde düzenleyecek mekanizmalara da sahip olması gerektiğini ileri sürer [31]. Uzun-sürelili depresyon (Long-term Depression; LTD) olarak literatürde kendisine yer bulan bu inhibisyon mekanizmasının, ilk kez serebellumda keşfedilmesinden bu yana hipokampus içerisindeki bir dizi yolakta da varlığı ortaya koyulmuştur. Esasen in vitro olarak hipokampüste LTD'nin gösterilmesi, 1976 yılında Alger ve Teyler tarafından yapılmıştır [118]. Onlar hipokampal dilim preparatlarında gerçekleştirdikleri bu çalışmada, perforant yolun düşük frekanslı monosinaptik uyarımının, LTD meydana getirdiğini bulmuşlardır [118]. LTP tipik olarak kısa süreli ve yüksek frekanslı stimülasyon (High-Frequency Stimulation; HFS) ile tetiklenirken, LTD uzun süreli ve düşük frekanslı stimülasyon (Low-Frequency Stimulation; LFS) aracılığıyla tetiklenmektedir [31]. Başlangıçta yapılan in vitro çalışmalar, LTD'nin anıları "unutma"ya hizmet ettiğini ya da LTP'yi "kapatmaya yarayan" bir mekanizma olduğunu, kısacası LTP ve LTD'nin antagonistik iki mekanizma olduğunu ileri sürmüştür [119]. Fakat sonrasında bu iki mekanizmanın birbirinin antagonistiği olmadığı, aksine farklı moleküler mekanizmalar ve süreçlerle ilişkili olduğu ve sinapslarda farklı morfolometrik değişikliklerle sonuçlandığı anlaşılmıştır [102, 120].

Hipokampal LTD'nin elektriksel ve kimyasal olarak indüklenebilen formları, homosinaptik ve heterosinaptik formları ve NMDA reseptör bağımlı ve bağımsız formları olmak üzere pek çok farklı alt türü bulunmaktadır [112]. Yukarıda da bahsedildiği gibi elektriksel olarak indüklenen LTD, 1 ila 3 Hz aralığında LFS ile tetiklenir ve etkisi ani olup, in vivo olarak günler hatta haftalarca sürebilir [121]. Hipokampal CA1 bölgesinde bu tip LTD homosinaptik olup, NMDA reseptörlerine ve protein sentezine bağımlıyken, dentat girusta NMDA reseptörlerinden ve protein sentezinden bağımsız, homosinaptik ve heterosinaptik formlardadır. Kimyasal olarak indüklenen LTD, genellikle metabotropik glutamat reseptörlerinin (mGluR) aktivasyonu ile tetiklenir [112].

Hebbian öğrenme kuralına göre, bir hücrenin aksiyon potansiyeli üretmesine yani ateşlenmesine katkıda bulunmayan sinapslar zayıflar. Sinapsların zayıflamasında yani LTD mekanizmasında, tıpkı LTD gibi bir dizi moleküler düzenleme meydana gelir. LTP gibi LTD'nin bazı formlarının meydana gelmesinde de postsinaptik glutamaterjik NMDA reseptörleri rol oynar. NMDA reseptör aktivasyonunun hem güçlendirme mekanizmasında hem de depresyon mekanizmasında rol alıyor olması ilginç gibi gözükse de bu çift yönlü etkiyi yaratmasının altında yatan molekül Ca^{+2} iyonudur. Çünkü hem LTP hem de LTD'nin indüklenmesi için, NMDA reseptörü vasıtasıyla postsinaptik hücreye Ca^{+2} girişi esastır. NMDA reseptörünün Ca^{+2} geçirgenliği kısa süreli olmasına rağmen, eğer LTP'yi tetikleyen tetanik uyarım (diğer bir deyişle HFS) yeteri kadar yüksek frekanslı olursa, reseptör tekrar tekrar aktive edilebilir. Hücre içerisindeki konsantrasyonu artan Ca^{+2} , Kalsiyum-Kalmodulin-Bağımlı Protein Kinaz II (CaMKII) gibi Ca^{+2} bağımlı enzimleri aktive eder [122]. LTP'yi indükleyen HFS ile kıyaslandığında LTD'yi indükleyen LFS, nispeten daha ılımlı bir postsinaptik depolarizasyon üretir ve bu nedenle NMDA reseptörlerinin Mg^{+2} blokajını hafifletmede çok daha az etkilidir. Sonuç olarak postsinaptik Ca^{+2} konsantrasyonundaki artış, LTP'nin indüksiyonu sırasında gözlemlenenden çok daha düşüktür. Bu düşük konsantrasyondaki Ca^{+2} 'un, CaMKII proteinini aktive etmek için yetersiz kaldığı düşünülmektedir. Bunun yerine LTD'nin, CaMKII'ye kıyasla Ca^{+2} için daha yüksek affiniteye sahip bir enzim kompleksi olan “Kalsiyum-Bağımlı Fosfataz Kalsinörin (Calcineurin)” aktivasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Aktive olan Kalsinörin, AMPA reseptör GluR1 altbirimi dâhil olmak üzere hücre içi bazı proteinleri defosforile eden diğer fosfatazları aktive eden bir sinyal kaskadını tetikler [123]. Ayrıca LTD, PKC tarafından GluR2 altbiriminin fosforilasyonunu artırır. GluR1'in defosforilasyonu ile GluR2'nin fosforilasyonu AMPA reseptörlerinin endositozunu tetikleyerek, postsinaptik membrandaki reseptör sayısını azaltır ve böylece EPSP'lerin amplitüdünü düşürür. Metabotropik glutamat reseptörlerince düzenlenen LTD formlarında fosfatazların aktivasyonu gerekli değildir. Bu LTD formları, Mitojen ile Aktifleşen Protein (MAP) Kinaz (MAPK) sinyal yollarına bağlı olup, presinaptik terminallerden salınan glutamat miktarını azaltarak, dolaylı yoldan postsinaptik membrandaki AMPA reseptör trafiğini değiştirir [31].

LTD'nin davranış üzerindeki etkileri nasıldır diye soracak olursak, bunun için 2008 yılında R. E. Nicholls ve ekibinin gerçekleştirdiği çalışmayı inceleyebiliriz [124]. Ekip, özellikle NMDA reseptör bağımlı LTD mekanizmasında bozukluklar sergileyen transgenik fareler

üzerinde çalışmıştır. Transgenik farelerde transgenik genin ekspresyonu, bu LTD mekanizmasında bozukluk yaratmasına rağmen LTP'nin işleyişine ya da mGluR reseptörlerince düzenlenen LTD'nin işleyişine olumlu ya da olumsuz bir etkisi bulunmamaktadır. Transgenik fareler ilk kez Morris Su Tankı deneyine tabi tutulduklarında, kontrol grubu fareler gibi normal öğrenme davranışı sergilemişlerdir. Deneyin ilginç olan tarafı, gizli platformun lokasyonunu değiştirerek yeni bir konuma aldıktan sonra, Morris Su Tankı deneyinin fareler üzerinde tekrarlanması sonucunda meydana gelmiştir. Transgenik fareler gizli platformun yerini öğrenmede güçlük çekmiş ve sürekli eski öğrendikleri konumunun yakınlarında platformu aramaya devam etmişlerdir [31]. Dolayısıyla LTD'nin, eski öğrenilmiş bilgileri güncelleme veya önceden hatalı öğrenilmiş bir bilginin doğrusunu öğrenme şeklindeki süreçlerde hayati rol oynadığını ve böylece hafızaya “elastikiyet” kazandırdığını söyleyebiliriz.

Hipokampal nörojeniz

Steven Rose'un (2018) ifade ettiği şekliyle; *“Bütün canlı formlar için yaşam süreçlerinin her anı, olan (being) ve oluş (becoming) arasındaki ilişki olarak geçer; olan şey var oluşuyla eş zamanlı olarak kendini farklı bir şeye dönüştürür. Bu gerçekten de bir uçağı uçarken yeniden inşa etmeye benzemektedir. Ve biz bunu bütün hayatımız boyunca sürekli yaparız –yalnızca bebekler değil erişkinler de, yalnızca insanlar değil fareler, meyve sinekleri, meşe ağacı ve mantarlar da. Canlıların kendilerini sürekli olarak yeniden yaratmalarından söz etmemin nedeni tam da bu durumla ilgili. Bu süreç bir kendi kendine yaratmadır, otopoezis (autopoiesis), ya da (zaman zaman adlandırıldığı gibi) gelişimsel sistem teorisi.”* canlılar, adeta “bir uçağı uçarken yeniden inşa eder gibi” yaşadıkları her deneyimle nöronlarında değişiklikler meydana getirirler [125]. Bu değişimler öncelikle yukarıda anlatılan sinaptik plastisite ile sinapslarda meydana gelir. LTP mekanizması ile var olan sinapsların etkisinin kuvvetlendirilmesinin yanı sıra, devreye giren “Immediate Early Genler” (IEG) vasıtasıyla yeni sinapslar oluşturmak için gerekli olan proteinlerin sentezi yapılır. Böylece nöronlar arasında yeni sinaps oluşumları yani “sinaptogenez” meydana gelir.

Son yıllarda insan ve hayvan beyinde yapılan çalışmalar, yaygın kanının aksine yetişkin bireyin bazı beyin bölgelerinde (hipokampal dentat girus, bulbus olfactorius ve periventriküler alanlar) hala proliferasyon yeteneğine sahip, farklılaşabilen ve beyin farklı

lokasyonlarına migrasyon yapabilen nöral kök hücrelerinin (nöroprojenitör hücreler) varlığını ortaya koymuştur [106]. Esasen normal yetişkin beyinde nörogenez için ilk kanıtlar bundan uzun zaman önce, 60'lı yıllarda Joseph Altman ve meslektaşları tarafından yayınlanmıştır [126-130]. Dentat girus, yetişkin nörogenezinin yaygın olarak kabul edildiği iki beyin bölgesinden birisi olup, buradaki yeni nöron oluşturma sürecindeki temel adımlar yapılan pek çok çalışmayla büyük oranda aydınlatılmıştır. Dentat girusta oluşturulan yeni hücreler, dentat girusun kendisinde bulunan progenitör veya prekürsör hücrelerden orijin alır. Bu hücreler kendilerini oluşturan kök hücrelerden daha sınırlı olsa da proliferasyon kapasitesine sahiptirler. Progenitör hücreler bazı astroglia hücre özelliklerine sahiptir ve temel olarak granül hücre tabakası ile hilus arasındaki subgranüler bölgede yoğunlaşmaktadırlar. Aslında subgranüler bölge bir tabaka olmaktan ziyade, granül hücre tabakasının derin kısmını kaplayan, sporadik bir yapı gösteren progenitör hücre kümeleridir. Bu bölgedeki hücreler muhtemelen asimetrik olarak bölünerek hem yeni progenitör hücre havuzuna katılacak hücreleri hem de nöron veya glia haline gelecek hücreleri oluştururlar. Nöron ya da glia olacak yeni hücreler, kısa mesafe katederek granül hücre tabakasına taşınıp, burada farklılaşırlar [10].

Nörogenezi olumlu ya da olumsuz etkileyen pek çok faktör bulunmaktadır. Bunların arasında endokrin sistem elemanlarının ve bazı davranışsal fonksiyonların rolü büyüktür. Örneğin vücutta stres yatınıtını tetikleyen steroid bir hormon olan glukokortikoidler, dentat girus granül hücre prekürsörlerinin proliferasyonunu azaltarak nörogenezi olumsuz yönde etkiler [131]. Ancak yaşanan psikolojik stresin nörogenez üzerindeki etkisi değişken kabul edilmektedir. Düşük miktarda psikolojik stres yaşamak ya da kısa süreli strese maruz kalmak nörogenezi arttırıcı yönde etki yaparken, strese maruz kalınan sürenin artmış olması yani kronik stres ve yoğun psikolojik stres hem öğrenmeyi hem de nörogenezi olumsuz yönde etkilemektedir. Çünkü kronik stres durumunda Interlökin-6 (IL-6) ve Tümör Nekrozis Faktör- α (TNF- α) gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımı artarak, hipokampal hücreler üzerinde olumsuz etki yaratırlar [106]. Buna ek olarak, prenatal dönemde yaşanan stresin granül hücrelerinin sonrasındaki üretimini kalıcı olarak etkilediği sıçanlarda ve maymunlarda gösterilmiş ve hatta bu kalıcı olumsuz etkinin geç çocukluk dönemi ile yetişkinlik dönemine kadar tesir ettiği gözlemlenmiştir [10]. Bir diğer steroid hormon olan östrojen ise önce yeni hücre üretimini geçici olarak arttırmakta fakat sonrasında bu etkisini kaybederek nöronal hayatta kalmayı arttıracak şekilde etki gösterip nörogenezi olumlu yönde etkilemektedir [132]. Canlının yaşadığı çevrenin kompleks

olması diğerk bir deyişle zenginleştirilmiş bir çevrede yaşamak hem öğrenmeyi kolaylaştırır hem de nörogenezi artırır. Ayrıca aktif bir yaşam tarzı benimseyip, düzenli olarak aşırı olmayan aerobik egzersiz yapıyor olmak da nörogenez üzerine pozitif etki göstermektedir [133].

Embriyonik dönemden insan ömrünün sonuna kadar nöronların sağlıklı ve işlevsel olabilmesi yani, aksonlarının doğru istikamette ilerleyip doğru hedefe yönelmesi ve doğru nöronlarla sinapslar yapabilmesi için, beynimiz ardı ardına gelen bir takımlar eylemler bütününi uygulamaktadır. Öncelikle bu durum; aksonun hedef bölgeye bağlanabilmesi için bazı “büyüme faktörleri”ne (growth factor), akson ve dendritlerin yolunu bulmasını kolaylaştıracak “Semaphorin”ler gibi işaret moleküllerine (guidance cues), nöronları yakalayarak doğru yolda ilerleyip başarıya ulaşmasını sağlayan “hücre adezyon molekülleri”ne (Cell Adhesion Molecules; CAM) ve hatta belki de henüz tespit edilememiş diğerk birçok etkene bağlıdır. Oldukça geniş bir aileye sahip olan büyüme faktörlerinin başlıcaları; Sinir Büyüme Faktörü (Nerve Growth Factor; NGF), Beyin Kökenli Nörotrofik Faktör (Brain Derived Neurotrophic Factor; BDNF), Nörotropinler (Neurotrophin-3; NT3, NT4/5, NT6), İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (Insulin Like Growth Factor, IGF) Glial Hücre Kökenli Nörotropik Faktör (Glial Cell Derived Neurotrophic Factor; GDNF)’dür. Nöronal proliferasyonu ve sinaptogenezi destekleyen ve hücre sağ kalımını sağlayan bu büyüme faktörlerinin etkileri, ileride “Nörotrofik Faktörler” başlığı altında daha detaylı anlatılacaktır [106].

2.1.3. Hipokampal fonksiyonlar

Hipokampüsün hafızadaki rolünün göz alıcı keşfi, bundan yaklaşık 60 yıl önce medial temporal lob epilepsisine sahip olan ve ameliyatla epileptik bölgesi alındıktan sonra hafıza defisitleri yaşayan H.M. kod adlı ünlü hastanın vakasıyla gerçekleşmiştir. Bu keşiften günümüze hipokampüsteki piramidal hücreler, beyinde en çok çalışılan nöronal yapılardan biri olmuştur. Gerçekleştirilen bu çalışmalar sayesinde, hipokampüsün gelişimini, sinaptogenezi, nörotransmitter reseptörlerini ve iyon kanallarını, mikro döngüsünü ve biyolojik hücre yapısını anlamak adına önemli ilerlemeler kat edilmiştir [10].

Hipokampüs yüzyıllar boyunca, koku almadan motor fonksiyonlara, inatçılık ve yaratıcılığa kadar pek çok fonksiyon ile ilişkilendirilmiştir. 1930'lara kadar hipokampal

formasyon gelişiminin beyindeki koku bölgeleriyle paralel olması ve lateral olfaktör yoldan gelen liflerin hipokampal formasyonun etrafından geçiyor olması nedeniyle, nöroanatomistlerce olfaktör sistemin bir parçası olarak kabul ediliyordu. Fakat günümüzde koku soğanından gelen liflerin direkt olarak hipokampusün hiçbir bölgesini innerve etmediği ortaya koyulmuş ve geçmişte hipokampüse atfedilen pek çok bulgunun bu alanla ilişkili olmayabileceği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir [10].

Hipokampusün hafızadaki önemli rolünün yanı sıra James W. Papez, 1937 yılında hipokampusün emosyonun anatomik yapısını destekleyen “Papez Döngüsü”nün bir parçası olduğunu nöroanatomik çalışmalarıyla ortaya koymuştur. 1938 yılının erken dönemlerinde ise Richard Jung ve Alois Kornmüller tavşanlar üzerinde yaptıkları neokortikal EEG (Elektroensefalografi) deneylerinde, temporal bölgede yüksek amplitüdlü desenkronizasyonlar gözlemlemiş ve bu sinüzoidal dalga paternini “teta” aktivitesi olarak adlandırmışlardır. Sonrasında yapılan çalışmalarla bu teta dalgalarının genel dikkat kontrolü ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur [10].

Hipokampusün diğer bir dikkat çekici özelliği ise bilişsel harita teorisiyle ilişkilidir. Laboratuvar hayvanlarının hipokampusünde tek-nöron aktivitesini izleyen mikro-elektrotların implantasyonu kullanılarak yapılan deneylerde, hipokampusün uzaysal hafızadaki rolü gösterilmiştir. Buna göre hayvanlar bildik çevrelerindeyken hipokampus onların uygun konumlanmalarına olanak tanımaktadır. Lynn Nadel, John O’Keefe ve Abe Black (1975), hipokampal lezyonları olan sıçanlarda kaçınarak öğrenmede problem olduğunu ve bu problemin sadece sakınmaları gereken bölgede belirgin bir obje ya da ipucu yokken meydana geldiğini gözlemlemişlerdir [134].

Uzun yıllardır periferik ve merkezi sinir sistemine ait nöronların, özellikle de merkezi nöronların, bölünme yeteneklerinin olmadığı ve bunun sonucunda proliferasyon yapamadıkları düşünülüyordu. Bu durum büyük oranda doğru kabul edilse de son yıllarda bazı istisnalar olduğu anlaşılmıştır. Hipokampusün dentat granül hücreleri bu istisnalardan birisidir. Çünkü bu hücreler yaşam boyunca çoğalabilir özelliktedir ve bu sayede hipokampus yetişkin nörogenezinde de önemli bir yer edinmektedir.

Hipokampus, öğrenme ve hafıza

Evinizden çıktığınızı hayal edin. Köşeyi dönüyorsunuz ve ilerlemeye devam ediyorsunuz. Karşınıza bir park çıkıyor. Parka giriyorsunuz banklardan birisine oturuyorsunuz. Etrafta pek çok insan konuşuyor, gülüşüyor ve oyunlar oynuyor. Onları izliyorsunuz. Derken yanınıza birisi gelip oturuyor. Çok sevimli olduğunu düşündüğünüz bir köpeği var. Köpeği seviyorsunuz ve yanınızdaki kişiyle hoş bir sohbete başlıyorsunuz. Birkaç dakika sonra yanınızdaki kişi sevimli köpeğini de alarak gezintisine devam etmek için yanınızdan kalkıyor. Böyle hoş ambiyanslı bir an'ı yaşadığınızı hayal edin. Derken bir an sonra bu ambiyansa dair hiçbir şey hatırlayamayacağınız bir an'ı. Sanki az önce kayda değer hiçbir şey yaşamadınız. Herşey uçtu gitti. İşte hipokampusün lezyonları bu şekilde “saf” olarak adlandırılan hafıza kayıpları yaşamınıza neden olur. Hasta H.M. de nispeten böyle bir saf bellek kaybı yaşamıştır. Onun yaşadığı bu durum literatürde “anterograd amnezi” olarak geçmektedir. Örneğimizdeki gibi, H.M.’nin zihinsel becerileri ve sözel belleği normal kalmıştır. Arka arkaya sıralanmış yedi numarayı düz bir şekilde ve beş numarayı da tersten tekrarlayabilmiş, konuşmalara katılabilmiş, cümleleri yeniden yapılandırabilmiş, zihninden hesaplar yapabilmıştır. H.M.’nin bu durumu, uzun süredir günlük hayatının akışını zorlaştıran, hayat kalitesini düşüren medial temporal lob epilepsisinden kurtulmak için 1953 yılında henüz 27 yaşındayken geçirdiği lobektomi ameliyatından sonra başlamıştır. H.M. beyin ameliyatından önceki birkaç yıl içinde gerçekleşen olayları hatırlayamazken, daha eski anıları çok net hatırlayabilmiş ve ayrıca ameliyat sonrasında herhangi bir kişilik değişimi de yaşamamıştır. Epileptik nöbetleri sakinleşen H.M.’nin yaşadığı sorun, ameliyat sonrasında yeni hiçbir şey öğrenememek olmuştur. Ameliyattan sonra tanıştığı insanların ne isimlerini hatırlayabilmiş ne de tanıyabilmiştir. Ameliyat sonrası ailesi yeni bir eve taşınmış ancak H.M. yeni komşularını asla öğrenememiştir. Ebeveynlerinin ölümünden sonra bir bakım evine yerleşmiş ve 2 Aralık 2008’de 82 yaşında hayatını kaybetmiştir. H.M. hastalığının farkında olup, hastalığıyla ilgili sık sık şunları dile getirmiştir:

“Her gün kendimle kaldım, yalnız yaşadım, zevk ve acı veren her neyse hepsini kendi başıma yaşadım... Şimdi merak ediyorum. Yaşadığım ya da yaptığım her şey kayboldu mu? Şu anda olan herşey bana çok açık, net görünüyor ama hemen öncesinde ne oldu? İşte, beni endişelendiren bu. Bir rüyadan uyanır gibi ben sadece hatırlayamıyorum.” [65, 135].

H.M.'nin yaşadığı anterograd amnezilerin sebebi lobektomi ile alınan hipokampus olmuştur. Ameliyatını gerçekleştiren Milner ve ekibi, onun durumunu derinlemesine incelemiş ve şu sonuçlara ulaşmışlardır:

1. Hipokampus ne çalışan belleğin yeridir ne de uzun süreli belleğin geri çağırılması için gereklidir. Çünkü eğer öyle olsaydı H.M., erken dönemindeki yaşantılarını ve olayları hatırlayamazdı, konuşmayı bilemezdi, giyinemezdi ve daha pek çok şeyi yapamazdı.
2. Hipokampus, kısa süreli belleğin yeri değildir. Eğer öyle olsaydı H.M. konuşmayı devam ettiremezdi ve bir kişinin söylediği uzun bir şeyi düşünüp tekrarlayamaz, hatırlayamazdı.
3. Hipokampus, kısa süreli belleği uzun süreli belleğe dönüştürür. Bu sonuç, bellek fonksiyonları hipotezine dayanmaktadır. Kısa süreli bellekteki olaylar, nöronal aktivitelerle korunur ve uzun süreli belleğimiz de nöronların kısmen kalıcı biyokimyasal ya da yapısal değişimlerini barındırır. Bu sonuç, kendisine yeni bilgiler sunulduğu zaman H.M. nin sunulanı anlamasını ve hatırlayabilmesini mantıklı şekilde açıklayıcı niteliktedir [65, 135, 136].

Milner ve ekibinin (1986, 1970), H.M. ile yaptıkları deneylerden çıkardıkları bu yorumlar doğrudur. Hipokampus, kısa süreli belleğin uzun süreli belleğe dönüştürülmesini ve böylece yeni öğrenilen bilgilerin ya da yeni yaşanan olayların uzun süreli olarak kalıcı olmasını sağlayan yerdir. Bu bulgularla paralel olarak insanlarda her iki hemisferdeki hipokampusün tahribi veya CA1 sinirlerinin yapısını ve normal işleyişini bozan Alzheimer Hastalığı ve benzeri hastalık süreçleri, kısa süreli bellekte belirgin bozukluklara neden olmaktadır. Bu ve benzeri hastalıklardan muzdarip kişilerde işleyen bellek ve uzun süreli bellek sağlam olup, hastalar genellikle yaptıkları işlere yoğunlaştıkları sürece bilinçli bellek açısından becerileri yeterlidir. Fakat ilgilerinin çok kısa süre için bile olsa başka bir yere kayması, yapılan ve niyetlenilen şeylere ait bütün belleklerini siler. Bu nedenle, bu kişiler yeni şeyler öğrenebilir ve lezyon öncesi kazandıkları belleklerini korurlar ama yeni uzun süreli bellekler oluşturmazlar [137].

Hipokampusün öğrenme ve hafızadaki rolünü daha iyi anlamak için öncelikle öğrenme ve bellek tiplerini tanımlamamız gerekmektedir.

Öğrenme ve bellek

Özellikle insanlar olmak üzere hayvanlar, davranışlarını deneyimlerine göre değiştirebilme, şekillendirebilme yeteneğine sahiptirler. Öğrenmek, bu yeteneği gerçekleştirebilmek için gereken bilgileri edinmektir. Aslında öğrenmek, yaşantılar yoluyla sinir sistemimizde ve de böylece davranışlarımızda değişiklik meydana getirme sürecidir [137]. Bellek ise basit bir şekilde tanımlayacak olursak edinilen bu bilgileri gereken durumlarda kullanabilmek adına korumak ve depolamaktır. Daha detaylı tanımlarsak bellek ya da hafıza, canlıların hayatı boyunca edinimlerini depolaması ve bilinçli ya da bilinçdışı olarak bu edinimleri anımsamasıdır.

Öğrenmenin; algısal öğrenme, uyarıcı-tepki öğrenmesi, motor öğrenme ve ilişkisel öğrenme şeklinde en az dört temel formu bulunmaktadır. Bunlardan algısal öğrenme en temel öğrenme tipidir. Algısal öğrenmeyi kullanarak önceden idrak ettiğimiz herhangi bir uyarıcıyla tekrar karşılaşma durumumuzda onu tanıyabiliriz. Esasen bu, bizim nesneleri ve olayları tanımlayabilmemize ve kategorize edebilmemize olanak tanır. Biz herhangi bir şeyi tanımayı öğrenemezsek, ona karşı nasıl davranmamız gerektiğini bilemez ve dolayısıyla deneyimlerimizden istifade edemezdik. Algısal öğrenme için duyu organlarımızı kullanırız. Nesnelerin dış görünüşlerini görme duyumuzla, çıkardıkları sesleri işitme duyumuzla, yaydıkları kokuyu koku duyumuzla, yüzey özelliklerini veya titreşimlerini dokunma duyumuzla algılarız. Kısacası algısal öğrenme temelde, duysal çağrışımsal korteksteki değişimlerle ilişkilidir diyebiliriz. Örneğin tanıdığınız bir insanı görmeden sadece sesini duyarak onu ayırt edebilmeniz, korteksteki işitsel bağlantıların değişikliklerini “öğrenmiş” olduğunuzu göstermektedir [65].

Uyarıcı-tepki öğrenmesi esasen, herhangi bir etkiye karşı oluşturulan tepkiyi öğrenme becerisidir. Bu durum savunma refleksleri gibi otomatik tepkiler olabileceği gibi, birkaç hareketin karmaşık bir dizisi de olabilir ve genellikle literatürde “klasik koşullanma” ve “araçsal koşullanma” olarak ikiye ayrılır. Klasik koşullanma, önemli olmayan bir uyarıcının önemli bir uyarıcıya dönüşmesi durumudur. Yani temelde birbiriyle bağlantılı olmayan iki uyarıcı arasında kurulan bağıdır. Bu durumun en bilinen örneği “Pavlov’un köpeği” deneyidir. Nobel ödüllü, fizyolog ve psikolog Ivan Pavlov, sindirim sistemini araştırdığı bir deneyde, mide ve tükürük salgılarının nasıl olduğunu ve nelerden meydana geldiğini anlamaya çalışıyordu. Deney esnasında köpeklerin, yiyecek ağızına

konulduğunda ya da gösterildiğinde salyalarının akması doğal, koşulsuz bir tepkiyken, köpek henüz eti görmeden deneyi yapan kişinin ayak seslerini duyduğunda da aynı güçte salya salgılaması Pavlov'un dikkatini çekmişti. Bunun üzerine Pavlov, deneyine yeni bir yön vererek neden köpeklerin yiyecek verilmeden önce salya salgıladıklarına cevap aramaya başladı ve meşhur deneyini gerçekleştirdi. Deneyinde kullandığı aç bir köpeği ses geçirmeyen bir odaya yerleştirdi ve yiyecek vermeden sadece zil çaldı. Köpek doğal olarak zil sesine karşı salya salgılamak gibi bir tepki göstermedi. Sonrasında Pavlov, zil sesinden hemen sonra köpeğe yiyecek vermeye başladı. Bu durumda köpek yiyeceğe karşı doğal tepki göstererek salya salgılamaya başladı. Pavlov verdiği yiyecekler ile zil sesi arasında köpeğin bağ kurabilmesi için bu iki uyarıyı eş zamanlı olarak uygulamaya başladı. Bu işlem tekrar tekrar yapıldıktan sonra Pavlov, deneyin son aşamasına geçerek, yiyecek vermeden sadece zil çaldığında köpeğin zil sesine karşı salya salgıladığını gözlemledi. Deneyden önce zil sesi hiçbir şekilde iştahla bağlantılanmadığı için salya üretimini tetiklemeyen, deneyden sonra artık temel bir uyarıcı haline gelmişti. Kısacası zil sesi bu deney için koşullu uyarıcı durumundaydı ve koşulsuz uyarıcı olan yiyeceğin görülmesi veya ağıza konulmasıyla eş değerde sonuçlanan koşulsuz tepkiyi, yani salya salgılamayı tetiklemişti.

Klasik koşullanma meydana geldiğinde beyinde ne gibi değişiklikler olur? Öncelikle esas tepkinin oluşturulacağı nöronumuzun A nöronu olduğunu varsayalım. A nöronu tükürük salgısını uyaracak olan nörondur. Doğal bir refleks olarak canlılar yiyeceği gördüklerinde veya kokularını aldıklarında ya da yiyecek ağızlarına konduğunda tükürük salgırlar. Bu tipten bir uyarıcıyı örneğin yiyeceği görme uyarıcısını seçelim ve bu uyarıcının nöronuna B nöronu diyelim. B nöronu normalde A nöronu ile sinapslar yapmakta ve bu sayede tükürük salgısını tetiklemektedir. Bu bağlantıya ilişkisiz bir zil sesi nöronu, C nöronu ekleyelim. Normalde C nöronunun tükürük salgılatan A nöronu ile bir bağı bulunmamaktadır. Fakat Pavlov'un deneyindeki gibi klasik şartlanma ile öğrenmeden sonra artık C nöronu (zil sesi nöronu) ve A nöronu (tükürük salgısını tetikleyen nöron) arasında yeni bir bağ kurulmuştur. Artık A nöronunun uyarılması için sadece B nöronundan gelen bilgiye ihtiyacı yoktur. C nöronundan gelen bilgi de A nöronunun uyarılması için yeterli olmaktadır [138].

Uyarıcı-tepki öğrenmesinin ikinci formu araçsal koşullanmadır ve literatürde sıklıkla edimsel-operant öğrenme olarak da geçmektedir. Klasik koşullanmanın aksine araçsal

koşullanma, türe özgü tipik otomatik tepkilerden ziyade, daha kompleks davranışları kapsamaktadır ve klasik koşullanmaya göre daha esnek bir öğrenme söz konusudur. Yani organizma, davranışlarının sonuçlarına göre davranışlarında ayarlama yapabilir. Örneğin organizma, davranışının sonucunda istenilen olumlu bir durumla karşılaşarsa bu davranışı tekrar yapma olasılığı artmış olacaktır. Tam tersini düşünecek olursak, istenilenin aksine olumsuz bir durumla karşılaşarsa davranışı tekrar sergilemekten kaçınacaktır. Diğer bir deyişle ödül-ceza mekanizmalarını devreye sokan bir öğrenme durumudur. İstenilen olumlu durumla karşılaşmak bir nevi pekiştirici uyarıcı yani “ödüllendirici” olarak görülürken, istenmeyen olumsuz durumla karşılaşmak “cezalandırıcı uyarıcı” olarak kabul edilir. Örneğin bir sıçanı, içerisinde üç adet basabileceği buton bulunan bir kafese koydumuzu hayal edelim. Sıçan butonlardan birisine bastığında bir parça yiyecek elde ediyor, diğerine bastığında düşük doz elektrik şoku alıyor ve butonlardan sonuncusuna bastığında ise olumlu ya da olumsuz hiçbir şey olmuyor. Bu durumda sıçanın ucunda ödül olan butona tekrar basma olasılığı diğer butonlara basma olasılığından çok daha yüksek olacakken, ucunda elektrik şoku olan butona tekrar basmaktan yüksek oranda kaçınacaktır. Bu nedenle ödüllü buton, esasen “pekiştirici” uyarıcı olarak karşımıza çıkmaktadır. Böyle bir pekiştirme sürecinde beyinde ne gibi değişiklikler olur? Öncelikle temel hareket sıçanın butonu görmesi ve onu algılaması ile başlamaktadır. Bu algıyı kapsayan nöronal döngü ile butona basma hareketini sağlayan nöronal döngü arasında kurulan bağlar, ödülün verdiği olumlu duygu ile pekiştirilip, neticesinde bağlar kuvvetlendirilmektedir [65].

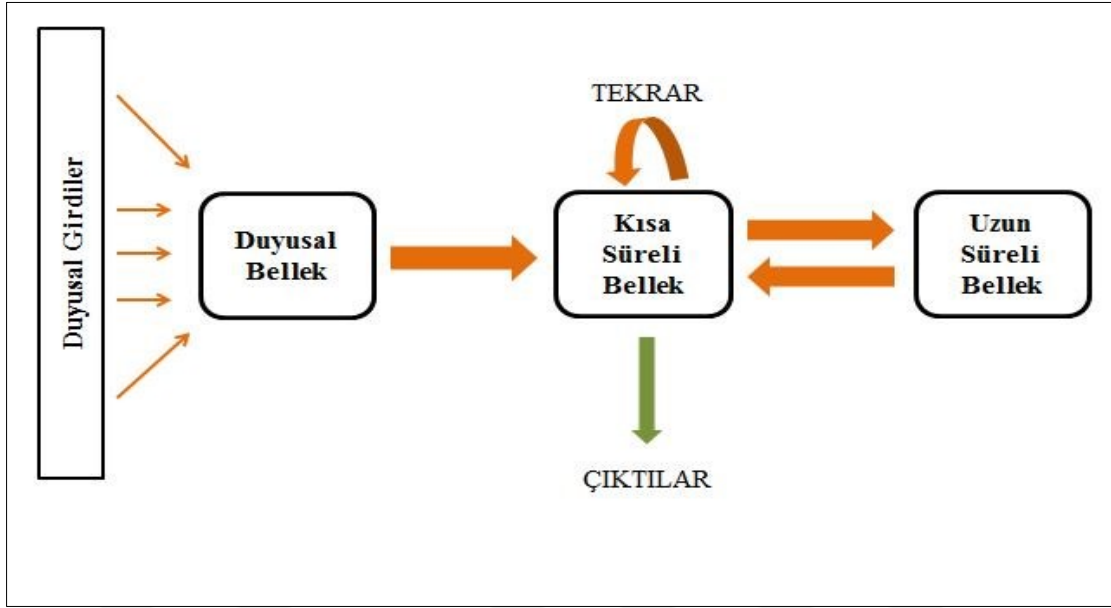
Üçüncü öğrenme tipi motor öğrenmedir ve esasen uyarıcı-tepki öğrenmesine dâhil edilebilir. Çünkü uyarıcı-tepki öğrenmesinin temelinde duyuşal sistem ve motor sistem arasında bağ oluşturmak ve var olan veya yeni oluşturulmuş bağları kuvvetlendirmek veya zayıflatmak vardır. Motor öğrenme, motor sistem içinde değişiklikler oluşturmak veya yeni bir tepki vermeyi öğrenmektir. Buradaki temel farklılık motor öğrenme için çevresel bir duyuşal rehberin olması zorunluluğudur. Motor fonksiyonlarımızı en çok kullandığımız hareketler nesnelerle olan etkileşimleri içerenlerdir. Örneğin araba kullanmak için sürücü karmaşık motor hareketler sergilemektedir. Özellikle kullanılan arabanın manuel bir araba olduğunu düşünürsek, gaz, debriyaj ve fren pedalları arasında gidip gelen karmaşık ayak hareketleri için eklemlerden, kaslardan, denge ile ilişkili beyin bölgelerinden gelen geri bildirimler ile yapılan motor hareketler arasında düzgün ilişkiler kurulmalıdır. Tıpkı araba kullanmak gibi motor beceriler gerektiren bu hareketler diğer öğrenme tiplerinden farklı olarak beynin ilgili motor sisteminde daha fazla nöral bağlar kurulmasına neden olur.

Çünkü bu gibi motor hareketleri sistemli ve hızlı yapmak çok önemlidir ve genellikle bu hareketler bir süre sonra otomatize edilmektedir.

