

T. C.

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

AYDINLIK / KARANLIK SİKLUS DEĞİŞİKLİKLERİNİN RAT HİPOKAMPÜS DENTAT GİRUS AKTİVİTESİNE ETKİLERİNİN İN VİVO İNCELENMESİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. MEHMET AKİF BAKTIR

KAYSERİ-2010



T. C.

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

AYDINLIK / KARANLIK SİKLUS DEĞİŞİKLİKLERİNİN RAT HİPOKAMPÜS DENTAT GİRUS AKTİVİTESİNE ETKİLERİNİN İN VİVO İNCELENMESİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. MEHMET AKİF BAKTIR

Danışman

PROF.DR. CEM SÜER

KAYSERİ-2010

TEŞEKKÜR

Tıpta Uzmanlık eğitimim boyunca, büyük bir sabır ve ilgiyle benden hiçbir emeğini esirgemeyen danışman hocam sayın Prof.Dr. Cem SÜER'e, deneylerin yapılmasında çok büyük emekleri geçen Prof. Dr. Nazan DOLU'ya, ve Uz. Dr. Seda ARTIŞ' a, uyumlu bir çalışma ortamı sağlayarak destekte bulunan değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Sami AYDOĞAN, Prof. Dr. Nurcan DURSUN, Prof. Dr. Asuman GÖLGELİ, Prof. Dr. Meral AŞÇIOĞLU, ve Prof. Dr. Bekir ÇOKSEVİM'e, asistan arkadaşlarıma, deney hayvanlarının bakımında gösterdikleri yardımlar için DEKAM personelinden Vet. Tek. Erkut SOMAK ve yardımcı personele ve hayatımın her anında bana destek olan eşim Kevser BAKTIR'a ve aileme çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR i

İÇİNDEKİLER ii

KISALTMALAR iv

ŞEKİL LİSTESİ vii

TABLO LİSTESİ ix

ÖZET x

ABSTRACT xi

1. GİRİŞ VE AMAÇ 1

2.GENEL BİLGİLER 3

2.1. BİYOLOJİK RİTİMLER 3

2.2. HİPOKAMPUS 12

2.3. BELLEĞİN ELEKTROFİZYOLOJİSİ 18

3. GEREÇ ve YÖNTEM 24

3.1. DENEY HAYVANLARI 24

3.2. AYDINLIK KARANLIK DÖNGÜSÜ 24

3.3. UYARI VE KAYIT 25

3.4. Input – Output (I/O) Eğrisi 28

3.5. UYARI ÇİFTİ KOLAYLAŞMASI 28

3.6. UZUN ERİMLİ GÜÇLENME (UEG) 28

3.7. VERİ ANALİZİ VE İSTATİSTİKLER 28

4. BULGULAR 30

4.1. I/O BULGULARI 30

4.2.PPF BULGULARI 33

4.3. HFS 36

5. TARTIŞMA 40

6. SONUÇLAR 46

7. KAYNAKLAR 48

KISALTMALAR

ACTH : Adrenokortikotropik Hormon

BDNF : Beyin kaynaklı nörotropik faktör.

cAMP : Siklik Adenozinmonofosfat

CCK : Kolesistokinin.

cGMP : Siklik Guanozin Monofosfat

CRF : Kortikotropin Salınma Faktör.

DG : Dentat Girus.

DNA : Deoksiribonükleik Asit.

EC : Entorinal Korteks.

FSH : Follikül Uyarıcı Hormon.

GABA : Gama Amino Bütirik Asit

HFS : Yüksek Frekanslı Uyarım

LAP : Lokal Alan Potansiyelleri.

LDL : Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

LH : Lüteinizan Hormon

MF : Yosunsu Lif.

MT : Melatonin reseptörü.

NMDA : N-Metil-D-Aspartat.

NOS : Nitrik Oksit Sentaz

NPY : Nöropeptid Y

PHG : Parahipokampal Girus.

PKC : Protein Kinaz C

PLC : Fosfolipaz C

PS **:** Topluluk Dikeni

PVN **:** Periventriküler Çekirdek.

SC **:** Schaeffer Kollateralleri.

SKN **:** SupraKiazmatik Çekirdek.

SP **:** P Maddesi.

UÇK **:** Uyarı Çifti Kolaylaşması.

UEG **:** Uzun Erimli Güçlenme

VİP **:** Vazoaktif İntestinal Peptid

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Melatoninin ritim düzenleyici rolü 7

Şekil 2 Pineal bez'de melatonin sentezinin kontrolü. 8

Şekil 3. Mediyal temporal lopda entorinal korteks ve hipokampusun alttan ve vertikal kesitte görünümü. 13

Şekil 4. Esas hipokampusun tabakaları. 14

Şekil 5. Hipokampal formasyon ve Korteks arasındaki bağlantı yollarının şematik görünümü. 16

Şekil 6. Hipokampüsde, hücredışı UEG kaydının şematik gösterimi. 21

Şekil 7. Normal glutamerjik sinaps ve bu sinapsta oluşturulan UEG yanıtının indüksiyonu ve geç döneminde oluşan değişiklikler. 23

Şekil 8. Kayıt ve uyarı elektrotlarının in vivo yerleşimi 26

Şekil 9 Elektrofizyolojik kayıtların alındığı deney sisteminin şematik görünümü. ... 27

Şekil 10. Bir örnek deney sırasında beyine yerleştirilen elektrotların ve deney hayvanın görünümü. 27

Şekil 11. Örnek Kayıt Trasesi. 29

Şekil 12. Gece ve gündüz grubu sıçanların 0,1 mA-1,5 mA arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen EPSP eğimi ve PS genliklerinin değişimleri 32

Şekil 13. Gece ve gündüz grubu sıçanların uyarı çifti aralığı 20 msn -160 msn arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen alan potansiyellerinin ortalama traseleri. 35

Şekil 14. Gece ve gündüz grubu sıçanların uyarı çifti aralığı 20 msn -160 msn arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen alan potansiyellerinin I/O ilişkisi 36

Şekil 15. Gece ve gündüz gruplarının dentat giruslarından elde edilen alan alan potansiyellerinin dört zaman penceresindeki oratalama traseleri..... 37

Şekil 16. Gece ve gündüz gruplarının dentat giruslarından elde edilen alan potansiyellerinin EPSP eğim ve PS genliklerinin bazal değerlerine göre yüzde değişimleri. 39

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Gece ve gündüz grubu sıçanların 0,1 mA-1,5 mA arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen EPSP eğimi ve PS genliklerinin istatistiksel analizi 31

Tablo 2. Gece ve gündüz grubu sıçanların uyarı çifti aralığı 20 msn -160 msn arasında değişen 8 ayrı test uyaran çiftine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen EPSP eğimi ve PS genliklerinin istatistiksel analizi 34

Tablo 3. Dört farklı zaman penceresinde kaydedilen alan potansiyellerinin gece ve gündüz gruplarındaki ortalama değerleri…….38

ÖZET

Aydınlık/karanlık döngüsü değişikliklerinin araştırıldığı çalışmalardan elde edilen bazı deliller, hafıza ve öğrenme ile ilgili süreçlerin ritmisite gösterdiği görüşünü desteklemektedir. Bu ritmin başlıca ayarlayıcısı dış ortamdaki aydınlık/karanlık döngüsüdür ve melatonin bu döngünün endojen bir senkronizörüdür. Hipokampal melatoninin reseptörlerinin varlığı ve bunların aydınlık-karanlık döngüsü ile ilişkisi, hipokampal sinaptik yanıtlardaki döngüsel değişikliklerin daha yakından incelenmesini gerekli kılar. Bu nedenle, bu çalışmada aydınlık-karanlık döngüsü değişikliklerinin hipokampus dentat girus nöron aktivitesine etkilerinin araştırılmasını amaçladık. Aydınlık/Karanlık döngüsü otomatik ışık sistemli özel odalarda (12'şer saatlik eşit zamanlı olacak şekilde) uygulandı. Wistar Albino erkek sıçanlar 2 gruba ayrıldı. Gündüz grubu saat 08.00–20.00 arasında, gece grubu ise saat 20.00–08.00 arasında aydınlıkta , kalan sürede ise karanlıkta bırakıldılar. Her bir sıçan 30. deney gününde, gündüz aynı saatte çalışıldı. Uzun erimli etkinleşme yanıtı ve çift uyarı kolaylaşması, medial perforan yol uyarımına karşı dentat girus sinapslarından kayıtlanan alan potansiyellerinde çalışıldı. Otuz günlük aydınlık / karanlık döngüsü sonunda elde edilen veriler ve bunların istatistiksel değerlendirilmesi sonucunda; gece grubunda gündüz grubuna göre I/O ilişkisinin farklı olmadığı, PS genliklerindeki kolaylaşmanın, post-tetanik ve uzun-erimli güçlenmelerin anlamlı derecede azaldığı bulundu. Elde edilen bulgular, aydınlık karanlık siklusunda meydana gelen değişmelerin dentat girus nöronlarının elektriksel özelliklerini etkileyebileceğini ve hipokampusta hipokampal UEG'den sorumlu olan endojen bir zamanlama sisteminin olabileceğine işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Uzun Erimli Etkinleşme; Uyarı Çifti Kolaylaşması; Hipokampüs, Aydınlık-Karanlık, Sirkadiyen ritim.

ABSTRACT

The results of the study on the dark-light-cycle indicated that there is a parallel between learning process and memory. The basic component that predicates such a parallel is light-dark cycle. The relationship between secretion of melatonin and light-dark-cycle may indicate that melatonin fucntions as endojenic syncronizer. Studies on the possible relation between hippocampal melatonin receptors and light-dark cycle refer to the necessity of further research about light-dark-circle and hippocampal synaptic responses relations. The present study aims to find out the possible effect of light-dark-circle's changes on Hippocamus-Dentat-Girus acticity. Light-dark-circle (12h. light/12h. dark) is created for Wistar Albine Male Rats in a special room [with automatic light system] at DEKAM [Center of Experimental and Clinical Study] for 24 hours. The male rats are separated into two categories (lighted and dark)**.** Day-group is left in the light between 08:00 and 20:00, the night group is left in the light between 20:00 and 08:00. Each rat is taken from the room and studied at the same hours on the 30^{th} day of the research. They are left in the dark in the rest. LTP response and PPF are studied from the record of dentat girus synapsis potential areas against medial perforant pathway stimulant. The results of 30 days light-dark circle and their statistical evaluation indicate that there is no difference between the day and night groups in term of I/O relations; there is a significant decrease in the facilitation of PS amplitutes, post-tetanic and LTP. With respect to the results of the study it can be argued that there is an endogenous timing process which is responsible for hippocampal LTP and changing at Light/Dark cycle can be affect the electrical characteristics of Dentate Gyrus neurons of hippocampus.

Keywords: Long Term Potentiation, Pair Pulse Facilitation , Hippocampus, Light-Dark, Circadian rhythm.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hipokampus'ün en belirgin işlevlerinden biri uzamsal öğrenme ve bellektir. Öğrenme ve belleğin oluşmasında pre- ve post-sinaptik hücrede oluşan değişiklikler anahtar rol oynar. Başta hipokampüs olmak üzere pek çok beyin yapısında sinaptik aşırımda eksitatör aracı madde olan glutamatın ligand kapılı iyon kanalları olan AMPA ve NMDA reseptörleri önemli rol oynar (1).

İnsanda pek çok biyokimyasal, fizyolojik ve davranışsal değişken sirkadiyen bir ritim gösterir. Bu ritm hipotalamusda suprakiyazmatik nukleustaki (SCN) santral *pacemaker*lar tarafından kontrol edilir ve ritmin başlıca ayarlayıcısı dış ortamdaki aydınlık/karanlık siklusudur. Melatonin salgılamasının aydınlık/karanlık döngüsü ile ilişkisi bu hormonu endojen bir senkronizör olarak düşündürmektedir (2).

Yapılan çalışmalar bazı NMDA reseptör alt tiplerinin hipokampal hücrelerdeki ifadelenmesinin, melatonin uygulanan sıçanlarda arttığını göstermiştir. Ayrıca kemirgenlerde aydınlık-karanlık döngüsünün değişmesi endojen melatonin salgılanma kalıbını da bozar (3, 4). Günün değişik zamanlarında kanda dolaşan melatonin düzeyinin osilasyon göstermesi ve buna bağlı olarak da hipokampal glutamat reseptör miktarının değişmesi beklenebilir. Her ne kadar hipokampustaki reseptör yoğunluğunun melatonin düzeyi ile arasındaki ilişki çalışılmamışsa da reseptör düzeyinin bir ifadesi olarak değerlendirilebilecek olan eksitatör post sinaptik potansiyeller bu konuda bir fikir verebilir. Hipokampal melatoninin reseptörlerinin varlığını ve bunların aydınlık-karanlık döngüsü ile ilişkisi olduğunu gösteren çalışmalar, aydınlık / karanlık döngüsü ile hipokampal sinaptik yanıtlar arasındaki

ilişkinin daha yakından incelenmesini gerekli kılar. Bu nedenle, sunulan çalışmada aydınlık-karanlık döngüsü değişikliklerinin hipokampus dentat girus nöron aktivitesine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. BİYOLOJİK RİTİMLER

Çok hücreli canlılarda zamana bağlı döngüsel değişiklikler yüzyıllardır gözlenmektedir. Biyolojik ve davranışsal çevreye uyum , evrim ile gelişmiştir ve çevresel etkenlerden yerçekimi, ısı veya dehidratasyona yanıt verebilmeyi sağlamıştır. Kronobiyoloji bilimi biyolojik sistemlerde çeşitli durumlarda ve farklı sürelerde gözlenen dalgalanmaları (osilasyon) araştırır.

Canlıların yürüttüğü biyolojik fonksiyonların ritimleri, genellikle çevre şartlarından döngüsel özellikler gösterenlerle eşzamanlı olarak yürür. Eğer bir canlı engelsiz bir şekilde dış ortamla ilişkili ise ve ritimlerini dış dünyadan gelen uyarılara göre düzenleyebiliyorsa, böyle ritimlere bağlı (entrained) ritimler denir. Bunun yanında, eğer canlı laboratuar ortamında, çevresel işaretlerden yalıtılmış bir biçimde yetiştirilirse, bu durumda tam olarak çevresel işaretlerle tutarlı olmasa da bir iç ritmi sürdürdüğü görülür. Bu tip ritimlere de serbest (free-running) ritimler denir.

İnsan organizmasında bir "Biyolojik Saat" osilasyon gösteren fizyolojik değişiklikleri kontrol eder. Biyolojik saat, retinohipotalamik-pineal eksende yer alan suprakiazmatik nükleus denen bir *pacemaker*'a sahiptir. Biyolojik saatin oluşturduğu ritimler insanlar farklı ya da zıt özellikli çevresel koşullara bırakıldıklarında da devam eder (2).

2.1.1.Biyolojik Ritmlerin Türleri

Biyolojik ritimler saniyede 30-60 kezden , aylık ve yıllık ritimlere kadar geniş bir yelpazede oluşabilir. Biyolojik ritimler döngülerindeki süre göz önüne alınarak alt gruplara ayrılmışlardır. Bunlar ultradiyen, sirkadiyen, infradiyen ve sirkannual ritmlerdir.

Ultradiyen ritimler, bir günde birden fazla döngüsü olan ritimlerdir. REM (Rapid Eye Movement) dönemlerinin rüya görme ile ilgili olduğu saptandığından beri, rüyaların her 90-100 dakikada bir ortaya çıktığı anlaşılmıştır. REM ve NREM (Non Rapid Eye Movement) ultradiyen bir döngüde yer değiştirirler. Günlük farklılıklar olsa da ortalama sabit bir döngü bulunmaktadır. REM'deki bu döngüsel değişmeler ve rüyalar, beyin ve vücuttaki birçok benzer değişmeler ile birliktedir (5). Örneğin; kan akımı, metabolizma, beyin oksijen tüketimi, kas gevşemesi ve bazı hormonların salgılanması gibi değişmeler bu döngüye eşlik eder. Benzer bir ritm de, midenin boşalması ritmidir. Mide hem uyku, hem de uyanıklıkta 1,5-2 saate bir boşalmaktadır (6).

Sirkadiyen ritmler, yaklaşık bir gün süren ritmlerdir (Lat: circa=yaklaşık, dies=gün). İnsanın en belirgin sirkadiyen ritmi uyku ve uyanıklığın ritmik değişimidir. Erişkin bir insan günde ortalama 16 saat uyanıkken 8 saat uykudadır. Bunun dışında vücut metabolizma hızı da gün boyunca değişir. Vücut ısısının 24 saatlik ritmi, genellikle öğleden sonra pik yapar ve uykunun ortasından 1-2 saat sonra en düşük düzeye iner. Vücut ısısı 24 saat içinde yaklaşık 1ºC değişme gösterir (7). Gece yarısına göre kan basıncı (sistolik), öğleden sonra en az %2 ve nabız hızı da en az %30 artar (7). DNA replikasyonunun (8) ve hormonların kan ve doku derişimleri, 24 saat boyunca belirgin değişmeler gösterir (9). Bunların dışında beyinde de değişiklikler olmaktadır. 24 saatlik döngüde çeşitli beyin bölgelerindeki nöronların ateşlenme oranları 10 ila 100 kat arasında değişmektedir (10). Farklı bölgelerde ve farklı nörotransmiterler için 24 saatlik döngüde %50 ile %100 arasında konsantrasyon değişmeleri gözlenmektedir (11). Bunun yanında hücre zarındaki nörotransmiter reseptörlerinde de değişmeler ritmik olmaktadır. Sonuçta, bu 24 saatlik hormon, nörotransmiter ve reseptör sayısındaki değişiklikler ilaçların etkinlik ve toksisitesini, günün hangi döneminde uygulandığına bağlı olarak etkileyip değiştirmektedir (11).

İnfradiyen ritimler, bir günden daha yavaş, örneğin; haftalar ya da aylar süren ritmlerdir. Bazı infradiyen ritmler sosyal olaylar veya haftalık döngü etkisi altındadır. En iyi bilinen infradiyen ritm ise kadınlardaki menstrüel döngüdür. Bu döngü ile ilişkili birçok hormonal, fizyolojik ve emosyonel değişiklikler bulunmaktadır.

Sirkannual ritmler, yaklaşık bir yıllık ritimlerdir. Bazı hayvanlarda, gözlenebilen yıllık değişmeler bulunmaktadır. Göç ve kış uykusu bu hayvanlarda yıllık bir ritmi takip eder. Bu ritm, yıl içindeki ışık değişmeleri, sıcaklık, diyet ve zaman ipuçları (zeitgeber) ile düzenlenmekte ise de koşulların sabit kaldığı durumlarda da çok az farklılıklar göstermekle birlikte devam etmektedir (12).

2.1.2. Biyolojik Ritimlerin Nörobiyolojisi

Kronobiyoloji teorisi bir ritim oluşturucu veya öncü-odak (pacemaker) adı verilen bir merkezin varlığını idda eder (13). Bu öncü-odak, afferent sinyalleri görsel girdilerden ve çeşitli fizyolojik ve davranışsal ritimleri oluşturan ve düzenleyen yollardan alır. Anterior hipotalamustaki suprakiazmatik nükleus (SKN) en bilinen öncü-odaktır ve retinohipotalamopineal eksende yer almaktadır (14). Diğer bir öncü-odak ise beslenme davranışı ile ilgili osilasyonları düzenler ve SKN lezyonlarında etkinliği devam eder (15). SKN efferent bağlantılar ile lokomotor etkinlik, yiyecek alımı, su alımı, cinsel davranış, çekirdek vücut sıcaklığı, uyku, ACTH (adrenokortikotrop hormon) salınımı, prolaktin salınımı, melatonin salınımı ve gonadortopin salınımını etkilemektedir (16). Ayrıca, orta beyinde yer alan ve melatonin salınımından sorumlu olan pineal bezin, vücut zamanının oluşmasında ve kontrolünde rol oynadığı düşünülmektedir (17).

