

GAZİ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

157076

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**LİPOPOLİSAKKARİD (LPS) İLE ALZHEİMER HASTALIĞI MODELİ
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA TAURİN UYGULAMASININ ÖĞRENME
ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

RAMAZAN AY

TEZ YÖNETİCİSİ

Prof. Dr. SİBEL DİNÇER

ANKARA 2004

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bana her konuda göstermiş oldukları destekten ötürü Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Deniz Erbaş, ve değerli hocalarım Prof Dr. Sibel Dinçer, Prof. Dr. Aydan Babül, Prof Dr. Bilge Gönül, Doç. Dr. Eser Öz ve Doç. Dr. Gonca Akbulut'a teşekkür ediyorum.

Tez çalışmalarım süresince beni yönlendiren, her konuda bilgi ve desteğini benden esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Sibel Dinçer'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Ayrıca tez çalışmalarım süresince bana yardımcı olan bütün Fizyoloji Anabilim Dalı ve Ankara Üniversitesi Farmakoloji Anabilim Dalı çalışanlarına; tezime değerli görüşleri ile katkıda bulunan Prof. Dr. Eyüp Sabri Akarsu'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımı maddi olanakları ile destekleyen ve yüksek lisans eğitimimde bana maddi ve manevi destek olan Babama, ayrıca bütün olanakları ile her zaman yanımda olan bütün arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
I. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
II. GENEL BİLGİLER.....	3
II.1. ALZHEİMER HASTALIĞI.....	3
II.1.1 Alzheimer Hastalığının Belirtileri.....	3
II.1.2. Alzheimer Hastalığının Patolojisi.....	5
II.1.3. Alzheimer Hastalığı ve Oksidatif Stres.....	6
II.1.4. Alzheimer Hastalığı ve Nitrik Oksit (NO).....	6
II.1.5. Alzheimer Hastalığı ve İnflamasyon.....	7
II.1.6. Alzheimer Hastalığının Tedavisi.....	8
II.2. LİPOLİSAKKARİD ve ALZHEİMER HASTALIĞI İÇİN HAYVAN MODELİ OLUŞTURMADAKİ ROLÜ.....	11
II.3.TAURİN.....	14
II.3.1. Taurin'in Safra Asitleri ile Konjugasyonu ve Kolesterol	15
II.3.2. Taurin ve Detoksifikasyon.....	15
II.3.3. Taurin'in Kardiyovasküler Etkisi.....	16
II.3.4. Taurin ve Lipopolisakkarid (LPS).....	17
II.3.5. Öğrenme, Hafıza ve Taurin.....	18
II.4. MORRIS'IN SU LABİRENTİ ve UZAYSAL ÖĞRENME.....	19
II.4.1.Morris'in Su Labirenti (MSL) (Morris Water Maze).....	19
II.4.2. MSL Performansı Üzerinde Etkili Olan Faktörler.....	21

II.4.3. MSL'de Performans Üzerinde Etkili Olan Beyin Bölgeleri.....	24
II.4.4. Uzaysal Öğrenmenin Nörofizyolojisi.....	26
II.4.5. MSL ve Nörokognitif Hastalık Modelleri.....	28
III. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
III.1. KULLANILAN GEREÇLER.....	30
III.1.1. Morris'in Su Labirenti (MSL).....	30
III.1.2. Deney Hayvanlar.....	33
III.1.3. Kimyasallar.....	33
III.2. UYGULANAN YÖNTEMLER.....	33
III.2.1. Uzaysal Öğrenme Testleri.....	33
III.2.2. Kimyasalların Uygulanışı.....	36
III.2.2.1 Görünür ve Gizli Platform Eğitim Sürecindeki Uygulamalar.....	36
III.2.2.2. Platformsuz Yüzme Günündeki (7. Gün) Uygulamalar.....	37
III.2.3. Skorlarının Değerlendirilmesi.....	37
III.2.3.1 Görünür ve Gizli Platform Skorlarının Değerlendirilmesi.....	37
III.2.3.2. Platformsuz Günde (7. Gün) Elde Edilen Skorların Değerlendirilmesi.....	38
III.2.3.3. İstatistiksel Analizler.....	39
IV. BULGULAR.....	40
IV.1. FİZYOLOJİK PARAMETRELER.....	40

IV.2. UZAYSAL ÖĞRENME TESTLERİ.....	40
IV.2.1. Görünür ve Gizli Platform ile Yapılan Testlerin Sonuçları.....	40
IV.2.2. Platformsuz Gün (7. Gün) Yapılan Testlerin Sonuçları.....	46
V. TARTIŞMA	47
VI. SONUÇ.....	56
VII. ÖZET.....	57
VIII. YABANCI DİLDE ÖZET.....	58
X. KAYNAKLAR.....	59
IX. ÖZGEÇMİŞ.....	73

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Alzheimer Hastalığı (AH), kronik kolinerjik nöronal dejenerasyon ve beraberinde beta amiloid plak birikimi ve/veya nörofibriler yumakçık oluşumu ile karakterize, öğrenme ve hafıza gibi bilişsel fonksiyonların kısmen veya tamamen kaybı ile seyreden bir santral sinir sistemi patolojisidir. Patolojinin nedenleri arasında kronik inflamasyon ve oksidatif stres gibi çeşitli süreçler yer almaktadır¹⁰⁸.

Lipopolisakkarid (LPS) gram-negatif bakteri duvarından elde edilen bir endotoksin olup, proinflamatuvar sitokinlerin sekresyonunu sağlayarak inflamasyona ve NO_x üretimini artırarak oksidatif strese yol açabilen bir ajandır. Bu özelliklerinden ötürü AH için hayvan modeli oluşturmada kullanılmaktadır³².

Morris'in su labirenti (MSL) uzaysal öğrenme ve hafıza çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Hayvanların negatif motivasyonundan yararlanarak tasarlanan bu yöntem, AH modelinde ortaya çıkan bilişsel fonksiyon kaybını değerlendirmede de kullanılmaktadır⁵³.

Taurin (2-aminoethanosülfonik asit) serbest bir amino asittir. Organizmada bir çok fizyolojik ve fizyopatolojik olayda görev alır. Taurinin anti-inflamatuvar, anti-oksidan, membran stabilizatör ve ozmoregülatör etkileri olduğu bilinmektedir. Santral sinir sisteminde ise nöromodülatör rolü olan taurinin nöronları çeşitli ajanların (hipoksi, hipoglisemi, iskemi, oksidatif stres, metabolik toksinler vb.) yarattığı hasardan koruduğu bilinmektedir⁸. Hayvan çalışmalarında taurin eksikliğinde uzaysal öğrenme performansının azaldığı veya oksidatif strese bağlı hafıza bozukluklarının taurin verilerek düzeltilebildiği gösterilmektedir⁸¹. Taurin yaşa bağlı olarak çeşitli beyin bölgelerinde azalmaktadır. AH olan insanların BOS taurin seviyelerinin aynı yaştaki sağlıklı bireylere göre daha düşük olduğu bilinmektedir¹⁰³.

Taurin sıçanlarda LPS enjeksiyonuna bağlı karaciğer hasarını önlemektedir. LPS ile birlikte verildiğinde artan serum NO_x miktarında anlamlı bir düşme gözlenmektedir³⁹. Ancak LPS ile oluşturulan AH modelinde taurin uygulamasının nasıl etki yaptığı bilinmemektedir.

Bu bilgiler ışığında planladığımız çalışmada LPS ile AH modeli oluşturmayı ve oluşturduğumuz bu modelin sıçanlarda yaratabileceği uzaysal öğrenme ve hafıza üzerindeki olası olumsuz etkilerini taurin uygulayarak iyileştirmeyi hedeflemekteyiz.

II. GENEL BİLGİLER

II.1. ALZHEİMER HASTALIĞI

Alzheimer Hastalığı (AH) ilk olarak 1907 yılında "Alois Alzheimer" (1864 – 1915) adında Alman bir bilim adamı tarafından tanımlandı¹⁰⁸.

Alzheimer Hastalığı 70-79 yaş grubunun %3,2'sini, 80-89 yaş grubunun ise %10,8'ini etkilemektedir^{23,108}.

Alzheimer Hastalığının kesin teşhisi ancak otopsi ile yapılabilir. Ama son yıllarda geliştirilen yöntemler ve hastalık hakkında artan bilgiler ışığında % 80 – 90 oranında doğru teşhisler yapılabilir. AH'nda gözlemlenen belirtiler, hastalık ilerledikçe, şiddetlenmektedir^{23,108}.

II.1.1. Alzheimer Hastalığının Belirtileri

Hastalığın ilk belirtisi genellikle hafıza kaybıdır. Hafızadaki zayıflama veya kayıp yaşlanmaya da bağlı olabilir. Hafıza yeteneğindeki yaşlanmaya bağlı azalma ile AH'na bağlı azalma bazen karıştırılabilir. Bu da teşhiste ve tedavide gecikmeye neden olabilir. AH'nda hafıza yetersizliği başka bulgular ile beraber ortaya çıkar. Kısa süreli hafızada zayıflama ve buna bağlı olarak yeni bilgi ve becerileri öğrenememe veya öğrenmede zorlanma görülür. Bilişsel (cognitive) fonksiyonlarda

hafif derecede azalma da AH'nın gözlemlenen ilk semptomlarından biridir. Bilişsel fonksiyonlarda azalma; hastalarda konsantrasyonun azalmasına, yön tayininde bozukluğa, nesnelerin konumlarını belirlemede -alıp tekrar yerine koymada- ve alışkın olunan işleri yapmakta zorlanmaya neden olmaktadır^{66,108}.

AH'nda hastaların %30–40'ında depresyon görülmektedir. Depresyon özellikle hastalığın başlangıcında, hastanın fonksiyonlarındaki azalmanın henüz farkında olduğu dönemlerde görülmektedir¹⁰⁸.

AH'nın etkisi şiddetlendikçe hasta konuşmada, hareketlerin koordinasyonunda ve yazma gibi becerilerinde kayıplar yaşar. Hastalık terminal döneme ulaşmadan önce hastada paranoya olur, halüsinasyonlar görür, insanları ve nesneleri tanıma ve tanımlama yeteneğini kaybeder. Endişe, heyecan, uykusuzluk ve sürekli dolaşma, kararsızlık, muhakeme gücünde azalma, devamlı alışveriş yapma isteği de AH'nın belirtileri arasındadır. Hastalığın en şiddetli seyrettiği dönemlerde hasta artık bakıma gereksinim duyar. Yemek yeme, giyinme ve tuvalet gibi ihtiyaçlarını hasta tek başına göremez. Konuşamaz, iletişim kuramaz, çılgılık atabilir, etrafına saldırabilir. Yürüyemez, oturamaz, hatta baş hareketlerini kontrol edemez duruma gelebilir^{66,108}.

Hastalığın seyri 1 yıldan 25 yıla kadar olabilir. Ama genelde 8 yıl civarında olmaktadır¹⁰⁸.

II.1.2. Alzheimer Hastalığının Patolojisi

AH süregelen nöronal dejenerasyon (nöron kaybı) ve bu nöronal dejenerasyona bağlı bilişsel fonksiyonlarda sürekli olarak azalma ile karakterize bir hastalıktır³².

AH'nda hastanın beyin sulkusları genişler. Kortikal atrofi ile beraber parankimal kayıptan dolayı ventrikül hacminde artma gözlenir³².

AH'nın patolojik bulgularından biri; çözünmeyen, agregasyon gösteren, 40-43 amino asitten oluşan beta amiloid proteinin ekstrasellüler ortamda oluşturduğu "beta amiloid protein plakları"dır⁷⁰. Beta amiloid birikimi amiloid prekürsör proteinin (APP) normal olmayan proteolitik parçalanması sonucu oluşur. Proteolitik aktiviteyi sağlayan proteazlar; b sekretaz ve g sekretaz enzimleridir¹⁰². Beta amiloid nörotoksik özellik göstermektedir. Ama beta amiloidin nörotoksik mekanizması kesin olarak bilinmemektedir¹⁰¹. Bazı mekanizmalar öne sürülmektedir. Hücrel oksidasyon, nikotinik asetil kolin reseptörüne bağlanma, kolinerjik nöronlara toksik etki, kan beyin bariyerinde glukoz geçişini azaltma, kemokinlerin salgılanmasını indüklemek, nitrik oksit oluşumunu artırma ve apoptoza neden olma potansiyel mekanizmalar arasında görülmektedir⁶⁴.

AH'nın diğer bir patolojik bulgusu da intrasellüler ortamda bulunan nörofibriler yumakçıklardır. Nörofibriler yumakçıklar, nöronal ve sinaptik kayıp ile birliktelik gösterir³⁰. Nörofibriler yumakçıkların önemli bileşenlerinden birisi Tau proteindir¹⁰⁸. Tau proteini mikrotübülleri bir arada tutan aksonal bir proteindir¹⁰³. Postmortem çalışmalar hipokampus ve entorinal korteksin nörofibriler patolojiden ilk etkilenen beyin bölgeleri olduğunu göstermektedir. Hastalığın şiddeti arttıkça kortikal assosiyatif alanların da etkilendiği gözlenmektedir¹⁰⁸.

AH'nda ortaya çıkan öğrenme ve hafıza bozukluğu kısmen de olsa kolinerjik sistem harabiyeti ile açıklanmaya çalışılmaktadır. Bazal ön beyin kolinerjik nöron kaybı da bunun için önem kazanmaktadır³⁰.

II.1.3. Alzheimer Hastalığı ve Oksidatif Stres

Aktive olmuş glial hücrelerinin sentezlemesi sonucu ortamda süperoksit (O_2^-) ve nitrik oksit (NO) gibi reaktif oksijen türlerinin artması ve buna paralel olarak antioksidan mekanizmanın da tükenmesi ile ortaya çıkan duruma "oksidatif stres" denir⁴⁷.

Oksidatif stres sırasında açığa çıkan serbest radikallerin AH'nın patolojisinde rol aldığı düşünülmektedir⁴⁷.

Beyin dokusunda, mikrogliya ve astroglia aktivasyonu gibi akut faz dönemlerinde pro-inflamatuvar / nörotoksik sitokinler ile serbest radikallerin sentezinin tetiklendiği bilinmektedir. Sentezi artan bu maddelerin nöronal dejenerasyona katkı sağladığı düşünülmektedir⁴⁷.

II.1.4. Alzheimer Hastalığı ve Nitrik Oksit (NO)

NO bir sinyal molekülü olarak fizyolojik koşullarda ekstrasellüler ortamda nöromodülatör ve nörotransmitter görev üstlenmektedir. NO aynı zamanda direkt olarak etki gösteren bir vazodilatör ajandır. NO, L-Arginin'inden katalize edilerek elde edilir. NO'in elde edilmesinde rol oynayan üç farklı nitrik oksit sentaz (NOS)

enzimi izoformu vardır³⁰. İnsan SSS'de bu üç izoform da bulunmaktadır. Bu izoformlar Tip 1-nöronal NOS (nNOS), Tip 2-indüklenebilir NOS (iNOS) ve Tip 3-endotelial NOS (eNOS)'tur. nNOS ilk olarak serebellum, hipotalamus, striatum, serebral korteks ve hipokampüsün değişik nöron tiplerinden ve çizgili kaslardan izole edilmiştir. iNOS ilk olarak aktive olmuş makrofaj, astroglia ve mikrogliyalardan izole edilmiştir. eNOS ise ilk olarak kapillerde tanımlanmıştır, fakat daha sonra nöronlarda ve glial hücrelerde de bulunmuştur. nNOS insanda genellikle korteksin nöronları arasında yerleşmektedir. nNOS AH'nda piramidal hücrelerde kolayca ve yüksek düzeyde eksprese olabilmektedir. iNOS ise AH'nda genellikle beta amiloid plakları etrafındaki astrositlerde lokalizedir. iNOS'un AH'da nöronlarda da eksprese olduğu gözlemlenmektedir^{30,47}. AH'nda hastaların hipokampüsünde iNOS ekspresyonunun arttığı görülmektedir⁷⁰. eNOS ekspresyonu da AH'nda astroglia hücrelerinde ve nöronlarda artmaktadır. Bu üç NOS izoformunun da AH'da artışının NO üretimini artıracağı ve nöronal fonksiyonları bozup hücrelerin ölümüne neden olabileceği düşünülmektedir^{30,47}.

Endotelial NOS ve nöronal NOS yapısal olarak kendileri ekspresyon gösterirler, fakat intrasellüler kalsiyumun artmasına bağlı olarak stimüle olurlar. iNOS ise immün cevapta rol alır ve kalsiyumdan bağımsızdır³⁰.

II.1.5. Alzheimer Hastalığı ve İnflamasyon

AH'nın patolojik mekanizmasını açıklamak için inflamasyonun rolünden de söz edilmektedir¹⁰². Kronik inflamasyon ile beraberinde artan glial hücrelerin aktivasyonu sonucu oksidatif stres ve sitokin salınımının arttığı ve böylece nörodejenerasyonun başladığı ve sürdürüldüğü düşünülmektedir. Aktive olmuş glial

hücrelerinin salgıladığı başlıca iki temel ürün; interleukin-6 (IL-6) ve nitrik oksit (NO)'tir. Nörodejenerasyona maruz hastaların Beyin Omurilik Sıvısı (BOS)'nda IL-6 ve Nitrit ve Nitrat (NO_x) düzeylerinin artmış olduğu gözlemlenmiştir. Fakat artan IL-6 ile NO_x düzeylerinin nörodejenerasyonun sonucu mu yoksa nedeni mi olduğu bilinmemektedir¹⁰³.

AH'na maruz kalmış beyinde inflamatuvar sitokinlerin ve bir çok akut faz ürünlerinin miktarında artış gözlemlenmiştir⁷⁰. Bu AH patolojisinde immün ve inflamatuvar cevapların da etkili olabileceğini düşündürmektedir. Alzheimer hastalarında inflamatuvar sitokinlerden IL-1α da artış göstermektedir³².