Belli bir öğrenme durumu, yukarıda bahsettiğimiz üç tip öğrenme biçimini de içerir. Örneğin bir hayvan bir uyarıcıyla ilk defa karşılaştığında ona uygun tepki vermeyi öğrenmek için, önce bu uyarıcıyı tanımalı yani algısal öğrenme yapmalı, ardından uygun motor yanıtı vermeli yani motor öğrenmeyi gerçekleştirmeli ve bu yeni iki öğrenme durumu arasında ilişki kurmayı sağlamalı yani uyarıcı-tepki öğrenmesini sergilemelidir. Aksi takdirde hayvanın, uyarıcıyla her karşılaştığında bu basamakları tekrarlaması gerekecektir [65]. Ancak bu bahsettiğimiz öğrenme tipleri canlıların çok daha karmaşık işlevleri öğrenmesinden hala uzaktır. Daha doğrusu öğrenmek bu anlattıklarımızdan çok daha karmaşıktır. Örneğin yeni bir kasabaya taşındığınızı hayal edin. Yeni komşular edinirsiniz ve onların isimlerini, yüzlerini, hangi evde yaşadıklarını, hangi komşunuzun ne tür özellikleri olduğunu öğrenirsiniz. Ayrıca kasabanın merkezine nasıl gidildiğini, merkezde işinize yarayacak binaların nerelerde olduğunu ve en önemlisi evinizin konumunu öğrenirsiniz. Evinizin içine girdiğinizde etrafınızdaki eşyaların neler olduğunu, ne işlev yaptıklarını ve eşyalarınıza göre kendi konumunuzu bilinçli ya da bilindsiz bir şekilde öğrenirsiniz. Örneği daha da basitleştirirsek eğer, karanlık bir anda evinizin bir odasındaki lambayı yakmak istediğinizi düşünelim. Artık odadaki herşeyin konumunu öğrenmişseniz zaten elinizi ilk götürdüğünüzde duvardaki prizi bulabilirsiniz. Bu bahsettiğimiz durumlar öğrenmenin dördüncü formu olan ilişkisel öğrenme ile ilişkilidir. İlişkisel öğrenme, bireysel uyarılar arasında bağlantı kurmamızı ve kurduğumuz bu bağlantılar sayesinde öğrenmemizi sağlar. İlişkisel öğrenme ile sadece bireysel olarak olayları değil, aynı zamanda olayların oluş sırasını takip edebilir ve hatırlayabiliriz. Hipokampus ve onunla bağlantılı yapılar ilişkisel öğrenmenin gerçekleştiği yer olarak kabul edilmektedir. Hipokampusun algısal, uyarıcı-tepki ya da motor öğrenmenin ötesinde karmaşık fonksiyonları koordine etme işlevini gerçekleştirdiği düşünülmektedir.

Öğrenme yoluyla edinilen herhangi bir bilgi gerekli durumlarda tekrar kullanılmak üzere depolanmalıdır. Depolama denilen olay esasen o bilgiye dair hafıza yahut bellek oluşturmaktır. Daha doğrusu bellek bilginin kodlanması, depolanması ve geri getirilmesi süreçlerinin bir kombinasyonudur ve bu sürecin ilk adımı duyuşal bilgilere karşı oluşturulan dikkattir. Ertesi gün sınava girecek olan bir öğrenci ders çalışırken odak noktasında henüz çalışmakta olduğu ders vardır. Etrafında bir köpek havlamış olabilir ya

da oturduğu masanın arkasında bulunan arkadaş grubu bir konu hakkında tartışıyor olabilir. Eğer öğrencinin dikkati dersine odaklıysa çevresel ekstra uyaranların farkında olmayacak ve onlara dair bellek oluşturmayacaktır. Dikkat bu noktada bir filtre görevi görmektedir. Eğer bu şekilde olmasaydı çevreden gelen her uyarı belleğimize alır ve gerekli gereksiz her türlü bilgiyle beynimizi doldururduk. Dikkat aşaması merkezi sinir sisteminde talamus ve prefrontal korteks işbirliği ile gerçekleştirilmektedir [139]. Dikkatimizi verdiğimiz bilgi, zamanla ilişkilendirilerek, kısa dönem bellek ve uzun dönem bellek olmak üzere iki farklı şekilde kodlanır. 1900’lü yılların başlarında William James, insanda belleğin iki ayrı bileşenden oluştuğunu ortaya koymuştur [140]. Ona göre, *“birincil bellek ya da dolaysız bellek, zamanı algılayışımızı, görünürdeki bir şimdiye yansıyan birkaç saniyelik dolaysız geçmişi algılayışımızı borçlu olduğumuz bellektir”* [141]. Yani günümüzde “kısa süreli bellek” veya “çalışan bellek” olarak adlandırılan durumu o yıllarda James, bir bilgiyi birkaç saniyelerle ifade edilebilecek şekliyle akılda dolaysız bir biçimde tutma durumu olarak tanımlamıştır. Yine James’e göre belleği oluşturan diğer bileşen ikincil yahut uzun vadeli bellektir. Onun tanımlamasıyla bu bellek, *“belli bir süre üzerinde düşünmeyi bırakmış olduğumuz bir olayın veya nesnenin, ilave bir bilinçle zenginleşmiş olarak geri gelen ve onu önceki bir düşünce veya deneyimin nesnesi olarak gösteren bilgisidir”* [141]. James’in görüşlerinden bu yana bellek ile ilgili pek çok çalışma ve model ortaya atılmıştır. Bu modellerden oldukça etkili olmuş ve bellekle ilgili çalışmaları şekillendirmiş olanı, 1968 yılında Richard Atkinson ve Richard Shiffrin tarafından ortaya atılan “modal bellek modeli”dir. Bu model üç temel yapısal nitelikten oluşmaktadır: duyuşal bellek, kısa süreli bellek ve uzun süreli bellek (Şekil 2.8) [142].



Şekil 2.8. Modal bellek modeli (E. Bruce Goldstein'in 2013 yılında yayımlanan “*Bilişsel Psikoloji*” kitabının 5. Bölümünde 217. Sayfasındaki “Şekil 5.2”den uyarlanmıştır) [96]

Bu modele göre duyusal bellek, duyusal uyarımın etkilerinin saniyeler ya da milisaniyeler boyunca tutulmasını sağlayan ilk evredir. Duyusal belleğin en somut örneği maytap izidir. Herhangi bir kutlamada kullanılan bir maytabı hatırlayın. Arkadaşınız yaktığı maytabı eline alarak havada dairesel olarak hareket ettiriyor. Arkadaşınızın bu hareketine karşılık sizin gördüğünüz maytabın havada bıraktığı halka izleridir. Gördüğünüz şey her ne kadar bir ışık izi gibi görünse de esasen bu izde ışık yoktur. Bu iz aslında maytabın ışığını saniyenin küçük bir bölümü boyunca tutan zihninizin eseridir. Kısa dönem bellek ise saniyeler boyunca kısıtlı ölçekte bilgileri tatabilirken, uzun dönem bellek çok sayıda bilgiyi yıllar boyunca tutabilir. Önerdikleri bu modelde Atkinson ve Shiffrin ayrıca “tekrarlama” gibi çeşitli denetim işlemleri de tanımlamışlardır. Tekrarlama yoluyla kısa dönem belleğe atılan bilginin süresinin arttırılabileceği ve hatta uzun dönem belleğe aktarılabileceğini öngörmüşlerdir [96]. Literatürdeki bu ve bunlar gibi değerli çalışmalar neticesinde bugün belleği genel olarak kısa dönem bellek ve uzun dönem bellek olmak üzere ikiye ayırarak incelemekteyiz.

Kısa dönem bellek prefrontal korteks ile ilişkili olup, aynı zamanda çalışan bellek de denilmektedir. Öğrenilen bir bilginin sadece saniyeler süresince akılda tutulmasını sağlar [31]. Örneğin birazdan aramanız gereken birisinin telefon numarasını aklınızda tutmaya çalıştığınızı hayal edin. Aramayı yapmanızdan kısa bir süre sonra telefon numarasını

aklınızda tutmanız zorlaşacak ve hatta unutacaksınız. Ya da başka bir örnekle, bir restorantta çalışan garson olduğunuzu ve kalabalık bir saatte çalıştığınızı hayal edin. Birkaç masadan arka arkaya sipariş alıyorsunuz ve aldığınız bu siparişleri mutfağa iletene kadar aklınızda tutmanız gerekiyor. Mutfaka ilettikten sonra siparişlere dair bilgiler aklınızdan uçacaktır. Bunlar ve bunlar gibi günlük hayattan verilebilecek pek çok örnek mevcuttur. Kısa süreli bellek iki önemli yaşamsal işleve sahiptir. Birinci işlevi, bilgiyi kısa süreli de olsa kaydetmek, ikincisi ise zihinsel işlemlerin yapılmasına olanak tanımadır. Eğer kısa süreli belleğe gelen bir bilgi gerekli değilse unutulur, gerekli ise tekrar edilir, kodlanır ve uzun süreli belleğe aktarılır. Uzun süreli belleğe aktarılmış bir bilginin hatırlanması için tekrar kısa süreli belleğe döndürülmesi gerekmektedir ve bu nedenledir ki, uzun dönem bellekteki bir bilginin hatırlanması “geri çağırma” olarak adlandırılır. Bir bilginin kısa dönem bellekten uzun dönem belleğe aktarılması işlemi hipokampal formasyon vasıtasıyla gerçekleştirilir [139]. Daha önce hipokampal formasyonu lobektomi ile alınan epilepsi hastası HM’nin hikayesinden bahsetmiştik. Benzer bir anterograd amnezi durumu ise ünlü İngiliz müzisyen Clive Wearing’in başına gelmiştir. Müzisyen 47 yaşında geçirdiği Herpes Viral Ensefalitis hastalığının temporal lobunda meydana getirdiği hasarlar neticesinde 30 saniyeden fazla yeni hafıza oluşturamamıştır. Birisiyle tanıştıktan sonra bu kişi odadan çıkıp birkaç dakika sonra geri döndüğünde Wearing, sanki onunla hiç tanışmamış gibi davranmıştır. Tuttuğu günlükte yüzlerce not bulunmaktadır. Bu günlük ve notları gösterildiğinde kendi yazısını tanımasına rağmen, bunları yazdığını hatırlamadığını ve hatta yazanın kendisi olamayacağını dile getirmiştir [143]. HM ve Wearing’in durumlarındaki ortak nokta kısa süreli bellek oluşturmalarına rağmen bu belleği uzun süreli formda kodlayamamalarıdır.

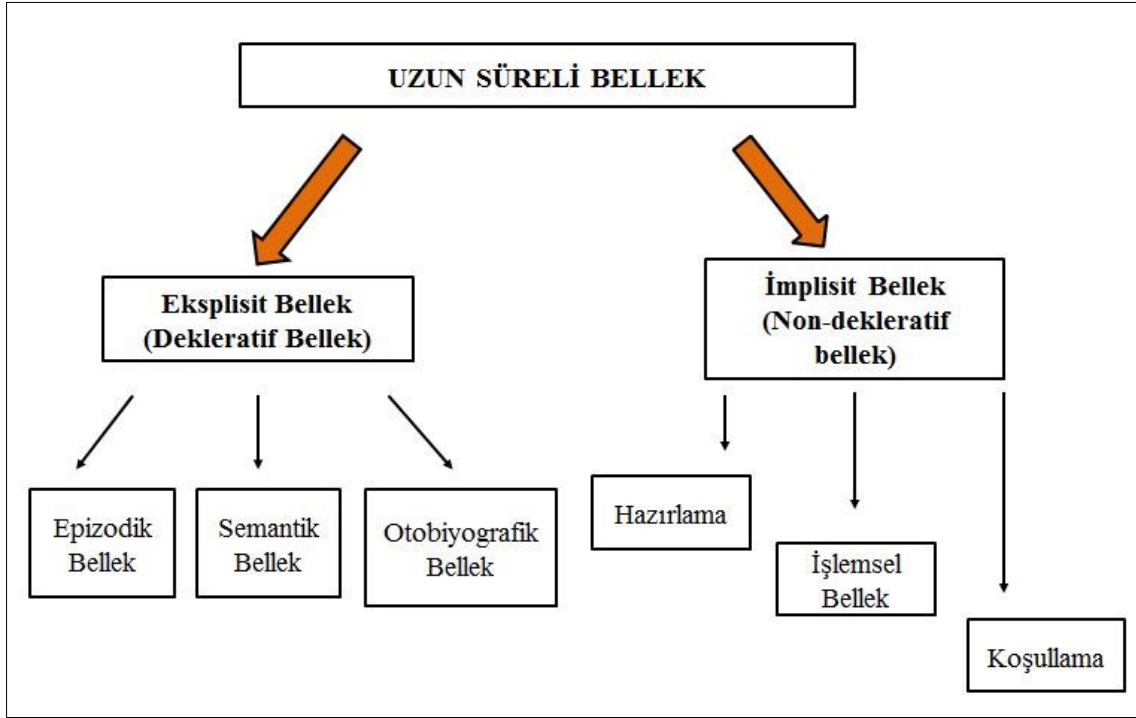
Kısa süreli belleğin çalışan bellek olarak da adlandırıldığından bahsetmiştik. Fakat esasen çalışan bellek ile kısa süreli bellek kavramları birbirinden çeşitli farklılıklar içermektedir. Modal modelin ortaya koyduğu kısa süreli bellek kavramının sınırlayıcı bir tanıma sahip olması nedeniyle bazı bilim adamlarınca bu kavram eleştirilmiştir. Özellikle Baddeley (1974) tarafından ortaya atılan yeni teoriye göre kısa süreli belleğin daha dinamik süreçleri de göz önünde bulundurması gerekmektedir [144]. Yani Baddeley’e göre kısa süreli hafızada belli koşullar altında iki görevi aynı anda yürütmek olası olmalıdır. Baddeley bu maksatla yürüttüğü deneylerde deneklerden bir metni okumasını ve ana fikri anlamasını beklerken, metinden önce akıllarında tutmalarını istediği birkaç sayıyı da okuma işleminden sonra hatırlamalarını istemiştir. Deney sonuçlarına göre denekler okuduklarını

anlarken bir yandan da akıllarında verilen sayıları tutabilmişlerdir. Baddeley'in önerdiği bu modelde tanımladığı dinamik kısa süreli bellek “çalışan bellek”tir. Kısacası çalışan bellek kısa süreli belleğe nazaran, sadece bilginin nasıl depolandığıyla ilgili değil aynı zamanda bilginin bilişsel fonksiyonlarda kullanılmak üzere nasıl manipüle edileceği ile de ilişkili olan ve çok sayıda bileşenden oluşan kısa süreli bellek formudur [145].

Uzun dönem bellek ise öğrenilen bir bilginin saatler, haftalar, aylar hatta yıllar boyunca depolanması durumudur. Uzun dönem bellekte genellikle yeni anılar daha ayrıntılıyken, bu ayrıntıların büyük bir bölümü zamanla ve sürekli yeni bilgilerin birikmesiyle unutulmaktadır. Uzun süreli bellek kısa süreli bellekle kıyaslandığında hem ondan zaman olarak daha uzun bir vakit dilimini kapsamaktadır hem de kısa süreli belleğin kısıtlı kapasitesinden daha geniş bir kapasiteye sahiptir. Ayrıca uzun süreli belleğe kaydedilmiş bilgilerin nasıl kullanılacağını anlamak için öncelikle uzun süreli bellek ve çalışan bellek arasındaki ilişkiyi anlamamız gerekmektedir. Goldstein (2013), bunun için şöyle bir örnek vermektedir: Cindy ve Tony isimli iki arkadaş sohbet etmektedir. Cindy Tony’ye dün arkadaşı Jim ile yeni James Bond filmine gittiğinden bahseder. Tony’nin çalışan belleği Cindy’nin dediklerini tam olarak aklında tutarken, aynı zamanda da söylediği cümleyi oluşturan sözcüklerden her birini anlamasına yardımcı olan uzun süreli belleğindeki sözcüklerin anlamlarına erişmektedir. Tony’nin uzun süreli belleğinde ayrıca filmlerle, James Bond’la, Cindy ve Tim ile ilgili pek çok ek bilgi de bulunmaktadır. Tony konuşma esnasında tüm bu bilgilere bilinçli olarak erişmese de bunlar uzun süreli belleğindedir ve böylece sadece kelimelerin anlamlarını değil, cümlenin yorumlamasını yapmayı da sağlamaktadır. Bu nedenle uzun süreli bellek hem geçmişte yaşanan olayları hatırlamak için başvurduğumuz bir arşiv, hem de yaşanan anda meydana gelen şeylerle ilgili çalışan belleği kullanırken bağlantı kurmayı sağlayan bilgilerden oluşan bir arka plandır [96].

Uzun süreli bellek çeşitli formlarda karşımıza çıkmaktadır fakat temel olarak eksplisit (açık bellek) ve implisit (örtük bellek) olmak üzere ikiye ayrılarak incelenir. (Şekil 2.9) Eksplisit bellek; insanlar, mekânlar ve olaylar hakkındaki bilgileri bilinçli olarak anımsamayı tanımlarken, implisit bellek; motor yetenekler gibi bilinçdışı olarak anımsadığımız bellek olarak tanımlanır. Eksplisit belleğe “açık ya da ifade edilen” denmesinin sebebi içeriklerinin betimlenebilir ya da anlatılabilir olmasıdır. Dolayısıyla belleğin bu formu bilinçli hatırlamadan sorumlu olup, kişisel deneyimlerle ilgili olan formu “epizodik” ve olgularla ilgili depolanmış bilgi ve belleği içeren formu “semantik”

olarak adlandırılmaktadır. Endel Tulving'e (1985) göre, epizodik bellek adeta geçmişe yapılan zihinsel bir zaman yolculuğu gibidir [146]. Dün iş arkadaşım ile yaşadığım bir olayı ya da bu yaz tatilde gittiğim o küçük kasabada yaşadıklarımı en yakın arkadaşına anlatırken epizodik belleğimden yararlanırım. Buna karşılık semantik (anlamsal) belleğimi kullanırken daha kavramsal bilgilere ve olgulara erişebilirim. Semantik bellekteki bir bilgiyi hatırlamak için geçmişteki belirli bir olaya zamanda yolculuk yapar gibi erişemeyiz. Örneğin Pisa Kulesinin İtalya'da bulunan eğik bir yapı olduğunu ya da dört tarafı denizlerle çevrili olan kara parçasına ada dendiğini bilirim. Bunlar gibi bilgiler semantik anılardır. Bunları anımsamak bilinçli bir eylem olmasına rağmen tam olarak ne zaman, nerede ve ne şekilde öğrendiğimizi hatırlayamayız. Öte yandan epizodik ve semantik bellek arasında bazı bağlantılar bulunmaktadır. Örneğin bazı epizodik anılar yitirilebilirken ardında semantik anılar bırakabilirler. Bir arkadaşınızın size satranç oynamayı öğrettiğini varsayalım. Böyle bir anda hem epizodik hem de semantik bir anı oluşturmuş olursunuz. Bundan yıllar sonra hala sürekli olarak satranç oynamaya devam ediyorsanız bile arkadaşınızın size satranç ilk öğrettiği zamanki epizodik anılarınızı yitirmiş olabilirsiniz buna karşın oyuna dair öğrenmiş olduğunuz semantik bilgiler hala hafızanızda olacaktır. Ayrıca anlamsal belleğimizin dikkat durumumuzu etkileyerek yaşadığımız deneyimleri biçimlendirdiği durumlar da mevcuttur. Birisi klasik müzik dinlemekten hoşlanan diğeri klasik müziği sevmeyen iki arkadaşın beraber klasik müzik dinletisine gittini düşünelim. Klasik müzik dinlemekten hoşlanan arkadaşın bu konuyla alakalı semantik bilgileri daha fazla olduğu için enstrümanlar arasındaki geçişlerin nasıl güzel olduğundan, kreşendoların onu çok etkilediğinden ve maestro'nun yaptığı hareketlerin ne anlam ifade ettiğinden bahsedecektir. Buna karşın klasik müziğe dair semantik bilgisi olmayan arkadaş için aynı dinleti, anlamsız seslerin birbirine karışması ya da yüzeysel seslerden oluşan bir konseri ifade edecektir. Kısacası bir konuyla ilgili semantik bilgimiz arttıkça gösterdiğimiz dikkat de artacaktır.



Şekil 2.9. Uzun süreli bellek tipleri

Eksplisit belleğin bir diğer formu olan otobiyografik bellek, kişinin yaşadığı olaylarla ilgili oluşturduğu hem epizodik hem de semantik anılar bütünüdür [147]. Örneğin lise mezuniyetiyle ilgili oluşturulan otobiyografik bellek; yaşananlar, giydiğiniz kıyafet, dans ettiğiniz kişiler gibi “epizodik anıları” ve mezuniyet tarihiniz, hangi okuldan mezun olduğunuz, kutlamanın yapıldığı yer bilgisi gibi “semantik anıları” birlikte içerir. Otobiyografik bellek dâhil tüm eksplisit bellek formları bilinçli olarak oluşturduğumuz ve hatırladığımız anılardır. Buna karşın bilincinde olmayarak oluşturduğumuz ve kullandığımız anılar da bulunmaktadır. İmplicit (örtük) bellek, özellikle motor beceriler olmak üzere bir görevdeki performansımızı etkileyen geçmiş deneyimlerimizdir. Örneğin implicit bellek formlarından birisi olan “hazırlama”, test edilmek istenen bir uyarıcı test edilmeden önce kişiye hazırlayıcı uyarıcının sunulması halinde verilen yanıtı pozitif ya da negatif olarak etkilediği durumdur. Örneğin bir kişiye hazırlayıcı uyarıcı olarak *kamp* sözcüğü verilip sonrasında *çadır* sözcüğü sunulduğunda kişinin verdiği tepki hızlanmaktadır. Ya da sözcük tamamlama görevi verilen bir kişiye hazırlayıcı uyarıcı olarak verilen *beyin* kelimesinden sonra “be-” ile başlayan bir kelime oluşturması istendiğinde “bebek” veya “beğeni” şeklinde tamamlamasındansa kelimeyi “beyin” şeklinde tamamlama olasılığı daha yükselmiş olur [96]. Diğer bir İmplicit bellek türü olan işlemsel bellek esasen beceri belleği olarak da adlandırılmakta olup, otomatikleşmiş motor

hareketlerimize karşılık gelmektedir. Herkes hemen hemen hergün merdivenleri kullanır. Peki, hiç merdivenlerden inerken bunu nasıl yaptığımızı düşünür müyüz? Şimdi sağ bacağımı öne uzatacağım aşağıdaki basamağa koyacağım, bu esnada sol bacağımı diz bölgesinden kıvrıcağım... Kimse merdivenlerden inerken bunları düşünerek bu eylemi yapmaz. Hatta bu şekilde inmeye çalışırsanız merdivenden inmeniz zor bir durum haline gelecektir. Bu gibi otomatikleşmiş motor hareketlerimizi bilinci devreye sokmadan yapmakta olduğumuzun en büyük kanıtı önceden bahsetmiş olduğumuz H.M. gibi amnezi hastalarına yapılan bazı testlerdir. Bu testlerden birinde kâğıda basit bir şekil çizdirdikten sonra bu çizimin karşısına bir ayna koyarak H.M.'den ayna görüntüsünü çizmesini istemişlerdir. H.M. ilk çiziminde oldukça zorlanmış fakat birkaç kez bu testi tekrarladıktan sonra kolayca çizebilir hale gelmiştir. Burada kritik olan nokta; H.M. her seferinde ayna görüntüsünü ilk kez çizdiğini zannetmektedir. Buna rağmen bu motor becerisinde ilerleme kaydedebilmiştir [148]. Yine daha önce bahsetmiş olduğumuz koşullanarak öğrenme durumunun neticesinde oluşturulan bellek de bir İmplicit bellek türüdür. İmplicit belleğe ait olmasının sebebi, işlemsel bellekdekine benzer şekilde anterograd amnezik bireylerde bu belleğin oluşturulabildiğinin gösterilmesidir. Woodruff-Pak (1993), H.M. ve diğer amnezi hastaları üzerinde gerçekleştirdiği deneyde bu bireylerin klasik koşullanma yoluyla göz kırpmaya tepkisini edinebildiklerini göstermiştir, hatta H.M. bu davranışı 2 yıl boyunca sürdürebilmiştir [149].

Uzun süreli bellek dört farklı süreçle düzenlenir; bilgi önce kodlanır, sonra depolanır, depolanan bilgi sağlamlaştırılır ve geri edinim yoluyla hatırlanır. Kısa süreli belleğe gelen bir bilginin eğer gerekliyse uzun süreli belleğe aktarılabilirliğinden bahsetmiştik. Uzun süreli bellekteki bir bilgiyi hatırlama olayı ise kodlanmış bir bilginin “geri çağırılarak” çalışan belleğe getirilmesi ve oradan da anımsanması olayıdır. Bir bilgiyi kodlamak için kullanılan en iyi yöntem tekrarlama yapmaktır. Tekrarlama yapmanın iki farklı yolu bulunmaktadır. Örneğin birazdan arayacağınız bir numarayı aklınızda tutmak için sürekli tekrar edersiniz. Fakat yaptığınız bu tekrar bilginin sadece çalışan bellekte tutulmasını sağlar. Bu şekilde yapılan tekrarlar “koruyucu tekrar” olarak adlandırılmaktadır. Eğer bilginin uzun süreli belleğe aktarılmasını istiyorsak yapmamız gereken “özümleyici tekrar”dır. Bir bilgiyi anlamını düşünerek ya da bağlantılı farklı bilgilerle bağdaştırarak bunu gerçekleştirmemiz mümkündür [150]. Bir bilgiyi uzun süreli belleğe aktarmanın en etkili yolu ise emosyonel bir olguyla birleştirmektir. Dikkat edersek genellikle en iyi hatırladığımız olaylar duygusal olarak birtakım bağlantılar kurabildiğimiz olaylar olup,

laboratuvar ortamında gerçekleştirilen çalışmalar da bu durumu destekler niteliktedir [151]. Bellek ve duygunun iç içe girdiği anılarda amigdala ve hipokampus iş birliği ön plana çıkmaktadır [152]. Duygusal bir olayla birlikte bir olayın bellekte kuvvetlendirilmesi durumu, amigdala bölgesinde hasar olan B.P. vakasında ön plana çıkmaktadır. Sağlıklı bireylerle birlikte aynı teste sokulan B.P.'ye bir çocuk ve annesiyle ilgili bir slayt gösteri izletilmiştir. Slayt gösterisinin ortalarında çocuğun yaralandığı duygusal bir sahne anlatılmaktadır. Sağlıklı bireylerde özellikle hikâyenin duygusal bu bölümüne dair oluşturulan belleklerinde kuvvetlenme görülürken, B.P.'de herhangi bir güçlenme durumu gözlenmemiştir [153]. Kısacası koruyucu tekrar, özümleyici tekrar ya da duygusal bağlantı anıların kuvvetlendirilmesine ya da bilgilerin kodlanmasını güçlendirmeye yaramaktadır. Bahsettiğimiz bu kuvvetlendirme veya “güçlendirme” durumu ilk olarak Kanadalı bir psikolog olan, öğrenme ve bellek konularındaki fikirleriyle çığır açmış Donald Hebb (1949) tarafından ortaya atılmıştır. Hebb’e göre belleğin fizyolojisi sinapslarda başlamakta olup, birlikte ateşlenen nöronlar birbirlerine bağlanırlar. Hebb’in anlatımıyla bu durum şöyle gerçekleşmektedir: *“A nöronunun bir aksonu B nöronunu uyaracak kadar yakın olduğunda ve bu nöronun sürekli ya da kalıcı olarak ateşlenmesinde rol alıyorsa, B’nin ateşlenmesinde rol oynayan A’nın verimliliğinde bir artışın meydana gelmesi gibi, bu hücrelerden birinde veya her iki hücrede de bir gelişim veya metabolik bir değişim meydana gelir”* [154]. Daha belirgin bir ifadeyle, bu sinaptik güçlendirme mekanizmasıyla A nöronunda nörotransmitter sentez ve salınımında artış ve B nöronunu besleyecek yeni akson uçlarının oluşturulması gibi presinaptik düzenlemeler meydana gelirken, B nöronunda ilgili nörotransmitter reseptörlerinin üretiminde ve bu reseptörlerin hücre zarındaki miktarında artış, yeni proteinlerin sentezlenmesi gibi postsinaptik değişimler meydana gelir. Tanımladığımız bu güçlendirme mekanizması literatürde “Uzun Süreli Güçlendirme” (Long-Term Potentiation; LTP) olarak kendine yer bulmuş olup, tekrarlanan uyarıcılardan sonra nöronlardaki ateşlenmenin artması durumunu ifade eder. Özetle anılarımızın fizyolojik temelinde sinaptik değişimler yer almaktadır. Yani her deneyimimiz beynimizi değiştirir ve şekillendirir. Beyinde öğrenme ve bellekten sorumlu yapılara daha geniş ölçekte bakacak olursak eğer, beynin pek çok alanını içerdiğini ve farklı bellek tiplerinin genellikle farklı alanlarda konuşlandığını ama bu alanların birbirlerinden keskin sınırlarla ayrılmadığını ve her birinin birbiriyle karşılıklı yoğun iş birliği içerisinde olduğunu söyleyebiliriz. Kısa süreli bellek ya da çalışan bellek için özellikle frontal korteks devredeyken, uzun süreli bellek için rol oynayan tüm yapıları kapsayacak şekilde “medial temporal lob hafıza sistemi” devrededir. Bu medial temporal lob yapıları içinde

hipokampüs, parahipokampüs, amigdala, entorhinal korteks ve peririnal korteks bulunmaktadır. Uzun süreli belleğin Eksplisit formunda özellikle bu medial temporal lob yapıları ile prefrontal korteks aktivasyonu görülmektedir. İmplicit bellekte ise bu medial temporal lob hafıza sistemine ek olarak farklı beyin bölgeleri işin içine girmektedir. Örneğin hazırlama durumu neokorteks ile ilişkilendirilirken, motor beceri ve alışkanlıklara ait bellek striatum ile ilişkilendirilir. Yine İmplicit belleğe ait olan asosiyatif öğrenme durumuyla bağlantılı şartlanma belleğinde, duygusal yanıtlar amigdala yoluyla, iskelet-kas sistemi yanıtları serebellum yoluyla düzenlenir [31].

Hipokampüs ve navigasyon – bilişsel harita teorisi

Şu an neredesiniz? Sıkça geldiğiniz bir kafede oturuyor olduğunuzu ve bilgisayarınızdan yarınki toplantı için hazırlık yaptığınızı varsayalım. Bir an için bu örneğimizdeki sizin ne gibi uzamsal bilgiler kodlamakta olduğunuzu düşünelim. Öncelikle sıkça geldiğiniz kafenin konumuna dair navigasyon bilgilerine sahipsiniz. Şu an oturduğunuz masanın kafenin duvarlarına olan mesafesine ve diğer masalara olan uzaklığına dair konum bilgilerine, saldıyenizin masaya olan yakınlığına ve yerden yüksekliğine dair bilgilere, önünüzdeki bilgisayarın size göre bulunduğu konuma dair bilgilere, sipariş etmiş olduğunuz çayın masada bulunduğu konum ile ilgili bilgilere vs. sahipsinizdir. Aslında daha detaylı inceleyecek olursak, kafede kapının bulunduğu yere göre hangi konumda kaldığını, varsa pencerelerin konumlarına, aydınlatmanın tavanın neresinde olduğuna, tavan yüksekliğinin normale göre uzun mu yoksa kısa mı olduğuna, duvarlarda bulunan tabloların ebatlarına ve duvardaki konumlarına ve tüm bunların size göre uzaklıklarına dair uzamsal hafıza oluşturursunuz. Şimdi örneğimizi değiştirelim. Evinizdesiniz ve yemek yemek için oturma odasından mutfığa gidiyorsunuz. Mutfığın oturma odanıza göre hangi konumda kaldığını bilir ona göre hareket etmeye başlarsınız. Yürürken ilerlediğiniz yönün doğru olduğuna, geçtiğiniz koridorun sonunda mutfığa ulaşacağınıza dair bilgiye de sahipsiniz. Neredeyim? Nereye gidiyorum? Gideceğim yere nasıl ulaşabilirim? Tüm bunları nasıl gerçekleştiriyoruz? Bu soruları cevaplamadan önce, uzamsal algı ve hafızanın oluşturulmasında rolü olan beyin yapılarına bakalım.

Uzamsal ya da mekânsal belleğin oluşumunda en önemli yapı olarak hipokampüs karşımıza çıkmaktadır [155]. Ameliyatla hipokampüsü ve onunla ilişkili temporal lob yapıları alınan H.M. ameliyattan sonra epizodik bellek sorunları yaşamasının yanı sıra

şiddetli uzamsal bellek sorunları da yaşamıştır. Örneğin ailesi ile birlikte yeni taşındıkları evin adresini hiçbir zaman öğrenemediği bilinmektedir. H.M. gibi anterograd amnezili insanlar üzerinde yapılan gözlemler sonucunda onların bulundukları odalara, koridorlara, binalara, yollara ve çevrelerindeki önemli nesnelere ait konum bilgilerini kesinleştiremedikleri ortaya çıkmıştır [65]. Hipokampüsün dâhil olduğu medial temporal lob hafıza sistemindeki farklı alt bölgeler, uzamsal ve konumsal bilgiler açısından eşit değerde görevlere sahip değildir. Örneğin medial temporal lobun bazı bölgeleri obje tanımada daha ön plandadır. Hipokampüsün altında bulunan perirhinal korteksin hasarlanması daha çok obje tanımada bozulmalar meydana getirirken, sadece hipokampüsün hasarlanması obje tanımada daha az bozukluk oluşturmuştur. Bazı teorisyenlere göre, hipokampus daha çok uzaysal imgelerle ilişkili ve önemliken, obje tanımadaki rolü daha azdır. Bunun yanı sıra beyinde bilateral olarak konumlanmış hipokampüsün, sağ ve sol loblarda baskın olarak farklı görevlerle ilişkili olduğu bulunmuştur. Sağlıklı insanlarla gerçekleştirilen fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme (fMRI) sonuçlarına göre, uzaysal bilginin hatırlanması aşamasında özellikle sağ hipokampüste aktivite artışı gözlenirken, kelimeler, objeler ya da insanların hatırlanmasında sol hipokampüste aktivite artışı meydana gelmiştir. Bu bulgularla tutarlı olarak sağ hipokampüsünde lezyon olan kişiler uzaysal oryantasyonla ilgili problemler yaşarken, sol hipokampüste lezyonu olanlar ise sözel hafıza defektleri yaşarlar [31]. Örneğin bu konuda Maguire, Frackowiak ve Frith'in (1997), Londra taksi şoförleri üzerinde gerçekleştirdikleri oldukça ünlü çalışmaya göz atabiliriz [59]. Londra'daki taksi şoförleri şehir içinde oldukça başarılı bir şekilde görevlerini yapabilmek için 2 sene süren sıkı bir eğitim döneminden geçerler ve birkaç zorlu testin ardından sürücü belgelerini alabilirler. Araştırmacılar gerçekleştirdikleri bu çalışmada Londra taksi şoförlerinden bir yerden bir yere yolcu taşıırken hangi yollardan gittiklerini tarif etmelerini istemişler ve beyin fMRI'larını kaydetmişlerdir. Sonuçlar yol tarifleri yapılırken, sağ hipokampüslerinde aktivasyon artışı olduğu yönündedir. Ayrıca London College Üniversite'sinde yine Londralı taksi sürücüleri ile ilgili yapılan başka bir çalışmada, bu sürücülerin özellikle posterior hipokampüslerinin kontrol gruplarına göre daha fazla gelişmiş olduğu ve deneyimli şoförlerden daha az deneyimli şoförlere doğru gittikçe bu gelişmişliğin azaldığı tespit edilmiştir [156].

Hipokampal lezyonu olan anterograd amnezili insanların yaşadığı uzamsal öğrenme ve bellek sıkıntıları, hipokampüsün bu alandaki rolünün altında yatan mekanizmaları anlamaya yönelik ilgiyi harekete geçirmiştir. Böylece bu mekanizmaları daha iyi anlamak adına, deney hayvanlarında gerçekleştirilen araştırmaların sonucunda çok önemli veriler elde edilmiştir. Şimdi bu alandaki öncül hayvan deneyi çalışmalarına ve keşiflere göz atalım.

“Uzay” diye yazmıştı O’Keefe ve Nadel (1978), *“bizim tüm davranışlarımızda rol oynar. Uzayın içinde yaşar, onun vasıtasıyla hareket eder, onu keşfeder, onu müdafaa ederiz...yine de uzayı kavramak olağanüstü zor gelir”* [157]. Onlar “bilişsel harita teorisi”ni detaylıca tanımladıkları kitabın girişine bu felsefik yazıyla başlamışlardır. Bu teorinin temellerinin atılması, serbestçe hareket eden sıçanların hipokampüsündeki “yer hücreleri”nin keşfi ile gerçekleşmiştir. Bu yer hücreleri, sıçan bildiği ve alışık olduğu mekânlardan geçerken uyarı doğuran hücrelerdir [158]. Yer hücrelerinin keşfi, hipokampüsün çevre topografyasının sinir sistemindeki temsilini oluşturan bilişsel bir harita olduğu düşüncesini ortaya çıkarmıştır. Benzer dönem içerisinde Helen Mahut, maymunlar üzerinde yaptığı çalışmada medial temporal lob ablasyonu gerçekleştirdikten sonra maymunların uzaysal bileşenden oluşan görevlerde kalıcı bozukluklar gösterdiklerini tespit etmiştir [159]. Sıçanlarda gerçekleştirilen hipokampal lezyon çalışmaları da benzer sonuçlar doğurmuş ve dolayısıyla hipokampüsün uzaysal navigasyon için büyük önem arz ettiği anlaşılmıştır [160, 161].