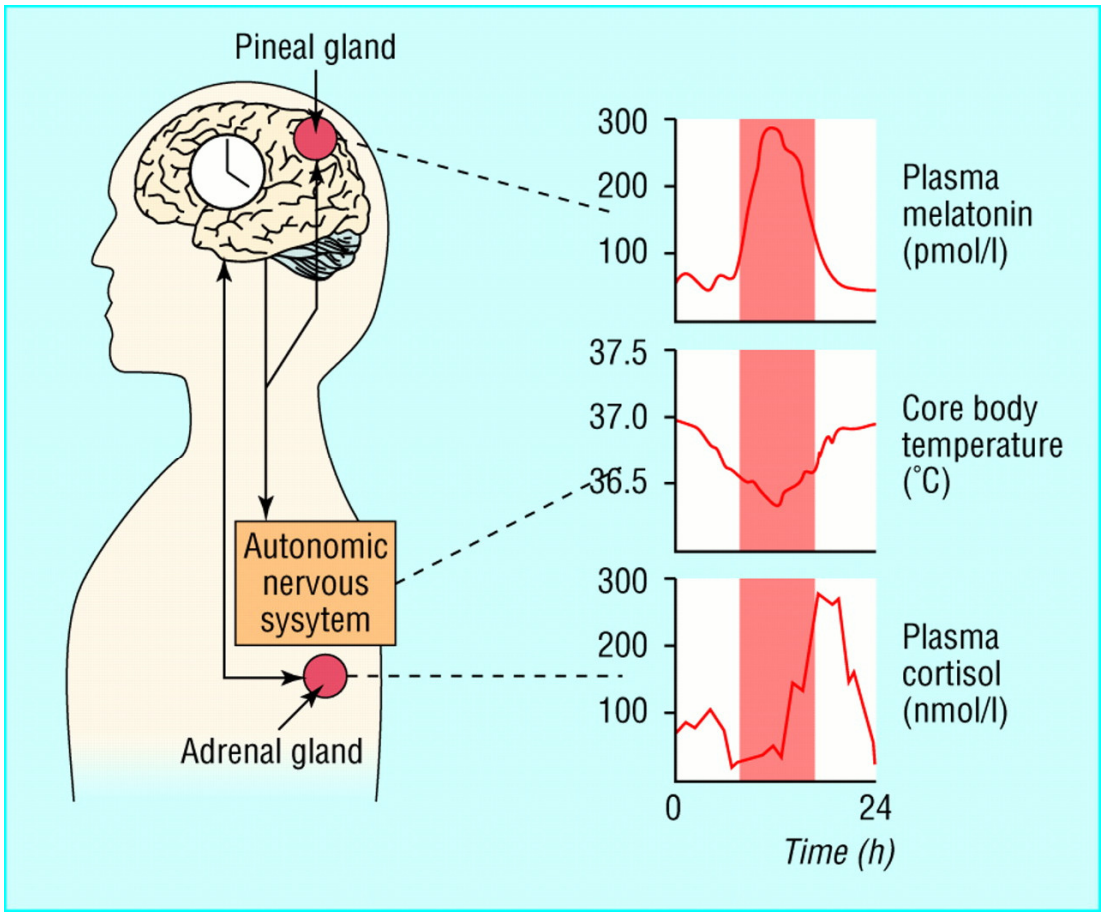
Sirkadiyen ritmler çevresel değişmelere karşı organizmanın bir cevabı değildir. Bu ritmler endojen olarak üretilmektedirler. Bu ritmler, insanlar farklı ya da zıt özellikli çevresel koşullarda bırakıldıklarında da devam etmektedir. Böyle bir durumda, ritm devam etmekle birlikte, 24 saatten sapma göstermektedir. Periyod, 24 saatten biraz fazla olmakta, yaklaşık 24.5 saat sürmektedir. Çevre şartlarının normal olduğu dönemlerde, çevredeki zaman ipuçları ve aydınlık-karanlık değişimi ile bu salınım her gün 24 saate ayarlanmaktadır. Böylece çevresel zaman ipuçları ile faz her gün biraz öne alınır, aksi halde her gün yatağa biraz geç yatıp, geç kalkılacaktır (18)

Çevresel şartlardan izole edilenlerle yapılan çalışmalarda, deneklerde birden çok ritim oluşmaktadır. Beden sıcaklığı ve kan kortizol düzeyleri 24-26 saatlik

aralıkta nadiren değişme göstermektedirler. Diğer yandan uyku-uyanıklık döngüsü ve bununla ilişkili beslenme davranışı, üriner sıvı atılımı gibi ritimler ise değişkenlik gösterir. Genelde izolasyon deneylerinde, uyku/uyanıklık döngüsünde 28-36'dan 48-50 saate kadar döngüler oluşmaktadır. Yani, uyku/uyanıklık döngüsünü kontrol eden osilatör zayıf ve değişken olup çevresel etkenlerden kolayca etkilenmektedir. Sonuçta, sıcaklık döngüsü ile uyku/uyanıklık döngüsü farklı salınımda olduğunda ritimlerde eşzamanlılığın kaybı görülür. Bu gibi durumlarda bireyler beden sıcaklığının pik yaptığı dönemin hemen arkasından uyuyabilirler ve uyku süreleri normalden uzun sürerek, 12-18 saate kadar çıkabilir. Işık retinaya etki ederek, sirkadiyen sistemdeki ritmik fazı sıfırlayabilen bir görevi üstlenmektedir. Bu etki bulunulan sirkadiyen faza göre değişir. Sonuç olarak, gece ışığın uygulanması uykuyu geciktireceği gibi sabah uygulanması uykuyu öne alabilecektir. Ayrıca gecelerin uzadığı kış döneminde uyku fazı ve melatonin salgılanma dönemi de uzamaktadır (19)

2.1.3. Biyolojik Ritmi Düzenleyen Anatomik Yapılar

Memelilerde biyolojik saatlerin en önemlilerinden biri gece –gündüz ritmini sağlayan sirkadiyen ritimdir. Bu canlılarda sirkadiyen ritmin düzenlenmesinde başlıca retina, pineal bez ve suprakiazmatik nükleus (SKN) görev alır (18). Aşağıda pineal bez ve SKN kısaca ele alınacaktır. Ayrıca bu yapılarla hipokampüs arasındaki anatomik ve işlevsel ilişki tezin çalışma kapsamında olduğu için kısaca tanımlanacaktır.



Şekil 1. Melatoninin ritim düzenleyici rolü

Resim http://www.bmj.com/content/317/7174/1704.full adresinden alınmıştır.

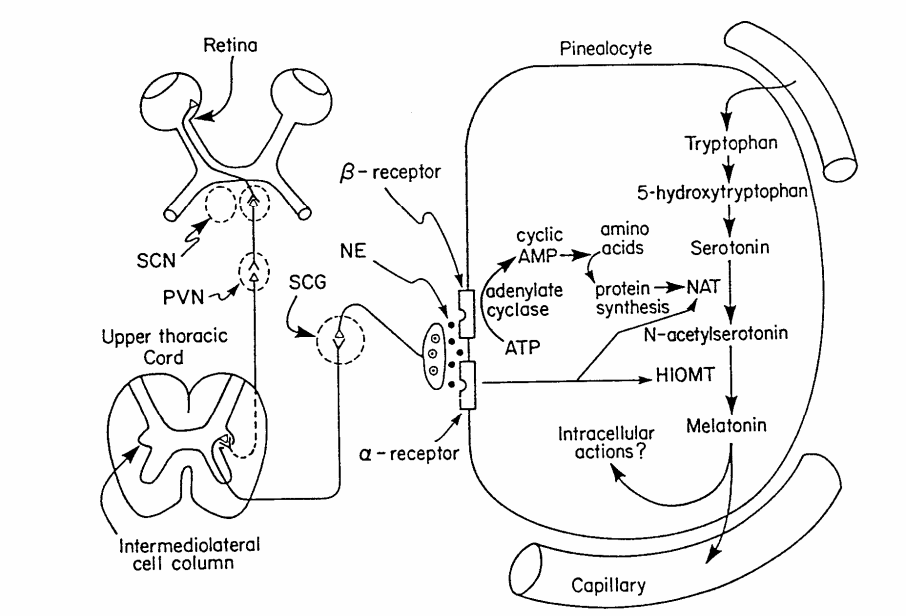
Sirkadiyen ritm hipotalamusda SCN'deki santral pacemaker'lar tarafından kontrol edilir ve ritmin başlıca ayarlayıcısı dış ortamdaki aydınlık/karanlık siklusudur.

2.1.3.1. Pineal Bezin (epifiz) Sirkadiyen Ritmin Düzenlenmesindeki Rolü ve Melatonin

Pineal bez yaklaşık 100-150 mg ağırlığındadır ve posterior komissür ve dorsal habenular komissür arasında üçüncü ventrikülün arka duvarına yapışıktır. Arteryel beslenmesi posterior choroidal arterden, venöz boşalımı ise internal serebral venler yoluyla sağlanır. Çoğunlukla süperior servikal gangliondan sempatik innervasyon alır (20). Salgıladığı melatonin hormonu ile vücudun gece gündüz farklılıklarına uyum göstermesini sağlar. Melatonin hormonu pineal bezde triptofan aminoasidinin serotonine, onun da melatonine dönüşmesiyle oluşur. Melatonin foto-periyodisite ile ilgili bilgiyi vücudun işlevlerine aktararak sirkadiyen ritmin ve

organizmanın fonksiyonlarının düzenlenmesinde anahtar rol oynar. Melatonin sekresyonunun aydınlık-karanlık siklusu ile ilişkisi bu hormonu, endojen bir senkronizör olarak düşündürmektedir (2, 21).

Memelilerde foto-periyodik değişimin algılanması için sağlam bir epifiz bezine ihtiyaç olduğu artık iyi bilinmektedir (22, 23). Melatonin tüm türlerde gece sentezlenir ve salgılanır. Sirkadian bir ritme uyar. Memelilerde bu ritmi SKN belirler. SKN lezyonlarında, melatoninin salgısının sirkadian ritmi kaybolur. Sirkadian ritim temelde aydınlık-karanlık siklusunu izler (22). Birçok türde melatonin sekresyonu gecenin uzunluğu ile ilişkilidir. Gece ne kadar uzarsa melatonin salgılanması o kadar uzun sürer (20) . Işık, karanlık fazın başında ve/veya sonunda sekresyonu baskılar ve ritmi düzenler. Melatoninin salgılanması mevsimlik farklılık da gösterir. Yazın daha geç salınırken, kışın salınım daha erken başlar. Kısa günlerde uzun süreli, uzun günlerde ise kısa süreli melatonin sekresyonu görülür (20). Kısa süreli ama yeterli miktarda ışık maruziyeti melatonin salgısını baskılar. İnsanlarda geceleri melatonin salgısını baskılayacak doz 2500 lux.'tür ve en etkilisi mavi ışıktır (24).



Şekil 2 Pineal bez'de melatonin sentezinin kontrolü.

Resim http://www.feb.se/EMFguru/Research/emf-emr/EMR-Reduces-Melatonin.htm adresinden alınmıştır. SCN; Suprakiazmatik nükleus, PVN; Paraventriküler nükleus, SCG; Superior servikal ganglion, NAT; 5-Hidroksitriptamin-Nasetiltransferaz, HIOMT; Hidroksiindol-O-metiltransferaz.

Melatoninin sirkadiyan ritmi canlı türlerinde farklılıklar göstermektedir. Farklılıklar hormonun gece pikinin meydana geldiği saatler ve süreleri ile ilgili olup, değişik ritim tipleri tespit edilmiştir (25). Melatonin sentezlenince hemen dolaşıma salınır. Geceleri sentezlenip salınmasına bağlı olarak kan düzeyleri de gece yüksektir. Melatonin hormonu lipofiliktir ve suda erime kat sayısı yüksektir. Bu sayede pinealosit membranından ve kapiller endotelinden rahatça geçerek kana hızla salınır; kandan kolayca vücut sıvılarına ve hücrelere geçerek sitoplazma ve çekirdek içine kolayca taşınabilir (26) .

Chen ve arkadaşları (27) yüksek kan melatonin düzeyinin, orantılı bir şekilde Ca^{+2} pompasının aktivitesini artırdığını ve gecenin geç vaktinde (sabahın erken vakti) nokturnal melatonin yükselmesinin hemen akabinde, kardiak ATP'az aktivitesinin en yüksek düzeyde olduğunu in vivo olarak göstermişlerdir. Ca^{+2} pompasının aktivitesinde görülen nokturnal artış pineal bezin cerrahi olarak çıkarılmasını takiben ortadan kalkmıştır. Melatonin tedavisini takiben kalp kası memranında Ca^{+2} pompasının aktivitesinde artış görülmektedir. Melatoninin Ca^{+2} pompası aktivitesine olan etkisinin, antioksidan özelliğinden kaynaklanabileceği de bildirilmiştir (28). Son zamanlardaki yapılan çalışmalarla, pineal melatoninin hipotalamik düzeyde etki göstererek hemeostatik mekanizmaları düzenlediği öne sürülmüştür (29, 30). Melatoninin beynin elektriksel aktivitesini dengeleyici etkisi vardır. Yapılan çalışmalarda melatonin verilmesi alfa beyin dalgalarının oluşumunu artırmış, uyku başlama süresini kısaltmış, total uyku periyodu esnasında uykudan uyanış sayısını azaltmış ve uyku verimini artırmıştır (29). Melatonin düzeyinin azalması, birçok dokuda guanilat siklaz aktivitesinin azalmasına neden olur. Bununla ilişkili olarak cGMP düzeyi azalır, ve feed-back mekanizmayla cAMP düzeyi ise artar (31).

Melatonin çok güçlü bir hidroksil radikali toplayıcısıdır. Serbest radikal toplayıcıları olan glutatyon ve mannitole göre melatonin , sırasıyla 5-14 kat daha etkilidir (32). Organizmada üretilen hidroksil radikali ; lipitler, proteinler ve DNA gibi moleküllerin hasarına neden olabilir (32). Melatonin çok reaktif olan hidroksil radikallerinin yıkıcı etkilerine karşı, primer nonenzimatik savunma mekanizmasını oluşturur (4, 10, 17). Tan ve arkadaşları melatoninin serbest radikal temizleyicisi olduğunu in vivo olarak göstermişlerdir. Bu bilim adamları sıçanlara safrol uygulamışlar ve bu hayvanlarda DNA hasarının melatoninin gece vakti yükselen fizyolojik düzeyiyle önlendiğini göstermişlerdir (32). Melatoninin yüksek difüzyon

yeteneği, radikal toplayıcı etkisi için çok önemlidir. Bu sayede bütün hücrelere girebilir. Serbest radikal bastırıcı etkisinde reseptöre ihtiyaç olmaz ve nukleusa bağlanarak DNA'yı, korur. Hidroksil radikali toplayıcı etkisi dışında melatonin, tekrar Glutatyon Peroksidaz'ı uyarır ve hidroperoksitleri suya çevirir (26, 32)

Damar endoteli, oksijen radikalleri ve lipit peroksitlerine çok duyarlıdır. Serbest radikallerin, vasküler düz kas proliferasyonunu artırdığı gösterilmiştir. Melatonin, kuvvetli antioksidan etkisiyle, arteriosklerozu önler ve kolesterol metabolizmasını düzenleyici rol oynar(33). Melatonin kolesterol sentezini inhibe eder ve LDL metabolizmasını etkileyerek LDL reseptör sayısını azaltır (15, 16). Alloxanla meydana getirilen diabet ve lipit peroksidasyonunda, melatonin uygulamasının, hem kan glukoz seviyelerini, hem de lipit peroksidasyon ürünlerinin oluşumunu azalttığı rapor edilmiştir (34)

Yaşlanma ve yaşlanmayla ilgili hastalıkların başlama zamanı, melatonin uygulamasıyla veya endojen melatonin oluşum ritminin korunmasıyla geciktirilebilir (35). Glutamat gibi eksitatör aminoasitlerin salınımı, endojen hidroksil radikali oluşumunu artırır. Santral eksitatör aminoasit reseptörlerinin aktivasyonu, melatonin sentezini baskılar ve bu da hidroksil radikali detoksifikasyonunun hızında düşmeye yol açar. Yaşlı insan ve hayvanlarda melatonin eksikliği vardır ve oksidatif strese daha yatkındırlar. Endojen eksitatör aminoasit antagonistlerin ve magnezyum gibi melatonin biyosentezi stimülatörlerinin etkilerini araştıran çalışmalar, erken yaşlanmayla ilgili hastalıklardaki dejenerasyonun önlenmesi için yeni tedavi yaklaşımları ortaya koymuşlardır (32) .

İnsan trombositleri melatonin içerirler ama serum melatonin seviyelerinde gözlenenin aksine trombosit melatonin seviyesi sirkadiyen bir ritm göstermez (36). Bununla birlikte trombosit serotonin alımı ve salgılanmasında sirkadiyen bir ritim olduğu bildirilmiştir (37).

Yapılan çalışmalarda yetersiz beslenme, deney hayvanlarında tümör büyümesini baskılamış, yetersiz beslenen hayvanlarda ve kör hayvanlarda tümör gelişmemiştir. Yetersiz beslenen böyle hayvanlarda melatonin düzeyleri artmış ve prolaktin düzeyleri düşmüştür. Pineal bezin çıkarılmasıyla yetersiz beslenme ve körlüğün tümör baskılayıcı etkileri tamamen engellenmiştir. Yalnız körlük değil,

aynı zamanda yetersiz beslenmede melatonin salgılanmasını artırarak dolaşımda büyüme hormonu, prolaktin, LH ve FSH salgılanmasını baskılar. (38)

Melatonin, fizyolojik etkilerini, hem reseptör aracılığı ile hem de reseptörden bağımsız olarak gösterir. Melatoninin, yüksek oranda toksik serbest radikalleri süpürme yeteneği, reseptör- bağımsız fonksiyonudur(39) Melatonin; reseptörden bağımsız etkilerinde kalmodulin kullanır ve kalsiyuma bağlı hücre içi olaylar değişerek kalmodulin bağımlı nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesi azalır(40) . Gece melatonin düzeylerinin yükselmesiyle nöral NOS aktivitesinin azalması arasında anlamlı bir korelasyon bulunmuştur (35, 40)

Melatoninin reseptörleri, hücrelerin plazma membranlarında yerleşmiştir(41) Başlangıçta, melatonin için nükleer bağlanma bölgeleri, hepatik hücrelerin çekirdeklerinde tanımlanmasına rağmen, sonraki araştırmalar, onların santral sinir sistemi ve periferal yapıların her ikisinde de yaygın olduklarını göstermiştir (39) Klonlanan 3 tip reseptöründen MT_1 ve MT_2 insan ve diğer memelilerde bulunur. Bunlar G proteine bağlı reseptör ailesine aittir. MT_1 alt tipi hipofiz bezinin pars tuberalisinde ve SKN'da bulunur. MT_2 alt tipi ise başlıca retinada vardır . Periferik immun hücrelerde, melatonine ait membran reseptörlerinin varlığı da saptanmıştır. Bunlar ikinci haberci olarak cAMP kullanır (41)

2.1.3.2. Suprakiyazmatik Nukleus

Suprakiazmatik nukleus (SKN), hipotalamusda ana çekirdeklerin altında, supraoptik nukleusun önünde ve optik kiazmanın üzerinde yer alır. 3. Ventriküle komşudur. SKN çekirdekleri beyin hücreleri arasında en küçük olanlarıdır.

