

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA UYKU BOZUKLUKLARININ HİPOKAMPÜS
ARACILI ÖĞRENME VE HAFIZA İŞLEVLERİ ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Mustafa SAYGIN

DOKTORA TEZİ

I. DANIŞMAN

Prof. Dr. M. Fehmi ÖZGÜNER

II. DANIŞMAN

Doç. Dr. Önder ÖZTÜRK

2013-İSPARTA

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA UYKU BOZUKLUKLARININ HİPOKAMPÜS
ARACILI ÖĞRENME VE HAFIZA İŞLEVLERİ ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Mustafa SAYGIN

DOKTORA TEZİ

I. DANIŞMAN

Prof. Dr. M. Fehmi ÖZGÜNER

II. DANIŞMAN

Doç. Dr. Önder ÖZTÜRK

**Bu Tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi tarafından 3171-D2-12 proje numarası ile desteklenmiştir
Tez. No: 87**

2013-İSPARTA

KABUL ve ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Fizyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı** Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 27.05.2013

Tez I. Danışman : Prof. Dr. M. Fehmi ÖZGÜNER
Süleyman Demirel Üniversitesi

Tez II. Danışman : Doç. Dr. Önder ÖZTÜRK
Süleyman Demirel Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Sadettin ÇALIŞKAN
Pamukkale Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Ahmet KOYU
Süleyman Demirel Üniversitesi

Üye : Yrd. Doç. Dr. Duygu Kumbul DOĞUÇ
Süleyman Demirel Üniversitesi

ONAY: Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Nejdet ADANIR
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Tez çalışmamda; öncelikle hayatlarımı bilime adayan ve her türlü zor şartlara rağmen, bu eğitim kurumunun eğitim verebilmesi ve bizlerin eğitimi için özveri ile çalışan eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini bana sıkılmadan usanmadan aktaran, çalışma azmi ve akademik yönleri ile örnek ve bu uzun yolda bana ışık tutan danışmanlarım; Prof. Dr. M. Fehmi ÖZGÜNER ve Doç. Dr. Önder ÖZTÜRK'e, beni yetiştirip, mekanizma bilimi olan fizyoloji sevdiren ve bu günlere gelmemde herbirinin farklı yönlerle katkıları olan Anabilim Dalımızdaki Öğretim üyesi ve tez jüri hocalarım, Prof. Dr. Sadettin ÇALIŞKAN, Prof. Dr. Halis Köylü, Prof. Dr. Ahmet KOYU ve Doç. Dr. Nurhan GÜMRAL'a, Tıbbi Biyokimya AD Araştırma laboratuvarlarında 1 yıllık uzun uğraşlarda destek olan, Yrd. Doç. Dr. Duygu KUMBUL DOĞUÇ ve Arş. Gör. Dr. İlter İLHAN'a ve Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine ve asistanlarına teşekkür ederim.

Tez çalışmasında; deney aşamalarının kurulumu ve uygulanmasında her zaman destek olan, Doç. Dr. Selçuk ÇÖMLEKÇİ ve Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK'e, istatistik değerlendirmeleri beraber yaptığımız Doç. Dr. Hikmet ORHAN'a, beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum ve güzel günler paylaştığım tüm asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim. Bu zamana kadar beni yetiştirip bu günlere getiren aileme, yakın dostlarıma bana desteğini esirgemeyen herkese sonsuz sevgilerimle...

Arş. Gör. Mustafa SAYGIN

Isparta, 2013

Bu tez çalışmasını, beni bugünlere getiren anneme ve onunla olmayı yaşayamadığım babama ithaf ediyorum...

Saygılarımla...

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
RESİMLER DİZİNİ	x
GRAFİKLER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Uykunun Tanımı ve Tarihçesi	3
2.2. Normal Fizyolojik Uyku	4
2.3. REM Uykusunun İşlevi	5
2.4. Uyku Siklusu	5
2.5. Uykunun Mekanizması.....	6
2.6. Uyku ile İlgili Nörotransmitterler.....	7
2.7. Uyanıklık ile İlgili Nörotransmitterler	8
2.8. Uyku Bozuklukları	9
2.8.1. Total Uyku Yoksunluğu	9
2.8.1.2. Uyku Yoksunluğunun Fizyolojik Etkileri.....	10
2.8.1.2.1. Nörolojik Değişiklikler.....	10
2.8.1.2.2. Otonomik Değişiklikler	11
2.8.1.2.3. Biyokimyasal Değişiklikler	11
2.8.2. Parsiyel Uyku Yoksunluğu	11
2.8.2.1. “Kısa-Dönem”Parsiyel Uyku Yoksunluğu	12
2.8.2.2. “Uzun-Dönem”Parsiyel Uyku Yoksunluğu	12
2.8.3. Selektif Uyku Yoksunluğu	13
2.9. Uyku Deprivasyonu ve Oksidatif Stres İlişkisi	13
2.10. Öğrenmenin Nörofizyolojisi.....	15
2.11. Öğrenme ve Bellek	16
2.11.1. Belleğin Sınıflandırılması	17
2.12. Uykunun Öğrenme ve Bellekle İlişkisi	19
2.13. Hipokampus.....	21

2.13.1. Hipokampüsün Yapısı ve Fonksiyonları	21
2.13.2. Hipokampüs ve Bellek.....	23
2.14. Öğrenme ve Hafızada Rol Alan Reseptörler	26
2.14.1. Glutamat Reseptörleri	26
2.14.1.1. N-Metil-D-Aspartat (NMDA) Reseptörlerinin Fizyolojisi	29
2.14.1.2. NMDA Reseptör Tipleri	34
2.14.2. Asetilkolin.....	35
2.14.2.1. Kolinergic Reseptörler	35
2.14.2.2. Nöronal Nikotinik Asetilkolin Reseptörleri	38
2.14.3. Serotonin.....	39
2.14.3.1. Serotonin Reseptörleri (5-HTR).....	40
2.14.3.2. Uyku, Öğrenme ve Hafıza ile İlişkili Serotonin Reseptörü	41
2.14.3.3. Serotonin Reseptörlerinin Genel Yapısı ve Transmembranal Sinyal Transdükleme Mekanizmaları.....	42
2.14.3.4. SSS'de Fizyolojik ve Patofizyolojik Rolü.....	42
2.15. Mekansal/Uzamsal Hafıza ve Morris Su Labirenti	44
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	46
3.1. Gereç	46
3.1.1. Deney Hayvanları	46
3.1.2. Kullanılan Malzemeler ve Aletler	47
3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	47
3.1.4. Kullanılan Çözeltiler.....	49
3.2. Gereç ve Yöntem.....	50
3.2.1. Morris Su Labirenti ve Uygulaması	50
3.2.2. Uyku Bozuklukları Uygulamaları.....	53
3.2.2.1. Kontrol Grubu	53
3.2.2.2. Total Uyku Deprivasyonu	54
3.2.2.3. Selektif Rem Uyku Yoksunluğu	55
3.2.2.4. Uyku Yoksunluğu Grubu	56
3.2.2.5. Deneyden Çıkarılan Sıçanlar ve Deneyden Çıkarılma Nedenleri.....	57
3.2.3. Hipokampüs Örneklerinin Homojenizasyonu	57
3.2.4. SDS-PAGE Yöntemi	58
3.2.5. Western Blot Yöntemi	58
3.2.6. Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELİSA) Yöntemi.....	58

3.2.7. Kolorimetrik Yöntem.....	59
3.2.8. İstatistiksel Analiz	60
4. BULGULAR	61
4.1. Morris Su Labirenti Verileri	61
4.1.1. Öğrenme	61
4.1.2. Görünür Platform Testi (Visible Platform Test).....	68
4.1.3. Bellek	74
4.2. Western Blot Analizi ile Hipokampüste NR2A, NR2B, nAChR $\alpha 7$ ve 5-HT _{2A}	86
4.3. Hipokampüste Glutamat, Asetilkolin ve Serotonin Nörotransmitter Düzeyleri	91
4.4. Hipokampüste Nitrik Oksit (NO), 8-OH-2'-Deoksiguanozin ve Tiyobarbitürat reaktif maddeler (TBARS) Düzeyleri	94
4.5. Hipokampüste Ca ⁺² ve Mg ⁺² Düzeyleri	96
4.5. Sıçanların Ağırlıkları	97
5. TARTIŞMA	100
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	115
ÖZET.....	116
ABSTRACT	117
KAYNAKLAR	118
ÖZGEÇMİŞ.....	132

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ACh	: Asetilkolin reseptörü
ACPD	: <i>trans</i> -(1S, 3R) -1-amino-1,3-cyclopentanedicarboxylic asit
AH	: Alzheimer Hastalığı
Aβ	: Amiloid β protein
AMPA	: Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolpropionat
AMPAR	: Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolpropionat reseptörü
APS	: Amonyum peroksodisulfat
EGTA	: Etilen glikol-bis tetraasetik asit
iGluR	: İyonotropik glutamat reseptörü
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
KAR	: Kainat tercih eden reseptörler
LTP	: Long term potensiyalizasyon
MDA	: Malon Dialdehit
nAChR	: Nikotinik Asetilkolin Reseptörü
NF-κB	: Nükleer faktör κ B
NMDA	: N-metil-D-aspartat
NMDAR	: N-metil-D-aspartat reseptörü
PVDF	: Polyvinylidene difluorid
NR2A	: NMDAR 2A subtipi
NR2B	: NMDAR 2B subtipi
NO	: Nitrik Oksit
PKA	: Proteinkinaz A
PKC	: Proteinkinaz C
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SDS-PAGE	: Sodyum dodesil sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforez
SSS	: Santral Sinir Sistemi
TEMED	: N, N, N ¹ , N ¹ - Tetrametilen-diamin
TTBS	: Tris-Tween-Buffer Saline

TNF-α	: Tümör nekroz faktör- α
8-OH-2'-	
DG	: 8-Hidroksi 2'- deoksiguanozin
TBARS	: Tiyobarbitürat reaktif maddeler.
MDA	: Malon Dialdehit
5-HT_{2A}	: Serotonin reseptör alttipi
nAch-α7	: Asetilkolin reseptör alttipi
PH	: Parkison Hastalığı
SD	: Total uyku deprivasyonu grubu
RD	: REM deprivasyonu grubu
SF	: Uyku yoksunluğu grubu
GABA	: Gama amino bütirik asit
LTP	: Long term potensiyasyon
LTD	: Long term depresyon
iGluRs	: İyonotropik glutamat reseptörleri
mGluRs	: Metabotropik glutamat reseptörleri
AMPAR	: α -amino-3-hidroksi-5-metil izoksozol propionat tercih eden reseptörler
KAR	: Kainat tercih eden reseptörler
PKA	: proteinkinaz A
PKC	: proteinkinaz C
BSA	: Bovin serum albümin
EPSP	: Eksitatör postsinaptik potansiyel
5-HT	: 5 Hidroksi triptamin (Serotonin)
5-HTR	: Serotonin reseptörü
TTBS	: Tris-Tween-Buffer Saline
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Çalışmada incelenen tüm parametrelerin aritmetik ortalama ve standart hata değerleri.	61
Tablo 2. Görünür Platform Testi için aritmetik ortalama ve standart hata değerleri. 68	
Tablo 3. Probe testinde platformun bulunduğu kadranda (2. Kadran, hedef hadran) yüzülen süre (sn) için, tüm grupların aritmetik ortalama ve standart hata değerleri.. 76	
Tablo 4. Probe testinde platformun bulunduğu kadranda (2. Kadran, Hedef Kadran) yüzülen mesafe (cm) için, tüm grupların aritmetik ortalama ve standart hata değerleri.	79
Tablo 5. Probe testinde sıçanların yüzdüğü ortalama hız (cm/sn) için, tüm grupların aritmetik ortalama ve standart hata değerleri.	81
Tablo 6. Probe testinde sıçanların yüzdüğü toplam mesafe (cm) için, tüm grupların aritmetik ortalama ve standart hata değerleri.	83
Tablo 7. Probe testinde dış kadranda yüzülen süre (sn) için, tüm grupların aritmetik ortalama ve standart hata değerleri.	85
Tablo 8. Western Blot analizi ile NR2A, NR2B, nAChR $\alpha 7$ ve 5-HT2A reseptör yoğunluklarının (optik dansite) ortalama ve standart sapma değerleri.	86
Tablo 9. Hipokampus dokusunda Glutamat Düzeylerinin ortalama ve standart Sapma değerleri.....	91
Tablo 10. Hipokampus dokusunda Asetilkolin Düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri.	92
Tablo 11. Hipokampus dokusunda Serotonin düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri.	93
Tablo 12. Hipokampus dokusunda NO _x , 8-OH-2'-Deoksiguanozin ve TBARS Düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri.	94
Tablo 13. Hipokampus dokusunda Ca ⁺² ve Mg ⁺² Düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri.....	96
Tablo 14. Sıçanların ağırlıklarının ortalama ve standart sapma değerleri.	97

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Uyanıklık ve uykunun regülasyonu	7
Şekil 2. Beyin sapında farklı nörotransmitter salgılayan nöronların bulunduğu merkezler.....	9
Şekil 3. Uzun ve kısa süreli hafıza türleri	19
Şekil 4. Limbik sistem içerisinde incelenen yapılar	21
Şekil 5. NMDA reseptörlerinin hücre içi trafiği.	29
Şekil 6. NMDA reseptörünün Glutamat aracılı uyarımı.....	33
Şekil 7. Serotonerjik yolda serotonin sentezi ve salınması.....	40
Şekil 8. Hipokampüste Serotonin aracılı reseptör aktivasyon mekanizması	99

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Bir sıçanın Morris Su Labirentinde izlediği yol ve alınan kaydın görünümü.	52
Resim 2. Gizli platformu bulmaya çalışan sıçan.	53
Resim 3. Kontrol grubu için platform uygulaması	54
Resim 4. Total uyku deprivasyonu grubu için platform uygulaması.....	55
Resim 5. Selektif rem uyku yoksunluğu grubu için platform uygulaması	56
Resim 6. Uyku yoksunluğu grubu için platform uygulaması	57
Resim 7. NR2A'ya ait Western Blot örneği	87
Resim 8. NR2B'ya ait Western Blot örneği.	88
Resim 9. nAchR $\alpha 7$ 'ya ait Western Blot örneği.	89
Resim 10. 5-HT _{2A} 'ya ait Western Blot örneği.....	90

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1a: Sıçanların günler arasında grup içi platforma ulaşma süreleri	63
Grafik 1b: Sıçanların günler içerisinde gruplar arasında platforma ulaşma süreleri ..	63
Grafik 2. Sıçanların günler arasında dış kadranda yüzdükleri mesafe.....	64
Grafik 3. Sıçanların günler arasında dış kadranda yüzdükleri süre	65
Grafik 4. Sıçanların günler arasında dış kadranda yüzdükleri sürenin yüzdesi	66
Grafik 5. Sıçanların günler arasında platformu bulana kadar yüzdükleri ortalama hızları.....	67
Grafik 6. Sıçanların günler arasında platformu bulana kadar yüzdükleri toplam mesafe	68
Grafik 7. Eğitim dönemi sonunda görünür platformu bulma süresi	70
Grafik 8. Eğitim dönemi sonunda görünür platforma yüzme hızı	71
Grafik 9. Eğitim dönemi sonunda görünür platforma doğru yüzülen mesafe	71
Grafik 10: SD grubu için, deney sonrası görünür platformu bulma süresi.....	72
Grafik 11. SD grubu için deney sonrası görünür platforma yüzme hızı	72
Grafik 12. SD grubu için, deney sonrası görünür platforma doğru yüzülen toplam mesafe	73
Grafik 13. Görünür platform testinde deney öncesi ve sonrası platformu bulma süresi	73
Grafik 14. Görünür platform testinde deney öncesi ve sonrası görünür platforma yüzme hızı	74
Grafik 15. Görünür platform testinde deney öncesi ve sonrası görünür platforma doğru yüzülen toplam mesafe	74
Grafik 16. Probe testinde hedef kadranda yüzülen süre	77
Grafik 17. Probe testinde hedef kadranda yüzülen mesafe.....	79
Grafik 18. Probe sıçanların yüzdüğü ortalama hızları.	81
Grafik 19. Probe testinde sıçanların yüzdüğü toplam mesafe.....	83
Grafik 20. Probe testinde dış kadranda yüzülen süre.....	85
Grafik 21. NR2A'ya ait optik dansite sonuçları	87
Grafik 22. NR2B'ya ait optik dansite sonuçları.....	88
Grafik 23. nAChR $\alpha 7$ 'e ait optik dansite sonuçları.	89
Grafik 24. 5-HT _{2A} 'ya ait optik dansite sonuçları	90
Grafik 25. Glutamat Düzeyi.....	92
Grafik 26. Asetilkolin Düzeyi.....	93
Grafik 27. Serotonin Düzeyi	94

Grafik 28: NOx Düzeyi.....	95
Grafik 29: 8-OH-2-Deoksiguanozin Düzeyi.....	95
Grafik 30: TBARS Düzeyi	96
Grafik 31: Ca ⁺² , Mg ⁺² ve Na ⁺² Düzeyi	97
Grafik 32: Tüm grupların ağırlıklarının günlere göre değişimi.	98

1. GİRİŞ

Uykuyu iyi anlamak için en önemli kavram uykuyu bir beyin süreci olarak görmektir. Uyku tek bir süreçten değil, herbiri farklılaşmış jeneratörler, düzenleyici mekanizmalar, elektroensefalografik değişiklikleri gösteren birkaç farklı süreçten oluşur.

Beyinde uyku ve uyanıklık dönemlerinin regülasyonu gerçekleşirken, normal uyku sırasında elektroensefalografi (EEG)'de değişik dönemler izlenir. Uyku, hızlı göz hareketlerinin görüldüğü REM (Rapid Eye Movement) dönemi ve hızlı göz hareketlerinin görülmediği Non-REM dönemi olarak iki bölümde incelenmektedir. Uykunun yaklaşık %20-25'lik bölümü REM, diğeri Non-REM döneminde geçmektedir.

Uyku bozukluklarında bu sikluslar bozulmakta veya uyku etkinliği azalmaktadır. Uyku kalitesinin etkilenmesiyle, Non-REM dönemini oluşturan evreler ya normal süresinden daha az görülmekte yada REM evresi gibi bir uyku evresi ortadan kalkabilmektedir. Uyku bozuklukları olan bireylerde gündüz aşırı uyku hali ve kognitif fonsiyonlarda bozulma görülürken, öğrenme ve hafıza fonsiyonları da olumsuz etkilenmektedir. Kognitif bozuklukla, uyku bozuklukları birbiriyle ilişkilendirilmektedir (Dere et al., 2010, Karabekiroğlu et al., 2005, Korn and Faber 1991). Bunun sonucu olarak, uyku evrelerinde gerçekleşecek olan normal fizyolojik mekanizmalar devreye girememektedir.

Uyku sırasında devreye giren en önemli fizyolojik mekanizmalardan biri olan öğrenme ve hafıza; limbik sistem de dahil olmak üzere, Santral Sinir Sistemi (SSS)'nin Medial Temporal Lob, Hipokampus, Neokorteks, Striatum, Amigdala, Serebellum ve Reflex yollar ile ilgili kompleks fonsiyonlardır (Barret et al., 2011).

Hipokampus Limbik sistemin bir parçasıdır, aynı zamanda hafıza (long term memory) ve spasyal (mekansal) navigasyonda da rol alır (Yıldırım 2000). Kısa süreli hafıza ile ilgili olduğu bilinmektedir (Green 1960). Yeni bilgilerin depolanma kapasitesi kısa süreli hafızada işlenmektedir. Bu nedenle mekanizma ne olursa olsun sağ ve sol hipokampus olmadan, verbal veya sembolik uzun süreli anıların kalıcı olması mümkün değildir (Serrano et al., 1997). Bu işlevde etkin olan fizyolojik

mekanizma ise, uzun süreli bir sinaptik ilişki türü olan Long Term potentiation (LTP)'dir. Özellikle REM döneminde gerçekleşen LTP ile gündüz öğrenilen bilgilerin belleğe alınması gerçekleştirilmektedir.