Sıçanlar bir çevreyi keşfederken lokasyonlarıyla yakından ilişkili olarak bu yer hücrelerinde aktivasyon meydana gelir. Sıçan test alanındaki bu basit çevreyi keşfederken, yer hücreleri sıçanın duvarlardan uzaklığı gibi lokasyonu ile alakalı bilgileri kodlar. Belli bir ortamda kaydedilen nöronların yer alanları, duvarlar veya bir hedefin konumu gibi çevrenin davranışsal olarak önemli kısımlarını temsilen aşırı uyarılmasına rağmen tüm çevreye yayılmaktadır [8]. Sıçanlar açık alanlarda yemek ararken, besin alanlarına çeşitli yönlerden yaklaşabilecek durumlarda oldukları için yer alanları sabittir ve yer değiştirmez. Bu durumdaki bir sıçanın yer hücresi hareket ettiği yöne bakılmaksızın tüm yer sahası için aktifleşir [162]. Buna karşın sıçanlar, radyal kollu labirent görevi (radyal arm maze) gibi bulundukları konumdan sadece iki yöne gidebildiği düzeneklerdeyken, yani bulundukları alan yönlü özelliğe sahipken, bir yöne gittiğinde oldukça kuvvetli ateşlenen nöronlar, sıçan diğer yöne gittiğinde ateşlenmezler [163]. Benzer bir şekilde, sıçan açık alandayken belirli

bir ödülün lokasyonu için ilgilendiği noktalar arasında bir rota izlerken, aynı açık alanda rastgele dağıtılmış ödüller için arama yaptığındakine kıyasla, nöronların büyük bir bölümü yönelimli ateşleme yapar. Sıçan belli bir güzergâh boyunca ilerlerken daima sıralı uzaysal lokasyonlarla ilerler. Örneğin soldan sağa A noktası → B noktası → C noktası → D noktası → E noktası şeklinde ilerlerken, sağdan sola doğru E noktası → D noktası → C noktası → B noktası → A noktası şeklinde ilerler. Bu noktaları temsil edecek şekilde yer hücreleri de soldan sağa ve sağdan sola olmak üzere aktive olan farklı nöron sıralamasıyla ateşlenirler. Yani sıçanın hipokampüsünde A ve E noktaları arasında soldan sağa ve sağdan sola olmak üzere iki farklı harita bulunmaktadır. Bu durum evden işe arabayla giderken kullandığımız yol ile işten eve dönerken kullandığımız yolun aynı olmasına rağmen neden birbirinden çok farklı görüldüğünü açıklar niteliktedir [8]. Hipokampüsteki nöronların kendilerine ait mekânsal alıcı alanlarının olması, her nöronun belirli bir lokasyonu şifrelediği anlamına gelmektedir. Kemirgenlerdeki hipokampal yer hücrelerinin çoğu dorsal hipokampüste bulunur. Kemirgen dorsal hipokampüsü insanlardaki posterior (arka) hipokampüse karşılık gelmektedir [164].

Sıçan hipokampüsünde bulunan bir grup hücre popülasyonu ise hayvanın lokasyonu ne yönde olursa olsun, kafasının işaret ettiği yöne göre ateşlenmektedir. “Kafa yönü hücreleri” olarak adlandırılan bu hücreler 0-360° aralığını temsil edecek şekilde birkaç farklı gruptan oluşmaktadır. Bu kafa yönü hücre sisteminin anlık kafa yönünü hesaplamak için açisal hız sinyallerini bütünleştirdiği düşünülmektedir. Deshmukh SS’nin benzettiği şekliyle bu hücreler “internal pusula” olarak işlev görmektedir [8].

Peki mekansal temsilin oluşumuna katkıda bulunan hipokampüsün girdileri nelerdir ve bu mekânsal temsilin oluşumu nasıldır? Bunun için hayvanlar, öncelikle mevcut konumun bir tahminini hesaplamak için vestibular girdilerden, motor efferent kopyalarından ve proprioseptif girdilerden gelen harekete dair bilgiler alır. Ayrıca hızını tahmin edebilmek için optik bilgileri de kullanır. Hayvana ait bu içsel ipuçları idiotetik bilgiler olarak adlandırılmaktadır. Sıçanın mekândaki belli bir noktaya göre konum bilgileri ise allosentrik bilgiler olup, tüm bu duyuşsal bilgiler hipokampüse entorhinal korteks vasıtasıyla trisinaptik yolu izleyerek girmektedirler. Hipokampüsteki farklı piramidal hücrelerin farklı büyüklükte eksitatorik ve inhibitörük girdiler aldığı düşünülmektedir. Esas olarak eksitatorik girdileri alan yer hücreleri, hayvan özellikle görsel, işitsel, kokusal gibi bir takım duyuşsal ipuçları topluluğuyla ilişkili olarak belirli bir pozisyonu işgal ettiğinde

ateşlenir. Bazı piramidal nöronlar ise gelen duyuşal girdileri ileri besleme inhibisyonu ile iletir. “Kaybolma hücreleri” olarak isimlendirilen bu nöronlar, duyuşal ipuçlar kaybolduğı zaman ateşlenme oranlarını arttırlar. Aşına olduğunuz bir mekâna, örneğın yatak odanıza girdiğınızde kapı, pencereler ve mobilyaların yerlerinin farklı olduğunu görürseniz nasıl bi tepki verirsiniz? Önce eski konumlarına alışkın olduğunuz için şaşkınlık yaşarsınız. Fakat bir süre sonra bu yeni konumlarına alışarak eski konumlarına dair bilgileri yavaş yavaş unutup yenileriyle takas edersiniz. Kısacası navigasyon işlevinden sorumlu olarak tanımladığımız bu üç hücre tipi (yer hücreleri, kafa yönü hücreleri ve kaybolma hücreleri) ile “Neredeyim? Nereye gidiyorum? Nasıl gidebilirim?” sorularına dair gerekli tüm bilgiler alınarak, bu bilgilere dair bellekler oluşturulmaktadır [10].

Uzamsal bellek tek başına oldukça öneme sahip olsa da esasen diğerk bellek tipleri ile ilişkisi de oldukça önem arz etmektedir. Mekânsal ve uzamsal bilgiler özellikle epizodik belleğın önemli bir bileşeni olarak karşımıza çıkmaktadır [10]. Sizden üniversite yıllarınıza dair hatırladığınız en belirgin anıyı anlatmanız istense ya da geçen seneki doğum gününüzü nasıl kutladığınız sorulsa ve hatta bu sene yaptığınız tatilde en iyi hissettiğiniz an’ı dile getimeniz istense, cevap verirken bu epizodik anılarınıza dair öncelikle mekânsal bilgiler gözünüzde canlacak ve anlatmaya buradan başlayacaksınızdır. Kısacası mekânsal-uzaysal bellek, epizodik ve hatta otobiyografik anıların kodlanmasında ve geri çağırılmasında oldukça büyük bir önem taşımaktadır. Spesifik deneyimlerimize dair epizodik anılarımız için “nerede” sorusu kadar “ne zaman” sorusu da çok önemli bir bileşendir. Burada devreye uzayın 4.boyutu yani “zaman” kavramı girer. Zaten “anımsamak” veya “hatırlamak” kelimelerini tanımlamak için, “geçmişteki bir deneyimimizi *şu anda* tekrar zihnimizde canlandırmak eylemidir” deriz. Yani hatırlamak, özünde zaman kavramıyla içli dışlı bir olgudur. Yer hücrelerinin keşfi ve ardından gelen çalışmalar, bu hücrelerin sergilediğı ardışık aktivitelerle hipokampal ağ içerisinde göreceli (bağıl) bir biçimde zamanın depolandığını ortaya koymuştur [165]. 2008 yılında Pastalkova ve ekibi, hipokampüsteki bazı hücrelerin sadece ardışık dizileri değil, geçen zamanı da temsil ettiğini göstermiştir [166]. Bu hücreler sonrasında “zaman hücreleri” olarak isimlendirilmiştir [167]. Bahsedilen hücreler, hayvan bir davranışı sergilerken iki yoldan birini seçmek için duraksadığı bekleme evresinde ateşlenmektedir. Bu hücreler eğer normal yer hücreleri olsalardı, tüm bu bekleme süresince aktif olmaları gerekirdi. Fakat belirgin bir şekilde birçok hücre, sadece kısa zaman aralıklarında aktif olmakta ve hücrelerin tercih ettiğı bu zaman aralıkları her denemeden denemeye sabit kalmaktadır.

Burada akıllara şu soru gelmektedir: zaman hücreleri yol entegrasyonu da olmak üzere duyuşsal uyarımda veya davranışta sürekli değışiklikler gibi basit bir mekanizma ile açıklanabilir mi? Zaman hücreleri ile ilgili erken çalışmalarda sıçanlar ya bir koşu çemberinde (Running Wheel) koşmakta ya da küçük bir platform üzerinde hareket etmekte serbest bırakılmışlardır. Yani bu deneylerde birçok değışken kontrolsüz bırakılmıştır. Bu duruma açıklık getirmek maksadıyla Kraus ve ekibi (2013), zaman hücrelerinin yol entegrasyonundan etkilenip etkilenmediğini incelemek için yeni bir paradigma kullandılar [168]. Ekibin deneysel tasarımında sıçan, klasik alternatifli T-labirentinin (T-maze) değıştirilmiş bir versiyonunda koşmaktaydı. Labirentin gövde kısmının bir parçasında sıçan, sağa ya da sola gitmek için burayı çalışan belleğinde tutmalıydı ve aynı zamanda bir koşu bandında koşması gerekiyordu. Bazı denemelerde sıçanlar önceden belirlenmiş bir süreyi koşarken yani “zamanla sabitlenmişken”, diğer denemelerde ise önceden belirlenmiş bir mesafeyi koşuyordu yani “mesafe sabitlenmişti”. Tüm denemeler boyunca koşu bandı farklı hızlarda çalıştırılıyordu. Böylece ekip, hangi hücrelerin zamana, hangilerinin mesafeye daha fazla kenetlenip kenetlenmeyeceğini gözlemleyebilecekti. Esasen zaman ve mesafe doğal olarak birbirleriyle bağlantılı parametrelerdir, örneğin ne kadar uzak mesafe kat ederseniz, yolculuğunuz o kadar uzun sürecektir. Ancak bu deney düzeneği ile daha verimli sonuç elde etmek için bu iki parametre mümkün olduğunca ayrıştırılmaya çalışılmıştır. Kraus ve ekibinin bulguları ilgi çekiciydi. Sıçan koşu bandındayken aktivite gösteren hipokampal hücrelerin çoğu, en iyi zaman ve en iyi mesafenin kombinasyonunda ateşleniyordu. Fakat burada kritik olan gözlem şuydu; koşu bandındayken aktive olan hücrelerin çok az bir kısmı (%8’i) mesafeye değil sadece zamana bağlı olarak yanıt veriyordu. Bu veriler, en azından bir zaman hücre alt kümesinin, gerçekte kat edilen mesafeden bağımsız bir şekilde nesnel olarak zamanı temsil edebileceğini göstermiştir [165].

2.2. Nörotrofik Faktörler

Yapılan pek çok araştırma nörotrofinler ve nörotrofin reseptörlerinin, gelişim sürecinde ve sinir sisteminin onarım ve korunmasında önemli rolleri olduğunu göstermiştir [169]. Salgı proteinlerinin küçük bir ailesi olan nörotrofinler; Sinir Büyüme Faktörü (Nerve Growth Factor; NGF), Beyin Kökenli Nörotrofik Faktör (Brain-Derived Neurotrophic Factor; BDNF), Nörotrofin-3 (Neurotrophin-3; NT-3), NT-4/5 ve NT-6’dan oluşmaktadır [170]. Nörotrofinler homodimerik yapıda proteinler olup, nöronal hedef dokular tarafından

sekrete edilirler. Hem santral sinir sistemindeki hem de periferel sinir sistemindeki nöronların sağkalımını ve nörit gelişimini teşvik ederler. Gen ekspresyonunu düzenleyerek merkezi nöronların kendilerine has fenotipik özellikler kazanmasını ve şekillenmesini sağlarlar. Ayrıca farklı protein kinazları ve hücre içi ikincil habercileri aktive ederek hücrel fonksiyonları akut olarak modüle ederler.

Nörotrofinlerin ilk keşfi bundan yaklaşık 60 yıl önce NGF'nin tanımlanmasıyla olmuştur. Ardından uzun bir zaman diliminden sonra diğer nörotrofinler eklenmiştir. Diğer büyüme faktörü aileleriyle kıyaslandığında nörotrofinler, biyolojik etkilerini esas olarak sinir sistemi hücreleri üzerinde gösterdikleri için özellikle nörobiyologların ilgi odağı olmuştur. Son yıllarda rekombinant teknolojisi, nörotrofinler ile in vivo olarak çalışılmayı mümkün kılmıştır. Nörotrofinlerin veya reseptör genlerinin, gen hedefleme yoluyla silindiği deneyler ve antikör kullanılan deneyler aracılığıyla bu proteinlerin biyolojik rollerine ilişkin bilğimiz önemli ölçüde genişlemiştir [171]. Örneğin NGF'nin çalışmasını bloke eden antiserumlar in vivo olarak kullanıldığında, NGF'den yoksun hayvanların bazı nöron popülasyonlarında ciddi kayıplar yaşadıkları gözlemlenmiştir [172, 173].

NGF 1950'lerin başında keşfedilmiş ve duysal ve sempatetik nöronlara trofik etki ederek sağkalımı ve büyümeyi destekleyicidir [174]. 1982 yılında BDNF, dorsal kök ganglion nöronlarının alt-popülasyonlarını kurtaran ve geliştiren molekül olarak keşfedilmiş ve böylece nörotrofin ailesinin ikinci üyesi olmuştur [175]. Ardından NT-3 [176] ve NT4/5 [177] gibi nörotrofin ailesinin diğer üyeleri tanımlanmıştır. Bunların her biri periferel ve santral nöron alt popülasyonları üzerinde farklı profile sahip trofik etki göstermektedir. Nörotrofinler, birbirleriyle aynı kökenden türemiş en az bir ya da daha fazla sayıda tirozin kinaz reseptörlerine bağlanarak biyolojik aktivitelerini gösterirler. NGF tropomiyozin-ilişkili kinaz A (TrkA) reseptörüne, BDNF ve NT-4/5 TrkB reseptörüne ve NT-3 ise TrkC reseptörüne yüksek affinite ile bağlanır. Ayrıca Trk reseptörleri haricinde daha düşük affinite ile bağlandıkları NT reseptörleri (p75^{NTR}) de bulunmaktadır [178].

NT ailesi proteinlerinin keşifleri, sinir sisteminin gelişimi boyunca nöronal ağ formasyonundan, yetişkin beynindeki sinaptik plastisite, öğrenme ve hafızaya kadar pek çok önemli süreçler hakkında değerli bilgiler sağlamıştır. NT'lerin hem uzun hem kısa dönem etkileri bulunmaktadır. Uzun süreli trofik etkileri gen ekspresyonuna bağlıdır. Buna

karşılık gelişen nöronlar ve sinaptik olaylar üzerindeki kemotropik etkileri kısa süreli olup, intraselüler efektörlerin aktivasyonu aracılığıyla kontrol edilir.

2.2.1. BDNF

BDNF yapısı ve biyosentezi

İnsanlarda BDNF geni 11p kromozomunda bulunmakta olup, farklı promotorlarla ilişkili dört adet 5' ekzonu (Ekzon I, II, III, IV) ve olgun BDNF proteinini kodlayan bir adet 3' ekzonu (Ekzon V) bulunmaktadır. Bu gen bölgesinden sekiz farklı mRNA transkribe edilir ve beyinde ekzon I-III içeren transkripsiyonlar baskınken, ekzon IV transkripsiyonu akciğer ve kalpte daha yaygındır. BDNF diğer nörotrofinlerle yaklaşık %50 oranında amino asit kimliğini paylaşır [179]. Memeli beyinde BDNF mRNA seviyeleri nöronal aktivite ile düzenlenir. Membran depolarizasyonu voltaj-kapılı Ca^{+2} kanalları ve özellikle NMDA reseptörü gibi Ca^{+2} 'a geçirgen glutamat reseptörleri aracılığıyla hücre içine Ca^{+2} girişini başlatır. Ca^{+2} , CaRF ve CREB gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu tetikleyerek *Bdnf* gen transkripsiyonu için ilgili molekülleri devreye sokar [3]. Her bir nörotrofin birbirine non-kovalent bağlı homodimerlerden oluşur ve iki çift anti-paralel β -pili motifi ve sistin rezidüleri bulunduran sistin ilmik motifi ile oluşturulmuş belirgin üç boyutlu yapıyı paylaşırlar. Diğer nörotrofinler gibi BDNF de başlangıçta endoplazmik retikulumda pre-pro-BDNF olarak sentezlenir. Sonrasında sinyal peptidin uzaklaştırılmasıyla pro-BDNF'ye dönüştürülür. Yaklaşık olarak 30 kiloDalton (kDa) moleküler ağırlığa (M.A.) sahip olan pro-BDNF, furin gibi pro-hormon konvertazları ile olgun BDNF (M.A ~ 14 kDa) haline getirilir. Pro-nörotrofinler, hem bağlanma özellikleri hem de biyolojik aktiviteleri açısından olgun nörotrofinlerden farklıdır [179]. Yapılan çalışmalar bu dönüşümün, pro-BDNF'nin nöronlardan aktivite bağımlı sekresyonunu takiben hücre dışı ortamda gerçekleştiğini ileri sürmektedir [180]. Fakat bazı çalışmalar ise, pro-BDNF'nin intraselüler olarak hızlı bir şekilde olgun BDNF'ye dönüştürülerek depolandığını ve eksitatorik uyarı geldiğinde salındığını ileri sürmektedir [181]. Ayrıca yapılan diğer çalışmalar da pro-BDNF'nin trans-golgi ağından salgı veziküllerine geçtiğini ve burada prohormon konvertaz 1 (Prohormone Convertase 1; PC1) ile olgun BDNF'ye dönüştüğünü göstermektedir [182]. Olgun BDNF'nin oluştuğu yer literatürde bir süre tartışma konusu olsa da sonrasında anlaşılmıştır ki bu dönüşüm öncelikli olarak presinaptik hücre içerisinde gerçekleşirken bir sonraki konuda bahsedileceği gibi LTP'nin

sürdürülmesinde ve L-LTP’de sinaptik aralık içinde yani ekstraselüler olarak gerçekleşmektedir. Ekstraselüler olarak gerçekleştirilen bu dönüşüm metalloproteinazlar ve ekstraselüler plasmin aracılığıyla gerçekleştirilmektedir [113].

NGF gibi retrograd olarak taşınan ve klasik, hedeften köken alan trofik faktör modelinin aksine, BDNF’nin beyinde anterograd taşındığına dair pek çok kanıt bulunmaktadır. İlk üretilen BDNF proteinleri akson terminallerine lokalize olacak şekilde taşınır. Bu aşamada aksonal transport inhibitörleri kullanılırsa bu taşınım iptal olur. İkincisi, daha yüksek çözünürlüklü çalışmalar göstermiştir ki, BDNF, nöropeptidlerin depolanması ve sinir terminallerinden salınması için temel alan olan yoğun içerikli (dense-core) veziküllerle ilişkilidir. Güncel kanıtlar nörotrofinlerin nöronal depolarizasyonu takiben akut bir şekilde salındığını ortaya koymasına rağmen, aslında BDNF’nin direkt aktivite bağımlı olarak presinaptik hücreden postsinaptik hücreye transnöronal transfer yoluyla aktarıldığını, floresan işaretli BDNF kullanarak göstermiştir [179]. Bilim camiası BDNF’nin anterograd mı retrograd mı taşındığı konusunda başlangıçta ikiye ayrılmış olsa da günümüzde varılan ortak noktaya göre BDNF hem anterograd hem retrograd olarak taşınabilmektedir [183].

Endojen BDNF ile yapılan biyokimyasal çalışmalar, beynin BDNF düzeyinin doğumdan sadece 3 hafta sonra en yüksek değerlerine ulaşmasına rağmen, oluşturulan *Bdnf* null mutantların bu zaman zarfına kadar öldüğünü ortaya koymuştur. Bu problemi çözmek için *Bdnf* geni susturulmuş koşullu mutantlar (*cBdnf*KO) üretilmiştir. İlginç bir şekilde bu fareler beyinde ölçülebilir BDNF seviyesi bulunmadığı halde doğumdan sonra aylarca yaşayabilmiştir [181]. Dolayısıyla postnatal gelişim süreci için, ölçülebilir düzeyde BDNF proteini üretilmese de BDNF geninin genomda bulunması gerekmektedir.

BDNF reseptörleri

Küçük dimerik yapıda bir protein olan BDNF düşük affinite göstererek $p75^{NTR}$ reseptörlerine bağlanır. Tümör Nekrozis Faktör (Tumor Necrosis Factor; TNF) reseptör süper ailesinin bir üyesi olan $p75^{NTR}$ reseptörü, başlangıçta düşük affiniteli bir NGF reseptörü olarak keşfedilmiş, fakat sonra benzer bir affinite ile BDNF, NT-3 ve NT-4/5’e de bağlandığı fark edilmiştir [184]. Reseptörün ekstraselüler domaini sistin amino asidince zengin motifler içermekte olup, sitoplazmik domaini diğer TNF reseptörleri gibi sitoplazmik domaininde “ölüm” sinyali içerir. Bu reseptör yapısında katalitik bir kinaz

motifi içermiyor olmasına rağmen, nöronal hayatta kalma ve farklılaşma olaylarında önemli sinyalleri ileten birçok protein ile etkileşime girer. $p75^{NTR}$ reseptörü üç temel sinyal yolağını aktive etmektedir. Bunlardan ilki “Nükleer Faktör-Kappa B” (NF κ B)’nin aktivasyonudur. NF κ B, nöronal sağkalımı destekleyen pek çok gen bölgesinin transkripsiyonuna yol açar. İkinci aktive ettiği yolak “Jun Kinaz” olup, nöronal apoptozise neden olur. Son olarak Rho aktivitesini düzenleyerek büyüme konisi hareketlerini azaltır [178]. $p75^{NTR}$ reseptörünün en önemli fonksiyonlarından birisinin, Trk reseptör aktivasyonunu kolaylaştırmak olduğu ve bu kolaylaştırmayı, ya nörotrofinleri Trk reseptörlerine sunarak ya da Trk reseptöründe elverişli bir konformasyonel değişikliği indükleyerek yaptığı düşünülmektedir. Ayrıca pro-BDNF olarak salınan prekürsörün tercihen $p75^{NTR}$ reseptörünü aktive ettiğini gösteren bazı kanıtlar bulunmaktadır [110].

BDNF’nin yüksek affinite ile bağlandığı TrkB reseptörü ise transmembran bir domainden ve tirozin kinaz aktivitesine sahip sitoplazmik bir domainden oluşmaktadır. Reseptör ligandı ile bağlandığında dimerize olur ve bunun sonucunda bir dizi tirozin kinaz aktivitesi tetiklenir. Çoklu tirozin rezidülerinin otofosforilasyonu meydana gelerek intraselüler hedef proteinler için spesifik bağlanma bölgeleri yaratır. Bu hedef proteinlerden Shc ve FRS-2, Ras-raf-ERK kaskadı ve PI3K/Akt yolağını aktive ederken, diğer bir hedef protein olan PLC γ , PKC aktivasyonunu gerçekleştiren DAG’ın ve hücre içi Ca^{+2} hareketini tetikleyen IP3’ün üretilmesine yol açar [110]. Kısacası bu moleküllerin aktivasyonu ile Ras-MAPK gibi çeşitli hücre içi ikinci haberci sistemi kaskatlarının uyarımı ve CREB gibi transkripsiyon faktörlerinin fosforilasyonu aracılığıyla; gen ekspresyonunun düzenlenmesi, nöronal farklılaşma, hayatta kalma ve gelişim esnasındaki nöronal büyüme olayları düzenlenmektedir [185].

TrkB reseptörleri, “tam uzunlukta” (TrkB Full Length; trkB.FL) ve kinaz domaini bulunmayan, “budanmış uzunlukta” (TrkB Truncated; TrkB.T1 ve TrkB.T2) olmak üzere iki farklı formu bulunmaktadır. BDNF’ye atfedilen çoğu fonksiyon TrkB.FL aracılığıyla düzenlenmesine rağmen, TrkB.T reseptörlerinin büyüme, gelişme ve TrkB reseptör ekspresyonu ve fonksiyonunun negatif modülasyonu da dahil olmak üzere çeşitli süreçlerde rolleri olduğu düşünülmektedir. Buna ek olarak bazı çalışmalar, BDNF’nin budanmış Trk reseptörleri aracılığıyla glial Ca^{+2} sinyalini aktive ettiğini ve ayrıca yaralanma durumunda astrositlerdeki BDNF ekspresyonunun arttığını ve böylece nöronal hasarlanmayı düzenleyici rolünün olabileceğini de göstermiştir [179].

Nörotrofinler ve reseptörlerinin farklı anatomik dağılıma sahip olmaları, nörotrofin ailesindeki fonksiyonel farklılıkların altında yatan neden olabilir. Örneğin hipokampüste NGF granül ve piramidal hücre popülasyonlarınca eksprese edilirken TrkA reseptörleri medial septum/diagonal bandından projekte olan kolinerjik lifler üzerinde bulunur. Bu nedenle NGF'nin fonksiyonu daha çok septo-hipokampal fonksiyonları düzenlemek olarak özelleşmiştir. Buna karşın BDNF ve TrkB reseptörü hipokampal temel hücrelerce ve bazı aranöronlarca eksprese edildiği için hipokampal intrinsik ağ içindeki sinyalizasyonları düzenleme işlevi görür. Tüm nörotrofinler içerisinde BDNF ve reseptörü TrkB, hipokampüsün alt bölgeleri boyunca ve yetişkin önbeyni boyunca geniş yayılım gösteren tek sinyalizasyon sistemi olması nedeniyle oldukça önemlidir [186].

BDNF, glutamaterjik nöronlar tarafından sentezlenir, depolanır ve salınır. BDNF'nin bu nöronların dendrit ve akson terminallerinde depolandığı ve aktivite bağımlı olarak salındığı gösterilmiş olmasına rağmen, presinaptik ve/veya postsinaptik salınımın derecesi, merkezi sinir sistemi yolları arasında büyük ölçüde farklılık göstermektedir. Hipokampüsün granül ve piramidal hücrelerinde BDNF, HFS yoluyla uyarıldığında hemen salgılanmak üzere dendritik veziküllerde depolanıyor gibi görünmektedir [187]. Katalitik sinyal dönüştürücü TrkB reseptörleri ise glutamaterjik nöronların hem presinaptik hem de postsinaptik kısımlarında bulunmakla birlikte özellikle NMDA reseptörlerinin konumlandığı postsinaptik yoğunlukta (PSD) bulunuyor olması nedeniyle BDNF/TrkB bağlanmasının, NMDA reseptör fonksiyonunu modüle ettiği düşünülmektedir [188]. Bu özellikleri nedeniyle BDNF, eksitatorik sinaptik iletim ve plastisiteyi iki yönlü (pre ve postsinaptik) olarak düzenleyen bir molekül olarak işlev görür. İlerleyen bölümde BDNF ve reseptörlerinin sinaptik plastisitedeki rollerinin üzerinde durulacaktır.

2.2.2. BDNF ve hipokampal sinaptik plastisite

Tüm nörotrofinler arasında, beyindeki ekspresyon düzeyi ve sinapslar üzerindeki güçlü etkilerinden dolayı BDNF ön plana çıkmaktadır. BDNF'nin erişkin beyindeki temel fonksiyonu, çeşitli beyin bölgelerinde eksitatorik ve inhibitör sinapslar üzerine kısa ve uzun süreli yapısal ve fonksiyonel etki ile sinaptik iletimi düzenlemektir. BDNF'nin beyin sinapslarındaki karmaşık etkilerinin altında yatan birkaç neden vardır. Çünkü hücre içi karmaşık sinyalizasyon kaskatlarını aktive edebilmektedir. Bunun yanı sıra pro-BDNF'nin ve BDNF'nin, TrkB ve p75^{NTR} reseptörleri üzerinden taban tabana zıt etkiler gösteriyor

olması da BDNF'nin etki yelpazesini genişletir. Nöronal aktivite ve sinaptik plastisite arasında BDNF tarafından düzenlenen sinerjik ilişkiler, bilişsel süreçlerle karakterize karmaşık davranışların altında yatan mekanizma olabilir. Bununla ilişkili olarak yapılan sayısız çalışma, BDNF'nin öğrenme ve hafızanın oluşumunun moleküler mekanizması olan LTP süreci için kritik rol oynayan bir molekül olduğunu ortaya koymuştur [189].

Hipokampal nöron kültüründe hücrelerin BDNF ile yıkanması, CA1 hücre sinapslarının bazal sinaptik iletiminde uzun süreli artışa neden olmuştur [190]. Buna karşın yapılan başka çalışmalar benzer prosedür uygulamış fakat BDNF'yi yıkama yoluyla değil de yavaşça perfüze ederek verilmesi, sinaptik iletimde akut bir atış meydana getirmemiştir [191]. BDNF'nin veriliş stiline göre TrkB reseptörünün aktivasyon kinetiği ve etki ettiği sinyalizasyon moleküllerini değiştirmesi farklı iki sonuca neden olmuştur. Çalışmada, BDNF akut olarak uygulandığı zaman, aktivasyon güçlü olmasına rağmen, uygulamadan yaklaşık 2 saat sonra etkisi geçmekteyken, BDNF konsantrasyonu kademeli olarak arttırıldığında, TrkB reseptörünün aktivasyon kinetiği yavaşlamaktadır. Uygulamadan ancak 1 saat sonrasında maksimum değerine ulaşabilmiş, fakat bu süreden sonra aktivasyonunda herhangi bir düşüş meydana gelmeden etkisi 8 saat boyunca sürmüştür. Çalışma, bu farklılığın TrkB reseptör bozunması ya da sentezine bağlı olmadığını ortaya koymuştur. Farklılık BDNF'nin akut olarak değil de kademeli olarak verilmesinin yeni TrkB reseptörlerinin hücre membranına mobilizasyonuna olanak tanıyan süreci sağlamasından kaynaklanmaktadır [192]. Dolayısıyla BDNF'nin akut etkisinden ziyade kronik etkisi daha uzun süreli olup, LTP'nin sürdürülmesini bu mekanizma ile düzenlediği düşünülebilir.

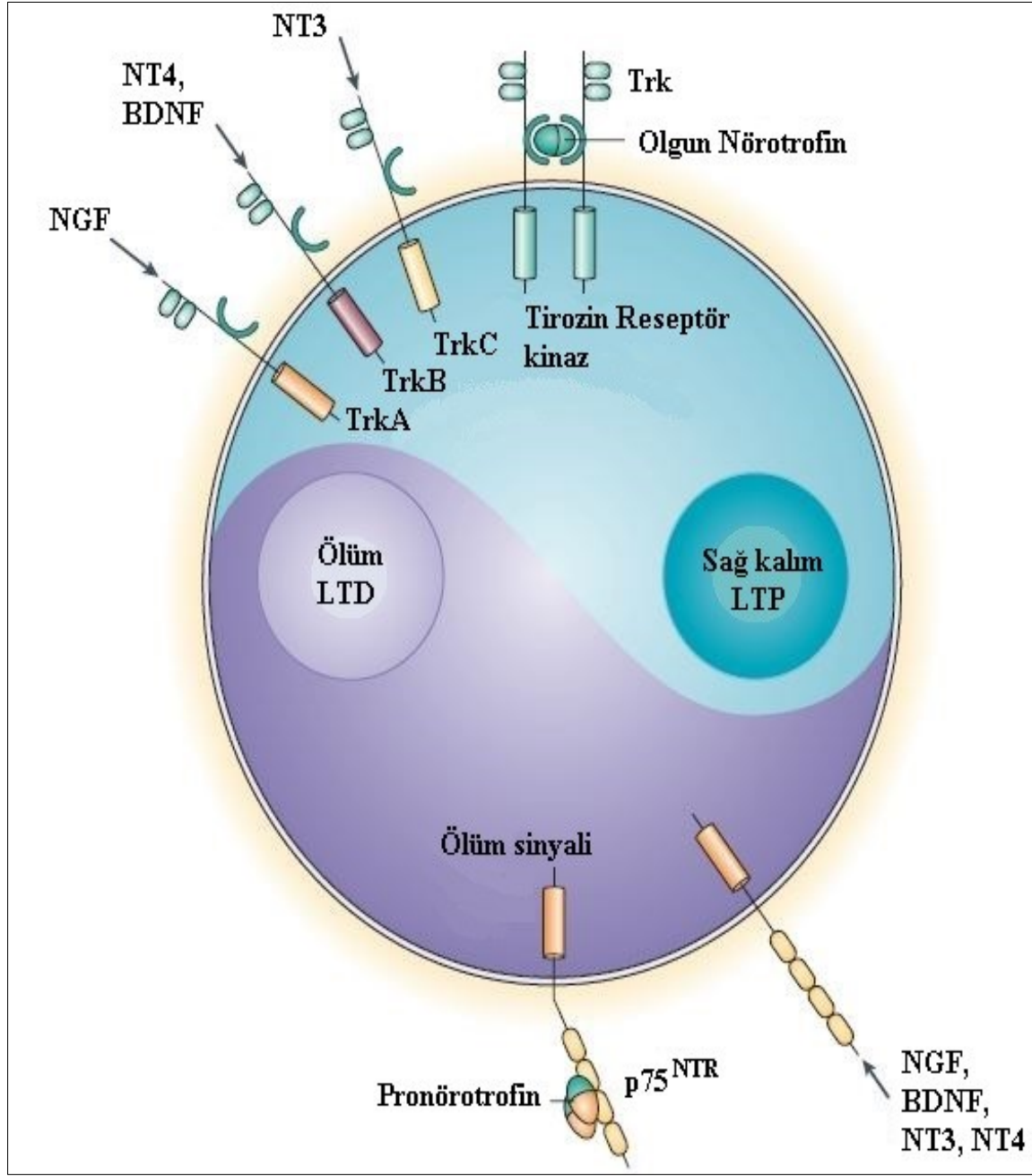
BDNF'nin sinaptik plastisiteye dâhil olabileceğine dair ilk ipucu, hipokampustaki BDNF ekspresyonunun, LTP'yi indüklemek için sıklıkla kullanılan yüksek frekanslı stimülasyon (HFS) ile indüklenebileceği gözleminden kaynaklanmıştır [193]. BDNF, tetanik stimülasyona sinaptik yanıtı arttırarak E-LTP'nin indüklenmesini kolaylaştırdığı, ayrıca sinaptik proteinlerin fosforilasyonu ve dağılımının düzenlenmesi yoluyla sinaptik veziküllerin mobilizasyonunu regüle ettiği düşünülmektedir [194]. Genetik ve farmakolojik çalışmalar BDNF'nin L-LTP için gerekli olduğunu göstermiştir. BDNF (+/-) knockout farelerde, L-LTP'nin indüklenmesinde belirgin bozulmalar olduğunu göstermiştir [195]. Aynı şekilde TrkB knockout (KO) fareler kullanılarak yapılan bir çalışmada da L-LTP bozulmuştur [196]. Ayrıca BDNF knockout fareler, BDNF antikoru

uygulanan ya da TrkB antagonisti verilen fareler, Morris Su Tankı gibi spasiyal öğrenme ve hafıza görevinde başarısız olmuşlardır [2]. Endojen BDNF seviyelerinin yüksek olduğu yetişkin hipokampusünde, TrkB Immünglobulin G (IgG) antikoru kullanılarak BDNF'nin çalışmasının engellemesi sonucunda, LTP'nin magnitudünde azalmalar gözlemlenmiştir. Ayrıca BDNF KO farelerle yapılan genetik çalışmalar, BDNF ekspresyonundaki azalmanın, hipokampal LTP'de belirgin bozulmalara neden olduğunu ortaya koymuştur [5]. Hatta hem heterozigot KO farelerin (+/-) hem de homozigot KO farelerin (-/-) sergilediği LTP bozukluk derecesinin benzer seviyelerde olmasından dolayı LTP'nin indüklenmesi ve/veya sürdürülmesi için belli miktarda hipokampal BDNF'ye ihtiyaç duyulmaktadır [189]. E-LTP'nin indüklenmesini takiben oluşan Immediate-Early Gen (IEG) adı verilen hücre büyümesiyle alakalı genlerden zif268 ve Arc, LTP'nin devamlılığında ve hafızanın sağlamlaştırılmasında rol oynar ve bu genlerin BDNF ile tetiklenen LTP'yi takiben de eksprese edildiği gösterilmiştir [4]. Kısacası BDNF, LTP'yi kolaylaştırmakta ve sürdürülmesi için gerekmekte olup, yeni protein sentezi ile ilişkili olması dolayısıyla sinaptogenezde de önemli roller üstlenmektedir.