SKN Retinadaki özelleşmiş ganglion hücrelerinden aldığı, optik sinirle "Retinohipotalamik yol" ile kendisine ulaşan ışık bilgisini değerlendirir. Ve her bir SKN, esas olarak hipotalamus ve yakınındaki yapıları uyaran aksonlar çıkarır. Bu aksonların bazıları Diensefalon'un diğer kısımlarına projekte olurken, diğerleri ortabeyine yani mesensefalona gider. Ve en önemli ve en son olarak SKN, indirekt yolla diğer bir önemli yapı olan Epifiz bezine uyarılar gönderir. Epifiz bezi siklik olarak Melatonin sentezler, ve bu sentezin zamanlaması SKN'dan gelen bu sinyallerle düzenlenir.

SKN aktivitesi diğer hipotalamus çekirdeği olan Paraventriküler çekirdek (PVN) tarafından düzenlenir. PVN'dan çıkan aksonlar Spinal kordun yan

boynuzunda yer alan Preganglionik Sempatik nöronlara uzanır. Bu nöronlar ise , sonuç aksonları Epifiz bezinde sonlanan superior servikal ganglionun uyarılabilirliğini düzenlerler.

2.1.3.3. Biyolojik Ritmi Düzenleyen Yapılarla Hipokampüsün İlişkisi

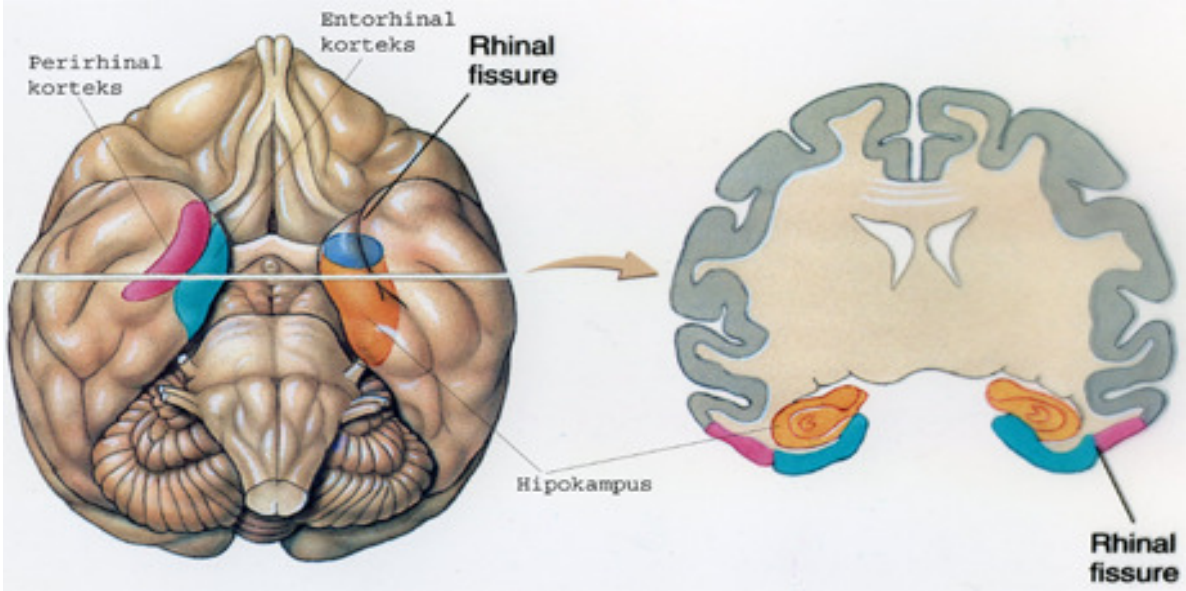
Melatonin'in sirkadiyen ritimle ilgili etkilerine MT1 reseptörleri aracılık etmektedir. MT1 reseptörleri serebellum, hipokampüs dahil olmak üzere nöronal yerleşim göstermektedir (42) MT1 reseptörleri memeli retinasında kalsiyum bağımlı dopamin salıverilmesi ve retinal fotopigment disklerinin fagositozu gibi ışığa bağımlı olaylarda rol oynar.

2.2. HİPOKAMPUS

Hemen her türlü duyusal uyarı (görme, işitme, koku, dokunma v.s.) küçük bir alan dahi olsa, hipokampüsü aktive eder. Buna karsilik hipokampüs, özellikle en büyük çıkış yolu olan forniks yoluyla ön talamus, hipotalamus ve limbik sistemin diger bölgelerine sinyaller gönderir. Böylece, hareketlerin davranış biçimine dönüşmesinden önce, davranışların şekillenmesine katkıda bulunmuş olur. Böylece hipokampüs, gelen duyusal sinyalleri farklı amaçlar için uygun davranış reaksiyonlarının içerisinden geçiren ek bir kanal rolü oynar (43).

2.2.1 Hipokampal Formasyon: Öğrenme/Bellek işlevinin anahtar yapısı

Hipokampus mediyal temporal lobda (Şekil 3) yer alan limbik sistem parçasıdır ve uzun erimli bellek ve uzamsal navigasyonda rol alır. Hipokampus ve komşu serebral korteksin tanımlanmasında genel bir uyum yoksa da hipokampal formasyonun dentat girus, CA1, CA2 ve CA3 alanları (ve hilus denen dentat girus parçası olarak düşünülen CA4. Tümüne Cornu Ammonis, Ammon boynuzu denir) ile subikular kompleksten (subikulum, pre- ve parasubikulum) ve entorinal korteksten oluşur. CA1, CA2 ve CA3 esas hipokampusu oluşturur. Bu yapılar, Şekil 3'de görülmeketedir. Anatomik olarak temporal korteksin medial bölgesinin lateral ventrikülün alt boynuzunun ventral yüzeyini oluşturmak üzere yukarı ve içeri doğru kıvrılmış ve uzanmış, 5-8 cm uzunluğunda gri cevher kitlesidir. Denizatına benzediği için bu isimle anılır. Hipokampüsün bir ucu amigdaloid çekirdeklerle bitişirken diğer kenarlarından biri temporal lobun ventromedial korteksini oluşturan parahipokampal girusla kaynaşır (44).



Şekil 3. Mediyal temporal lopda entorinal korteks ve hipokampusun alttan ve vertikal kesitte görünümü.

Esas hipokampus, aşağıdaki tabakalardan oluşur (Şekil 4).

1.Bazal seviye: granüler hücreler bulunur.

a. Alveus (alv): en yüzeyel tabakadır. Piramidal hücrelerin kommisural liflerini (karşı hipokampal lifler) içerir.

b.Stratum oriens (so): İnhibitör sepet hücreleri ve piramidal nöronların (karşı hipokampus ve rekürent kollateraller ile innerve edilir) bazal dentritlerini içerir.

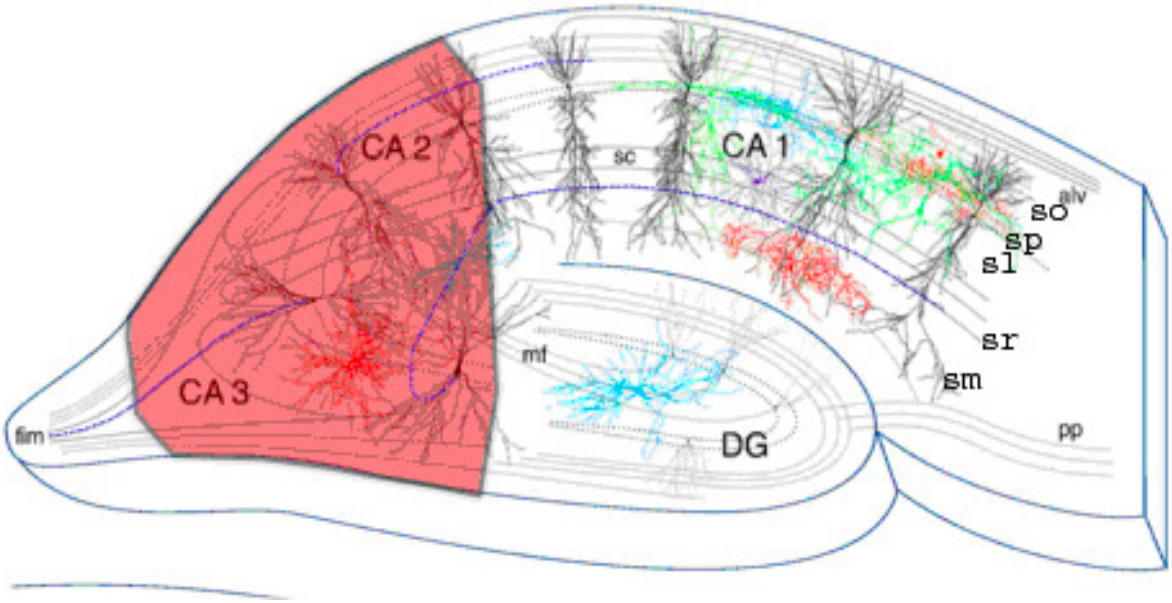
c. Stratum pramidale (sp): Piramidal nöronların somalarını bulundurur. Yosunsu lifler (mf) de bu tabakada sinaps yaparlar

2.Apikal seviye: Çoğunlukla asellülerdir.

a. Stratum lucidum: MF'ler bu tabakada transver eksende uzanır ve sonlanırlar.

b.Stratum radiatum: C3-1 yolunun Schaffer kollaterallerini (SC) bulundurur.

3.Stratum lacunozum- molekülare: Burası da bir miktar Schaffer kollaterali bulundurur. Ayrıca CA1 bölgesinde burada entorinal kortekse ait perforan lifler bulunur ve piramidal hücrelerin apikal dentritleri ile sinaps yaparlar (44).



Şekil 4. Esas hipokampusun tabakaları.

Şekilhttp://neuralnetoff.umn.edu/mediawiki/index.php/Hippocampal_Anatomy bağlantısından alınmıştır.

CA bölgelerinin esas nöronu piramidal nörondur. Bu nöronun soması, stratum piramidalede yerleşir ve dentritleri bazal tabakalara (St. oriens ve alveolus), akson ve dalanmaları ise apikal tabakalara (St. Ratiatum, lakunozumve molekülare) yönlenir. Akson dalları, st. molekülarede entorhinal korteksten (perforant path); st. lakunosumda CA3'den gelen (Schaffer kollateral) ve st. radiatumda karşı hipokampustan gelen kommissural aksonlar ve dentat girustan gelen aksonlar (yosunsu lifler) ile akso-aksonal sinapslar yapar. Soması sepet hücreler ile ve dentritleri ise St. orienste kısa akson hücreleri ile bağlantı gerçekleştirir. Tüm bu sinapslar Şekil 5'de gösterilmiştir (45).

Hipokampal formasyonun ikinci yapısı dentat girustur (DG). DG'un esas hücreleri olan granüler hücrelerin somaları ortadaki granüler tabakada otururlar. Bu hücrelerin aksonları yosunsu lif denen uzantıları oluşturur ve CA3 bölgesindeki piramidal hücrelerin aksonlarının bazalinde, St. radiatumda sonlanırlar. Granül tabakanın diğer önemli bileşeni dentat sepet hücrelerdir, bunlar granül hücre gövdelerinin sonlanan GABAerjik lifleri verirler. Granüler tabakanın üstünde moleküler tabaka yer alır ve burada entorinal korteksten gelen perforan yol aksonları granüler hücrelerle sinaps yapar. En altta ise polimorfik tabaka vardır ve granüler hücrelerle ilişkili lokal bağlantıları sağlar. (45)

Piramidal ve granüler hüceler glutamat ve hipokampusun ara nöronları niteliğinde olan hücreler ise GABA, CCK, VIP, SP, CRF, Somatostatin, NPY, enkephalin, dynorphin, acetylcholine salgılarlar. CA2 hipokampusun çok küçük bir kısmını oluştursa da bu küçük bölge epilepsi gibi büyük miktarda hücre hasarı oluşturan durumlara nadiren dirençlidir

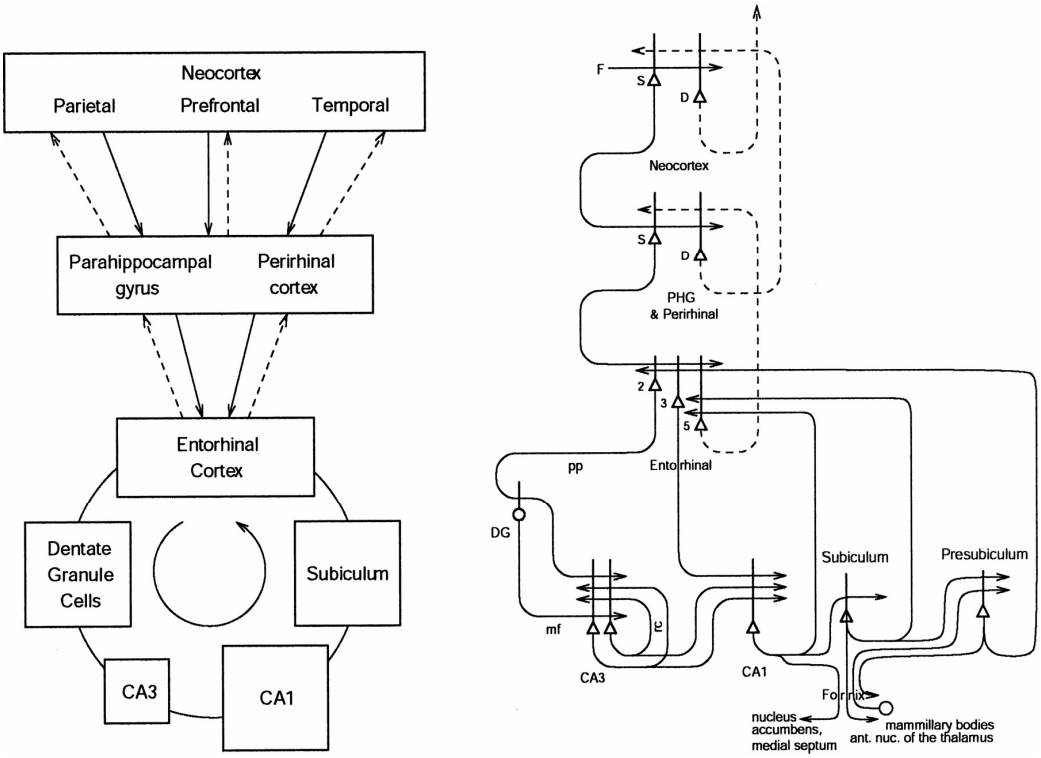
Hipokampal formasyonun üçüncü elemanı subikular komplekstir. Subikulum, presubikulum ve parasubikulumdan oluşur. Subikulum, unkusun büyük kısmını oluşturur. Üç tabakalı kortekse sahiptir: moleküler tabakası piramidal hücrelerin apikal denteritlerini; piramidal hücre tabakası aynı hücrelerin somalarını içerir ve en altta bir polimorfik tabaka vardır. Subikulumun rostro-kaudal bölgelerinde 4ncü ve 5nci tabaka da vardır. Pre- ve parasubikulum, LII'de piramidal hücreleri bulunduran komşu korteks alanlarıdır. Subikulum, esas hipokampusun CA1 alanını entorinal kortekse bağlar (46).

Entorinal korteks (EC), hipokampal formasyonun en rostralinde yer alan ve en iyi evrimleşmiş yapısıdır. Mediyal sınırını ise pre- ve parasubikulum yapar. Parahipokampal girusun (peririnal korteksle beraber) ön kısmını meydana getirir. Altı tabakalı korteks yapısına sahiptir. LI, asellüler veya pleksiformdur. LII, EC'in ayırıcı özelliği olan ve beynin yüzeyine doğru küçük kabartılar oluşturan büyük piramidal hücre adalarından ve yıldız hücrelerden oluşur. Ayrıca neokorteksten farklı olarak internal granüler tabaka yerine lamina dissekans denen bir lif tabakası vardır .(47)

2.2.2. Hipokampusun bağlantıları: Üç sinapslı tek yönlü nöral devre.

Hipokampal formasyonun elemanları arasındaki özel bir nöral devre (Papez devresi), yapının işlevi açısından önemlidir. Hipokampus içi bilgi işlemeyi sağlayan bu 3-sinapslı devre, entorinal korteksten dentat girusa (1) gelen perforan yol aksonları ile başlar. 2nci basamak, dentat girus granüler hücre aksonlarının oluşturduğu yosunsu liflerin CA3 bölgesi piramidal hücrelerinde sonlanmasıdır. Son olarak CA3 priamidal aksonlar Schaffer kollaterallerini oluşturarak CA1 bölgesine ulaşır. Bu trisinaptik bağlantı tamamen eksitatör ve tek yönlüdür. Hipokampal intrinsic devre tek yönlüdür. Yani ne CA3 piramidal nöronu, dentat granül hücrelerine ne de CA1 piramidal hücreleri CA3 hücrelerine geri projekte olurlar. Daha sonra devre, CA1 aksonlarının subikuluma (singulum bandı ve fimbria/forniks)

ve buradaki nöronların da entorinal kortekse projekte olması ile tamamlanır. Böylece Entorinal korteksten başlayıp, intrahipokampal eksitatör sinapslar yaptıktan sonra yine entorinal kortekste sonlanan bir kapalı döngü ağı oluşur (48). Bu ağ şematik olarak Şekil 5'de çizilmiştir. Aynı şekil, parahipokampal ve peririnal korteksler aracılığı ile neokorteksin paryetal, prefrontal ve temporal alanlarının, anlatılan tek yönlü kapalı döngüyü (Papez devresi) kontrol edebildiğini ve bu döngünün çıktısı hakkında bilgi alabildiğini de göstermektedir. Bu kontroller, hipokampal döngünün *kapısı* niteliğindeki entorhinal korteks üzerinden olur. Entorinal korteks ve subikulum, direk olarak CA1 nöronlarında da sonlanır (47)



Şekil 5. Hipokampal formasyon ve Korteks arasındaki bağlantı yollarının şematik görünümü.

Resim, *http://learnmem.cshlp.org/content/14/11/714/F1.expansion* adresinden alınmıştır. D: Derin piramidal hücreler; DG: dentat granül hücreler; F: Kortikal alanlardan asosiyasyon korteks alanlarına girdi; mf: yosunsu lifler; PHG parahipokampal girus ve peririnal korteks; pp: perforan yol; rc CA3 pyramidal hücrelerin rekürent kollateralleri; s: yüzeyel piramidal hücreler; 2: entorinal korteksin ikinci tabakasındaki piramidal hücreler; 3: Entorinal korteksin 3ncü tabakasındaki piramidal hücreler.

Hipokampüsün dış bağlantılarını genellikle Papez devresi ifade eder. Klasik Papez devresi sırasıyla; Hipokampüs, fornix, Corpus mamillare, tractus mamillothalamicus, nuclei thalamicus anterior, gyrus cinguli, gyrus parahipocampalis ve hipokampüse geri bağlantılar yapan nöronları kapsar. Papez devresi içinde uyarıların, bilardo toplarının çarpması gibi art arda birbirlerini izlemeleri yaşadığımız bir duygunun giderek şiddetlenmesine ve iz bırakmasına neden olur. Duygusal tepkilerin olabilmesi için bu devrenin sağlam olması gerekir. Her iki hipokampüs, komissural yollarla bağlantı içindedir. Ayrıca dejenerasyon metoduyla yapılan çalışmalarda, hipokampüsten neokortekse direkt yollar saptanmıştır (49).