Ayrıca santral sinir sisteminin (SSS) kronik inflamasyonunun da AH'nın patolojisi ile ilişkili olduğu öngörülmektedir. Kronik olarak non-steroid anti-inflamatuvar ilaç (NSAİ) kullanan kişilerin AH'na yakalanma riskinin azaldığı bilinmektedir. Fakat bu etkinin mekanizması henüz tam olarak anlaşılmamıştır⁴⁵.

Aktive olmuş mikrogliya ve astrositlerden IL-1, IL-6, TNF-α, TGF-β ve kemokinler çok miktarda salgılanmaktadır. Glial hücreler bu sitokinlere, regülasyon, proliferasyon, indüklenme ve diferensiyasyon gibi cevaplar verir⁹⁸.

II.1.6. Alzheimer Hastalığının Tedavisi

AH'nın tedavisinde kullanılmakta olan onaylanmış 3 tane ilaç bulunmaktadır. Diğer ilaçlar henüz deneysel süreçtedirler. Kullanımda olan ilaçların hepsi Asetil-kolin esteraz inhibitörleridir¹⁰⁸.

Henüz onaylanmamış ancak deneysel süreçleri devam eden ilaç grupları¹⁰⁸.

1- Nöotropik Ajanlar: Ampokinazlar olarak bilinen benzoil piperidin bileşikleridir. Piracetam ve Aniracetam bu gruptandır. Glutamat reseptörlerini up-regule ettiği düşünülmektedir. İnsan üzerindeki etkileri henüz gösterilememiştir. Ama hayvan modellerinin öğrenme ve hafıza performanslarını artırdığı gözlemlenmiştir.

2- Psikostimülan / Kan Akışını Artıran Ajanlar: Vazodilatörler veya monoamin reseptörlerini etkilerler. Dihydroergotoksin ve Pentoxifylline bu gruptandır.

3- Nerve Growth Factors (NGF): Apoptozu önlemektedir.

4- Anti – inflammatuar İlaçlar: Amiloidlerin birikmesini engellemektedir. Non-steroid anti-inflamatuar ilaçların Alzheimer Hastalığının riskini azalttığı bilinmektedir.

5- Antioksidanlar: Serbest radikallerin zincirleme reaksiyonlar ile oksidan hasara neden oldukları bilinmektedir. Oksidan hasarın nöronları da etkilediği ve AH'nın nedenlerinden olduğu öngörülmektedir. Bir çok çalışmada vitamin E, vitamin C, Ginkgo Biloba, Melatonin, Flavanoidler, Karotenoidler gibi bilinen antioksidanların etkisi araştırılmaktadır.

6- Eksitotoksiste İnhibitörleri: Glutamat antagonistleri, kalsiyum kanal blokerleri, ve proteaz inhibitörleri.

7- Amiloid Oluşumunu Engelleyen İnhibitörler: İmmun yanıtı tetikleyen ajanlar, Amiloid Prekursor Proteini (APP)'ni beta amiloide parçalayan enzimlerin blokörleri, beta amiloid agregasyonunu önleyen chryamine G ve Congo Red boyası.

8- Tau Protein Birikimini Engelleyen İnhibitörler: Tau proteinin serebrospinal sıvıda bulunması AH'nın belirtisidir.

9- Anormal Protein Birikimini Önleyen İnhibitörler: Chaperons

10- Östrojen: Östrojenin hafıza üzerine pozitif etkisi olduğu düşünülmektedir. Östrojen hem anti-oksidan hem de anti-inflamatuvar özelliğe sahiptir.

11- Nikotin: Hayatı boyunca sigara içenlerin AH'na yakalanma riski daha düşüktür. Nikotinin in vitro olarak nöroprotektif etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir. Ama çok sayıdaki yan etkisinden dolayı nikotin AH tedavisinde kullanılamamaktadır ¹⁰⁸.

II.2. LİPOLİSAKKARİD VE ALZHEİMER HASTALIĞI İÇİN HAYVAN MODELİ OLUŞTURMADAKİ ROLÜ

AH'nı iyileştirebilecek bir çare bulmanın önündeki en büyük engel hastalığa özgü, uygun hayvan modellerinin eksikliğidir. Bir çok hayvan modeli AH'nın patolojisinde yer alan bazal ön beyindeki kolinerjik hücre kaybı göz önüne alınarak yapılmaktadır¹². Bazı modeller de beta amiloidin toksik etkilerinden yararlanılarak ve beta amiloidin AH'nın patolojisindeki yeri düşünülerek yapılmaktadır. Oksidatif stres ve serbest radikallerin sebep olduğu nöron kaybını dikkate alarak yapılan çalışmalar da vardır²⁷. Bunların yanında AH'nın inflamasyon bağımlı olabileceğini düşündüren çalışmalardan yola çıkarak inflamasyona dayalı hayvan modelleri de bulunmaktadır³².

Lipopolisakkarid (LPS) de AH için hayvan modeli oluşturmada kullanılan bir ajandır³².

Lipopolisakkarid (LPS) gram-negatif bakterilerinin hücre duvarından elde edilen aktif endotoksik bir fragmandır³².

LPS'in insanda ve deney hayvanlarında enfeksiyona bağlı hastalık belirtilerini (davranışını) tetiklediği bilinmektedir. LPS; ateş, iştahsızlık, kilo kaybı, kısa uyku dalgaları, lokomotor aktivitede azalma, sosyal ve seksüel davranışlarda azalma gibi hastalık davranışlarına neden olabilmektedir³².

LPS enjeksiyonundan sonra aktive olmuş mikrogliyalardan IL-1 salgısı artmaktadır. IL-1 daha sonra astrositleri aktive ederek IL-6, IL-8, IL-1 β ve TNF- α gibi bir çok proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasında rol alabilmektedir³².

İnsanda AH için risk faktörü olarak bilinen baş bölgesindeki yaralanmalarda, mikroglialar saatler içinde IL-1 ekspresyonunu yapabilmektedir³².

LPS'nin periferik olarak uygulanması sonucunda beyinde IL-1 β , IL-6 ve TNF- α seviyelerinde yükselme olduğu görülmektedir. Bunların yanısıra serotonerjik ve noradrenerjik nörotransmitterlerin de arttığı bilinmektedir¹. Artan IL-1 β hipokampüste serotonin salgılanmasını artırmaktadır. Artan serotonin long term potansiyasyonu (LTP) baskılamaktadır⁷⁷.

IL-1 β antagonistlerinin LPS'in periferik etkisini bloke ederek öğrenme performansının azalmasında engelleyici rol oynadığı bilinmektedir⁷⁶.

Stres yapan faktörlerin ve LPS'in nöronal ve endokrin etkileri birbirine çok benzemektedir. Stresin öğrenme performansı üzerine olumsuz etkisi olduğu da iyi bilinmektedir¹.

LPS ile yapılan uygulamalar doz bağımlı olarak etki göstermektedir. Artan LPS dozlarında hastalık davranışlarının görülmeye başlandığı ve şiddetlerinin arttığı gözlenmiştir. LPS'in artan dozlarda ağrı eşiğini de düşürdüğü bilinmektedir¹.

LPS'in farelere periferik olarak uygulanmasının (periton içine, 400-800 μ g/kg) uzaysal öğrenme performansını azalttığı, fakat vücut ağırlığını ve motor aktiviteyi etkilemediği görülmektedir. Öğrenme performansını azaltırken (yeni bir bilgiyi öğrenme), öğrenilmiş bir bilgiyi saklama ve hatırlamaya bağlı bir hafıza kaybı söz konusu değildir¹.

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada ise LPS'nin MSL'nde eğitime başlanılan ilk günde tek doz olarak (100 μ g/kg) verildiğinde öğrenme performansını azalttığı, ancak aynı dozun ard arda 5 gün uygulanması durumunda öğrenme performansını azaltmadığı gösterilmiştir⁹¹. Bu durum LPS'ye direnç gelişmesi ile açıklanmıştır.

LPS'in intraserebroventriküler (icv) olarak yapılan kronik infüzyonunda ise, uzaysal öğrenme performansında azalmaya neden olduğu saptanmıştır.

Azalmaya hipokampus ve bazal ön beyinde IL-1 β ve TNF- α 'nın birkaç kat artışının eşlik ettiği gözlemlenmiştir. Ayrıca LPS'in icv olarak kronik infüzyonunun bazal ön beyindeki kolinerjik hücre kaybına da neden olduğu bilinmektedir. Fakat aynı bölgede kolin asetil transferaz aktivitesinde bir azalmaya neden olmamaktadır³².

LPS uygulaması beyinde prostoglandin E₂ (PGE₂) seviyesini uygulamadan 48 saat sonra artırmakta, fakat bu artış 7 gün sonra bazal seviyesine inmektedir. LPS aynı zamanda inflamatuvar sitokinlerden IL-1 β ve IL-1 α 'yı da 48 saat içinde artırmakta, fakat yine 7 gün sonra bazal seviyeye dönmektedir¹⁰². Pro-inflamatuvar sitokin IL-1 β , PGE₂ sentezini indüklemektedir. PGE₂ de IL-6 ve IL-10 sekresyonunu sağlar. Daha sonra PGE₂ ve IL-10'nun negatif geri beslemesi ile IL-1 β inhibe olmaktadır⁶.

İnflamasyon durumunda aktive olmuş mikroglialar iNOS enzimi yoluyla çok yüksek miktarda NO üretebilirler. Çünkü iNOS immün cevapta rol alır, diğer NOS izoformlarından farklı olarak, Ca⁺⁺/kalmodülin'den bağımsızdır ve regülasyonu primer olarak ekspresyona bağlı değişiklik gösterir. iNOS proinflatuar sitokinler ve bakteriyel ürünlerle (LPS gibi) uyarılabilir. Mikroglia ve astrositler 48 saat süreli hücre kültüründe LPS'in indüklemesi ile yüksek miktarda NO ve IL-6 salgılamaktadırlar¹⁰³. iNOS tarafından üretilen NO, patojenlere karşı toksik özellik gösterir ama nöronları ve oligodenrositleri harap eder. NO üretimi iki farklı aktiviteye sahiptir. NO hem nöroprotektif hem de nörotoksik olabilir⁴.

II.3. TAURİN

Yarı esansiyel bir amino asit olan ve ilk olarak 1827'de bulunmasına rağmen insan diyetindeki önemi ancak 1975'te fark edilmeye başlanan taurin, vücutta methionin ve sistein metabolizmasından elde edilir. Organizmada bir çok fizyolojik olayda görev alır. En yaygın olarak bilinen fonksiyonu safra asitlerinin konjugasyonudur⁸.

Taurin herhangi bir protein sentezinde kullanılmamaktadır. Serbest amino asit şeklinde veya basit yapıdaki peptid şeklinde organizmada bulunur. Taurin konsantrasyonun bir çok patolojik durum ile ilişkisi vardır²⁵. Kardiyopati, retinal dejenerasyon ve büyüme bozukluğu bunlardan bazılarıdır. Metabolik aktivite olarak; detoksifikasyon, membran stabilizasyonu, hücrel kalsiyum konsantrasyonun düzenlenmesi gibi reaksiyonlarda rol alır. Klinikte; kardiyovasküler hastalıklarda, epilepside, makular dejenerasyonda, karaciğer fonksiyon bozukluklarında, kistik fibroziste tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır⁸.

Taurin, 2-aminoethanosülfonik asit olarak da bilinir. Formülü şekil 1' deki gibidir.



Şekil 1. Taurin'in Formülü

Taurin amino asiti diğer amino asitlerden farklı olarak karboksilik asit yerine sülfonik asit grubu içermektedir. Bu nedenle serbest halde, diğer amino

asitlere oranla bir çok organda daha fazla bulunur. Kalp kası, çizgili kaslar ve beyin bu organlardandır ⁸.

II.3.1. Taurin'in Safra Asitleri İle Konjugasyonu ve Kolesterol

Kolik asit ve kenodeoksikolik asit hepatik kolesterol metabolizmasından elde edilen iki temel safra asididirler. Bağırsak bakterileri bu iki primer asitten sekonder deoksikolik ve litokolik asitleri sentezlemekteler. Bu safra asitlerinin fizyolojik pH içinde çözünebilmesi için glisin veya taurin peptid bağları ile konjuge olması gerekmektedir. Konjuge olan bu amino asit ve asitlere safra tuzları denir. Taurin ile konjuge olan safra asitleri, kolesterolün çözünmesine önemli derecede katkı sağlar. Taurin serum kolesterol seviyesini düşürmektedir ⁸.

II.3.2. Taurin ve Detoksifikasyon

Taurin hipoklorik asitten aldehit yerine daha kararlı olan kloramin bileşiklerini oluşturur. Taurin bir antioksidan gibi davranarak özellikle klor iyonlarının ve hipoklorik asidin konsantrasyonunu düzenler ve organizmayı potansiyel aldehid toksisitesinden korur. Taurin karbontetraklorür kaynaklı toksisiteyi de engellemektedir ^{8,21}.

Taurin hem direkt hem de dolaylı olarak antioksidan özelliğe sahiptir. Direkt olarak serbest radikallerin membran ile karşılaşmalarını

engelleyerek oksidan hasarı önlemektedir. Dolaylı olarak da membranı stabilize ederek oksidan hasardan kaynaklanan membran geçirgenliğindeki artışı engellemektedir⁸². Taurin kalp kasında ise K^+ sızıntısını önlemektedir⁸. Taurin CCl_4 'den kaynaklanan lipid peroksidasyonunu azaltmaktadır²¹. Ayrıca taurin alveolar makrofajları ozonun neden olduğu oksidan hasardan korumaktadır. Ozonun artırmış olduğu lipid peroksidasyonunu azaltmakta ve azaltmış olduğu Na^+-K^+ ATPaz aktivitesini artırmaktadır². Taurin aynı zamanda NO_2 kaynaklı oksidan etkiden bronkiolleri de korumaktadır².

II.3.3. Taurin'in Kardiyovasküler Etkisi

Kalpteki serbest amino asitlerin %50'si taurinden oluşmaktadır. Kalp kası üzerinde pozitif inotropik etkisi vardır⁸. Bazı çalışmalarda kan basıncını düşürdüğü saptanmıştır. Kalsiyum iyonunun (Ca^{++}) yüksek ve düşük konsantrasyonunun kalp fonksiyonları üzerinde olumsuz etkileri vardır. Taurinin Ca^{++} 'nın bu olumsuz etkisini engelliyor olabileceği öne sürülmektedir. Taurin Ca^{++} iyon dengesini, büyük ihtimalle, voltaj bağımlı Ca^{++} ve Na^+ iyon kanallarını etkileyerek sağlamaktadır. Ortamda yeteri kadar taurin varken kalsiyumdan kaynaklanan miyokardiyal hasarı anlamlı bir şekilde azalmaktadır. Bu taurinin membran proteinleri üzerindeki etkisinden de kaynaklanabilir. Çünkü taurinin membran stabilizatörlüğü, membrana bağlı Na^+-K^+ ATPaz aktivitesinin azalmasını engeller. Taurin aynı zamanda kalbi reperfüzyon hasarından ve oksidatif stresten de korumaktadır^{8, 89}.

II.3.4. Taurin ve Lipopolisakkarid (LPS)

Taurin LPS enjeksiyonuna bağı karaciğer hasarını önlemektedir⁸³. Taurin LPS ile birlikte verildiğinde serumda NO_x indüklenmesinde anlamlı bir düşme gözlenmektedir. Bununla birlikte taurin tek başına verildiğinde serum TNF- α ve NO_x seviyelerini değıştirmemektedir¹⁶. LPS ile uyarılan kupffer hücrelerinde taurin TNF- α salınımını da azaltmaktadır⁸³.

Taurin sıçan hücre kültürlerinde zamana bağımlı olarak astrositlerin içine alınmakta ve 90 dakikada maksimum noktaya ulaşmaktadır. TNF- α , taurinin astrositlerin içine alınmasını zamana bağı şekilde hızlandırır. Bu da bize taurinin hücre içine alınmasının, sitokinlerin yapmış olduğı harabiyete bir cevap olabileceğini göstermektedir. LPS'in de TNF- α gibi etki gösterdiği bilinmektedir. Taurinin hepatositlerde NO kaynaklı toksisiteyi azalttığı da bilinmektedir⁹.

Makrofajlarda izotonik ortamda LPS veya başka uyaranlar, taurinin hücre içine alınmasını azaltmaktadır. Hipertonik ortamda ise LPS taurin geçişini artırmaktadır. Taurinin hipertonik ortamda ozmoprotektif özelliğı daha çok öne çıkıyor olabilir. LPS'nin taurin geçişine etkisi de ortamın koşullarına göre değışiklik gösteriyor olabilir⁸³.

LPS ile uyarılmış hücrelerde L-NAME verilip NOS aktivitesi inhibe edilirse taurinin hücre içine alınması etkilenmemektedir⁸³.

II.3.5. Öğrenme, Hafıza ve Taurin

Sıçanlarda taurinin diyetteki yetersizliği uzaysal öğrenme performansında azalmaya ve kolesterol seviyesinde yükselmeye neden olmaktadır. Yaşlanmış sıçanlarda striatumdaki taurin düzeyi azalmaktadır ve bu azalmaya paralel olarak MSL'de uzaysal öğrenme performansında azalma olmaktadır¹⁵.

Taurinin oksidatif strese maruz bırakılan yaşlı ratlarda hafıza kaybını önlediği gözlemlenmiştir⁸¹. Taurin bu etkisini antioksidan özelliği ile göstermektedir. Taurinin anti-inflamatuvar etkiye sahip olduğu da bilinmektedir¹⁴.

Bir nörotransmitter olan Asetilkolin konsantrasyonunun AH'nda normal düzeyden düşük olduğu bilinmektedir. Asetilkolinin konsantrasyon azlığının, Alzheimer hastalarında görülen hafıza kaybı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Taurin verilen hayvanlarda asetilkolin miktarının arttığı görülmüştür⁵⁸. Ayrıca, yapılan araştırmalarda ileri seviyedeki AH'nda serebrospinal sıvının taurin konsantrasyonunun normal düzeyden (aynı yaştaki sağlıklı kişilere göre) düşük olduğu bulunmuştur¹⁶. Taurin yaşa bağlı olarak da beynin çeşitli bölgelerinde azalma göstermektedir. Taurinin sinaptik geçişinin nasıl olduğu bilinmemektedir. Kan beyin bariyerinden geçişi ise yavaştır⁴⁸.