Hipokampüste yaygın olarak bulunan, glutamat reseptörlerinin bir alt tipi olarak tanımlanan N-metil-D-aspartat reseptörlerinin (NR2A ve NR2B), hipokampüse bağımlı mekansal ve mekansal olmayan hafızaların oluşmasında rol oynayarak öğrenme ve hafızada etkili olduğu düşünülmektedir (Ozawa et al., 1998, Candy and Brickley 2001, Clayton and Browning 2001). Serotonerjik (5-HT_{2A}) reseptörleri uyku ile ilişkili serotonin reseptörü alt tipidir. Sıçanlarda yapılan klasik koşullandırma deneyleri ile serotonin agonistlerinin, belleği (koşullu yanıt kazanmayı) ve assosiyatif öğrenmeyi artırdıkları gösterilmiştir. Bu olaya 5-HT_{2A} ve/veya 5-HT_{2C} reseptörlerin aracılık ettiğine inanılmaktadır. Özellikle 5-HT_{2A} reseptörlerinin, serotoninin öğrenme ve bellekle ilgili artırıcı etkisine aracılık ederler. Korteks ve hipokampus'ta kolinerjik nöronların öğrenme ve bellekle ilgili süreçlere katkısı olduğu düşünülmektedir. Fakat, serotonerjik sistem ve kolinerjik sistemin özellikle $\alpha 7$ subtipinin öğrenme ve hafızadaki rolleri tam olarak bilinmemektedir.

Bu çalışmada uyku bozukluklarının, öğrenme ve hafızayı nasıl etkilediği ve bunun olası moleküler mekanizması ortaya konulmaya çalışılacaktır. Öğrenme ve hafıza ile ilgili yolların daha iyi anlaşılabilmesi ve uyku bozukluklarında hedef reseptörler üzerinden spesifik tanı ve tedavi yaklaşımlarının gerçekleştirilmesine ışık tutacağını düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Uykunun Tanımı ve Tarihiçesi

Uyku; organizmanın çevreyle iletişiminin, değişik şiddette uyaranlar ile geri döndürülebilir bir biçimde, geçici, kısmi ve periyodik olarak kaybolması durumu olarak tanımlanmaktadır. Hayatımızın yaklaşık üçte birlik bir bölümünü harcadığımız uykunun gizemini çözmek için insanoğlu asırlar boyunca çaba harcamıştır. Pozitif bilimlerin henüz gelişmediği dönemlerde mitolojik olaylarda uyku anlaşılmaya ve anlatılmaya çalışılmıştır. (Karadağ and Ursavaş 2007). Bilim dünyasındaki kayıtlarda birçok büyük düşünür, Aristo, Hipokrat, Freud ve Pavlov uyku ve rüyanın psikolojik ve fizyolojik temellerini açıklamaya çalışmışlardır (Dement 1990). İskoç bilim adamı Robert MacNish'ın 1834 yılında yayınladığı "The Philosophy of Sleep" adlı kitabında, uyku "ölüm ile uyanıklık arasında bir dönem olarak" tanımlanmış; uzun süre bu görüşe inanılarak uykunun pasif bir süreç olduğu düşünölmüştü (MacNish 1834). Ancak gerçek anlamda uykunun sırları, uyku sırasında vücut fonksiyonlarının kaydedilmesi ve incelenmesiyle çözülmeye başlamıştır (Dement 1990). Bu konuda ilk gelişme Luigi Galvani'nin hayvan deneylerinde beyin hücrelerinde elektriksel aktivitenin varlığının tespitiyle başlamış ve Richard Caton tarafından EEG'yi oluşturan potansiyellerin bulunmasıyla şekillenmiştir (Kutlu 2000). Daha ayrıntılı ve 40'ın üzerinde tavşan, kedi ve maymunu içeren rapor British Medikal Journal'da 1877'de yayınlanmıştır. 1907'de Legendre ve Pieron, uykusuz bırakılmış köpeklerin serumunu uykudan yeni uyanmış köpeklere verdiklerinde, bu köpeklerin yeniden uykuya daldıklarını gözlemlemişlerdir. "Hipnotoksin teorisi" olarak adlandırılan bu teoriye göre, bir madde kanda birikmekte ve uykunun başlamasını da bu madde sağlamaktadır. (Legendre and Pieron 1910).

Uyanıklık ve uykunun regölasyonunda medulladan beyin sapına, hipotalamusa ve bazal ön beyine doğru uzanan birçok merkez ve nörotransmitter görev almaktadır. Ancak bunlardan hiçbirisi tek başına uyku veya uyanıklıktan sorumlu değildir. Uyanıklık beyin sapından gelen asendan eksitatör uyarıların kortikal aktivasyonu sağlamasıyla oluşur. Ana asendan eksitatör kaynak beyin sapındaki retiküler formasyon nöronlarıdır. Mezensefalik retiküler formasyondan

çıkan uyarılar talamus yoluyla kortekse ulaşmaktadır. Retiküler formasyon dışında posterior hipotalamusta bulunan histaminerjik nöronların ve kolinerjik bazal ön beyinde uyanıklıkta rolleri vardır. Uyku ise santral histaminerjik reseptörlerin farmakolojik blokajı, histamin sentezini sağlayan enzimlerin inhibisyonu, histaminerjik nöronların hasarı veya GABA agonistleri ile bu nöronların hiperpolarizasyonu sonucu oluşur (Özyardımcı 2003, Kaynak ve Ardıç 2011).

2.2. Normal Fizyolojik Uyku

Elektroensefalografi ilk kez 1929 yılında, bir alman bilim adamı olan, Hans Berger tarafından geliştirilmiş bir yöntemdir. EEG ile geniş bir nöron grubunun spontan elektriksel aktivitesindeki dalgalanmalar kafatası yüzeyinden kaydedilir. Bu yöntem beynin yapısal özelliklerinden çok o andaki fonksiyonel durumunu yansıtmaktadır. Bu nedenle uyku ve uyanıklıkta farklı özellikler göstermektedir. Uyku, hızlı göz hareketlerinin görüldüğü Rapid Eye Movement (REM) dönemi ve hızlı göz hareketlerinin görülmediği Non-REM dönemi olarak ikiye ayrılır. Uykunun yaklaşık % 20-25'lik bölümü REM, diğerleri Non-REM'dir. Non-REM 3 evreden oluşmaktadır.

Evre 1: Uykunun ilk siklusu yaklaşık olarak 1-7 dakika süren Evre 1 ile başlar. uyku-uyanıklık arası geçiş dönemidir. Alfa dalgası kaybolurken yerini düşük voltajlı yavaş aktivitelere bırakır, ardından verteks bölgesinde yüksek amplitüdümlü keskin dalgalar belirir.

Evre 2: Evre 1'i takiben devam eder ve 25 dakika kadar süren, yüzeysel uyku dönemidir. Frontosantral yerleşimli 12-14 Hz sinüzoidal yapıdaki uyku iğcikleri ve K kompleksleri görülen uykunun yaklaşık yarısı bu dönemdir.

Evre 3: Derin uyku dönemidir. Yüksek amplitüdümlü yavaş dalgalı yaygın düzensiz dalgalardan oluşur. Yaşın ilerlemesi ile yavaş dalgalı uyku zamanı azalır ve çok yaşlı bireylerde tamamen kaybolur Mental aktivite yokluğu ile birlikte. En büyük özelliği büyüme hormonundaki artıştır. Buna paralel olarak derin uykuda protein sentezi artar, tüm metabolizma yavaşlar ve fizyolojik aktivitelerde azalma dikkati çeker. Bu dönemde vücutta meydana gelen değişimlerin vücudun dinlenmesi ve yenilenmesini sağladığı kabul edilmektedir (Roehrs 2000).

REM Dönemi: Düşük voltajlı, değişken frekanslı bir aktivitedir ve rüyaların görüldüğü, hızlı göz hareketlerinin ve kaslarda atoninin olduğu dönemdir. Bazı REM uyku epoklarında göz hareket aktivitesi oldukça yoğun iken bazen yok ya da azdır. Bu durum fazik REM uyku ve tonik REM uyku olarak isimlendirilir. Uykudan REM döneminde uyananların yaklaşık % 80'i uyanırken son gördükleri rüyaları hatırlarlar. (Stanley 2005). İnsanda REM uykusunun mental aktivitesi rüya görme ile birliktedir. REM uykusunda; beyin sapı mekanizmaları yoluyla spinal motor nöronlarının inhibisyonu, postüral motor tonusun baskılanmasını düzenler. Kalp atımında taşikardi, bradikardi dönemleri gözlenmekle birlikte, solunum sayısı ve derinliği değişir. Beyin kan akımı üzerinde yapılan çalışmalar REM sırasında kan akımını uyanıklığa benzediğini göstermektedir. Tüm bu değişimler, fizyolojik aktiviteler açısından uyanıklıkla benzerlik göstermektedir. Bu yönüyle, REM uykusunun bir kısa tanımı da felçli bir vücutta yüksek derecede aktif bir beyin şeklindedir (Greenberg and Farah 1986).

2.3. REM Uykusunun İşlevi

Hayvan deneyleri, öğrenme ile REM arasında yakın ilişki olduğunu ortaya koymaktadır. Yeni bilgi edinildiğinde hayvanlarda REM uykusu artışı gözlenmiştir. Deneysel ortamda yeni bilgiler verilip daha sonra REM bozulursa, öğrenme de bozulmaktadır. Tüm bu deney ve gözlemlerden sonra, REM'in işlevi konusunda belli bağlı şu iki açıklama üzerinde durulmaktadır:

- a) REM'in amacı gün içinde yaşananları unutmaktır.
- b) REM, uyanıklıkta alınan bilgilerin düzenlenmesine hizmet etmektedir.

Bu yaklaşımlar birlikte ele alındığında, REM' in birey için gerekli olmayan kayıtları silmeye, gerekli olanları düzenlemeye ve böylece de bireyin ertesi güne duygusal ve bilişsel açıdan hazırlanmasına hizmet ettiği söylenebilir (Aydın and Özgen 1992).

2.4. Uyku Siklusu

Erişkinler uykuya Non-REM dönemi ile başlar ve en az 80 dakika sonra REM dönemine geçer ve gece boyu her 90 dakikada bir Non-REM, REM döngüsü 4-5 kez

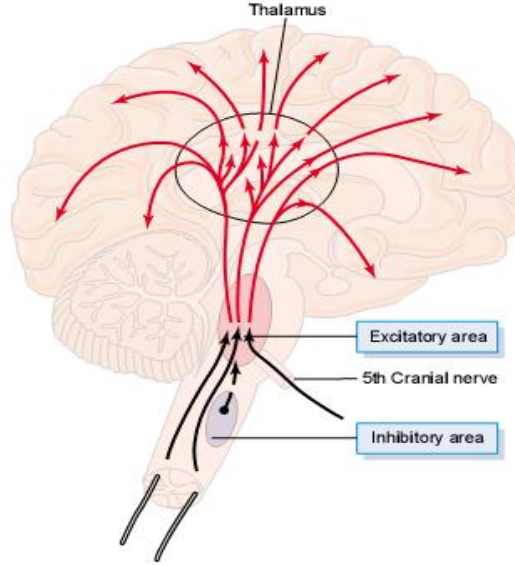
tekrarlar. Böylece uykunun ilk siklusu tamamlanmış olur. İlk uyku Non-REM dönemi evre 1 ile başlar ve yalnızca birkaç dakika sürer ve uyanma eşiği düşüktür, yani hafif sesli uyarı ile veya dokunmakla kolayca uyanır. Daha sonra kişi evre 2 uykuya geçer. Bu 10-25 dakika sürer. Uyanma için evre 1 uykuya göre daha yoğun bir uyaran gerekir. Uyku derinleşirse evre 3 uykuya başlar ve evre 1 ve evre 2' ye göre daha yoğun bir uyaran ile uyanabilir ve 20-40 dakikada ilk döngü tamamlanmış olur. Bunu 5-10 dakika süren evre 2 uykuya izler ve REM dönemi yaklaşmıştır. İlk REM dönemi 1-5 dakika gibi oldukça kısadır. REM uykusu gece daha kısa iken sabaha doğru süresi ve ağırlığı artar. Evre 3 uykusu sabaha karşı süresi iyice azalır ve kaybolur (Karadağ 2010).

Uyku süresi ve doğası, canlının yaşı ve vücudunun büyüklüğü yanında karada veya suda yaşamak gibi ekolojik öğelere de bağlıdır. Uyku süresi vücut ağırlığı ile ters orantılıdır. Örneğin 10-15 gram ağırlığa sahip yarasalar günde 18-20 saat uyurken, birkaç ton ağırlıktaki filler 3-4 saat, zürafalar ise 2-3 saat uyumaktadırlar (Siegel 1999). Memelilerde uyku süresi ile beslenme tercihleri arasında ilişki bulunmaktadır. En uzun uyku süresi etobur (carnivore), en kısa uyku süresi ise otobur (herbivore) hayvanlarda görülür. Hepçil (omnivore)'lerde ise ikisinin ortasındadır. (Tobler 2000). Uyku süresi türe göre değişmekle birlikte, memelilerde REM süresi, % 15-30 gibi bir oranda görülürken, kuşlarda % 5 oranında görülür (Siegel 1999). Yine kuşların çoğunda tavşan ve köpeklerde de REM uykusunda beklenen atoni olmamaktadır (Zepelin et al., 2005, Amlaner and Ball 1989, Pivik et al., 1981).

2.5. Uykunun Mekanizması

Uyanıklık ve uykunun regülasyonunda medulladan beyin sapına, hipotalamusa ve bazal önbeyine doğru uzanan birçok merkez ve nörotransmitter görev almaktadır. Ancak bunlardan hiçbiri tek başına uyanıklık veya uykudan sorumlu değildir. Temel olarak uyanıklık ve uykuyu aktive eden nöronlar pontis oralis, mezensefalik santral tegmentum, posterior hipotalamusta ve orta hat beyinsapı, dorsolateral meduller retiküler formasyon, anterior hipotalamik-preoptik alanlarda farklı konsantrasyonda ve farklı lokalizasyonda yer alırlar.

Uyanıklık; beyin sapı retiküler formasyonun dorsal yollarla non-spesifik talamo-kortikal projeksiyon sistemini, ventral yollarla da posterior hipotalamus ve bazal ön beyini fasilite eden nöronlarca sağlanır (Moruzzi and Magoun 1949).



Şekil 1. Uyanıklık ve uykunun regülasyonu

2.6. Uyku ile İlgili Nörotransmitterler

Uyku ilgili nörotransmitterler; Serotonin, Gaba-aminobutirik asit (GABA) ve Adenozindir.

Serotonin: Kedilerde serebral ventriküle serotonin verilmesi uykuyu indüklemeye, serotonin sentezinin baskılanması ise uzun süreli insomniye neden olmaktadır. Ancak, sonraki çalışmalarda dorsal rafe bölgesinin elektrikle uyarılması sonucu uyanıklık yanıtı ortaya çıkarken, soğutulmasının da uyanıklık yanıtına neden olduğu görülmüş (Jacobs et al., Cespuglio et al., 1976). Dorsal rafe nöronları uyanıklıkta aktif, NREM uykuda az aktif ve REM döneminde inaktiftir (España and Scammell 2004). Serotonin preoptik alandaki bazı hipnojenik nöronlarda genomik olayları başlattığı, böylece uyanıklıkta serotonin salınmasının yavaş dalga uykusunu homeostatik olarak düzenlediği ileri sürülmüştür (Jouvet 1999).

GABA: Gabaerjik nöronlar bazal önbeynin ventrolateral preoptik (VLPO) çekirdeğinde bulunur. Uykuda aktif olan GABAerjik nöronlar, histaminerjik ve diğer uyanıklık oluşturan hücre gruplarının inhibe ederek uykunun başlatılmasında ve

sürdürülmesinde çok önemli rol oynamaktadır (Stenberg 2007). Yavaş dalga uykusu süresince posterior hipotalamusta, REM uykusu süresince dorsal rafe ve locus coeruleus'ta GABA düzeyi artmaktadır. REM uykusunun başlatılması ve sürdürülmesinde GABAerjik nöronların aktif olarak rol aldığı düşünülmektedir (Jones 2005, Nitz and Siegel 1997).

Adenozin: Yavaş dalga uykusunda rol oynadığı düşünülen adenozin, uyanıklık sürdükçe beyinde artmakta ve uykuyu takiben düşmektedir (Jones 2005) Bu nedenle uykunun humoral düzenlenmesinde aranan “uyku faktörü” olarak düşünülmektedir (Öztürk 2008).

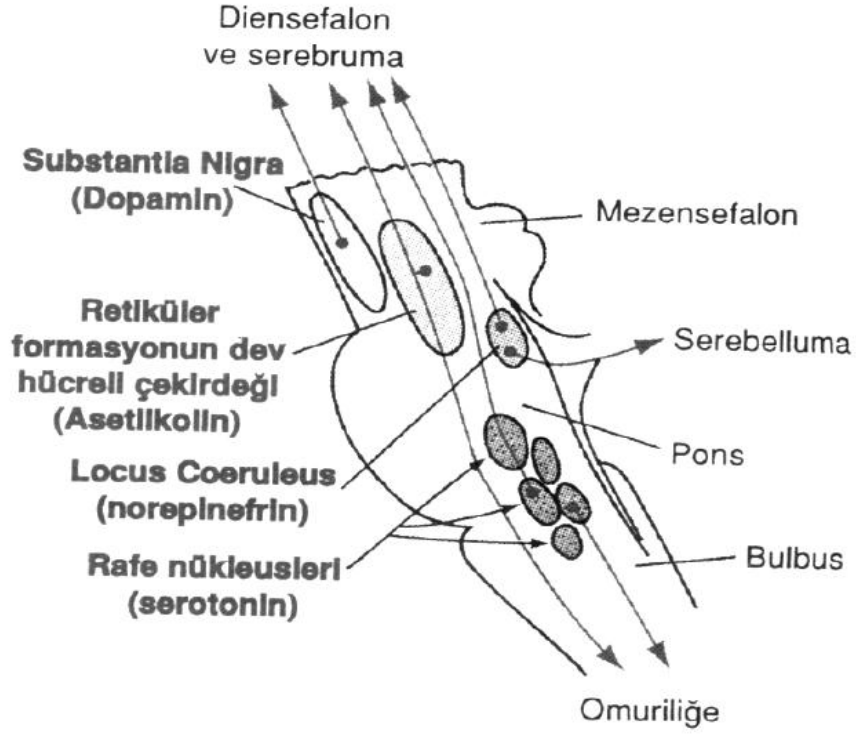
2.7. Uyanıklık ile İlgili Nörotransmitterler

Uyanıklıkla ilgili nörotransmitterler; asetilkolin, noradrenalin, histamindir.

Asetilkolin: Merkezi sinir sisteminde uyku/uyanıklıkla ilgili iki önemli bölgede kolinerjik nöronlar bulunur: 1- PPT-LDT alanı (pedunkulopontin ve laterodorsal tegmental çekirdekler) ve 2- bazal ön beyin. PPT-LDT kolinerjik nöronları uyanıklık ve REM uykusu süresince aktif durumda bulunarak talamik röle çekirdekleri üzerinden talamokortikal aktivasyonu sağlar. Pons düzeyinde asetilkolin enjeksiyonu kedilerde kas atonisi ile birlikte REM uykusu benzeri bir duruma neden olmuştur (Marrosu et al., 1995). Bazal önbeyinden asetil kolin salgılanması ile EEG'de gama ve teta frekans bandlarının görülmesi arasında pozitif korelasyon, delta aktivitesi arasında ise negatif korelasyon vardır (Stenberg 2007)

Noradrenalin (NA): Beyinsapında noradrenalin salgılayan nöron grupları esas olarak locus coeruleus ve lateral tegmental bölgede bulunur. Noradrenalin uyanıklıkta salgılanır. Lateral tegmental bölgeden salgılanan NA ile hipotalamus ve motor davranış kontrol edilirken, locus coeruleus duysal girdi ve kortikal aktivasyonu düzenler (Öztürk 2008)

Histamin: Beyindeki histaminin tek kaynağı posterior hipotalamusta bulunan tuberomamiller çekirdek nöronlarıdır. Histaminin serebral ventriküllere doğrudan verilmesi kortikal aktivasyona neden olarak uyanıklık düzeyini arttırmaktadır (Lin et al., 1988, Öztürk 2008).



Şekil 2. Beyin sapında farklı nörotransmitter salgılayan nöronların bulunduğu merkezler.

2.8. Uyku Bozuklukları

Amerikan Uyku Bozuklukları Birliği (American Sleep Disorders Association-ASDA) tarafından Uluslararası Uyku Bozuklukları Sınıflaması (International Classification of Sleep Disorders -ICSD) ismi ile 1991 yılında yayınlanmıştır. 2005 yılında yeniden sınıflama yapılmıştır. Uyku deprivasyonu, uyku yoksunluğu ve REM deprivasyonu gibi uyku bozuklukları uykunun sirkadiyen ritm bozuklukları sınıflandırması içinde ele alınmaktadır.