2.2.3.Hipokampüsün Bellek İşlevindeki Rolü

Hipokampus öğrenme ve bellek süreçlerinde önemli ve kilit bir rol oynar ve bilginin bellekte pekistirilmesini saglar. Merkezi sinir sisteminin yüksek seviyeli işlevlerinden olan *bellek,* deneyimlerin sonucunda organizmanın geliştirdiği / değiştirdiği davranışın (öğrenme) bir süre için (anlık, kısa veya uzun erimli) daha kolayca ve daha mükemmel bir şekilde tekrarlanabilmesi olarak tanımlanabilir. Kandel' e göre bellek dış dünya hakkındaki bilginin kodlandığı, saklandığı ve geri çağırıldığı sürece denir. Bir başka deyişle bellek, öğrenme sürecinin bir fazıdır.

Epilepsi tedavisi amaciyla hipokampüsleri çikarilan hastalar, önceden öğrenilmiş anıları tatminkar bir şekilde hatırlayabilir ancak sözel sembolizme dayanan yeni bilgi edinemezler (50, 51). Bu tip hastalar saniyeler ile birkaç dakika arasında değişen kısa süreli bellek oluşturabilirler ancak yeni hatıraları veya olayları uzun süreli belleğe aktaramazlar. Bu durum "anterograd amnezi" olarak bilinir. Hipokampusun harabiyeti eskiden öğrenilmiş bilgilerin yitirilmesine de neden olur. Fakat bu, uzak geçmis anılardan ziyade daha yakın geçmiş için geçerlidir. Bu fenomen "retrograd amnezi" olarak bilinir. Hipokampus olmadan verbal ya da uzun süreli anıların kalıcı olması imkansızdır (50, 51)

Öğrenme sonucu oluşan motor yanıt, ya uyaranla ilişkilendirmeden (non-assosiyatif) ya da ilişkilendirilerek (assosiyatif) oluşur. Nöral ağlar vasıtasıyla yeni bir bilginin kodlanması veya ağın yeni uyaranlar ile modifiye edilmesi öğrenme; kodalanan ya da modifiye edilen bilginin geri çağırılması bellek olarak tanımlanabilir. Duyusal bellek, algıladıktan sonraki ilk 200-500 ms süresince bilginin

geri çağrılabilme yeteneğini ifade eder. Depolama kapasitesi sınırlıdır. Kısa erimli bellek, algıladıktan sonraki bir dakikaya kadar sürer. Bunun da kapasitesi sınırlıdır. Uzun erimli bellek ise bilginin bir kez depolandığında, yıllarca, hatta yaşam hatırlanmasını tanımlar. Kapasitesi diğer bellek türlerine göre çok daha yüksektir, hatta sonsuzdur. Duyusal bellekteki bilginin dikkat süreçleri ile kısa süreli belleğe ve onun da uzun süreli belleğe aktarılmasına bilginin konsolide edilmesi denir. Uzun erimli bellek, ya bilinçli geri-çağırmayı (*declarative*, açıklamalı veya *explicit*, aleni bellek) ya da zımmen öğrenmeyi (*procedural*, usule ait veya *implicit*, zımmi bellek) gerektirir. Deklaratif bellek (kemirgenlerde uzamsal bellek) esas olarak hipokampusun işlevidir ve semantik (anlamsal), epizodik (olaylara dayanan), otobiyografik, Uzamsal / zamansal ve görsel bellek gibi alt birimlere de ayrılabilir. Hipokampusun beyin korteksinin kalanı ile gösterdiği iki yönlü yakın ilişki, ona bellek işlevleri için atfedilen rolü ile uyumludur. Yukarıda anlatılan intrahipokampal devre, kısa erimli belleğin altında yatan süreçleri gerçekleştirmek için ideal bir pozisyondadır. Beyin sapından ve bazal ön beyinden gelen çıkan kontrol yolları, davranışın süregiden sonuçlarını izlerler ve pekiştirme süreçleri ile ilişkili olabilirler. Prosedüral bellek ise başlıca motor becerilerin öğrenilmesi ile ilgilidir, serebellum ve bazal gangliyonların işlevidir. Ayrıca bellek, hatırlanacak içeriğin geçmişe (retrospektif bellek) veya geleceğe (prospektif) ait olup olmadığına göre de sınıflanabilir (52).

2.3. BELLEĞİN ELEKTROFİZYOLOJİSİ

2.3.1. Sinaptik Plastisite

Öğrenme süreçlerini açıklayabilecek nöral devrelerle ilgili ilk görüşlerden biri "tekrarlayan girişli devre" modelidir. Böyle bir devrede bir nöron diğerini uyarır; bu nöron da, direk veya dolaylı olarak aynı nöronu uyarır. Böyle bir devre, bir kez aktive olduğunda sinyal sürekli olarak devreyi dolanacaktır. Eğer bu devrenin belleğin temel devresi olduğu düşünülürse, devrede dolaşan sinyalin kesilmesinin belleği bozması beklenir ancak, devreye uygulanan elektroşoklar sinyal dolaşmasını bozsa bile bellek bozulmaz. Donald Hebb 'in teorisi (53) bu sorunu açıklar. Hebb teorsine göre bir A nöronu B nöronunu tekrarlayan bir şekilde uyardığı zaman hücrelerden birinde veya her ikisinde bazı metabolik veya morfolojik değişiklikler

olur ve bu değişiklikler A-B hücreleri arasındaki sinapsın etkinliğini artırır. Bellek hakkındaki bugün geçerli kabul edilen düşünce, bu kuralın uzantısıdır.

Santral sinir sistemi içten ve dıştan gelen uyarılara adapte olabilme özelliğine sahiptir. Bu adaptasyon ile birçok önemli santral fonksiyonların yürütülebilmesi veya yetersiz adaptasyon sonucu bazı hastalıkların ortaya çıkması söz konusudur. Nöroplastisite, kısaca çeşitli iç ve dış uyaranlara bağlı olarak beyindeki nöronların ve bunların oluşturduğu sinapsların yapısal özellikleri ve işlevlerindeki değişiklikler olarak tanımlanabilir. Sinir sisteminin adaptasyonunda sinaptik etkinliğin değişebilmesi rol oynar. Çevresel değişikliklere uyum ancak "öğrenme" yolu ile sağlanabilir. Öğrenme de sinaptik plastisite yolu ile gerçekleşir. Öğrenme iç ve dış uyarılara karşı santral sinir sisteminin verdiği en güçlü ve önemli adaptif yanıttır.

Sinaptik plastisite fonksiyonel ve morfolojik değişiklikler ile birliktedir. Bu değişiklikler pre ve post sinaptik nörunu ilgilendirir. Bu değişiklikler arasında dendritlerde dallanmanın artması/azalması, mevcut nöronların sinaps sonrası potansiyellerindeki değişiklikler sayılabilir (54). Nöroplastisite ile nöronların dendritleri gibi belli bir bölümünde veya bütününde bazı fiziksel değişiklikler ortaya çıkabilir. Ayrıca yeni nöron oluşumu, nöronların kronik şiddetli stres gibi olumsuz etkenlere karşı dirençlerinde değişiklikler ve sinaptik etkinlikte artış veya azalmalar ortaya çıkabilir.

2.3.2. Postsinaptik potansiyeller:

Lokal alan potansiyelleri (LAP), lokal nöron gruplarından yeteri kadar uzaklığa yerleştirilmiş düşük empedanslı ekstrasellüler mikroelektrotlar kullanılarak kayıtlanan sinyallere denir. Düşük impedans ve elektrodun pozisyonu sinyale katkı sağlayan çok sayıda nöronun aktivitesinin kaydını sağlar. Filtrelenmemiş sinyal, elektrot ucundan 50-350 μm uzaklıktaki hücrelerden gelen aksiyon potansiyellerinin

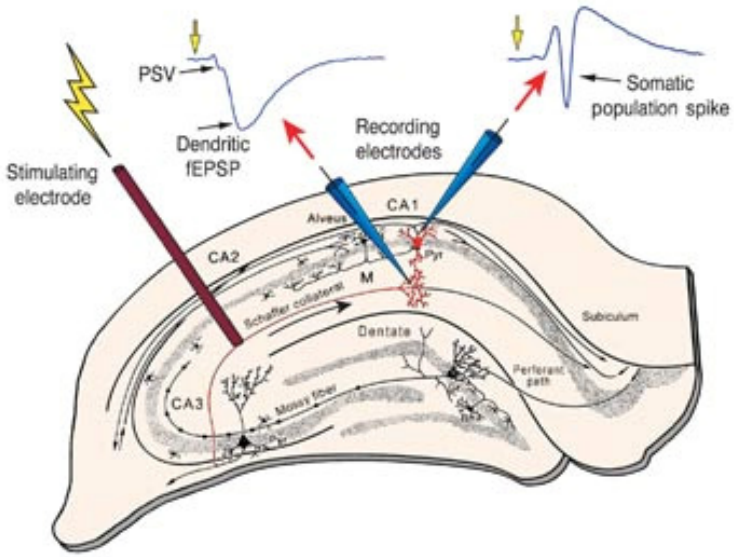
(55) ve elektrot ucundan 0.5-3 mm mesafedeki daha yavaş iyonik olayların (56))toplamını yansıtır. Alçak geçirgen filtreler (cut off: 300 Hz) sinyalden spike komponentini uzaklaştırır ve düşük frekanslı sinyali (LAP) geçirir.

Voltmetre (A/D çevireçlerle beraber) mikroelektrot ile referans elektrot arasındaki elektriksel potansiyel farkını ölçerler. Referans elektrodun bir ucu voltmetreye (voltmetrenin diğer ucuna mikroelektrot) bağlanır ve diğer ucu ekstrasellüler ortamla eş bileşime sahip ve onunla devam eden bir ortama

yerleştirilir. Böyle bir sistem ile basit bir sıvıda bir denge değeri etrafında hafif dalgalanmalar yapan bir potansiyel farkı kaydedilir. Bu dalgalanmalara termal gürültü denir ve ortamdaki iyonların ve elektrottaki elektronların rastgele hareketlerinden dolayıdır. Ancak mikroelektroda yakın olan nöronlarda iyon kanallarının açılması ekstrasellüler ortamdan hücre içine yönelen (veya tersi yönde) iyon akımlarının oluşması, lokal ekstrasellüler ortam ile kayıdedici elektrodun içi arasında var olan potansiyel farkında daha büyük değişikliklere neden olur. Kaydedilen potansiyel tüm lokal akımların toplamının neden olduğu potansiyeli yansıtır.

LAP'ın, gözlemlenen alanın çıktısını yansıtan spike verisinin tersine, bu alan giren eş-zamanlı girdiyi yansıttığına inanılır. LAP'nde potansiyel farkındaki hızlı dalgalanmalar filterelenir ve sadece yavaş dalgalanmalar kalır. Hızlı dalgalanmalara aksiyon potansiyelinin içe veya dışa yönlenen kısa akımları neden olur. Aksiyon potansiyelleri LAP'da yer almaz. Bu nedenle LAP dokudaki daha süreli akımların, tipik olarak da somato-dentritik akımların sonucudur. En belirgin yavaş akım postsinaptik potansiyeldir (PSP). Eksitatör ve inhibitör PSP'ler LAP'nin en önemli bileşenleridir. (57, 58)

LAP değişimlerini yaratan hücrelerin geometrik yapısı önemlidir. Örneğin piramidal hücrelerde dentritler bir yöne , soma diğer bir yöne bakar. Bu geometride, dentritler eş zamanlı olarak aktive olduğunda güçlü bir dipol meydana gelir. Dentritlerin daha radiyal olarak yerleştiği hücrelerde her bir dentritin soma ile arasında olan potansiyel farkı zıt yöndeki dentritler tarafından nötrlenme eğilimindedir. Bunun sonucu olarak da tüm dentritler eş zamanlı olarak aktive olduklarında çok daha küçük bir potansiyel farkı oluşur. Böylece LAP'daki değişiklikler eş zamanlı dentritik olayları yansıtır.



Şekil 6. Hipokampüsde, hücredışı UEG kaydının şematik gösterimi.

2.3.3 Sinaptik Plastisitenin Kısa ve Uzun Erimli Elektrofizyolojik Göstergeleri

Sinaptik plastisite, elektrofizyolojik olarak sinaptik etkinliğin gücünün, uyarı şiddeti ve koşullarında değişme olmaksızın bir süreliğine öncesinden daha farklı büyüklükte kaydedilmesidir. Uyarı Çifti Kolaylaşması (paired pulse fascilation, UÇK) ve Uzun Erimli Güçlenme (long-term potentiation, UEG) bu değişikliklerin kısa ve uzun erimli olduğu deneysel çalışma modelleridir.

2.3.3.1. Uyarı Çifti Kolaylaşması

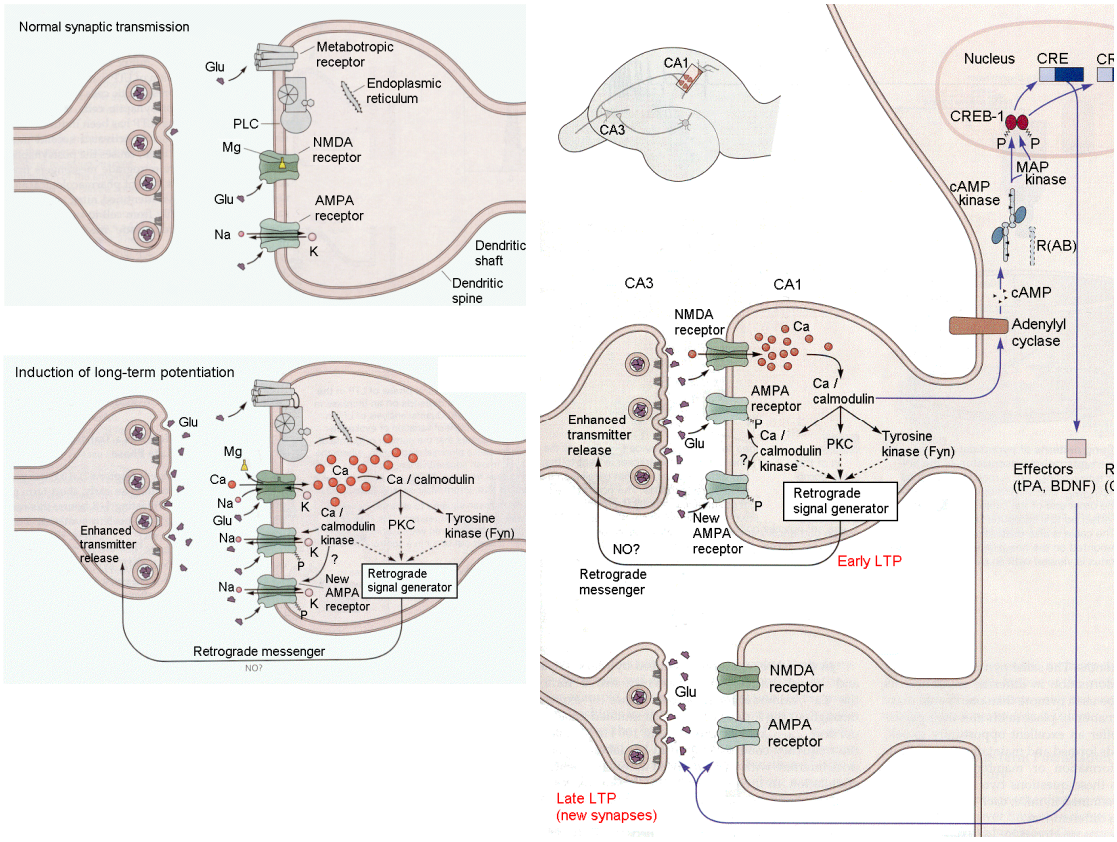
Bir sinapsda bir uyarı çiftinin ikinci impulsu tarafından oluşturulan post-sinaptik potansiyelde artışına "Uyarı Çifti Kolaylaşması" denir. Uyarı çifti kolaylaşması sinaptik plastisitenin iyi bilinen kısa süreli bir formudur. Kolaylaşma yaklaşık 100 msn'lik bir zaman diliminde meydana gelir. Ardışık uygulanan uyarılar EPSP eğiminde ve PS genliğinde artışlar ortaya çıkarabilir ve bu artış birincisinin 5 katı kadar büyüklüğe ulaşabilir. Uyarı çiftinin birbirinden 200 ms veya daha fazla aralarla verilmesi halinde ise ikinciye verilen yanıt azalır. İlk kez 1968 yılında Katz ve Miledi tarafından gösterilen kolaylaşma fenomeninin birinci uyarandan sonra presinaptik terminalinde biriken kalsiyum iyonunun etkisiyle oluştuğu idda edilmektedir (59, 60).

2.3.3.2 Uzun Erimli Güçlenme

İlk kez 1973 yılında, UEG fenomeni tavşan hipokampunda deklaratif belleğin depolanmasını açıklamak üzere tanımlanmıştır (61). Aynı fenomen, hafızanın depolanmasıyla ilişkili diğer birçok yerde de gözlenmiştir (62). Hipokampüsün afferent liflerine yüksek frekanslı stimulus zinciri uygulanmasıyla, hedef nörondaki EPSP amplitüdü artar. Bu artış günler ve haftalar boyunca sürer ve beraberinde birçok afferent aksonun aktivasyonunu da sağlar. Örneğin CA3 nöronlarının Schaffer kollateralleri yüksek frekanslı bir dizi ile uyarıldığında, CA1 nöronlarının tek bir uyarana karşı oluşan EPSP yanıtının genliği artar. Birçok bilim adamı bu fenomenin belleğin fizyolojik temeli olduğunu düşünmektedir.

UEG'nin oluşumunda glutamatın çok özellikli bir yeri vardır. Post-sinaptik membranlarda bulunan Glutamat reseptörleri, ligand kapılı iyon kanalları olan AMPA ve NMDA reseptörleridir. AMPA reseptörleri eksitatör postsinaptik reseptörler gibi işlev görür. Glutamat bağlanınca kanal hem sodyuma hem de potasyuma geçirgen hale gelir. Fakat daha çok sodyum girişi postsinaptik hücrede depolarize edici bir EPSP oluşturur. Tersine NMDA-reseptör kanalları kalsiyum girişine aracılık eder, fakat açılması için sadece glutamatın bağlanmasından daha fazlası gerekir. Membranın voltajı negatif dinlenim potansiyeline yakın olduğu zaman bir magnezyum iyonu NMDA reseptör kanalını bloke eder ve magnezyumun bu blokajının ortadan kalkması için membran AMPA kanallarından geçen akımla önemli derecede depolarize olmak zorundadır. Bu da bize, uzun süreli pekiştirme mekanizmasının tamamlanması için neden yüksek frekanslı presinaptik aksiyon potansiyellerinin gerekli olduğunu açıklar: Düşük frekanslarda, magnezyum iyonunu bloke ettiği kanaldan kaldırmak için gerekli olan 20-30 Mv'luk depolarizasyonun sağlanması için, AMPA-reseptör EPSP'lerinin zamansal birikimleri yetersiz kalır ve NMDA reseptörleri açılamaz. Depolarizasyon yeterli olduğu zamansa NMDA reseptörleri açılarak postsinaptik hcreye kalsiyumun girişini sağlar. Sonra kalsiyum postsinaptik hücrede, farklı iki protein kinazın sürekli aktive olduğu, ikincil haberci kaskadını aktive eder ve de postsinaptik nöronun glutamata duyarlılığını artırır. Bu ikinci habercil sistemi ayrıca, henüz tanımlanmamış retrograd haberci ile presinaptik glutamat salınımını uzun süreli aktive eder. Bu presinaptik hücre boyunca sonradan gelen her aksiyon potansiyeli postsinaptik membranın daha fazla depolarize olmasına neden olacaktır. Böylece sinaptik ateşlemenin belirli bir şekilde tekrar tekrar ve şiddetle aktive olması kimyasal ve yapısal değişikliklere yol açar. AMPA ve NMDA

reseptörlerinin birlikte gösterdikleri aktivite, UEG ile yakından ilişkilidir. Şekil 7, bir sinapsın UEG oluşmadan ve oluştuktan sonraki durumlarını şematik olarak özetlemektedir. LTP'nin geç fazında ise, kalsiyum hücreye girer ve bu kalmoduline bağlanır, ve bu bağlanma adenilat siklazın aktivasyonuyla ve cAMP oluşumuyla sonuçlanır. Daha sonra cAMP, cAMP Kinaz ve MAP Kinaz'la fosforillenir ve nükleusa gidip CRE bölgesini uyarır. Bunun sonucu protein sentezi ve yeni sinaps formasyonu gibi yapısal değişiklikleri içeren bir süreç başlar. Yeni sinaps formasyonu sinaptik güçlenmeyi uzun süreli kılar (63).