Genel olarak iskemik-anoksiya veya çeşitli hastalıklara bağlı nöbet gibi patolojik bir durum söz konusu olduğunda beyinde ve ekstrasellüler ortamda taurin konsantrasyonu azalmaktadır. Şiddetli beyin travmalarında taurin miktarında azalma görülmektedir. Hamilelik döneminde de beyinde taurin konsantrasyonu azalmaktadır. Hipertansiyon durumunda ise beynin bazı bölgelerinde taurin seviyesi artmaktadır. Bunun ile ilgili birçok mekanizma öne sürülmektedir^{48,85}.

II.4. MORRIS'İN SU LABİRENTİ ve UZAYSAL ÖĞRENME

II.4.1. Morris'in Su Labirenti (MSL) (Morris Water Maze)

MSL uzaysal öğrenme ve hafıza performansını ölçmek için bundan 20-25 yıl önce laboratuvar hayvanları için tasarlandı⁵⁹. Bu süreç içinde davranışsal nörolojik bilimlerde çok kullanılan laboratuvar araçları içinde yer almaya başladı. Bu araç, içi su ile doldurulmuş dairesel bir havuz ve suya bırakılan hayvanların üzerine çıkarak sudan kaçabilecekleri görünür (su seviyesinin üstünde) veya gizli (su seviyesinin altında) küçük şeffaf bir platformdan (escape platform) oluşmaktadır. Platform, dört kadrana bölündüğü varsayılan bu dairenin içindeki kadrarlardan birine yerleştirilir. Bir çok denemeden sonra hayvanlar sudan kaçmak için platformun üzerine çıkmayı öğrenmektedirler. Bu kadar başarılı olması ve yaygın olarak kullanılması protokolün basitliğinden kaynaklanmaktadır. Deneş protokolü bu kadar basit olmasına rağmen kullanıldığı nörobiyolojik ve nörofarmakolojik uzaysal öğrenme ve hafıza deneyleri oldukça sofistike deneylerdir. Bu protokol aynı zamanda kemirici hayvanların nörokognitif hastalıklara model olabileceğini göstermek için kullanılmaktadır. Morris' in su labirenti için, Morris yüzme havuzu, Morris labirenti, su labirenti (Morris ve arkadaşları tarafından daha çok kullanılan isim), yüzme labirenti gibi bir çok isim kullanılmaktadır¹⁹.

MSL'nde bugüne kadar bir çok protokol kullanılmıştır. MSL protokolleri değişik parametreleri göz önüne alacak şekilde, kullanılmaya başlanıldığından günümüze kadar, devamlı olarak geliştirilmektedir¹⁹.

MSL' nin yerleştirildiği ortamda, yüzen hayvanların yönlerini bulmalarına yardımcı olmak üzere, yeterli miktarda çevresel işaretin bulunması gerekir. Hayvanlar yüzerken havuzun dışına yerleştirilmiş bulunan bu işaretler yardımıyla gizlenmiş olan platformu bulacaklardır. Havuzun etrafına yerleştirilecek işaretlerin sayısı ve yeterliliği ile ilişkili kesin bir ölçü bulunmamaktadır. Havuzun etrafında hiçbir işaret olmaması (havuzun bir perde ile çevrili olması) hayvanların performansını azaltmaya neden olduğu gibi, çok fazla işaretin bulunması da yine performansı azaltmaktadır. Öğrenmenin daha hızlı olması için çevredeki işaretlerin basit olması gerekmektedir. Hayvanlar eğitilirken bu işaretlerin yerleri sabit kalmalıdır. Hayvanlar suya tekrar tekrar atılıp platformun yeri öğretilmelidir. Araç-gereç, eğitim protokolü, hayvanların barınma şartları ve hayvanların yaşı gibi etkenlerin optimize edildiği durumlarda çevresel faktörlerin önemi azalmaktadır^{43,44}.

Hayvanlar gizli platformun yerini bulmak için değişik stratejiler kullanmaktadırlar. Öğrenmiş olduğu hareketleri sırası ile yaparak platforma ulaşabilir (praksis strateji), proksimal işaretleri kullanarak platformu bulabilir (taksis strateji), distal işaretlerin yardımıyla platformun uzaysal konumundan yararlanarak platformun yerini araştırabilir (haritasal, uzaysal strateji)⁷.

Görünür platformun yerini öğrenme bazen uzaysal olmayan hafıza olarak tanımlanır. Fakat görünür platform olduğu zaman bile fareler uzaysal hafızalarını kullanmaktadırlar³¹. Görünür platformdaki herhangi bir öğrenme bozukluğu sadece uzaysal hafızaya bağlanamaz. Hayvandaki herhangi bir motivasyonel, duyuşal veya lokomotor aktivite kaybı platformun yerini bulmasını engelleyebilir. Görünür platformdaki normal bir öğrenme süreci ile gizli platformdaki bozuk bir öğrenme sürecinin birlikte ortaya çıkması ise motivasyonel, duyuşal veya sensorimotor bir yetersizlik olasılığını elimine ederek öğrenme bozukluğunun tamamen uzaysal öğrenme yeteneğindeki kayba bağlı olduğunu göstermektedir¹⁹.

Yapılan eğitim denemelerinden sonra hayvan platformun yerini öğrenmektedir. Daha sonra platformsuz (probe) olarak yine bir deneme yapılmakta ve bu denemede hayvanların daha önceden platformun var olduğunu öğrendiği kadranda kalış süresi (platformu arama süresi) ölçülmektedir. Bu kadranda geçirilen süre hayvanın hafıza performansı ile koreledir ¹⁹.

Bir çok araştırmacı video ve bilgisayar destekli ölçme çalışmaları yapmaktadır. Bunun için araştırmacıların kendilerinin dizayn ettiği sistemler olduğu gibi ticari olarak bu iş için hazırlanmış sistemler de mevcuttur ¹⁹.

II.4.2. MSL Performansı Üzerinde Etkili Olan Faktörler

Kullanılacak hayvanların fiziksel gelişimleri, ağırlıkları, yaşları yüzmeye hızına etki edeceğinden önemlidir ¹⁰⁵. Hayvanların türleri, alt türleri, cinsiyetleri, soyları MSL'deki performanslarını etkileyebilmektedir ^{12,46}. Stres, hastalık ve beslenme yetersizliği de performansa etki eden faktörlerdendir ^{75,94}. Bu nedenlerden dolayı araştırmalarda kullanılacak deney hayvanlarının orijinlerinin ve yaşam koşullarının aynı veya farklı olması deney sonuçlarını etkilemektedir.

MSL'nde cinsiyetin de performans üzerinde etkili olduğu görülmektedir ⁸⁰. Erkek cinsi hayvanların performansta daha avantajlı olduğu saptanmıştır ⁷. Burada cinsiyet hormonlarının bilişsel performans üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir ¹⁹. Ovariectomize dişi hayvanların normal dişi hayvanlardan daha iyi performans gösterdikleri gözlemlenmiştir ¹³.

Türlerdeki farklılıklar MSL performansını etkilemektedir. Farelerde ve sıçanlarda yapılan susuz uzaysal öğrenme testlerinde iki türün benzer performans

göstermelerine karşın, MSL'nde yapılan uygulamalarda sıçanlar daha iyi performans sergilemektedirler. Suda asılı kalma ve tigmotaksis (havuzun duvarları boyunca yüzme) farelerde daha çok görülmektedir. Bu da testi zorlaştırmaktadır⁴⁶.

Hayvan türlerinin yanısıra aynı türde olup da farklı soydan gelen veya trans genetik olan hayvanların da MSL'ndeki performansları farklı olmaktadır. Örneğin stres hiperaktivitesine sahip Wistar-Kyoto sıçanlarının Sprague-Dawley sıçanlarına göre suda daha çok asılı kaldıkları ve öğrenme hızlarının daha düşük olduğu saptanmıştır¹⁹.

MSL'nde hayvanların sevmeye, hoşlanma gibi pozitif motivasyonundan çok nefret etme, hoşlanmama gibi negatif motivasyonları testin sonuçlarında etkili olmaktadır. Çünkü kemirici hayvanlar suyu sevmezler ve bir an önce sudan kurtulma eğilimindedirler. Testin negatif motivasyon üzerine kurulmuş olması test için bir dezavantaj olabilmektedir⁸⁴.

MSL'nde yaş oldukça önemli bir parametredir. Yaş arttıkça hayvanların öğrenme performanslarının düştüğü oldukça iyi bilinmektedir. Performanstaki azalmanın bir kısmı yüzme gücünün, lokomotor aktivitenin ve eksploratör aktivitenin yaşa bağlı olarak azalmasından kaynaklanmaktadır^{7,19}. İnsanlarda olduğu gibi, hayvanlarda da yaşa bağlı olarak öğrenme performansı düşmekte, bilişsel fonksiyonlarda azalma olmaktadır¹⁹. Bu fonksiyonlardaki kayıp beyindeki yaşa bağlı yapısal ve fizyolojik değişikliklerle örtüşmektedir. Bir çok araştırmacı uzaysal öğrenme performansındaki azalmanın hipokampusün fizyolojik ve morfolojik değişikliklerinden kaynaklandığını söylenmektedir^{26,27}.

Oksidatif hasar, yaşlanma ile ortaya çıkan MSL'ndeki performans düşüklüğünün ve bilişsel fonksiyonlardaki azalmanın nedenlerinden olabilir. Uzun süreli antioksidan uygulamalarının, yaşa bağlı olarak gelişen MSL'ndeki performans düşüklüğünü azalttığı gözlemlenmiştir^{35,92}.

Beslenme şekilleri hayvanların MSL'ndeki performansını bir çok yönden etkileyebilmektedir. Hayatları boyunca hipokalorik diyet almış olan hayvanların MSL performansları düşmektedir^{60,95}. Doğumdan itibaren 30 gün boyunca yetersiz olarak beslenen hayvanların kontrollerden daha kötü MSL performansı sergiledikleri görülmüştür⁵. Diyetlerinde yapılan rehabilitasyondan sonra hayvanların eski performanslarına kavuştuğu gözlemlenmiştir⁵. Normal diyetlere yapılan bazı ilaveler ile MSL'nde hayvanların performanslarının arttığı gözlemlenmiştir. Çilek, ıspanak gibi bazı yiyeceklerin özünün diyetlere eklenmesinin yaşa bağımlı MSL performansını artırdığı saptanmıştır. Bu etki söz konusu olan yiyeceklerin antioksidan özelliğine bağlanmaktadır^{35,75}.

Bilişsel fonksiyonların hayvanlarda ve insanlarda stresten etkilendiği bilinmektedir. MSL öğrenme modeli negatif motivasyona bağlı bir davranış biçimidir. Her ne kadar negatif faktörler minimize edilmeye çalışılsa da stres kaçınılmaz olmaktadır. Kendi protokolü içinde stres faktörü içeren MLS ile çalışılırken yapılacak ek stres yaratıcı faktörler hayvanların bilişsel fonksiyonlarını bozmaktadır³³.

Bir çok enfeksiyon ajanının ve parazitlerin insan veya hayvan davranışlarını etkilediği bilinmektedir. Bazı enfeksiyonların direkt veya dolaylı olarak gizli platform ile yapılan çalışmalarda bilişsel fonksiyonlarda zayıflamaya neden olduğu gösterilmiştir. Viral veya bakteriyel enfeksiyonlara maruz kalmış olan sıçanların ve farelerin MSL performansları değişmektedir. Gram negatif bakteriler tarafından enfekte edilmiş ve MSL performansı azalmış hayvanların performansları, IL-1 β nötralize edilerek, geri kazanılabilmektedir. Bu da bilişsel fonksiyonlardaki bozukluğun sitokin kaynaklı hastalık davranışı ile ilgili olabileceğini göstermektedir^{29,52,100}.

II.4.3. MSL'de Performans Üzerinde Etkili Olan Beyin Bölgeleri

Hipokampüs, bazal ön beyin, striatum, serebellum ve bazı neokortikal bölgelerin MSL performansında önemli yere sahip olduğu bilinmektedir. Nöronal mekanizması tam olarak açık olmamak ile birlikte hipokampüsün varlığı uzaysal öğrenmenin olabilmesi için zorunludur. Uzaysal öğrenmede ve MSL performansında birden çok beyin bölgesinin koordinasyon içinde çalışarak fonksiyonel bir bütünlük sağladığı düşünülmektedir¹⁹.

Talamus, lokus seruleus ve rafe nükleusunun da MSL performansında etkili olduğu düşünülmektedir^{10,63,79}.

Beyin bölgelerinin lezyonları uzaysal öğrenme ve hafızada etkili olduğu gibi, beyin bölgelerinin bağlantılarında olabilecek lezyonlar da aynı şekilde etkili olmaktadır¹⁹. Örneğin fimbria ve forniks lezyonları gizli platform performansında bozulmaya yol açar⁶⁷.

MSL ilk olarak hipokampal lezyonların etkisini ölçmek için tasarlanmıştır^{59,60}. Daha sonra yapılan çalışmalarda hipokampüsün MSL performansının gizli platform aşamasında etkili olduğu, ama görünür platform aşamasında çok etkin olmadığı saptandı⁷. Uzaysal öğrenme performansında hipokampal lezyonların büyüklüğü ile performanstaki bozulmanın doğru orantılı olduğu görülmektedir. Dorsal hipokampüsün de ventral hipokampüse göre uzaysal öğrenmede daha etkili olduğu saptanmıştır^{61,62}.

Hipokampüs uzaysal öğrenme ile ilgili bilgiyi kazanmada, geri çağırma ve saklamada etkili bir bölgedir²⁷. Suda çözünebilen AMPA kainate antagonisti ile hipokampüsün aktivasyonu geçici olarak bloke edildiğinde sıçanlarda

MSL performansının zayıfladığı saptanmıştır⁷⁸. Birkaç araştırmacı hipokampal long-term-potensiyasyonun (LTP) hipokampal öğrenmenin nöronal mekanizmasının altında yatan neden olduğunu düşünmektedir, fakat bu henüz tam olarak kanıtlanmış değildir. Hatta bazı araştırmacılar LTP bloke edildiğinde MSL' ndeki öğrenme performansının çok etkilenmediğini söylemektedirler. Uzun süreli sinaptik değişiklikler MSL' ndeki ve başka çeşit öğrenme ve hafızanın temelinde yatan neden olabilir ama bu LTP olmayabilir. Uzaysal öğrenmede edinilen bilginin saklanması protein sentezi ve sinaps oluşumu ile ilgili bazı değişiklikler gerekebilir⁵⁴.

Striatumun bilateral lezyonlarının da MSL performansını etkilediği gösterilmiştir¹⁰⁷. Striatumun çeşitli alt bölgeleri farklı fonksiyonlar göstermektedir. Bu alt bölgelerin MSL performansına katkıları farklı şekilde olabilir^{17,18}. Dorsal striatumda yapılan lezyonlar görünür ve gizli platformlu MSL performansını azaltmamaktadır⁹⁶.

Kolinerjik bazal ön beyin mediyal septal nukleusu, Broka'nın diyagonal bandı ve nukleus bazalis magnoselülarisi (NBM) kolinerjik hücrelerden oluşmaktadır²⁴. NBM lezyonlarında MSL'nde performans düşüklüğü olmaktadır⁷. Eğitim protokolünden bağımsız olarak NBM lezyonlu sıçanlar nukleus bazalis nöropatolojisi olan Alzheimer hastalığı için hayvan modeli olarak kabul edilmektedir¹⁰⁴.

Serebellum hasarı olan farelerin MSL'nde öğrenme performansı azalmaktadır⁴¹. Tam olarak bilinmemekle beraber serebellumun öğrenme üzerindeki etkisinin oldukça kompleks olduğu sanılmaktadır. Çünkü serebellum görme korteksinden, süperior kollikülüstten ve hipokampüstten, uyarılar almaktadır. Dolayısıyla serebellumun bir çok yönden MSL'ndeki öğrenmede etkili olması muhtemeldir^{41,42,57}.

Total dekortikasyon MSL'ndeki öğrenmeyi bozmaktadır. Korteksin belli bölgelerindeki lezyonlar da öğrenme performansını azaltmaktadır⁷. MSL protokolü sadece uzaysal olarak platformun yerini öğrenmeye dayalı olmayıp, suya atılan hayvanın platformu bulabilmesinde etkili olabilecek plan yapma ve planı uygulamaya

sokma gibi daha bir çok unsuru içerir. Bazı kortikal alanların bu tarz fonksiyonlarda görev aldığı bilinmektedir. Prefrontal kortekste lezyonlarda performans azalırken, parietal korteks hasarlarında bu azalma görülmemektedir⁵⁶.

II.4.4. Uzaysal Öğrenmenin Nörofizyolojisi

Kolinerjik, glutamaterjik ve bazı peptiderjik sistemlerin MSL tarzı öğrenme üzerinde etkisi olduğu bilinmektedir. Fakat GABA' nın (gama-aminobütirik asit), opioidlerin, ve biojenik aminlerin MSL öğrenme performansı üzerindeki etkileri çok iyi bilinmemektedir. Bununla beraber bir çok nörofarmakolojik ajanın uzaysal öğrenme ve MSL performansı üzerindeki etkisi düşünüldüğünden daha çok kompleks olabilir⁵³.

Eksitatorik amino asit nörotransmitterler değişik iyonotropik ve metabotropik reseptörler kullanmaktadırlar. NMDA, kainat ve AMPA tipi reseptörler glutamatın kullandığı iyonotropik reseptörlerdir²⁰. Sistemik ve intraserebral NMDA reseptör antagonisti uygulamaları uzaysal öğrenmenin kazanımına engel olmaktadır⁵³. NMDA reseptörünün alt birimi eksik olan trans genetik farelerde gizli platform ve platformsuz MSL performanslarının düşük, fakat görünür platform performanslarının normal olduğu saptanmıştır⁸⁴. NMDA antagonistinin hem görünür ve hem de gizli platformda neden olduğu performans azalmasının aslında sensorimotor bozukluktan ve hiperaktiviteden kaynaklanan bir azalma olduğu, uzaysal öğrenme bozukluğu olmadığı ileri sürülmektedir. Ayrıca uzaysal olmayan eğitim sürecinden geçen sıçanlara NMDA antagonisti verildiğinde gizli platformu bulabildiği saptanmıştır. Bu bilgilere dayanılarak NMDA reseptörünün yer öğrenmede etkili olduğu fakat zorunlu bir rolü de olmadığı düşünülmektedir^{31,88}. Metabotropik glutamat reseptörü olmayan

trans genetik farelerin ve metabotropik glutamat reseptör antagonisti verilen sıçanların gizli platformu bulma performanslarının düşük olduğu gözlemlenmiştir^{11,77}.