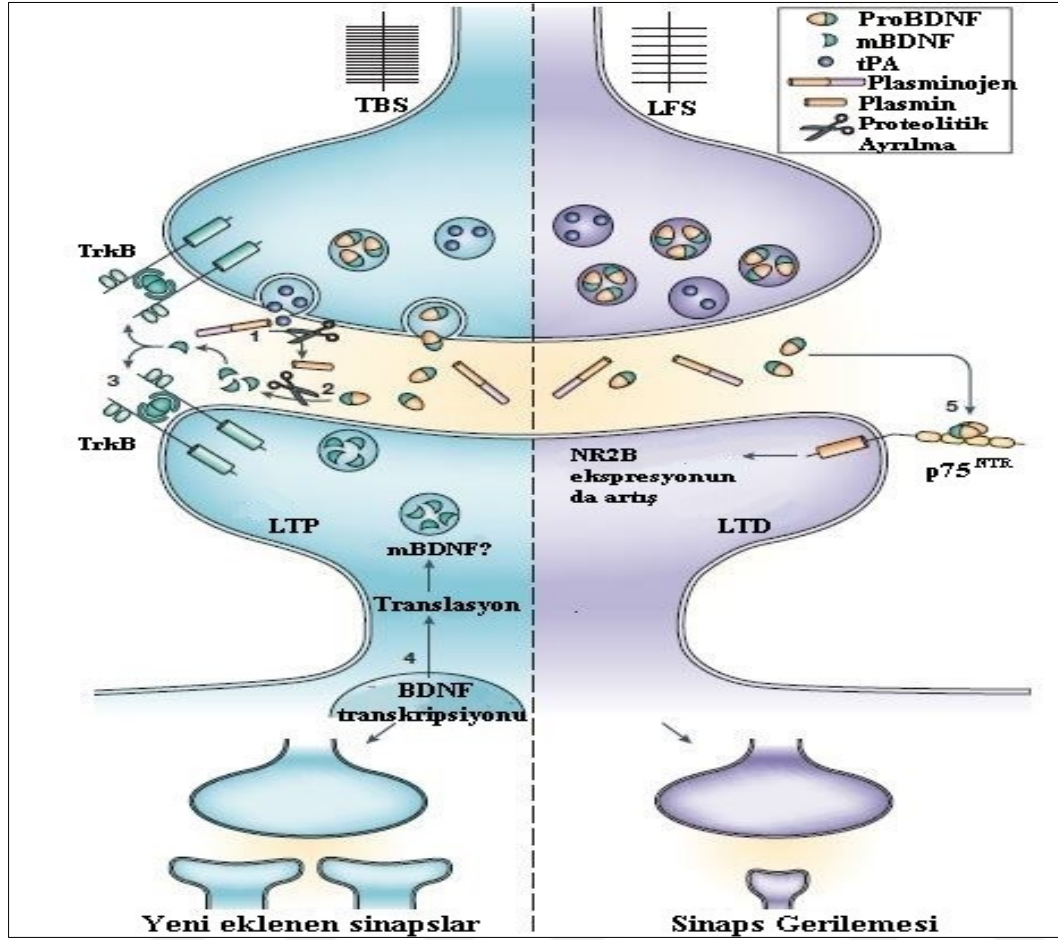
Hipokampüste bir bilginin kodlanması esnasında EEG'de "teta dalgaları" oluşumu gözlenir. Eğer zamanlaması uygun yapılırsa bu teta dalgalarının frekansında dışardan verilen uyarımın yani Teta-Patlaması Uyarımı (Teta-Burst Stimulation; TBS)'nin LTP için etkili bir uyarı olduğu keşfedilmiştir [197]. Hipokampal LTP'yi indüklemek için HFS'ye ek olarak bu TBS uyarımı, bazı çalışmalarca BDNF'nin LTP ve LTD süreçlerindeki ilişkisini aydınlatmak amacıyla kullanılmıştır. Örneğin Aicardi ve ekibi (2004), TBS kullanarak 180 dakikadan uzun süren LTP uyarımının aynı zamanda büyük oranda BDNF salınımını tetiklediğini ve bu salınımın uyarım periyodunun 5-12 dakika sonrasında dahi devam ettiğini gözlemlemişlerdir. Buna karşın, sadece LTP'nin başlangıcını tetikleyen zayıf TBS uygulaması yaptıklarında BDNF salınımında 1 dk'dan az süren küçük bir artış meydana geldiğini gözlemlemişlerdir. Ayrıca LFS uygulaması ile oluşturdıkları LTD'ye, BDNF salınımındaki düşüşün eşlik ettiğini göstermişlerdir [198].

BDNF ve pro-BDNF'nin sinaptik iletimdeki etkisi taban tabana zıttır. TrkB reseptörü aracılığıyla BDNF, nöronal hayatta kalmayı ve LTP'yi tetiklerken, p75^{NTR} reseptörü aracılığıyla pro-BDNF LTD'ye sebebiyet vermektedir. Hatta hücre içi "ölüm sinyali" kaskatını aktive ederek apoptozise neden olabilmektedir. Bai Lu ve meslektaşları (2005), yaptıkları derlemede nörotrofin reptörlerinin bu iki kutuplu etkisini Zen Budizmine ait

“Yin ve Yang Felsefesi”ne benzetmişlerdir (Şekil 2.10). -“*İyinin içinde kötü, kötünün içinde iyi vardır*”- [180]. pro-BDNF ve olgun BDNF aracılığıyla uzun dönem sinaptik düzenleme şu şekilde gerçekleşmektedir. TBS uyarımına yanıt olarak doku plasminojen aktivatörü (tPA) sinaptik aralık içine salınır ve plasmin oluşturmak üzere ekstraselüler proteaz plasminojeni ayırır. Plasmin, aktivite bağımlı salınan pro-BDNF’den olgun BDNF’yi ayrıştırır. Olgun BDNF TrkB reseptörüne bağlanır ve LTP’yi indükleyen hücre içi sinyal yollarını aktive eder. LTP devam ederken, postsinaptik BDNF transkripsiyon ve translasyonu gerçekleştirilir ve hücre içinde proBDNF → olgun BDNF dönüşümü gerçekleştirilebilir. Presinaptik ve postsinaptik membranda bulunan TrkB reseptörleri aracılığıyla olgun BDNF, yeni proteinlerin sentezini uyararak yapısal plastisiteyi tetikleyip yeni sinaps oluşumunu uyarmasıdır. Buna karşılık LFS (düşük frekanslı uyarım) uygulandığında tPA salınmaz ve plasmin oluşumu gerçekleşmez. Bu nedenle pro-BDNF’lerin olgun BDNF’ye dönüşümü gerçekleşmediği için sinaptik aralıkta etki gösterebilir duruma gelerek p75^{NTR} reseptörüne bağlanır. p75^{NTR} reseptörü üzerinden özellikle NMDA reseptör aracılı LTD oluşumunu tetikler. Bunu muhtemelen NMDA reseptör NR2B altbiriminin ekspresyonunu arttırarak gerçekleştirmektedir. Böylece pro-BDNF/p75^{NTR} sinyalizasyonu aktivite bağımlı yapısal plastisitenin negatif dönüşümünü modüle ederek sinaps geri çekilmesine katkıda bulunmaktadır (Şekil 2.11) [180].



Şekil 2.10. Nörotrofinlerin ve pro-nörotrofinlerin reseptörleri aracılı etkileri (Bai Lu ve Ekibinin 2005 yılında yayımlanan “*The Yin and Yang of Neurotrophin Action*” isimli derlemelerinin 604. Sayfasındaki “Figür 1”den alınarak Türkçeleştirilmiştir) [180]



Şekil 2.11. Pro-BDNF'nin olgun BDNF'ye dönüşüm mekanizması ve TBS ile tetiklenen LTP'de BDNF/TrkB kompleksinin etkisi ile LFS aracılığıyla tetiklenen LTD'de pro-BDNF/p75NTR kompleksinin etkisi (Bai Lu ve Ekibinin 2005 yılında yayımlanan “The Yin and Yang of Neurotrophin Action” isimli derlemelerinin 609. Sayfasındaki “Figür 3”den alınarak Türkçeleştirilmiştir) [180]

Nöral devrelerde BDNF'nin sinaptik ve nöronal etkileri özellikle in vitro olarak nöron kültüründe genetik ve farmakolojik çalışmalarla aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Hyungju Park and Mu-ming Poo, 2013 yılında Nature dergisinde yayınladıkları derlemede, bu konudaki birçok çalışmaya yer vererek literatür temelli bir tablo oluşturmuşlardır. Biz de bu tablodan yola çıkarak konuyu özetlemeye çalışacağız [3]. BDNF nörotransmitter salınımını TrkB reseptörüne bağlanarak, Ras-MAPK ve PLC γ -IP $_3$ yolaklarını aktive ederek artırır. Postsinaptik nöronda ise; hücre yanıtını, NMDA reseptör iletkenliğini ve membran AMPA reseptör seviyesini artırırken membran GABA $_A$ reseptör ekspresyonunu azaltır. Ayrıca CaMKIV ve MAPK yolakları aracılığıyla CREB fosforilasyonunu artırarak gen ekspresyonunu düzenler. Dendritik büyümeyi, spin yoğunluğunu ve sinaptik

proteinlerin ekspresyonunun arttırılmasını PI3K-AKT ve Ras-MAPK sinyal yollarını aracılığıyla sağlar [3].

Yakın zamanda yapılan Alzheimer Hastalığı hayvan modeli çalışmalarına göre bilişsel bozukluklar, hipokampus ve prefrontal korteksteki düşük BDNF düzeyi ile ilişkili olabilir [6]. Ayrıca Demans hastalarında, hastalık belirtileriyle serum BDNF düzeyi arasında belirgin bir negatif korelasyon olduğu gözlemlenmiştir [199]. Alzheimer Hastalığı hayvan modeli çalışmalarında ve bilişsel olarak bozulmalar oluşturulan yaşlı sıçan modellerinde oluşan öğrenme ve hafıza bozuklukları ve sinaps kaybı, BDNF verilerek geri dönüştürülebilmektedir [7]. Öğrenme ve hafızanın moleküler süreci olan LTP'deki etkileri ve hem sinaptogenez hem de nöroenezdeki rolleri düşünüldüğünde, hafıza ve bilişsel bozukluklar ile seyreden hastalıkların patolojisinin altında yatan nedenlerden birisi olabileceği ve/veya bu hastalıklar için olası tedavi yöntemi olarak umut vaat edebileceği düşünülmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan araç ve gereçler

Kimyasallar	Adedi-Miktarı	Kullanıldığı Yerler
İnsan Rekombinant BDNF proteini (ProSpec, İsrail)	140 µg	İnfüzyon aşamasında
PBS (Phosphate-Buffered Saline) (PBS404.100, BioShop Canada)	1 Kutu	İnfüzyon aşamasında
GluR1 Primer Antikoru (Abcam, Cambridge, UK)	100 µg	İmmünohistokimyasal işlemde
Sekonder Polivalent Kit	1 Adet	İmmünohistokimyasal işlemde
Alfamin	2 Adet (10 ml)	Anestezi işleminde
Alfazin	1 Adet (30 ml)	Anestezi işleminde
Ksilol	5 L	İmmünohistokimyasal işlemde
%100'lük alkol %96'luk alkol %80'lik alkol	15 L	İmmünohistokimyasal işlemde
Distile Su		İmmünohistokimyasal işlemde
1 M Sitrat Tamponu (pH: 6.0)	1 L	İmmünohistokimyasal işlemde
%3'lük Hidrojen Peroksit	100 ml	İmmünohistokimyasal işlemde
Harris'in Hematoksileni	100 ml	İmmünohistokimyasal işlemde
Entellan	100 ml	İmmünohistokimyasal işlemde
%10'luk Nötral Formaldehit	1 L	İmmünohistokimyasal işlemde
10X EDTA Buffer	1 L	İmmünohistokimyasal işlemde
Ultra V Block (LifeTech)	250 ml	İmmünohistokimyasal işlemde
Gereç ve Cihazlar	Adedi-Miktarı	Kullanıldığı Yerler
Ozmotik Mini Pompa (ALZET 1007D, Alza Scientific Products, Palo Alto, CA)	10 Adet (1 Kutu)	İnfüzyon Aşamasında
Beyin İnfüzyon Kiti (ALZET Brain Infusion Kit 2, Alza Scientific Products, Palo Alto, CA)	10 Adet (1 Kutu)	İnfüzyon Aşamasında
Polilizinli Lam	4 Kutu	İmmünohistokimyasal işlemde
Lam Saklama Kutusu	100'lük 2 Adet	İmmünohistokimyasal işlemde
Stereotaksik Aparat (Stoelting, USA)	1 Adet	Stereotaksi işleminde
Buzdolabı (Arçelik, Türkiye)	1 Adet	Kullanılacak kimyasalların saklanması
Derin Dondurucu -80°C (Sanyo, Japonya)	1 Adet	Kullanılacak kimyasalların ve doku örneklerinin saklanması
Elektronik Tartı (Sartorius Basic, Almanya)	1 Adet	Kullanılacak kimyasalların hazırlanmasında, hayvanların ve dokuların ölçümünde
Morris Su Tankı	1 Adet	Davranış deneyinde
Termometre	1 Adet	Davranış deneyinde
Işık Mikroskobu (Olympus BH2)	1 Adet	İmmünohistokimyasal görüntüleme işleminde

Çizelge 3.1. (devam) Çalışmada kullanılan araç ve gereçler

Gereç ve Cihazlar	Adedi-Miktarı	Kullanıldığı Yerler
Etüv (İsolab LIB-060M)	1 Adet	Doku Deparafinizasyonu
Mikrodalga Fırın (Arçelik MD574)	1 Adet	IHC Retrieval Aşaması
Pap Pen	1 Adet	İmmünohistokimyasal işlemde
Leica DCM 4000 Görüntüleme Sistemi (Leica DCM 4000, Almanya)	1 Adet	İmmünohistokimyasal görüntüleme işleminde
Leica Q Vin 3 Programı (Almanya)	1 Adet	İmmünohistokimyasal görüntüleme işleminde
Mikropipetler (Gilson, Amerika)	Çeşitli hacimlerde	Kimyasalların hazırlanmasında
Eppendorf Tüpler	Farklı Hacimlerde	Kimyasalların hazırlanmasında
Steril Enjektör (Hayat, Türkiye)	5 ml'lik 30 adet	Anestezik maddelerin verilmesinde
Otomatik IM Doku Takip Cihazı (Leica TP 1020, Almanya)	1 Adet	Doku Takibi
Cerrahi Set	1 Kutu	Dokuların Disekte Edilmesi
Paraffin Kazanı (Leica EG 1120)	1 Adet	Dokuların Parafin Bloklar Haline Getirilmesi
Mikrotom (Leica RM 2245)	1 Adet	Kesit Alma
Su Banyosu (Biokam)	1 Adet	Kesit Alma

3.1.1. Deney hayvanları

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 01/2017-26 proje numarasıyla desteklenmiştir. Bu çalışma 02.03.2017 tarihinde düzenlenen Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 2 no'lu toplantısında G.Ü.ET-17.011 koduyla onaylandı. (Ek-1 ve Ek-2) Çalışmamızda Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden (GÜDAM) temin edilen 60 günlük ya da yetişkin, ağırlıkları 200-250 gram arasında değişen toplam 10 adet Long-Evans türü dişi sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar üzerinde yapılan tüm deneyler GÜDAM laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Long-Evans sıçanlar, Wistar dişi sıçan ile vahşi tip erkek gri sıçanın birkaç kez çaprazlanması sonucu üretilmiş ve sırt-kafa bölgeleri kahverengi veya siyah, geri kalan bölgeleri beyaz olan sıçanlardır [200]. Çalışma için bu sıçan türünün seçilmesinin nedeni hem bu konuda literatürde sıkça tercih edilen bir tür olması hem de yapılacak işlemler açısından en uygun profile sahip olmasıdır. Özellikle deney kapsamında gerçekleştirilen stereotaksik ameliyat ve pompa implantasyonu esnasında hayvanların yaşayabilecekleri stres göz önüne alınarak, bahsi geçen türün stres eşiklerinin oldukça yüksek olması da bu seçimin nedenleri arasında yer almaktadır. Deneyde kullanılacak dişi sıçanlar ameliyata alınmadan önce vajinal smear

yaymaları alınıp östrüs siklusları kontrol edilerek, özellikle aynı östrüs dönemlerinde olan sıçanlar tercih edildi.

Sıçanların her biri ayrı kafeslerde 12 saat aydınlık-karanlık siklusunda, $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'lik ortamda, standart sıçan yemi ve musluk suyu ile serbest olarak beslendi. Deneye başlamadan önce ve deney süresince periyodik olarak, tüm hayvanlar tartılarak ağırlıkları ve ağırlık değişimleri not edildi.

Sıçanlar rastlantısal bir şekilde Kontrol Grubu (KG, n=5) ve Deney Grubu (DG, n=5) olmak üzere 2 gruba ayrıldı (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Grupların ayrıntılı deney koşulları

	HAYVAN SAYISI (n)	OZMOTİK MİNİPOMPA İMLANTASYONU	VERİLEN MADDELER	DAVRANIŞ DENEYİ (MORRİS SU TANKI)
1.Grup (Kontrol Grubu, KG)	5	+	PBS (Fosfat Tamponlu Salin)	+
2.Grup (Deney Grubu, DG)	5	+	BDNF (Beyin Kökenli Nörotrofik Faktör)	+

1.Grup (Kontrol Grubu, KG, n=5): Bu gruptaki hayvanların sağ hipokampusüne anestezi altında stereotaksik olarak, kontrol maddesi PBS ($4\text{ }\mu\text{g/gün}$) ile dolu olan ozmotik minipompalar implante edildi [201, 202]. İmlante edilen pompalar 7 gün boyunca kontrol maddesini sağ hipokampüse $0,5\text{ }\mu\text{l/saat}$ olacak şekilde pompalarken, bu süreçte hayvanların yara bölgelerinin iyileşmesi sağlandı. İnfüzyonu takiben, verilen maddenin yayılması ve uzun süreli etkisinin gözlenebilmesi adına 7 gün daha beklendi. Stereotaksik uygulamadan 15 gün sonra hayvanlar Morris Su Tankı Davranış Testine sokularak, hedef bölge olan sağ hipokampüste aktivite artışı sağlandı. Davranış Testini takiben, hayvanlar derin anestezi altında intrakardiyak kan alınması ile feda edildi. Dekapitasyon işleminden hemen sonra beyinleri çıkartılarak immünohistokimyasal inceleme için önceden hazırlanmış %10'luk formaline alınarak tespit edildiler (Şekil 3.1).

2.Grup (Deney Grubu, DG, n=5): Ameliyat günü bu gruptaki sıçanların sağ hipokampüsüne anestezi altında stereotaksik olarak, etkisi araştırılan insan rekombinant BDNF proteini (4 µg/gün, 0,1 M PBS içerisinde) ile doldurulan ozmotik minipompalar implante edildi [201, 201]. İmplant edilen pompalar 7 gün boyunca kontrol maddesini sağ hipokampüse 0,5 µl/saat olacak şekilde pompalarken, bu süreçte hayvanların yara bölgelerinin iyileşmesi sağlandı. İnfüzyonu takiben, verilen maddenin yayılması ve uzun süreli etkisinin gözlenebilmesi adına 7 gün daha beklendi. Stereotaksik uygulamadan 15 gün sonra hayvanlar Morris Su Tankı Davranış Testine sokularak hedef bölge olan sağ hipokampüste aktivite artışı sağlandı. Davranış Testini takiben, hayvanlar derin anestezi altında intrakardiyak kan alınması ile feda edildi. Dekapitasyon işleminden hemen sonra beyin dokuları çıkartılıp, immünohistokimyasal inceleme için önceden hazırlanan %10'luk formaline dikkatlice alınarak tespit edildiler (Şekil 3.1).

Deney hayvanlarına verilen maddelerin konsantrasyonlarının belirlenmesi

BDNF (4 µg/gün): Dışarıdan BDNF verilerek yapılan in vivo çalışmalar konsantrasyon açısından oldukça çeşitlilik göstermektedir. Bu açıdan literatür tek enjeksiyon yapılan çalışmalar [203, 204] ve infüzyon yoluyla devamlı verilen çalışmalar [7, 201] olarak 2 başlıkta incelenmiştir.

Cirulli ve ekibi, BDNF (24 µg) ve anti-BDNF (25 µg)'nin hafıza üzerine etkilerini sıçanlarda in vivo olarak test etmek için, sol serebral ventriküle tek enjeksiyonla vererek Morris Su Tankı testine tabi tutmuşlar fakat çalışmanın yapıldığı gruplar arasında anlamlı sonuçlar elde edememişlerdir [203].

Xu ve ekibinin çalışmasında ise, BDNF dışarıdan sağ perforant yoluna verilerek hipokampal hipereksitabilite ve epileptiform aktivite üzerine olan etkisine bakılmıştır. Ekip, çalışmasında BDNF'yi hem tek enjeksiyon olarak (konsantrasyon: 1µg/µl, enjeksiyon volümü: 0.5 µl, enjeksiyonlar ameliyattan sonra 4, 8 ve 12. günlerde yapılmıştır.) hem de devamlı infüzyon olarak (konsatrasyon: 1µg/µl, infüzyon oranı: 12 µl/gün, infüzyon periyodu: 14 gün) vermiş ve sonucunda tek enjeksiyonun epileptiform aktiviteyi arttırdığını buna karşın devamlı infüzyonun ise baskıladığını bulmuşlardır [204].

Pencea ve ekibi ise, BDNF infüzyonunun yetişkin sıçan ön beyin bölgelerindeki hücrelerin proliferasyonuna ve/veya farklılaşmasına etkisi olup olmadığını araştırmışlardır. Bunun için BDNF (12µg/12µl/gün, 0.1 M PBS de çözünmüş olarak) hücre proliferasyon belirteci Bromodeoksiüridin (BrdU) ile beraber sağ lateral ventriküle 12 gün boyunca verilmiş ve anlamlı sonuçlar elde edilmiştir [201].

BDNF'nin Alzheimer üzerine olan etkilerini araştıran Li ve ekibi ise, yaşlı ve bilişsel olarak bozulmalar gösteren sıçanların ve genç kontrol grubu sıçanlarının Nükleus Akkumbens'ine BDNF'yi (0.5 µl/dk oranında, 5 µl/yarı küre) bilateral olarak 4 hafta boyunca haftada 3 er gün olacak şekilde infüze etmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda dışarıdan verilen BDNF'nin, yaşlı ve bilişsel olarak bozulmalar gösteren sıçanların Morris Su Tankı performanslarında artış meydana getirerek, genç kontrol grubunun performanslarına yakın değerlere ulaşmasını sağladığı gösterilmiştir [7].

Görüldüğü üzere BDNF ile ilgili yapılan çalışmalar yöntem, kapsam ve zamansal olarak farklılıklar göstermektedir. Hiç şüphesiz gelecekte de bu çalışmaların artarak devam edeceği öngörülebilmektedir. Gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada ise maddi kaynaklar ve projenin süresi göz önüne alınarak, Mamounas ve ekibinin yaptığı çalışma baz alındı [205] Esasında araştırmacılar bu çalışmayı etkin BDNF miktarının ne olması gerektiğini ortaya koymak üzere gerçekleştirdiklerinden, bizim uygulayacağımız miktarın kararlaştırılması adına yol gösterici oldu.

Mamounas ve ekibi bu çalışmasında, bir nörotoksin olan *p*-kloroamfetamin (PCA)'in etkisiyle oluşan kortikal serotonerjik (5-HT) akson kayıplarına, BDNF'nin engelleyici ve trofik etkisini araştırmışlardır. BDNF infüzyon metodu ve sıçan korteksinde 5-HT aksonları üzerinde BDNF'nin nörotrofik etkilerini karakterize etmek için BDNF'yi farklı gruplara günde 0.1 µg, 0.4 µg, 1 µg, 4 µg, 12 µg ve 36 µg olacak şekilde vermişlerdir. Sonuç olarak BDNF'nin, PCA'nın yarattığı akson kayıplarını engelleyici etkisinin olmadığını ama 5-HT akson dallanmalarını, özellikle 4 ve 12 µg verilen gruplarda anlamlı olarak arttırdığını gözlemlemişlerdir [205].

Mamounas ve ekibinin gözlemlerinin ışığında biz de çalışmamızda, BDNF için kullanılan dozu 4 µg/gün olarak belirledik.

PBS (4 µg/gün): Deney grubundaki sıçanlara verilen BDNF, PBS içerisinde çözünerek verildiği için kontrol maddesi olarak PBS kullanıldı.

Ötenazi ve sonrasındaki işlemler

Davranış deneyinin bitiminden bir gün sonra tüm gruptaki sıçanlar, intramusküler olarak %10 luk Ketamin-%2 lik Ksilazin (5-8 mg/kg Ketamin + 75-90 mg/kg Ksilazin) derin anestezisi altında intrakardiyak kan alınmasından sonra sakrifiye edilerek deney sonlandırıldı. Ötenazi işleminden hemen sonra sıçanlar dekapite edilerek, beyinleri çıkartılıp %10'luk formaldehite alındı ve analizlerinin yapılacağı güne kadar tespit edilerek saklandı.

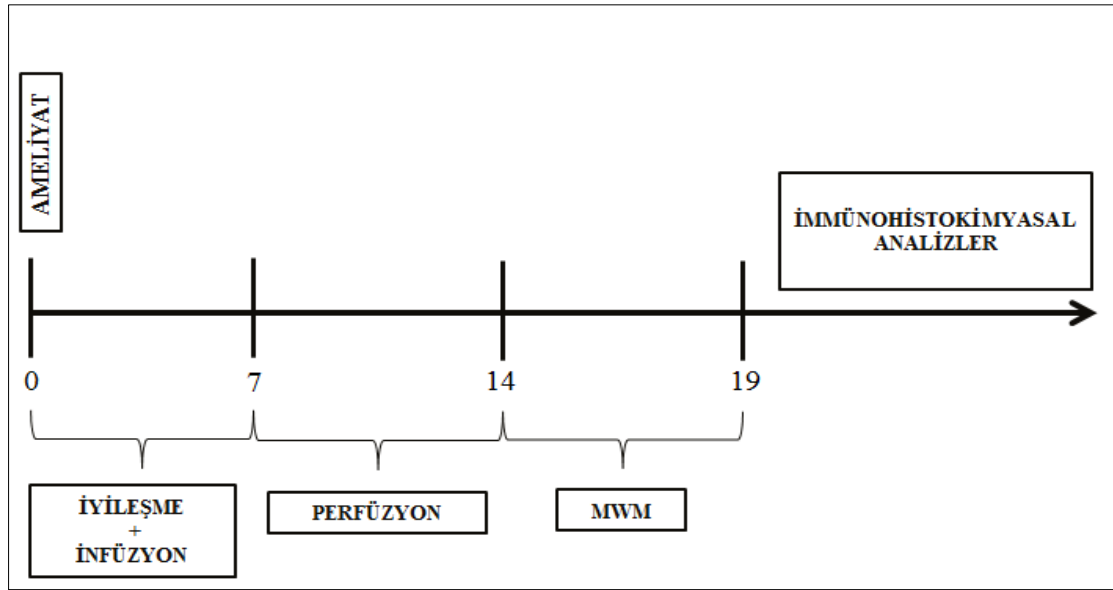
Çalışma süresince ölçülen parametreler:

1. Vücut ağırlıklarının tespiti (çalışmanın başında, sonunda ve deney süresince düzenli aralıklarla)
2. Sıçanların östrus sikluslarının incelenmesi (Vajinal Smear Yöntemiyle)
3. Sıçanların davranış-performans verilerinin tespiti (Morris Su Tankı Yöntemiyle)

Çalışmanın bitiminde hipokampus dokusunda bakılan parametreler:

1. GluR1 reseptörü (İmmünohistokimyasal Yöntemle)

Uygulama takvimi



Şekil 3.1. Deney uygulama takvimi

3.2. Yöntemler

3.2.1. Östrus sikluslarının tayini

Vajinal Smear Yayma

Sıçanların östrus siklusları kadınlardaki menstruasyon döngüsüne benzer bir süreç olup, mevsimsel şartlardan bağımsız, yaklaşık olarak 4-5 günde bir tekrar eden bir döngüdür. Proöstrus, östrus, metaöstrus ve diöstrus olmak üzere 4 evreden oluşmakta olup mevsimsel şartlardan bağımsız bir süreçtir. Estradiol (Östrojen) seviyeleri metaöstrus döneminde artmaya başlar, proöstrus döneminde maksimum seviyelerine ulaşır ve östrus döneminde taban seviyelerine geri döner [206].

Deney süreci başlamadan önce dişi sıçanların östrus sikluslarının hangi dönemlerinde olduğunun tayini vajinal smear yayma yöntemiyle bakıldı. Seçilen sıçanların özellikle aynı östrüs dönemlerinde olmasına dikkat edildi. Bunun için steril bir kulak çubuğu yardımıyla sıçanların vajinal sıvıları alınarak bir lam üzerine bu sıvının yayması yapılarak, ışık mikroskobu altında incelendi. KG ve DG gruplarında kullanılan dişi sıçanlar östrus sikluslarının “östrus” evrelerinde iken deney süreci başlatıldı.

3.2.2. Deney hayvanlarına verilecek kimyasalların hazırlanması

Kontrol grubu için PBS

Kontrol grubuna (KG, n=5) ozmotik minipompalar (ALZET 1007D, Alza Scientific Products, Palo Alto, CA) yardımıyla verilecek olan PBS'ler, stereotaksik ameliyattan bir gün önce steril kabinde hazırlandı. Bunun için 500 ml'lik steril bir beher tüpünde 300 ml didistile su (ddH₂O) ile 3 adet PBS tablet (PBS404.100, BioShop Canada), manyetik karıştırıcı kullanılarak karıştırıldı (1 tablettten 100 ml PBS elde edildiği için). Karıştırma işleminin sonunda hazırlanan solüsyon pH metre yardımıyla pH: 7.4 olacak şekilde ayarlandı. Hazırlanan solüsyondan 600 µl PBS ozmotik minipomplara doldurulmak üzere ependorfa alındı. Arta kalan çözelti pompaların astarlanması sürecinde kullanılmak üzere 250 ml'lik steril behere aktarılarak ağzı dikkatlice parafilm ile kapatıldı.

Deney grubu için BDNF

Deney grubuna (DG, n=5) ozmotik minipompalar (ALZET 1007D, Alza Scientific Products, Palo Alto, CA) yardımıyla verilecek olan rekombinant BDNF proteini (ProSpec, İsrail)(4 µg/gün, 0,1 M PBS içerisinde çözdürülerek) stereotaksik ameliyattan bir gün önce steril kabinde hazırlandı. Bunun için öncelikle BDNF çözücüsü PBS, 300 ml pH=7.4 olacak şekilde ayarlandı. Çalışmamızda, 10 µg'lık 4 adet tüp ve 100 µg'lık 1 adet tüp olmak üzere toplam 140 µg insan rekombinant BDNF proteini deneyde kullanılmak üzere elimizde bulunmaktadır. Hazırlanan 300 ml PBS'ten, önce 100 µl PBS otomatik pipet yardımıyla alınıp 10 µg'lık ilk BDNF tüpüne konuldu ve dikkatlice pipetaj yapılarak homojen bir biçimde PBS ile BDNF proteinin karıştırılması sağlandı. Tüpteki karışımın tamamı alınarak ikinci 10µg lık BDNF tüpüne aktarıldı. Hafifçe pipetaj yapılarak tüp içerisindeki tüm BDNF proteininin karışıma geçmesi sağlandı. Ardından ikinci tüpteki yeni karışımın tamamı alınarak üçüncü 10 µg'lık BDNF tüpüne aktarıldı ve yine aynı şekilde tüp içerisindeki tüm proteinin karışıma aktarılması sağlandı. Bu işlem dördüncü 10 µg'lık tüpe de yapıldı ve akabinde elde edilen karışım son olarak 100 µg'lık BDNF tüpüne alındı. Yukarıda sıralanan işlemler her seferinde 100 µl PBS ile toplam 5 kere tekrarlandı ve böylece tüplerde protein kalması ihtimali en aza indirgenmiş oldu. Sonuç olarak 4ozmotik minipomplara doldurulmak üzere, 100 µg'lık BDNF tüpünde 500 µl PBS ve

140 µg BDNF proteini karıştırıldı. Hazırlanan bu karışımdan pompalara teker teker dolum yapıldı.

3.2.3. Ozmotik minipompaların doldurulması ve astarlanması

Pompalar stereotaksik ameliyatın yapılacağı günden bir gün önce dolduruldu çünkü astarlanma prosedürü gereği doldurulmuş pompaların steril %0.9'luk salin çözeltisi ya da PBS içerisinde en az 4-6 saat (tercihen 1 gün) bekletilmesi gerekmektedir. Ozmotik minipompalar sıçanların vücuduna implante edileceği için kontaminasyonun minimuma indirgenmesi açısından pompaları doldurma ve astarlama işlemleri steril kabinde gerçekleştirildi. Ozmotik minipompaların doldurulması ve astarlanması işlemleri Alzet 1007D kitindeki kullanım talimatı adımlarına uygun olacak şekilde yapıldı.

Pompa doldurma işlemi için öncelikle, 1007D ozmotik mini pompa kutusunda bulunan steril akım moderatörünün üzerindeki başlık çıkartıldı. Ardından Beyin İnfüzyon Kit 2 (ALZET Brain Infusion Kit 2, Alza Scientific Products, Palo Alto, CA)'deki steril kanül, akım moderatörünün ucuna takıldı. Steril ozmotik minipompa (ALZET 1007D, Alza Scientific Products, Palo Alto, CA) kutusundan çıkartılarak özellikle dik pozisyonda tutulmasına dikkat edildi. Steril bir insülin enjektörü, 1007D ozmotik minipompa kitinde bulunan steril dolum tüpünün arkasına yerleştirildi. Kontrol grubu için hazırlanan PBS solüsyonundan dolum tüpü vasıtasıyla her bir pompa için 100 µl olacak şekilde PBS çekildi. Deney grubu için hazırlanan 140 µg BDNF/500 µl PBS karışımından her seferinde dikkatlice pipetaj yapılarak her bir pompa için yine 100 µl haciminde karışım dolum tüpü ile çekildi.

Dolum tüpü, pompanın delikli ucundan deliğin içine iğne ucunun tamamı girecek şekilde dikkatlice sokuldu ve bu işlem esnasında pompanın dik pozisyonunun korunması sağlandı. Hava kabarcığı oluşmamasına dikkat edilerek enjektördeki 100 µl PBS ya da PBS'de çözdürülen BDNF proteini pompanın içerisine yavaşça dolduruldu. Pompa içi kuvvetli basıncından kaynaklı az bir miktar taşma gözlemlendi ve bu taşma alkollü peçete vasıtasıyla alındı. Alzet ozmotik mini pompaların kullanım talimatında da belirtildiği gibi bu taşma beklenen bir durumdu ve verilecek maddenin miktarını etkilemedi.

Ucuna kanül bağlanmış olan akım moderatörü pompaya takıldı ve ardından önceden hazırlanmış steril PBS ile dolu beher içerisine dikkatlice yerleştirilerek kanül uçları dışarı gelecek şekilde ayarlandı. Beherin ağzı kanüller sabit duracak şekilde parafilm ile dikkatlice kapatıldı. Ertesi gün yapılacak implantasyon işlemine kadar pompalar bu konumda steril kabin içerisinde bir gece boyunca bekletildi ve bu şekilde astarlanması sağlandı.

3.2.4. Stereotaksi

Dentat girusun stereotaktik koordinatları Paxinos ve Watson'ın sıçan beyin atlasına göre belirlenerek: -3.8 mm AP (anteroposterior), 2.0 mm ML (mediolateral) ve dura'dan -3.2 mm DV (dorsoventral) olacak şekilde ayarlandı [207]. Deneye başlamadan önce belirlenen koordinatların doğruluğu metilen mavisi kullanılarak test edildi (Resim 3.1).