Şekil 7. Normal glutamerjik sinaps ve bu sinapsta oluşturulan UEG yanıtının indüksiyonu ve geç döneminde oluşan değişiklikler.

Resim http://www.unmc.edu/physiology/Mann/mann19.html *adlı web sitesinden alınmışır.* PLC : Fosfolipaz C, PKC : Protein kinaz C, BDNF: Beyin kaynaklı nörotropik faktör.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. DENEY HAYVANLARI

Bu çalışma için 16 adet 150-180 günlük yetişkin erkek Wistar Albino sıçan kullanıldı. Bütün sıçanlar Erciyes Üniversitesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde üretildi. Sıçanların ağırlıkları 184-246 g arasında olup, musluk suyu ve purina purina yemi ile kısıtlama yapılmaksızın beslendi. Sıçanlar gündüz (GN) grubu ve gece (GC) grubu olmak üzere rastgele 2 gruba ayrıldı (n=8 her grup için). Çalışmada gereksiz deney hayvanı kullanmamak ve deney hayvanlarına acı vermemek için özen gösterildi. Bu deney, Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan 05.12.2006 tarih ve 01/461 sayılı onay alındıktan sonra gerçekleştirildi .

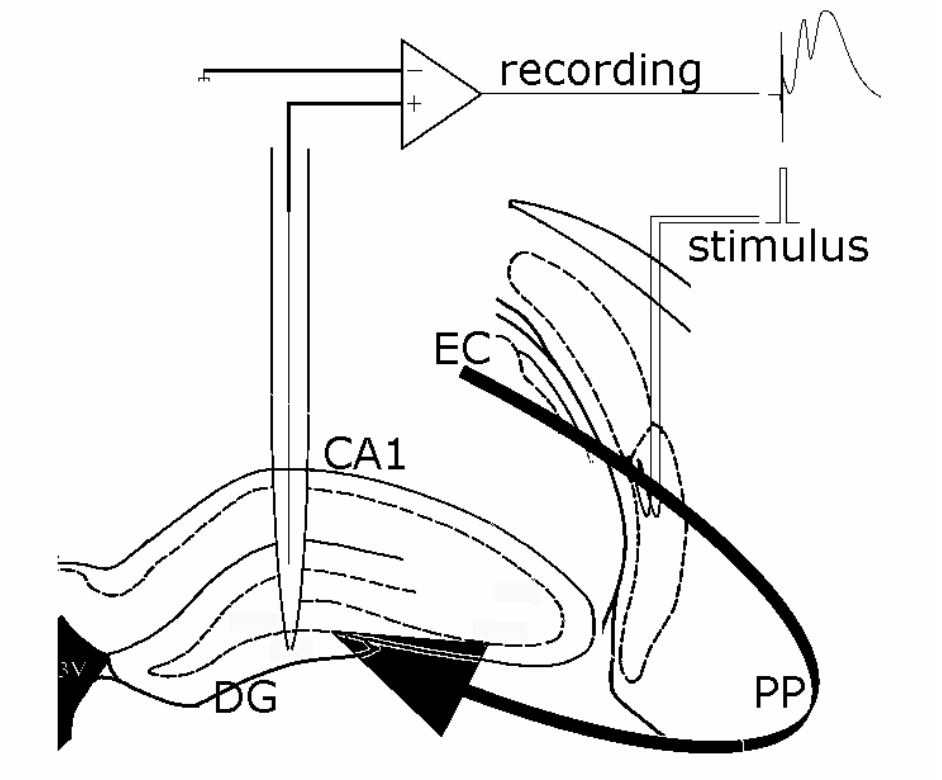
3.2. AYDINLIK KARANLIK DÖNGÜSÜ

Çalışmanın başından sonuna kadar sıçanlar odasının ısısı (23 ± 1 °C) ve oda ışığı ayarlanabilen özel odalarda ve ikişerli olarak ayrı kafeslerde tutuldular. Gündüz grubundaki ratlar saat 08.00-20.00 arasında oda ışığına, takip eden 12 saatte karanlığa maruz bırakıldı. Gece grubundaki ratlar ise saat 08.00-20.00 arasında karanlıkta bırakıldı, takip eden 12 saatte aydınlıkta kalmaları sağlandı. Elektrofizyolojik kayıtların her gün bir deney hayvanında yapılabilmesi için çalışmanın ilk 8 gününde gündüz grubundaki ratlar hergün birer tane olmak üzere kafeslerine konuldu. Dokuzuncu günden itibaren gece grubu, hergün 1 tane olmak

kaydıyla kendi odalarındaki kafeslerine konuldu. Otuzuncu gününden itibaren hergün bir adet sıçan, Fizyoloji anabilim dalına getirildi ve elektrofizyolojik kayıtları alındı. Bu sayede her sıçanın, her iki grupta da aydınlık / karanlık döngüsünde 30 gün kalması sağlandı.

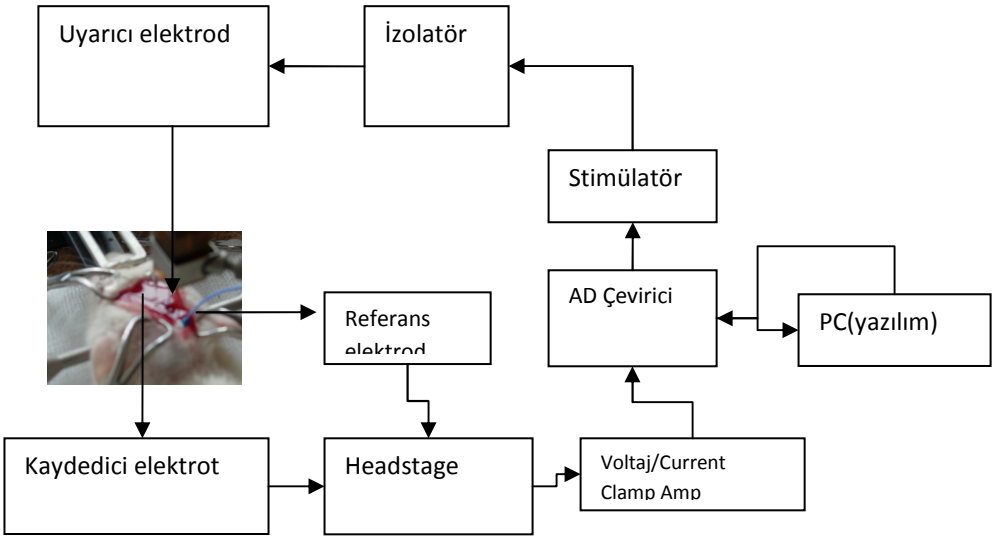
3.3. UYARI VE KAYIT

Sıçanlara üretan ile anestezi (1.5 g/kg, ip) yapıldı ve stereotaksik çerçeveye kondu (Kopf Instruments, Tujunga, CA, ABD). Sağ medial perforan yolunu (bregmadan mm olarak AP: -8,0, ML: 4,2, DV:2,3) uyarmak için bipolar bir tungsten elektrot (paslanmaz çelik, teflon kaplı,127 μm, ucu dışındaki kısımlar izole edilmiş) kullanıldı. Uyarı elektrodu stimülatöre (SEN 3201 Electronic Stimulator, Nihon Kohden, Tokyo, Japonya) bağlı olarak izolatörün (SS-201J Isolator, Nihon Kohden, Tokyo, Japonya) çıkışına bağlandı. 3M NaCl (uç direnci: 2–10 MΩ) ile doldurulmuş bir cam mikropipet (Borosilicate, o.d.:1,5 mm, 10 cm uzunluk, World Precision Instruments) eksitatör postsinaptik potansiyel alanlarının (fEPSPs) kaydını almak için ipsilateral dentat girusun (mm olarak: AP:-3,5, ML:2,14, DV:3,3 mm duradan aşağıya) granül hücre bariyerine sokuldu. Bir Ag-AgCl disk elektrot, referans elektrot olarak boyun derisinin altına yerleştirildi.



Şekil 8. Kayıt ve uyarı elektrotlarının in vivo yerleşimi

Aktif ve referans elektrotlar bir head-stage kullanılarak amplifiyere (VCC600 tek kanatlı epitelyal voltage/current clamp sistemi Physiological Instruments, Harvard Apparatus, Holliston, MA, ABD) bağlandı. Bütün sistem bir Faraday kafesi kullanılarak korundu. Kaydın derinliği 0.1 mm'lik adımlarla uyarılarak geniş bir pozitif fEPSP ve üst üste negatif seyirli population spike (PS) elde etmek için denendi. En son derinlikte tipik cevap kaydedildikten sonra perforan yol uyarımına verilen cevaptaki PS amplitüdünün (genliğinin) maksimum olması için uyarı elektrodunun uyumu sağlandı. Uyarı ve kaydın kotrolü için "Scope" programı (ADInstruments, Colorado Springs, CO, ABD) kullanıldı. Monofazik 10V ve 0.175 ms'lik uyarılar bir bilgisayarın A/D boardı (Powerlab/8SP, ADInstruments, Colorado Springs, CO, ABD) tarafından üretildi ve izolatörle bağlantılı bir stimülatörü tetikledi. Biyolojik sinyaller 0.1-10 kHz bant genişliğinde bir pre-amplifiyerde yükseltildi (1000x). Dalga biçimi 20 ms'de 40 kHz oranında on-line olarak sayısallaştırıldı, bilgisayar monitöründe gösterildi ve offline analiz için "Scope" kullanılarak saklandı. Deney sistemi akış şeması Şekil 9'da ve elektrotların yerleştirilmesi sonrasında yapılan bir örnek deneyi gösteren fotoğraf ise Şekil 10'da verilmiştir.



Şekil 9 Elektrofizyolojik kayıtların alındığı deney sisteminin şematik görünümü.



Şekil 10. Bir örnek deney sırasında beyine yerleştirilen elektrotların ve deney hayvanın görünümü.

3.4. Input – Output (I/O) Eğrisi

Elektrot yerleştirildikten 15 dk sonra, bir input–output (I/O) eğrisi elde etmek için her 20 sn'de bir 175 ms devam eden uyarı ve monofazik elektrik akımları verildi. Uyarı akımı 0,1-1,5 mA aralığında uygulandı. Her akım değeri için üç uyarılmış cevabın ortalaması alındı. Uyarı şiddeti ve fEPSP eğimi veya PS amplitüdü arasındaki ilişki sigmoidal bir eğri ile tanımlandı. Bu eğriden maksimal yanıtın yarısını oluşturan uyarı şiddeti (test uyaran şiddeti) belirlendi. Deney hayvanları için belirlenen test uyarı şiddeti 0,15 ile 0.6 mA arasındaydı. UÇK ve UEG deneyleri için belirlenen test uyaranları kullanıldı.

3.5. UYARI ÇİFTİ KOLAYLAŞMASI

Uyarı çifti kolaylaşması, 20 sn arayla perforan yola 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ve 100 ms ara ile verilen uyarı çiftlerine karşı oluşan uyarılmış cevap alınarak ölçüldü. Her çift için üç yanıtın ortalaması alındı. PS genliklerinin oranı (ikinci PS genliği/birinci PS genliği x 100, uyarı çifti indeksi) hesaplandı.

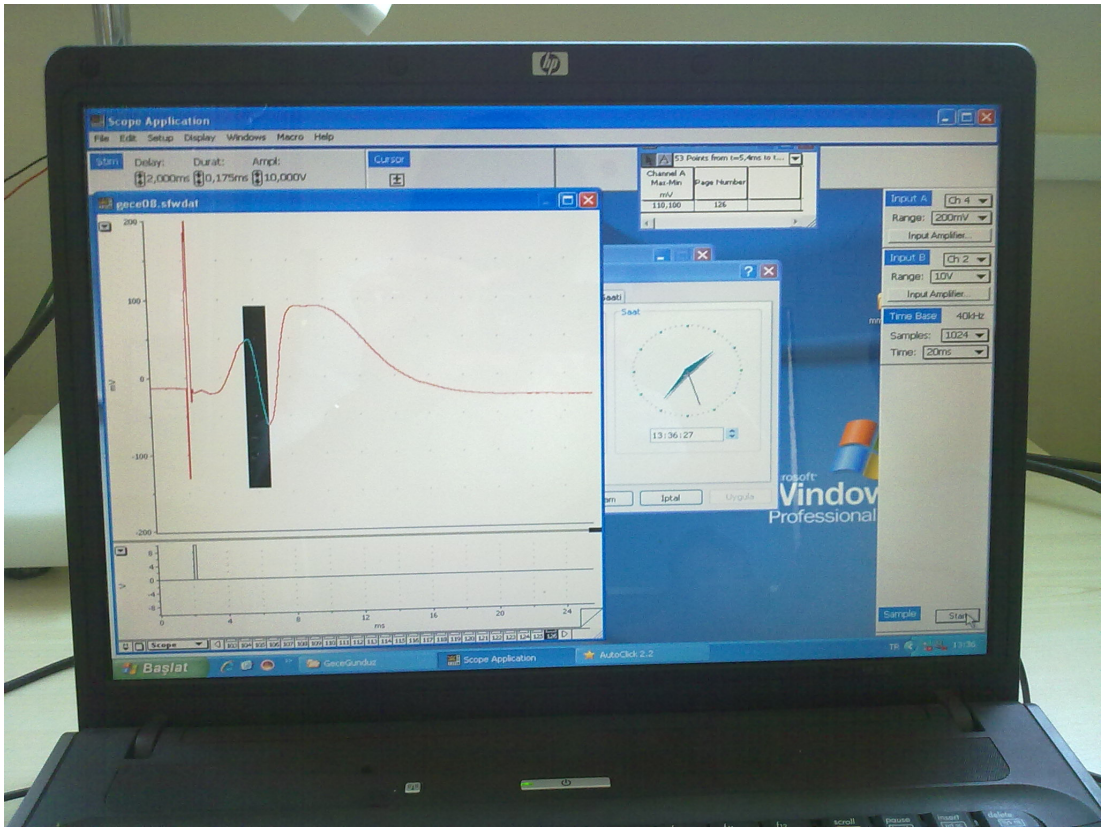
3.6. UZUN ERİMLİ GÜÇLENME (UEG)

EPSP'lerin 10 dk bazal kaydından sonra UEG oluşturmak için 5 dk arayla 50, 55, 60 ve 65inci dakikalarda dört tetanik (100 Hz) uyarı verildi. Son tetanik uyarıyı takiben test uyarısı her 30 sn'de bir olacak şekilde 120nci dakikaya kadar uygulandı.

3.7. VERİ ANALİZİ VE İSTATİSTİKLER

Bazal periyot (HFS verilmeden önceki ilk 10 dk'lık kayıt) süresince EPSP eğimlerin ve PS genliklerin ortalama değeri her sıçan için %100 olarak değerlendirildi. Bundan sonraki her EPSP eğimi ve PS genliği heseplanan bu değerin yüzdesi olarak ifade edildi. Sonraki veriler bazal süreye göre yüzde değişim olarak ifade edildi. fEPSP'nin eğimi, PS'nin başlangıcındaki fEPSP ve dalga biçiminin başlangıcı arasındaki voltaj farkının %20-80'indeki amplitüd değişimi olarak hesaplandı. PS amplitüdü, pozitif pikten negatif pike doğru ölçüldü. Eğim ve amplitüdün istatistiksel değerlendirmesi için değerlerin dört zaman penceresi seçildi ve bu dönemlerdeki ortalama değerler hesaplandı. Her dönem için eğim ve amplitüd

verilerini gruplar arasında karşılaştırmak için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Değerler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi ve 0.05'ten düşük olasılık değerleri anlamlı olarak değerlendirildi. Örnek bir kayıt trasesi Şekil 11'de sunulmuştur.



Şekil 11. Örnek Kayıt Trasesi.

4. BULGULAR

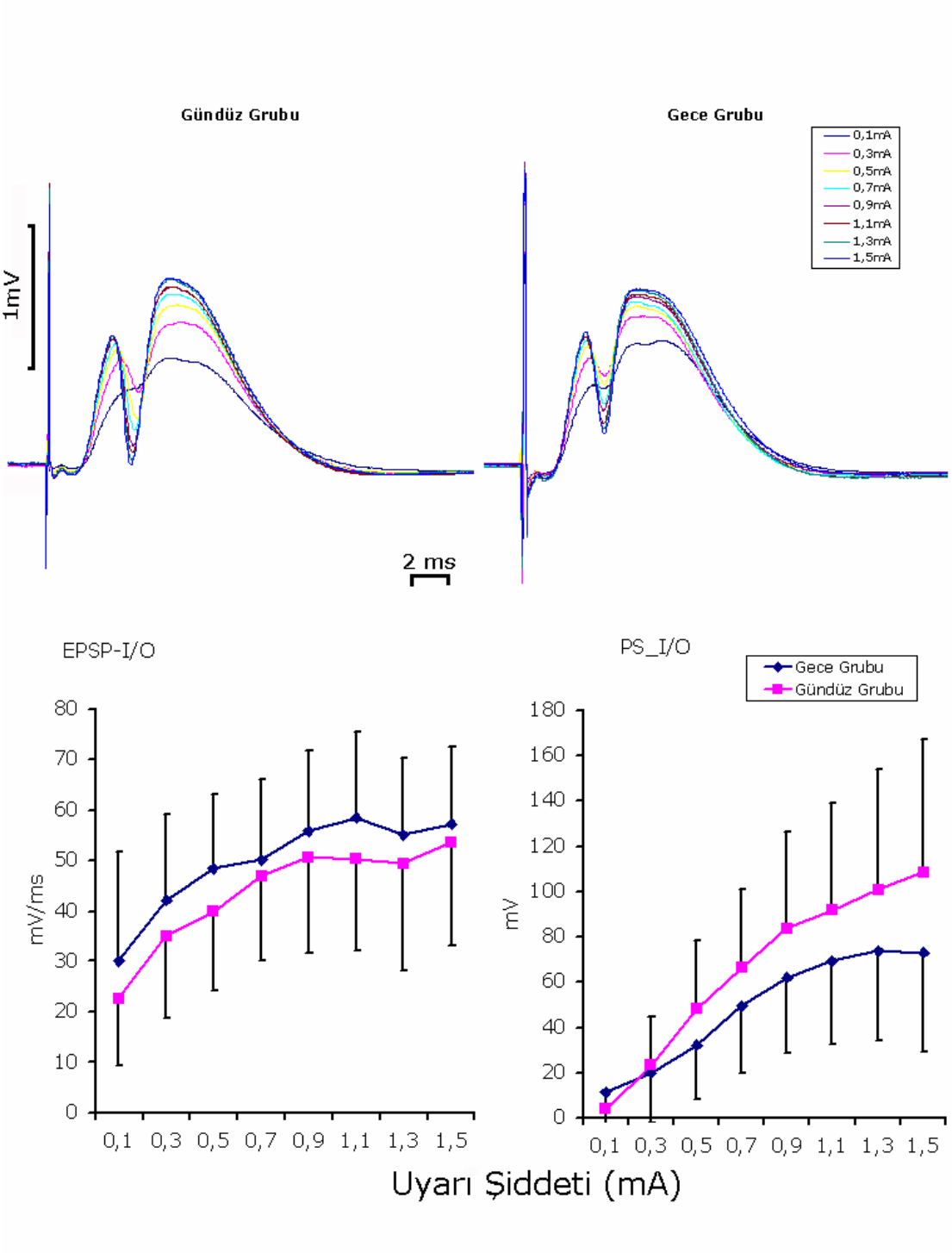
4.1. I/O BULGULARI

Gece ve gündüz grubu sıçanların 0,1 mA-1,5 mA arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen EPSP eğimi ve PS genliklerinin değişimleri Şekil 10'da; verilerin istatistiksel değerlendirmesi ise Tablo 1'de verilmiştir. Farklı uyarı şiddetlerine karşı oluşan EPSP eğim ve PS genliklerinin, 1,5 mA şiddeti dışında gruplar arasında istatistiksel bir farklılık göstermedikleri bulunmuştur. Bu bulgular, her iki grupta da dentat girusta aferent uyarımla innerve edilen nöronların ve bunlardan eşik değere ulaşarak aksiyon potansiyeli oluşturan nöronların benzer elektrofizyolojik özelliklerde olduğunu göstermektedir.