Uyku bozukluklarının organizma üzerine etkileri, üç şekilde incelenmektedir;

1. Total uyku yoksunluğu
2. Parsiyel uyku yoksunluğu
3. Selektif uyku yoksunluğu

2.8.1. Total Uyku Yoksunluğu

Total uyku yoksunluğu; yoksunluk süresine göre total uyku yoksunluğu (40 saat ve daha az süreli) ve uzamış total uyku yoksunluğu (40 saatten uzun süren

kesintisiz uyanıklık) olarak ikiye ayrılmaktadır. Uzamış total uyku yoksunluğu da kendi içinde hafif (41-72 saat), orta dereceli (73-120 saat) ve ileri derecede (120 saatten fazla) olmak üzere üçe ayrılmıştır (Jovanovic 1991).

Uyku yoksunluğunun en belirgin etkisi, uykululuk halidir. Bu durum, MSLT (multiple sleep latency test) testi ile EEG değişikliklerinin kaydı veya sadece kişinin durumundan anlaşılabilir. Uyku yoksunluğunun etkileri davranışsal ve fizyolojik olarak iki bölümde incelenebilir (Angus et al., 1985).

2.8.1.2. Uyku Yoksunluğunun Fizyolojik Etkileri

Uykusuzluk süresince görülen değişiklikler; nörolojik (EEG bulguları dahil), otonomik ve biyokimyasal değişiklikler olarak sınıflandırılabilir.

2.8.1.2.1. Nörolojik Değişiklikler

Uykusuz bir kişiyi görsel olarak tanımlamak kolay olmasına rağmen, ölçülebilir nörolojik değişiklikler nispeten küçüktür ve çabuk geri döner. Uzamış uyku yoksunluğu çalışmalarında (205 saat veya daha fazla) hafif nistagmus, ellerde tremor, konuşmada telaffuz bozuklukları ve ptozis bildirilmiştir (Kollar et al., 1968). Korneal refleks tembelliği, hiperaktif kusma refleksi, hiperaktif derin tendon refleksleri ve artmış ağrı hassasiyeti gibi bulgular daha aşırı uykusuzluklarda bildirilmiştir (Ross 1965). Tüm bu değişiklikler, telafi uykusundan hemen sonra kaybolur. Uyku kaybında karakteristik EEG değişiklikleri olur. Uyku kaybı süresince alfa dalgalarında lineer bir azalma olduğu ve 24 saat uykusuzluk sonrası denekler, 10 saniyeden daha fazla alfa ritmini devam ettiremediği gösterilmiştir. 72 saat uykusuzluktan sonra bu süre 4-6 saniyeye; 120 saat uykusuzluk sonrası ise 1-3 saniyeye düşmüştür. Deneklerin gözleri kapalı tutularak EEG kayıtları yapıldığında, EEG'deki alfa paterninin süresi, uykusuzluğun erken döneminde % 65 iken, 100 saat uykusuzluk sonrası bu oran % 30'a düşmüştür. Uyanıklık EEG'sindeki delta ve teta aktiviteleri de % 17 ve % 12'den sırasıyla % 38 ve % 26'ya yükselmiş, beta aktivitesinde ise bir değişiklik bulunamamıştır (Rodin et al., 1962).

2.8.1.2.2. Otonomik Değişiklikler

İnsanlarda uyku yoksunluğuna bağlı otonom sinir sistemi ile ilgili değişiklikler azdır. Çalışmaların çoğunda, parmak nabız hacmi, sistolik ve diastolik kan basıncı kalp hızı, solunum frekansı ve tonik ve fazik deri iletkenliğinde bir değişme saptanmamıştır (Bonnet 1989). Çeşitli çalışmalarda uyku yoksunluğu sırasında vücut ısısında 0.3 ile 0.4 °C lik küçük düşüşler bulunmuştur (Johnson et al., 1974). Bunun yanında uyku kaybının hipoksi ve hiperkapniye yanıtta % 20' lik bir azalmaya yol açtığı gösterilmiştir (Copper and Philips 1982, Schiffman et al., 1983, White et al., 1983). Bu değişiklikler gelişen bir sistem iflasının erken bulguları olmaktan çok, geçici bir ayar noktası değişikliği olarak yorumlanmaktadır.

2.8.1.2.3. Biyokimyasal Değişiklikler

Çeşitli çalışmalarla insanlarda uykusuzlukla gelişen biyokimyasal değişmeler incelenmiştir. Genellikle plazma kortizolünde, epinefrin ve ilişkili bileşiklerinde, katekolamin sekresyonunda, hematokrit değerinde, plazma glukozunda, kreatinin'de ya da magnezyum değerlerinde uyku kaybı süresince değişiklik saptanmamıştır (Bonnet MH 1989). Kan komponentlerinin analiz sonuçları büyük ölçüde idrar komponentleriyle paralellik gösterir. Tiroid hormonlarında muhtemelen sürekli uyanıklığa bağlı olarak artan enerji ihtiyacına ikincil olarak artış bildirilmiştir (Palmlad et al., 1979). Prolaktin ve büyüme hormonu gibi sirkadien ritimler açısından uykuya bağımlı olan hormonlar, uyku kaybı süresince salınımlarının periyodik paternlerini kaybederler (Akerstedt 1979). Uyku kaybı veya selektif NREM uykusu yoksunluğundan sonraki telafi uykusunda büyüme hormonunda geri tepmeler (rebound) bildirilmiştir (Karacan et al., 1971). Ayrıca, uyku yoksunluğu sırasında melatonininde arttığı tespit edilmiştir (Acherman and Borbely 1990).

2.8.2. Parsiyel Uyku Yoksunluğu

Total uyku zamanında, uyku dönemlerine spesifik olmayan azalmalara, parsiyel uyku yoksunluğu denir. Bu tip uykusuzluk, gerçek hayatta en sık karşılaşılan uykusuzluk şeklidir. Kısa ve uzun süreli olmak üzere iki şekilde incelenmektedir.

2.8.2.1. “Kısa-Dönem”Parsiyel Uyku Yoksunluğu

Birçok çalışmada, bir veya iki gece sürdürülen kısmi uykusuzluğun performans ve uyku değişkenleri üzerine etkileri incelenmiştir. Bir gece için dört saatlik uykuya izin verilen bir çalışmada, ertesi gün deneklerde performans azalması bulunmamasına rağmen, “Multiple Sleep Latency Test” gün içi uykululuk düzeyinde artış bulunmuştur (Carskadon et al., 1981). 3 saatten daha fazla uykuya izin verilen parsiyel uykusuzluk çalışmalarında, uyku dönemlerinin gece boyunca olan dağılımı nedeniyle, en çok REM ve Evre 2 uykusu görülür. Bir gece için uyku süresinin 2-4 saat arasına indirilmesinden sonraki telafi uykusu, normal uyku paterninden pek fazla sapma göstermez. Total uyku süresinde küçük bir artış kaydedilebilir (Webb and Agnew 1975, Carskadon et al., 1981). Eğer ad libitum uykuya izin verilirse total uyku süresindeki artışın öncelikle Evre 2 ve REM uyku artışından kaynaklandığı görülmektedir (Webb and Agnew 1975).

2.8.2.2. “Uzun-Dönem”Parsiyel Uyku Yoksunluğu

Uyku kısıtlaması, bir geceden daha uzun sürerse bazı kümülatif etkiler ortaya çıkabilir. Uyku evreleri dikkate alındığında, parsiyel uykusuzluk gecelerinin sayısı arttıkça yavaş dalga uykusu (slow wave sleep, SWS) hariç diğer tüm evrelerin miktarında azalma gözlenir (Bonnet 1989, Öztürk 1997).

Uyku periyotları kıaldıkça Evre 3 uyku daha belirgin hale gelir. Bir çalışmada, 8 gün süre ile gece uykusu 3 saate indirildiği zaman dahi telafi uykusunda NREM’de geri tepme (rebound) gözlenmediği görülmüştür (Webb and Agnew 1965). 42 gün süresince 6 saatlik uyku periyotları, gündüz ölçümlerinde herhangi bir değişikliğe neden olmamıştır (Horne and Wilkinson 1985). Uyku süresinin 5,5 saate indirildiği bir çalışmada, 60 günlük takip sonucu ancak son iki haftada, dikkat performansında bir miktar düşüş bildirilmiştir. NREM uyku periyodunun başlangıcına doğru kaymış ve REM uyku % 25 azalmıştır (Webb and Agnew 1974). Parsiyel uyku kaybı çalışmaları, 8 saat uyuyan erişkinlerde 2-3 saat kronik azalmanın tolere edilebileceğini göstermektedir. Performans ve dikkat azalmalarının 5 saatten daha kısa uyku periyotları ile ortaya çıktığı, fakat daha uzun süreli uyku sağlandığında herhangi bir parametrede değişme olmadığı yönünde fikir birliği vardır

(Bonnet 1989). Bir başka görüşe göre de, insanlarda 24 saat için temel uyku ihtiyacı 4 saattir (Horne 1987).

2.8.3. Selektif Uyku Yoksunluğu

Bu tür çalışmalarda uykunun bir veya birkaç dönemi selektif olarak elimine edilmeye çalışılır. Selektif yoksunluk çalışmaları daha çok, REM ve NREM uykusunun işlevsel önemini araştırmayı hedeflemiştir. Denekler uykunun belli bir dönemine girdiklerinde uyandırılarak, o dönemin uyuması engellenir. Bu çalışmalar REM döneminin tanımlamasından sonra başlamıştır. REM uyku yoksunluğunun; saldırganlık, artmış seksüel ve beslenme davranışlarını ortaya çıkardığı bildirilmiştir (Webb and Agnew 1974).

Selektif NREM baskılanması çalışmaları çok daha az sayıdadır. Baskılanma sırasında deneklerin NREM'e girme eğilimlerinin artmasına ve telafi uykusunda belirgin NREM geri tepmeleri (rebound) izlenmesine rağmen, gündüz aktivitelerinde ölçülebilir bir değişme saptanamamıştır (Johnson et al., 1974).

2.9. Uyku Deprivasyonu ve Oksidatif Stres İlişkisi

Uyanıklık ve uyku ritmi ve dönemlerinin oksidan-antioksidan sistemle ilişkisi özellikle hayvanlarda araştırılmaktadır. Bu konuda ileri sürülen ilk hipotezlerden biri uyanıklıkta beyinde serbest radikallerin biriktiği, bunun uyku sırasında temizlendiği şeklindedir (Reimund 1994). Uykuda özellikle uridin ve glutatyon yoluyla beyinde oksidatif detoksifikasyon olduğu ileri sürülmüş ve bu detoksifikasyon GABAerjik ve Glutamaterjik transmisyon ile ilişkilendirilmiştir (Inoue et al., 1995).

Uyku deprivasyonunun oksidan-antioksidan sistemle ilişkisi deney hayvanlarında araştırılmıştır (D'Almeida et al. 1998, D'Almeida et al., 2000, Ramanathan 2002). Silva et al. (2004), uyku deprivasyonunun fare hipokampusündeki oksidatif strese etkisini araştırdıkları çalışmalarında, hiokampüste okside glutatyon oranının azaldığını ve aynı zamanda lipid peroksidasyonunun kontrol grubuna göre uyku deprivasyonu grubunda arttığını göstermişlerdir. Bir başka çalışmada Vollert et al. (2011), ayak değirmeni egzersisinin koruyucu rolünü anksiyete benzeri davranışın uyku deprivasyonu ile indüklenmesinde, oksidatif stres

mekanizmasıyla ilişkisini araştırmışlardır. Akut uyku deprivasyonu ile korteks, hipokampus ve amigdala da egzersiz öncesi oksidatif stres ve aynı zamanda serum kortizol düzeyi artmıştır. Egzersiz yapmış uyku deprivasyonlu sıçanda hipokampüste antioksidan defans enzimleri, olan glioksalaz (GLO) ve glutatyon reduktazın (GSR) arttığını rapor etmişlerdir. Khadrawy et al. (2011), 72 saat REM uyku deprivasyonu yaptıkları çalışmalarında, korteks ve hipokampüste lipid peroksidasyonu ve glutatyonun azalması sonucunda, 72 saat REM uykusunun $Na^+,-K^+-ATPase$ inhibisyonu ve asetilkolinesteraz aktivitesinin inhibe ederek belleğin bozulması, beyin eksitabilitesi ve aksiyetenin artmasının oksidatif stres aracılığı ile olduğunu öne sürmüşlerdir.

Uyku deprivasyonun insanda oksidatif hasara yol açıp açmadığı veya uykunun oksidatif strese karşı koruyucu rol oynayıp oynamadığı da tam olarak bilinmemektedir. Oksidatif stres kanser, ateroskleroz, diyabetes mellitus ve nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok patolojik tablonun patogeneğinde olduğu gibi biyolojik yaşlanmanın mekanizmasında da rol almaktadır. Oksidatif stres oksidan üretimi ile antioksidan korunma arasındaki dengesizlik nedeniyle ortaya çıkar. Bu dengesiz oksidan üretimi artışına ve/veya antioksidan korunmadaki azalmaya bağlı olabilir. Hücresel düzeyde ise bu imbalans protein, lipid ve nükleik asitlerin oksidatif modifikasyonu nedeniyle yapısal hasarla sonuçlanabilir (Poon et al., 2004). Temel hücresel oksidanlar reaktif oksijen türlerini (ROT, O_2 ve H_2O_2 gibi) ve reaktif nitrojen türlerini (RNT; NO gibi) içerir. Her ne kadar ROT'lar büyük oranda elektron transport zincirinin bir ara ürünü ise de, NADPH oksidazlar ve nitrik oksit sentazlar gibi mitokondri dışı kaynaklar yoluyla da üretilebilir (Halliwell and Gutteridge 1995). Uyanıklıkta beyinde oksidan etkinlikte artış olduğu oksidanların uyku sırasında temizlendiği teorik olarak ileri sürülmüş (Reimund 1994), fakat insanlarda yapılan uyku ve uyanıklıkta beyin metabolizmasındaki değişimleri gösteren çalışmalar (Bonnet et al., 1991, Bettendorff et al., 1996, Maquet 2000, Maquet P 2005) ve hayvanlarda yapılan beyin ve perifer dokuların uyku ve uyanıklıktaki oksidan antioksidan durumunu inceleyen çalışmalar (D'Almeida et al., 1997, D'Almeida et al. 1998, D'Almeida et al., 2000, Ramanathan et al., 2002) çelişkili sonuçlar vermiştir. Hemen tümüyle mitokondriyal respirasyona dayanan beyin enerji metabolizması, uyanıklıkta ve REM uyku döneminde non-REM uyku dönemine göre

daha fazladır (Hashimoto 1974). Periferik metabolik hız, serebral korteks glutamaterjik iletim ve ekstrasellüler nitrik oksit konsantrasyonu spontan uyanıklıkta ve uyku deprivasyonunda non-REM uyku dönemine göre artmıştır (Bonnet et al., 1991, Bettendorff et al., 1996). Fakat uzun süreli uyku deprivasyonu sonrasında serebral glikoz utilizasyonunda azalma olmaktadır (Everson et al., 1994). Bu bulgular beyin enerji metabolizmasının uyku-uyanıklık ritminden daha öte spontan uyanıklık, kısa süreli ve uzun süreli uykusuzluk, REM uykusu ve non-REM uykusu dönemlerinin her birinde farklılıklar gösterdiğini ortaya koymaktadır. Beyinde ve/veya periferik dokularda spontan uyanıklıkta, uyku deprivasyonunda uykunun REM ve non-REM dönemlerinde oksidan ve antioksidan sistemin ne durumda olduğu ile ilişkili hayvanlarda birçok çalışma yapılmıştır. D'Almeida ve arkadaşları hayvanlarda REM uyku deprivasyonunun lipid peroksidasyonu veya antioksidan defansta bir değişikliğe yol açmadığını bildirmiştir (D'Almeida et al., 1997). Fakat daha sonra aynı araştırmacılar uyku deprivasyonunun hipotalamus ve talamusta glutasyon düzeyinin azaldığını göstermişlerdir (D'Almeida et al., 1998). Fakat bu çalışmaya metodolojik yönden kimi itirazlar olmuştur (Gopalakrishnan et al., 2004). Sıçanlarda uyku deprivasyonu ile antioksidan enzim olan SOD aktivitesinin hipokampus ve beyin sapında azaldığı saptanmıştır (Ramanathan et al. 2002). Fakat yakın zamanda yine sıçanlarda yapılan daha detaylı bir çalışmada ise ne kısa süreli ne de uzun süreli uyku deprivasyonunun beyinde ya da periferik dokularda oksidatif strese neden olmadığı gösterilmiştir. Uzun süreli uyku deprivasyonunda beyin metabolizmasındaki nisbi azalma ve noradrenerjik sistem etkinliğindeki değişikliklerin oksidatif ürünlerin potansiyel artışına karşı koruyucu rol oynayacakları da ileri sürülmüştür (Gopalakrishnan et al., 2004).

2.10. Öğrenmenin Nörofizyolojisi

Öğrenmenin nörofizyolojisi ile ilişkili olarak öngörülen en önemli mekanizma sinaptik filizlenme (synaptic plasticity)'dir. Çalışmalar, öğrenme ile "sinir hücrelerinin ve sinirsel ağların yaşantıya bağlı yeniden organizasyon"unun ve değişen şartlarla birlikte ortaya çıkan yeni ihtiyaçları karşılamak için beyinde yaşam boyu sürekli bir "kendi kendini düzenleme" (self-adjustment) ve "bir üst düzeyde yenileme"nin (self-optimization) sürüp gittiğini göstermektedir (Arendt 2001). Bu

bulgular, önceki kanıların aksine, beyin çok daha fazla biçimlendirilebilir, şekillendirilebilir bir organ olduğunu göstermektedir. Artık belirli beyin alanların işlevleri doğumla birlikte gelen ve ilk yıllarda şekillenen değişmez yapılar olarak düşünülmeğe çok, öğrenmeyle birlikte hayat boyu yeniden şekillenen dinamik oluşumlar olarak görülmeye ve değerlendirilmeye başlanmıştır (Kolb and Whishaw 1998, Gülpınar and Berrak 2004).

Beynin yaşantıya bağlı kendi kendini yeniden düzenlemesi yapısal, biyokimyasal ve/veya işlevsel düzeylerde gerçekleşmektedir. Öğrenme ve bellek ile ilgili genel kabul gören ve en iyi tanınan model uzun süreli güçlendirme (LTP; long-term potentiation) ve uzun süreli baskılama (LTD; long term depression)'dır. Hipokampüste gerçekleşen bu iki fenomen LTP ile sinaptik etkinlikte artış, LTD ile azalma olur. Bellek ve öğrenme için hem LTP hem de LTD'a ihtiyaç vardır, sadece biri öğrenmeye yeterli düzeyde bir açıklama getirememektedir. Öğrenme ve bellek sürecine sinaptik düzeyde (nöronlar arası bağlantı noktalarında) bir dizi değişiklik eşlik eder. Jean-Pierre Changeux tarafından "sinapsın seçici sağlamlaştırılması" olarak ifade edilen bu değişim sürecinde:

Mevcut sinaptik bağlantının güçlendirilmesi,

Yeni sinaps oluşumu (sinaptik filizlenme),

Daha önce oluşan sinaptik bağlantıların zayıflaması (destabilization), meydana gelmektedir.

2.11. Öğrenme ve Bellek

Beynimiz sinir hücreleriyle örülmüş bir ağ gibidir. Yeni bilgilerin önceki bilgilerle birleştirilmesi, daha önce edindiğimiz bilgilerin geri çağırılması bu ağ sayesinde gerçekleşmektedir (Peker 2007).

Bireylerin bilinçli ya da bilinçsiz olarak etkileşimde buldukları yaşantılar neticesinde, sinir sistemi tarafından elde edilen bilgilerin ve davranıştaki değişikliklerin izlenmesi işlemi, öğrenme olarak adlandırılır. Öğrenmenin doğasını ve doğurduğu sonuçları açıklamaya yönelik ortaya atılan kuramları bugün için; davranışçı, bilişsel, duyuşsal ve nörofizyolojik ya da beyin temelli kuram olarak sıralamak mümkündür. Nörofizyolojik ya da diğer adıyla beyin temelli kuramda,

öğrenme biyokimyasal bir değişim olarak açıklanmaktadır. Buna göre öğrenme, yeni dendritler ya da yeni beyin yapısı oluşturmaktır. Yani insan öğrenmektedir, çünkü beyin kendi nöral devrelerini değiştirebilmektedir (Keleş ve Çepni 2006).

Nöronların oluşturduğu ağ örüntü sayısı ne kadar fazla olursa, bilgi işleme süreci o kadar güçlü olur.

Öğrenmeyi etkileyen temel etmenler; bellek, dikkat, çevre, duygular, isteklendirme (motivasyon), örüntüleme, beslenme, su ve uyku olarak sıralanmaktadır (Keleş E ve Çepni 2006).