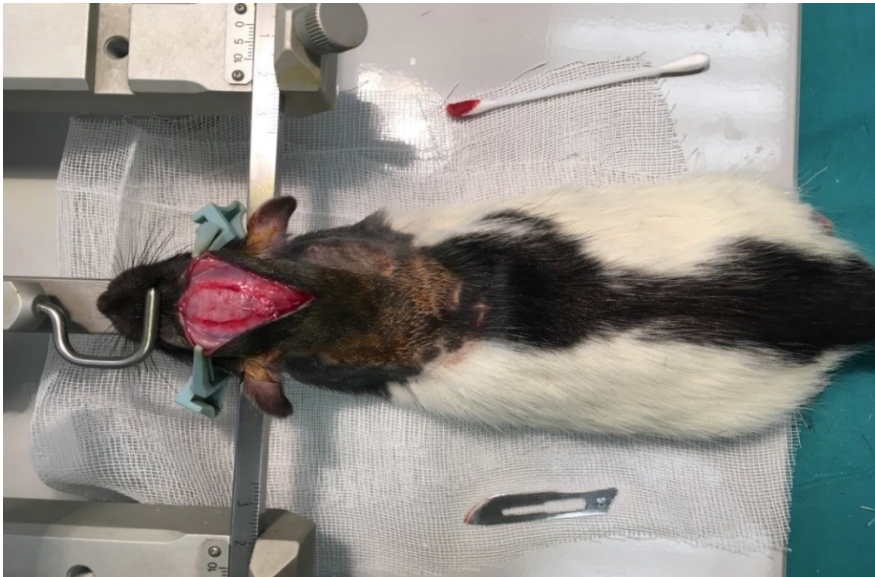
Resim 3.1. Hipokampusun dentat girusunun sıçan beyin atlasına göre belirlenmiş koordinatlarının metilen mavisi kullanılarak doğruluğunun gösterilmesi

Hayvanlar intramusküler (im.) olarak %10'luk Ketamin-%2'lik Ksilazin (5-8 mg/kg Ketamin + 75-90 mg/kg Ksilazin) derin anestezisi altında stereotaksik cihaza (Stoelting, USA) kondu. Sıçanlar stereotaksik aparata kulak deliklerinden yerleştirildi ve ardından ağızları da aparata koyularak hayvanlar sabitlendi (Resim 3.2).



Resim 3.2. Stereotaksik aparata sabitlenmiş sıçan

Ameliyata başlamadan önce sıçanların kafaları insizyon bölgesini kapsayacak şekilde batikonla temizlendi ve akabinde bistüri kullanılarak insizyon bölgesi açıldı. Kafatası kemiği görülecek şekilde insizyon bölgesi iyice temizlendi. Saç kurutma makinesi yardımıyla bregmanın görünürlüğü arttırıldı. Bu esnada hayvanın hassas kulaklarının zarar görmemesi için parmaklar yardımıyla üzerleri kapatıldı. Stereotaksik aparatın ucu bregmaya gelecek şekilde ayarlandı. Bregma referans noktası olarak alınarak yukarıda belirtilen dentat girusun AP ve ML koordinatları ayarlandı. Motor pedalı yardımıyla belirlenen koordinattan freze ile kafatasına delik açıldı (Resim 3.3).



Resim 3.3. Stereotaksik ameliyat

Beyin infüzyon kit 2' nin içerisinde çıkarılan infüzyon kanülü, bir gece önce hazırlanmış steril pompaların ucuna takıldı. İnfüzyon kanülünün ucuna yine beyin infüzyon kit 2'nin içinden çıkarılan yüksekliği 0.5 mm olan yastıklardan 3 tane takılarak dentat girus için DV olarak istenen derinlik ayarlandı. Ardından kafatasında açılan deliğe infüzyon kanülü dikkatlice yerleştirildi. Freze kullanılarak kafatasında çok derin olmayan yeni bir delik açılarak dental çemenin sabitlenmesi için bu bölgeye dikkatlice gözlük vidası yerleştirildi. İnfüzyon kanülü ve gözlük vidasının üzerine dental çemen dökülerek kanülün kafatasında sabitlenmesi sağlandı (Resim 3.4).



Resim 3.4. Alzet Beyin İnfüzyon Kit 2'nin ve Alzet 1007D Ozmotik Minipompa'sının stereotaksik ameliyat ile yerleştirilmesi

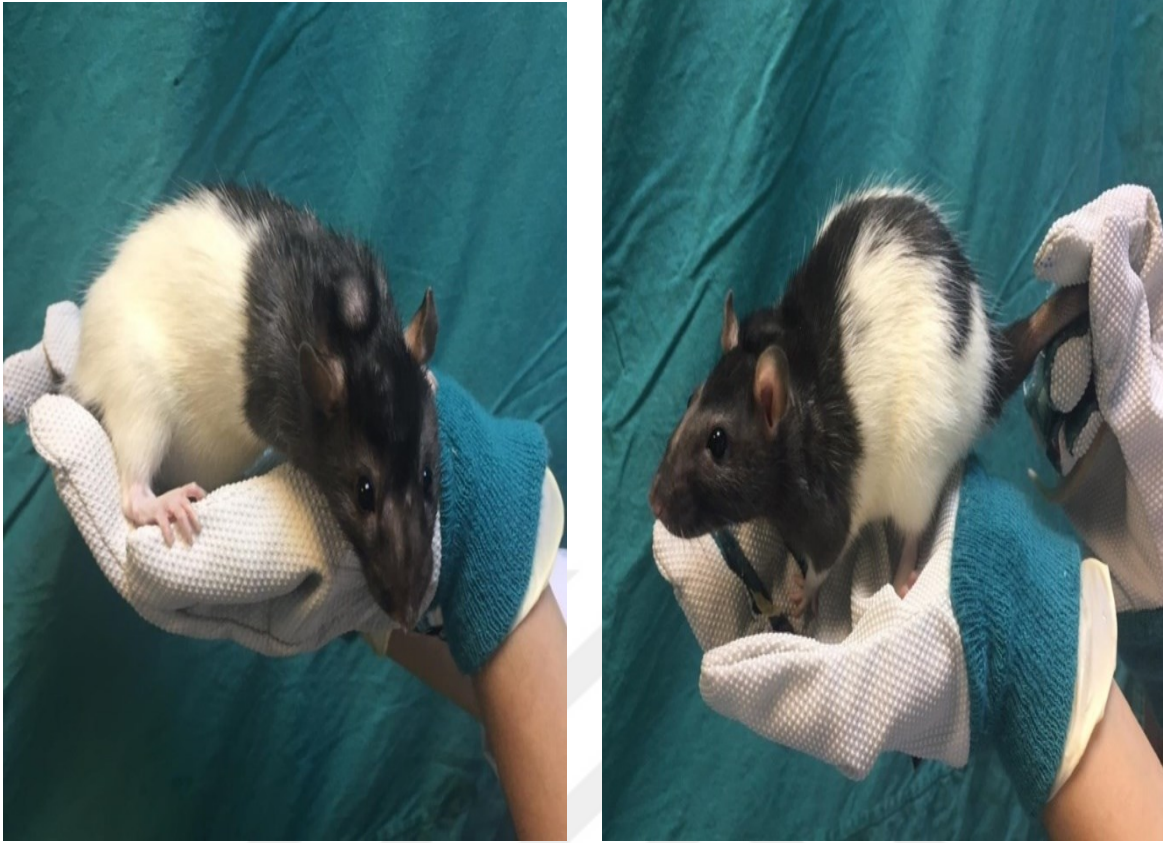
Dental çemenin kurumasını takiben Ozmotik minipompa hayvanın skapula kemiklerinin arasına denk gelecek subkutan olarak açılan cebin içerisine yerleştirildi ve insizyon bölgesi kapatılarak batikon yardımıyla temizlendi (Resim 3.5).



Resim 3.5. Stereotaksik ameliyat bitiminde insizyon bölgesinin kapatılması

3.2.5. İnfüzyon ve perfüzyon aşaması

Stereotaksik ameliyat ile implante edilen Alzet 1007D Ozmotik mini pompalarının infüzyon süresi 7 gündür. Bu 7 günlük süreçte pompalar saatte 0.5 μ l olacak şekilde pompalama yaparlar. Pompanın avantajlarından biri, hayvanlara verilecek olan maddelerin bir anda yüksek doz şeklinde değil, 7 gün boyunca belirli salınım oranıyla azar azar veriliyor olmasıdır. Diğer avantajı ise, pompanın vücutta kendiliğinden bu salınımı yapıyor olması ve deneyi yapan kişinin eksojen verilecek maddeleri tekrar tekrar hayvanın vücuduna müdahale ederek vermesini engelliyor olmasıdır. Böylece infüzyon aşaması ile stereotaksik ameliyat sonrası hayvanların insizyon bölgelerinin iyileşmesi için uygun süre de tanınmış olmaktadır. (Resim 3.6) 7 günlük infüzyon sürecini takiben, hipokampüse verilen maddelerin dokuya iyice yayılması için hayvanlar 7 günlük perfüzyon sürecine girmişlerdir.



Resim 3.6. İnfüzyon ve perfüzyon süresince iyileşmiş sıçanlar

3.2.6. Davranış deneyi

Uzaysal öğrenme ve bellek deneyi

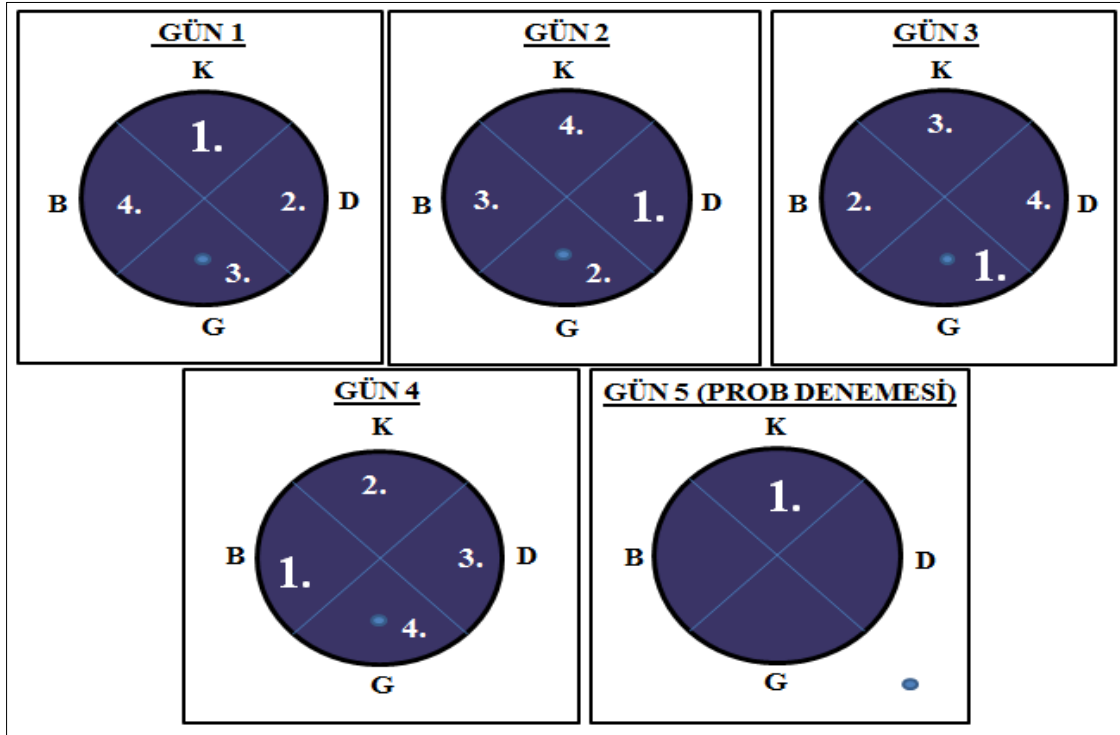
Çalışmada uzaysal öğrenme ve uzaysal referans belleğinin ölçümü Morris Su Tankı kullanarak yapıldı. Deney hayvanı, içi siyah gıda boyasıyla opaklaştırılan suyla dolu yuvarlak, çapı 140 cm ve derinliği 45 cm olan bir havuzun içerisine bırakıldı ve deney hayvanından su yüzeyinin 2 cm altında bulunan gizli platformun konumunu, etrafındaki sabit ipuçlarını kullanarak bulması amaçlandı. İki aşamadan oluşan deneyin ilk 4 günü, eğitim yüzdürmelerinin yapıldığı günler olup, bu süre boyunca gizli platformun havuzdaki lokasyonu sabit tutuldu. Deneyin 5.günü (probe test) uzaysal referans belleğinin ölçüldüğü gün, gizli platform havuzdan çıkartılarak yapıldı [208].

Davranış deneyi için GÜDAM laboratuvarlarında ayrı, dışardan ışık almayacak şekilde düzenlenen bir oda hazırlandı ve oda sıcaklığının 23°C de sabit tutulması sağlandı. Tüm deneyler uygun bir kamera ve yazılım vasıtasıyla kaydedilerek, deneylere her gün aynı saatte başlandı. Deneyden 2 gün önce sıçanlar hazırlanan bu odaya getirilerek, tüm

içerisinde platformu bulamayan sıçanlar araştırmacı tarafından elle yönlendirilerek, platformu bulmaları sağlandı. 90 saniye içerisinde hem platformu bulan hem de bulamayıp elle yönlendirilen sıçanların, etraflarını inceleyebilmeleri için platform üzerinde 30 saniye boyunca kalmaları sağlandı. 30 saniyenin sonunda sıçanlar platformdan alınıp, hızlıca havlu yardımıyla kurulanarak talaşsız kuru bekleme kaplarına alındılar. 10 dk sonra sıçanlar saat yönünde ilerleyerek her kadrandan bir kez olmak koşuluyla, ilk gün toplamda 4 kez suya bırakıldı (Şekil 3.3).

Deneyin 2., 3. ve 4. günlerinde saat yönünde ilerleyerek her gün havuza ilk bırakılışlarının farklı bir kadrandan olması sağlanıp, ilk günki işlemler tekrarlandı. Bu 4 gün boyunca her tur için sıçanların platformu bulma süreleri kaydedildi. (Çizelge 3.3)

Deneyin 5. ve son günü, probe denemesinin yapıldığı gündür. Suyun 2 cm altına gizlenmiş platform bu günün başlangıcında sudan çıkartıldı. Buradaki amaç, deneyin ilk 4 günü boyunca sürekli değişen koordinatlardan suya bırakılan sıçanların, denemeler boyunca gizli platformun bulunduğu kadranın hangisi olduğunu, ipuçlarını kullanarak öğrenmiş olup olmadığını ölçmektir. Bu amaç doğrultusunda sıçanlar, gizli platformun önceden olduğu üçgen kadranının karşıt kadrından (yıldız kadranı) suya bırakıldı ve 90 saniye boyunca yüzmelerine izin verilerek kayıt altına alındılar. Bu süreçte sıçanın, eskiden gizli platformun bulunduğu kadranda (üçgen kadranı) geçirdiği süre (sn) kaydedilerek uygun istatistiksel yöntem ile istatistiksel analizi yapıldı (Şekil 3.3) [209].



Şekil 3.3. Morris Su Tankı deneyinde sıçanların havuza bırakıldıkları günlük lokasyonlar

Çizelge 3.3. Morris su tankı davranış testi boyunca sıçanların suya bırakıldıkları kadrantlar

	KADRANLAR			
	1. TUR	2. TUR	3. TUR	4. TUR
Deneyin 1. Günü	YILDIZ	BEŞGEN	ÜÇGEN	YUVARLAK
Deneyin 2. Günü	BEŞGEN	ÜÇGEN	YUVARLAK	YILDIZ
Deneyin 3. Günü	ÜÇGEN	YUVARLAK	YILDIZ	BEŞGEN
Deneyin 4. Günü	YUVARLAK	YILDIZ	BEŞGEN	ÜÇGEN
	TEK ATIŞ			
PROBE TEST (Deneyin 5. Günü)	YILDIZ KADRANI			

3.2.7. Beyin dokusunun çıkartılması ve saklanması

Hayvanlar Ketamin+Ksilazin derin anestezisi altında intrakardiyak kan alınması ile feda edildikten hemen sonra, beyinleri çıkartılarak steril serum fizyolojik ile yıkandı. Ardından önceden hazırlanmış %10'luk formaldehit içerisinde alınarak tespit edildi. Sıçanların sağ hipokampusları infüzyon yapılan maddenin etkisini araştırmak amacıyla, sol hipokampusları ise verilecek maddelerin bu yarı küreye de etkisi olup olmadığını araştırmak amacıyla immünohistokimyasal olarak incelendi.

3.2.8. İmmünohistokimyasal yöntem

Deney süreci sonucunda gruplara ait tüm beyin dokusu örnekleri %10'luk nötral formaldehit solüsyonunda en az 72 saat tespit edilerek, ışık mikroskobik inceleme ile rutin takip işleminin ardından parafin bloklar elde edildi. Hazırlanan bu bloklardan 4-5 mikron kalınlığında kesitler alındı.

Dokular, 37 °C'deki etüvde bir gece tutulduktan sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak amacıyla etüv ısısı 57 °C' ye çıkarılarak 1 saat daha bekletildi. Camlar deparafinizasyonu tamamlamak için 2 kez 15' er dakika ksilolde bırakıldıktan sonra sırasıyla % 100' lük, % 96' lık ve % 80' lik alkol serilerinden 10' ar dakika geçirilerek sudan, 2 kez 5' er dakika distile sudan geçirilerek alkolden kurtarılmışlardır. Doku içerisinde formaldehitin kapattığı reseptör bölgelerinin açığa çıkarılmasını sağlamak amacıyla mikrodalga fırında 1 M sitrat tamponuna (pH: 6. 0) etkin bırakıldı. Oda ısısında soğutulduktan sonra, Pap pen ile kesit üzerindeki dokuların etrafı çizildi. Camlar %3'lük hidrojen peroksit ile etkin bırakılarak dokularda, endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Daha sonra, camlar PBS (pH: 7.4) ile yıkandıktan sonra özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi amacıyla Ultra V Block uygulanarak özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi sağlandı. Bloklama aşamasının ardından kesitler yıkanmadan GluR-1 primer antikoru (Abcam, Cambridge, UK) etkin bırakıldı.

Süre sonunda dokular PBS ile yıkandıktan sonra biyotinli sekonder antikor uygulanarak primer antikora bağlanması sağlandı. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra dokular, enzimin biyotine bağlanması amacıyla streptavidin peroksidaz enzim kompleksine etkin bırakıldılar. Camlar tekrar PBS ile yıkandıktan sonra kromojen olan DAB uygulanarak

gözle görülebilen immün reaksiyonun açığa çıkması sağlandı. Zemin boyamasında Harris'in Hematoksileni kullanılarak, camlar entellan ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Leica DCM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, mikroskop altında değerlendirildi ve sisteme bağlı Leica Q Vin 3 programında resimleri çekildi. İmmünohistokimyasal tutulumlar her bir antikor ve her grup için değerlendirilerek gruplar arası tutulum yoğunlukları arasında anlamlı bir farklılık olup olmadığının tespiti için H-Skorlaması hesaplanarak istatistiksel veriler oluşturuldu.

3.2.9. İstatistiksel analizler

Veriler IBM SPSS Statistics 22 programı kullanılarak değerlendirildi. KG ve DG gruplarının davranış deneyinin 1. 2. 3. ve 4. günlerine ait gizli platform bulma sürelerinin karşılaştırmaları için Tukey HSD post hoc testi ile tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) kullanıldı. İlk 4 günün ortalama platform bulma sürelerinin gruplar arası kıyaslanması için, bağımsız örneklerin t-testi (independent samples t-test) kullanıldı. KG ve DG gruplarının 1. gün platform bulma başarı yüzdeleri ile 4. gün platform bulma başarı yüzdeleri eşleştirilmiş örneklemelerin t-testi (paired-sample t-test) ile değerlendirildi. Morris Su Tankı görevinin probe testinde yani deneyin 5. gününde KG ve DG grubu sıçanların her bir kadranda geçirdikleri sürelerin karşılaştırmaları için One Way ANOVA yöntemi kullanıldı ve post hoc olarak Tukey HSD analizi ile ikili karşılaştırmaları yapıldı. Probe testinin iki grup arası üçgen kadranda geçirdikleri sürelerin kıyaslaması için ise bağımsız örneklerin t-testi (independent samples t-test) kullanıldı.

Sağ ve sol hemisferlerdeki hipokampal dentat girus AMPA reseptör GluR1 altbiriminin immünohistokimyasal boyamalarının dağılımı ve yoğunluğu için H-Skorlama (HS) yapıldı. Seri kesitler incelenerek immünetiketlenme modelleri karşılaştırıldı. Etiketlenme yoğunlukları yarı kantitatif olarak derecelendirilerek HS aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı:

$$HS = \sum P_i (i + 1)$$

i = yoğunluk değeri

P_i = Her yoğunlukta % 0 ila % 100 arasında değişen etiketli hücrelerin yüzdesi

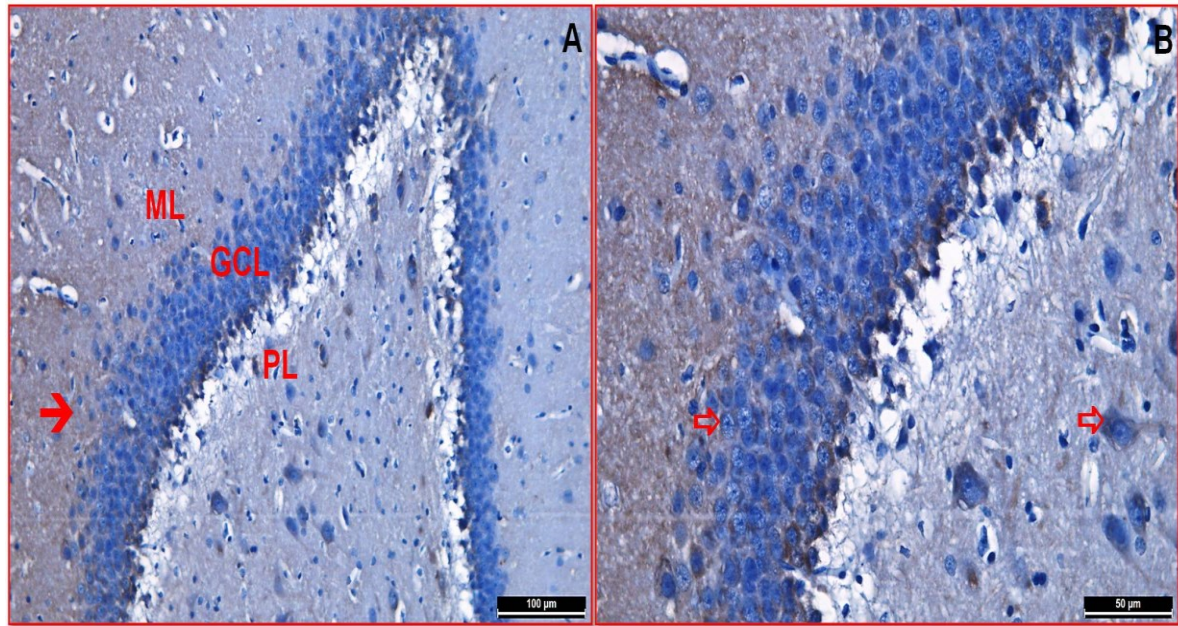
Her bir hemisferdeki Pi değerleri KG ve DG grubu için bağımsız örneklerin t-testi ile analiz edildi. Tanımlayıcı istatistik olarak ortalama ve standart sapma değerleri verilerek $p<0,05$ olan farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



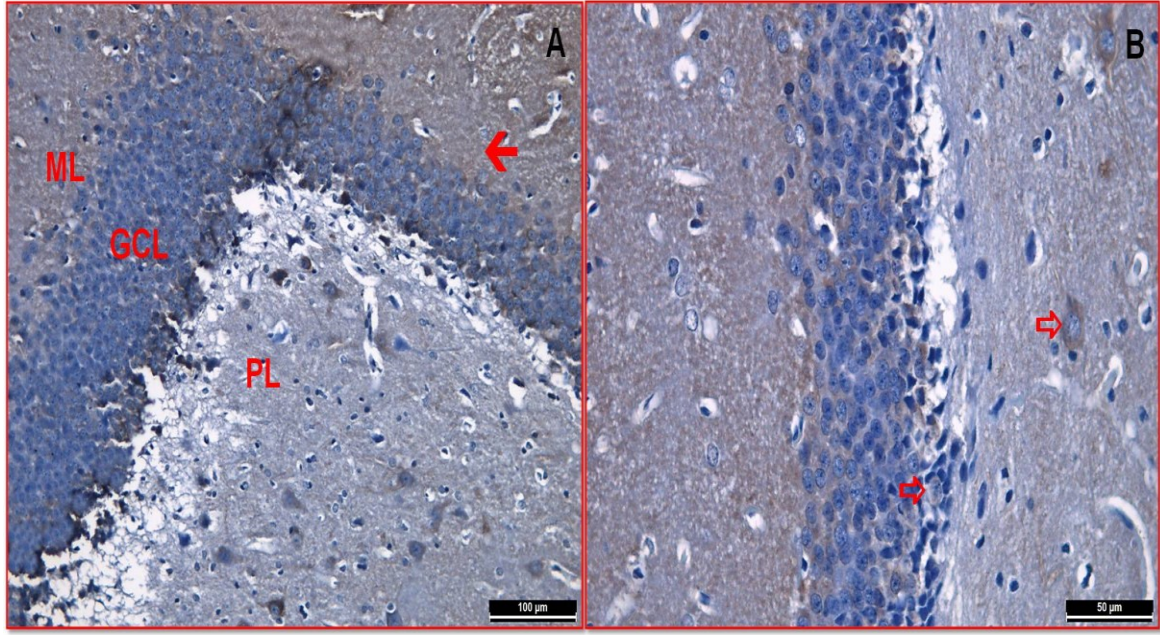
4. BULGULAR

4.1. Histolojik Bulgular

Kontrol Grubu (KG) sol ve sağı hemisferlerine ait dentat girus incelemelerinde; dentat girus moleküler, granüler hücre ve polimorfik katmanları izlendi (Resim 4.1A ve 4.2A). Bu grubun büyük büyültmeli incelemelerinde özellikle granüler hücre katmanına ait az sayıda granüler nöronlarda ve polimorfik katmana ait bazı nöronlarda çoğunlukla zayıf, yer yer zayıftan ortaya değışen düzeyde “AMPA reseptör GluR1 altbirimi” immünreaktivitesi görüldü. Bu immünreaktivitenin hücre membran ve sitoplazması düzeyinde olduğı tespit edildi (Resim 4.1B ve 4.2B).

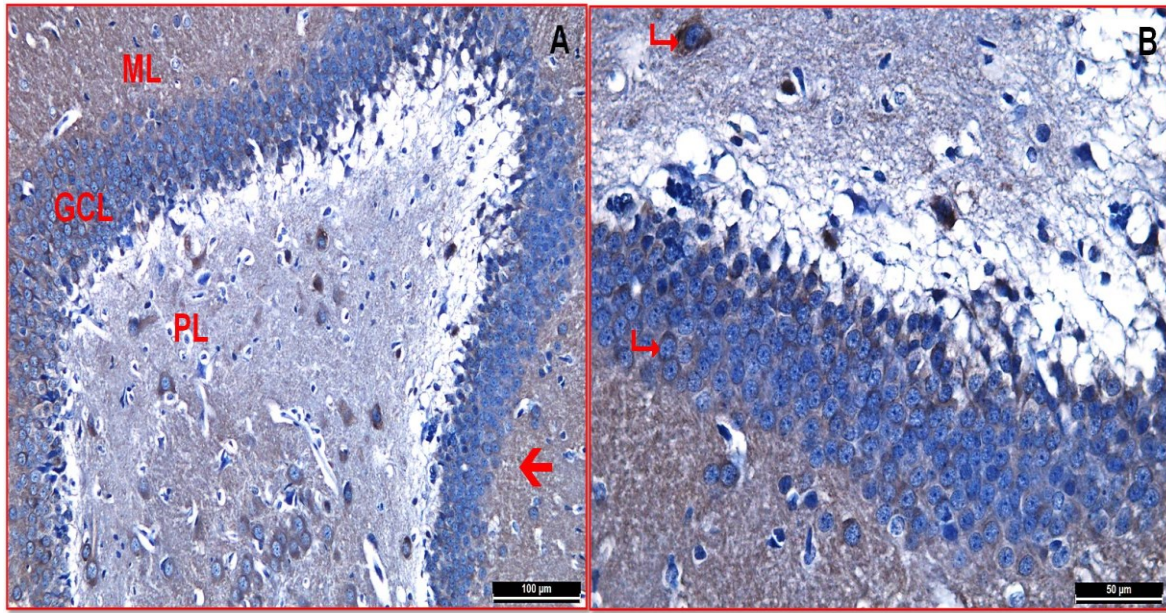


Resim 4.1. KG sol hemisferine ait AMPA reseptör GluR1 altbirimi boyamasında (A): →: Dentat gyrus, ML: Moleküler Tabaka, GCL: Granüler Hücre Katmanı, PL: Polimorfik Katman ve (B): ⇨: Zayıf immünreaktivite gösteren nöronlar (İmmünperoksidaz-Hematoksilen; A: 200x, B: 400x)



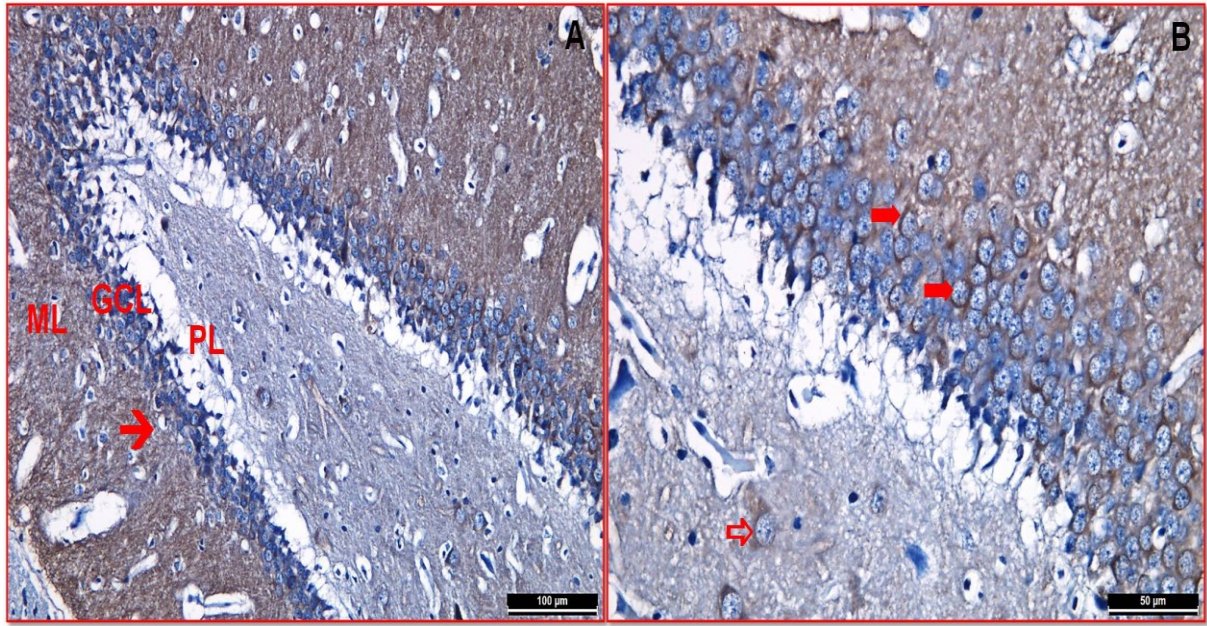
Resim 4.2. KG sağ hemisferine ait AMPA reseptör GluR1 altbirimi boyamasında (A): →: Dentat gyrus, ML: Moleküler Tabaka, GCL: Granüler Hücre Katmanı, PL: Polimorfik Katman ve (B): ⇨: Zayıf immünreaktivite gösteren nöronlar (İmmünperoksidaz-Hematoksilen; A: 200x, B: 400x)

Deney Grubu (DG) sol hemisferine ait dentat girus incelemelerinde; KG grubuna kıyasla daha fazla nörona ancak yine özellikle granüler ve bazı polimorfik katmana ait nöronlarda orta şiddetli immünreaktivite dikkati çekti. Bu immünreaktivitenin hücre membranı ve sitoplazma düzeyinde olduğu izlendi. Pozitif AMPA reseptör GluR1 altbirimi immünreaktivitesi gösteren az sayıdaki polimorfik hücre katmanına ait nöronların tutulumlarının, granüler hücre katmanındaki nöronlara kıyasla ortadan-şiddetliye değişen düzeyde olduğu dikkati çekti (Resim 4.3A ve B).



Resim 4.3. DG sol hemisferine ait AMPA reseptör GluR1 altbirimi boyamasında (A): →: Dentat gyrus, ML: Moleküler Tabaka, GCL: Granüler Hücre Katmanı, PL: Polimorfik Katman ve (B): ↪ : Orta şiddetli immünreaktivite gösteren nöronlar (İmmünperoksidaz-Hematoksilen; A: 200x, B: 400x)

En şiddetli AMPA reseptör GluR1 altbirimi tutulumunun Deney Grubu (DG) sağ hemisferine ait dentat gyrus incelemelerinde görüldüğü izlendi. Bu bölgede yapılan incelemelerde hem granüler ve hem de polimorfik hücre katmanına ait nöronlarda hücre membranında ve sitoplazmada AMPA reseptör GluR1 altbirimi tutulumunun şiddetliden çok şiddetliye değişen düzeyde olduğu görüldü. Tutulum gösteren hücre sayısının diğer gruplara oranla en fazla bu grubun sağ hemisferindeki hipokampüste olduğu, en önemli bulgu olarak tespit edildi. Yine bu grupta, diğer gruplardan farklı olarak, özellikle dentat gyrus moleküler tabakasına doğru uzanan sinir hücre uzantılarında da şiddetli immünreaktivite dikkati çekti (Resim 4.4A ve B).

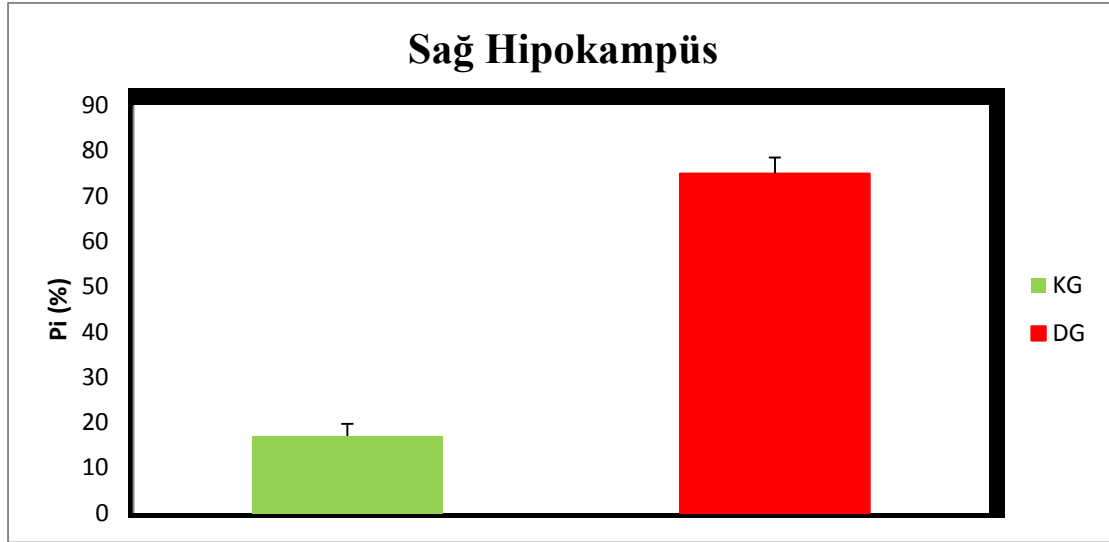


Resim 4.4. DG sağ hemisferine ait AMPA reseptör GluR1 altbirimi boyamasında (A): →: Dentat girus, ML: Moleküler Tabaka, GCL: Granüler Hücre Katmanı, PL: Polimorfik Katman ve (B): →: Şiddetli immünreaktivite gösteren nöronlar ⇨: İmmünreaktivite gösteren sinir hücre uzantıları (İmmünperoksidaz-Hematoksilen; A: 200x, B: 400x)

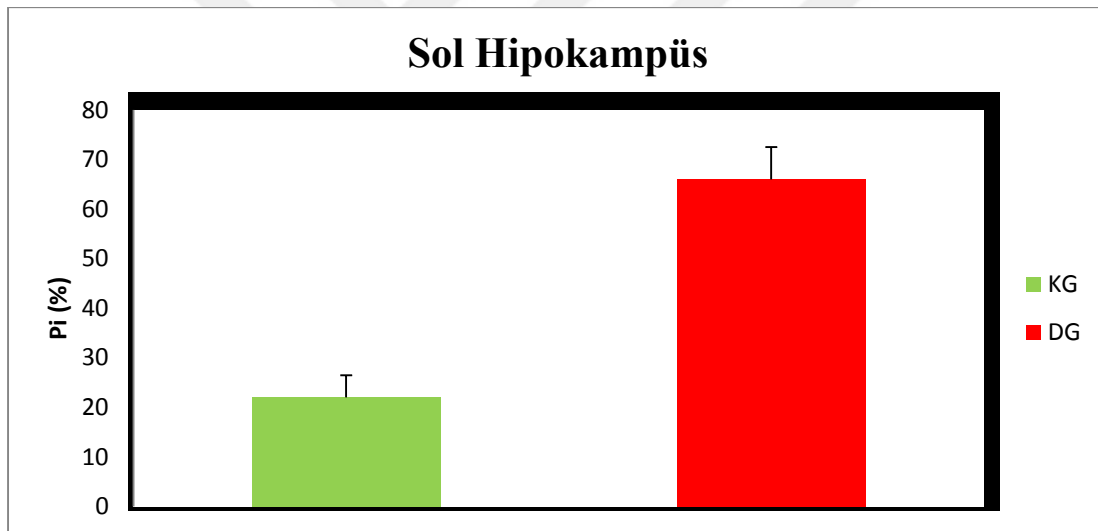
Çizelge 4.1. Her iki grubun sağ ve sol hemisferlerdeki hipokampal dentat girus AMPA reseptör GluR1 altbiriminin immünohistokimyasal boyanma dağılımı ve yoğunluğu için H-Skorlama (HS) değerleri (*i*: Hücre Yoğunluğu, *Pi*: Her yoğunlukta % 0 ila % 100 arasında değişen etiketli hücrelerin yüzdesi)

AMPA Reseptör GluR1 Altbirimi / BEYİN	SAĞ HİPOKAMPÜS			SOL HİPOKAMPÜS		
	<i>Pi</i>	<i>i</i>	H-Skor	<i>Pi</i>	<i>i</i>	H-Skor
Kontrol Grubu (KG)	17	0,8	30,6	22	0,4	30,8
Deney Grubu (DG)	75	4,4	405	66	2,8	250,8

Her iki grubun sağ ve sol hemisferlerindeki hipokampal dentat girus AMPA reseptör GluR1 altbiriminin immünohistokimyasal boyamalarının dağılımı ve yoğunluğu için H-Skorlama (HS) yapıldı (Çizelge 4.1). KG ve DG gruplarının sağ ve sol hipokampal *Pi* değerleri istatistiksel olarak karşılaştırılarak aralarında anlamlı farklılık gözlemlendi (sağ hipokampus için; $P \leq 0,001$, sol hipokampus için; $P \leq 0,001$) (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2)



Şekil 4.1. Her iki grubun sağ hemisferlerdeki hipokampal dentat girus AMPA reseptör GluR1 altbiriminin immünohistokimyasal boyamalarının yüzde dağılımı (Pi)



Şekil 4.2. Her iki grubun sol hemisferlerdeki hipokampal dentat girus AMPA reseptör GluR1 altbiriminin immünohistokimyasal boyamalarının yüzde dağılımı (Pi)

Sonuç olarak; uygulanan sinir hücresi büyüme faktörü olan BDNF proteininin, uygulama alanı olan deney grubu sağ hemisferinde, hipokampal uzun dönem güçlendirmede önemli rol oynayan AMPA reseptör GluR1 altbirimi immünreaktivitesini kuvvetli düzeyde arttırdığı ve bu immünreaktivitenin, reseptörün transmembran özellikte olması dolayısı ile hücre membranına ilaveten, hücre sitoplazmasında da görüldüğü tespit edildi. Kontrol grubuna kıyasla yine Deney grubunun sol hemisferinde de orta şiddetli tutulum izlenmesinde, BDNF uygulamasının tek enjeksiyon yerine infüzyonla uzun süreli verilmiş olmasının etkili olduğu kanısındayız.