Tablo 1. Gece ve gündüz grubu sıçanların 0,1 mA-1,5 mA arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen EPSP eğimi ve PS genliklerinin istatistiksel analizi

	0,1mA	0,3mA	0,5mA	0,7mA	0,9mA	1,1mA	1,3mA	1,5mA
EPSP Eğimi								
Gündüz	22,7±13,1	35,1±16,3	39,9±15,6	46,9±16,8	50,7±18,9	50,3±18,3	49,3±21,1	53,6±20,6
Gece	30±21,6	42,2±17,1	48,4±14,8	50,1±15,9	55,9±16	58,5±17,1	55±15,2	57,2±15,4
t	0,23	0,21	0,1	0,56	0,39	0,17	0,36	0,56
PS Genliği								
Gündüz	3,9±6,5	23,3±21,7	48,30±30,0	66,4±34,1	83,9±42,4	91,8±47,1	100,9±53,3	108,8±58,58
Gece	11,2±20,2	19,9±22,2	32±23,8	49,5±29,4	61,9±33,3	69,1±36,9	73,9±39,8	72,9±43,8
t	0,15	0,64	0,08	0,12	0,09	0,12	0,09	0,04*

*p<0,05.



Şekil 12. Gece ve gündüz grubu sıçanların 0,1 mA-1,5 mA arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen EPSP eğimi ve PS genliklerinin değişimleri

4.2.PPF BULGULARI

Gece ve gündüz grubu sıçanların uyarı çifti aralığı 20 msn -160 msn arasında değişen 8 ayrı test uyaranına karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen EPSP eğimi ve PS genliklerinin değişimleri Şekil 12'de; verilerin istatistiksel değerlendirmesi ise Tablo 1'de verilmiştir. Farklı uyarı aralığı değerlerinde, uyarı çiftinin ikincisine karşı oluşan EPSP yanıtlarının eğimi her iki grupta da artış göstermemiştir. Dolayısıyla EPSP eğimlerinde kolaylaşma görülmemiştir. Bununla birlikte EPSP eğimi için hesaplanan uyarı kolaylaşma indeksi 120, 140 ve 160ncı ms değerlerinde gündüz grubunda gece grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Farklı uyarı aralığı değerlerinde, uyarı çiftinin ikincisine karşı oluşan PS yanıtlarının genliği ise her iki grupta da artış göstermiştir. Dolayısıyla PS genliklerinde kolaylaşma görülmüştür. Her iki grupta da en belirgin kolaylaşma uyarı çifti aralığı 80 ms olduğunda elde edilmiştir. 80 ms aralıkta, kolaylaşma gündüz grubunda %38, gece grubunda %11 olarak bulunmuştur. Kolaylaşma indekeksleri iki grup arasında karşılaştırıldığında gündüz grubunda 60, 80, 100, 120, 140 ve 160 ms değerleri için gece grubuna göre anlamdı derecede yüksek bulunmuştur. Bu bulgular, gece grubunda aferent uyarımla innerve edilen dentat girus nöronlarının, orta ve uzun intervaller ile uygulanan uyarı çiftlerinden ikincisine daha düşük genlikli yanıtlar oluşturduğunu ortaya koymuştur.

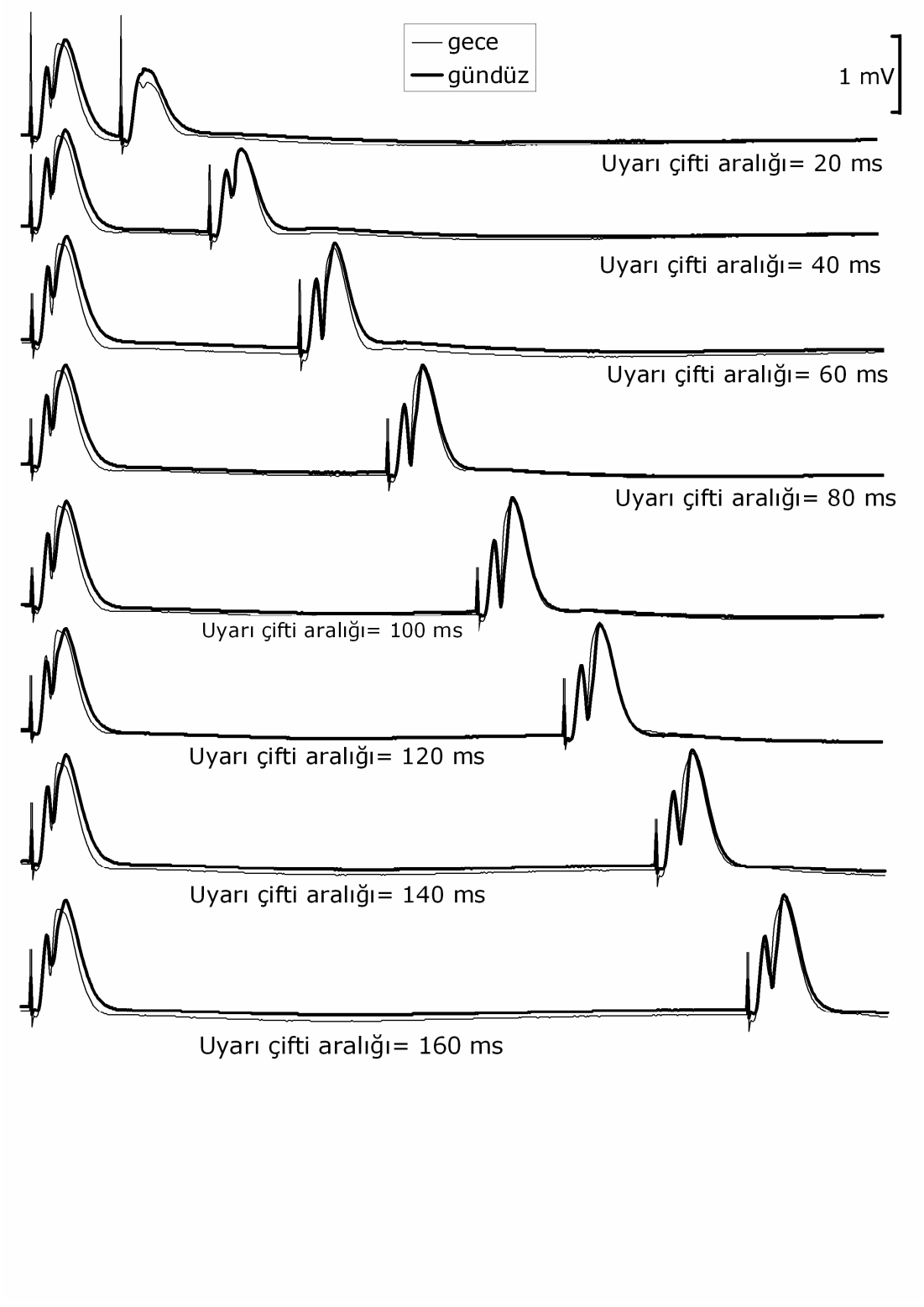
.

Tablo 2. Gece ve gündüz grubu sıçanların uyarı çifti aralığı 20 msn -160 msn arasında değişen 8 ayrı test uyaran çiftine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen EPSP eğimi ve PS genliklerinin istatistiksel analizi

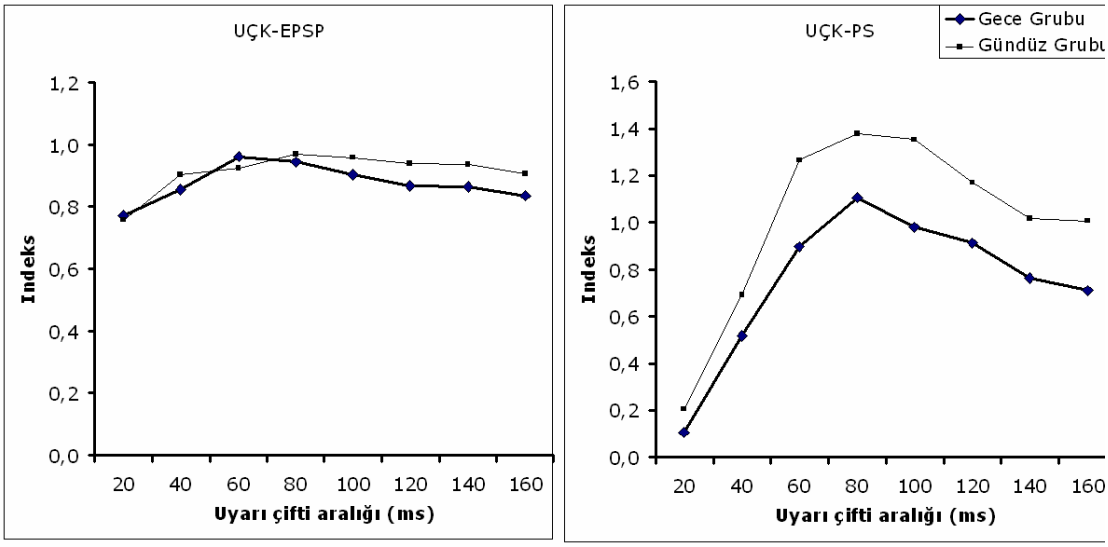
	20 ms	40 ms	60 ms	80 ms	100 ms	120 ms	140 ms	160 ms
EPSP Eğimi								
Gündüz	0,76±0,10	0,90±0,07	0,92±0,07	0,97±0,09	0,96±0,11	0,94±0,07	0,94±0,11	0,91±0,08
Gece	0,77±0,16	0,86±0,18	0,96±0,11	0,94±0,09	0,90±0,10	0,87±0,06	0,86±0,05	0,84±0,06
p	0,39	0,20	0,18	0,26	0,12	0,01*	0,03*	0,02*
PS Genliği								
Gündüz	0,20±0,21	0,69±0,41	1,27±0,49	1,38±0,37	1,35±0,39	1,17±0,36	1,02±0,38	1,01±0,31
Gece	0,10±0,04	0,52±0,14	0,90±0,11	1,11±0,25	0,98±0,17	0,91±0,17	0,76±0,12	0,71±0,11
p	0,10	0,13	0,03*	0,05*	0,01*	0,04*	0,05*	0,01*

*anlamlı farklılık. Değerler ortalama ±standart sapma olarak verilmiştir.

Şekil 13. Gece ve gündüz grubu sıçanların uyarı çifti aralığı 20 msn -160 msn arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen alan potansiyellerinin ortalama traseleri.



Şekil 14. Gece ve gündüz grubu sıçanların uyarı çifti aralığı 20 msn -160 msn arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen alan potansiyellerinin I/O ilişkisi

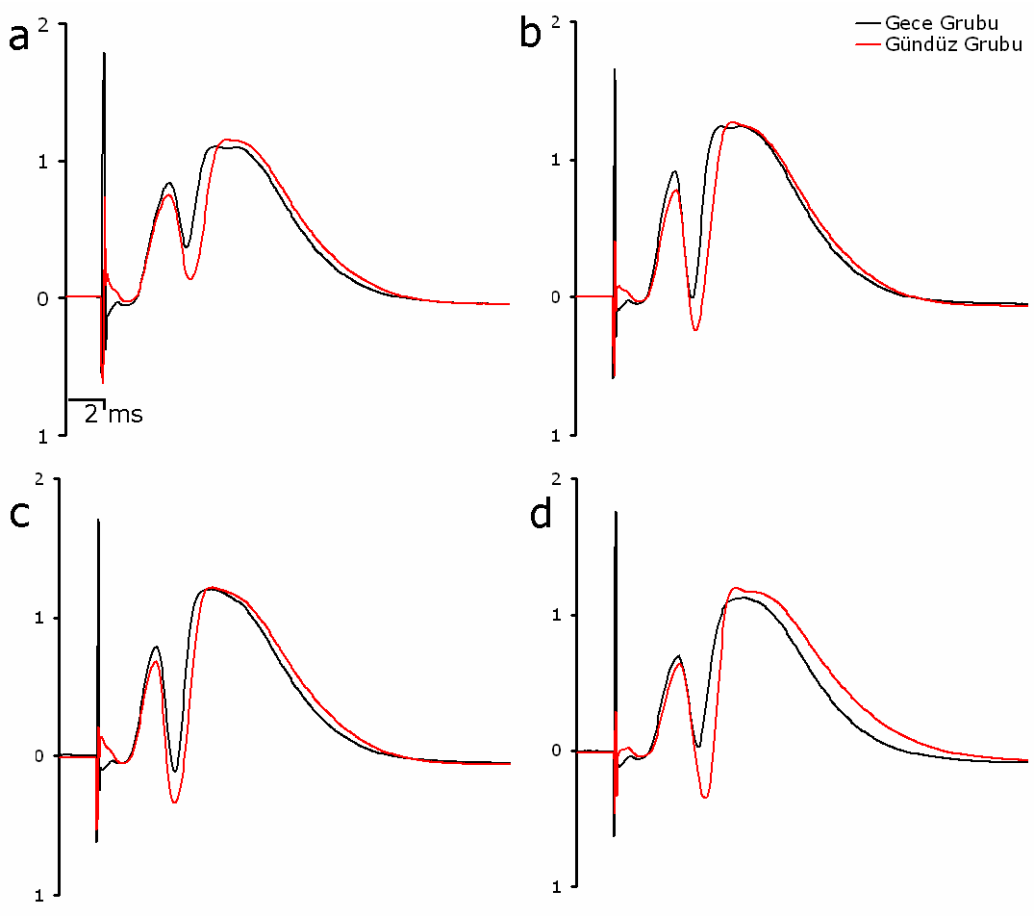


4.3. HFS

İsatistiksel değerlendirmeler için dört zaman penceresi seçilmiş ve ayrıca HFS deney protokolünde alınan yanıtların EPSP eğimi ve PS genlik değerelerinin bazeline'a göre yüzdelerinin ortalamaları verilmiştir.

4.3.1. Zaman Pencerelerine Göre Analiz

Gece ve gündüz gruplarının HFS protokolünün seçilen dört zaman penceresinde (baseline, PTP, UDE indüksiyonu ve idamesi) kaydedilen ortalama yanıtları Şekil 14'de istatistiksel değerlendirme sonuçları ise Tablo 3'de verilmiştir. Bulgularımız PTP, indüksiyom ve idame dönemlerinde baseline değerlere göre gece grubunda görülen güçlenmenin gündüz grubundan anlamlı derecede daha az olduğunu göstermektedir.



Şekil 15. Gece ve gündüz gruplarının dentat giruslarından elde edilen alan alan potansiyellerinin dört zaman penceresindeki oratalama traseleri.

Baseline "a" da, post tetanik güçlenme "b" de, indüksiyon dönemi "c" de, idame dönemi "d" de gösterilmiştir. Y ekseni mV.

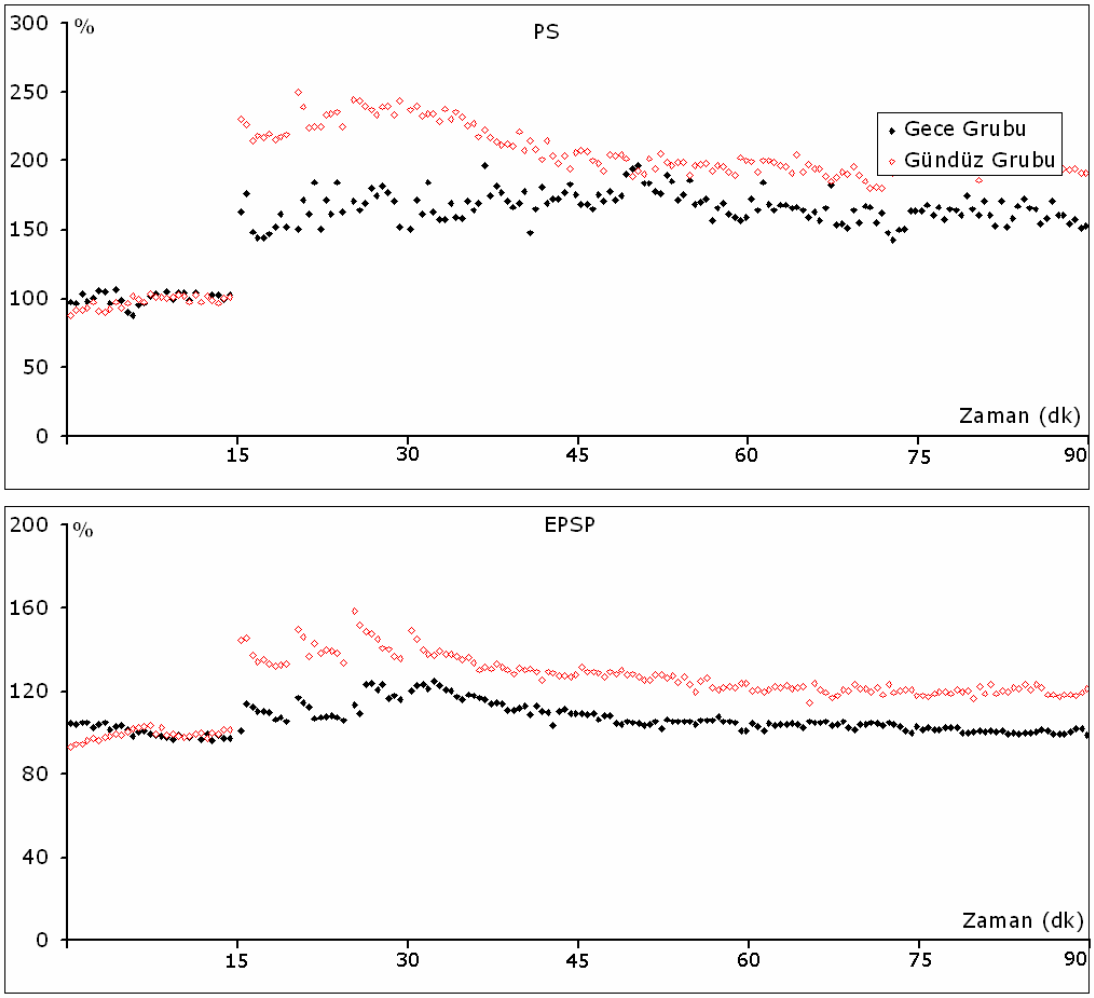
Tablo 3. Dört farklı zaman penceresinde kaydedilen alan potansiyellerinin gece ve gündüz gruplarındaki ortalama değerleri.