Bellek ise; geçmiş yaşantıları, öğrenilen konuları, bilgileri ve bunların geçmişle ilişkisini bilinçli olarak zihinde saklama gücü ve hatırlama (geri çağırma) becerisidir (Purves 2004, Keleş ve Çepni 2006, Peker 2007). Hücresel boyutta bellek, nöron demetlerinin ateşlenmesi olarak tanımlanabilir. Bellek öğrenilen bilgileri kaydeder, işler, depolar ve gerektiğinde geri çağırılmasını sağlayarak istenildiği zaman kullanılmasına olanak sağlar.

2.11.1. Belleğin Sınıflandırılması

Bazı anılar sadece birkaç saniye zihinde kalırken, bazıları dakikalar, günler, aylar ve hatta yıllar boyunca zihinde kalırlar. Başlangıçta bellek bozulmaya elverişlidir. Yani benzer başka bir materyalin öğrenilmeye çalışılması, ilk materyale ait bilginin tutulduğu belleği bozabilir. Ancak günler ve haftalarca devam eden bellek zamanla konsolide olur (sağlamlaşır). Bilgilerin daha uzun süre bellekte saklanması için tekrarlama çok önemlidir. Ayrıca beyin bilgileri belleğe kaydederken, işlerken ve depolarken, bilgilerin belirli ve benzer özelliklerine göre sınıflara ayırır. Bu yüzden belleğin sınıflandırılması bilginin saklanma süresine ve saklanan bilginin tipine göre gerçekleşir. Bilginin saklanma süresine göre bellek; kısa süreli bellek (short-term memory) ve uzun süreli bellek (long-term memory) olarak sınıflandırılmaktadır. Saklanan bilginin tipine göre de; deklaratif bellek (declarative memory, explicit memory) ve non-deklaratif bellek (non-declarative memory, implicit memory) olarak sınıflandırılmaktadır (Purves 2004, Keleş ve Çepni 2006, Peker 2007).

Kısa-sürelî bellek: Bilginin sadece geçici bir süre için (unutulana ya da saklanana kadar) tutulmasından sorumlu sistemdir. Bireyin gördüğü, işittiği, duyduğu, tattığı ya da hissettiği şeyler oluşturur. İki alt bileşene ayrılır;

Anlık Bellek: Bilginin alındığı andan itibaren akılda aktif bir şekilde tutulmasından sorumlu sistemdir. Şu anki dikkatimizin odaklandığı bilgiyi tutar. Kapasitesi çok azdır (7-10 birim), tekrarlama yapılmadığı takdirde 30 sn'den kısa sürelidir.

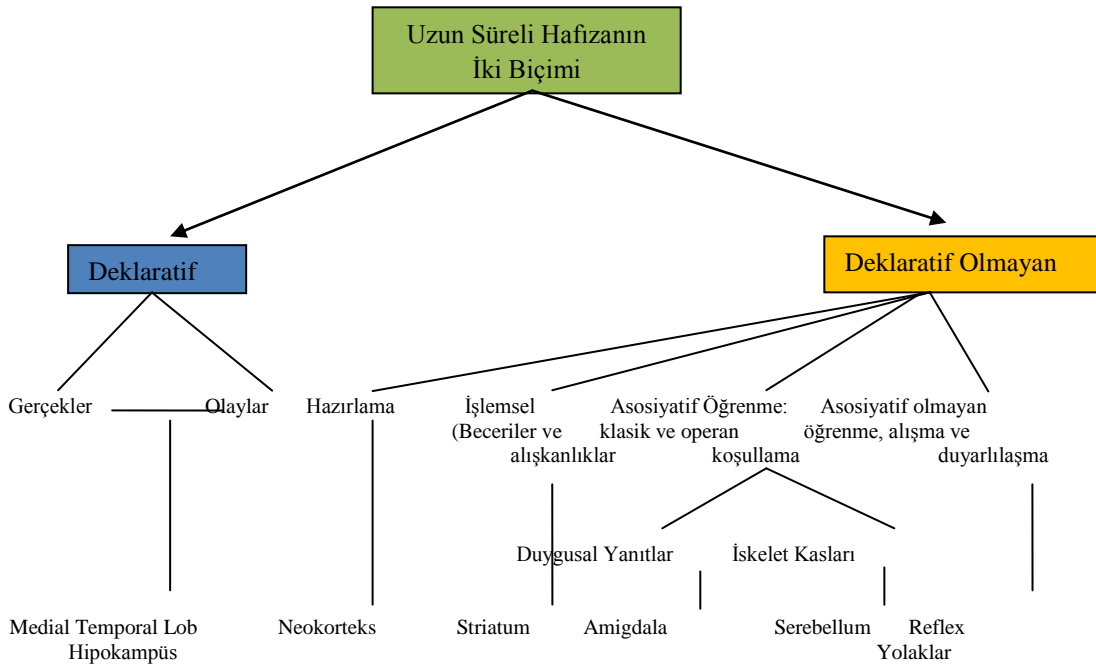
İşler bellek: Anlık Bellekteki bilgi aktif bir şekilde tekrarlanırsa, tutulma süresi uzatılabilir (dakikalarca). Anlık Belleğin bu şekildeki uzatılmış şekline working memory denilmektedir. Kısa süreli bellekteki bilgi sürekli tekrarlanırsa, uzun süreli belleğe aktarılmış olur. Kısa süreli belleğin oluşumunda sinapslardaki kimyasal değişiklikler rol oynamakta ve kısa süreli bellekteki bilgiler bir süre hipokampüste saklandıktan sonra uzun süreli belleğe aktarılmaktadır (Squire 2004, Purves 2004, Keleş ve Çepni 2006, Peker 2007).

Uzun süreli bellek: Bilginin kısa süreli bellekten daha uzun bir süre saklanması, depolanması ve gerektiğinde geri çağrılabilmesidir. Kısa süreli belleğin aksine sınırsız bir kapasitesi vardır. Uzun süreli bellek oluşumunda sadece sinapslardaki kimyasal mekanizmalar değil, aynı zamanda gerçek yapısal değişiklikler rol oynamaktadır. Bilgilerimizi ömür boyu saklayabiliriz ve potansiyel olarak bu bilgilere ulaşabiliriz ancak her zaman geri çağıramayabiliriz. Uzun süreli bellekte sözcükler genellikle işitildikleri sesleriyle birlikte değil, taşıdıkları anlamları ile saklanmaktadır. Bunun dışında uzun süreli bellekte ses, koku ve görüntülerin saklanması da mümkündür. Bir bilginin uzun süreli bellekte saklanması ancak beynimizdeki nöral bağlantılarda meydana gelen kalıcı fonksiyonel, biyokimyasal ve yapısal değişikliklerle gerçekleşebilmektedir (Squire 2004, Purves 2004, Keleş ve Çepni 2006, Peker 2007).

Bilginin kısa süreli bellekten uzun süreli belleğe aktarılış şeklinde farklılıklar vardır. Buna göre, uzun süreli bellek işlemsel bellek (procedural memory) ve deklaratif bellek (declarative memory) olarak sınıflandırılabilir. İşlemsel bellek örtük (implicit) bir süreçtir. Geçmişteki tecrübelerle dayanarak bireyin davranışlarını etkileyen bellektir. Ancak bilinçli olarak bu davranış değişikliklerinin farkına

varılamaz. Bilinçsiz ve otomatiktir. Motor becerilerin edinilmesiyle ilgilidir. Araba kullanmak, bisiklete binmek, bir müzik aleti kullanmak işlemsel bellek ile ilgilidir. Bir kez öğrenildikten sonra davranışlar otomatik olarak gerçekleşir (Squire 2004).

Deklaratif bellek: Deklaratif bellek explicit memory ya da bilinçli bellek olarak da adlandırılabilir. Olaylar, kavramlar, yüzler, müzik, kelimeler deklaratif belleğe aittirler. Bunları hatırlarız ve söyleriz ve bunu bilinçli bir şekilde yaparız. Deklaratif bellekte bilgi; kodlanır, depolanır, geri çağrılır ve unutulur. Deklaratif belleğin uzun-sürelili saklanmasında medial temporal lob önemli bir rol oynamaktadır. Bu lob, bilginin öğrenilmesinde ve uzun süreli belleğe yerleştirilmesinde önemli rol oynamaktadır (Squire 2004, Purves 2004, Keleş ve Çepni 2006, Peker 2007).



Şekil 3. Uzun ve kısa süreli hafıza türleri (Barrett 2011).

2.12. Uykunun Öğrenme ve Bellekle İlişkisi

Öğrenmenin, bellek oluşumu ve heyecansal düzenlemelerle, uyku arasında bir ilişki olduğu bilinmektedir. Bunun en belirgin örneği uykusuz geçen bir geceden sonraki günde yaşanan gerginlik, yoğunlaşma güçlüğü ve verimsizliktir. Bunların ötesinde, yapılan deneysel araştırmalarda, yeni bilgiler öğrenildiğinde REM miktarının arttığı dikkati çekmektedir. Hayvan deneylerinde de, yeni bir davranışı öğrenen hayvanda REM deprivasyonu yapılırsa öğrenme bozulmaktadır. Bu

gözlemler, öğrenme ile REM arasındaki ilişkinin varlığına işaret etmektedir. Araştırmalar, mental aktivitenin uykuda da sürdüğüne, semantik kaynağın belirleyici olduğuna, REM’de mental aktivitenin, içerik, süre ve heyecansal ton yönünden delta uykusundakinden fazla olduğuna işaret etmektedir (Aydın 1994, Cicogna et al., 2000, Karakaş et al., 2000).

REM döneminde kolinerjik sistemin kontrolünde gerçekleşen etkileşim, bir yandan bellek kayıtlarının işlenmesi ve bu sırada tüm santral sinir sisteminin aktif oluşu ile heyecansal katılımla birlikte bir bütün halinde düzenlemeye aracılık etmektedir. Böylece uykuda da bellek ve duygu alanındaki kayıtlar işlenerek bir sonraki günün hazırlıkları yapılmaktadır (Woolf 1996).

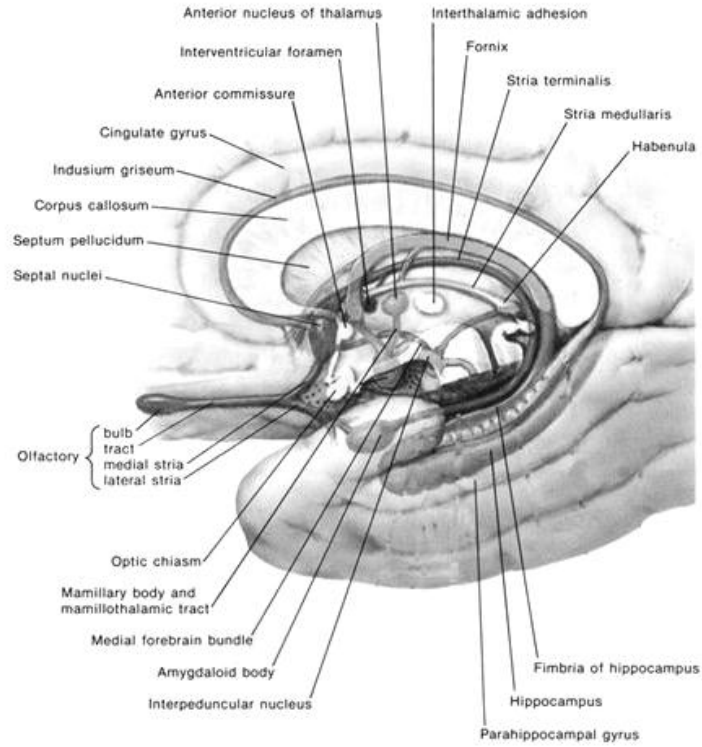
Öğrenme ve bellek konusunda özellikle REM uyku ile ilgili çeşitli teoriler ileri sürülmektedir. Nobel ödülü almış moleküler genetikçiler olan Crick ve Mitchison, REM uykusunun uyanıklık süresince kaçınılmaz şekilde ortaya çıkan milyonlarca nöronal bağlantının gereksiz olanlarından beyni temizleme işlevi gördüğünü ileri sürmüşlerdir (Maquet 2001).

Araştırmacılara göre gün boyunca yaşanan olaylar, beyinde yeni nöronal bağlantıların gelişmesine ve anıların depolanmasına neden olmaktadır. Bunlar arasında önemi olmayanlar ya da kötü olanlar ortadan kaldırılarak karışıklıklar engellenmektedir. Bu süreç araştırmacılar tarafından “negatif öğrenme” olarak adlandırılmakta olup REM uykunun, beyne böyle bir öğrenme olanağı sağlamadığı da ileri sürülmektedir (Jouvet 1998). Fakat REM uykusu hafızanın birleştirilmesi ve kognitif fonksiyonun stabilizasyonunda önemli rol oynamaktadır (Challamel 1992, Stickgold et al., 2001).

Uyku, öğrenme sürecinin vazgeçilmezidir. Gerek insan gerekse hayvan deneylerinde uykunun öğrenmeyi pekiştirdiği, uyku bozukluklarının ise öğrenme ve hafıza üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu bilinmektedir. Bir bilgiyi ya da görevi öğrendikten hemen sonra, gece ya da gündüz uykuya daldığımızda, bilgilerimiz tekrar edilerek kalıcı hale getirilmektedir.

2.13. Hipokampüs

Hipokampüs, temporal korteksin lateral ventrikülünün alt boynuzunun tabanı boyunca uzanan, kıvrılmış bir gri cevher parçasıdır. Hipokampüse bu ad, koronal kesitte denizatına benzediği için verilmiştir. “Ammon boynuzu” olarak adlandırılır. Limbik sistemin bir parçasıdır, aynı zamanda uzun dönemli hafıza (long term memory) ve spasyal (mekansal) navigasyonda da rol alır (Yıldırım 2000).



Şekil 4. Limbik sistem içerisinde incelenen yapılar

2.13.1. Hipokampüsün Yapısı ve Fonksiyonları

Hipokampüs, limbik sistem içerisinde önemli fonksiyonlarıyla merkezi bir rol oynamaktadır. Hipokampüs ve ona bağlı temporal lop yapıları; serebral korteks, amigdala, hipotalamus, septum, mamiller cisimler gibi temel limbik sistem bölgeleriyle sayısız indirekt bağlantılar gösterir ve “hipokampal formasyon” adını alır.

Beyinde en yüksek glukokortikoid hormon reseptörü bölgesi olması nedeniyle, glukokortikoid hormonun (kortizol) nöroendokrin kontrolünü sağlar.

Plazma kortikosteroid düzeyleri üzerine olan etkisini indirekt olarak hipotalamusa negatif feed back yapmak suretiyle gösterdiğine inanılmaktadır (Yıldırım M 2000).

Hipokampus genelde hipokampal formasyon içerisinde zikredilir. Bu yapı da; gyrus dentatus, Cornu Ammonis bölgeleri olan CA1, CA2 ve CA3 (CA4 genellikle hilus olarak geçer ve gyrus dentatusun bir parçası olarak düşünülür) ve “subiculum” yapılarından oluşmaktadır.

Hareketlerin davranış biçimine dönüşmesinde önemli role sahip bulunan Limbik Sistem, çok sayıda sinyali hipokampustan alır. Yine hafıza ve özellikle de kısa süreli hafıza üzerinde rolü olan hipokampusün yokluğunda, verbal veya sembolik anıların saklanması mümkün olmayacaktır.

Uykunun REM safhasında yakın hafıza olarak tutulan bilgilerin sağlamlaştırılması meydana gelir. Bu safhada, hipokampusa işaret eden serotonerjik rafe nukleusları aktiftir. Derin uykuda neokorteksteki EEG kayıtları düzenli ve senkronize ritim gösterirken, hipokampal EEG kayıtları desenkronizedir. Uyanıklık durumunda ise neokortikal kayıtlar desenkronize olmasına rağmen, hipokampus yavaş ve düzenli bir ritim gösterir. Hipokampusün EEG dalgaları ritmik sinüzoidal tipteki teta dalgalarıdır. Bu durum yapının spontan aktivitesini ve bilincin değişik devrelerle ilişkili olduğunu göstermektedir (Songur ve ark., 2001).

Öğrenme ve hafıza, limbik sistem de dahil olmak üzere, SSS'nin birçok bölgeleri ile ilgili kompleks fonksiyonlardır. Yeni edinilen bilgilerin depolanmasında hipokampal formasyonun önemli rolü olduğu bilinmektedir. (Guyton and Hall 1996, Cizkova et al., 1996).

Hipokampusün hafıza, özellikle de kısa süreli hafıza ile ilgili olduğu bilinmektedir (Green 1960). Yeni bilgilerin depolanma kapasitesi kısa süreli hafızada işlenmektedir. Bu nedenle mekanizma ne olursa olsun sağ ve sol hipokampus olmadan verbal veya sembolik uzun süreli anıların kalıcı olması mümkün değildir (Serrano et al., 1997). Sağ hipokampus görsel, sol hipokampus ise sözel hafıza ile ilgili fonksiyonlarda daha fazla aktivite göstermekte ve bu bölgelerin lezyonlarında da ilgili hafızalarda kayıp gelişmektedir (Kandel et al., 2000).

Kısa süreli belleğin birleştirilmesi ve güçlendirilmesinde rol alan hipokampus, farelerde korteksin % 45'ni oluştururken, insanlarda bu oran % 1'den

azdır. Hipokampus kendisine gelen sinyallerin bir kısmını çeşitli ölçütlerle karşılaştırarak, kısa süreli bellekten orta veya uzun süreli belleğe taşır. İnsanlarda, hipokampuse gelen ana girdi parahipokampal girus kaynaklıdır. Bu yapı, limbik sistem, duyuşal korteks ve duyuşal entegrasyon alanları başta olmak üzere, serebral korteksin bütün alanları ile ilişki içinde olan tek yapıdır. Bu hipokampuse gelen mesajın ne kadar işlenmiş mesaj olduğu ve yine aynı zamanda beyne giren yeni bir enformasyonun, ne kadar çok bilgi ile karşılaştırılarak zengin bir bağlamda işlendiğini gösterir (Guyton and Hall 1996).

Hipokampüsü etkileyen lezyonu olan hastalarda kısa süreli belleğin uzun süreli belleğe dönüştürülemediği gözlemlenmiştir. Alzheimer Hastalığı (AH)'ında, beynin ilk hasar gören bölgelerinden biridir. İlk semptomlarından bazıları hafıza problemleri ve disoryantasyondur (Dere 1990).

Uzun süreli bellek yeni gelen enformasyonun mevcut bilgilerle, farkları ve benzerlikleri açısından karşılaştırılarak pekiştirilmesi ile oluşmaktadır. Bu ise bir dizi kimyasal, fiziksel ve anatomik değışiklikleri beraberinde getirir. Hipokampus, bilginin pekiştirilmesinde önemlidir. Hipokampus kısa süreli bellekten aldığı bilgileri kodlayıp anlamlandırarak, ilgili kortikal bölgelere, depolanmak üzere gönderir. Hipokampusun çıkarılması durumunda, daha önce kaydedilmiş bilgiler üzerine ciddi etki gözlenmezken, yeni sözel ve sembolik anıların orta ve uzun süreli belleğe geçirilmesinde ve depolanmasında kayıplar olur (anterograd amnezi) (Carola et al., 1990, Guyton and Hall 1996).

2.13.2. Hipokampüs ve Bellek

Yüksek sistemli omurgalılarda açık hafıza deposunun en önemli yapılarından biri hipokampustur. Hipokampusun üç büyük yolağı vardır:

-Perforan yolak: Entorhinal korteksten dentat girusun granüllü hücrelerine gitmektedir.

-Mossy fiber yolak: Granül hücrelerinin aksonlarını içermekte ve hipokampusun CA3 bölgesindeki piramidal hücrelerde sonlanmaktadır.

-Schaffer kollateral yolak: CA3 bölgesindeki piramidal hücrelerin uyarıcı kollaterallerinden oluşmakta ve CA1 bölgesindeki piramidal hücrelerde sonlanmaktadır.

Uzun süreli potansiyasyon (LTP-long term potentiation) omurgalılarda hafızada önemli olan nöral plastisitenin bir türüdür. LTP kısa, yüksek frekanslı bir uyarı takiben postsinaptik nöronun kalıcı olarak depolarize olması anlamına gelmektedir. Hafızanın fizyolojik olarak karşılığıdır. LTP hafızada önemli işlevleri olduğu bilinen hipokampusta, en belirgindir. LTP'nin altında yatan düzenek hipokampusun yukarıda bahsedilen üç yolağında aynı değildir.