Periton içine verilen ketamin doz bağımlı olarak gizli platform performansını bozmaktadır¹⁰⁶.

Inhibitörük amino asit GABA, GABA_A ve GABA_B reseptörlerine bağlanmaktadır. GABA nörotransmitteri aktivasyonunun direkt olarak uzaysal öğrenmeyi engellediği, baskılanmasının da uzaysal öğrenme performansını arttırdığı düşünülmektedir⁵³.

Asetilkolin ve kolinerjik sistemin uzaysal öğrenme üzerindeki etkisi iyi bilinmektedir. Asetilkolin antagonistinin uzaysal öğrenmeyi bloke ettiği gösterilmiştir. Bu performans düşüklüğünün herhangi ikincil bir etki ile değil de direkt olarak kolinerjik sistem üzerine etki ederek ortaya çıktığı düşünülmektedir. Atropin ve skopolamin ile bloke edilen santral muskarinik asetilkolin reseptörleri MSL'ndeki öğrenmede bilgiyi kazanım sürecini engellemektedir. Fakat geri çağırma (hatırlamada) herhangi bir etkisi olmamaktadır^{7,53}.

Beyinde noradrenalin, dopamin ve serotonin tükendiğinde MSL performansının etkilenmediği görüldüğünden aminojik sistemin uzaysal öğrenmede etkin bir rol almadığı düşünülmektedir⁵³.

Santral sinir sisteminde birkaç peptid, nörotransmitter ve nöromodülatör olarak davranmaktadır. Bunlardan bazıları MSL'ndeki öğrenme performansına etki etmektedir. Somatostatin, vazoaktif intestinal peptid (VIP) ve diğer bazı peptidlerin MSL'ndeki gizli platform performansını etkilediği saptanmıştır⁵³. Fakat uzaysal öğrenmeye etkisi bilinmemektedir. P maddesinin (Substance P) sistemik olarak hipokampal lezyonlu veya zayıf hafızalı yaşlı sıçanlara verildiğinde MSL performansını artırdığı gözlemlenmiştir⁹³.

Voltaj kapılı kalsiyum iyon kanalları intrasellüler kalsiyum oranını ayarlama da önemli bir yere sahiptir. Hafızanın da test edildiği MSL ve benzeri öğrenme protokollerinde organizmanın sinir sistemi kalsiyuma bağılı enzimatik aktivasyona ihtiyaç duyuyor olabilir. Kalsiyum hem yetersiz olduğunda hem de fazla olduğunda hafızayı olumsuz yönde etkilemektedir. Bu da hafızanın optimal kalsiyum seviyesine ihtiyaç duyduğunu göstermektedir. L-tipi voltaj bağımlı kanal antagonisti nimodipine, MSL'nde hem gizli platform performansını hem de platformsuz deneme performansını düşürmektedir^{49,58}. Yaşlılarda ve beyin hasarında kalsiyum kanal blokerleri fazla kalsiyumun zararlı etkilerini önlemektedir. Bu koşullarda kalsiyum kanal blokerlerinin nöroprotektif ve anti-amnezik olduğu gösterilmiştir. Diğer kanal blokerleri de aynı şekilde davranmaktadırlar^{3,19}.

II.4.5. MSL ve Nörokognitif Hastalık Modelleri

MSL nörokognitif hastalıklar için yapılan modelleri test etmekte kullanılmaktadır. Travmatik durumları, Alzheimer hastalığını, serebral vasküler hastalıkları, gelişime bağılı hastalıkları (Down's sendromu, neonatal X-ışını maruziyeti, çevresel toksin etkisi gibi..) kognitif komplikasyonlu metabolik hastalıkları modellemede kullanılmaktadır¹⁹.

Travmatik beyin hasarlarında MSL'nde yapılan testler sonucunda bilişsel fonksiyonların etkilendiği saptanmıştır. Travmada hem bilgiyi kazanmada hem de hatırlamada zayıflama söz konusudur⁹⁹.

Alzheimer hastalığı için oluşturulan modellerin bilişsel performansı etkileyip etkilemediğini test etmek amacıyla da MSL kullanılmaktadır. Kemirici hayvanların gizli platformu bulma performanslarındaki azalmanın insanlarda Alzheimer hastalığındaki zihinsel faaliyetlerin düşmesine karşılık geldiği düşünülmektedir¹⁹.

MSL'nde test edilen ilk AH modelleri kolinerjik hasar ile ilgili olan modellerdir. Çünkü kolinerjik sistemin hasarında bilişsel fonksiyonların etkilendiği bilinmektedir. Anti-kolinerjik ajanların uygulanması ile MSL performansının azaldığı gözlemlenmektedir. NBM lezyonu oluşturulan hayvanlarda da performans düşüklüğü saptanmıştır⁵³.

Genetik ve genetik olmayan diğer çalışmalarda saptanan nörotoksik beta amiloid proteinin beyinde birikmesinin AH patogenezinde rol aldığı düşünülmektedir. Beta amiloidin intraserebroventriküler uygulamaları sırasında veya uygulamadan sonra MSL'ndeki gizli platform performansının zayıfladığı görülmektedir^{65,68}.

İnflamasyona ve oksidan hasara dayalı AH hastalık modelleri de yapılmaktadır. Ozona maruz bırakılan veya peritonun içine LPS verilen sıçanların öğrenme performanslarının azaldığı gözlenmektedir^{32, 81,101}.

Ayrıca nörokognitif hastalıkların tedavisinin geçerliliğini belirlemede de MSL protokolü kullanılmaktadır¹⁹.

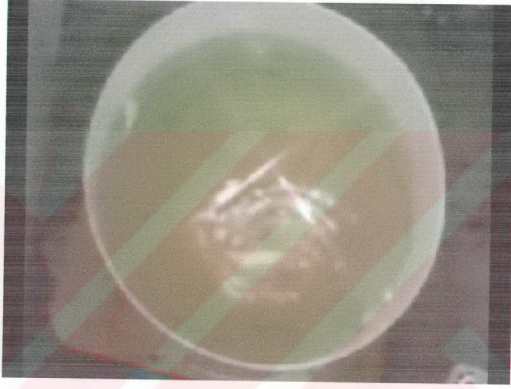
III. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanlar Etik Kurulu'nun G.Ü. ET – 04025 kod numarası ve 07.07.2004 tarihli onayı ile GÜTF Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir.

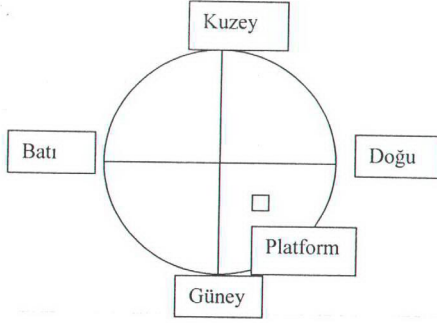
III.1. KULLANILAN GEREÇLER

III.1.1.Morris'in Su Labirenti (MSL)

Su labirenti pleksiglastan yapılmış dairesel bir havuzdur. Çapı 120 cm, derinliği ise 50 cm'dir. Havuz musluk suyu ile doldurulmuş olup su yüksekliği 30 cm'dir. Testler sırasında suyun içine bırakılan hayvanların sudan kaçıp üzerine çıkması için, biri suyun üstünde kalacak ve görünecek şekilde (görünür platform), diğeri ise suyun altında kalacak şekilde (gizli platform) tasarlanmış iki adet 10x12 cm ebatlarında dikdörtgen platform kullanılmıştır. Platformlar havuza tespit edilmemiş olup protokolün gerektirdiği gibi çıkarılıp tekrar konulacak şekildedir. Ayrıca platformların hareket etmesini engellemek için de alt taraflarına ağırlık yapıştırılmıştır. Görünür platform 2 cm kadar suyun üzerinde kalmaktadır. Gizli platform ise 2 cm kadar suyun altında kalmaktadır (Şekil 2).



Şekil-2- Morris'in Su Labirenti



Şekil -3- Morris'in Su Labirenti

Labirentin suyu süt tozu kullanarak bulanıklaştırılmaktadır. Suyun sıcaklığı 20 ± 2 °C' dir.

Hayvanların platforma çıkış süreleri el kronometresi ile ölçülmüştür.

Platformsuz yüzmeye gününde platformun olduğu kadranda hayvanların kalış sürelerini belirlemek için hem kronometre kullanılmış hem de dijital kamera (Mustek Dijital Video DV4000 4.0 Mega Piksel) ile çekim yapılarak kaydedilen görüntüler izlenmiştir. Bu kayıtlara göre saptanan kadranda kalış süreleri, kronometre ile belirlenen sürelerle karşılaştırılarak kontrol edilmiştir.

III.1.2. Deney Hayvanları

Çalışmada, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi'nden temin edilen, ağırlıkları 220-300 gr arasında değişen, 39 adet Wistar-Albino cinsi erkek yetişkin sıçan kullanıldı. Sıçanların her biri ayrı kafeslerde, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda ve 25 ± 1 °C sıcaklık koşullarında tutuldu. Bütün hayvanlar standart sıçan yemi ve musluk suyu ile beslendi.

III.1.3. Kimyasallar

Lipopolisakkarid (LPS) (*E. coli* 055:B5 Lot:2630 Sigma)

Taurin (T0625-25g Sigma)

III.2. UYGULANAN YÖNTEMLER

III.2.1. Uzaysal Öğrenme Testleri

Su labirenti öncelikle dört farklı kadrana bölündüğü varsayılarak, her kadranın uç noktaları yönler göz önüne alınarak Kuzey (K), güney (G), doğu (D) ve batı (B) olmak üzere isimlendirildi.

Görünür ve gizli platformlar uygulamalar sırasında Güney ve Doğu noktaları arasında kalan kadrana yerleştirildi. Platforma en uzak yön ise Kuzey yönüydü (Şekil 3).

Uygulamış olduğumuz MSL protokolünde 3 farklı aşama bulunmaktadır. Deneyler toplam 7 gün sürmektedir.

1. Görünür Platform Aşaması

a- Platform yerleştirilir.

b- Tanıştırma yapılır. Hayvanlar tek tek alınarak doğrudan platform üzerine konulur. 15 saniye etrafını izlemesi sağlandıktan sonra geri alınıp kafesine sokulur.

c- Her hayvan 10 dakikalık aralıklar ile ve sırayla KBDG yönlerinden suya bırakılır ve platforma varış süresi ölçülerek kaydedilir. Hayvanın platformu arama süresi maksimum 30 saniyedir. Bu süre sonunda bulamadığı takdirde araştırmacı tarafından alınıp platforma konulur. Hayvan platforma çıktıktan sonra 15 saniye platformda bekletilir. Hayvanın kendisinin platformu bulması veya araştırmacı tarafından platforma konulması bu süreyi etkilemez.

Böylece birinci aşama olan görünür platform aşaması birinci günde bitirilmiş olur.

2. Gizli Platform Aşaması

a-Platform yerleştirilir.

b-Tanıştırma yapılır. Hayvanlar tek tek alınarak doğrudan platform üzerine konulur. 15 sn etrafını izlemesi sağlandıktan sonra geri alınıp kafesine sokulur.

c- Her hayvan 10 dakikalık aralıklar ile ve sırayla KBDG yönlerinden suya bırakılır ve platforma varış süresi ölçülerek kaydedilir. Hayvanın platformu arama

süresi maksimum 30 saniyedir. Bu süre içinde bulamadığı zaman araştırmacı tarafından alınıp platforma konulur. Hayvan platforma çıktıktan sonra 15 saniye platformda bekletilir. Hayvanın kendisinin platformu bulması veya araştırmacı tarafından platforma konulması bu süreyi etkilemez.

Böylece ikinci aşama olan gizli platform aşamasına ikinci günde başlanmış olur. Üçüncü, dördüncü, beşinci ve altıncı günlerde de ikinci günde olduğu gibi eğitim süreci sürdürülür. Bugünlerde tanıştirma yapılmaz, fakat yön sıralaması üçüncü günde BDGK, dördüncü günde DGBK, beşinci günde GBKD, altıncı günde BKDG olarak değiştirilir.

3. Platformsuz Aşama

Bu gün artık çalışmanın son ve 7. günüdür. Eğitim süreci bitirilmiştir. Platform konulmaksızın, daha önce platformun olduğu yere en uzak yondan (K) hayvanlar tek tek suya bırakılır ve her hayvanın daha önce platformun bulunduğunu öğrendiği kadranda kalış süresi belirlenir. Bu son denemede hayvanlar 60 saniye yüzdürülür.

Çalışma süresince MSL'ndeki yüzdürme deneylerinin hepsi saat 9:30 ile 13:30 arasındaki zaman diliminde yapılmıştır.

III.2.2. Kimyasalların Uygulanışı

III.2.2.1 Görünür ve Gizli Platform Eğitim Sürecindeki Uygulamalar

Kontrol grubu (n=8): Birinci gün, MSL'ndeki deneye başlamadan 4 saat önce i.p. serum fizyolojik (SF) verilen grup.

LPS grubu (n=19): Birinci gün, MSL'ndeki deneye başlamadan 4 saat önce i.p. LPS verilen grup. Bu grup kendi içinde 3 alt gruba ayrılmıştır:

Birinci LPS grubuna (n=6) 10 µg/kg, ikinci LPS grubuna (n=6) 100 µg/kg, üçüncü LPS grubuna (n=7) 500 µg/kg LPS uygulandı. LPS, SF içinde çözdürüldü.

LPS + Taurin grubu (n=6): Birinci gün, MSL'ndeki deneye başlamadan 4 saat önce hayvanlara 500 µg/kg LPS, ikinci gün MSL'ndeki deneye başlamadan 1 saat önce hayvanlara 500 mg/kg taurin verilen grup. Taurin, SF içinde çözdürüldü.

Taurin Grubu (n=6): Birinci gün, MSL'ndeki deneye başlamadan 4 saat önce hayvanlara SF, ikinci gün, MSL'ndeki deneye başlamadan 1 saat önce hayvanlara 500 mg/kg taurin verilen grup.

III.2.2.2. Platformsuz Yüzme Günündeki (7. Gün) Uygulamalar

Kontrol grubundaki hayvanlara (1. gün SF verilen grup), 7. gün MSL'ndeki teste başlamadan 4 saat önce i.p. 500 µg/kg LPS uygulandı.

LPS grubundaki hayvanlara (1. gün 500 µg/kg LPS verilen grup), 7. gün MSL'ndeki teste başlamadan 4 saat önce 500 µg/kg LPS uygulandı.

LPS + Taurin grubundaki hayvanlara (1. gün 500 µg/kg LPS + 2. gün 500 mg/kg taurin verilen grup), 7.gün MSL'ndeki teste başlamadan 4 saat önce 500 µg/kg LPS ve 1 saat önce de 500 mg/kg taurin uygulandı.

Taurin grubundaki hayvanlara (1. gün SF, 2. gün 500 mg/kg taurin verilen grup), 7.gün MSL'ndeki deneye başlamadan 4 saat önce SF ve 1 saat önce de 500 mg/kg taurin uygulandı.

III.2.3.Skorların Değerlendirilmesi

III.2.3.1 Görünür ve Gizli Platform Skorlarının Değerlendirilmesi

MSL'de hayvanlar dört farklı yönden suya bırakılır ve her seferinde platformu buluş süreleri kaydedilir. Bu sürelerin ortalaması alınarak hayvanın bir günlük skoru elde edilir. Yapılan 4 ayrı test şans faktörünü elimine etmek içindir.

Bütün gruplar için elde edilen günlük skorlar kontrol grubu hayvanların skorları ile karşılaştırılarak gruplar arasında her bir gün için fark olup olmadığı değerlendirilir.

Ayrıca 6 gün süren eğitim sürecinde her bir hayvan için elde edilen skorlar kullanılarak gruplar arasında altı günlük toplam performans karşılaştırılması yapılır.

III.2.3.2. Platformsuz Günde (7. Gün) Elde Edilen Skorların Değerlendirilmesi

Platformsuz günde hayvanlar 60 sn yüzdürülmektedir. Hayvanlar platformu ararken daha önce platformun olduğu kadranda geçirmiş oldukları süre hesaplanır. Elde edilen bu değer her hayvan için kayıt edilerek hayvanların hafıza performansları olarak değerlendirilir. Grupların performansları birbirleri ile karşılaştırılır.

Labirentte 4 kadranda olduğu göz önüne alınacak olursa, hayvanın şans eseri olarak her bir kadranda toplam sürenin (60 sn) %25'i oranında (15 sn) bulunma olasılığı vardır. Bunun için hayvanın platformun daha önceden varolduğu kadranda 15 sn'den fazla kalması, platformun yerini hatırladığını ve/veya hafıza performansında kayıp olmadığını gösterir.

III.2.3.3. İstatistiksel Analizler

Hayvanların günlük performanslarından elde edilen veriler ortalama $\pm$ SH (Standart hata) olarak verildi.

Grupların günlük skorları ANOVA ile analiz edilerek, günler bazında performanslar kontrol grubu ile karşılaştırıldı.

Görünür ve gizli platform eğitim sürecinde her grup için elde edilen skorlar Post-Hoc testlerinden Duncan testi ile analiz edilerek gruplar arası fark araştırıldı.

Platformsuz günde elde edilen veriler de Post-Hoc testlerinden Duncan testi ile analiz edilerek gruplar birbirleriyle karşılaştırıldı.

Bütün bu testlerde güvenlik aralığı %95 olup $p < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Bütün testler bilgisayar ortamında, SPSS programının 10. versiyonu ile yapıldı.