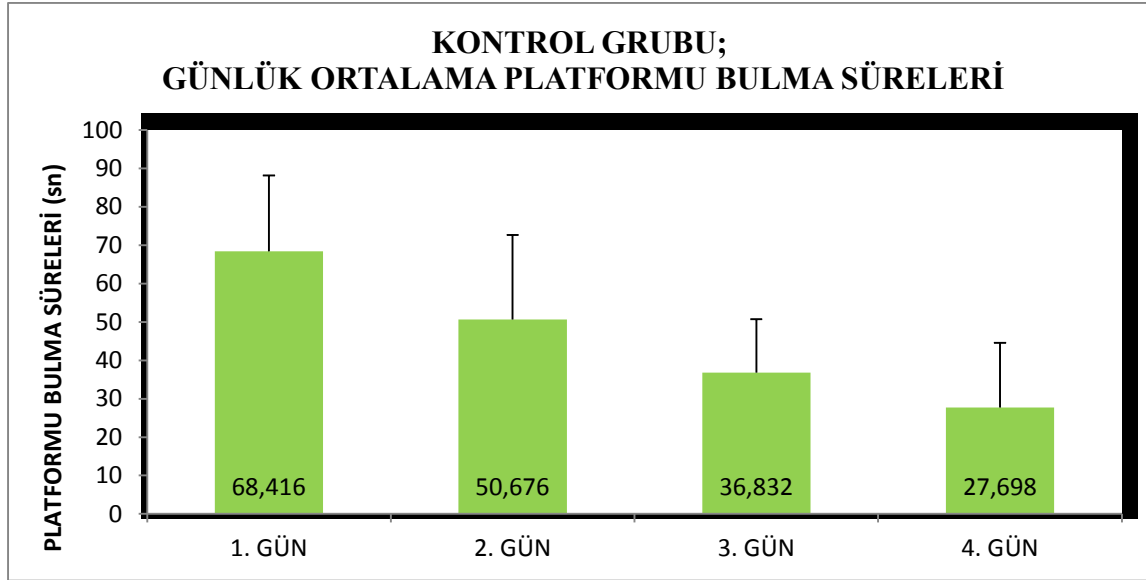
4.2. Davranış Deneyi Bulguları

Morris Su Tankı deneyine tüm gruplarda perfüzyon sürecini takiben, yani stereotaksik ameliyattan 15 gün sonra başlandı. Deney günün aynı saatinde olacak şekilde, birbirini takip eden 5 gün boyunca yapıldı. Deneyin ilk 4 günü boyunca gruplar gizli platformun bulunduğu yeri öğrendiler. Her grup için ayrı ayrı olmak üzere Morris su tankı deneyinin birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü günlerinde gizli platformu bulmaları için geçen ortalama süreler hesaplandı (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Morris Su Tankı'nın ilk 4 günü boyunca her gün farklı lokasyonlardan havuza bırakılan sıçanların, suyun 2 cm altında bulunan gizli platformu günlük ortalama bulma süreleri (sn) (SS: Standart Sapma)

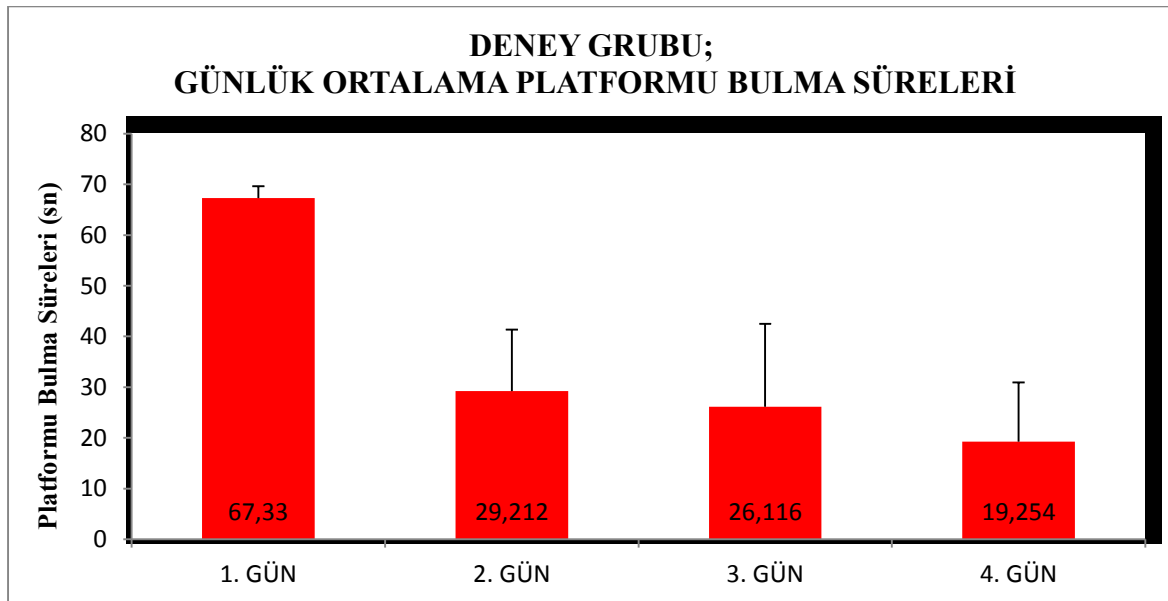
	Platformu Bulma Süreleri (sn) (Ort $\pm$ SS)			
	1. GÜN	2. GÜN	3.GÜN	4.GÜN
KG	68,416 $\pm$ 19,737	50,676 $\pm$ 21,98	36,832 $\pm$ 13,903	27,698 $\pm$ 16,828
DG	67,33 $\pm$ 2,312	29,212 $\pm$ 12,128	26,116 $\pm$ 16,356	19,254 $\pm$ 11,698

KG grubunun deneyin ilk dört günü boyunca günlük ortalama platformu bulma süreleri ölçüldü (Şekil 4.3). Tek Yönlü Varyans Analizi (One Way ANOVA) sonucuna göre günler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($P < 0,011$). Post hoc Tukey HSD analizi kullanılarak bu farklılığın 1. gün ile 3. gün arasındaki farklılıktan ($P = 0,045$) ve 1.gün ile 4.gün arasındaki farklılıktan ($P = 0,01$) kaynaklandığı görüldü.



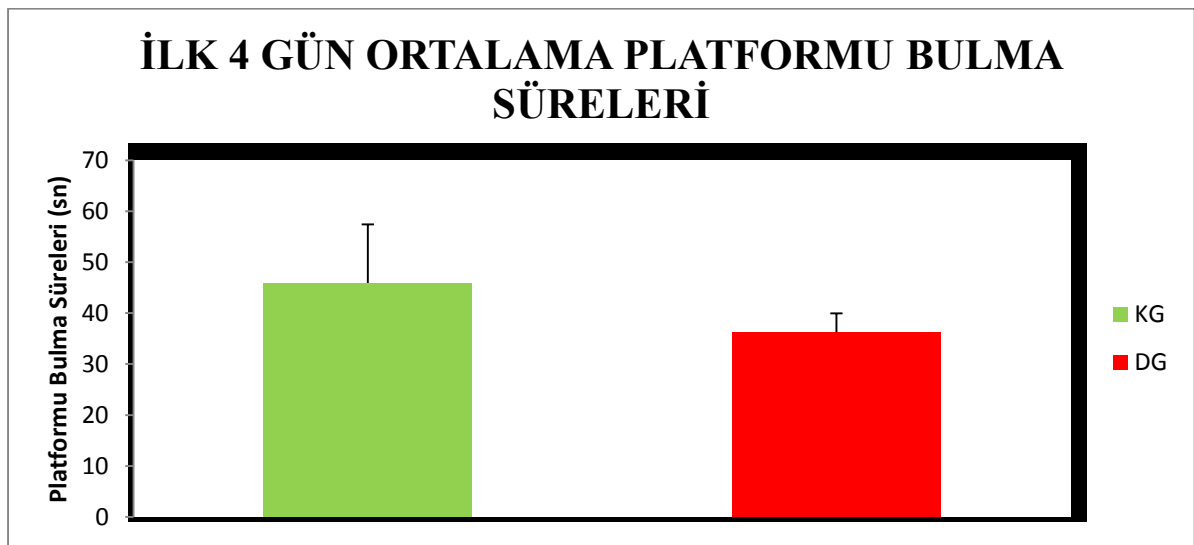
Şekil 4.3. KG grubunun Morris su tankı deneyinin ilk dört günü boyunca günlük ortalama platformu bulma süreleri ($P \leq 0,011$)

DG grubunun Morris su tankı deneyinin ilk dört günü boyunca günlük ortalama platformu bulma süreleri ölçüldü (Şekil 4.4) ve Tek Yönlü Varyans Analizi (One Way ANOVA) sonucuna göre günler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($P < 0,001$). Post hoc Tukey HSD analizi kullanılarak bu farklılığın, 1.gün ile 2.gün arasındaki ($P=0,003$), 1.gün ile 3.gün arasındaki ($P=0,002$) ve 1.gün ile 4.gün arasındaki ($P \leq 0,001$) farklılıklardan kaynaklandığı tespit edildi.

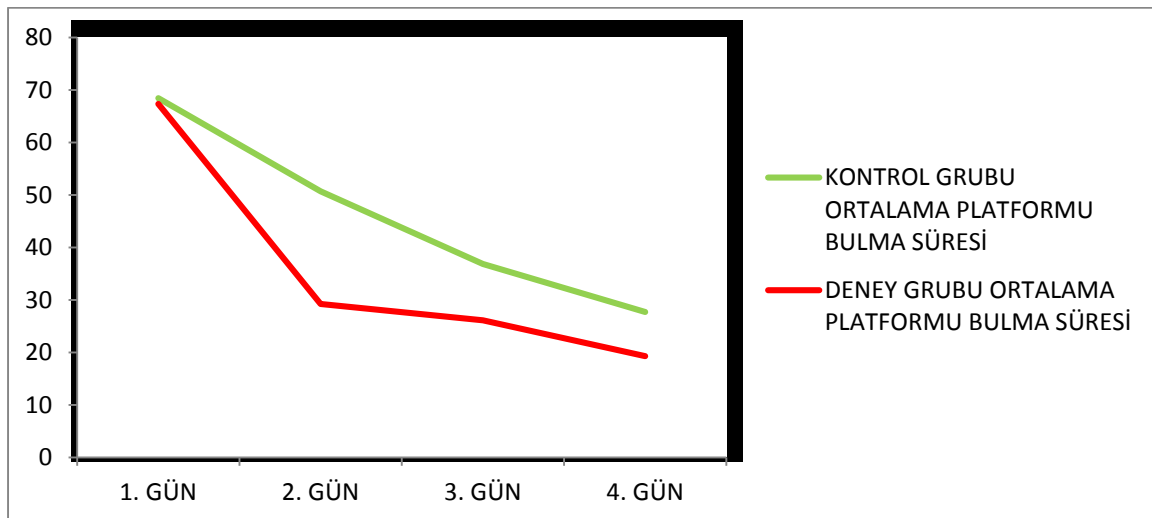


Şekil 4.4. DG grubunun Morris su tankı deneyinin ilk dört günü boyunca günlük ortalama platformu bulma süreleri ($P \leq 0,001$)

İki grubun 4 günlük ortalama platform bulma süreleri birbiriyle kıyaslandı (Şekil 4.5 ve Şekil 4.6) ve anlamlı farklılık bulunmadı ($P=0,221$). Bu bulgulardan yola çıkarak KG ve DG gruplarının ilk 4 günlük öğrenme sürecini başarıyla geçtiğini ve gizli platformun yerini öğrenebildiklerini söyleyebilmek mümkündür. Ancak iki grup arasında anlamlı farklılık gözlemlenmemiş olmasına rağmen, DG grubunun günlük platform bulma sürelerinin KG grubuna kıyasla daha düşük olduğu görülerek, bu düşüşün istatistiksel olarak anlamlı çıkmamasının sebebinin örneklem sayısının küçük olmasından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

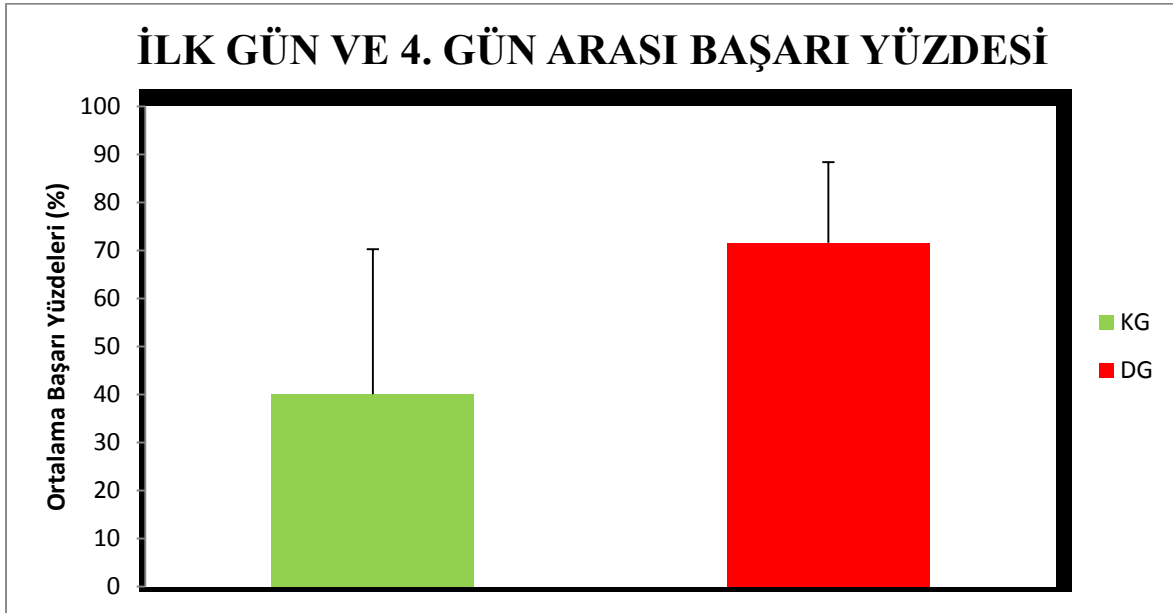


Şekil 4.5. KG ve DG gruplarının Morris Su Tankı davranış deneyinin 4 günlük öğrenme sürecinde ortalama platform bulma sürelerinin karşılaştırması ($p=0,221$)



Şekil 4.6. Morris Su Tankı davranış deneyinin ilk 4 günü boyunca KG ve DG gruplarının günlük platform bulma süreleri

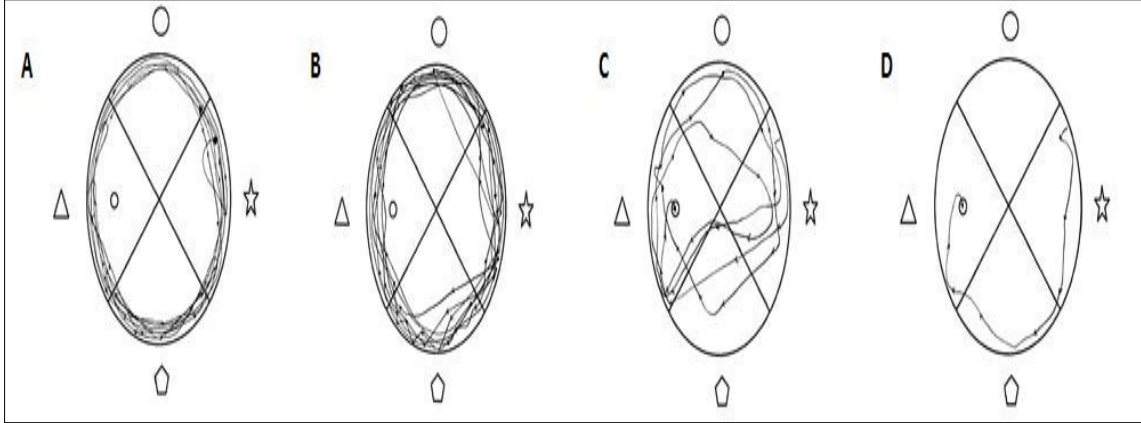
Sıçanların Morris Su Tankı görevlerinin ilk gününde ortalama platformu bulma süreleri referans alınarak, deneyin 4.gününde ilk güne kıyasla ne kadar başarı gösterdikleri yüzdesel olarak hesaplandı (Şekil 4.7). Buna göre; KG grubu sıçanların ilk günkü performanslarına göre 4.günde ortalama % 40,016'lık bir başarı artışı gösterdiği, buna karşılık DG grubu sıçanların ortalama %71,584'lük bir başarı artışı gösterdiği gözlemlendi. Başarı yüzdeleri arasındaki bu görünür farklılığa rağmen iki grubun başarı yüzdeleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulunmadı ($P=0,068$). Bu durumun sebebinin yine örneklem sayısı ile ilişkili olduğunu ve daha geniş bir örneklemde anlamlı farklılığın bulunabileceğini düşünmekteyiz.



Şekil 4.7. Sıçanların Morris Su Tankı görevinin öğrenme sürecinde ilk günden 4.güne gösterdikleri performans başarı yüzdelerinin kıyaslanması ($P=0,068$)

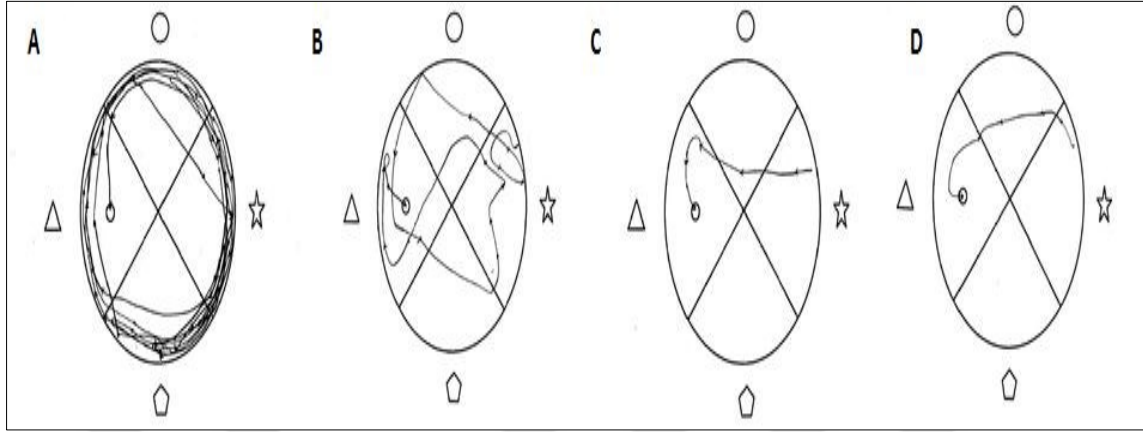
KG grubu sıçanların Morris Su Tankı deneyinin öğrenme sürecindeki ilk 4 günde, 90 saniye boyunca havuzda yüzmeye rotaları her gün için temsilen çizildi (Şekil 4.8). Deneyin ilk günü havuzdan çıkış noktası aramak içgüdüleriyle genellikle havuzun çeperlerinde yüzmüşlerdir. Esasen deneyin ikinci günü havuzdan kaçış noktalarının olmadığını ve sadece kendilerini havuza bırakan araştırmacı tarafından kurtarılabileceklerini anlamaları ve bu doğrultuda yüzmeye eyleminden kurtulmak için gizli platformu aramaya yönelmeleri beklenmektedir. Fakat KG grubunda ikinci günde de ilk günkü gibi havuz çeperine yakın yüzmeye davranışını devam ettirdikleri gözlemlendi. Deneyin üçüncü günü KG grubunun artık gizli platformu aramaya yöneldikleri görüldü. Son gün ise gizli platformun yerini

öğrenebildikleri ve suya bırakılmalarının ardından yarım tur havuzun çeperinde yüzdükten sonra platforma yöneldikleri gözlemlendi.



Şekil 4.8. KG grubu sıçanların Morris Su Tankı deneyinin öğrenme sürecindeki ilk 4 günde, 90 saniye boyunca havuzda yüzme rotalarının temsili çizimleri (A) 1. gün yıldız kadrından suya bırakılan sıçanın 90 saniye boyunca yüzme rotasının temsili çizimi (B) 2. gün yıldız kadrından suya bırakılan sıçanın 90 saniye boyunca yüzme rotasının temsili çizimi (C) 3. gün yıldız kadrından suya bırakılan sıçanın 90 saniye boyunca yüzme rotasının temsili çizimi (D) 4. gün yıldız kadrından suya bırakılan sıçanın 90 saniye boyunca yüzme rotasının temsili çizimi

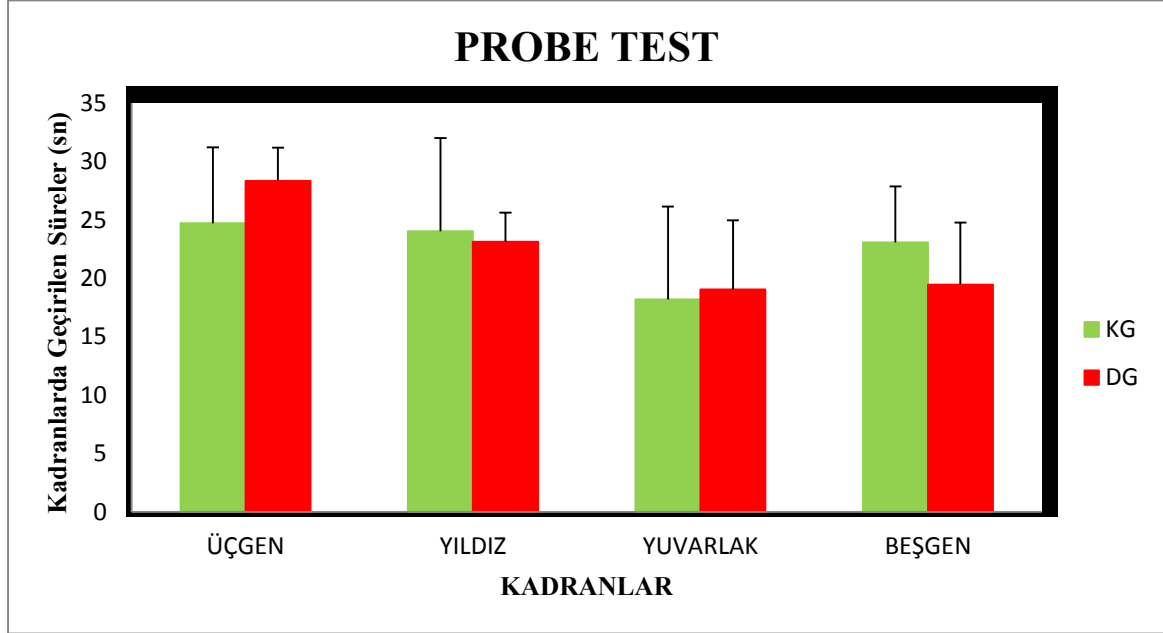
DG grubu sıçanların Morris Su Tankı deneyinin öğrenme sürecindeki ilk 4 günde, 90 saniye boyunca havuzda yüzme rotaları her gün için temsilen çizildi (Şekil 4.9). DG grubu sıçanlar da deneyin ilk günü havuzdan çıkış noktası aramak içgüdüsüyle genellikle havuzun çeperlerinde yüzmüşlerdir. Deneyin ikinci günü ise beklenildiği gibi havuzdan kaçış noktalarının olmadığını ve sadece kendilerini havuza bırakan araştırmacı tarafından kurtarılabileceklerini anladıklarını ve bu doğrultuda yüzme eyleminden kurtulmak için gizli platformu aramaya yöneldikleri gözlemlendi. Deneyin üçüncü günü DG grubunun artık gizli platformun lokasyonunu öğrendikleri ve havuza bırakılmalarının akabinde direkt platforma doğru yüzdükleri görüldü. Son günde de üçüncü gündeki platformu bulma rotalarını kullanarak yine aynı şekilde gizli platforma doğru yüzdükleri gözlemlendi.



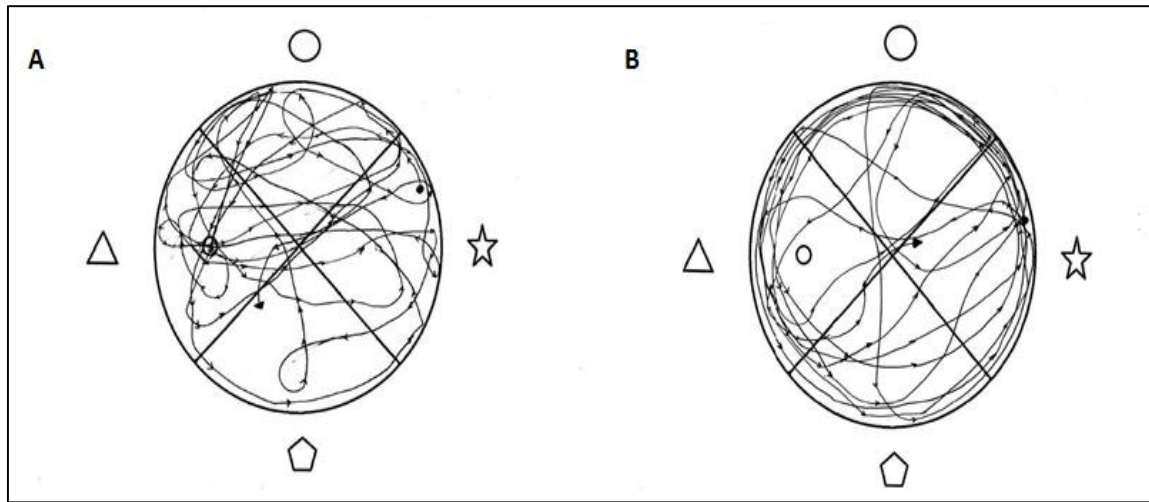
Şekil 4.9. DG grubu sıçanların Morris Su Tankı deneyinin öğrenme sürecindeki ilk 4 günde, 90 saniye boyunca havuzda yüzme rotaları (A) 1. gün yıldız kadrından suya bırakılan sıçanın 90 saniye boyunca yüzme rotasının temsili çizimi (B) 2. gün yıldız kadrından suya bırakılan sıçanın 90 saniye boyunca yüzme rotasının temsili çizimi (C) 3. gün yıldız kadrından suya bırakılan sıçanın 90 saniye boyunca yüzme rotasının temsili çizimi (D) 4. gün yıldız kadrından suya bırakılan sıçanın 90 saniye boyunca yüzme rotasının temsili çizimi

Morris Su Tankı davranış deneyinin 5.günü yani probe testlerinin yapıldığı gün, gizli platform tanktan çıkartıldı ve sıçanların gizli platformun önceden bulunduğu üçgen kadranda geçirdikleri süreler ile diğer kadrarlarda geçirdikleri süreler karşılaştırıldı (Şekil 4.10). Ayrıca iki grubun probe testleri esnasında 90 saniyelik süreçte havuzdaki yüzme rotaları temsilen çizildi (Şekil 4.11) Probe testi, sıçanların uzun dönem referans hafızalarını ölçmek için yapılmaktadır. Esasen sıçanın daha önce gizli platformun bulunduğu lokasyonu çevresel ipuçlarını kullanarak ne kadar öğrenebildiği ve hafızasındaki bu bilgide ne kadar ısrarcı olduğu ölçülmektedir. Buna göre Tek Yönlü Varyans Analizi (One Way ANOVA) kullanıldığında, KG grubu sıçanların üçgen kadranda geçirdikleri sürelerle diğer kadrarlarda geçirdikleri süreler arasında anlamlı farklılık bulunmadığı tespit edildi ($P=0,422$). Buna karşılık Tek Yönlü Varyans Analizi (One Way ANOVA) sonuçlarına göre, DG grubu sıçanların diğer kadrarlara kıyaslandığında üçgen kadranda anlamlı olarak daha fazla süre geçirdikleri tespit edildi ($P=0,015$). Post hoc Tukey HSD analizi sonuçlarına göre tespit edilen bu farklılığın, Üçgen kadranı ve Yuvarlak Kadranı arasındaki farklılıktan ($P = 0,020$) ve Üçgen Kadranı ile Beşgen Kadranı arasındaki farklılıktan ($P = 0,027$) kaynakladığı görüldü. Bulgularımıza

göre BDNF proteinini verilen DG grubu sıçanların, örneklem küçük olmasına karşın anlamlı olarak üçgen kadranda daha çok vakit geçirmiş olmaları, verdiğimiz proteinin sıçanların özellikle referans hafızalarını kuvvetlendirmiş olduğunu ortaya koymaktadır.



Şekil 4.10. Sıçanların Morris Su Tankı davranış deneyinin 5. Gününde (probe test) kadrarlarda geçirdikleri süreler



Şekil 4.11. (A) DG grubu ve (B) KG grubu sıçanların probe testinde 90 saniye boyunca havuzda yüzerken izledikleri rotaların temsili çizimleri

5. TARTIŞMA

Ockhamlı (Occamlı) William orta çağda yaşamış, dogmalarla savaş vermiş bir filozoftur. Ockhamlı William'ın ortaya attığı görüşlerden özellikle bir tanesi, bilimde hala çok değerli bir prensip olan “*Basitliğin Erdemi*”dir. “Ockham’ın Usturası” olarak adlandırılan bu prensip “*her şeyin birbirine eşit olduğu bir ortamda, en basit açıklama doğruya en yakın olanıdır.*” şeklinde özetlenebilir. Örneğin koşarken düşen bir çocuğun düşmesinin sebebi beyincik dejenerasyonu yaşamasından ya da vertigosunun olmasından ziyade büyük ihtimalle ayağının bir taşa takılmış olmasından ibarettir. Bu örnek çocuğun beyincik dejenerasyonu ya da vertigo olması ihtimalini sıfıra indirmez fakat düşen her çocuğun düşüşünün arkasında direkt bu hastalıkları aramaktansa, en basit açıklamayla takılıp düşmüş olması ilk etapta akla gelebilecek en doğru yorumdur. Ockham’ın Usturası bu örnekteki gibi karmaşık nedendense basit neden üzerine yoğunlaşarak, özellikle davranışsal çalışmaların yorumlanmasında kullanılmaktadır. Ockham’ın usturasının bilimsel ilerlemelerde kullanılması, bilimsel çalışmalardaki hataları en aza indirmekle ilişkilidir. Bir araştırmacı vaktinin çoğunu ayırarak gerçekleştirdiği çalışmasının neticesinde, kimi eksiklikleri ve kimi sorunları fazla odaklandığı için göremeyebilir. Bunun sonucunda alanındaki diğer araştırmacılar yapılan çalışmanın eksiklikleri ve hataları üzerinden hızla bir eleştiri yağmuru başlatırlar. Araştırmacının ortaya koyduğu çalışmayı bir ağaç gibi düşünürsek, yapılan eleştiriler ağacın eğreti dallarını yavaş yavaş budayarak ortaya daha sağlıklı, sağlam ve meyve veren bir yapının çıkmasını sağlayacaklardır. Sözün özü, Ockham’ın Usturasını bir metafor olarak kullanarak, diğer araştırmacılardan önce kendi çalışmamızda gördüğümüz eksiklikleri ve belki de fazlalıkları belirtmeye ve ağacımızın ilk budamasını kendimiz yapmaya çalışacağız. Bu bölümde hem Ockham’ın usturasını kendimize yöneltip özeleştirilerde bulunacak hem de çalışmamızın bulgularını bu alanda literatürde yapılmış diğer çalışmaların ışığında yorumlayacağız.

Kadın beyni ve erkek beyninin farklılıkları pek çok araştırmaya konu olmuş ve olmaya da devam etmektedir. Gerek emosyonel davranışları düzenleyen limbik sistem elemanlarının işleyişinde, gerekse renk algısı gibi duyuşsal fizyolojik süreçlerde karşılaşılan bu farklılıklardan bir tanesi de uzaysal algı ve bellekteki farklılıktır. Nöroanatomi ve nörofizyolojideki seksüel dimorfizmlerin, mekânsal öğrenme ve bellek süreçleri için önemli olduğuna inanılsa da bu farklılıkların bilişsel etkileri hala tartışılmaktadır. Bu konuda literatürün büyük bir çoğunluğu hem insanlarda hem de deney hayvanlarında

erkeklerin avantajlı olduğunu ortaya koysa da özellikle son yıllarda uygulanan bazı testlerde dişilerin avantajlı olduğu, bazılarındaysa iki cinsiyet arasında görünür farklılık olmadığı ortaya koyulmuştur. İnsanlardaki uzaysal algı için cinsiyet farklılıkları en çok mental rotasyon testlerinde ortaya çıkmaktadır. Esasen üç boyutlu düşünme yeteneği olarak tarif edebileceğimiz mental rotasyon için kullanılan testler, genel olarak tetris oyunundaki gibi 3 boyutlu, farklı yapıya sahip parçalar kullanılarak yapılmaktadır. Bu testlerdeki amaç, size gösterilen bir parçanın uzaysal konumu değiştirilip, ona benzeyen başka parçalarla yan yana koyulduğunda, onu kolayca hatırlayıp hatırlamayacağınızı ölçmektir [210].

Uzaysal algıyı ölçmek için yapılan insan testleri deney hayvanları için uygulanamadığından, onların uzaysal algısı için özel olarak kurgulanmış çeşitli labirentler kullanılmakta ve bu labirentlerde sergiledikleri performanslar kıyaslanmaktadır. Yapılan çalışmaların tümü olmamakla birlikte büyük bir çoğunluğu, erkek deney hayvanlarının daha iyi performans sergilediğini göstermektedir. Fakat bu konuda yapılan aydınlatıcı bir çalışmada, klasik labirent kullanılarak hayvanların yiyeceğe ulaşma süreleri ölçülmüştür. Bu çalışmada ilginç olan nokta şudur ki hem labirentin içinde yiyeceğe giden belli noktalarda üçgen, kare, yuvarlak şekilli farklı ebat ve renklerdeki ipuçları kullanılırken hem de labirentin dışında, odanın duvarlarında ay, yıldız, bulut gibi ipuçları kullanılmıştır. Deneyin sonuçları şaşırtıcıdır, çünkü dişi ve erkek farelerin yiyeceğe ulaşma süreleri arasında belirgin farklılık olmamasına rağmen yiyeceğe ulaşmak için kullandıkları yöntem birbirinden tamamen farklılık göstermiştir. Dişi fareler; özellikle labirentin içindeki ipuçlarını kullanırken, erkek fareler labirentin içinden ziyade, labirentin içinde bulunduğu odanın duvarlarında olan ipuçlarını kullanmışlardır. Araştırmacılar dişi ve erkek farelerin labirentteki yönlerini bulmak için kullandıkları ipucu farklılığını, ipuçlarının konumlarını değiştirerek tespit etmişlerdir. Örneğin labirent duvarın farklı bir yüzüne bakacak şekilde döndürüldüğünde, erkek fareler yiyeceği bulmada başarısız olurlarken, dişi fareler bu durumdan fazlaca etkilenmemiştir [211]. Kısacası yer-yön bulma konusunda iki cinsiyetin sergilediği performanslarda gözlemlenen farklılık, belki de kullanılan deney yöntemlerinin erkek beynine daha uygun olmasından kaynaklanıyor olabilir. Bu durumun karşıt bir biçimde gerçekleşmesi de mümkündür. Bazı deneylerin erkeklerden ziyade dişi bireylere uygun olması testlerin sonuçlarını tamamiyle değiştirebilir. Hatta bazı deneylerin dişileri daha başarılı bulması ya da dişi-erkek arasında farklılık bulmamasının arkasında yatan neden de bu olabilir.