Mossy fiber yolaktaki LTP presinaptiktir ve uyarı sonrası presinaptik hücreye Ca^{+2} akışına bağlıdır. Ca^{+2} akışı, Ca/kalmodulin bağımlı adenil siklazı aktive etmekte ve cAMP seviyesini artırmaktadır. cAMP seviyesinin artması da presinaptik nörondaki protein kinaz A'yı aktive etmektedir (Huang et al., 1995)

Mossy fiber yolakta transmitter olarak glutamat salınmaktadır. Glutamat ise hedef piramidal hücrelerdeki NMDA ve non-NMDA reseptörlerine bağlanmaktadır. Bu yolakta postsinaptik NMDA ve metabotropik glutamat reseptörlerinin blokajının ve postsinaptik Ca^{+2} girişinin LTP üzerine etkisi yoktur (Huang 1994, Mellor and Nicoll 2001).

Schaffer kollateral yolağındaki LTP ise postsinaptiktir ve transmitter olarak glutamat kullanılmaktadır. Schaffer kollateral yolaktaki LTP, NMDA tip glutamat reseptör aktivasyonu ile başlar (Bolshakov et al., 1997). Bu yolaktaki LTP pek çok afferent aksonun uyarılmasını gerektirmektedir. Bu duruma işbirliği (cooperativity) adı verilmektedir (Fujii et al., 2003, Mehta 2004).

NMDA reseptör kanalından Ca^{+2} 'un geçebilmesi sadece iki durum bir araya geldiğinde mümkündür:

- Glutamat postsinaptik NMDA reseptörüne bağlanmalıdır,
- Postsinaptik hücrenin membran potansiyeli pek çok afferent aksonun aynı anda ateşlemesiyle kanalın ağzından Mg 'u uzaklaştıracak kadar depolarize olmalıdır.

Ancak Mg uzaklaştığında postsinaptik hücreye Ca^{+2} akışı gerçekleşmektedir. Ca^{+2} akışı ile, Ca^{+2} bağımlı serin-treonin protein kinazlar; Ca/kalmodulin bağımlı

protein kinaz ve protein kinaz C, protein kinaz A ve tirozin protein kinaz aktive olmakta ve sinaptik geçiş sürekli bir şekilde artmaktadır (Grant et al., 1992). Postsinaptik hücrede NMDA kanalları aracılığıyla Ca^{+2} akışı sonrası presinaptik hücrede transmitter salınmasında da artış olmaktadır (Malinow and Tsien 1990). Presinaptik hücrenin LTP'nin oluşumundan haberdar olması retrograd mesajcılarla olmaktadır. Yeni yapılan farmakolojik ve genetik deneylerde nitrik oksit'in (NO) LTP'de retrograd haberci olabileceğine dair deliller bulunmuştur (Huang and Kandel 1994). LTP'nin oluşumunda NMDA reseptörleri dışında AMPA (alfa-amino-3-hidroksi- 5-metil-4-isoksazol-propionik asit) glutamat reseptörlerinin duyarlılığında değişiklik olması ve metabotropik glutamat reseptörlerinin işbirliğinin gerektiğine de inanılmaktadır (Fujii et al., 2003, Li et al., 2004).

LTP'nin tersi gibi düşünülebilecek olan uzun süreli depresyon (LTD) da yine sinaptik plastisitenin bir türü olarak karşımıza çıkmaktadır. Uzun süreli düşük frekanslı uyarının sonucunda sinaptik iletimin gücünde azalma olması gerekmektedir. LTD'da da NMDA, AMPA ve metabotropik glutamat reseptörlerinin cevabındaki değişikliklerin rol oynadığı düşünülmektedir (Li et al., 2004, Wu 2004).

Uzun süreli potansiyasyonun erken ve geç fazları LTP'nin de hafıza deposuna benzer fazları vardır. Erken LTP 1 ile 3 saat sürmekte ve yeni protein sentezi gerektirmemektedir. Dört veya daha fazla uyarın LTP'nin en az 24 saat süren daha kalıcı fazını (geç LTP) tetiklemekte ve bu faz yeni protein ve RNA sentezi gerektirmektedir. Schaffer ve Mossy fiber yolaklarında kısa dönem faz için gerekli düzenekler birbirinden farklıdır. Fakat uzun dönem faz her iki yolakta benzer görünmektedir. Her iki yolakta da geç faz LTP yeni mRNA ve protein sentezi gerektirmektedir ve cAMP-protein kinaz A-MAPK-CREB ileti yolağını kullanmaktadır (Huang and Kandel 1994). Bu yüzden cAMP'nin uyardığı mitojen aktive protein kinaz (MAPK) aktivitesi nöral plastisite ve uzun süreli hafıza deposu için çok önemlidir (Morozov et al., 2003). Kemiricilerde MAPK inhibitörlerinin cAMP'ye bağlı LTP'yi bozduğu gösterilmiştir (Patterson et al., 2001).

Akut stres sıçanlarda hipokampal LTP'yi baskılar (Korz and Frey 2003). LTP zaten nöral plastisitenin bir ölçütüdür ve strese oldukça duyarlıdır. Aksine çevresel uyarın zenginliği beyinde beyin kaynaklı nörotrofikfaktör (BDNF) düzeylerini,

LTP'yi ve dendritik yoğunluğu artırmaktadır (Kim et al., 2001, Spedding et al., 2003).

2.14. Öğrenme ve Hafızada Rol Alan Reseptörler

Beynin hipokampus olarak adlandırılan bölgesinde, sinapslar yüksek frekanslı elektrik sinyalleriyle uyarılınca sinaptik bağlantılar güçlenir. Düşük frekanslı elektrik sinyalleriyle uyarılırsa sinaptik bağlantılar zayıflar. Sinaptik bağlantının artması ya da azalması, beyinde bilgilerin nasıl depolandığı ve silindiğini açıklayan en geçerli mekanizma olarak kabul edilmektedir.

80'li ve 90'lı yıllarda nörobiyologlar sinaptik bağlantıların güçlenmesi ve zayıflaması gibi hadiselerin, sinir hücresi zarında bulunan, NMDA molekülü reseptörlerine bağlı olduğunu gösterdiler. 1996 yılında Princeton Üniversitesi'nden Jeo Tsien NMDA alıcılarının hafıza ve öğrenme ile alakalı rollerini araştırmak için deney farelerinin beyinlerinin hipokampus bölgesinde bulunan NMDA reseptörlerinin NR1 alt ünitesini bir metotla baskıladılar. Bu fareler boyut ve yön gibi mekanla alakalı hadiseleri anormal şekilde algılamış ve buna bağlı olarak mekanla ilgili hafıza kaybına uğramışlardır (McHugh et al., 1996).

Kolinerjik nAChR $\alpha 7$ izoformu olan reseptörün öğrenme ve hafızadaki rolü çalışılmış ve $\alpha 7$ izoformunun ekspresyonu ile öğrenme ve hafızayla anlamlı ilişki saptanmıştır (Kara 2009).

Serotonin reseptörlerinden 5-HT_{2A} subtipi uyku ile ilişkili olan reseptördür. 5-HT_{2A} reseptörler beyin korteksinde ara nöronlarda bulunur ve piramidal hücrelerin GABAerjik ara nöronlar tarafından inhibisyonunda rol oynar. Serotonin bellekle ve öğrenmeyle ilgili artırıcı etkisine aracılık ederler.

2.14.1. Glutamat Reseptörleri

Glutamat, memeli SSS'inde önde gelen eksitatör nörotransmitterdir Beyinde oldukça yüksek konsantrasyonlarda bulunurlar (glutamat 10 mmol/L ve aspartat 4 mmol/L). Sinir terminallerindeki sinaptik geçişi yönlendirir ve nöron içine iyon geçişini kontrol ederler (Ozawa et al. 1998).

Glutamat reseptörleri memelilerin SSS'deki çoğu uyarıcı sinir iletisini düzenlemektedir. Glutamat reseptörleri hafıza ve öğrenme fonksiyonlarına katkıda bulunan sinaptik iletide rol alırken, bir yandan da sinir sisteminin gelişimi esnasındaki nöronlar arası bağlantının da oluşturulmasına katkıda bulunmaktadır. Glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonları ise santral nöronların ölümüyle sonuçlanır. Glutamat nörotoksitesi değişik nörodejeneratif hastalıkların meydana gelmesinde de rol oynar. Bu yüzden Glutamat reseptörlerinin, beyin fonksiyonlarının hem fizyolojisinde hem de patolojisinde yer almaktadır (Ozawa et al., 1998, Heresco 2003). Glutamat reseptör ailesinin amino asit dizilişi asetilkolin (ACh), GABA ve glisin reseptörlerine çok az benzediğinden, Glutamat ayrı bir ailenin üyesidir (Goebel and Poosch 1999).

Glutamat reseptörleri, temelde postsinaptik membranda lokalizedir. Başlıca 2 tipi vardır.

I- İyonotropik glutamat reseptörleri (iGluRs): Doğrudan iyon kanallarını kontrol eder.

II- Metabotropik glutamat reseptörleri (mGluRs): İkincil haberciler üzerinden dolaylı olarak iyon kanallarını kontrol eder (Goebel and Poosch 1999, Cull-Candy and Brickley 2002).

Bu güne kadar memeli SSS'inde 16 adet iGluRs cDNA'sı ve 8 adet mGluRs cDNA'sı tanımlanmıştır. Şimdiye kadar izole edilen 16 adet iGluRs cDNA'sının; 4 tanesi Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazol propionat reseptör (AMPA) altbirimi (GluR1, GluR2, GluR3, GluR4), 5 tanesi kainat reseptör altbirimi (GluR5, GluR6, GluR7, KA1, KA2) ve 7 tanesi NMDA reseptör altbirimidir (NR1, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D, NR3A, NR3B). Günümüzde glutamat reseptör genlerinin ekspresyonunu manipüle edici birçok farklı teknik kullanılarak, glutamat reseptörlerinin tüm fizyolojisi ve patolojisi geniş bir şekilde araştırılmaktadır. Birçok orguda iGluRs altbirimleri değişik laboratuvarlar tarafından ayrı ayrı ve de eş zamanlı olarak klonlandığı için benzer altbirimlere her biri farklı isimler vermişlerdir (Ozawa et al., 1998).

I. İyonotropik Glutamat Reseptörleri:

Presinaptik sinir terminallerinden salınan glutamat molekülleri iGluRs'e bağlandığında bir elektriksel olaya döndürülen kısa bir kimyasal sinyal meydana getirmektedir. Postsinaptik depolarizasyonla sonuçlanan net bir iç akıma izin veren bir integral katyon seçici kanal içeren iyonotropik glutamat reseptörleri 3 geniş gruba ayrılır:

1. α -amino-3-hidroksi-5-metil izoksozol propionat tercih eden reseptörler

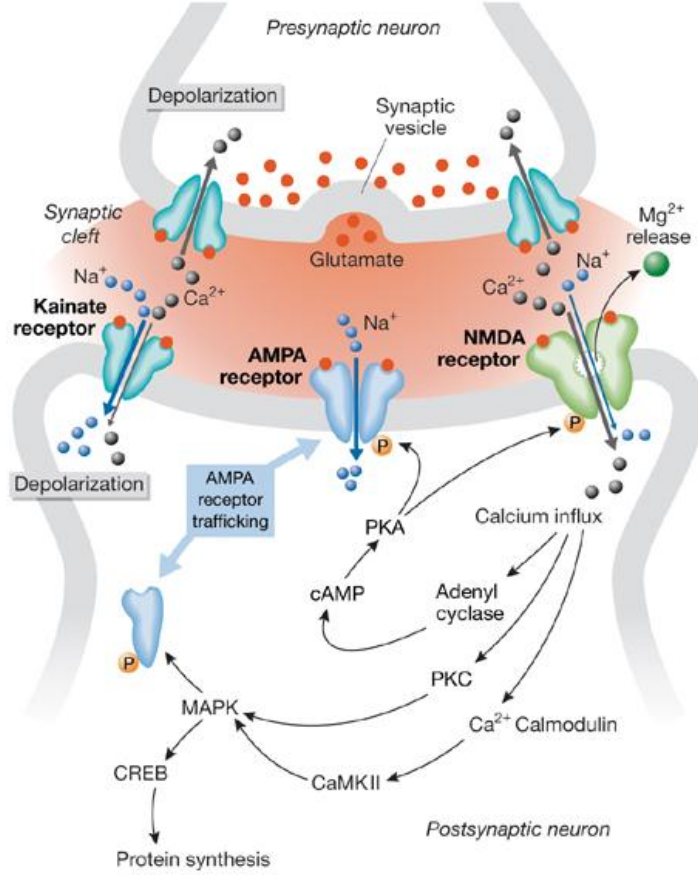
(AMPA)

2. Kainat tercih eden reseptörler (KAR)

3. N-metil D-aspartat tercih eden reseptörler (NMDAR) (Goebel and Poosch 1999, Cull-Candy and Brickley 2001, Carroll and Zukin 2002).

II. Metabotropik glutamat reseptörleri

Metabotropik reseptörler GTP-bağlayıcı proteinlerle (G proteinleri) bağlantılıdır ve intraselüler mesajcıların üretimini kontrol etmektedirler (Meldrum et al., 1999, Smith et al., 2001). Trans-(1S, 3R)-1-amino-1,3-cyclopentanedicarboxylic asit (ACPD) ile selektif olarak aktive olurlar. Glutamat, iyonotropik reseptörler üzerinden eksitasyon yaparken, metabotropik reseptörler üzerinden eksitasyon veya inhibisyon oluşturabilmektir (Goebel and Poosch 1999, Cull-Candy and Brickley 2001, Carroll and Zukin 2002).



Şekil 5. NMDA reseptörlerinin hücre içi trafiği.

2.14.1.1. N-Metil-D-Aspartat (NMDA) Reseptörlerinin Fizyolojisi

Gen knockout teknikleri kullanılarak öğrenme ve hafızada rolü olan NMDAR'ne bağlı sinaptik plastisite keşfedilmiştir. Yapılan bu deneyler, CA1 hipokampal NMDAR'nün hipokampusa bağımlı mekansal hafıza ve mekansal olmayan hafızanın oluşması için gerekli olduğunu ortaya koymuştur (Yakamura and Shimoji 1999). Öğrenmenin değişik formlarının meydana gelmesinde rolü olan hipokampusta sinaptik plastisitenin bir türü olan “uzun süreli potansiyalizasyon-long term potentiation (LTP)” öğrenme ve hafızanın nöronal mekanizmalarını araştırmak için, yaygın olarak kullanılmaktadır (Petrie et al., 2000, Carroll and Zukin 2002). Daha önceki çalışmalar hipokampal sinaptik plastisitenin LTP benzeri formlarının mekansal öğrenme ve hafıza ile ilişkili olabileceğini göstermiştir (Carroll and Zukin 2002).

NMDA reseptör dağılımını saptamak için bir dizi değişik radyoligandlar kullanılarak ligand bağlama çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalarda; NMDA

reseptörlerinin tüm beyinde yaygın bulunurken, dominant olarak ön beyinde bulunduğu gösterilmiştir. Tüm beyindeki en yüksek düzeyler ise hipokampusdaki CA1 bölgesindedir. Duysal ileti ve iletinin integrasyonu ile motor fonksiyon ve aktivitenin koordinasyonu ve programlamasında yer alır (Coyle et al., 1981). Bu reseptör başlıca 6 bölge içerir:

1. NMDA ve diğer agonist tanıma bölgesi: NMDA, glutamat ve diğer agonistler ile reaksiyona girer. Reseptör içindeki iyon kanalının açılmasını sağlayarak normal eksitator etkinin oluşmasını sağlar. Stimülasyonun sürmesi halinde ise patolojik eksitotoksik etki ortaya çıkar. Kompetitif eksitator aminoasit antagonistleri buraya yapışmak için glutamatla yarışır.

2. Katyon bağlanma bölgesi: Kanal içinde yer alır, buraya Mg^{+2} bağlanır ve membran boyunca olan iyon akımını bloke eder. Mg^{+2} 'un etkisi agonist ve voltaj bağımlıdır. Yani iyon kapısı olarak işleyen reseptörü istirahat membran potansiyeli (-70 mV) durumunda bloke eder. Reseptörün tekrarlayan, uzun süreli uyarılarda (NMDA tanıma bölgesine sürekli bağlanan agonistlerin varlığında) depolarize edilmeye başladığı ve membran potansiyeli -30 mV düzeylerine ulaştığı zaman Mg^{+2} 'un etkisi kaybolarak iyon kapısı açılır.

3. Glisin bağlanma bölgesi: Santral sinir sisteminde inhibitör nörotransmitter olarak çalışan glisin, paradoksal olarak NMDA reseptörünün etkinliğini, dolayısıyla da eksitator iletiyi güçlendirir.

4. Poliamin bağlanma bölgesi: Endojen poliaminlerden spermin ve spermidinin bağlanma yeri olan bu bölgenin işlevi, glisin gibi reseptörün aracılık ettiği yanıtı arttırmaktır. Buna karşılık her iki bölge de normal durumlarda tam olarak aktif değildir (Scatton et al., 1999).

5. Çinko bağlanma bölgesi: Bu bölge inhibitör etki gösterir. Zn^{+2} blokajı da voltaj bağımlıdır (McMillan et al., 1990).

6. Kanal antagonist bağlanma bölgesi: Reseptör kanal kompleksinin alt bölümünde yer alır. Bu bölgeye bağlanacak antagonisten bağlanma yerine ulaşabilmesi için kanalın açık olması, yani reseptörün NMDA, glutamat veya benzeri agonistlerce uyarılmış ve magnezyumun kanal kapatıcı etkisinin ortadan kaldırılmış olması gerekmektedir. Bu etki agonist bağımlı olmakla birlikte non-kompetitiftir.

Yani bağlanma yeri için agonistlerle yarışmaz, aksine onların açtığı kanala girerek kanalın kapanmasını sağlar. Postsinaptik membran reseptörünün uyarılması arttıkça bu bölgeye yapışan non-kompetitif antagonistlerin etkinliği de artar (Wong and Kemp 1991).

Genelde postsinaptik bölgeler hem AMPAR'ü hem de NMDAR'ü içerirken; bazı bölgelerde sadece NMDAR'leri bulunur. Gelişimin erken evresinde sinapslar sadece NMDA tipi reseptörler içermektedir (Yakamura and Shimoji 1999, Candelario-Jalile and Gonza'lez-Falco'na 2004). Non-NMDA iyonotropik reseptörler motor nöronlarda ve beyinde eksitator postsinaptik potansiyel'in (EPSP) büyük erken komponentini oluşturmaktadır (Carroll and Zukin 2002, Wittenberg and Tsien 2002).

EPSP'nin geç komponentini oluşturan NMDA reseptör kanallarının üç özelliği vardır.

1- Yüksek iletkenliğe sahip iyon kanallarını kontrol ederler (50 pS) ve Na⁺ ile K⁺un yanı sıra Ca⁺²'a da geçirgendirler.

2- Kanalın açılması bir kofaktör olarak glisin ekstrasellüler olarak bulunmasına bağımlıdır. Kanal sadece glisin varlığında çalışır. Normal koşullarda ekstrasellüler glisin yoğunluğu NMDAR kanalının çalışabileceği miktarlarda bulunmaktadır. Kinürenik asit ve aminoksalinedikarboksilik asit'in her ikisinin çoğu türevleri glisin bölgesinin kompetatif antagonistleridir.

3- Açılması kimyasal haberciye bağlı olduğu kadar membran potansiyeline de bağımlıdır. Bu, NMDAR'lerini diğer voltaj kontrollü kanallardan ayıran bir özelliktir.

Voltaja bağımlılık diğer kanallarda olmayan farklı bir mekanizmadan kaynaklanmaktadır. Diğer kanallarda, membran potansiyelindeki değişiklikler, intrinsek voltaj sensörünün sayesinde kanalda konformasyonel değişikliklere neden olurken, NMDA ile aktive olan kanalda ekstrinsek bloker olan Mg⁺² (ekstrasellüler Mg⁺²) açık olan kanalı kapayan bir tıkaç gibi davranır ve iyon akışına engel olur. İstirahat membran potansiyelinde (-65 mV'da) Mg⁺² kanala sıkıca bağlanır. Ancak membran depolarize olduğunda (örneğin, non-NMDA reseptörleri glutamat ile aktive olduğunda), Mg⁺² elektrostatik etkiyle kanaldan uzaklaştırılır ve Na⁺ ile Ca⁺²'un geçişine izin verir. Bu nedenle NMDAR'lerinde en yüksek iyon akımı her iki

koşulun da gerçekleşmesiyle ortaya çıkmaktadır. Bu özellikleri nedeniyle NMDAR'ü sinapstaki presinaptik aktivite ve postsinaptik depolarizasyonu eş zamanlı olarak saptayan bir araç gibi davranmakta ve postsinaptik hücreye yeterli miktarda ikincil haberci iyon olan Ca^{+2} 'un girişine imkan vermektedir. Bu da sinaptik bağlantının kuvvetindeki plastik değişiklikleri başlatmaktadır (Ozawa et al., 1998, Carroll and Zukin 2002, Wittenberg and Tsien 2002).