IV. BULGULAR

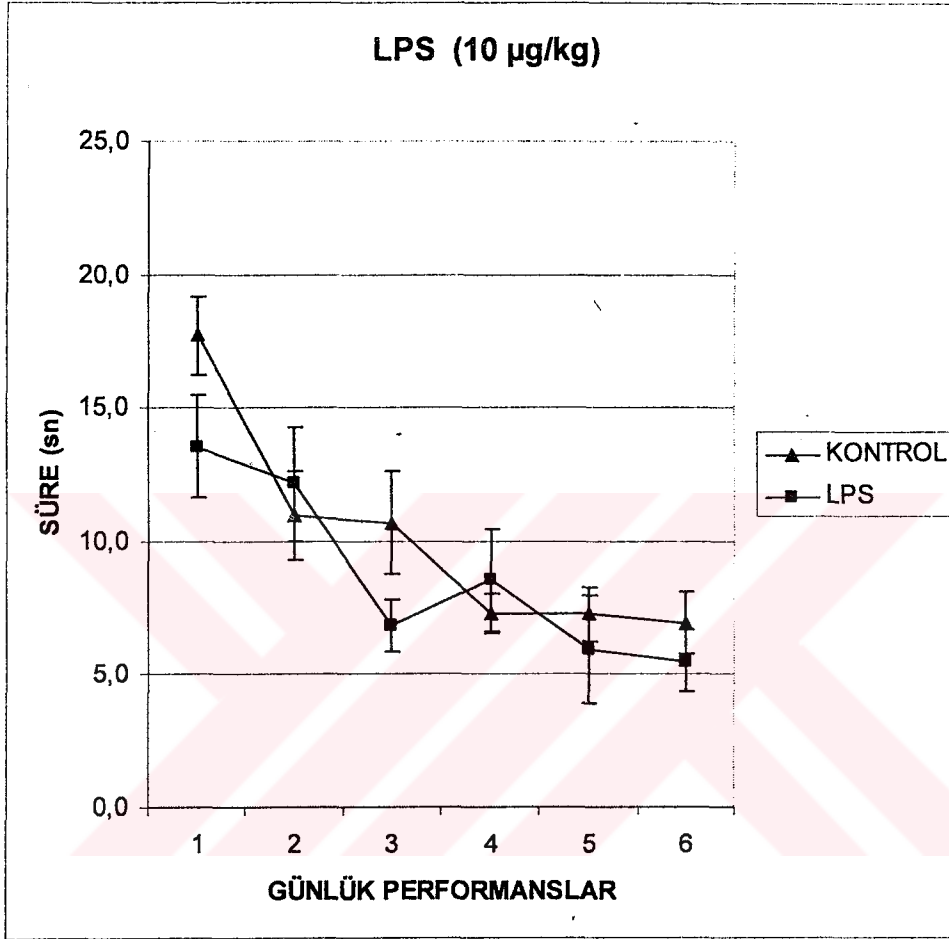
IV.1. FİZYOLOJİK PARAMETRELER

Çalışmada uygulanan LPS'nin her üç dozu da hayvanlarda herhangi bir hastalık belirtisi oluşturmamıştır. Beden ağırlığında, yem yeme ve su içme alışkanlıklarında, vücut ısılarında ve lokomotor aktivitelerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir fark saptanmamıştır. Taurin uygulanan gruplarda da bu parametrelerin herhangi birinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir.

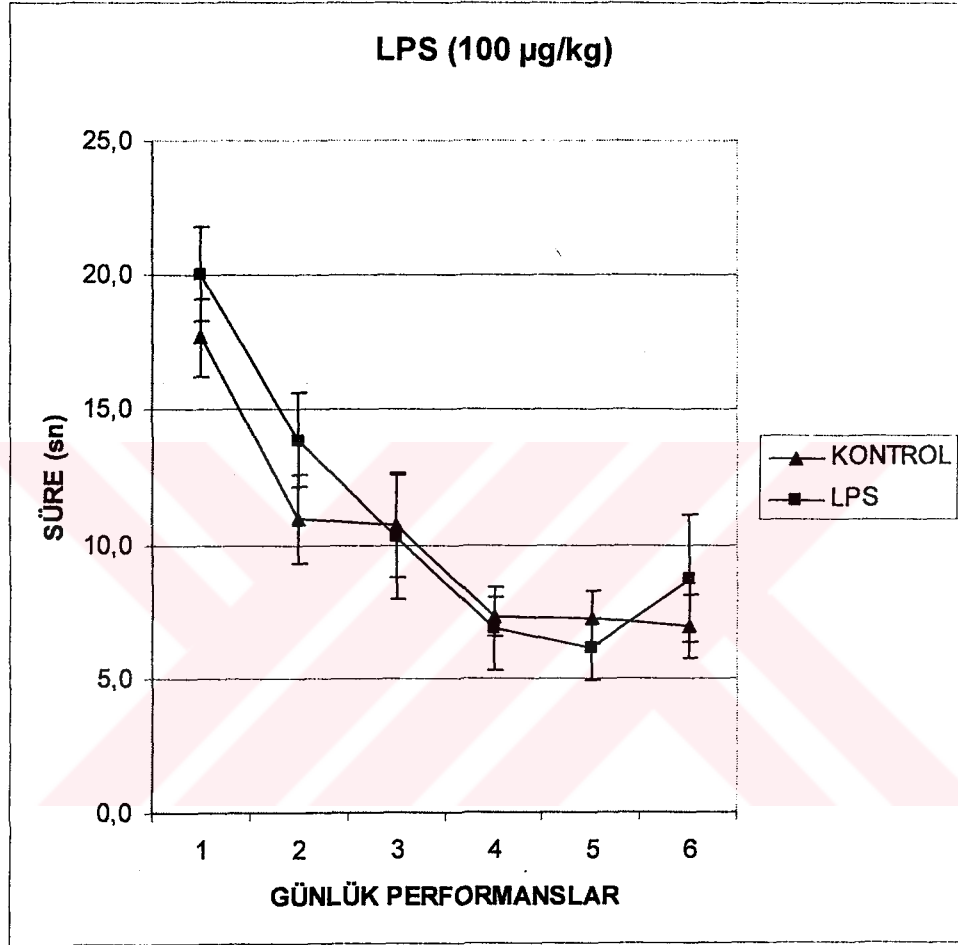
IV.2. UZAYSAL ÖĞRENME TESTLERİ

IV.2.1 Görünür ve Gizli Platform ile Yapılan Testlerin Sonuçları

LPS'in 10 ve 100 µg/kg dozları, gerek görünür platform gününde ve gerekse diğer günlerde yapılan testlerde kontrol grubundaki hayvanlara göre günlük ve toplam performanslar açısından anlamlı bir fark yaratmamıştır ($p>0.05$). Bu uygulamalara ait grafikler Şekil 4 ve 5'de gösterilmiştir.

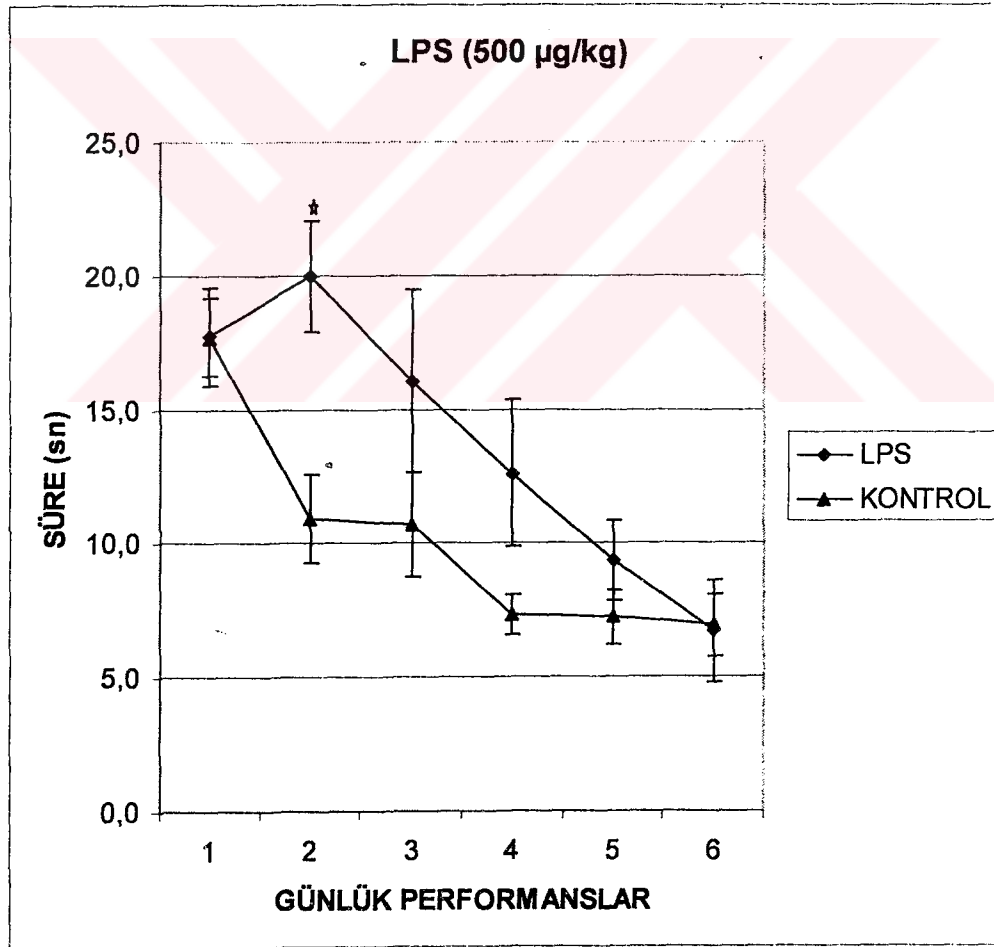


Şekil -4- Günlük performans eğrileri, kontrol grubu (n=8) ve LPS 10 µg/kg grubu (n=6).



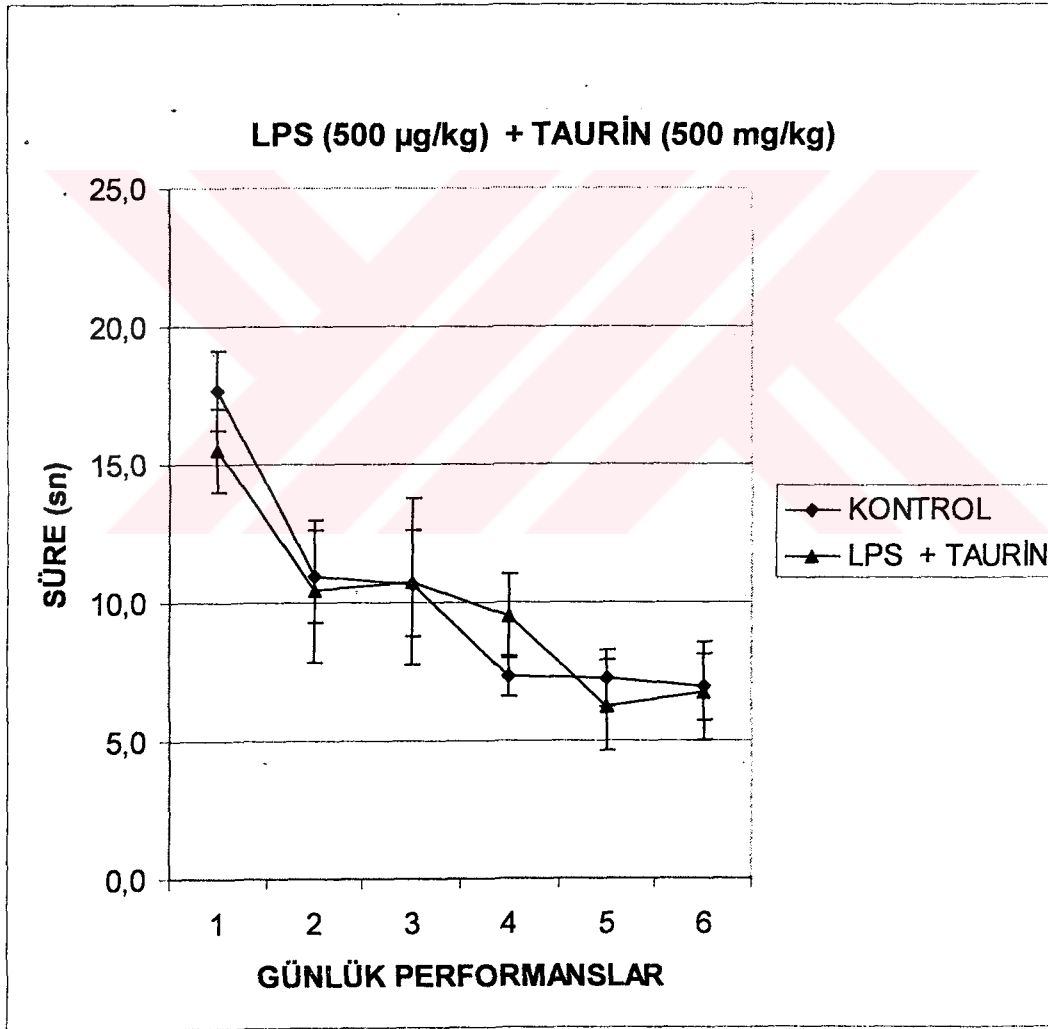
Şekil -5- Günlük performans eğrileri, kontrol grubu (n=8) ve LPS 100 µg/kg grubu (n=6)

LPS'in 500 µg/kg doz uygulaması, görünür platform ile yapılan deneylerde (1. gün) kontrol grubu hayvanlar ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark yaratmazken 2.günde (gizli platform ile yapılan deneylerin ilk günü) anlamlı bir performans azalması (platformu bulma süresinde uzama) yaratmıştır ($p<0.05$). Bu azalma 3. 4. ve 5. günlerde de istatistiksel anlamlılıkta olmasa bile devam etmiş ve hayvanlar ancak 6. günde kontrol grubu hayvanların performansına ulaşabilmiştir. Grupların toplam (6 günlük) performansları arasında da istatistiksel anlamlılıkta fark vardır ($p<0.05$) Bu uygulamalara ait bulgular Şekil 6'da gösterilmiştir.



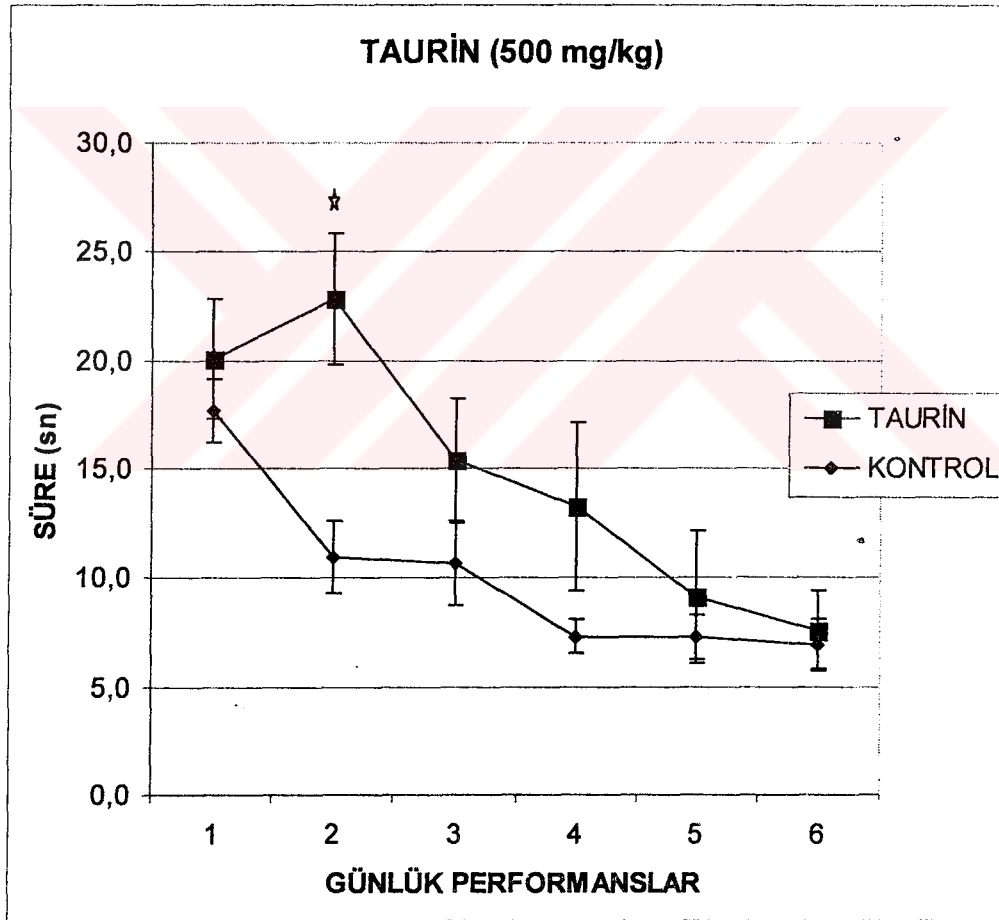
Şekil -6- Günlük performans eğrileri, kontrol grubu (n=8) ve LPS 500 µg/kg grubu (n=7). * $p<0.05$

LPS + Taurin uygulaması, LPS'in 500 µg/kg doz ile ortaya çıkan performans azalmasını engellemiş, bu gruptaki hayvanlar 2. günden itibaren yapılan testlerde kontrol grubuna benzer performans göstermişlerdir ($p>0.05$). Bu uygulamalara ait grafikler Şekil 7'de gösterilmiştir.