Çalışmamızda kullandığımız Morris Su Tankı (Morris Water Maze; MWM) davranış testinde, özel bir odada bulunan su dolu yuvarlak havuz şeklinde bir labirent kullanılarak, odanın duvarlarına sıçanların rahatlıkla görebileceği seviyelerde uzaysal ipuçları koyulmuştur. Anatomik temeli henüz tam olarak aydınlatılmamış olmasına rağmen sıçanların test ortamının özelliğinin yansıması olan bir iç mekân temsiline yani bilişsel bir haritaya sahip olduklarını gösteren kanıtlar mevcuttur. Sıçanlar bu temsili haritayı oluştururken, testlerde kullanılan labirent dışındaki bahsedilen uzaysal ipuçlarını kullanmaktadırlar. Richard Morris tarafından geliştirilen MWM, başlangıçta sıçanlar için yapılmış olmasına rağmen sonrasında fareler için de kullanılmak üzere adapte edilmiş ve özellikle uzaysal referans belleğin ölçümü için nörobilim çalışmalarında en çok kullanılan paradigmalardan biri olmuştur. Düzenekte kullanılan ipuçlarının uzaysal konumları gereği, erkek sıçanların daha avantajlı olabileceği fikrinin oluşmasına rağmen cinsiyet farklılığı için MWM ile yapılan çalışmaların sonuçları çeşitlilik göstermektedir. Pek çok çalışma beklenildiği gibi erkekleri daha başarılı bulmuşken [212], azınlık denilebilecek bazı çalışmalar ise dişileri daha avantajlı göstermiştir [213]. Bunlara ek olarak literatürdeki çalışmaların büyük bir oranı da iki cinsiyet arasında fark olmadığını ortaya koymuştur [214]. Özellikle David J. Bucci ve ekibi, bizim de çalışmamızda kullanmayı tercih ettiğimiz Long-Evans cinsi dişi ve erkek sıçanları kullanarak, MWM performanslarını karşılaştırmış ve cinsiyetin sıçanların performanslarını etkilemediğini göstermişlerdir [214]. Biz de MWM deneyini yetişkin dişi Long-Evans sıçanlara uyguladık. Bulgularımıza göre hem Kontrol Grubu (KG) dişi sıçanlar (Şekil 4.3; $P < 0,011$) hem de Deney Grubu (DG) dişi sıçanlar (Şekil 4.4; $P < 0,001$), MWM deneyinin öğrenme süreci olan ilk dört gününün sonunda, havuzun içinde yüzmekten kurtulmalarını sağlayan gizli bir platformun varlığını ve deneyi yapan araştırmacının kendilerini havuzdan ancak gizli platformu bulduktan bir süre sonra çıkartacaklarını anlamış ve böylece gizli platformun yerini ipuçlarını kullanarak öğrenebilmişlerdir. Fakat literatürdeki erkek sıçan çalışmalarıyla bizim çalışmamızdaki dişi sıçanları kıyaslayacak olursak, gözlemlenen en büyük farklılık gizli platformu bulma şekillerinde karşımıza çıkmaktadır. Erkek sıçanlar gizli platformu tamamen uzaysal ipuçlarını kullanarak bulmaktadır [215]. Basit bir örnekle erkek sıçanların izlediği rotayı; “önce yuvarlağa doğru 50 cm dümdüz yüz, sonra 90 derece sola dönüp üçgene doğru 15 cm yüz ve platformdasın!” şeklinde açıklayabiliriz. Dişi sıçanlarımızın izlediği rota ise; “önce beşgen ipucuna doğru biraz yüz, beşgen ipucunu tam bitirmeden dön ve havuzun çeperine yakın ilerleyip üçgen ipucunun oraya yaklaştığında kenardan biraz içeriye doğru yönel ve dairesel hareketlerle platformu ara!” şeklinde

olmuştur. Yani dişi sıçanlarımız, havuzun içinde herhangi bir ipucu bulunmamasına rağmen araştırmacının keşfedemediği, havuz içinde belli noktaları kendilerine belirteç olarak seçmişler ve uzaysal ipuçlarına ek olarak, bilhassa bu belirteçleri platformu bulmak için kullanmışlardır. Çalışmamızdaki ilginç olan nokta şudur ki, rekombinant BDNF proteini verdiğimiz DG grubu sıçanlar, KG grubu sıçanlara kıyasla uzaysal ipuçlarını kullanmada daha başarılı olmuşlardır. Bu durumu referans belleklerinin ölçümünün yapıldığı, MWM deneyinin 5. gününde gerçekleştirilen probe test verilerini karşılaştırdığımızda somut bir şekilde görmekteyiz. Probe testin yapıldığı gün, gizli platform havuzdan çıkartıldıktan sonra sıçanlar 90 saniye boyunca havuzda yüzdürülerek, bu süreçte önceden gizli platformun bulunduğu kadranda geçirdikleri sürelerle birlikte diğer kadrarlarda geçirdikleri süreler de kaydedildi. Böylece deneyin öğrenme sürecinde gizli platformun lokasyonunu öğrenen sıçanların, gizli platformun bulunduğu üçgen kadranda daha fazla vakit geçirmeleri ve sürekli “burada üzerinde durabileceğim bir platform vardı!” şeklinde kararlı olarak bu kadranda arama yapmaları beklendi. Probe test sonuçlarımıza göre; KG grubu sıçanların üçgen kadranda geçirdikleri sürelerle, diğer kadrarlarda geçirdikleri süreler arasında anlamlı farklılık gözlemlenmedi (Şekil 4.10; $P=0,422$). Buna karşın DG grubu sıçanların diğer kadrarlara kıyaslandığında, üçgen kadranda anlamlı olarak daha fazla süre geçirdikleri tespit edildi (Şekil 4.10; $P=0,015$). İki grup arasındaki bu farklılık bize, DG grubu sıçanların da havuz içi belirteçler yaratmış olmalarına rağmen uzaysal ipuçlarını kullanmada KG grubu sıçanlara göre daha başarılı olduğunu düşündürdü. Çünkü KG grubu sıçanlar gizli bir platform olduğunu öğrenmiş olsalar bile, bu platformun özellikle üçgen kadranda olduğunu öğrenemediler. KG grubu sıçanlar testi, “havuzun kenarına yakın yüzüp sürekli hafif iç tarafa geçer ve ararsam bir noktada platformu bulacağım” şeklinde kavradılar. Bu da onların probe testte başarısız olmalarına neden oldu.

Sıçanların MWM görevlerinin ilk gününde ortalama platformu bulma süreleri referans alınarak, deneyin 4. gününde ilk güne kıyasla ne kadar başarı gösterdikleri yüzdesel olarak hesaplandığında, KG grubu sıçanların ilk günkü performanslarına göre 4. günde ortalama %40,016’lık bir başarı artışı gösterdiği, buna karşılık DG grubu sıçanların ortalama %71,584’lük bir başarı artışı gösterdiği gözlemlendi (Şekil 4.7). Başarı yüzdeleri arasındaki bu görünür farklılığa rağmen iki grubun başarı yüzdeleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulunamadı ($P=0,068$). Bu sonucun, düşük tutmak

durumunda kaldığımız örneklem sayısı ile ilişkili olduğunu düşünmekteyiz. Daha geniş bir örneklemle istatistiksel olarak anlamlı farklılığın bulunabileceğini kanaatindeyiz.

Literatürdeki deney hayvanları çalışmalarında, eğer hususi olarak seksüel dimorfizmle alakalı bir özellik araştırılmıyorsa, genel olarak erkek deney hayvanlarının kullanılması tercih edilir. Bu durumun haklı sebebi, erkek bireylerin menstruasyon döngüsü yaşamamalarından dolayı hormonal düzensizliklerinin olmaması ve hormonlardan kaynaklanabilecek yan etkilerin en aza indirgenmesidir. Çalışmamızın bu kısmında Ockham'ın usturasını kendimize yönlendirecek olursak, erkek sıçanların kullanılması daha istikrarlı sonuçlar alınmasına sebep olabilirdi. Fakat literatürde eksojen BDNF verilerek yapılan in vivo çalışmalar zaten erkek deney hayvanları kullanılarak yapılmış olduğundan [201, 203], biz çalışmamızda dışardan verilen BDNF'nin yetişkin dişi sıçanlarda nasıl bir etki yaratacağını gözlemlemeyi amaçladık. Bu durum akıllara şu soruyu getirecektir; dişi sıçan kullanımında, örneklem hormonal düzensizliğini minimuma indirmek adına ovariektomi ameliyatı yapılması gerekmez miydi? Bu soruya verebileceğimiz iki yanıt bulunmaktadır. Öncelikle kullandığımız hayvanlar deneyin başlangıç aşamasında ozmotik minipompaların implantasyonu için stereotaksik ameliyat stresine maruz kalacaklarından, hayvanlarımızın ikinci bir stres yaşamaması adına ovariektomi ameliyatı yapılmamasını uygun gördük. İkincisi ise deney sürecine başlamadan hemen önce, deneyde kullanılması planlanan sıçanların vajinal smear yaymaları alınarak, özellikle östrojen seviyelerinin minimal düzeylerde olduğu "östrus dönemi"ndeki dişileri seçmeye özen gösterdik. Böylece hem KG grubu hem de DG grubu dişi sıçanlarımızın östrus sikluslarının aynı dönemlerinde olmasını sağlayarak, hormon etkisini tüm sıçanlarda eşdeğer yapmaya çalıştık. Esasında çalışmamızın histolojik bulgularına bakacak olursak, aynı östrus döneminde olan dişilerden oluşturduğumuz KG ve DG gruplarının sağ hipokampal dentat giruslarında AMPA reseptör GluR1 altbirim immünreaktiviteleri karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($P \leq 0,001$) gözlemlenmiş olmamız, dişi hormonlarının etkisinden ziyade DG grubuna verdiğimiz rekombinant BDNF proteininin etkisini ortaya koymaktadır (Şekil 4.1).

Öğrenme ve bellek, beynin sergilediği en karmaşık bilişsel fonksiyonlardandır. Bir canlı herhangi bir bilgiyi öğrenirken ve belleğinde depolarken, beyinde başta EEG dalgaları olmak üzere pek çok değişiklik meydana gelir. Bir bilginin kısa dönem bellek ya da çalışan bellekten uzun dönem belleğe aktarılmasında ön plana çıkan hipokampüste meydana gelen

moleküler ve yapısal değişimler, özellikle sinaptik düzeyde gerçekleşerek sinaptik plastisite olarak adlandırılmaktadır. Sinaptik plastisite, iki nöronu birbirine bağlayan sinapsların Uzun Dönem Güçlendirme (Long-Term Potentiation; LTP) olarak adlandırılan mekanizma ile kuvvetlendirilmesi ve Uzun Dönem Baskılama (Long-Term Depression; LTD) olarak adlandırılan mekanizma ile gerilemesi (baskılanması) olaylarını kapsamaktadır. [100, 118] Öğrenme ve belleğin bahsedilen bu moleküler mekanizmaları büyük oranda aydınlatılmış olsa da elimizdeki puzzle'ın parçalarından bir kısmı hala eksiktir. Özellikle çalışmamızda da kullandığımız bir nörotrofik faktör olan ve beyinde geniş yayılım alanı gösteren BDNF proteini ve onun reseptörlerinin sinaptik plastisitedeki fonksiyonları, yaklaşık olarak son 25 yıllık dönemde aydınlatılmaya başlanmıştır. Fizyolojik koşullarda beyinde üretilen bu proteinin hipokampal LTP üzerindeki etkisini, çalışmamızda dışardan infüzyon yoluyla uzun dönem intrahipokampal vererek inceledik. Bu yolu tercih etmemizdeki çıkış noktası, nöron kültüründeki hipokampal temel hücreler üzerinde BDNF proteini ile yapılmış olan çalışmalardır [191, 193]. Bu çalışmalar ve takip eden pek çok çalışma, BDNF'nin hipokampal LTP üzerinde olumlu etkilere sebep olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca normal öğrenme ve bellek sergileyen deney hayvanlarının beynine BDNF antikoru verilmesinin sonucunda LTP mekanizmalarının bozulduğu ve bellek testlerinde başarısız oldukları gözlenmiş [216], sonrasında gelişen genetik yöntemlerle oluşturulan *bdnf* +/- mutant farelerin belirgin öğrenme ve bellek bozuklukları sergilediği ortaya koyulmuştur [195]. Bu gibi gözlemler, düzgün bir öğrenme ve hafıza için fizyolojik olarak BDNF proteinine ihtiyaç olduğunu göstermiştir. Literatürdeki bu bilgilerin ışığında biz de çalışmamızı planlarken, Alzheimer Hastalığı ve Demans gibi öğrenme ve bellek bozukluklarıyla seyreden hastalıklardan muzdarip kişileri düşünerek, farmakolojik olarak BDNF proteininin bir ilaca dönüştürülüp dönüştürülemeyeceği fikriyle yola çıktık. S. Aranchibia ve ekibinin 2008 yılında yapmış oldukları Alzheimer Hastalığı hayvan modeli çalışmaları, bilişsel bozuklukların hipokampus ve prefrontal korteksteki düşük BDNF düzeyi ile ilişkili olabileceğini göstermiştir [6]. Buna ek olarak Demans hastalarında, hastalık belirtileriyle serum BDNF düzeyi arasında belirgin bir negatif korelasyon olduğu gözlemlenmiştir [199]. Alzheimer Hastalığı hayvan modeli çalışmalarında ve bilişsel olarak bozulmalar oluşturulan yaşlı sıçan modellerinde, oluşan öğrenme ve hafıza bozuklukları ve sinaps kaybı, dışardan BDNF proteini verilerek geri döndürülebilmektedir [7]. Özellikle Alzheimer Hastalığı insidansının kadınlarda erkeklere kıyasla yüksek olması nedeniyle, dişi bireylerde dışardan verdiğimiz BDNF'nin *in vivo* olarak öğrenme ve bellek üzerine hem davranışsal etkilerini

hem de LTP mekanizmasının kilit taşı olan AMPA reseptörü üzerine etkisini gözlemlemeyi amaçladık.

Dışardan BDNF proteini verilerek yapılan in vivo çalışmalar genel olarak ikiye ayrılmaktadır: tek enjeksiyon yoluyla verenler [203] ve infüzyon yoluyla uzun dönem verenler [202]. Bazı çalışmalar ise özellikle enjeksiyon verilmesi ve infüzyon verilmesi arasındaki etki farkını gözlemlemek amacıyla tasarlanmıştır [204]. Örneğin Cirulli ve ekibi, BDNF (24 µg) ve anti-BDNF (25 µg)'nin hafıza üzerine etkilerini sıçanlarda in vivo olarak test etmek için, sol serebral ventriküle tek enjeksiyonla vererek Morris Su Tankı testine tabi tutmuşlar fakat çalışmanın yapıldığı gruplar arasında anlamlı sonuçlar elde edememişlerdir [203]. Xu ve ekibinin çalışmasında ise, BDNF dışarıdan sağ perforant yoluna verilerek, BDNF'nin hipokampal hipereksitabilite ve epileptiform aktivite üzerine olan etkisine bakılmıştır. Ekip bu çalışmada, BDNF'yi hem tek enjeksiyon olarak (konsantrasyon: 1µg/µl, enjeksiyon volümü: 0.5 µl, enjeksiyonlar ameliyattan sonra 4, 8 ve 12. günlerde yapılmıştır.) hem de devamlı infüzyon olarak (konsantrasyon: 1µg/µl, infüzyon oranı: 12 µl/gün, infüzyon periyodu: 14 gün) vermiş ve sonucunda tek enjeksiyonun epileptiform aktiviteyi arttırdığını buna karşın devamlı infüzyonun ise baskıladığını bulmuşlardır [204]. Pencea ve ekibi ise, BDNF infüzyonunun yetişkin sıçan ön beyin bölgelerindeki hücrelerin proliferasyonuna ve/veya farklılaşmasına etkisi olup olmadığını araştırmışlardır. Bunun için BDNF (12µg/12µl/gün, 0.1 M PBS de çözünmüş olarak) hücre proliferasyon belirteci Bromodeoksiüridin (BrdU) ile beraber sağ lateral ventriküle 12 gün boyunca verilmiş ve anlamlı sonuçlar elde edilmiştir [201]. BDNF'nin Alzheimer üzerine olan etkilerini araştıran Li ve ekibi ise, yaşlı ve bilişsel olarak bozulmalar gösteren sıçanların ve genç kontrol grubu sıçanlarının Nükleus Akkumbens'ine BDNF'yi (0.5 µl/dk oranında, 5 µl/yarı küre) bilateral olarak 4 hafta boyunca haftada 3 er gün olacak şekilde infüze etmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda dışarıdan verilen BDNF'nin, yaşlı ve bilişsel olarak bozulmalar gösteren sıçanların Morris Su Tankı performanslarında artış meydana getirerek, genç kontrol grubunun performanslarına yakın değerlere ulaşmasını sağladığı gösterilmiştir [7].

Görüldüğü üzere BDNF ile ilgili yapılan çalışmalar yöntem, kapsam ve zamansal olarak farklılıklar göstermektedir. Hiç şüphesiz gelecekte de bu çalışmaların artarak devam edeceği öngörülebilmektedir. Gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada ise maddi kaynaklar ve projenin süresi göz önüne alınarak, Mamounas ve ekibinin yaptığı çalışma baz alındı

[205]. Esasında araştırmacılar bu çalışmayı etkin BDNF miktarının ne olması gerektiğini ortaya koymak üzere gerçekleştirdiklerinden, bizim uygulayacağımız miktarın kararlaştırılması adına bu çalışma yol gösterici oldu. Mamounas ve ekibi bu çalışmada, bir nörotoksin olan *p*-kloroamfetamin (PCA)'in etkisiyle oluşan kortikal serotonerjik (5-HT) akson kayıplarına, BDNF'nin engelleyici ve trofik etkisini araştırmışlardır. BDNF infüzyon metodu ve sıçan korteksinde 5-HT aksonları üzerinde bu proteinin nörotrofik etkilerini karakterize etmek için BDNF'yi farklı gruplara günde 0.1 µg, 0.4 µg, 1 µg, 4 µg, 12 µg ve 36 µg olacak şekilde vermişlerdir. Sonuç olarak BDNF'nin, PCA'nın yarattığı akson kayıplarını engelleyici etkisinin olmadığını ama 5-HT akson dallanmalarını, özellikle 4 ve 12 µg verilen gruplarda anlamlı olarak arttırdığını gözlemlemişlerdir [205]. Mamounas ve ekibinin gözlemlerinin ışığında biz de çalışmamızda, BDNF için kullanılan dozu 4 µg/gün olarak belirledik ve DG grubu sıçanların sağ dentat giruslarına intrahipokampal olarak günlük 4 µg BDNF proteinini 7 gün boyunca uyguladık. İmmünohistokimyasal bulgularımız, BDNF proteininin DG grubu sağ dentat girus preparatlarında AMPA reseptör GluR1 altbirim immünreaktivitesini oldukça arttırdığını ve bu immünreaktivitenin membran AMPA reseptörlerine ek olarak hücre içi AMPA reseptör havuzundaki reseptör miktarını da arttırdığını ortaya koymaktadır (Resim 4.4). Bu da demek oluyor ki, vermiş olduğumuz eksojen BDNF, membran AMPA reseptör miktarını arttırmasıyla, E-LTP'yi desteklemiş ve hatta yeni AMPA reseptör üretimini de tetikleyerek L-LTP oluşumunu ve sürdürülmesini sağlamıştır. Literatürde dışardan uzun süreli olarak BDNF verilmesinin AMPA reseptör düzeylerine etkisini araştıran az sayıda çalışma bulunmaktadır [3, 217, 218] ve azınlık olan bu çalışmalar da nöron kültürü üzerinde gerçekleştirilmiş olup, bahsedilen reseptöre BDNF'nin in vivo etkisi daha önce araştırılmamıştır. Söz konusu çalışmalarla, nöron kültürüne verilen BDNF'nin membran AMPA düzeyini arttırdığı ortaya koyulmuş ve bizim çalışmamız da bu bulguları destekler nitelikte olmuştur.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Öğrenme ve bellekle ilgili hem davranışsal hem de moleküler ve genetik düzeylerdeki çalışmalar geçmişten günümüze hızla devam etmektedir. Bugünkü bilgilerimize dayanarak öğrenme ve hafızanın moleküler temelinde sinir hücrelerini birbirine bağlayan sinapsların kuvvetlendirilmesi ve baskılanması mekanizmaları yatmaktadır. Bu mekanizmalar oldukça karmaşık olup pek çok nörotransmitter, reseptör ve proteinlerin işbirliğiyle düzenlenen süreçlerdir. Özellikle nörotrofik faktörlerin bahsedilen süreçler üzerinde etkisi halen aktif olarak çalışılmaya devam edilen bir alandır. Geniş nörotrofin ailesi içerisinde bilhassa BDNF'nin çeşitli mekanizmalar aracılığıyla hem E-LTP'nin tetiklenmesini kolaylaştırdığı hem de L-LTP'nin başlatılıp sürdürülmesini sağladığı pek çok çalışmayla ortaya konulmuştur.

Çalışmamızın ilk bölümünde, sıçanların sağ hipokampal dentat girus bölgelerine stereotaksik ameliyat ile eksojen rekombinant BDNF proteini uzun dönem olarak infüzyon şeklinde verildi. Çalışmanın ikinci bölümünde ise uzaysal öğrenme ve bellek ölçüm modellerinden biri olan Morris Su Tankı (MWM) kullanılarak, verilen BDNF proteininin uzaysal hafızaya etkisi gözlemlendi. Çalışmanın son aşamasında kurban edilmiş sıçanlardan alınan hipokampal dokularda dentat girus bölgesindeki AMPA reseptör GluR1 altbirim düzeyleri, İmmünohistokimyasal (İHC) yöntemle tayin edilerek, BDNF'nin LTP sürecinde kritik rolleri olduğu bilinen bu reseptöre etkisi incelendi.

Elde ettiğimiz bulgulara göre, dişi sıçanların sağ hipokampuslerine uzun süreli infüzyon şeklinde verilen rekombinant BDNF proteininin, sıçanların MWM performanslarını arttırdığını tespit ettik. BDNF'nin olumlu davranışsal etkisiyle paralel olarak moleküler düzeyde AMPA reseptör GluR1 altbirim düzeylerini anlamlı olarak arttırdığını gözlemledik.

Bulgularımız ile BDNF'nin LTP sürecinde henüz tam aydınlatılamamış etkilerini aydınlatabilmeye çalışmış olmamıza rağmen bu alanda yapılacak çok sayıda çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle bu alandaki gelecek çalışmalar için, BDNF'nin gözlemlediğimiz etkilerinin daha geniş bir örneklem kullanılarak, farklı BDNF dozları uygulanarak ve in situ hibridizasyon veya Western-Blot gibi daha kesin kantitatif sonuçlar veren moleküler yöntemlerle tekrarlanmasını önermekteyiz. Ayrıca hayvanların

stereotaksik ameliyattan sonra barındırıldıkları kafeslerin yara bölgelerini azami miktarda koruyabilecek şekilde tercih edilmesi tarafımızca tavsiye edilmektedir.



KAYNAKLAR

1. Lynch, M. A. (2004). Long term potentiation and memory. *Physiol. Rev.*, 84, 87-136.
2. Lu, Y., Christian, K., and Lu, B. (2008). BDNF: A key regulator for protein synthesis-dependent LTP and long-term memory? *Neurobiology of Learning and Memory*, 89, 312-323.
3. Park, H., and Poo, M. (2013). Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Nat. Rev. Neurosci.*, 14, 7-23.
4. Ying, S. W., Futter, M., Rosenblum, K., Webber, M. J., Hunt, S. P., Bliss, T. V. P., and Bramham, C. R. (2002). Brain-derived neurotrophic factor induces long-term potentiation in intact adult hippocampus: requirement for ERK activation coupled to CREB and upregulation of Arc synthesis. *The Journal of Neuroscience*, 22(5), 1532-1540.
5. Korte, M., Griesbeck, O., Gravel, C., Carroll, P., Staiger, V., Thoenen, H., and Bonhoeffer, T. (1996). Virus-mediated gene transfer into hippocampal CA1 region restores long-term potentiation in brain-derived neurotrophic factor mutant mice. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93, 12547-12552.
6. Arancibia, S., Silhol, M., Moilière, F., Meffre, J., Höllinger, I., Maurice, T., and Tapia-Arancibia, L. (2008). Protective effect of BDNF against of beta-amyloid induced neurotoxicity in vitro and in vivo in rats. *Neurobiol. Dis.*, 31, 316-326.
7. Li, M., Dai, F., Du, X., Yang, Q., Zhang, X., and Chen, Y. (2012). Infusion of BDNF into the Nucleus Accumbens of aged rats improves cognition and structural synaptic plasticity through PI3K-ILK-Akt signaling. *Behavioral Brain Research*, 231, 146-153.
8. Deshmukh, S. S. and Knierim, J. J. (2012). Hippocampus. *WIREs Cogn. Sci.*, 3, 231-251.
9. İzci, Y., ve Erbaş, C. Y. (2015). Hipokampus: Yapısı ve fonksiyonları. *Türk Nöroşir. Derg.*, 25(3), 287-295.
10. Andersen, P., Morris, R., Amaral, D., Bliss, T., and O'Keffe J. (2007). *The hippocampus book*. USA, New York: Oxford University Press, 3-581.
11. Isaacson, R. L. (2004). Hippocampus. *Encyclopedia of Neuroscience*, 1119-1127.
12. van Strien, N. M., Cappaert, N. L. M., and Witter, M. P., (2009). The anatomy of memory: an interactive overview of the parahippocampal-hippocampal network. *Nat. Rev. Neurosci.*, 10, 272-282.
13. Yıldırım, M. (2014). *Temel Nöroanatomi*. (İkinci Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 93-96.
14. Lorente de No', R. (1934). Studies of the structure of the cerebral cortex. II. Continuation of the study of the ammonic system. *J. Psychol. Neurol.*, 46, 113-177.

15. Knowles, W. D. (1992) Normal anatomy and neurophysiology of the hippocampal formation. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 9(2), 252-263.
16. Zola-Morgan, S., Squire, L. R., and Amaral, D. G. (1986). Human amnesia and the medial temporal region: enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to field CA1 of the hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 6(10), 2950-2967.
17. Tien, R. D., Felsberg, G. J., and Crain, B. (1992). Normal anatomy of the hippocampus and adjacent temporal lobe: high-resolution fast spin-echo MR images in volunteers correlated with cadaveric histologic sections. *AJR Am J Roentgenol*, 159(6), 1309-1313.
18. Taupin, P. (2007). *The hippocampus- Neurotransmission and Plasticity in the Nervous System*. New York: Nova Biomedical Books. 3-101.
19. Schultz, C., and Engelhardt D. (2014). Anatomy of the hippocampal formation. In K. Szabo and M. G. Hennerici (Eds.), *The hippocampus in clinical neuroscience*. Basel: Karger, 34, 6–17.
20. Buckmaster, P. S., Wenzel, H. J., Kunkel, D. D., and Schwartzkroin, P. A. (1996). Axon arbors and synaptic connections of hippocampal mossy cells in the rat in vivo. *J. Comp. Neurol.*, 366, 271–292.
21. Naber, P. A., Lopes da Silva, F. H., and Witter, M. P. (2001). Reciprocal connections between the entorhinal cortex and hippocampal fields CA1 and the subiculum are in register with the projections from CA1 to the subiculum. *Hippocampus*, 11, 99–104.
22. O'Mara, S. M., Commins, S., Anderson, M., and Gigg, J., (2001). The subiculum: a review of form, physiology and function. *Prog. Neurobiol.*, 64, 129–155.
23. O'Mara, S. M. (2005). The subiculum: what it does, what it might do, and what neuroanatomy has yet to tell us. *J. Anat.*, 207, 271–282.
24. Matsumoto, N., Kitanishi, T., and Mizuseki, K. (2008). The subiculum: unique hippocampal hub and more. *Nature Neuroscience*, 11(2), 131-133.
25. Andersen, P., Bliss, T. V. P., and Skrede, K. K. (1971). Lamellar organization of hippocampal excitatory pathways. *Exp. Brain Res.*, 13, 222–238.
26. Hunsaker, M. R., Mooy, G. G., Swift, J. S., and Kesner, R. P. (2007). Dissociations of the medial and lateral perforant path projections into dorsal DG, CA3, and CA1 for spatial and nonspatial (visual object) information processing. *Behav. Neurosci.*, 121, 742–750.
27. Vivar, C., and van Praag, H. (2013). Functional circuits of new neurons in the dentate gyrus. *Front Neural Circuits* 7, 15.
28. Macek, T. A., Winder, D. G., Gereau, R. W, Ladd, C. O., Conn, P. J. (1996). Differential involvement of group II and group III mGluRs as autoreceptors at lateral and medial perforant path synapses. *J. Neurophysiol.*, 76, 3798–3806.

29. McNaughton, B. L. (1980). Evidence for two physiologically distinct perforant pathways to the fascia dentata. *Brain Res.*, 199, 1–19.
30. Petersen, R. P., Moradpour, F., Eadie, B. D., Shin, J. D., Kannangara, T. S., Delaney, K. R., and Christie, B. R. (2013). Electrophysiological identification of medial and lateral perforant path inputs to the dentate gyrus. *Neuroscience*, 252, 154–168.
31. Kandel, E. R., Schwartz, J. H., Jessel, T. M., Siegelbaum, S. A. and Hudspeth, A. J. (2013) *Principles of neural science*. (Fifth Edition). USA, New York: McGraw-Hill, 9, 1441–1461.
32. Finch, D. M., Nowlin, N. L., and Babb, T. L. (1983). Demonstration of axonal projections of neurons in the rat hippocampus and subiculum by intracellular injection of HRP. *Brain Res.*, 271, 201–216.
33. Burwell, R. D. (2000). The parahippocampal region: corticocortical connectivity. *AnnNY Acad. Sci.*, 911, 25–42.
34. Hargreaves, E. L., Rao, G., Lee, I., and Knierim, J. J. (2005). Major dissociation between medial and lateral entorhinal input to dorsal hippocampus. *Science*, 308, 1792–1794.
35. Hunsaker, M. R., Rosenberg, J. S., and Kesner, R. P. (2008). The role of the dentate gyrus, CA3a,b, and CA3c for detecting spatial and environmental novelty. *Hippocampus*, 18, 1064–1073.
36. Li, X. G., Somogyi, P., Ylinen, A., and Buzsaki, G. (1994). The hippocampal CA3 network: an in vivo intracellular labeling study. *J. Comp. Neurol.*, 339, 181–208.
37. Henriksen, E. J., Colgin, L. L., Barnes, C. A., Witter, M. P., Moser, M. B., and Moser, E. I. (2010). Spatial representation along the proximodistal axis of CA1. *Neuron*, 68, 127–137.
38. Rapp, P. R., and Gallagher, M. (1996). Preserved neuron number in the hippocampus of aged rats with spatial learning deficits. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93, 9926–9930.
39. Marr, D. (1971). Simple memory: a theory for archicortex. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 262, 23–81.
40. McNaughton, B. L., and Morris, R. G. M. (1987). Hippocampal synaptic enhancement and information storage within a distributed memory system. *Trends Neurosci.*, 10, 408–415.
41. Lisman, J. E. (1999). Relating hippocampal circuitry to function: recall of memory sequences by reciprocal dentate-CA3 interactions. *Neuron*, 22, 233–242.
42. Nakazawa, K., Sun, L. D., Quirk, M. C., Rondi-Reig, L., Wilson, M. A., and Tonegawa, S. (2003). Hippocampal CA3 NMDA receptors are crucial for memory acquisition of onetime experience. *Neuron*, 38, 305–315.

43. Lee, I., Rao, G., and Knierim, J. J. (2004). A double dissociation between hippocampal subfields: differential time course of CA3 and CA1 place cells for processing changed environments. *Neuron*, 42, 803–815.
44. Vinogradova, O. S. (2001). Hippocampus as comparator: role of the two input and two output systems of the hippocampus in selection and registration of information. *Hippocampus*, 11, 578–598.
45. Papez, J. W. (1937). A proposed mechanism of emotion. *Arch. Neurol. Psychiatry*, 38, 725–743.
46. Mohedano-Moriano, A., Pro-Sistiaga, P., Arroyo-Jimenez, M. M., Artacho-Perula, E., Insausti, A. M., Marcos, P., Cebada-Sanchez, S., Martinez-Ruiz, J., Munoz, M., Blaizot, X., Martinez-Marcos, A., Amaral, D. G., and Insausti, R. (2007). Topographical and laminar distribution of cortical input to the monkey entorhinal cortex. *J. Anat.*, 211, 250–260.
47. Suzuki, W. A., and Amaral, D. G. (1994). Topographic organization of the reciprocal connections between the monkey entorhinal cortex and the perirhinal and parahippocampal cortices. *J. Neurosci.*, 14, 1856–1877.
48. Alonso, A., and Kohler, C. (1984). A study of the reciprocal connections between the septum and the entorhinal area using anterograde and retrograde axonal transport methods in the rat brain. *J. Comp. Neurol.*, 225, 327–343.
49. Swanson, L. W., and Cowan, W. M. (1975). Hippocampo-hypothalamic connections: origin in subicular cortex, not Ammon's horn. *Science*, 189, 303–304.
50. Cajal, S.R. (1901). Significacio' n probable de las ce' lulas de axo' n corto. *Trab. Lab. Investig. Biol.*, 1, 151–157.
51. Fanselow, M. S., and Dong, H. W. (2010). Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? *Neuron*, 65, 7-19.
52. Dolorfo, C. L., and Amaral, D. G. (1998). Entorhinal cortex of the rat: topographic organization of the cells of origin of the perforant path projection to the dentate gyrus. *J. Comp. Neurol.*, 398, 25–48.
53. Moser, M. B., and Moser, E. I. (1998). Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus*, 8, 608–619.
54. Swanson, L. W., and Cowan, W. M. (1977). An autoradiographic study of the organization of the efferent connections of the hippocampal formation in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 172, 49–84.
55. Moser, M. B., Moser, E. I., Forrest, E., Andersen, P., and Morris, R. G. M. (1995). Spatial learning with a minislab in the dorsal hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92, 9697–9701.
56. Henke, P. G. (1990). Hippocampal pathway to the amygdala and stress ulcer development. *Brain Res. Bull.*, 25, 691–695.

57. Morris, R. G. M. (1981). Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learn. Motiv.*, 12, 239–260.
58. Klur, S., Muller, C., Pereira de Vasconcelos, A., Ballard, T., Lopez, J., Galani, R., Certa, U., and Cassel, J. C. (2009). Hippocampal-dependent spatial memory functions might be lateralized in rats: an approach combining gene expression profiling and reversible inactivation. *Hippocampus*, 19, 800–816.
59. Maguire, E. A., Frackowiak, R. S. J., and Frith, C. D. (1997). Recalling routes around London: Activation of the right hippocampus in taxi drivers. *Journal of Neuroscience*, 17, 7103–7110.
60. Olton, D.S., and Samuelson, R.J. (1976). Remembrance of places passed: Spatial memory in rats. *J. Exp. Psychol. Anim. Behav. Process.* 2, 97–116.
61. Pothuizen, H. H., Zhang, W. N., Jongen-Re[^] lo, A. L., Feldon, J., and Yee, B. K. (2004). Dissociation of function between the dorsal and the ventral hippocampus in spatial learning abilities of the rat: a within-subject, within-task comparison of reference and working spatial memory. *Eur. J. Neurosci.*, 19, 705–712.
62. Greicius, M. D., Krasnow, B., Boyett-Anderson, J. M., Eliez, S., Schatzberg, A. F., Reiss, A. L., and Menon, V. (2003). Regional analysis of hippocampal activation during memory encoding and retrieval: fMRI study. *Hippocampus*, 13, 164–174.
63. Maren, S., and Fanselow, M. S. (1995). Synaptic plasticity in the basolateral amygdala induced by hippocampal formation stimulation in vivo. *J. Neurosci.*, 15, 7548–7564.
64. Gauggel, S., Rieger, M., and Feghoff, T. A. (2004). Inhibition of ongoing responses in patients with Parkinson's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 75, 539–544.
65. Carlson, N. R. (2014). *Fizyolojik psikoloji-davranışın nörolojik temelleri*. (Çev. M. Şahin). Ankara: Nobel Yayınevi. (Eserin orijinali 2011'de yayımlandı), 336–377.
66. Shepherd, G. M., and Harris, K. M. (1998). Three-dimensional structure and composition of CA3→CA1 axons in rat hippocampal slices: implications for presynaptic connectivity and compartmentalization. *J. Neurosci.*, 18, 8300–8310.
67. Song, I., and Huganir, R. L. (2002). Regulation of AMPA receptors during synaptic plasticity. *TRENDS in Neurosciences*, 25(11), 578–588.
68. Curtis, D. R., Phillis, J. W., and Watkins, J. C. (1959). Chemical excitation of spinal neurons. *Nature*, 183, 611–612.
69. Collingridge, G. L., Isaac, J. T. R., and Wang, Y. T. (2004). Receptor trafficking and synaptic plasticity. *Nature Reviews*, 5, 952–962.
70. Wenthold, R. J., Petralia, R. S., Blahos, J., and Niedzielski, A. S. (1996). Evidence for multiple AMPA receptor complexes in hippocampal CA1/CA2 neurons. *J. Neurosci.*, 16, 1982–1989.