Birçok hücrede hem non-NMDAR'ler hem de NMDAR'ler bulunmaktadır. Mg^{+2} istirahat membran potansiyelinde NMDAR kanalını bloke ettiği için NMDAR'lerinin EPSP'lerin oluşmasında önemli bir katkısı yoktur. Bu nedenle istirahat durumunda oluşan EPSP'lerde büyük oranlarda non-NMDA reseptörlerinin katkısı bulunmaktadır. Depolarizasyon arttıkça Mg^{+2} NMDAR kanalından uzaklaşmakta ve NMDAR açılarak bu kanallardan iyon akışı gerçekleşmektedir.

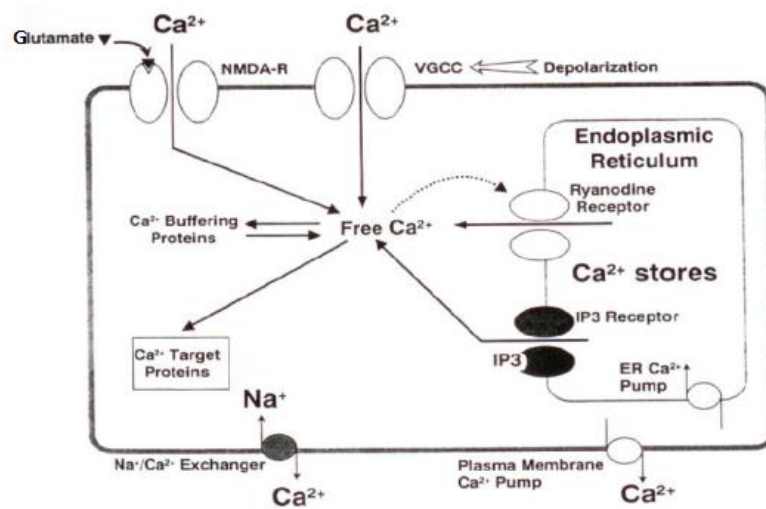
NMDAR kanalının diğer bir farkı göreceli olarak daha yavaş açılıp yavaş kapanması ve bu özelliği nedeniyle EPSP'lerin geç fazına katkıda bulunmasıdır. EPSP'nin geç fazı, Mg^{+2} 'un kanalı bloke etmesi nedeniyle, tek bir presinaptik sinyalden sonra zayıf bir yanıt olarak karşımıza çıkmaktadır. Oysa presinaptik nöron ard arda sinyaller gönderirse postsinaptik hücrede EPSP'ler toplanarak 20 mV veya daha fazla bir depolarizasyon oluşturmaktadır. Bu durumda NMDAR'ü büyük ölçüde Ca^{+2} 'un katkısı ile daha büyük akımlara yol açmaktadır. NMDAR aktivasyonu sonucu, postsinaptik hücrelerde, Ca^{+2} 'a bağımlı enzimler ve bazı ikincil haberciler devreye girmektedir. Bu biyokimyasal reaksiyonlar, sinapsta bazı uzun vadeli modifikasyonlara katkıda bulunan sinyal yollarını tetiklemektedir. Öğrenme ve bellek oluşumunda, sinapsta gerçekleşen değişikliklerin önemli olduğu düşünülmektedir. NMDAR'lerin aktivasyonu presinaptik aktiviteye bağlı olduğu ve uzun süreli sinaptik modifikasyonlar ile ortaya çıktığı için çoğu kez bu duruma aktiviteye bağımlı sinaptik modifikasyonlar denmektedir (Goebel and Poosch 1999, Carroll and Zukin 2002).

Hipokampusun CA1 bölgesindeki LTP'nin indüksiyonu bir dizi olayı içermektedir. İlk olarak NMDAR kanalının presinaptik glutamat salınımına cevap olarak açılması için postsinaptik membranın yeterince depolarize olması gerekmektedir. Kanalın açılması postsinaptik hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunun

önemli derecede yükselmesine olanak vermektedir. Ca^{+2} daki bu artış metabotropik glutamat reseptörünün aktivasyonuna bağlı fosfoinozitid düzeylerindeki yükselmeye birlikte proteinkinaz C (PKC) ve kalsiyum-kalmodulin bağlı protein kinaz II (CaMKII)'nin de dahil olduğu proteinkinazların aktivasyonuna neden olmaktadır. Bu proteinkinazlar daha sonra sinaptik kuvvette uzun süreli modifikasyonlara yol açacak proteinleri düzenlemektedirler (Wittenberg and Tsien 2002).

Homosinaptik “uzun süreli depresyon-long term depression-(LTD)” ise sinaptik kuvvetin aktiviteye bağımlı uzamış zayıflaması olarak tanımlanır ve bir anlamda LTP'un fonksiyonel karşıtıdır. CA1 alanındaki LTP gibi LTD'un indüksiyonu da NMDAR'lerin aktivasyonuna ihtiyaç duymaktadır (Yakamura and Shimoji 1999, Wittenberg and Tsien 2002).

Sinaptik aktivitenin regülasyonunda protein fosforilasyonu ve defosforilasyonunun önemli mekanizmalar olduğu düşünülmektedir. NMDAR kanalının altbirimleri farklı proteinkinazlar ve protein fosfatazlar tarafından doğrudan fosforile ve defosforile edilmektedir. NR1, NR2A ve NR2B altbirimleri hem cAMP bağımlı proteinkinaz A (PKA) hem de proteinkinaz C (PKC) tarafından farklı bölgelerden fosforile edilebilmektedir. CaMKII, NR2B altbiriminin karboksi terminal ucundaki spesifik bir kalıntıyı ve/veya onun NR2A altbirimindeki karşılığını fosforile etmektedir. Protein tirozin kinaz da NR2A ve NR2B altbirimlerini fosforile etmektedir (Khanduja and Sohi 2006).



Şekil 6. NMDA reseptörünün Glutamat aracılı uyarımı

2.14.1.2. NMDA Reseptör Tipleri

NMDAR'lerin şu ana kadar tanımlanan yedi tane altbirimi vardır. Bunlar; NR1, NR2A-B-C-D ve NR3A-B. NMDAR'leri beyin tümünde yaygın olarak bulunurlar, ancak baskın olarak ön beyine lokalize olmuşlardır. En yüksek düzeyde buldukları yer ise hipokampüsün CA1 bölgesidir (Ozawa et al., 1998). Değişik ligandların bağlanma bölgelerinin saptanmasıyla yapılan NMDA reseptör dağılımının kantitatif kıyaslaması, NMDA reseptörlerinin birçok farklı farmakolojik tiplerinin varlığını işaret etmiştir. NMDA reseptör altbirimlerinin moleküler klonlamasını takiben her bir altbirimin dağılımı, insitu hibridizasyon histokimyasıyla test edilmiştir.

NR1: Glisin bağlayıcı bölgeyi içerir. 938 aminoasitten'ten meydana gelmiştir. 105,5 kDA ağırlığındadır. NR1 reseptör subtip ekspresyonu SSS'de hemen hemen her yerde bulunmaktadır.

NR2: Glutamat bağlayıcı bölgeyi içerir. 4 subtipi bulunur:

NR2A: Beyinde postnatal ekspresyon edilir. 1464 aminoasitten meydana gelir ve 165.5 kDA ağırlığındadır. Ekspresyonu için yüzeyde NR1 N-terminalinin bulunması gereklidir. NR2A mRNA'sı tüm beyinde yaygın olarak bulunur; fakat serebral korteks, hipokampüs ve serebellumda daha yoğun olarak bulunmaktadır.

NR2B: Tüm embriyonik beyinde ekspresyon edilir. Ayrıca embriyonik ve neonatal kardiyak myositlerde ekspresyon edilir. Postnatal olarak yalnız ön beyinde ekspresyon edilir. 1482 aminoasitten oluşur ve 165,9 kDA ağırlığındadır. NR2B'nin ekspresyonu önbeyinde, serebral korteks, hipokampüs, septum, kaudat ve putamende seçici olarak yüksek düzeyde bulunmaktadır.

NR2C: Postnatal olarak serebellumda ekspresyon edilir. 1239 aminoasitten oluşur ve 135,4 kDA ağırlığındadır. NR2C'nin ekspresyonu ise serebellumda dominant olarak bulunurken, talamusda ve olfaktör bulbusda daha az olarak bulunmaktadır.

NR2D: Diencephalon ve beyinsapında embriyonal ve neonatal olarak ekspresyon edilir. 1323 aminoasitten oluşur ve 142,9 kDA ağırlığındadır. NR2D'nin ekspresyonu

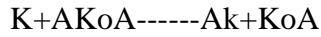
ortabeyin ve arkabeyinde yüksek iken; düşük düzeyleri talamusda, olfaktor bulbusda ve beyin sapında bulunmaktadır. NR2A ekspresyonunununa tamamlayıcıdır.

NR3: Silik fonksiyon gösterir. NR3A ve NR3B olarak iki tiptir. Ca^{+2} permeabilitesi yavaş ve uzun sürer. NR3A; Serebellum hariç korteks, hipokampus (CA1), ortabeyin, arkabeyin ve spinal kordda eksprese edilir. Neonatal ekspresyonları çok güçlüdür, sonra azalmaya başlamaktadır (Cull-Candy and Brickley 2001, Carroll and Zukin 2002).

2.14.2. Asetilkolin

Kolinerjik Sistem, sempatik ve parasempatik sistemin 1. sıra nöronlarından ve parasempatik sistemin 2. sıra nöronlarından oluşur. Bu nöronların ganglionlardaki veya nöroefektör kavşaklardaki akson uçlarından salıverilen ve sinaptik aşırımdan sorumlu olan nörotransmitteri asetilkolindir (Kayaalp 2009). SSS'de asetilkolin yaygın olarak bulunan bir nörotransmitterdir.

Asetilkolin (Ak); Kolinerjik sinir uçlarında aşağıdaki reversibl reaksiyon sonucu kolin (K) ile asetilkoenzim A (AKoA)'dan alınan aktif asetil radikalinin kolin asetiltransferazın katkısı sonucu birleştirilmesi suretiyle sentez edilir:



Kolinerjik sinir uçlarında görev yapan yüksek afiniteli kolin transportörü, sinaps aralığından kolini devamlı olarak sitoplazmaya pompalar. Kolin'in kaynağı sinaps aralığında yıkılan asetilkolinden serbest kalan kolin, diyetle alınan ekzojen kolin ve vücutta yıkılan fosfolipidlerden açığa çıkan kolindir. Serotonerjik ve katekolaminerjik uçlarda, sinaps aralığına dökülen nörotransmitter geri alıma uğradığı halde, kolinerjik sinapslarda asetilkolin geri alınmaz.

2.14.2.1. Kolinerjik Reseptörler

Farmakolojik özelliklerine göre sınıflandırılmıştır. Sınıflandırma muskarin ve nikotin adlı iki alkaloidin reseptördeki farmakolojik aktivitesi üzerine kuruludur. Muskarinik reseptörlerin (mAChR) antagonisti atropin ile nikotinik reseptörlerin (nAChR) antagonisti d-tübokürarin adlı ajanların tamamen farklı aktiviteleri vardır. Bu da ACh için birden fazla reseptör olduğunu desteklemektedir (Kayaalp 2009,

Siegel 1999, Christopher and Wannacott 2001). Bunlardan muskarinik reseptörler diğerine göre daha fazla ve daha yaygındır.

Nöromusküler kavşaktaki nAChR'leri, N1/Nm reseptörler; ganglionlardaki nAChR'leri N2/Ng reseptörler olarak bilinir. SSS'de bulunan çok sayıda farklı nöronal nAChR vardır. Bunlar kaslardakilerden çok ganglionlardaki nAChR'lerine benzerler. Günümüzde SSS'de en az 10 farklı nikotinik reseptör α altbirimi ve 4 farklı β altbirim geni tanımlanmış ve klonlanmıştır (Newman et al., 2002).

Nikotinik reseptörlerin SSS'de varlığı ilk olarak omurilik önboynuzunda alfa motor nöronları inhibe eden bir aranöron olan Renshaw hücresi üzerinde, bu hücre ile motor akson kollaterali arasındaki sinapsta fizyolojik yöntemlerle inandırıcı bir şekilde gösterilmiştir. Daha sonra fizyolojik incelemelerle ve radyoligand bağlama yöntemiyle, başta beyin korteksi olmak üzere beyinin çeşitli bölgelerinde kolinerjik veya non-kolinerjik nikotinik reseptörlerin varlığı gösterilmiştir; non-kolinerjik olanlar asetilkoline afinite göstermedikleri halde nikotine yüksek afinite gösterirler. Nikotinik reseptör, pentamerik bir protein yapısının ortasında Na^{+2} kanalını içerir; kanalla reseptör direkt olarak kenetlenmiştir ve muskarinik reseptörlerin aksine arada bir transdüksiyon mekanizması bulunmaz. Nikotinik reseptörlerin aktivasyonu nöronun eksitasyonuna neden olur. Elde edilen deneysel kanıtlar beyindeki nikotinik reseptörlerin fazla heterojen olduğunu göstermektedir. Pentamerik yapıya giren monomerik alt birimler, beyinde, periferdekinden farklı olarak genellikle α ve β alt birimleridir; ancak, α reseptörlerinin en az 5 ve β reseptörlerinin en az 4 çeşidi vardır. Beyinde farklı nikotinik reseptörleri kodlayan çok üyeli bir gen familyasının varlığı da saptanmıştır. Hipokampal $\alpha 7$ nikotinik reseptör redüksiyonu veya aktivite azlığı ile şizofreni arasında bir bağ kurulmaktadır. $\alpha 7$ nikotinik reseptör agonisti anabesein isimli ilaç halen şizofreni tedavisi için deneme aşamasındadır. Nikotin'in; periferdekine uyan nikotinik reseptörlerden başka, onlara uymayan özel tipleri aktive etmek suretiyle de santral etki oluşturması olası görülmektedir. Nikotinik reseptörler, beyin kolinerjik sistemi ile ilişkili dikkat, bellek, lokomotor etkinlik, ağrı duyumsama, sıcaklık kontrolü ve beyin genel eksitabilitesi gibi olaylarda ve ayrıca nikotinin bağımlılık yapmasında rol oynarlar.

Fizyolojik önemi: Asetilkolin, ekstrapiramidal sistemin dengeli çalışmasında rol oynar. Bu nedenle striatal kolinerjik nöronlar postürün ve lokomotor hareketlerin düzenlenmesine katkıda bulunur.

Korteks ve hipokampus'ta kolinerjik nöronların öğrenme ve bellekle ilgili süreçlere katkısı vardır. Bellek bozukluğu ile karakterize olan Alzheimer tipi senil demanslı ve presenil demanslı hastalarda yapılan postmortem incelemelerde, bazı beyin bölgelerinde (bazal önbeyin ve serebral korteks gibi) asetilkolin ve kolin asetiltransferaz düzeyi azalmış bulunmuştur; bu olay kolinerjik nöronların ve onların kortekste piramidal hücrelerle sinaps yapan kolinerjik uçlarının tahribine bağlıdır.

Deney hayvanlarında kolinomimetik ilaçlar (fizostigmin ve intraventriküler verilen arekolin gibi); öğrenmeyi yani bilginin kazanılmasını ("acquisition"), bu arada pasif sakınmanın öğrenilmesini ve bilginin retansiyonunu kolaylaştırır; skopolamin ve diğer antikolinerjik ilaçlar ise kazanmayı bozarlar, fakat retansiyona dokunmazlar. Yapılan incelemeler, deney hayvanlarında, muskarinik reseptörler aracılığı ile çalışan septohipokampal kolinerjik yolağın, öğrenme ve kısa süreli bellek yönünden önemli olduğunu göstermiştir.

Kolinerjik sistemin, uyanıklık halinin sürdürülmesine ve uykunun REM döneminin başlatılmasına katkıda bulunduğu ileri sürülmüştür. Medyal önbeyin demeti içinde seyreden kolinerjik aksonların, bu demetle ilgili İKSS (İntrakranyal self-stimülasyon) deneylerindeki ödüllendirmeye katkıda buldukları ve ödüllendirici etkinliğin atropin tarafından azaltıldığı bulunmuştur. Noradrenerjik yolların başlangıç yeri olan locus coeruleus'taki nöron gövdelerinin eksitator muskarinik reseptörlere sahip oldukları ve kolinerjik sinir uçları ile temasta buldukları saptanmıştır. L. coeruleus'un muskarinik ilaçlar tarafından eksitasyonu sıçanlarda atoni ve katalepsiye, antimuskarinik ilaçlar tarafından blokajı ise lokomotor aktivitede artmaya neden olur. Pons tegmentumunda bulunan nucleus gigantocellularis'teki kolinerjik nöronların uykunun REM döneminde fazık olarak deşarj yaptıkları ve bu deşarjların PGO dalgaları ve göz hareketleri ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır. REM'in esas olarak kolinerjik ve NREM'in noradrenerjik bir olay olduğu ileri sürülmüşse de bu görüş kabul edilmemiştir (Kayaalp 2009).

2.14.2.2. Nöronal Nikotinik Asetilkolin Reseptörleri

1980'de [3H]-Nikotinin sıçan beyinde bağlanma bölgeleri olduğu ve bu bölgelerin eşsiz nikotinik farmakolojiye sahip olduğu rapor edilmiştir. [3H]-Nikotin, α -bungarotoksin ile bloke olmaz. Bildirilen klonlanmış ilk nöronal nAChR subtipi 1986'da $\alpha 3$ 'dür. Günümüzde memelilerde saptanan nöronal nAChR altbirimleri 11 ($\alpha 2$ - $\alpha 7$, $\alpha 9$, $\alpha 10$, $\beta 2$ - $\beta 4$) tanedir. Buna ek olarak kuş türünde $\alpha 8$ altbirimi tanımlanmıştır. α ve β altbirimleri ayrı fakat ilişkili gen familyasındandır (Christopher and Wannacott 2001).

nAChR'leri santral ve periferik sinir sisteminin her yerinde bulunurlar. Otonomik nörotransmisyon ve kas kontraksiyonunun başlatılması şeklindeki asıl rolüne ek olarak, SSS'de nAChR'leri daha çok modülatör rolü oynar (Siegel 1999). Nöronal nAChR'leri, AH, Parkinson hastalığı (PH), Şizofreni, Tourette Sendromu, Dikkat Bozukluğu gibi hastalıklarla ilişkisi nedeniyle önem kazanmaya başlamıştır. Nöronal nAChR'leri bu hastalıkların tedavisinde ilaçlar için hedef olarak algılanmaktadır (Christopher and Wannacott 2001). Nöronal nAChR'leri, α ve β altbirimlerinin pentamerik kombinasyonlarından oluşur, bu da nöronal nAChR'lerine çeşitlilik sağlar. Xenopus Oocytes ve memeli hücre dizisinde nAChR'lerinin heterolog ekspresyonu bazı kurallarla düzenlenir bu da doğal nAChR'lerinin altbirimlerini sınırlar. $\alpha 2$, $\alpha 3$ ve $\alpha 4$ altbirimlerinin $\beta 2$ ve $\beta 4$ altbirimleriyle ikili kombinasyonları fonksiyonel nAChR'lerini oluşturur, ancak $\alpha 5$ ve $\beta 3$ altbirimleri genellikle fonksiyonel nAChR'lerini oluşturamaz. Bunlar da en azından diğer altbirimlerle bir araya gelerek heteromerler oluştururlar. $\alpha 6$ altbirimi, $\beta 4$ ile fonksiyonel nAChR'ler oluşturabiliyor. Yine $\alpha 6$ altbirimi $\beta 3$ ile kombinasyon oluşturuyor. $\alpha 6$ altbirimi biyojenik amin içeren nöronlarda lokalizedir. $\alpha 7$, $\alpha 8$ ve $\alpha 9$ altbirimleri sağlam homomerik reseptörler oluştururlar. $\alpha 10$ altbirimi sadece fonksiyonel $\alpha 9$ altbirimi ile birlikte reseptör oluşturacak şekilde eksprese edilir. $\alpha 9$ altbirimi içeren reseptörler muskarinik reseptörlerin bazı özelliklerini taşır. Doğal sistemlerde, nAChR'lerin altbirim kombinasyonu hakkında bilgi yetersizdir. Sadece birkaç major subtip tanımlanmıştır. Bunlardan biri $\alpha 4\beta 2$ 'dir. SSS'de göreceli olarak çok miktardadır, SSS'nin predominant kombinasyonudur. Diğer major subtip $\alpha 7$ 'dir. Genellikle SSS'de ve PSS'de homomerik nAChR şeklinde bulunuyor. İn vivo

şartlarda $\alpha 7$ altbirimi içeren reseptörün yüksek Ca^{+2} permeabilitesi vardır. $\alpha 3$ altbirimi genellikle $\beta 2$, $\beta 4$ ve $\alpha 5$ altbirimleriyle daha çok periferik ganglionlarda bulunmaktadır. SSS'deki nAChR'leri presinaptik lokasyonlarda fonksiyon gösteriyorlar ve bazı nörotransmitterlerin salınımını düzenliyorlar. Elektrofizyolojik ve mikrodializ çalışmaları sonucunda elde edilen kanıtlar göstermektedir ki glutaminerjik, dopaminerjik, serotonerjik, peptiderjik ve kolinerjik yollar presinaptik nikotinik reseptörlerin kontrolü altındadır (Wonnacott 1997, Siegel 1999).