Şekil -7- Günlük performans eğrileri, kontrol grubu (n=8) ve LPS 500 µg/kg +taurin 500 mg/kg uygulanan grup (n=6)

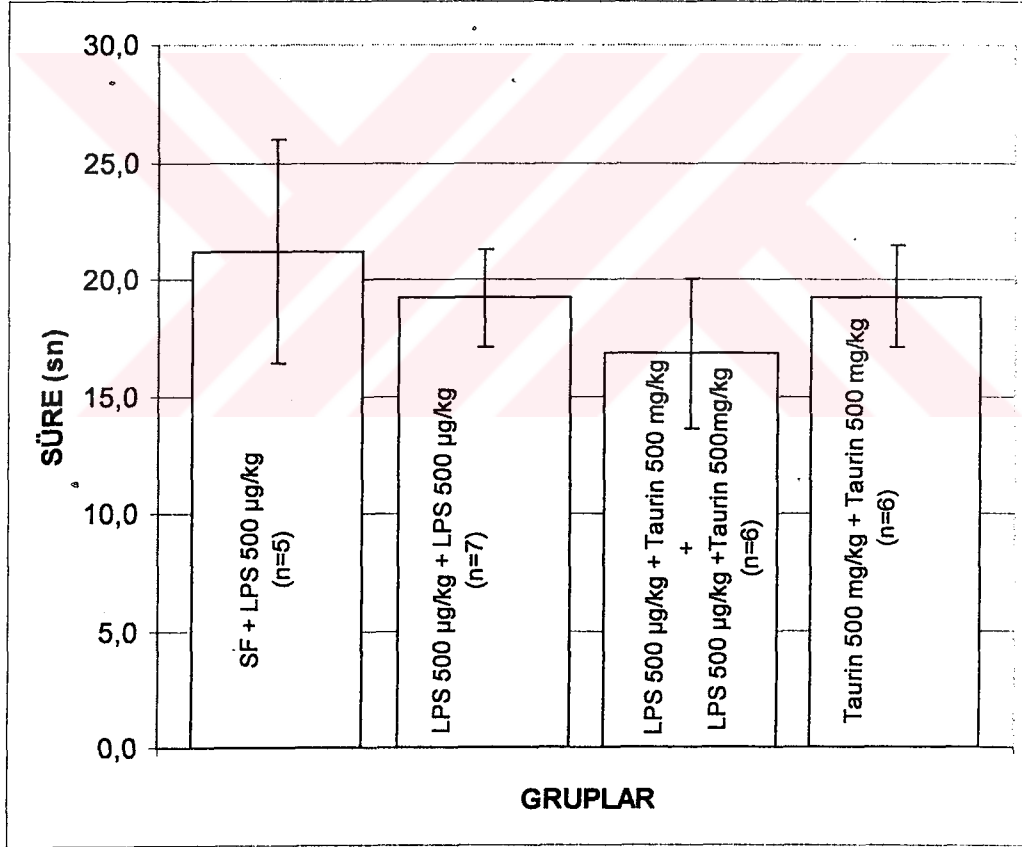
Taurin tek başına uygulandığında ise, uzaysal öğrenme performansında, uygulama gününde (gizli platformla yapılan deneylerin ilk günü- deneyin 2. gününde) kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma (platformu bulma süresinde uzama) yaratmıştır ($p<0.05$). Bu performans azalması diğer günlerde de, istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte devam etmiş ve ancak 6. günde taurin uygulanan hayvanlar kontrol grubunun performansına ulaşabilmişlerdir. Şekil 8.



Şekil -8- Günlük performans eğrileri, kontrol grubu (n=8) ve taurin 500 mg/kg grubu (n=6). * $p<0.05$

IV.2.2. Platformsız Gün (7. gün) Yapılan Testlerin Sonuçları

LPS, LPS+Taurin ve Taurin uygulamalarının hafıza performansına etkilerinin ölçüldüğü bu testlerde gerek LPS gerekse taurin platformun yerini hatırlama veya platformun daha önce bulunduğu kadranda kalış süreleri açısından performans azalmasına yol açmamışlardır. LPS ve taurinin birlikte uygulaması da hafıza performansını etkilememiştir. Gruplar arasında istatistiksel anlamlılıkta fark olmadığı gibi ($p>0.05$), kadranda kalış (platformu arayış) süreleri de %25'lik tesadüfi bulunma süresinin (15 sn'nin) üstündedir. Şekil 9.



Şekil -9- Grupların platformsız gündeki performans eğrileri.

V. TARTIŞMA

Çalışmamızda LPS kullanarak Wistar-Albino cinsi erkek sıçanlarda AH'a benzer bir nöronal hasar yapmayı hedefledik. Yapılan nöronal hasarın AH'a uygun bir model (uzaysal öğrenme ve hafıza fonksiyonlarında kayıp) olduğunu test etmek amacı ile MSL'den yararlandık. Oluşturulan AH modelinde yapılan hasarın telafisi için taurin kullandık.

LPS verilen hayvanlarda bilişsel fonksiyonlar bozulmaktadır. Bu işlev bozukluğunun LPS'nin proinflamatuvar sitokinleri aktive etmesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir¹. AH'da proinflamatuvar sitokinlerde bir artış gözlemlenmesi ve AH patolojisinde inflamatuvar cevapların rolünü gösteren çalışmalar nedeniyle LPS ile oluşturulan patolojinin AH için bir model olabileceği görüşü kabul görmektedir^{32,91}.

Bilindiği gibi AH nörokognitif fonksiyonların zayıflamasına veya tamamen yok olmasına neden olmaktadır¹⁰⁸. MSL AH'da ortaya çıkan bu patolojik durumun ölçülmesinde kullanılan araçlardan biridir¹⁹.

MSL'deki öğrenme ve hafıza testlerinin farklı aşamaları vardır. Bu aşamaların her biri öğrenme ve hafıza performansının farklı öğelerini gösterdiği gibi kombinasyonları da değişik anlamlar ifade etmektedir^{19,36-38}.

İlk gün yapılan görünür platform deneyi uzaysal öğrenme ile ilgili olmakla birlikte, platform gözle görülebildiğinden çevredeki işaretlerin önemi çok fazla değildir. Hayvanlar görme duyularını kullanarak da platformun yerini rahatlıkla tespit edebilirler. Görünür platform deneyinde olası bir bozukluk uzaysal öğrenme bozukluğundan başka, lokomotor aktivite bozukluğu, görme duyusu kaybı veya verilen ajanlardan kaynaklanan hastalık durumu (ateş, iştahsızlık, kilo kaybı vb.) nedeniyle olabileceğinden dolayı daha başka testlere gereksinim duyulabilir^{9,31}.

Diğer günlerde yapılan gizli platform testleri ise tamamen çevredeki işaretlere bağlı bir uzaysal öğrenme (kognitif fonksiyon) testidir. Bu testte olası bir performans düşüklüğü bize uzaysal öğrenmede yetersizlik olduğunu göstermektedir^{7,36-38}.

Görünür platform testinin performansı normal, fakat gizli platform testinin performansı düşük ise bu bize hayvanların her hangi bir lokomotor aktivite kaybı veya hastalığa bağlı bir öğrenme bozukluğu sergilemediğini, daha çok bilişsel fonksiyon kaybına bağlı bir performans yetersizliği olduğunu gösterir¹⁹.

Gizli ve görünür platform aşamaları bilginin kazanıldığı yani öğrenmenin gerçekleştiği dönemdir.

MSL protokolünün son aşaması olan platformsuz aşama ise öğrenilen ve belleğe aktarılan bilginin ne kadarının geri çağrılabilirdiğinin ölçüldüğü bir bellek testidir. Bu aşamadaki olası bir bozukluk önceki aşamalarda öğrenilen bilginin hatırlanamadığını gösterecektir^{1,38}.

Yaptığımız çalışmada üç farklı LPS dozu kullanarak bilişsel fonksiyonlarda bir bozukluk yapmaya çalıştık. Bu doz denemeleri LPS'in hastalık (ateş, iştahsızlık, kilo kaybı vb.) yapıcı etkileri olmaksızın sadece bilişsel fonksiyon kaybı yaratacak en uygun dozu bulmaya yöneliktir. LPS'nin uygulanan 10 ve 100 µg/kg'lık dozlarında görünür ve gizli platform aşamalarında herhangi bir öğrenme bozukluğu saptanmadı. Platformsuz olarak yapmış olduğumuz deneyde de performans düşüklüğü gözlenmedi. Dolayısı ile bu dozlarda uygulanan LPS'nin, bilişsel fonksiyon kaybı yaratmak için yeterli olmadığı ortaya çıkmış oldu.

LPS 500 µg/kg dozda uygulandığında ise görünür platform aşamasında kontrol değerlerine göre performans farkı yaratmamakta, fakat gizli platform ile yapılan çalışmanın ilk gününde (deneyin ikinci günü) istatistiksel olarak

anlamlı bir performans azalması görülmektedir. Dolayısıyla uygulanan 500 µg/kg LPS dozu, uygulamadan sonraki yaklaşık 30 saat içinde öğrenme performansını etkilemektedir. Denekler kontrol grubundaki deneklere göre platformu daha uzun sürede bulabilmişlerdir.

LPS uygulaması ile oluşan öğrenme performansındaki bu azalma ilerleyen günlerde yapılan testlerde de devam etmekte (istatistiksel anlamlılıkta olmasa da) ve denekler, ancak altıncı günde kontrol grubu hayvanlarının performansını yakalayabilmişlerdir.

Görünür platform (1. gün) performansında kontrol grubu ile fark olmayışı, bu dozdaki LPS'ye bağlı herhangi bir lokomotor aktivite bozukluğu veya ateş vb. hastalık durumundan kaynaklanan bir fonksiyon bozukluğu olmadığını ve diğer günlerde görülen performans kaybının sadece bilişsel fonksiyonlardaki kayıptan kaynaklandığını göstermektedir.

Yedinci günde yapılan platformsuz deneyde ise bilginin ne kadar hatırlanabildiği test edilmiştir. Bellek performansına LPS'nin nasıl etki ettiğini görmek amacıyla, MSL testinin 4 saat öncesinde, LPS'nin etkisine daha önce maruz kalmamış kontrol grubu hayvanlar ile, daha önce LPS uygulanmış, ancak altıncı güne kadar giderek performans düzelmesi gösteren gruba tekrar 500 µg/kg LPS uygulandı.

Her iki gruptaki hayvanlar da daha önceden platformun bulunduğu kadranda tesadüfe bağlı süreden (15 sn'den) daha uzun kaldılar. Dolayısıyla LPS bu dozda hem ilk uygulamada hem de 1. ve 7. gündeki tekrarlayan uygulamalarda, hafızaya alınan bilginin geri çağırılmasını etkilememektedir.

Bu bulgular literatürde LPS uygulamalarının MSL'deki öğrenme performansını azalttığını, ancak öğrenilen bilginin hatırlanmasını etkilemediğini gösteren çalışmalarla uyumludur^{1,91}.

LPS (500 µg/kg dozunda) ile elde ettiğimiz bu sonuç bize AH için LPS ile modelleme yapılabileceğini göstermektedir³². Çünkü AH davranışsal olarak nörokognitif bozukluk ile ortaya çıkmaktadır. Ayrıca Alzheimer hastaları yeni olguları öğrenmede ve değişen ortamlara alışmakta zorlanmaktadırlar, fakat öğrenilmiş bir bilgiyi hatırlamaları ile ilgili problemleri olmamaktadır¹⁰⁸.

Çalışmamızın bir sonraki aşamasında, LPS ile oluşturulan öğrenme performansındaki bozulmayı önlemek ve/veya bozulan fonksiyonları geri getirmek için LPS uygulanan hayvanlara taurin verildi.

Taurin, performans bozukluğunun ortaya çıktığı gizli platform aşamasının ilk gününde (çalışmanın ikinci günü) ve MSL testinin bir saat öncesinde intraperitoneal olarak ve tek dozda (500 mg/kg) enjekte edildi.

Literatürde taurinin intraserebral uygulamalarının lokomotor aktivitede azalmaya neden olduğunu bildiren yayınlar nedeniyle³⁴ çalışmamızda taurini sistemik (periton içine) uygulamayı tercih ettik. Çalışmamızda kullandığımız (4 mmol/kg) dozun ancak birkaç kat daha fazla olan (21,3 mmol/kg) dozu farelerde az da olsa motor aktivite kaybına neden olduğu saptanmış olmakla beraber daha az olan dozlarda (9 ve 13.8 mmol/kg) herhangi bir olumsuz etki saptanmamıştır³⁴.

Taurin intraperitoneal olarak uygulandığında bir saat içinde hipokampus ve plazmada maksimum seviyesine ulaşmakta ve dört saat sonra tekrar fizyolojik seviyesine inmektedir⁴⁰. Bu nedenden dolayı taurini MSL testinden bir saat önce vermeyi uygun gördük.

LPS + taurin verilen grupta, taurin uygulaması LPS uygulamasından dolayı ortaya çıkan performans bozukluğunu önledi. Günlük performans skorlarını kontrol değerlerine yaklaştırdı. Dolayısıyla ilk kez bu çalışmada LPS uygulaması ile

oluşturulan uzaysal öğrenme yeteneğindeki kayıpların taurin tedavisi ile ortadan kaldırılabileceği gösterilmiş oldu.

Taurinin LPS ile bozulan uzaysal öğrenme performansını nasıl düzeltebildiğine dair bir bulgumuz olmamakla birlikte bazı olası mekanizmaları irdeleyebiliriz. Taurin bu etkisini, muhtemelen LPS'nin indüklediği proinflatuvar sitokinlerin oluşturduğu inflamatuvar hasarı³² ve/veya neden olduğu oksidan hasarı önleyerek yapmaktadır⁸¹. Taurinin anti-inflatuvar ve antioksidan etkileri bir çok çalışmada gösterilmiştir^{2,9,81}. Fare hipokampüsünde iskemi ile indüklenen taurin salınımının NO'yu artıran ajanlar verildiğinde daha da arttığı saptanmıştır²⁸. Taurin salınımının NO artışı ile beraber ortaya çıkması hücre hasarı durumunda taurinin nöroprotektif rol alabileceğini göstermektedir. Taurinin bu fonksiyonu gelişmekte olan beyinlerde daha belirgindir⁸⁶.

Taurinin in vitro çalışmalarda LPS'ye bağlı toksisiteyi engellediği saptanmıştır. Taurin LPS ile birlikte verildiğinde artan serum NO_x miktarında anlamlı bir düşme gözlenmektedir³⁹. LPS ile uyarılan kupffer hücrelerinde taurin TNF- α salınımını da azaltmaktadır⁸³. TNF- α , taurinin astrositlerin içine alınmasını zamana bağlı şekilde hızlandırır. Bu da bize taurinin hücre içine alınmasının, sitokinlerin yapmış olduğu harabiyete bir cevap olabileceğini göstermektedir. LPS'nin de TNF- α gibi etki gösterdiği bilinmektedir. Taurinin hepatositlerde NO kaynaklı toksisiteyi azalttığı bilinmektedir⁹. Ayrıca taurin LPS enjeksiyonuna bağlı karaciğer hasarını önlemektedir³⁹.

Taurin hiperpolarizasyona yol açarak SSS'de nöronların uyarılmasını engellemektedir. Bundan dolayı inhibitör nörotransmitter olarak bilinir⁸⁷. Nöroeksitatör amino asitler aynı zamanda nörotoksik de olabilmektedirler. Dentritik ve somatik reseptörlerin aşırı uyarılmaları sonucu gelişen uzun süreli depolarizasyon durumunda nöronal permeabilitede bir artış meydana gelmektedir. Permeabilitenin

aşırı artışı, iyon dengesini sağlamaya çalışan nöronun enerji kaynağı olan ATP stoklarının tükenmesine ve sonucunda da hücrenin ölümüne neden olmaktadır⁸². Taurin, eksitatörük amino asitlerin ekstrasellüler kompartmandaki yüksek konsantrasyonlarını azaltarak, yarattıkları nörotoksik etkiden nöronları korumaktadır⁸⁷. Örneğin taurin hipokampal nöron kültürlerinde, glutamat veya kimyasal hipoksinin neden olduğu Ca^{++} konsantrasyonundaki artışı engelleyerek nöroprotektif rol oynamaktadır⁵¹.

Taurinin nöroprotektif özelliğini ve öğrenme-hafıza gibi bilişsel fonksiyonlardaki olumlu etkilerini gösteren çok sayıdaki çalışmaya karşılık⁹⁰, az sayıda da olsa bazı durumlarda özellikle öğrenme fonksiyonunu olumsuz etkilediğinden söz eden yayınlara da rastlanmaktadır. Bu nedenle LPS vermediğimiz bir grup hayvana sadece taurin uygulayarak MSL protokolündeki performanslarını inceledik. Bu amaçla hayvanlara gizli platformun ilk günü MSL testlerinden bir saat önce 500 mg/kg taurin enjekte edildi. Taurinin uzaysal öğrenme performansını uygulama gününden itibaren bozduğu ($p<0.05$), bu bozulmanın ilerleyen günlerde azalarak da olsa devam ettiği ve ancak altıncı günde performansların kontrol grubu değerlerine ulaştığı gözlemlendi.

Öğrenme performansında oluşturduğu bu azalmaya karşın taurin, LPS gibi, platformsuz günde hafıza testine etki etmemekte, yani öğrenilmiş ve uzun süreli belleğe alınmış bilginin geri çağırılmasında herhangi bir bozukluğa yol açmamaktadır.

Bu bulgumuz daha önce Gibbs, Malcangio ve Rivas-Arancibia, tarafından bildirilen çalışmalarla uyumludur^{28,50,81}. Taurinin tek başına uygulandığında ortaya çıkan uzaysal öğrenmedeki performans kaybının mekanizması bilinmemektedir. Bununla birlikte taurinin farklı fonksiyonlarının rolü olabilir. Uzaysal öğrenmenin basit bir mekanizma olmadığını göz önüne alırsak bu olguda bir çok etkenin aynı anda rol alması kaçınılmaz olmaktadır.