71. Malinow, R. and Malenka, R. C. (2002). AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity. *Annu. Rev. Neurosci.*, 25, 103–126.
72. Malenka, R. C. (2003). Synaptic plasticity and AMPA receptor trafficking. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1003, 1-11.
73. Eccles, J. C. (1964). *The physiology of synapses*. New York: Academic Press, 1-26.
74. Hanley, J. G. (2014). Subunit-specific trafficking mechanisms regulating the synaptic expression of Ca²⁺-permeable AMPA receptors. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 27, 14-22.
75. Derkach, V. A., Oh, M. C., Guire, E. S., and Soderling, T. R. (2007). Regulatory mechanisms of AMPA receptors in synaptic plasticity. *Nature Reviews Neuroscience*, 8, 101-113.
76. Chittajallu, R., Vignes, M., Dev, K. K., Barnes, J. M., Collingridge, G. L., and Henley, J. M. (1996). Regulation of glutamate release by presynaptic kainate receptors in the hippocampus. *Nature*, 379, 78–81.
77. Semyanov, A., and Kullmann, D. M. (2001). Kainate receptor-dependent axonal depolarization and action potential initiation in interneurons. *Nat. Neurosci.*, 4, 718–723.
78. Contractor, A., Swanson, G., and Heinemann, S. F. (2001). Kainate receptors are involved in short- and long-term plasticity at mossy fiber synapses in the hippocampus. *Neuron*, 29, 209–216.
79. Yokoi, M., Kobayashi, K., Manabe, T., Takahashi, T., Sakaguchi, I., Katsuura, G., Shigemoto, R., Ohishi, H., Nomura, S., Nakamura, K., Nakao, K., Katsuki, M., and Nakanishi, S. (1996). Impairment of hippocampal mossy fiber LTD in mice lacking mGluR2. *Science*, 273, 645–647.
80. Roberts, E., and Frankel, S. (1950). Aminobutyric acid in brain: its formation from glutamic acid. *J. Biol. Chem.*, 187, 55-63.
81. Reubi, J. C., Van Der Berg, C., and Cuénod, M. (1978). Glutamine as precursor for the GABA and glutamate transmitter pools. *Neurosci. Letters*, 10, 171-174.
82. Seress, L., and Ribak, C. E. (1983). GABAergic cells in the dentate gyrus appear to be local circuit and projection neurons. *Exp. Brain Res.*, 50, 173-82.
83. Sperk, G., Schwarzer, C., Tsunashima, K., Fuchs, K., and Sieghart, W. (1997). GABA(A) receptor subunits in the rat hippocampus. I. Immunocytochemical distribution of 13 subunits. *Neuroscience*, 80, 987–1000.
84. Andersen, P., Dingledine, R., Gjerstad, L., Langmoen, I. A., and Laursen, A. M. (1980). Two different responses of hippocampal pyramidal cells to application of gamma-amino butyric acid. *J. Physiol.*, 305, 279–296.

85. Heikkinen, T., Puoliväli, J., Liu, L., Rissanen, A., and Tanila, H. (2002). Effects of ovariectomy and estrogen treatment on learning and hippocampal neurotransmitters in mice. *Hormones and Behavior*, 41, 22-32.
86. Woolley, C. S., Gould, E., Frankfurt, M., and McEwen, B. S. (1990). Naturally occurring fluctuation in dendritic spine density on adult hippocampal pyramidal neurons. *J. Neurosci.*, 10, 4035–4039.
87. Milner, T. A., McEwen, B. S., and Waters, E. M. (2014). Estrogen effects on hippocampal synapses. *The Synapse*, 195–219.
88. McEwen, B. S., and Milner, T. A. (2007). Hippocampal formation: shedding light on the influence of sex and stress on the brain. *Brain Res. Rev.*, 55(2), 343-355.
89. Calakos, N., Bennett, M. K., Peterson, K. E., and Scheller, R. H. (1994). Protein-protein interactions contributing to the specificity of intracellular vesicular trafficking. *Science*, 263, 1146–1149.
90. Williams, T. J., Mitterling, K. L., Thompson, L. I., Torres-Reveron, A., Waters, E. M., McEwen, B. S., and Gore, A. C. (2011). Hormonal regulation of delta opioid receptor immunoreactivity in interneurons and pyramidal cells in the rat hippocampus. *Neurobiol. Learn. Mem.*, 95(2), 206-220.
91. Li, C., Brake, W. G., Romeo, R. D., Dunlop, J. C., Gordon, M., Buzescu, R., Magarinos, A. M., Allen, P. B., Greengard, P., Luine, V., and McEwen, B. S. (2004). Estrogen alters hippocampal dendritic spine shape and enhances synaptic protein immunoreactivity and spatial memory in female mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101, 2185–2190.
92. Waters, E. M., Mitterling, K., Spencer, J. L., Mazid, S., McEwen, B. S., and Milner, T. A. (2009). Estrogen receptor alpha and beta specific agonists regulate expression of synaptic proteins in rat hippocampus. *Brain Res.*, 1290, 1–11.
93. Ledoux, V. A., Smejkalova, T., May, R. M., Cooke, B. M., and Woolley, C. S. (2009). Estradiol facilitates the release of neuropeptide Y to suppress hippocampus-dependent seizures. *J. Neurosci.*, 29, 1457–1468.
94. Daniel, J. M., and Dohanich, G. P. (2001). Acetylcholine mediates the estrogen-induced increase in NMDA receptor binding in CA1 of the hippocampus and the associated improvement in working memory. *J. Neurosci.*, 21, 6949–6956.
95. Woolley, C. S., and McEwen, B. S. (1994). Estradiol regulates hippocampal dendritic spine density via an N-methyl-D-aspartate receptor-dependent mechanism. *J. Neurosci.*, 14, 7680–7687.
96. Goldstein E. B. (2013). *Bilişsel psikoloji*. (Çev. O. Gündüz) İstanbul: Kaknüs Yayınları. (Eserin orijinali 2011’de yayımlandı), 212-352.
97. Frankland, P. W., and Bontempi, B. (2005). The organization of recent and remote memories. *Neuroscience*, 6, 119-130.
98. Nadel, L., and Moskovitch, M. (1997). Memory consolidation, retrograde amnesia

- and the hippocampal complex. *Current Opinion in Neurobiology*, 7, 217-227.
99. Huber, R., Ghilardi, M. F., Massimini, M., and Tononi, G. (2004). Local sleep and learning. *Nature*, 430, 78-71.
 100. Bliss, T. V. P., and Lømo, T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J. Physiol.*, 232, 331-356.
 101. Nicoll, R. A. (2017). A brief history of long-term potentiation. *Neuron*, 93, 281-290.
 102. Manahan-Vaughan, D. (2017). Learning-related hippocampal long-term potentiation and long-term depression. In J. H. Byrne (Ed.), *Learning and memory: a comprehensive reference*. ABD, New York: Academic Press, 4: 585-609.
 103. Krug, M., Chepkova, A. N., Geyer, C., and Ott, T. (1983). Aminergic blockade modulates long-term potentiation in the dentate gyrus of freely moving rats. *Brain Res. Bull.*, 11, 1-6.
 104. Krug, M., Lössner, B., and Ott, T. (1984). Anisomycin blocks the late phase of long-term potentiation in the dentate gyrus of freely moving rats. *Brain Res. Bull.*, 13, 39-42.
 105. Whitlock, J. R., Heynen, A. J., Shuler, M. G., and Bear, M. F. (2006). Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science*, 313, 1093-1097.
 106. Pınar, L. (2015). *Sinir ve kas fizyolojisi temel bilgiler*. (Üçüncü Basım) Ankara: Akademisyen Tıp Kitabevi, 4, 229-273.
 107. Abraham, W. C. (2003). How long will long-term potentiation last? *Philos Trans. R. Soc. London B. Biol. Sci.*, 358, 735-774.
 108. Kandel, E. R. (2001). The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science*, 294, 1030-1038.
 109. Sweatt, J. D. (1999). Toward a molecular explanation for long-term potentiation. *Learn. Mem.*, 6, 399-416.
 110. Bramham, C. R., and Messaoudi, E. (2005). BDNF function in adult synaptic plasticity: the synaptic consolidation hypothesis. *Progress in Neurobiology*, 76, 99-125.
 111. Ehrlich, I., and Malinow, R. (2004). Postsynaptic density 95 controls AMPA receptor incorporation during long-term potentiation and experience-driven synaptic plasticity. *The Journal of Neuroscience*, 24(4), 916-927.
 112. Kemp, A., and Manahan-Vaughan, D. (2007). Hippocampal long-term depression: master or minion in declarative memory processes? *TRENDS in Neurosciences*, 30(3), 111-118.
 113. Leal, G., Afonso, P. M., Salazar, I. L., and Duarte, C. B. (2015). Regulation of hippocampal synaptic plasticity by BDNF. *Brain Research*, 1621, 82-101.

114. Sacktor, T. C., Osten, P., Valsamis, H., Jiang, X., Naik, M. U., and Sublette, E. (1993). Persistent activation of the zeta isoform of protein kinase C in the maintenance of long-term potentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 8342-8346.
115. Kwapis, J. L., and Helmstetter, F. J. (2014). Does PKM ζ maintain memory? *Brain Res. Bull.*, 0, 36-45.
116. Kelly, M. T., Crary, J. F., and Sacktor, T. C. (2007). Regulation of protein kinase Mzeta synthesis by multiple kinases in long-term potentiation. *J. Neurosci.*, 27(13), 3439-3444.
117. Schuette, S. R: M., Fernández-Fernández, D., Lamla, T., Rosenbrock, H. and Hobson, S. (2016). Overexpression of protein kinase M ζ in the hippocampus enhances long-term potentiation and long-term contextual but not cued fear memory in rats. *J. Neurosci.*, 36(15), 4313-4324.
118. Alger, B. E., and Teyler, T. J. (1976). Long-term and short-term plasticity in the CA1, CA3, and dentate regions of the rat hippocampal slice. *Brain Res.*, 110, 463–480.
119. Tsumoto, T. (1993). Long-term depression in cerebral cortex: a possible substrate of “forgetting” that should not be forgotten. *Neurosci. Res.*, 16, 263–270.
120. Mezey, S., Doyère, V., De Souza, I., Harrison, E., Cambon, K., Kendal, C. E., Davies, H., Laroche, S., and Stewart, M. G. (2004). Long-term synaptic morphometry changes after induction of long-term potentiation and long-term depression in the dentate gyrus of awake rats are not simply mirror phenomena. *Eur. J. Neurosci.*, 19, 2310–2318.
121. Braunewell, K. H., and Manahan-Vaughan, D. (2001). Long-term depression: a cellular basis for learning? *Rev. Neurosci.*, 12, 121–140.
122. Ivanco, T. L. (2015). Long-term potentiation and long-term depression. In J. Wright (Ed.), *International Encyclopedia of the Social & Behavioral Sciences*, Amsterdam: Elsevier, 358-365.
123. Pöschel, B., and Stanton, P. K. (2007). Comparison of cellular mechanisms of long-term depression of synaptic strength at perforant path-granule cell and Schaffer collateral-CA1 synapses. In H. E. Scharfman (Ed.) *Progress in Brain Research*, Amsterdam: Elsevier, 473-500.
124. Nicholls, R. E., Alarcon, J. M., Malleret, G., Carroll, R. C., Grody, M., Vronskaya, S., and Kandel, E. R. (2008). Transgenic mice lacking NMDAR-dependent LTD exhibit deficits in behavioral flexibility. *Neuron*, 58, 104–117.
125. Rose, S. P. R. (2018). *21. Yüzyılda Beyin*. (Çev. L. C. Yılmaz) İstanbul: Ginko Bilim. (Eserin orijinali 2005’de yayımlandı), 88.
126. Altman, J. (1962). Are new neurons formed in the brains of adult mammals? *Science*, 135, 1127–1128.

127. Altman, J. (1963). Autoradiographic investigation of cell proliferation in the brains of rats and cats. *Anat. Rec.*, 145, 573–591.
128. Altman, J., and Das, G. D. (1965a). Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J. Comp. Neurol.*, 124, 319–335.
129. Altman, J., and Das, G. D. (1965b). Post-natal origin of microneurons in the rat brain. *Nature*, 207, 953–956.
130. Altman, J. (1969). Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. IV. Cell proliferation and migration in the anterior forebrain, with special reference to persisting neurogenesis in the olfactory bulb. *J. Comp. Neurol.*, 137, 433–457.
131. Ambrogini, P., Orsini, L., Mancini, C., Ferri, P., Barbanti, I., and Cuppini, R. (2002). Persistently high corticosterone levels but not normal circadian fluctuations of the hormone affect cell proliferation in the adult rat dentate gyrus. *Neuroendocrinology*, 76, 366–372.
132. Ormerod, B. K., Lee, T. T., and Galea, L. A. (2003). Estradiol initially enhances but subsequently suppresses (via adrenal steroids) granule cell proliferation in the dentate gyrus of adult female rats. *J. Neurobiol.*, 55, 247–260.
133. Brown, J., Cooper-Kuhn, C. M., Kempermann, G., Van Praag, H., Winkler, J., Gage, F. H., and Kuhn, H. G. (2003). Enriched environment and physical activity stimulate hippocampal but not olfactory bulb neurogenesis. *Eur. J. Neurosci.*, 17, 2042–2046.
134. Nadel, L., O’Keefe, J., and Black, A. H. (1975). Slam on the brakes: a critique of Altmann, Brunner and Bayer’s response inhibition model of hippocampal function. *Behav. Biol.*, 14, 151–162.
135. Milner, B. (1970). Memory and the temporal regions of the brain. In K.H. Pribram and D.E. Broadbent (Eds.), *Biology of Memory*. New York: Academic Press, 37.
136. Milner, B., Corkin, S., and Teuber, H. L. (1968). Further analysis of the hippocampal amnesic syndrome: 14-year follow-up study of H.M. *Neuropsychologia*, 6, 317–338.
137. Gökbel H. (Editör). (2015). *Ganong’un Tıbbi Fizyolojisi*, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 283–299.
138. Filaretova, L. (2014). Pavlov, Ivan. *Encyclopedia of the Neurological Sciences*, Amsterdam: Elsevier, 846–847.
139. Madi B. (2014). *Öğrenme Beyinde Nasıl Oluşur?* (Üçüncü Basım). Ankara: Elif Yayınevi, 2014.
140. James, W. (1908). *Textbook of Psychology, Briefer Course*, Londra: McMillan, 640.
141. Changeux, J. P., and Ricoeur, P. (2013). *Neden nasıl düşünüyoruz? Etik, İnsan doğası ve Beyin Üzerine Bir Tartışma*. (Çev. İ. Birkan). İstanbul: Metis Yayınları, (Eserin orijinali 1998’de yayımlandı), 132–133.

142. Atkinson, R. C., and Shiffrin, R. M. (1968). Human memory: A proposed system and its control processes. In K. W. Spence ve J. T. Spence (Eds.), *The psychology of learning and motivation*. New York: Academic Press, 89-195.
143. Wearing, D. (2005). *Forever today: A memoir of love and amnesia*. London: Doubleday, 3-404.
144. Baddeley, A. D. and Hitch, G. J. (1974). Working Memory. G. H. Bower (Ed.), *The psychology of learning and motivation*. New York: Academic Press, 47-89.
145. Baddeley, A. D. (2000) Short-term and working memory. In E. Tulving and F. I. M. Craik (Eds.), *The Oxford handbook of memory*. New York: Oxford University Press, 77-92.
146. Tulving, E. (1985). How many memory systems are there? *American Psychologist*, 40, 385-398.
147. Rubin, D. C. (2005). A basic-systems approach to autobiographical memory. *Current Directions in Psychological Science*, 4, 79-83.
148. Squire, L. R. (2009). The legacy of patient H.M. for neuroscience. *Neuron*, 61, 6-9.
149. Woodruff-Pak, D. S. (1993). Eyeblink classical conditioning in H.M.: Delay and trace paradigms. *Behavioural Neuroscience*, 107, 911-925.
150. Craik, F. I. M., and Lockhart, R. S. (1972). Levels of processing: a framework for memory research. *Journal of Verbal Learning and Verbal Behavior*, 11, 671-684.
151. McGaugh, J. L. (2018). Emotional arousal of memory consolidation. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 19, 55-60.
152. Chaaya, N., Battle, A. R., and Johnson, L. R. (2018). An update on contextual fear memory mechanisms: transition between amygdala and hippocampus. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 92, 43-54.
153. Cahill, L., Babinsky, R., Markowitsch, H. J. and McGaugh, J. L. (1995). The amygdala and emotional memory. *Nature*, 377, 295-296.
154. Hebb, D. O. (1949). *Organization of behaviour*. New York: Wiley, 88-140.
155. Moser, E., and Moser, M. B. (2014). Mapping your every move. *Cerebrum*, 2014, 4.
156. Woollett, K., and Maguire, E. A. (2012). Exploring anterograde associative memory in London taxi drivers. *Neuroreport*, 23(15), 885-888.
157. O'Keefe, J., and Nadel, L. (1978). *The hippocampus as a cognitive map*. Oxford, UK: Clarendon Press, 5-217.
158. O'Keefe, J., and Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Res.*, 34, 171-175.

159. Mahut, H. (1971). Spatial and object reversal learning in monkeys with partial temporal lobe ablations. *Neuropsychologia*, 9, 409–424.
160. Morris, R.G., Garrud, P., Rawlins, J.N., and O'Keefe, J. (1982). Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, 297, 681–683.
161. Cohen, J.S., Laroche, J.P., and Beharry, E. (1971). Response perseveration in the hippocampal lesioned rat. *Psychon. Sci.*, 23, 221–223.
162. Muller, R. U., Bostock, E., Taube, J. S., and Kubie, J. L. (1994). On the directional firing properties of hippocampal place cells. *J. Neurosci.*, 14, 7235–7251.
163. McNaughton, B. L., Barnes, C. A., and O'Keefe, J. (1983). The contributions of position, direction, and velocity to single unit activity in the hippocampus of freely-moving rats. *Exp. Brain Res.*, 52, 41–49.
164. Best, P. J., White, A. M., and Minai, A. (2001). Spatial processing in the brain: The activity of hippocampal place cells. *Annual Review of Neuroscience*, 24, 459–486.
165. Rowland, D. C., and Moser, M. B. (2013). Time finds its place in the hippocampus. *Neuron*, 78(6), 953–954.
166. Pastalkova, E., Itskov, V., Amarasingham, A., and Buzsáki, G. (2008). Internally generated cell assembly sequences in the rat hippocampus. *Science*, 321, 1322–1327.
167. MacDonald, C. J., Lepage, K. Q., Eden, U. T., and Eichenbaum, H. (2011). Hippocampal “time cells” bridge the gap in memory for discontinuous events. *Neuron*, 71, 737–749.
168. Kraus, B. J., Robertson II, R. J., White, J. A., Eichenbaum, H., and Hasselmo, M. E. (2013). Hippocampal “time cells”: time versus path integration. *Neuron*, 78(6), 1090–1101.
169. Yan, Q., Rosenfeld, R. D., Matheson, C. R., Hawkins, N., Lopez, O. T., Bennett, L., and Welcher, A. A. (1997). Expression of brain-derived neurotrophic factor protein in the adult rat central nervous system. *Neuroscience*, 78(2), 431–448.
170. Leßmann, V. (1998). Neurotrophin-dependent modulation of glutamatergic synaptic transmission in the mammalian. *CNS. Gen. Pharmac.*, 31(5), 667–674.
171. Lewin, G. R., and Barde, Y. A. (1996). Physiology of the neurotrophins. *Annu. Rev. Neuroscience*, 19, 289–317.
172. Ruit, K. G., Elliott, J. L., Osborne, P. A., Yan, Q. and Snider, W. D. (1992). Selective dependence of mammalian dorsal root ganglion neurons on nerve growth factor during embryonic development. *Neuron*, 8, 573–587.
173. Aloe, L., Cozzari, C., Calissano, P., and Levi-Montalcini, R. (1981). Somatic and behavioral postnatal effects of fetal injections of nerve growth factor antibodies in the rat. *Nature*, 291, 413–415.

174. Levi-Montalcini, R., and Hamburger, V. (1951). Selective growth- stimulating effects of mouse sarcoma on the sensory and sympathetic nervous system of the chick embryo. *J. Exp. Zool.*, 116, 321–361.
175. Barde, Y. A., Edgar, D., and Thoenen, H. (1982). Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *EMBO J*, 1, 549–553.
176. Maisonpierre, P. C., Belluscio, L., Squinto, S., Ip, N. Y., Furth, M. E., Lindsay, R. M., and Yancopoulos, G. D. (1990). Neurotrophin-3: a neurotrophic factor related to NGF and BDNF. *Science*, 247, 1446–1451.
177. Hallbook, F., Ibanez, C. F., and Persson, H. (1991). Evolutionary studies of the nerve growth factor family reveal a novel member abundantly expressed in Xenopus ovary. *Neuron*, 6, 845–858.
178. Kojima, M., and Mizui, T. (2017). BDNF Propeptide. *Neurotrophins*, 19–28.
179. Binder, D. K., and Scharfman, H. E. (2004). Brain-derived neurotrophic factor. *Growth Factors*, 22(3), 123-131.
180. Lu, B., Pang, P. T., and Woo, N. H. (2005). The yin and yang of neurotrophin action. *Nature Reviews Neuroscience*, 6, 603-614.
181. Matsumoto, T., Rauskolb, S., Polack, M., Klose, J., Kolbeck, R., Korte, M., and Barde, Y. A. (2008). Biosynthesis and processing of endogenous BDNF: CNS neurons store and secrete BDNF, not pro-BDNF. *Nature Neuroscience*, 11(2), 131-133.
182. Farhadi, H. F., Mowla, S. J., Petrecca, K., Morris, S. J., Seidah, N. G., and Murphy, R. A. (2000). Neurotrophin-3 sorts to the constitutive secretory pathway of hippocampal neurons and is diverted to the regulated secretory pathway by coexpression with brain-derived neurotrophic factor. *J. Neurosci.*, 20, 4059–4068.
183. Poo, M. (2001). Neurotrophins as synaptic modulators. *Nature Reviews*, 2, 24-32.
184. Chao, M. V. (2003). Neurotrophins and their receptors: A convergence point for many signalling pathways. *Nature Reviews Neuroscience*, 4, 299–309.
185. Segal, R. A. (2003). Selectivity in neurotrophin signaling: theme and variations. *Annu Rev Neurosci*, 26, 299–330.
186. Andreska, T., Aufmkolk, S., Sauer, M., and Blum, R. (2014). High abundance of BDNF within glutamatergic presynapses of cultured hippocampal neurons. *Front. Cell Neurosci.*, 8, 107.
187. Balkowiec, A., and Katz, D.M. (2002). Cellular mechanisms regulating activitydependent release of native brain-derived neurotrophic factor from hippocampal neurons. *J. Neurosci.*, 22, 10399–10407.
188. Aoki, C., Wu, K., Elste, A., Len, G., Lin, S., McAuliffe, G., and Black, I.B. (2000). Localization of brain-derived neurotrophic factor and TrkB receptors to postsynaptic densities of adult rat cerebral cortex. *J. Neurosci. Res.*, 59, 454–463.

189. Lewin, G. R., and Carter, B. D. (Editors). (2014). *Neurotrophic factors. Handbook of experimental pharmacology*, Berlin: Springer-Verlag, 3-251.
190. Kang, H., and Schuman, E. M. (1995). Long-lasting neurotrophin-induced enhancement of synaptic transmission in the adult hippocampus. *Science*, 267, 1658–1662.
191. Figurov, A., Pozzo-Miller, L. D., Olafsson, P., Wang, T., and Lu, B. (1996). Regulation of synaptic responses to high-frequency stimulation and LTP by neurotrophins in the hippocampus. *Nature*, 381, 706–709.
192. Ji, Y., Lu, Y., Yang, F., Shen, W., Tang, T. T., Feng, L., Duan, S., and Lu, B. (2010). Acute and gradual increases in BDNF concentration elicit distinct signaling and functions in neurons. *Nat Neurosci*, 13, 302–309.
193. Patterson, S. L., Grover, L. M., Schwartzkroin, P. A., and Bothwell, M. (1992). Neurotrophin expression in rat hippocampal slices: a stimulus paradigm inducing LTP in CA1 evokes increases in BDNF and NT-3 mRNAs. *Neuron*, 9, 1081–1088.
194. Jovanovic, J. N., Czernik, A. J., Fienberg, A. A., Greengard, P., and Sihra, T. S. (2000). Synapsins as mediators of BDNF-enhanced neurotransmitter release. *Nature Neuroscience*, 3, 323-329.
195. Patterson, S. L., Pittenger, C., Morozov, A., Martin, K. C., Scanlin, H., Drake, C., and Kandel, E. R. (2001). Some forms of cAMP-mediated long-lasting potentiation are associated with release of BDNF and nuclear translocation of phospho-MAP kinase. *Neuron*, 32, 123-140.
196. Minichiello, L., Korte, M., Wolfer, D., Kuhn, R., Unsicker, K., Cestari, V., Rossi-Arnaud, C., Lipp, H. P., Bonhoeffer, T., and Klein, R. (1999). Essential role for TrkB receptors in hippocampus-mediated learning. *Neuron*, 24, 401-414.
197. Larson, J., and Munkácsy, E. (2015). Teta-Burst LTP. *Brain Res.*, 1621, 38-50.
198. Aicardi, G., Argilli, E., Cappello, S., Santi, S., Riccio, M., Thoenen, H., and Canossa, M. (2004). Induction of long-term potentiation and depression is reflected by corresponding changes in secretion of endogenous brain-derived neurotrophic factor. *PNAS*, 101(44), 15788-15792.
199. Lake, C., Stransky, E., Leyhe, T., Eschweiler, G. W., Maetzler, W., Witroff, A., Soekadar, S., Richartz, E., Koehler, N., Bartels, M., Buchkremer, G., and Schott, K. (2007). BDNF serum and CSF concentration in Alzheimer's Disease, normal pressure hydrocephalus and healthy controls. *J Psychiatr Res*, 41, 387-394.
200. İnternet: Long-Evans Rats. (2012, Dec). URL: <http://www.webcitation.org/74YOVbFo9>, Son Erişim Tarihi: 10.12.2018.
201. Pencea, V., Bingaman, K. D., Wiegand, S. J., and Luskin, M. B. (2001). Infusion of brain-derived neurotrophic factor into the lateral ventricle of the adult rat leads to new neurons in the parenchyma of the striatum, septum, thalamus, and hypothalamus. *The Journal of Neuroscience*, 21(17), 6706-6717.

202. Scharfman, H. E., Goodman, J., Macleod, A., Phani, S., Antonelli, C., and Croll, S. (2005). Increased neurogenesis and the ectopic granule cells after intrahippocampal BDNF infusion in adult rats. *Experimental Neurology*, 192, 348-356.
203. Cirulli, F., Berry, A., and Alleva, E. (2000). Intracerebroventricular administration of brain-derived neurotrophic factor in adult rats affects analgesia and spontaneous behaviour but not memory retention in a Morris Water Maze task. *Neuroscience Letters*, 287, 207-210.
204. Xu, B., Michalski, B., Racine, R. J., and Fahnstock, M. (2004). The effects of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) administration on kindling induction, Trk expression and seizure-related morphological changes. *Neuroscience*, 126, 521-531.
205. Mamounas, L. A., Altar, C. A., Blue, M. E., Kaplan, D. R., Tessarollo, L., and Lyons, W. E. (2000). BDNF promotes the regenerative sprouting, but not survival, of injured serotonergic axons in the adult rat brain. *The Journal of Neuroscience*, 20(2), 771-782.
206. Markondes, F. K., Bianchi, F. J., and Tanno, A. P. (2002). Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Braz. J. Biol.*, 62(4A), 609-614.
207. Paxinos, G., and Watson, C. (1998). The rat brain in stereotaxic coordinates. (Forth Edition) San Diego: Academic Press, 456.
208. Dokutan, Ş., Dolu N., ve Soyer, Sarıca, Z. (2007). Genç erkek sıçanlarda vitamin E uygulamasının yer bulma öğrenmesine etkisi. *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences)*, 16(1), 40-48.
209. Schimanski, L. A., and Nguyen, P. V. (2004). Multidisciplinary approaches for investigating the mechanisms of hippocampus-dependent memory: a focus on inbred Mouse strains. *Neurosci Biobehav Rev*, 28(5), 463-483.
210. Sheppard, E. N., and Metzler, J. (1971). Mental rotation of three-dimensional objects. *Science*, 171, 701-703.
211. Cahill, L. (2005). His brain, her brain. *Scientific American*, 2012, 40-47.
212. Markowska, A. L. (1999). Sex dimorphisms in the rate of age-related decline in spatial memory: relevance to alterations in the estrous cycle. *J Neurosci*, 19(18), 8122-8133.
213. Frick, K. M., Burlingame, L. A., Arters, J. A., Berger-Sweeney, J. (2000). Reference memory, anxiety, and estrous cyclicity in C57BL/6NIA mice and affected by age and sex. *Neuroscience*, 95(1), 293-307.
214. Bucci, D. J., Chiba, A. A., and Gallagher, M. (1995). Spatial learning in male and female long-evans rats. *Behav Neurosci*, 109, 180-183.
215. Bettis, T. J., and Jacobs, L. F. (2009). Sex-specific strategies in spatial orientation in C57BL/6J mice. *Behavioural Processes*, 82, 249-255.

216. Mu, J. S., Li, W. P., Yao, Z. B., and Zhou, X. F. (1999). Deprivation of endogenous brain-derived neurotrophic factor results in impairment of spatial learning and memory in adult rats. *Brain Research*, 835, 259-265.
217. Caldeira, M. V., Melo, C. V., Pereira, D. B., Carvalho, R., Correia, S. S., Backos, D. S., Carvalho, A. L., Esteban, J. A., and Duarte, C. B. (2007). Brain-derived neurotrophic factor regulates the expression and synaptic delivery of α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid receptor subunits in hippocampal neurons. *J. Biol. Chem.*, 282, 12619–12628.
218. Fortin, D. A., Strivastava, T., Dwarakanath, D., Pierre, P., Nygaard, S., Derkach, V. A., and Soderling, T. R. (2012). BDNF activation of CaM-kinase kinase via TRPC channels induces the translation and synaptic incorporation of GluA1 containing calcium-permeable AMPARs. *J Neurosci*, 32(24), 8127–8137.





EK-1. Etik Kurul Değerlendirme ve Onay.

Evrak Tarih ve Sayısı: 14/03/2017-E.38661



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : 66332047-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Çiğdem ÖZER
Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Çiğdem ÖZER, Burcu SIRMATEL, Şevin GÜNEY, Gülmur TAKE KAPLANOĞLU ve Cemile Merve SEYMEN'den oluşan, G.Ü.ET-17.011 kod numaralı ve "Eksojen BDNF (Beyin Kökenli Nörotrofik Faktör)'nin Sıçan Hipokampusundaki NMDA, Ampa ve Aquaporin-4 Reseptörlerine Olası Etkilerinin İncelenmesi" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-17.011 and entitled "Examination of Possible Effects of Exogenous BDNF (Brain-Derived Nourotrophic Factor) on NMDA, Ampa and Aquaporin-4 Receptors in Rat Hippocampus" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Hayvan Türü : Sıçan Long Evans
Hayvan Sayısı : 50

Ek:1 Liste

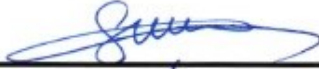
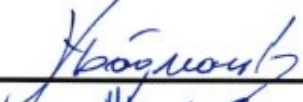
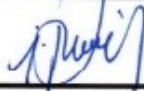
Ankara
Tel:0 (312) 202 20 57 Faks:0 (312) 202 20 63
e-Posta: ihadyak@gazi.edu.tr İnternet Adresi: http://ihadyak.gazi.edu.tr/

Bilgi için: Nuriyel Güner
Genel Evrak Sorumlusu
Telefon No:202 20 57

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

EK-1. (devam) Etik Kurul Değerlendirme ve Onay.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM
LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ :02.03.2017		TOPLANTI SAYISI : 02	
ADI-SOYADI		İMZA	
Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ (Başkan)			
Uzm.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)			
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU			
Prof.Dr.Tuncay PEKER			
Prof.Dr.Fatma AKAR			
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK			
Doç.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ			
Doç.Dr.Süleyman YEŞİL		KATILAMADI	
Doç.Dr.Emre BARIŞ			
Doç.Dr.İpek SÜNTAR			
Doç.Dr.Neşet Volkan ASAR		KATILAMADI	
Vet.Hek.Burcu AVCI			
Osman İÇ		KATILAMADI	

EK-2. Etik Kurul Değerlendirme ve Onay

Evrak Tarih ve Sayısı: 16/08/2017-E.116559



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : 66332047-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Çiğdem ÖZER
Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Daha önce 14.03.2017 tarih ve E.38661 sayılı yazımız ile onay alan, araştırmacı grubu Çiğdem ÖZER, Burcu SIRMATEL, Şevin GÜNEY, Gülnur TAKE KAPLANOĞLU ve Cemile Merve SEYMEN'den oluşan G.Ü.ET-17.011 kod numaralı ve "*Eksojen BDNF (Beyin Kökenli Nörotrofik Faktör)'nin Sıçan Hipokampusundaki NMDA, Ampa ve Aquaporin-4 Reseptörlerine Olası Etkilerinin İncelenmesi*" başlıklı araştırma önerisi ile ilgili alınan 07.08.2017 tarihli dilekçe konusu Başkanlığımız tarafından incelenmiş olup,

Araştırmacı grubundan Gülnur TAKE KAPLANOĞLU ve Şevin GÜNEY'in ayrılması ile ilgili talebin uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiş ve karara ilişkin imza listesi ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

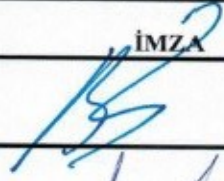
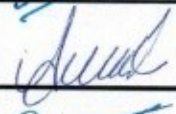
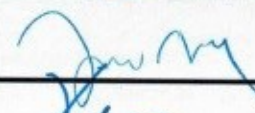
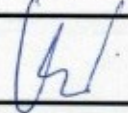
e-imzalıdır
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Ek:1 Liste

Ankara
Tel:0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks:0 (312) 202 38 76
e-Posta :hadyok@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://hadyok.gazi.edu.tr/

Bilgi için :Nurvel Güner
Genel Evrak Sorumlusu
Telefon No:202 20 57

EK-2. (devam) Etik Kurul Değerlendirme ve Onay

GAZİ ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM LİSTESİ	
TOPLANTI TARİHİ :11.08.2017	TOPLANTI SAYISI : 07
ADI-SOYADI	İMZA
Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ (Başkan)	
Uzm.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)	
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU	
Prof.Dr.Tuncay PEKER	
Prof.Dr.Fatma AKAR	
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK	
Doç.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ	
Doç.Dr.Süleyman YEŞİL	
Doç.Dr.Emre BARIŞ	KATILAMADI
Doç.Dr.İpek SÜNTAR	
Doç.Dr.Neşet Volkan ASAR	
Vet.Hek.Burcu AVCI	KATILAMADI
Osman İÇ	

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : SIRMATEL, Burcu
 Uyuğu : T. C.
 Doğum tarihi ve yeri : 10/01/1992 Ankara
 Medeni hali : Bekâr
 Telefon : 0 (544) 323 10 01
 e-mail : burcusirmatel@gmail.com



Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi /Fizyoloji A.D.	Devam Ediyor
Lisans	Hacettepe Üniversitesi /Biyoloji Bölümü	2014
Lise	Hürriyet Anadolu Lisesi	2010

İş/Staj Deneyimi, Yıl	Çalıştığı Yer	Görev
2014-2015	Ankara Üniversitesi Beyin Araştırmaları Merkezi (AU-BAUM)	Gönüllü Çalışan
2013	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı	Stajyer

Yabancı Dil

İngilizce

Ulusal Kongrelerde Sunulan ve Yayımlanan Bildiri Özetleri

1. Özer, Ç., Sirmatel B. and Tozcu, D. (2017). The Effect of Resveratrol on Oxidative Stress in Diabetic Rat Heart Tissue, Turkish 43rd National Physiology Congress, 7-10 September,Denizli.



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