2.14.3. Serotonin

Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT) hayvan ve bitkiler aleminde yaygın bir şekilde bulunur; örneğin ısırgan otunun dolayıcı tüylerinde, akrep ve eşek arısının ve genomunda bile vardır. İnsanda vücuttaki toplam miktarının 10 mg kadar olduğu tahmin edilmektedir. Bunun büyük kısmı (%95'i) mide ve barsak mukozasındaki enterokromafin hücrelerde, daha az olmak üzere oradaki enterik mast hücrelerinde ve serotonerjik nöronlarda bulunur.

Serotonin beyindeki nörotransmitter ve nöromodülatör görevi etraflı bir şekilde incelenmiş bir monoamindir. Histofluoresans ve diğer yöntemlerle serotonerjik nöron ve yolların beyindeki dağılımı belirlenmiştir; ayrıca, serotonerjik reseptörlerin dağılımı ve nitelikleri de aydınlatılmıştır.

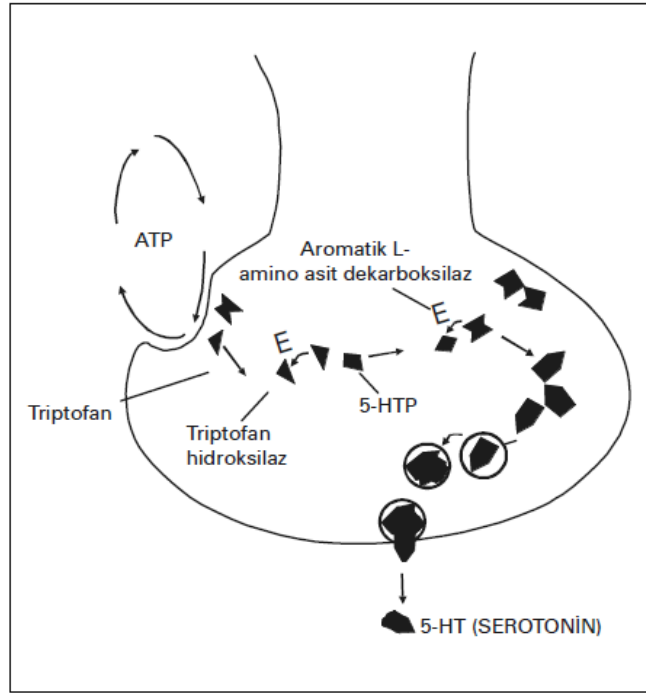
Beyindeki serotonerjik sinir uçlarında serotonin, birbirini izleyen iki olayla sentez edilir.

I) L-triptofanın triptofan hidroksilazla hidroksillenmesi ve

II) İlk olay sonucu oluşan 5-hidroksitriptofanın aromatik L-amino asit dekarboksilaz tarafından dekarboksillenmesi.

Serotonerjik sinir uçlarında sentez edilen serotonin büyük veziküllerde (yaklaşık 100 nm çaplı) depo edilir. Omurilik arka boynuzundaki supraspinal kaynaklı sinir uçlarında, kısmen ayrı veziküller içinde olmak üzere bu aminle birlikte P maddesinin toplandığı saptanmıştır. Veziküllerden sitoplazmaya sızan serotonin, orada MAO (özellikle MAOA) enzimi tarafından 5-hidroksi indolasetik asid'e (5-HIAA) oksidlenerek inaktive edilir. Serotonin salıverilmesinin arttığı durumlarda bu

asidin vücut sıvılarındaki ve idrardaki miktarı yükselir. Serotonerjik sinaps aralığına salıverilen serotonin'in inaktivasyonu esas olarak geri alım (re-uptake) suretiyle olur. Sinir ucu membranında, bu olaya özgü bir serotonin pompası veya serotonin transportörü mekanizması bulunur. Sinir ucundaki otoresptörler serotonin salıverilmesini düzenlerler.



Şekil 7. Serotonerjik yolakta serotonin sentezi ve salınması

2.14.3.1. Serotonin Reseptörleri (5-HTR)

1986 yılında Bradley et al., tarafından sınıflandırma yapıldığı zaman, 5-HT1 reseptörlerin alt tipleri ile serotonin'in belirli fonksiyonel etkileri arasında bir ilişki (korelasyon) kurulamadığından veya ilişkinin çok az olması nedeniyle bu reseptörlere o zamanlar toptan 5-HT1 benzeri reseptörler adı verilmiştir. Daha sonra serotonin'in belirli fonksiyonel etkileri ile ilişkili bireysel 5-HT1 reseptör alt tipleri, aşağıda açıklandığı gibi, açık seçik tanımlanmıştır; böylece 5-HT1-benzeri reseptör deyiminin kapsamı daralmıştır.

Serotonin'in efektör hücre ve nöronlar üzerindeki etkileri esas olarak hücre membranı üzerindeki kendine özgü reseptörleri aktive etmesine bağlıdır. Serotonin reseptörleri, periferik yapılarda belirli agonist ve antagonist ilaçları kullanarak

1950'lerde klasik farmakolojik (fonksiyonel) yöntemlerle ve daha sonra beyinde radyoligand bağlama teknikleri kullanılarak incelenmiştir.

Serotonin reseptörlerinin halen SSS'de ve periferde 14 alttipinin varlığı gösterilmiştir. Bunlar 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT₅, 5-HT₆ ve 5-HT₇ reseptörler olarak 7 tip halinde sınıflandırılmıştır. Bunların heterojen olduğu saptanmış ve 5-HT₁ ve 5-HT₂ ve 5-HT₅ reseptörlerin alt tipleri belirlenmiştir; ancak sonuncunun fonksiyonel önemi yeterince aydınlatılmamıştır.

2.14.3.2. Uyku, Öğrenme ve Hafıza ile İlişkili Serotonin Reseptörü

5-HT₂ reseptörler: Radyoligand bağlama yöntemi ile yapılan incelemelerde serotonine düşük afinite ve spiperon, liserjik asit dietilamit (LSD) ve ketanserine yüksek afinite göstermesi ile ayırt edilen reseptörlerdir. 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} ve 5-HT_{2C} alt tipleri ayırt edilmiştir. Bunlardan birincisi ve üçüncüsü beyinde bazı yerlerde yoğun şekilde bulunur. İkincisi esas olarak gastrointestinal sistem, uterus ve damarların endotelinde ve düz kasında bulunur. Beyinde 5-HT_{2A} ve 5-HT_{2C} reseptörler nöron membranında fosfoinozidaz ile kenetlenmişlerdir. Bunların aktivasyonu nöronda inozitol-trifosfat (IP₃) ve Ca⁺² düzeyini artırır ve proteinkinaz C'yi stimüle eder. Böylece adı geçen 2 reseptör alttipi, nöronlarda serotonin'in eksitator etkilerine aracılık ederler. Serotonin 5-HT₂ reseptör agonistlerinin deney hayvanlarında oluşturduğu 5-HT sendromu ve bunun bir parçası olan "wet dogshake" davranışı beyinde 5-HT₂ reseptör alt tiplerinin aktive edilmesine bağlıdır. 5-HT_{2A} reseptörler beyin korteksinde ara nöronlarda bulunur ve piramidal hücrelerin GABAerjik ara nöronlar tarafından inhibisyonunda rol oynar. Serotonin bellekle ve öğrenmeyle ilgili artırıcı etkisine aracılık ederler.

5-HT_{2A} reseptörler periferde damar, bronş ve gastrointestinal düz kaslarda, damar endotelinde ve trombositlerde bulunur. 5-HT_{2C} reseptörler, beyinde striatum, hipokampus, hipotalamus, koroid pleksus ve beyin sapında bulunurlar; periferde bulunmazlar; koroid pleksusta BOS ve transferrin oluşmasını düzenlerler (Kayaalp 2009).

2.14.3.3. Serotonin Reseptörlerinin Genel Yapısı ve Transmembranal Sinyal Transdükleme Mekanizmaları

Serotonin reseptörleri, 5-HT₃ reseptörler hariç, G proteini ile kenetlenen yedi transmembranal segmentli (hepta helikal) reseptörlerdir. 5-HT₃ reseptörü; nikotinic reseptörler, GABAA, glisin ve glutamat NMDA reseptörleri gibi bir iyon kanalının intrinsik bir kısmını oluşturur. 5-HT₃ reseptörler membranda sodyum kanalı ile direkt kenetlenmiştir, başka bir deyişle kanal molekülünün bir parçasıdır. 5-HT₃ reseptörlerin aktivasyonu, sodyum kanalını açarak nöronlarda ve sinir uçlarında hızlı depolarizasyon yapar. Diğer serotonin reseptörleri membranda bir G proteini aracılığı ile genellikle, ikinci haberci sentez eden enzimlere kenetlenirler. Ancak 5-HT_{1A} reseptörler bazı nöronlarda G proteini aracılığı ile bir iyon kanalına (K⁺ kanalı) indirekt olarak kenetlenmiştir. Diğer bazı yerlerde ise adenilil siklazla kenetlenirler; bu reseptörlerin aktivasyonu, K⁺ konduktansını artırarak veya adenilil siklazı inhibe ederek presinaptik ve postsinaptik inhibisyon yapar. Diğer 5-HT, alttipleri de adenilil siklazla onu inhibe edecek şekilde kenetlenmişlerdir. 5-HT₄, 5-HT₆ ve 5-HT₇ reseptörler ise, G proteini aracılığı ile adenilil siklazla onu stimüle edecek şekilde kenetlenmiştir. 5-HT₂ reseptörler diğerlerinden farklı olarak membranda fosfoinozidaz (fosfolipaz c) ile kenetlenirler. Bu reseptörlerin aktivasyonu fosfatidilinozitol 4,5-bifosfatın adı geçen enzimle hidrolizi sonucu sitoplazmada iki ikinci haberci (inozitol trifosfat ve diasilgliserol) oluşturarak eksitasyona yol açar.

5-HT₂ reseptörler diğerlerinden farklı olarak membranda fosfoinozidaz (fosfolipaz c) ile kenetlenirler. Bu reseptörlerin aktivasyonu fosfatidilinozitol 4,5-bifosfatın adı geçen enzimle hidrolizi sonucu sitoplazmada iki ikinci haberci (inozitol trifosfat ve diasilgliserol) oluşturarak, eksitasyona yol açar (Kayaalp 2009).

2.14.3.4. SSS'de Fizyolojik ve Patofizyolojik Rolü

Serotonerjik sistemin "Uyanıklık-NREM uyku-REM uyku" siklusunun düzenlenmesine katkısından dolayı, uyku fizyolojisinde rol oynamaktadır. Tek doz PKFA (p-Klorfenilalanin) verilmek suretiyle kedi ve maymunlarda serotonerjik sistemin etkinliğinin akut olarak azaltılması, bir haftaya kadar uzayan tam bir

uykusuzluk yapar. Aynı ilaç kronik olarak verildiğinde, serotonin düzeyindeki düşüklüğün devam etmesine karşın, NREM-REM düzeni zamanla normale yakın duruma gelir. İnsanlarda bir süre PKFA verilmesinin NREM'i fazla etkilemediği, fakat REM'i belirgin şekilde azalttığı ve bu durumun 5-HTF ile düzeltildiği gözlenmiştir; serotonin reseptör blokörü metizerjidde insanda aynı yönde etki yapar. PKFA kediye hergün ufak dozda verildiğinde NREM'in ve özellikle REM'in süresi 4-5 gün boyunca giderek azalır. REM tamamiyle ortadan kalkabilir; fakat daha sonra ilaca devam edilmesine karşın NREM ve REM süresi artmaya başlar ve normalin % 70'ine eşit bir düzeye çıkar. Ancak bu tür deneylerde, beyin serotonin düzeyindeki düşüklüğe karşın, kısmen geri dönmüş olan uykunun gerçekte normal olmadığı ve REM dönemindeki bazı fazik değişikliklerin (PGO spaykları gibi) NREM dönemine ve hatta uyanıklık dönemine kaydığı görülmüştür.

Bunun sonucu olarak, uyanık kediler de halüsinasyona bağlı olması olası nöbetler meydana geldiği gözlenmiştir. Buna dayanarak serotonerjik nöronların, PGO spaykları ve diğer fazik olayların uykunun REM dönemi içinde kalmasını sağladıkları ve REM'in dışına taşmasını önledikleri ileri sürülmüştür.

Kognitif fonksiyonlara önemli katkısı olan hipokampus yoğun bir serotonerjik innervasyona sahiptir. Sıçanlarda yapılan klasik koşullandırma deneyleri ile serotonin agonistlerinin, belleği (koşullu yanıt kazanmayı) ve assosiyatif öğrenmeyi artırdıkları gösterilmiştir. Bu olaya 5-HT_{2A} ve/veya 5-HT_{2C} reseptörlerin aracılık ettiğine inanılmaktadır. Sonuncu reseptörlerin agonisti olan LSD bu etkiyi en güçlü yapan serotonin agonistidir. Adı geçen reseptör alttıplerinin antagonistleri olan MDL 11,939 maddesi ve ritanserin söz konusu artmayı bloke eder. Öğrenmeyi artırıcı etkinin, öğrenmenin zor olduğu durumlarda daha belirgin olduğu ileri sürülmüştür. İlginç olarak ağır bellek bozukluğuna yol açan Alzheimer tipi demensia'da beyinde 5-HT_{2A} alttıpi reseptörlerin azaldığı gösterilmiştir. Serotonerjik nöronları bozan MDMA'nın akut etki olarak kısa süreli belleği bozması ve bu maddeyi kronik kullananlarda sözel ve görsel bellekte bozukluk oluşması sık görülen bir durumdur (Kayaalp 2009).

2.15. Mekansal/Uzamsal Hafıza ve Morris Su Labirenti

Mekansal hafıza, kavrama fizyolojisi ve sinir biyokimyasında, hafızanın bir parçası olarak nitelendirilmektedir. Canlının çevresel konum ve mekansal oryantasyon ile ilgili bilgisinin kaydedilmesini ifade eder. İnsanların mekansal hafızası, tanıdık bir şehirde yönünü ve çevresel ipuçlarını belirleyerek oluşturuluyor ve sıçanların labirentin kollarındaki yiyeceğin yerini öğrenmesi de mekansal hafızanın oluşturulması ile oluyor. İnsan veya hayvanların mekansal hafızalarının beyinde kavramsal haritada yapılandırıldığı üzerinde tartışılmaktadır. Mekansal hafıza, organizmanın çevresi ile ilgili duyuşsal verileri özellikle görsel ve proprioseptik duyuşlarını kullanarak bu verileri bir araya getirip işlemek ile oluşur. Genelde memeliler, mekansal/uzamsal özellikleri ve verileri oluşturabilmek için özellikle CA1 bölgesi fonksiyon gören hipokampüse ihtiyaç duyarlar. Mekansal hafıza üzerinde yapılan çalışmalar insanlarda kompleks tipte olayların anlaşılması için çok değerli bilgiler sağlamıştır. İnsan mekansal hafızasının sağ hemisfer ile güçlü bir bağlantı içinde olduğuna dair bazı ipuçları vardır. Mekansal hafıza hem NMDA hem de AMPA reseptörleri gereklidir. Bilginin sağlamlaştırılmasında NMDAR'leri, geri çağırılması yani hatırlanmasında AMPAR'lerine ihtiyaç duyulur. Kemirgenlerde yapılan çalışmalarda mekansal hafıza, hipokampal yosunsu fibrillerin projeksiyonunun hacmi ile doğru orantılı olarak yapılanmaktadır. Hayvanlardaki göç olgusu, birçok besin kaynağını bir arada tutan karmaşık çevredeki besin kaynaklarına ulaşmak gibi olaylar için, mekansal hafıza çok önemlidir (Gutbrod et al., 1987, Liang et al., 1994, Nunn et al., 1999, Tucker et al., 1999).

Açık alan su labirenti, dairesel ve ortalama 150-200 cm çaplı bir su tankıdır. Sıçanlar ve benzeri küçük kemirgenlerin labirentin çevresinde sabit bulunan çeşitli çevresel ipuçlarını kullanarak suyun ortalama 2 cm altında bulunan gizli platformu bulması için eğitildiği bir aparatır. Normalde hayvanlar platformun yerini kısa bir sürede (ortalama 3-5 gün) öğrenirler. Su labirentinde öğrenme olgusunun davranışsal analizi kavrama sürecinde bazı etkileşimler gerektirmektedir, mekansal bilginin depolanması ve ihtiyaç duyulduğunda hatırlanıp kullanılması, diğer yandan da hangi yöne gidileceği ile ilgili planlamayı gerektiren bir süreçtir. Hem ilaç hem de lezyon çalışmalarında kullanılmaktadır. Su labirentinde yapılan davranışsal çalışmalar

göstermiştir ki; öğrenme, hızlı ve aynı zamanda bir seri öğrenme egzersizi ile platform lokalizasyonunun uzun süreli hafızaya yerleştirilebildiği bir uygulamadır. Oluşan hafızanın kuvveti basit bir test ile kolaylıkla değerlendirilebilmektedir. Eğitim süreci sonrasında platform labirentten alınmakta ve sıçanlar belli bir süre (1 dk) su labirentine bırakılmaktadır. Normal sıçanlar sürekli hedef lokalizasyonda (daha önce platformun bulunduğu kadran) yüzmektedirler. Su labirenti gibi basit yön algılamasına dayanan testler hipokampal lezyonlara ciddi anlamda sensitiftir. Daha sonra yapılan çalışmalar göstermiştir ki geleneksel lezyon yapıcı teknikler veya selektif nörotoksinlerin kullanılmasıyla oluşan septal nukleus, subiculum ve entorhinal korteks gibi komşu yapıların lezyonlarına da sensitivite söz konusu olmakta ve su labirentini öğrenme veya hatırlama performansında azalma görülmektedir. Küçük prosedürel farklarla mekansal hafıza, uzun süreli hafıza, uzun süreli mekansal hafıza gibi hipokampüse dayalı öğrenme süreçlerini test etmek için kullanılan bir sistemdir. Ayrıca mekansal olmayan genel öğrenme prosedürünü de test edebilmektedir. Demans, yaşlanma, AH, kafa travması ve inme gibi hastalıkların deneysel çalışmalarında, nörotransmitter yolları üzerine yapılan çalışmalarda kullanılmaktadır (Stewart and Morris 1993).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma; Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı, Fizyoloji ve Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'ndan 22.11.2011/01 sayılı kararı ile etik kurul izni alınmıştır.

3.1. Gereç

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada Sprague Dawley cinsi toplam 48 adet erkek sıçan kullanılmıştır.

Grup I: Kontrol grubu (K) (n=12),

Grup II: REM Deprivasyonu Grubu (RD) (n=12),

Grup III: Total Uyku Deprivasyonu Grubu (SD) (n=12),

Grup IV: Uyku Yoksunluğu Grubu (SF) (n=12) olmak üzere, sıçanlar 4 gruba ayrılmıştır.