Dönem	Dayanak		PTP		İndüksiyon		İdame	
Zaman	0-15 dk		15-20 dk		30-35 dk		85-90dk	
Grup	Gündüz	Gece	Gündüz	Gece	Gündüz	Gece	Gündüz	Gece
Populasyon Spike genliği								
Ortalama	100,23	101,94	219,77	154,31	234,15	163,26	195,59	158,55
SS	6,17	5,53	58,11	59,25	62,97	68,87	47,10	45,37
P		0,068		0,000*		0,000*		0,000*
Eksitatör postsinaptik potansiyel eğimi								
	Gündüz	gece	gündüz	gece	gündüz	gece	gündüz	gece
Ortalama	99,39	98,18	136,58	108,68	139,62	120,99	119,54	100,44
SS	4,65	4,95	18,33	19,91	18,38	16,18	18,41	11,95
p		0,056		0,000*		0,000*		0,000*

*anlamlı farklılık. SS: standart sapma.

4.3.2. Tüm Trasenin İncelenmesi

Gece ve gündüz gruplarının HFS protokolü boyunca gösterdikleri yanotların zamana bağlı değişimi Şekil ‘de verilmiştir.



Şekil 16. Gece ve gündüz gruplarının dentat giruslarından elde edilen alan potansiyellerinin EPSP eğim ve PS genliklerinin bazal değerlerine göre yüzde değişimleri.

5. TARTIŞMA

Yaptığımız çalışmanın sonunda Gece ve gündüz grubu sıçanların 0,1 mA -1,5 mA arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen EPSP eğimi ve PS genliklerinin, 1,5 mA şiddeti dışında gruplar arasında istatistiksel bir farklılık göstermedikleri bulunmuştur. Bu bulgular, her iki grupta da dentat girusta aferent uyarımla innerve edilen nöronların ve bunlardan eşik değere ulaşarak aksiyon potansiyeli oluşturan nöronların benzer elektrofizyolojik özelliklerde olduğunu göstermektedir.

Gece ve gündüz grubu sıçanların uyarı çifti aralığı 20 msn -160 msn arasında değişen 8 ayrı test uyaranına karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen EPSP eğimi ve PS genliklerindeki kolaylaşma indeksinin (PPF) gruplar arasında istatistiksel bir farklılık göstermedikleri bulunmuştur. Bu bulgular, her iki grupta da dentat girusta aferent uyarımla innerve edilen nöronların, kısa intervaller ile uygulanan uyarı çiftlerinden ikincisine benzer kolaylaşma gösterdiklerini ortaya koymuştur.

Gece ve gündüz gruplarının HFS protokolünün seçilen dört zaman penceresinde (baseline, PTP, UDE indüksiyonu ve idamesi) kaydedilen ortalama yanıtlar PTP, indüksiyon ve idame dönemlerinde baseline değerlere göre gece grubunda görülen güçlenmenin gündüz grubundan anlamlı derecede daha az olduğunu göstermektedir. Dentat girus granüler hücre somalarından kayıtlanan alan potansiyellerinden EPSP bileşeni aferent yolla uyarılan nöron grubunun PS bileşeni ise membran potansiyeli bir eşik değere yükselerek aksiyon potansiyeli oluşturabilen hücre grubunun elektriksel özelliklerini yansıtır (64). Bu nedenle her iki grupta da

HFS protokolünden sonra aferent yolla uyarılan hücre popülasyonunun ve bunlardan eşik değere kadar depolarize olarak aksiyon potansiyeli oluşturan nöron popülasyonunun arttığı ancak bu artışın gece grubunda anlamlı olarak daha düşük olduğunu düşünmekteyiz.

Geçmiş yıllarda öğrenme, bellek ve öğrenilmiş davranışların altında yatan hücresel ve moleküler süreçler ilgi odağı olmuşlardır. Öğrenme ve uyku arasındaki muhtemel ilişki birçok araştırmanın konusu olmuş ve uyku yoksunluğu protokollerinin öğrenme ve hipokampal fizyolojiyi olumsuz etkilediği gösterilmiştir (65-69). Uyku ritminin düzenlenmesinde öneme sahip SCN'un öğrenme ve bellek ile olan ilişkisi ise nispeten az çalışılmıştır. Örneğin, davranışla ilgili çalışmalar bazı öğrenilmiş davranışların diürnal (70) ve sirkadyan modülasyon gösterdiğine dair kanıtlar ortaya koymuştur (71).

Birçok in vivo çalışmanın bulguları hipokampal eksitabilitenin de diurnal regülasyon gösterdiğini ortaya koymaktadır (72). Örneğin Barnes ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada bir kör ratta sinaptik eksitabilite ritminin devam ettiğini göstermiştir (1977). Ancak bu ritimlerde suprakiazmatik nükleusun rolü tam olarak açığa çıkarılamasa da hipokampüsdeki sinaptik plastisitenin günün değişik zaman dilimlerinde, değişiklikler gösterebileceği ileri sürülmüştür (51) Örneğin yüksek frekanslı uyarılma (1X100 Hz) sonrasında oluşan PS genliğinin gece fazında gündüzden ortalama %70 daha büyük olduğunu bildirilmiştir (73). Benzer olarak rat hipokampüsünde yapılan diğer bir in vivo çalışmada, bu diürnal ritmi kanıtlayacak şekilde geceleyin pik yapan UEG büyüklükleri saptanmıştır (74). Tersine, PS amplitüdünün ışık peryodunda, ratın karanlık peryodundaki PS amplitüdünden daha büyük olduğunu gösteren bir çalışma da vardır (West ve Deadwyler, 1980). Bu çalışmaya göre PS genliği hayvanlar yavaş dalga uykusu durumunda iken diğer durumlardakinden daha büyüktür (72). Diğer in vitro UEG çalışmalarında da rat ve hamsterlarda CA1 nöronlarında gündüz pik yapan PS-UEG'leri kaydedildi. Tüm bu çalışmalar UEG'nin bir ritmisite gösterdiğine dair önemli kanıtlar sunmaktadır (75). Lin ve Yang da 22 fare üzerinde yaptıkları çalışmada 24 saatlik aydınlık/karanlık döngü değişikliklerinin öğrenme ve bellek fonksiyonları üzerine etkili olmadığını, ancak daha kısa döngülerin öğrenme ve bellek üzerine etkili olabileceğini gösterdi (76). UEG'de gece/gündüz farklılıkları bulmayan çalışmalar da vardır. Bu farklı

sonuçlar, çalışmalarda farklı türlerin ve/veya farklı protokollerin kullanılmış olmasına bağlı olabilir.

Diğer bazı çalışmalarda genlikteki diürnal değişikliklere ek olarak, gece ölçülen UEG'nin gün içinde ölçülen UEG'den daha stabil gözlemlendiğine dair bulgular elde edilmiştir. Özellikle gece elde edilen EPSP'deki UEG düşüşlerinin gündüz elde edilenlerle karşılaştırıldığında daha düşük olduğu gösterilmiştir (64). İlginç olarak, REM uyku yoksunluğunun da hipokampal kesitlerde UEG'nin devam fazı stabilizasyonunda dramatik azalmalara neden olduğu bildirilmiştir (77).

Birçok çalışmada UEG'de gözlemlenen sirkadiyen değişmeler birincil olarak genlik üzerine etkili bulunduysa da EPSP eğiminde diurnal değişmeler CA1 piramidal nöronlarında gözlenmiştir (64) CA1 hücre gövdelerinin , piramidal nöronların uyarılabilirliğini güçlü şekilde kontrol eden hipokampal devredeki aranöronlardan GABA aracılı güçlü uyarılar aldığı bilinir (78). EPSP eğimdeki diürnal varyasyon, belki de tamamiyle Glutamerjik sinaptik iletinin düzenlenmesinden çok, inhibisyon ve uyarılma oranındaki dengenin değişmesinin bir sonucu olabilir (79).

Ek olarak Cauller ve arkadaşları 1985'de, in vivo kayıt yaparak EPSP büyüklüğünün gece pik yapmasına karşın, PS büyüklüğünün gündüz pik yaptığını bildirmiştir (80).

Hipokampal uyarılabilirlilikdeki bu ritimler, beyin kesit preparatlarında da devam edebilir. Örneğin CA3 nöronlarında depolarizasyonla indüklenen uyarılabilirlilik ve yüksek voltajla aktive olan Kalsiyum akımlarının büyüklüğünün her ikisi de gün içinde bulunulan zamana göre değişiklik gösterir ve her iki olay da gece pik yapar (81). Çalışmamızda, gece ve gündüz grubu sıçanların uyarı çifti aralığı 20 msn -160 msn arasında değişen 8 ayrı test uyaranına karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen EPSP eğimi ve PS genliklerindeki kolaylaşma indeksinin gruplar arasında istatistiksel bir farklılık göstermedikleri bulunmuştur. Bu bulgular, her iki grupta da dentat girusta aferent uyarımla innerve edilen nöronların, kısa intervaller ile uygulanan uyarı çiftlerinden ikincisine benzer kolaylaşma gösterdiklerini ortaya koymuştur. Uyarı Çifti Kolaylaşmasında Kalsiyum akımının önemini bilinmektedir. Kalsiyum akımının gün içinde bulunulan zamana gore değişiklik göstermesi de, çalışmamızda gruplar arasında Uyarı çifti kolaylaşması

yönünden farklılığın görülmemesi, deneyleri günün aynı zamanında yapmamızla açıklanabilir.

Chaudburry ve ark.ları ritmik olarak melatonin salgılayan özel bir tür olan C57 sısıçanlarında ve melatonin üretimine izin vermeyen bir mutasyonu taşıyan C57 sıçanlarında hipokampal kesitlerin postsinaptik CA1 piramidal hücrelerin dendritik (EPSP) ve somatik (PS) bölgelerindeki uyarılabilirliğin diürnal varyasyon gösterip göstermediğini araştırdı. Bu çalışmada istatistiksel farklılık melatonin üretmeyen C57 sıçanlarında PS genliğinde azalma şeklinde gözlemlendi (64). Diğer bazı çalışmalarda da İ/O eğrilerinin C57 ile karşılaştırıldığında melatonin salgılayan C3H sıçanlarında daha geniş olduğu gösterilmiştir (82).

Ritmik olarak Melatonin salgılayan C3H sıçanlarından kaydedilen PS-UEG yanıtlarında gözlenen diürnal ritmin endojen olduğu ve tahminen sirkadiyen bir doğasının olduğu düşünülmüştür. Çünkü bu çalışmada Karanlık/Karanlık döngüsünde tutulan sıçanlarda da gündüz/gece farklılığının devam ettiği saptanmıştır. Serbest aktivite ritimleri monitorize edilen sıçanlar subjektif gece veya gündüz fazında öldürülüp hazırlanan hipokampüs kesitleri çalışıldığında da PS-UEG yanıtlarının gece fazında gündüzden daha büyük olduğu görülmüştür. Karanlık/Karanlık döngüsünde tutulan sıçanlarda ritmin devam etmesi, PS-UEG'deki ritimden sorumlu olan güçlü bir endojen zamanlama sistemin bulunduğunu düşündürmektedir (64). Bizim çalışmamızda ise gece ve gündüz grubu sıçanların 0,1 mA-1,5 mA arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen EPSP eğimi ve PS genliklerinin, 1,5 mA şiddeti dışında gruplar arasında istatistiksel bir farklılık göstermedikleri bulunmuştur. Bu bulgular, çalışmada deneylerin günün aynı saatinde ve aydınlık fazında yapılmasından ve bununla ilgili ışığın faz sıfırlayıcı etkisinden kaynaklanmış olabilir. İdeal bir sirkadiyen ritim çalışmasında, birçok değişik zamanda ölçüm yapılmalı ve büyüklük değişikliklerindeki farklılıklar gösterilmelidir.

Bir çalışmada Aydınlık/Karanlık siklusundaki sıçanlar döngünün aydınlık kısmında öldürümüş ve alınan hipokampüs kesitlerinde uyarılmış cevaplar gece kaydedilmiştir. Eğer izole hipokampüs kesitinde bazı osilatör özellikler varsa, kesitin hazırlanma zamanı, LTP'nin kayıt zamanı kadar önemli olmamalıdır. Ayrıca hipokampal kesitler gündüz hazırlanıp, kayıt gece yapılsa bile, potansiyalize uyarılmış cevaplar gece ve gündüz kaydedilenlere benzer bulunmuştur. Gündüz

öldürülüp gece kayıt alınan sıçanların PS-UEG'leri daha büyük ve zaman içinde gözlenen düşüşlerin daha yavaş olmasıyla gece grubunun değerlerine benzerlik göstermiştir. Kontrol kesitleri ise geç gündüz döneminde kaydedildi ve bunların hala tipik gündüz büyüklük ve kinetiğini sergilediği bildirilmiştir. Bu bulgular hipokampal kesitlerin, hazırlandığı zamanda donmuş yapılar olmadığını, in vitro olarak da gündüzden geceye değişikliklerin devam ettiğini düşündürmektedir (64).

Melatonin salgılayan ve salgılamayan iki özel tür sıçanın kullanıldığı çalışmalar, melatoninin hipokampal ritimlerin devamından sorumlu sinyal olarak olası rolünü düşündürmektedir (83). Melatonin, ritmik sentezlenen zamansal bilgiyi ileten sirkadiyen sistemin sonuç molekülü olarak düşünülür. Melatonin etkilerini hipokampüs, subiculum ve entorinal korteks dahil olmak üzere sinir sistemi boyunca yerleşmiş yüksek afiniteli reseptörleri aracılığıyla gösterir (84-86) CA1 nöronlarındaki elektrofizyolojik çalışmalar melatonin'in spontan ateşleme hızını artırdığını (86), GABA-A aracılı olayları ise inhibe ettiğini göstermiş (87) ve önceki çalışmalarda da hipokampal nöronlarda sinaptik plastisiteyi düzenleyebildiği gösterilmiştir (88). Bu nedenlerle UEG'deki ritimlerin Melatonin salgılanma ritmi tarafından düzenlenmesi güçlü bir olasılıktır. Bununla beraber Melatonin sekrete etmeyen C57 sıçanlarında da hala ritim devam etmesi Melatoninin UEG ve öğrenmedeki rolü hakkında detaylı çalışmalara ihtiyaç olduğunu da göstermektedir. Melatonin belki hipokampal fizyoloji ve sinaptik plastisite için önemli bir düzenleyici olmakla beraber, gözlenen ritimlerden tek başına sorumlu olmayabilir.

Hipokampal fonksiyonlardaki sirkadiyen ritimler direkt veya indirekt gün içinde düzeyi değişen birçok faktör tarafından düzenlenir. Örneğin sirkadiyen sistem hayvanlardaki aktivite düzeyinden etkilenir ve aktivite düzeyindeki değişiklikler hipokampal fizyolojiyi değiştirebilir. İn vivo bir çalışmada ratın aktif olduğu gece döneminde ölçülen UEG'nin, ratın uyuduğu veya uyanık fakat hareketsiz olduğu zamandakinden daha büyük olduğu gösterilmiştir. Araştırmacılar kolinerjik aktivitenin bu olaydan sorumlu olabileceğini ileri sürmüşlerdir (89).

SKN ya da diğer beyin bölgelerindeki osilasyonların, hipokampal nöronların ritmisitesinde uzun süreli etkilerinin olması da mümkündür, fakat bunu açıklamak daha zordur. Bir çalışmada, sirkadiyen CLOCK genleri mPer1 ve mPer2 mRNA'larının ifadelenmesinin, gece pik yaptığı ve ritmisite gösterdiği bulunmuştur (90). Ayrıca in vivo bazı çalışmalarda hipokampüs dentat girusta adenozinin salgılanmasının (91) ve adenozin reseptörlerinin blokajının diürnal değişiklikler

gösterdi (92) ve adenozin de hipokampal sinaptik iletiyi düzenlediği bildirilmiştir (92). Kanda dolaşan Kortizol düzeyleri güçlü bir diürnal ritme sahiptir. Kortizolün de hipokampal fizyoloji ve LTP üzerinde düzenleyici etkilerinin olduğuna dair bulgular bildirilmiştir (93). Dana ve Martinez in vivo PS-UEG yanıtlarının kontrol hayvanlarında gece daha büyük ölçüldüğünü, fakat adrenalektomize hayvanlarda bu etkinin tersine döndüğünü gösterilmiştir (73)

Bazı çalışmalarda Melatonin uygulamasının UEG yanıtları üzerindeki etkisi çalışılmıştır. 100nm dozda Melatonin SC-CA1 sinapsında İ/O ilişkisini ve UÇK gibi sinaptik uyarılmış cevapların büyüklüğünü değiştirmemiştir (74). 100pm dozda uygulandığında hipokampal kesitlerde CA1 bölgesindeki UEG indüksiyonunu bloke etmiştir (74). Bununla beraber aynı dozda melatonin SC-CA1 sinapsında güçlü bir HFS uyarımı (3X100 Hz) ile oluşturulan UEG büyüklüğünü artırmıştır (94). Chaudburry ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise güçlü HFS (3X100 Hz) uygulaması UEG'de bir değişiklik yapmamıştır (64). Melatonin'in bu farklı etkileri deney protokolündeki farklılıklara bağlı olabilir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda bu nokta dikkate alınmalıdır. CA1 nöronlarına olan sinaptik inputta Melatoninin etkisi uyarılmış potansiyellerin başlangıçta inhibe olup, takip eden bir süre sonunda artmasıyla bifazik olabilir (94). C57 ve C3H sıçanlarında hipokampüsde CA1 bölgesinde, Melatoninin UEG büyüklüğünü inhibe ettiği ve etkinin yüksek konsantrasyonda belirgin olduğu; inhibisyon ise 1Nm kadar düşük konsantrasyonda uygulanınca bile ortaya çıktığı da bildirilmiştir (74).

6. SONUÇLAR

Aydınlık / Karanlık döngüsündeki değişikliklerin hipokampal (dentat girus) nöronlarının elektriksel etkinliğine ve bazı elektrofizyolojik öğrenme modellerine (uyarı çifti kolaylaşması ve uzun erimli güçlenme) olan etkisinin incelendiği bu çalışmada elde edilen bulgular ile ulaştığımız sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

1) I/O ilişkisinde sadece 1,5 mA uyarı şiddetinde, PS genliğinde anlamlı bir fark bulunmuştur. Gece grubunun ölçülen PS genliği 1,5 mA uyarı şiddetinde ortalama 72,9 mV, gündüz grubunda ise 108,8 mV olarak saptanmıştır.
2) Uyarı Çifti Kolaylaşması ilişkisinde, gece ve gündüz grubu sıçanların uyarı çifti aralığı 20 msn -160 msn arasında değişen test uyaranlarının ikincisine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen EPSP eğimi'nin kolaylaşma göstermediği, gece grubunda 60-160 ms uyarı çifti aralıklarında gündüz grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı biçimde düşük PS genliği oluşturduğu bulunmuştur.
3) Gece ve gündüz gruplarının HFS protokolünün PTP döneminde gece grubunda görülen hem EPSP hem de PS güçlenmesinin gündüz grubundan anlamlı derecede daha az olduğu görülmüştür.
4) Gece ve gündüz gruplarının HFS protokolünün HFS indüksiyonu döneminde gece grubunda görülen hem EPSP hem de PS güçlenmesinin gündüz grubundan anlamlı derecede daha az olduğu görülmüştür.