Taurin glukoz, asetaldehit ve malondialdehit ile yüksek reaktivite göstermektedir^{22,69}. Taurinin serumda yüksek düzeylerdeki lipid peroksidasyon ürünlerinin miktarını düşürdüğü saptanmıştır⁶⁹. Ozona maruz kalan hayvanların öğrenme ve hafıza performansları azalmaktadır. Ozona maruziyetten sonra yapılan taurin uygulaması kısa süreli hafıza performansını düzeltmekte, fakat ozon uygulamasından önce yapılan taurin uygulaması öğrenme ve hafıza performansındaki bozukluğu daha da şiddetli kılmaktadır. Taurin ozondan sonra uygulandığında lipid peroksidasyonunu azaltmaktadır. Fakat taurin genç sıçanlarda (herhangi bir oksidatif stresin söz konusu olmadığı hayvanlar) ozona maruziyetten önce uygulandığında lipid peroksidasyonunu artırmaktadır. Bu da taurinin hem anti-oksidan hem de pro-oksidan olarak davranabildiğini göstermektedir^{14,81}.

Yapılan çalışmalarda yetişkin hayvan beynindeki amino asit konsantrasyonlarının akut veya kronik değişikliklerinde davranış bozukluklarının ortaya çıktığı saptanmıştır. Bu etkiyi yetişkin hayvanlar ve insanlar tolere edebildiğinden dolayı davranış bozuklukları geçici olmakta, fakat beyin gelişimini henüz tamamlamamış genç hayvanlarda bu etki kalıcı olmaktadır²⁸.

Esansiyel amino asitlerden glisin, histidin, lözin, izolözin, methionin threonin, valin, triptofan, arginin, fenilalanin ve tirozinin intrakraniyal olarak uygulanmasının hafıza oluşumu üzerinde herhangi bir olumsuz etki göstermediği saptanmıştır. Bu amino asitlerden triptofan, arginin, fenilalanin ve tirozinin hatırlamayı geciktirdiği ve fenilalanin ile tirozinin etkisinin kalıcı olabildiği gösterilmiştir²⁸.

Esansiyel olmayan amino asitlerin ve yarı esansiyel taurinin ise öğrenme gerçekleştikten 24 saat sonra unutkanlığa neden oldukları saptanmıştır. Taurin, glutamin, prolin ve serin amino asitlerinin uzun süreli hafıza oluşumunu engellediği gözlenmiştir²⁸.

NMDA reseptör artışı direkt olarak öğrenme ile ilişkilidir⁵⁵. Taurin NMDA ve non-NMDA reseptörlerini etkileyebilmektedir⁷¹. Taurin, hücre içi depolarından Ca^{++} 'un ayrılması ve NMDA reseptörünün aktivasyonuna cevap olarak hücreden salınmaktadır⁵¹.

Öğrenme süreci ile ilişkili olarak in vitro çalışmalarda, ön beyin intermediyal ve mediyal hiperstriatum ventrale (IMHV) kesitlerinde K^+ iyonu tarafından stimüle edilen Ca^{++} bağımlı GABA ve taurin amino asitlerinin salınımlarının arttığı saptanmıştır. Ayrıca öğrenmeye bağlı olarak GABA ve taurin içeren nöron sayısı artmaktadır. Her iki amino asitin birbirinin sekresyonunu düzenlediği sanılmaktadır. GABA ve taurinin salınımlarındaki bu paralellik, her iki amino asitin sinapstan beraber salındıklarını (ko-transmisyonu) düşündürmektedir⁵¹. GABA ve taurin salındığında ortamda Ca^{++} varsa K^+ indüklemesi ile glutamat da salınmaktadır. Taurin ve GABA'nın artışı öğrenmenin ilk dönemlerinde olurken, glutamatın sekresyonu ise daha geç dönemde olmaktadır. Bu da taurinin daha çok kısa süreli, glutamatın ise uzun süreli hafızanın oluşumunda etkili olduğunu düşündürmektedir⁵⁵.

Taurin diğer agonistlerden daha az derecede olsa da $GABA_A$ reseptörünü aktive edebilmektedir⁷¹. Nöronların somalarında ve CA1 hipokampal bölgedeki dentritlerin üstündeki $GABA_A$ reseptörlerini aktive etmektedir, fakat bu bölgedeki pre- ve postsinaptik $GABA_B$ reseptörlerini etkilememektedir⁷⁴.

Taurin gelişmekte olan sıçanların serebral korteksinde bir eksitatorik amino asit olan glisin reseptörünü de aktive edebilmektedir. Taurin direkt veya dolaylı olarak sinaptik glisin reseptörlerinin aktivasyonu ile sinaptik bağlantıların düzenlenmesinde rol almaktadır⁵¹.

Taurinin bir çok eksitatorik ve inhibitör amino asit ve amino asit reseptörleri ile yakından ilişkili olduğu görülmektedir. Bu ilişkilerin sinaptik geçişleri ve plastisiteyi etkileyebileceği düşünülmektedir²⁵. Taurinin hipokampal plastisiteyi

etkileyerek uzaysal öğrenmeyi bozduğunu savunan araştırmacıların yanı sıra²⁵, bir retrograt haberci gibi davranarak LTP'yi kolaylaştırdığını öne süren araştırmacılar da vardır⁷²⁻⁷⁴.

Taurinin hipokampal LTP'nin geç fazında (L-LTP) etkili olduğu gösterilmiştir⁷¹. L-LTP döneminde taurinin etkili olabilmesi için taurinin fizyolojik konsantrasyonda olması gerekmektedir. Taurinin, fizyolojik koşullarda sıçanların hipokampusündeki ekstrasellüler konsantrasyonu 20 μ M'dır⁷¹. Çalışmamızda uyguladığımız taurin bu konsantrasyonun çok daha üzerindedir. Yapılan bir çalışmada ratlara 500 mg/kg dozda taurinin intraperitoneal uygulamasından bir saat sonra hipokampüste 2.4 mM'lük taurin konsantrasyonu saptanmıştır⁴⁰. Bu yüksek konsantrasyondaki taurinin hipokampal LTP'yi nasıl etkilediğini bilememekle birlikte, çalışmamızın bulgularına dayanarak oluşumunu engellediğini söyleyebiliriz.

Taurinin SSS'de, mekanizmasının henüz tam olarak açıklanamadığı bir çok fonksiyona sahip olduğu açıktır. Çalışmamızdaki bulguların, bu mekanizmaları açıklamaya yönelik daha ileri araştırmalarla elde edilecek verilerle desteklenmesi gerektiği kanısındayız.

VI. SONUÇ

Sonuç olarak bu çalışmada ilk kez LPS uygulaması ile oluşturulan AH modelinde, uzaysal öğrenme performansındaki bozulmanın taurin kullanarak engellenebildiği gösterilmiş oldu. Bununla beraber taurinin tek başına uygulandığında LPS'e benzer fonksiyon kayıplarına neden olması, AH'nın tedavisinde kullanılması için daha bir çok çalışma yapılması gerektiğini göstermektedir.



VII. ÖZET

Gram-negatif bakterilerin hücre duvarından elde edilen lipopolisakkarid (LPS) ateş, iştahsızlık, kilo kaybı yanısıra sosyal davranışlarda ve nörokognitif fonksiyonlarda bozulma gibi bir çok fizyolojik ve davranışsal değişikliğe neden olmaktadır. Öğrenme performansındaki azalmanın akut LPS uygulamasının oluşturduğu inflamasyon ve oksidatif stresten kaynaklandığı düşünülmektedir. LPS'nin nörokognitif fonksiyonlarda oluşturduğu bozukluk nedeniyle Alzheimer hastalığı için hayvan modeli oluşturmada kullanılmaktadır.

Bu çalışmada Wistar-Albino cinsi erkek sıçanlarda LPS uygulamasının (10, 100, 500 µg/kg dozlarında) uzaysal öğrenme performansları üzerindeki etkileri Morris'in su labirentinde 6 gün boyunca günde 4 deneme yapılarak test edildi. LPS (500 µg/kg) uygulanan hayvanların kontrol grubu hayvanlarına göre daha uzun zamanda gizli platformu bulabildiği ($p<0.05$) gözlemlendi. Ancak bu dozdaki LPS öğrenilen bilginin hatırlanmasında performans değişikliğine neden olmadı. Ayrıca Alzheimer hastalığında BOS'taki konsantrasyonunun azaldığı bilinen taurinin, LPS'nin neden olduğu nörokognitif fonksiyon kaybı üzerindeki etkileri araştırıldı. Taurin 500 mg/kg dozda uygulandığında LPS'ye bağlı nörokognitif fonksiyon bozukluğunu önlerken ($p<0.05$) tek başına uygulandığında LPS'ye benzer şekilde uzaysal öğrenme performansını azaltmaktadır($p<0.05$).

Bulgularımız taurinin Alzheimer hastalığında bir tedavi seçeneği olabileceğini göstermekle birlikte, klinik uygulamalar için daha ileri çalışmalara gereksinim vardır.

VIII. YABANCI DİLDE ÖZET

SUMMARY

Lipopolysaccharide (LPS), a component of the cell wall of the gram-negative bacteria, lead cognitive impairments and induces profound physiological and behavioral changes including fever, decrease in food motivation, and social behavior. These changes might be interpreted as acute oxidative stress and inflammatory reactions to the LPS. Because of this reasons LPS used to make animal model of Alzheimer's disease.

In the present study, therefore, we investigate the effects of LPS (10, 100, 500 μ /kg i.p) on spatial learning performances using Wistar-Albino male rats. In the Morris's water-maze task, spatial learning performances were examined in four trials of training for six consecutive days. LPS treated rats took longer time to reach hidden platform than control rats ($p<0.05$). But LPS could not affect the retention phase. Since in Alzheimer's disease patients taurine cerebrospinal fluid (CSF) level is known to be low, we investigate role of taurine on LPS induced neurocognitive impairments. Taurine administration in 500 mg/kg dosage prevents LPS induced neurocognitive impairments ($p<0.05$). On the other hand taurine, by itself also lead spatial learning impairments ($p<0.05$).

Our results indicate that it could be a choice to use taurine in the treatment of Alzheimer's disease but further studies are needed for clinical applications.

X. KAYNAKLAR

1. Arai K., Matsuki N., Ikegaya Y. and Nishiyama N.: Deterioration of Spatial Learning Performances in Lipopolysaccharide Treated Mice, *Jpn. J. Pharmacol*, 87, 195-201, (2001).
2. Banks M.A., Porter D.W., Martin W.G and Castranova V.: Taurine Protects Against Oxidant Injury to Rat Alveolar Pneumocytes, Taurine, LOMBARDINI J.B., 341-351, USA, Plenum Press New York, (1992).
3. Bannon A.W., McMonagle-Strucko K., Fanelli R.J.: Nimodipine Prevents Medial Septal Lesion-Induced Performance Deficits in the Morris Water Maze, *Psychobiology*, 21, 209-214, (1993).
4. Barger S.W., Chavis J.A. and Drew P.D.: Dehydroepiandrosterone Inhibits Microglial Nitric Oxide Production in a Stimulus-Specific Manner, *Journal of Neuroscience Research*, 62, 503-509, (2000).
5. Bedi K.S.: Spatial Learning Ability of Rats Undernourished During Early Postnatal Life, *Physiol. Behav.*, 51, 1001-1007, (1992).
6. Bour A.M.J.J., Westendorp R.G.J., Laterveer J.C., Bollen E.L.E.M., Remarque E.J.: Interaction of Indomethacin with Cytokine Production in Whole Blood. Potential Mechanism for Brain-Protective Effect, *Experimental Gerontology*, 35, 1017-1024, (2000).
7. Brandeis R., Brandys Y., Yehuda S.: The Use of the Morris Water Maze in The Study of Memory and Learning, *Int. J. Neurosci.*, 48, 29-69, (1989).

8. Birdsall T.C.: Therapeutic Applications of Taurine, *Alt Med Rev* 3(2), 128-136, (1988).
9. Chang R.C.C., Stadlin A., Tsang D.: Effects of Tumor Necrosis Factor Alpha on Taurine Uptake in Cultured Rat Astrocytes, *Neurochemistry International*, 38, 249-254, (2001).
10. Compton D.M., Dietrich K.L., Smith J.S., Davis B.K.: Spatial and Non-Spatial Learning in The Rat Following Lesions to the Nucleus Locus Coeruleus, *Neuroreport*, 7, 177-182, (1995).
11. Conquet F., Bashir Z.I., Davies C.H., Daniel H., Ferraguti F., Brodi F., Franz-Bacon K., Reggiani A., Matarese V., Conde F.: Motor Deficit and Impairment of Synaptic Plasticity in Mice Lacking mGluR1, *Nature*, 372, 237-243, (1994).
12. Crawley J.N.: Unusual Behavioral Phenotypes of Inbred Mouse Strains, *Trends Neurosci.*, 19, 181-187, (1996).
13. Daniel J.M., Roberts S.L., Dohanich G.P.: Effects of Ovarian Hormones and Environment on Radial Maze Performance of Female Rats, *Physiol. Behav.*, 66, 11-20, (1999).
14. Dawson R., JR.: Taurine in Aging and Models of Neurodegeneration, *Taurine 5: Beginning the 21st Century*, LOMBARDINI, 1, 537, Plenum Publisher, New York, (2003).
15. Dawson R., Jr., Liu S., Jung B., Messina S., Eppler B.: Effects of High Salt Diets and Taurine on the Development of Hypertension in the Stroke Prone Spontaneously Hypertensive Rat, *Amino Acids*, 19, 643-665, (2000).

16. Dawson R., Jr., Pellemounter M.A., Cullen M.J., Gollub M., Liu S.: An Age-Related Decline in Striatal Taurine is Correlated With a Loss of Dopaminergic Markers, *Brain Research Bulletin*, Vol.48, No.3, pp 319-324, (1999).
17. Devan B.D., White N.M.: Parallel Information Processing in the Dorsal Striatum: Relation to Hippocampal Function, *J. Neurosci.*, 19, 2789-2798, (1999).
18. Devan B.D., McDonald R.J., White N.M.: Effects of Medial and Lateral Caudate-Putamen Lesions on Place- and Cue-Guided Behaviors in the Water Maze: Relation to Thigmotaxis, *Behav. Brain. Res.*, 100, 5-14, (1999).
19. D'Hooge R., Deyn P.P.: Applications of the Morris Water Maze in the Study of Learning and Memory, *Brain Research Reviews*, 36, 60-90, (2001).
20. Dingledine R., Borges K., Bowie D., Traynelis S.F.: The Glutamate Receptor Ion Channels, *Pharmacol. Rev.*, 51, 7-61, (1999).
21. Dinçer S., Özenirler S., Öz E., Akyol G., Özoğul C.: The Protective Effect of Taurine Pretreatment on Carbontetrachloride-Induced Hepatic Damage – A Light and Electron Microscopic Study. *Amino Acids*, 22, 417-426, (2002).
22. Dinçer S., Babül A., Erdoğan D., Özoğlu C. and Dinçer S.L.: Effect of Taurine on Wound Healing, *Amino Acids*, 10, 59-71, (1996).
23. Engelberg H.: Pathogenic Factors in Vascular Dementia and Alzheimer's Disease, *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 18, 278-298, (2004).
24. Fibiger H.: The Organization and Some Projections of Cholinergic Neurons of the Mammalian Forebrain, *Brain Res. Rev.*, 4, 327-388, (1982).
25. Franconi F., Diana G., Fortuna A., Galiotta G., Trombetta G., Valentini G., Segheiri G., Loizzo A.: Taurine Administration During Lactation Modifies Hippocampal CAI

Neurotransmission and Behavioural Programming in Adult Male Mice, *Brain Research Bulletin*, 63, 491-497, (2004).

26. Gallagher M., Nicolle M.M.: Animal Models of Normal Aging: Relationship Between Cognitive Decline and Markers in Hippocampal Circuitry, *Behav. Brain Res.*, 57, 155-162, (1993).

27. Geinisman Y., Detoledo-Morrell L., Morelle F., Heller R.E.: Hippocampal Markers of Aged-Related Memory Dysfunction: Behavioral, Electrophysiological and Morphological Perspectives, *Prog. Neurobiol.*, 45, 223-252, (1995).

28. Gibbs M.E. Richdale A.L. and Ng K.T.: Effect of Excess Intracranial Amino Acids on Memory: A Behavioural Survey, *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, Vol.11, pp. 331-339, (1987).

29. Gibertini M., Newton C., Friedman H., Klein T.W.: Spatial Learning Impairment in Mice Infected with *Legionella Pneumophila* or Administreted Exogenous Interleukin-1- β , *Brain Behav. Immun.*, 9, 113-128, (1995).

30. Hartlage-Rübsamen M., Schliebs R.: Rat Basal Forebrain Cholinergic Lesion Affects Neuronal Nitric Oxide Sythase Activity in Hippocampal and Neocortical Target Regions, *Brain Research*, 889, 155-164, (2001).

31. Hauben U., D'Hooge R., Soetens E., Deyn P.P.: Effects of Oral Administration of the Competitive N-Methyl-D-Aspartate Antagonist, CGP 40116, on Passive Avoidance, Spatial Learning, and Nueromotor Abilities in Mice, *Brain Res. Bull.*, 48, 331-341, (1999).

32. Hauss-Wegrzniak B., Dobrzanski P., Stoehr J.D., Wenk G.L.: Chronic Neuroinflammation in Rats Reproduce Components of the Neurobiology of Alzheimer's Disease, *Brain Research*, 780, 294-303, (1998).

33. Holscher C.: Stress Impairs Performance in Spatial Water Maze Learning Tasks, *Behav. Brain Res.*, 100, 225-235, (1999).
34. Hruska R.E., Thut P.D., Huxtable R.J. and Bressler R.: Suppression of Conditioned Drinking by Taurine and Related Compounds, *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, Vol.3, pp. 593-599, (1975).
35. Joseph J.A., Shukitt-Hale B., Denisova N.A., Bielinski D., Martin A., McEwen J.J., Bickford P.C.: Reversal of Age-Related Declines in Neuronal Signal Transduction, Cognitive, and Motor Behavioral Deficits with Blueberry, Spinach, or Strawberry Dietary Supplementation, *J Neurosci.*, 19, 8114-8121, (1999).
36. Kanit L., Koşlu E.O., Yarıbaş G., Furedy J.J., Pöğün Ş.: The Effect of Nitric Oxide Synthase Inhibition on Cognitive Ability and Strategies Employed for Place Learning in The Water Morris Maze: Sex Differences, *Brain Research Bulletin*, 62, 151-159 (2003).
37. Kanit L., Yılmaz O., Taskiran D., Kulali B., Furedy J.J., Demirgören S., Pöğün S.: Sexually Dimorphic Cognitive Style, Female Sex Hormones, and Cortical Nitric Oxide, *Physiology & Behavior*, 71, 277-287, (2000).
38. Kanit L., Taşkıran D., Furedy J.J., Kulali B., McDonald R. And Pöğün Ş.: Nicotine Interacts with Sex in Affecting Rat Choice Between "Look-Out" and "Navigational" Cognitive Styles in The Morris Water Maze Place Learning Task, *Brain Research Bulletin*, Vol.46, 441-445, (1988).
39. Kim S.K., Kim Y.C.: Attenuation of Bacterial Lipopolysaccharide-Induced Hepatotoxicity by Betaine or Taurine in Rats, *Food and Chemical Toxicology*, 40, 545-549, (2002).