5) Gece ve gündüz gruplarının HFS protokolünün HFS idamesi döneminde gece grubunda görülen hem EPSP hem de PS güçlenmesinin gündüz grubundan anlamlı derecede daha az olduğu görülmüştür.

7. KAYNAKLAR

1. Kullmann DM, Asztely F, Walker MC. *The role of mammalian ionotropic receptors in synaptic plasticity: LTP, LTD and epilepsy.* Cellular and Molecular Life Sciences 2000; 57: 1551-61.

2. Schulz P,Steimer T. *Neurobiology of Circadian Systems.* Cns Drugs 2009; 23: 3-13.

3. Claustrat B, Brun J, Geoffriau M, Chazot G. *Melatonin: from the hormone to the drug?* Restorative Neurology and Neuroscience 1998; 12: 151-7.

4. Reiter RJ. *Potential biological consequences of excessive light exposure: Melatonin suppression, DNA damage, cancer and neurodegenerative diseases.* Neuroendocrinology Letters 2002; 23: 9-13.

5. Voss U. *Functions of sleep architecture and the concept of protective fields.* Reviews in the Neurosciences 2004; 15: 33-46.

6. Sanders SW,Moore JG. *Gastrointestinal Chronopharmacology - Physiology, Pharmacology and Therapeutic Implications.* Pharmacology & Therapeutics 1992; 54: 1-15.

7. Piccione G, Giudice E, Fazio F, Mortola JP. *The daily rhythm of body temperature, heart and respiratory rate in newborn dogs.* Journal of Comparative Physiology B-Biochemical Systemic and Environmental Physiology; 180: 895-904.

8. Zucconi GG, Carandente F, Menichini E, Belia S, Giuditta A. *Circadian-Rhythms of DNA Content in Brain and Kidney - Effects of Environmental Stimulation.* Chronobiologia 1988; 15: 195-204.

9. Haus E. *Chronobiology in the endocrine system.* Advanced Drug Delivery Reviews 2007; 59: 985-1014.

10. Ren J, Momose-Sato Y, Sato K, Greer JJ. *Rhythmic neuronal discharge in the medulla and spinal cord of fetal rats in the absence of synaptic transmission.* Journal of Neurophysiology 2006; 95: 527-34.

11. Martin KF. *Rhythms in Neurotransmitter Turnover - Focus on the Serotonergic System.* Pharmacology & Therapeutics 1991; 51: 421-9.

12. Gwinner E. *Circannual rhythms in birds.* Current Opinion in Neurobiology 2003; 13: 770-8.

13. Bellet MM,Sassone-Corsi P. *Mammalian circadian clock and metabolism - the epigenetic link.* Journal of Cell Science; 123: 3837-48.

14. Welsh DK, Takahashi JS, Kay SA. *Suprachiasmatic Nucleus: Cell Autonomy and Network Properties.* Annual Review of Physiology; 72: 551-77.

15. Shibata S, Tahara Y, Hirao A. *The adjustment and manipulation of biological rhythms by light, nutrition, and abused drugs.* Advanced Drug Delivery Reviews; 62: 918-27.

16. Cermakian N,Boivin DB. *The regulation of central and peripheral circadian clocks in humans.* Obesity Reviews 2009; 10: 25-36.

17. Lewy AJ. *Melatonin and human chronobiology.* Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology 2007; 72: 623-36.

18. Hastings M. *The brain, circadian rhythms, and clock genes.* British Medical Journal 1998; 317: 1704-7.

19. Sharma B,Feinsilver S. *Circadian rhythm sleep disorders: An update.* Sleep and Biological Rhythms 2009; 7: 113-24.

20. Arendt J. *Pineal-Gland.* New Scientist 1985; 107: 57-.

21. Arendt J,Skene DJ. *Melatonin as a chronobiotic.* Sleep Medicine Reviews 2005; 9: 25-39.

22. Cassone VM. *Effects of Melatonin on Vertebrate Circadian Systems.* Trends in Neurosciences 1990; 13: 457-64.

23. Rusak B. *Citation Classic - Neural Regulation of Circadian-Rhythms.* Current Contents/Life Sciences 1988: 15-.

24. Lewy AJ, Wehr TA, Goodwin FK, Newsome DA, Markey SP. *Light Suppresses Melatonin Secretion in Humans.* Science 1980; 210: 1267-9.

25. Reiter RJ. *Pineal Melatonin - Cell Biology of Its Synthesis and of Its Physiological Interactions.* Endocrine Reviews 1991; 12: 151-80.

26. Reiter R, Tang L, Garcia JJ, MunozHoyos A. *Pharmacological actions of melatonin in oxygen radical pathophysiology.* Life Sciences 1997; 60: 2255-71.

27. Chen LD, Tan DX, Reiter RJ, et al. *Invivo and Invitro Effects of the Pineal-Gland and Melatonin on [Ca2++Mg2+]-Dependent Atpase in Cardiac Sarcolemma.* Journal of Pineal Research 1993; 14: 178-83.

28. Ersahin M, Sehirli O, Toklu HZ, et al. *Melatonin improves cardiovascular function and ameliorates renal, cardiac and cerebral damage in rats with renovascular hypertension.* Journal of Pineal Research 2009; 47: 97-106.

29. Behan WMH, McDonald M, Darlington LG, Stone TW. *Oxidative stress as a mechanism for quinolinic acid-induced hippocampal damage: protection by melatonin and deprenyl.* British Journal of Pharmacology 1999; 128: 1754-60.

30. Uz T, Giusti P, Franceschini D, Kharlamov A, Manev H. *Protective effect of melatonin against hippocampal DNA damage induced by intraperitoneal administration of kainate to rats.* Neuroscience 1996; 73: 631-6.

31. Lipartiti M, Franceschini D, Zanoni R, et al., *Neuroprotective effects of melatonin*, in *Recent Advances in Tryptophan Research - Tryptophan and Serotonin Pathways*, G.A. Filippini, C.V.L. Costa, and A. Bertazzo, Eds. 1996. p. 315-21.

32. Post A, Holsboer F, Behl C. *Induction of NF-kappa B activity during haloperidol-induced oxidative toxicity in clonal hippocampal cells: Suppression of NF-kappa B and neuroprotection by antioxidants.* Journal of Neuroscience 1998; 18: 8236-46.

33. Reiter RJ, *Free-Radicals, Melatonin, and Cellular Antioxidative Defense-Mechanisms*, in *Pathophysiology of Immune-Neuroendocrine Communication Circuit*, D. Gupta, H.A. Wollmann, and P.G. FedorFreybergh, Eds. 1994. p. 135-60.

34. Vlkolinsky R, Stolc S, Ross A. *Effect of stobadine, U-74389G, trolox and melatonin on resistance of rat hippocampal slices to oxidative stress.* Life Sciences 1999; 65: 1969-71.

35. Poeggeler B, Reiter RJ, Tan DX, Chen LD, Manchester LC. *Melatonin, Hydroxyl Radical-Mediated Oxidative Damage, and Aging - a Hypothesis.* Journal of Pineal Research 1993; 14: 151-68.

36. Morera AL,Abreu P. *Existence of melatonin in human platelets.* Journal of Pineal Research 2005; 39: 432-3.

37. Modai I, Malmgren R, Asberg M, Beving H. *Circadian-Rhythm of Serotonin Transport in Human-Platelets.* Psychopharmacology 1986; 88: 493-5.

38. Hill SM, Frasch T, Xiang SL, Yuan L, Duplessis T, Mao LL. *Molecular Mechanisms of Melatonin Anticancer Effects.* Integrative Cancer Therapies 2009; 8: 337-46.

39. Skaper SD, Ancona B, Facci L, Franceschini D, Giusti P. *Melatonin prevents the delayed death of hippocampal neurons induced by enhanced excitatory neurotransmission and the nitridergic pathway.* Faseb Journal 1998; 12: 725-31.

40. Southgate GS, Daya S, Potgieter B. *Melatonin plays a protective role in quinolinic acid-induced neurotoxicity in the rat hippocampus.* Journal of Chemical Neuroanatomy 1998; 14: 151-6.

41. Stankov B,Reiter RJ. *Melatonin Receptors - Current Status, Facts, and Hypotheses.* Life Sciences 1990; 46: 971-82.

42. Reppert SM, Weaver DR, Godson C. *Melatonin receptors step into the light: Cloning and classification of subtypes.* Trends in Pharmacological Sciences 1996; 17: 100-2.

43. Guyton A. C.,J.E. H, *Medical Physiology*, in *Beynin Davranış ve Motivasyonla İlgili Mekanizmaları - Limbik Sistem ve Hipotalamus*, H. Çavusoglu, Editor. 1987, Nobel Tip Kitabevleri Ltd. Sti: Istanbul. p. 980-1.

44. Carpenter MB,Sutin J, *Human neuroanatomy*. 1983: Baltimore : Williams & Wilkins, 1996.

45. Ahmed OJ,Mehta MR. *The hippocampal rate code: anatomy, physiology and theory.* Trends in Neurosciences 2009; 32: 329-38.

46. O'Mara S. *The subiculum: what it does, what it might do, and what neuroanatomy has yet to tell us.* Journal of Anatomy 2005; 207: 271-82.

47. Insausti R, Cebada-Sanchez S, Marcos P, *Postnatal Development of the Human Hippocampal Formation Introduction*, in *Postnatal Development of the Human Hippocampal Formation*. p. 120.

48. Moscovitch M, Rosenbaum RS, Gilboa A, et al. *Functional neuroanatomy of remote episodic, semantic and spatial memory: a unified account based on multiple trace theory.* Journal of Anatomy 2005; 207: 35-66.

49. Dagi TF,Poletti CE. *Reformulation of the Papez Circuit - Absence of Hippocampal Influence on Cingulate Cortex Unit-Activity in the Primate.* Brain Research 1983; 259: 229-36.

50. Guyton A. C.,J.E. H, *Medical Physiology*, in *Beynin Davranış ve Motivasyonla İlgili Mekanizmaları - Limbik Sistem ve Hipotalamus*, H. Çavusoglu, Editor. 1996, Nobel Tip Kitabevleri Ltd. Sti: Istanbul. p. 737-8.

51. W. GF, *Review of Medical Physiology*. 1995, Appleteon- Lange: USA.

52. Robertson LT. *Memory and the brain.* Journal of Dental Education 2002; 66: 30-42.

53. Hebb DO. *Cognition and Consciousness in Nonhuman Species - Comment.* Behavioral and Brain Sciences 1978; 1: 577-.

54. Medvedev NI, Popov VI, Arellano JJR, et al. *The N-Methyl-D-Aspartate Receptor Antagonist Cpp Alters Synapse and Spine Structure and Impairs Long-Term Potentiation and Long-Term Depression Induced Morphological Plasticity in Dentate Gyrus of the Awake Rat.* Neuroscience; 165: 1170-81.

55. Legatt AD, Arezzo J, Vaughan HG. *Averaged Multiple Unit-Activity as an Estimate of Phasic Changes in Local Neuronal-Activity - Effects of Volume-Conducted Potentials.* Journal of Neuroscience Methods 1980; 2: 203-17.

56. Juergens E, Guettler A, Eckhorn R. *Visual stimulation elicits locked and induced gamma oscillations in monkey intracortical- and EEG-potentials, but not in human EEG.* Experimental Brain Research 1999; 129: 247-59.

57. Kamondi A, Acsady L, Wang XJ, Buzsaki G. *Theta oscillation in somata and dendrites of hippocampal pyramidal cells in vivo.* European Journal of Neuroscience 1998; 10: 5623.

58. Kamondi A, Acsady L, Wang XJ, Buzsaki G. *Theta oscillations in somata and dendrites of hippocampal pyramidal cells in vivo: Activity-dependent phase-precession of action potentials.* Hippocampus 1998; 8: 244-61.

59. Thomson AM. *Facilitation, augmentation and potentiation at central synapses.* Trends in Neurosciences 2000; 23: 305-12.

60. Shyu BC,Vogt BA. *Short-term synaptic plasticity in the nociceptive thalamic-anterior cingulate pathway.* Molecular Pain 2009; 5.

61. Bliss TV,Lomo T. *Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path.* Journal of Physiology 1973; 232: 231-56.

62. Daoudal G,Debanne D. *Long-term plasticity of intrinsic excitability: Learning rules and mechanisms.* Learning & Memory 2003; 10: 456-65.

63. Kandel ER,Schwartz JH. *Molecular-Biology of Learning - Modulation of Transmitter Release.* Science 1982; 218: 433-43.

64. Chaudhury D, Wang LM, Colwell CS. *Circadian regulation of hippocampal long-term potentiation.* Journal of Biological Rhythms 2005; 20: 225-36.

65. Maquet P. *The role of sleep in learning and memory.* Science 2001; 294: 1048-52.

66. Siegel JM. *The REM sleep - Memory consolidation hypothesis.* Science 2001; 294: 1058-63.

67. Stickgold R, Hobson JA, Fosse R, Fosse M. *Sleep, learning, and dreams: Off-line memory reprocessing.* Science 2001; 294: 1052-7.

68. Walker MP, Brakefield T, Hobson JA, Stickgold R. *Dissociable stages of human memory consolidation and reconsolidation.* Nature 2003; 425: 616-20.

69. Campbell IG, Guinan MJ, Horowitz JM. *Sleep deprivation impairs long-term potentiation in rat hippocampal slices.* Journal of Neurophysiology 2002; 88: 1073-6.

70. Valentinuzzi VS, Menna-Barreto L, Xavier GE. *Effect of circadian phase on performance of rats in the Morris water maze task.* Journal of Biological Rhythms 2004; 19: 312-24.

71. Fernandez RI, Lyons LC, Levenson J, Khabour O, Eskin A. *Circadian modulation of long-term sensitization in Aplysia.* Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2003; 100: 14415-20.

72. West MO,Deadwyler SA. *Circadian Modulation of Granule Cell Response to Perforant Path Synaptic Input in the Rat.* Neuroscience 1980; 5: 1597-602.

73. Dana RC,Martinez JL. *Effect of Adrenalectomy on the Circadian-Rhythm of Ltp.* Brain Research 1984; 308: 392-5.

74. Wang LM, Suthana NA, Chaudhury D, Weaver DR, Colwell CS. *Melatonin inhibits hippocampal long-term potentiation.* European Journal of Neuroscience 2005; 22: 2231-7.

75. Harris KM,Teyler TJ. *Age-Differences in a Circadian Influence on Hippocampal Ltp.* Brain Research 1983; 261: 69-73.

76. Jiang Z, Liu YY, Wan CM, et al. *Different light-dark cycles affect growth rate and food intake of mice.* Biological Rhythm Research 2006; 37: 11-9.

77. Davis CJ, Harding JW, Wright JW. *REM sleep deprivation-induced deficits in the latency-to-peak induction and maintenance of long-term potentiation within the CA1 region of the hippocampus.* Brain Research 2003; 973: 293-7.

78. Freund TF,Buzsaki G. *Interneurons of the hippocampus.* Hippocampus 1996; 6: 347-470.

79. Marder CP,Buonomano DV. *Differential effects of short- and long-term potentiation on cell firing in the CA1 region of the hippocampus.* Journal of Neuroscience 2003; 23: 112-21.

80. Cauller LJ, Boulos Z, Goddard GV. *Circadian-Rhythms in Hippocampal Responsiveness to Perforant Path Stimulation and Their Relation to Behavioral State.* Brain Research 1985; 329: 117-30.

81. Kole MHP, Koolhaas JM, Luiten PGM, Fuchs E. *High-voltage-activated Ca2+ currents and the excitability of pyramidal neurons in the hippocampal CA3 subfield in rats depend on corticosterone and time of day.* Neuroscience Letters 2001; 307: 53-6.

82. Bampton ETW, Gray RA, Large CH. *Electrophysiological characterisation of the dentate gyrus in five inbred strains of mouse.* Brain Research 1999; 841: 123-34.

83. Ebihara S, Marks T, Hudson DJ, Menaker M. *Genetic-Control of Melatonin Synthesis in the Pineal-Gland of the Mouse.* Science 1986; 231: 491-3.

84. Weaver DR, Rivkees SA, Reppert SM. *Localization and Characterization of Melatonin Receptors in Rodent Brain by Invitro Autoradiography.* Journal of Neuroscience 1989; 9: 2581-90.

85. Siuciak JA, Fang JM, Dubocovich ML. *Autoradiographic Localization of 2-[I-125]Iodomelatonin Binding-Sites in the Brains of C3h-Hen and C57bl/6j Strains of Mice.* European Journal of Pharmacology 1990; 180: 387-90.

86. Musshoff U, Riewenherm D, Berger E, Fauteck JD, Speckmann EJ. *Melatonin receptors in rat hippocampus: Molecular and functional investigations.* Hippocampus 2002; 12: 165-73.

87. Wan Q, Man HY, Liu F, et al. *Differential modulation of GABA(A) receptor function by Mel(1a) and Mel(1b) receptors.* Nature Neuroscience 1999; 2: 401-3.

88. Collins DR,Davies SN. *Melatonin blocks the induction of long-term potentiation in an N-methyl-D-aspartate independent manner.* Brain Research 1997; 767: 162-5.

89. Leung LS, Shen BX, Rajakumar N, Ma JY. *Cholinergic activity enhances hippocampal long-term potentiation in CA1 during walking in rats.* Journal of Neuroscience 2003; 23: 9297-304.

90. Wakamatsu H, Yoshinobu Y, Aida R, Moriya T, Akiyama M, Shibata S. *Restricted-feeding-induced anticipatory activity rhythm is associated with a phase-shift of the expression of mPer1 and mPer2 mRNA in the cerebral cortex and hippocampus but not in the suprachiasmatic nucleus of mice.* European Journal of Neuroscience 2001; 13: 1190-6.

91. Huston JP, Haas HL, Boix F, et al. *Extracellular adenosine levels in neostriatum and hippocampus during rest and activity periods of rats.* Neuroscience 1996; 73: 99-107.

92. Liu DKC, Horner RL, Wojtowicz JM. *Time of day determines modulation of synaptic transmission by adenosine in the rat hippocampal slices.* Neuroscience Letters 2000; 282: 200-2.

93. Lupien SJ,McEwen BS. *The acute effects of corticosteroids on cognition: Integration of animal and human model studies.* Brain Research Reviews 1997; 24: 1-27.

94. Wieraszko A, Hogan MV, El-Sherif Y, Tesoriero J, Raja H. *The influence of melatonin on the hippocampal glutamergic system.* Journal of Neurochemistry 2002; 81: 27-28.

TC.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Mehmet Akif BAKTIR ' a ait " **AYDINLIK / KARANLIK SİKLUS DEĞİŞİKLİKLERİNİN RAT HİPOKAMPÜS DENTAT GİRUS NÖRON AKTİVİTESİNE ETKİSİ** " adlı çalışma, jürimiz tarafından Fizyoloji Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih :
İmza

Başkan Prof.Dr. Sami AYDOĞAN

Üye Prof.Dr. Cem SÜER (Danışman)

Üye Prof.Dr. Asuman GÖLGELİ

Üye Prof.Dr. Murat AKSU

Üye Prof.Dr. Nazan DOLU