40. Lallemand F. And Witte P. D.: Taurine Concentration in the Brain and in the Plasma Following Intraperitoneal Injection, *Amino Acid*, 26, 111-116, (2004).
41. Lalonde R.: Cerebellar Contributions to Instrumental Learning, *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 18, 161-170, (1994).
42. Lalonde R.: Visuospatial Abilities, *Int. Rev. Neurobiol.*, 41, 191-215, (1997).
43. Lamberty Y., Gower A.J.: Simplifying Environmental Cues in a Morris-Type Water Maze Improves Place Learning in Old NMRI Mice, *Behav. Neural. Biol.* 56, 89-100, (1991).
44. Lim G.P., Yang F., Chu T., Gahtan E., Ubada O., Beech W., Overmier J.B., Hsiao-Ashe K., Frautschy S.A., Cole G.M.: Ibuprofen Effects on Alzheimer Pathology and Open Field Activity in APPsw Transgenic Mice, *Neurobiology of Aging*, 22, 983-991, (2001).
45. Lipp H.P., Wolfer D.P.: Genetically Modified Mice and Cognition, *Curr. Opin. Neurobiol.*, 8, 272-280, (1998).
46. Liu P., Bilkey D.K.: Perirhinal Cortex Contributions to Performance in the Morris Water Maze, *Behav. Neurosci.*, 112, 304-315, (1998).
47. Lüth H.J., Münch G., Arendt T.: Aberrant Expression of NOS Isoforms in Alzheimer's Disease is Structurally Related to Nitrotyrosine Formation, *Brain Research*, 953, 135-143, (2002).
48. Lombardini J.B.: Recent Studies on Taurine in the Central Nervous System, *Taurine*, Lombardini J.B., 245-251, USA, New York, (1992).

49. Maurice T., Su T.P., Parish D.W., Privat A.: Prevention of Nimodipine-Induced Impairment Learning by the Selective α_1 Ligand PRE-084, *J. Neural Transm.*, 102, 1-18, (1995).
50. Malcangio M., Bartolini A., Ghelardini C., Bennardini F., Malmberg-Aiello P., Franconi F., Giotti A.: Effect of ICV Taurine on The Impairment of Learning, Convulsions and Death Caused by Hypoxia, *Psychopharmacology*, 98(3), 316-20, (1989).
51. McCabe B.J., Horn G. and Kendrick K.M.: GABA, Taurine and Learning: Release of Amino Acids from Slices of Chick Brain Following Filial Imprinting, *Neuroscience*, Vol.105 No:2, pp. 317-324, (2001).
52. McLean J.H., Shipley M.T., Bernstein D.I., Corbett D.: Selective Lesions of Neural Pathways Following Viral Inoculation of the Olfactory Bulb, *Exp. Neurol.* 122, 209-222, (1993).
53. McNamara R.K., Skelton R.W.: The Neuropharmacological and Neurochemical Basis of Place Learning in Morris Water Maze, *Brain Research Review*, 18, 33-49, (1993).
54. Meiri N., Rosenblum K.: Lateral Ventricle Injection of the Protein Synthesis Inhibitor Anisomycin Impairs Long Term Memory in a Spatial Memory Task, *Brain Res.*, 789, 48-55, (1998).
55. Meredith R.M., McCabe B.J., Kendrick K.M. and Horn G.: Amino Acid Neurotransmitter Release and Learning: A Study of Visual Imprinting, *Neuroscience*, 126, 249-256, (2004).
56. Mogensen J., Pedersen T.K., Holm S., Bang L.E.: Prefrontal Cortical Mediation of Rats' Place Learning in a Modified Water Maze, *Brain Res. Bull.*, 38, 425-434, (1995).

57. Molinari M., Petrosini L., Grammaldo L.G.: Spatial Event Processing, *Int. Rev. Neurobiol.*, 41, 217-230, (1997).
58. Morris R.: Developments of a Water Maze Procedure for Studying Spatial Learning in The Rat, *J. Neurosci. Methods*, 11, 47-60, (1984).
59. Morris R.G.M.: Spatial Localization Does Not Require The Presence of Local Cues, *Learn. Motive*, 12, 239-260, (1981).
60. Morris R.G.M., Garrud P., Rawlins J.N.P., O'Keefe J.: Place Navigation Impaired in Rats With Hippocampal Lesions, *Nature*, 297, 681-683, (1982).
61. Moser E., Moser M.B., Andersen P.: Spatial Learning Impairment Parallels The Magnitude of The Dorsal Hippocampal Lesions, But is Hardly Present Following Ventral Lesions, *J. Neurosci.*, 13, 3916-3925, (1995).
62. Moser M.B., Moser E.I., Forrest E., Andersen P., Morris R.G.: Spatial Learning With a Minislab in the Dorsal Hippocampus, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92, 9697-9701, (1995).
63. Mumby D.G., Cameli L., Glenn M.J.: Impaired Allocentric Spatial Working Memory and Intact Retrograde Memory After Thalamic Damage Caused by Thiamine Deficiency in Rats, *Behav. Neurosci.*, 113, 42-50, (1999).
64. Morley J.E., Kumar V.B., Farr S.A., Flood J.F., Kamlesh V., Franko M. Banks W.A.: Site-Directed Antisense Oligonucleotide Decreases the Expression of Amyloid Precursor Protein and Reverses Deficit in Learning and Memory in Aged SAMP8 Mice, *Peptides*, 21, 1769-1775, (2000).
65. Nabeshima T., Nitta A.: Memory Impairment and Neuronal Dysfunction Induced by β -Amyloid Protein in Rats, *Tohoku J. Exp. Med.*, 174, 241-249, (1994).

66. Nestor J.P., Scheltens P. and Hodges J.R.: Advances in the Early Detection of Alzheimer's Disease, *Nature Neuroscience Reviews*, 5, 34-40 (2004).
67. Nilson O.G., Shapiro M.L., Gage F.H., Olton D.S., Björklund A.: Spatial Learning and Memory Following Fimbria-Fornix Transection and Grafting of Fetal Septal Nuerons to The Hippocampus, *Exp. Brain Res.*, 67, 195-215, (1987).
68. Nitta A. Itoh A., Hasegawa T., Nabeshima T.: β -Amyloid Protein-Induced Alzheimer's Disease Animal, *Neurosci. Lett.*, 170, 63-66, (1994).
69. Ogasawara M., Nakamura T., Koyama I., Nemoto M. and Yoshida T.: Reactivity of Taurine with Aldehydes and its Physiological Role "Taurine in Health and Disease", Huxtable R.J. and Michalk D., 70-79, Plenum Press, New York and London, (1994).
70. Ogawa O., Umegaki H., Sumi D., Hayashi T., Nakamura A. Thakur N.K., Yoshimura J., Hidetoshi E., Iguchi A.: Inhibition of Inducible Nitric Oxide Synthase Gene expression by Indomethacin or Ibuprofen in β -Amyloid Protein-Stimulated J774 Cells, *European Journal of Pharmacology*, 408, 137-14, (2000).
71. Olmo N., Suarez L.M., Orensanz L.M., Suarez F., Bustamante J., Duarte J.M., Rio R.M. and Solís J.M.: *European Journal of Neuroscience*, 19, 1875-1886, (2004).
72. Olmo N., Handler A., Alvarez L., Bustamante J., Rio R.M., Solis J.M.: Taurine-Induced Synaptic Potentiation and the Late Phase of Long-Term Potentiation are Related Mechanistically, *Neuropharmacology*, 44, 26-39, (2003).
73. Olmo N., Galarreta M., Bustamante J., Rio R.M., Solis J.M.: Taurine-Induced Synaptic Potentiation: Role of Calcium and Interaction with LTP, *Neuropharmacology*, 39, 40-54, (2000).

74. Olmo N., Bustamante J., Rio R.M., Solis J.M.: Taurine Activities GABA_A But not GABA_B Receptors in Rat Hippocampal CA1 Area, *Brain Research*, 864, 298-307, (2000).
75. Pitsikas N., Carli M., Fidecka S., Algeri S.: Effect of Life-Long Hypocaloric Diet on Age-Related Changes in Motor and Cognitive Behavior in a Rat Population, *Neurobiol. Aging*, 11, 417-423, (1990).
76. Pügh C.R., Kumagawa K., Fleshner M., Watkins L.R., Maier S.F. and Rudy J.W.: Selective Effects of Peripheral Lipopolysaccharide Administration on Contextual and Auditory-Cue Fear Conditioning, *Brain, Behavior, And Immunity* 12, 212-229 (1998).
77. Richter-Levin G., Errington M.L., Maegawa H., Bliss T.V.: Activation of Metabotropic Glutamate Receptors is Necessary for Long-Term Potentiation in The Dentate Gyrus and for Spatial Learning, *Neuropharmacology*, 33, 853-857, (1994).
78. Riedel G., Micheau J., Lam A.G., Roloff E., Martin S.J., Bridge H., Hoz L., Poeschel B., McCulloch J., Morris R.G.M.: Reversible Neural Inactivation Reveals Hippocampal Participation in Several Memory Processes, *Nat. Neurosci.*, 2, 895-905, (1999).
79. Riekkinen Jr. P., Sirvio J., Riekkinen P.: Interaction Between Raphe Dorsalis Nucleus Basalis Magnocellularis in Spatial Learning, *Brain Res.*, 527, 342-345, (1990).
80. Roof R.L., Zhang Q., Glasier M.M., Stein D.G.: Gender-Specific Impairment on Morris Water Maze Task After Entorhinal Cortex Lesion, *Behav. Brain Res.*, 57, 47-51, (1993).
81. Rivas-Arancibia S., Dorado-Martinez C., Borgonio-Perez G., Hiriart-Urdanivia M., Verdugo-Diaz L., Duran-Vazquez A., Colin-Baranque L. and Avila-Costa M.R.: Effects

of Taurine on Ozon-Induced Memory Deficits and Lipid Peroxidation Levels in Brains of Young, Mature, and Old Rats, *Environmental Research, Section A* 82, 7-17, (2000).

82. Rogers L.J. and Hambley J.W.: Specific and Non-Specific Effects of Neuro-Excitatory Amino Acids on Learning and Other Behaviors in the Chicken, *Behavioral Brain Research*, 4, 1-18, (1982).

83. Romio L., zegarra-Moran O., Varesio L. and Galletta L.J.V.: Regulation of Taurine Transport in Murine Macrophages, *Amino Acids*, 21, 151-160, (2001).

84. Sakimura K., Kutsuwada T., Ito I., Manabe T., Takayama C., Kushiya E., Yagi T., Aizawa S., Inoue Y., Sugiyama H., Mishina M.: Reduced Hippocampal LTP and Spatial Learning in Mice Lacking NMDA Receptor $\epsilon 1$ Subunit, *Nature*, 373, 151-155, (1995).

85. Saransaari P. and Oja S.S.: Involvement of Nitric Oxide in Ischemia-Evoked Taurine Release in the Mouse Hippocampus, in "Taurine 5: Beginning the 21st Century", Lombardini, 453-461, Plenum Publisher, New York, (2003).

86. Saransaari P. and Oja S.S.: Ischemia-Induced Taurine Release Is Modified by Nitric Oxide-Generating Compounds in Slices from the Developing and Adult Mouse Hippocampus, *Neurochemical Research*, 27(5), 395-402, (2002).

87. Saransaari P. and Oja S.S.: Taurine and Neural Cell Damage, *Amino Acid*, 19, 509-506, (2000).

88. Saucier D., Hargreaves E.L., Boon F., Vanderwolf C.H., Cain D.P.: Detailed Behavioral Analysis of Water Maze Acquisition Under Systemic NMDA or Muscarinic Antagonism: Nonspatial Pretraining Eliminates Spatial Learning Deficits, *Behav. Neurosci.*, 110, 103-116, (1996).

89. Schaffer S., Takahashi K. and Azuma J.: Role of Osmoregulation in the Actions of Taurine, *Amino Acids*, 19, 527-546, (2000).
90. Schulz H.: Spatial Working Memory in Rats: The Effect of the Dipeptide Gamma-L-Glutamyl-Taurine and Haloperidol, *Acta Physiologica Hungarica*, 72(3-4), 263-267, (1988).
91. Shaw K.N., Commins S., O'Mara S.M.: Lipopolysaccharide Causes Deficit in Spatial Learning in The Watermaze But not in BDNF Expression in The Rat Dentate Gyrus, *Behavioural Brain Research*, 124, 47-54, (2001).
92. Socci D.J., Crandall B.M., Arendash G.W.: Chronic Antioxidant Treatment Improves The Cognitive Performance of Aged Rats, *Brain Res.*, 693, 88-94, (1995).
93. Sprick U., Hasenohrl R.U., Krauth J., Klapdor K., Huston J.P.: Effects of Chronic Substance P Treatment and Intracranial Fetal Grafts on Learning After Hippocampal Kainic Acid Lesions, *Peptides*, 17, 275-285, (1996).
94. Stewart C.A., Morris R.G.M.: The Water Maze, in: A. Sahgal (Ed.), *Behavioral Neuroscience. A Practical Approach*, Vol.1, 107-122, IRL Press, Oxford, 107-122 (1993).
95. Stewart J., Mitchell J., Kalant N.: The Effects of Long-Life Food Restriction on Spatial Memory in Young and Aged Fischer 344 Rats Measured in the Eight-Arm Radial and the Morris Water Mazes, *Neurobiol. Aging*, 10, 669-675, (1989).
96. Thullier F., Lalonde R., Mahler P., Joyal C.C., Lestienne F.: Dorsal Striatal Lesions in Rats. 2: Effects on Spatial and Non-Spatial Learning, *Arch. Physiol. Biochem.*, 104, 307-312, (1996).

97. Tomaszewski A., Kleinrok A., Zackiewicz A.: Effect of Various Amino Acids on Acetylcholine Metabolism in Brain Tissue, *Ann Univ Mariae Curie Skłodowska* 37, 61-70, (1982).
98. Valtèr R.M.L., Garcia M. And Cacabelos R.: Microglial Activation Induced by Factor(s) Contained in Sera From Alzheimer-Related ApoE Genotypes, *Journal of Neuroscience Research*, 54, 539-553, (1998).
99. Yamaki T., Murakami N., Iwamoto Y., Sakakibara T., Kobori N. Ueda S., Uwahodo Y., Kikuchi T.: Cognitive Dysfunction and Histological Findings in Rats with Chronic-Stage Contusion and Diffuse Axonal Injury, *Brain Res. Protoc.*, 3, 100-106, (1998).
100. Yayou K., Takeda M., Tsubone H., Sugano S., Doi K.: The Disturbance of Water Maze Task Performance in Mice With EMC-D Virus Infection, *J. Vet. Med. Sci.*, 55, 341-342, (1993).
101. Zhu X., Raina A.K., Lee H., Casadesus G., Smith M.A, Perry G.: Oxidative Stress Signaling in Alzheimer's Disease, *Brain Research*, 1000, 32-39, (2004).
102. Quinn J., Montine T., Morrow J., Woodward W.R., Kulhanek D., Eckenstein F.: Inflammation and Cerebral Amyloidosis are Disconnected in an Animal Model of Alzheimer's Disease, *Journal of Neuroimmunology*, 137, 32-41, (2003).
103. Wilms H., Rosensteil P., Sievers J., Deuschl G, Lucius R.: Cerebrospinal Fluid From Patients With Neurodegenerative and Neuroinflammatory Disease: No Evidence for Rat Glial Activation In Vitro, *Neuroscience Letters*, 314, 107-110, (2001).
104. Waite J.J., Chen A.D., Wardlow M.L., Thal L.J.: Behavioral and Biochemical Consequences of Combined Lesions of the Medial Septum/Diagonal Band and Nucleus Basalis in The Rat When Ibotenic Acid, Quisqualic Acid, and AMPA are Used, *Exp. Neurol*, 130, 214-229, (1994).

105. Wenk G.L.: Assessment of Spatial Memory Using Radial Arm and Morris Water Mazes in: Crawley J., Gerfen C., McKay R., Rogawski M., Sibley D., Skolnick P. (Eds), Current Protocols in Neuroscience, Willey, New York, (1998).
106. Wesierska M., Macias-Gonzalez R., Bures J.: Differential Effect of Ketamine on the Reference and Working Memory Versions of the Morris Water Maze Task, Behav. Neurosci., 104, 74-83, (1990) .
107. Whishaw I.Q., Mittleman G., Bunch S.T., Dunnett S.B.: Impairments in the Acquisition, Retention and Selection of Spatial Navigation Strategies After Medial Caudate-Putamen Lesions in Rats, Behav. Brain Res., 24, 125-138, (1987).
108. www.ed.ac.uk/student/webs/session3/7/ADHP.htm

IX. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ramazan Ay
Doğum Tarihi ve Yeri : Mardin, 01 / 01 / 1977
Medeni Durumu : Bekar
Mezun Olduğu Fakülte : Ortadoğu Teknik Üniversitesi Fen – Ed
Fakültesi Biyoloji Bölümü
Mezuniyet Tarihi : 20 Haziran 2002
Yabancı Dili : İngilizce

İletişim Bilgileri

Adres(İş) : Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fizyoloji ABD. 06510 Besevler/ANKARA
Telefon(İş) : (0312) 214 10 80/69-39
Telefon(GSM) : 0533 730 33 02
e-mail : ramazanay1@yahoo.com