Çalışmaya alınan tüm sıçanlar standart ışık (12 saat gün ışığı / 12 saat karanlık) ve ısı (23 °C) koşullarında barındırıldılar ve yeteri kadar su ve yem (Standart Sıçan Yemi, Korkutelim Yem, Türkiye) ile beslendiler. Çalışma öncesinde gruptaki tüm sıçanlar Morris Su Labirentinde 5 gün/4 set olmak üzere toplam 20 egzersiz yaptırılarak, labirenti öğrenmesi sağlandı. Beş günlük öğrenme prosedürü sonrasında 6. gün öğrenmeleri prop testi ile kontrol edilerek deney aşamasına geçildi. Öğrenme süreci tamamlanan sıçanlara ayrıldıkları gruplara göre "Total Uyku deprivasyonu 3 gün, REM deprivasyonu, Uyku yoksunluğu ve Kontrol grubu 7 gün boyunca su labirentinde bellek testine tabi tutuldu, böylece uygulamanın hipokampüse dayalı mekansal hafızaya etkisi test edildi. Her günün sonunda sıçanlara probe testi ve ardında platform testi uygulandı. Deneyin sonunda 7. gün probe ve visible testleri yapılarak deney sonlandırıldı.

Sıçanlar, deney prosedürü sonunda intraperitoneal olarak uygulanan % 10'luk ketamin (Alfamin, Alfasan IBV) - % 2'lik ksilazin (Alfazin, Alfasan IBV) anestezisi altında dekapite edildi. Soğuk fosfat tamponuyla ıslatılmış filtre kağıtları, buz paketleri üzerine konularak hipokampus çıkartma düzeneği oluşturuldu. Sıçanlar sakrifiye edildikten sonra beyin dokuları alındı. Dekapitasyondan hemen sonra bu düzenek üzerinde hipokampuslar çıkarılarak önceden hazırlanmış 50 mM fosfat tamponu içeren ependorf tüplere konuldu. Nörotransmitter analizleri için sıçanların kanları alınarak, serum ve plazma olarak ayrıldı. Tüm deney materyalleri analizin yapılacağı tarihe kadar -80 °C'de muhafaza edildi.

3.1.2. Kullanılan Malzemeler ve Aletler

- 1- Soğutmalı santrifüj: Eppendorf MR5415 (Almanya)
- 4- Hassas terazi: Scaltec SPB 33 (İsviçre)
- 5- Vorteks: Nüve NM 100 (Türkiye)
- 6- Otomatik pipetler: Eppendorf (Almanya), Gilson (Fransa)
- 7- pH metre: Hanna Instruments (Portekiz)
- 8- Manyetik karıştırıcı: Nüve (Türkiye)
- 9- Elektroforez cihazı: Thermo EC Apparatus Corporation 250-90 (ABD)
- 10- Biyokimya analizörü: Beckman Coulter AU5800 (ABD)
- 11- Kodak İmage Station 2000 MM (ABD)
- 12- Cam-Teflon homojenizatör

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

SDS-PAGE ve Western Blot İçin Kullanılanlar:

- 1- Akrilamid:bisakrilamid % 30 T, % 2,6 C; Sigma (Almanya)
- 2- Tris, Merck (Almanya)
- 3- Glisin, Merck (Almanya)
- 4- SDS, Merck (Almanya)

- 5- APS, Merck (Almanya)
- 6- TEMED, Merck (Almanya)
- 7- 2-Merkaptoetanol, Merck (Almanya)
- 8- Brom Fenol Blue, Merck (Almanya)
- 9- Sodyum Klorür, Merck (Almanya)
- 10- Tween 20, Merck (Almanya)
- 11- Bovin Serum Albumin (BSA), Merck (Almanya)
- 12- EDTA, Merck (Almanya)
- 13- EGTA, Merck (Almanya)
- 14- Leupeptin, Sigma (Almanya)
- 15- Aprotinin, Sigma (Almanya)
- 16- Benzamidin, Sigma (Almanya)
- 17- Triton X-100, Sigma (Almanya)
- 18- Immobilon-P, Sigma (Almanya)
- 19- Kromotografi filtre kağıdı, Whatman (İngiltere)
- 20- Metanol, Merck (Almanya)
- 21- Hidroklorik Asit, Merck (Almanya)
- 22- Anti NR2A, Millipore (Avustralya)
- 23- Anti NR2B, Millipore (Avustralya)
- 24- Anti AchR α 7, Santa Cruz (ABD)
- 25- Anti 5-HT_{2A}, Santa Cruz (ABD)
- 26- Monoklonal anti-rabbit IgG, Sigma (ABD)
- 27- BCIP/NBT Phosphatase Substrate, Sigma (Almanya)
- 28- Prestained Molecular Weight Marker, Sigma (ABD)

3.1.4. Kullanılan Çözeltiler

SDS-PAGE ve Western-Blot İçin Kullanılanlar:

1- 4 x Lower Buffer: 1,5 M Tris HCl, pH: 8,8

36,3 g Tris 170 ml'ye distile su ile tamamlanıp pH: 8,8'e ayarlanır. Soğutulup pH tekrar 8,8'e ayarlanır. 200 ml'ye distile suyla tamamlanır.

2- 4 x Upper Buffer: 0,5 M Tris HCl, pH: 6,8

12,1 g Tris, 170 ml'ye distile su ile tamamlanıp pH: 6,8'e ayarlanır. Soğutulup pH yeniden 6,8'e ayarlanır. 200 ml'ye distile suyla tamamlanır.

Lower jel: (% 7,5'lük)

Distile su	4450 µl
Acril : bisacril % 30 T, % 2,6 C	2500 µl
4 × lower buffer (tris HCl, pH: 8,8)	2500 µl
% 10 SDS	100 µl
% 10 APS	450 µl
TEMED	10 µl

Upper jel: (% 4'lük)

Distile su	3050 µl
Acril : bisacril % 30 T, % 2,6 C	650 µl
4 × Upper buffer (tris-HCl, pH: 6,8)	1250 µl
% 10 SDS	50 µl
% 10 APS	50 µl
TEMED	5 µl

3- Homojenizasyon buffer: pH: 7,5 50 mM Tris-HCl, 0,15 M NaCl, 1 mM EDTA, 2 mM EGTA, 25 µg/ml Leupeptin, 25 µg/ml Aprotinin, 10 µM benzamidin ve % 1'lik Triton X-100 bulunacak şekilde total hacim 30 ml'ye tamamlandı.

4- Sample buffer:

Upper buffer (0,5 M Tris-HCl, Ph: 6,8)	2,0 ml
Gliserol	1,6 ml
% 10 SDS	3,2 ml
2-Merkaptoetanol	0,8 ml
% 0,1(w/v) Brom fenol blue	0,4 ml

5- Running buffer: 15 gr Tris, 72 gr Glisin, 5 gr SDS, pH: 8,3'e ayarlanıp distile su ile 1 litreye tamamlanır. 5 kat sulandırılarak kullanılır.

6- Transfer buffer: 0,606 gr Tris, 2,882 gr Glisin ve 1 ml % 10 SDS, distile su ile 160 ml'ye pH: 8,2-8,4 olacak şekilde tamamlanır. 40 ml metanol eklenir.

7- TTBS (Tris-Tween-Buffer Saline): 18,15 gr Tris, 26,25 gr NaCl, 3 ml Tween 20 (yoğun bir madde olduğu için pipetle yavaşça çekilir) pH: 7,5 olarak ayarlanıp 3 litreye distile suyla tamamlanır.

8- Primer antikolar: Anti-NR2A 1/500, Anti-NR2B 1/500, Anti-nAChR α 7 1/200, Anti-5-HT_{2A} 1/200, taze % 1 BSA-TTBS ile dilüe edilerek hazırlandı.

9- Sekonder antikor: Antirabbit IgG (Alkalen fosfataz konjuge) 1:10000 oranında, taze % 1 BSA-TTBS ile dilüe edilerek hazırlandı.

3.2. Gereç ve Yöntem

3.2.1. Morris Su Labirenti ve Uygulaması

Su labirenti 150 cm çaplı, içi beyaz boyalı, galvanik metalden yapılmış dairesel bir havuzdur. Su labirentinin bulunduğu laboratuvar, labirentin dört yanına yerleştirilmiş ve ışığı tavana yansıtılmış lambalar ile aydınlatılmıştır. Su labirentinin çevresinde sabit olarak tutulan görsel ipuçları (tablo, sandalye, masa) konulmuştur. Deney öncesi su labirenti su ile doldurulmuş, 24 ± 1 °C'ye ısıtılmış ve nontoksik boya ile boyanmıştır. Labirent "1. kadrant", "2. kadrant", "3. kadrant" ve "4. kadrant" olmak üzere dört kadranta ayrılmıştır. 2. kadrant hedef kadrant olarak belirlenmiş ve su seviyesinin 2 cm altında kalacak şekilde gizli bir platform konulmuştur. Herbir sıçan yüzü labirentin duvarına dönmüş şekilde ve her defasında rastgele, farklı bir kadrandan havuza bırakılmıştır. Her sıçana 1 dk süre tanınmış, platformu bulamazsa elle platform üzerine yönlendirilerek 30 sn mekanı algılaması için beklenmiştir.

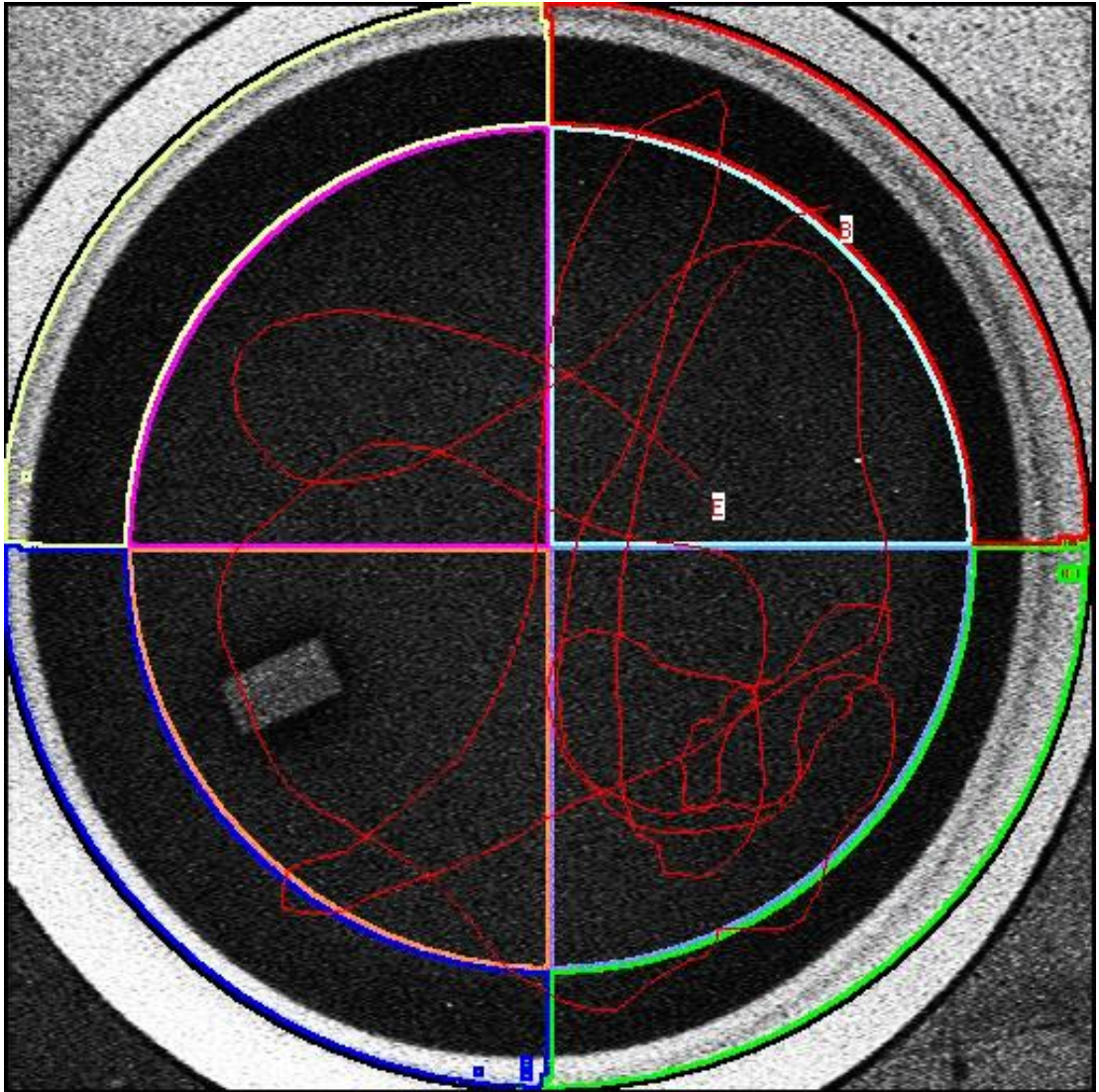
Platformu bulan sıçanlar için de platform üzerine çıktıktan sonra 30 sn dinlenme süresi tanınmıştır. Günde 4 eğitim olacak şekilde, 5 gün boyunca eğitim devam etmiştir ve her bir sıçan toplam 20 egzersiz yapmış ve platformun yerini bulmayı öğrenmişlerdir. Bir gün içinde uygulanan 4 deneme ile elde edilen verilerin ortalamaları hesaplandı ve böylece veriler günlük bloklar haline dönüştürüldü. Beş gün süreyle yapılan bu eğitim amaçlı yüzdürme denemelerinden elde edilen veriler grafik haline getirilerek öğrenme eğrileri elde edildi. Altıncı gün oluşan belleğin test edildiği aşama uygulanmıştır. Platform havuzdan çıkarılarak hayvanlar bir kez 1 dakika süreyle yüzdürüldüler. Platform sabit olarak bulunduğu kadranda kaldırılmış ve her bir sıçanın hedef kadranda geçirdiği süre kaydedilmiştir (Probe trial, probe test, retention) (Morris 1984). Bu testte elde edilen parametreler de, sıçanların hipokampusa dayalı mekansal hafıza bellek performanslarını göstermektedir. Son olarak su labirentinde görünür platform testi (Visible platform) yapılarak sıçanların motivasyonu, lokomotor özellikleri değerlendirildi. Bu aşamadan sonra sıçanlara deneysel uyku bozuklukları modelleri uygulandı. Hipokampusa dayalı mekansal hafızanın nasıl etkilendiğini test etmek amacıyla probe trial ve platform testleri; Kontrol grubu için deney süresi olan 1 hafta süresince her gün, SD grubu için toplam deney süresi olan 3 gün boyunca hergün, REM deprivasyonu grubu için toplam deney süresi olan 7 gün boyunca ve Uyku yoksunluğu grubu için toplam deney süresi olan 7 gün boyunca hergün yapılmıştır. Uygulamalar boyunca günlük olarak probe testi ile bellek ölçümleri yapılmış ve ardından platform testi yapılarak sıçanlarda bilginin tekrar edilmesi sağlanmıştır. SD grubu için deney sonunda probe testi ve görünür platform testi (Visible platform) yapılmıştır. Kontrol, REM deprivasyonu ve Uyku yoksunluğu grupları için, deney sonunda probe testi ve görünür platform testi (Visible platform) yapılmıştır.

Tüm eğitim ve test dönemi su tankı üzerine yerleştirilmiş bir video kamera (Sony SSC-DC398P, Japonya) aracılığı ile bilgisayara aktarıldı. Bilgisayara aktarılan görüntü, eşzamanlı olarak Smart 2.5 V (İspanya) yazılımı tarafından analiz edilmiştir.

Eğitim yüzdürmeleri sırasında (trials) ölçülen parametreler; Platformu bulana kadar geçen süre, platformu bulana dek hayvanın yüzdüğü mesafe, platformu bulana dek hayvanın yüzdüğü ortalama hız, duvara 10 cm uzaklıktaki alanda yüzülen

mesafe, duvara 10 cm uzaklıktaki alanda yüzülen süre, duvara 10 cm uzaklıktaki alanda yüzdükleri sürenin yüzdesi olarak değerlendirilmiştir.

Test (probe) yüzdürmeleri sırasında ölçülen parametreler; platformun bulunduğu kadranda (2. kadrant, hedef kadrant) yüzülen süre, platformun bulunduğu kadranda (2. kadrant, hedef kadrant) yüzülen mesafe, duvara 10 cm uzaklıktaki alanda yüzülen süre, hayvanın yüzdüğü ortalama hız, hayvanın yüzdüğü toplam mesafe (cm) olarak değerlendirilmiştir.



Resim 1. Bir sıçanın Morris Su Labirentinde izlediği yol ve alınan kaydın görünümü.



Resim 2. Gizli platformu bulmaya çalışan sıçan.

3.2.2. Uyku Bozuklukları Uygulamaları

3.2.2.1. Kontrol Grubu

Kontrol (K) grubundaki sıçanlar; 13 cm çaplı platform her kafeste 3 adet olacak şekilde toplam 4 kafese yerleştirilerek 12 sıçan kontrol grubu olarak oluşturuldu. Deney süresince yem ve suya serbest ulaşimleri sağlandı (Youngblood et al., 1997, Kim et al., 2005). Platformların 1 cm altına kadar kafesler 24 ± 1 °C su ile dolduruldu ve günlük olarak kafeslerdeki sular değiştirildi. Platformların üzerindeki sıçanlar suyun içine düşmeden uyuyabildiler. Deney süresince her gün kontrol grubu sıçanlarına bellek testi olarak; probe testi ve sonrasında platform testi yapıldı.



Resim 3. Kontrol grubu için platform uygulaması

3.2.2.2. Total Uyku Deprivasyonu

Total uyku deprivasyonu (SD), 3.3 cm çapında platformlar kullanılarak yapıldı (chu et al., 2005). 1 kafeste 9 platform olacak şekilde her kafese 6 hayvan yerleştirilerek 2 kafeste deney gerçekleştirildi. Kafeslere platformların 1 cm altına kadar 24 ± 1 °C su konuldu ve günlük kafes suları değiştirildi. Deney boyunca kafeste sıçanların yem ve suya serbest şekilde ulaşmaları sağlandı. 3 gün boyunca sıçanlara total uyku deprivasyonu hazırlanan platformlarda uygulandı. Sıçanlar sadece test aşamalarında platformdan çıkarıldı. Deprivasyonun her gününde sıçanlara bellek testi olarak; probe testi ve sonrasında platform testi yapılarak sonuçları kaydedildi.



Resim 4. Total uyku deprivasyonu grubu için platform uygulaması

3.2.2.3. Selektif Rem Uyku Yoksunluğu

Selektif REM uyku yoksunluğu (RD) modifiye saksı (modified flower-pot) tekniği kullanılarak oluşturuldu (Youngblood et al., 1997, Kim et al., 2005). Bu yöntem 6,5 cm çaplı 18 adet platform kullanılarak yapıldı. Her kafese 6 platform ve 4 hayvan olacak şekilde 3 kafeste 7 gün boyunca REM deprivasyonu yapıldı. Platformların 1 cm altına kadar 24 ± 1 °C su konuldu ve kafeslerdeki sular günlük olarak değiştirildi. REM uyku yoksunluğu yapılmak istenen sıçanlar (6,5 cm çaplı platforma konanlar) platform üzerinde kaldıkları sürece ıslanmadılar. Ancak, REM uykusuna daldıklarında, kas atonisi gelişmesiyle platform üzerindeki sıçanların burunları yada kuyrukları suya deymesi yada duramayıp suyun içine düşmeleri ile REM uykusundan uyandılar. Islanan sıçanlar tekrar platformun üzerine çıktılar. Böylece düzenekte kaldıkları süre boyunca REM uykusunu uyuyamadılar; diğer uyku evrelerini fazla kayıp olmadan uyuyabildiler. Bu yöntemde, tek saksı modeline kıyasla, hayvanların sosyal yönden izole olması engellenerek stres faktörleri azaltıldı. Ayrıca, kafeslere 6 adet platform ve 4 adet sıçan konularak immobilizasyon stresi de ortadan kaldırıldı.



Resim 5. Selektif rem uyku yoksunluğu grubu için platform uygulaması

3.2.2.4. Uyku Yoksunluğu Grubu

Uyku yoksunluğu (SF) grubundaki hayvanlar normal kafes içerisinde tutulmuş, su ve yeme her zaman ulaşmalarına izin verilmiştir. Normal aydınlık karanlık siklusunda totalde 12 saat uyuyan bu sıçanlara normal uykularından %75 daha az uyumaları sağlanmıştır (Ayas et al., 2003). Yani total fizyolojik uykuları 12 saat olan bu sıçanlara 8 saat uyanık 4 saat uyku uyumalarına izin verilmiştir. Sleep onset latans 20.3 dakika olarak belirtilen (Carrington 2005), sıçanlarda uyku yoksunluğunu oluşturabilmek için gece 00:00'dan itibaren 15 dakikada bir 5 dakika uyaran verilerek sıçanların uyumaları engellenmiştir. Uyku yoksunluğu 7 gün boyunca yapılmış ve her bir gün sonunda hayvanlara bellek testi yapılmıştır.



Resim 6. Uyku yoksunluğu grubu için platform uygulaması

3.2.2.5. Deneyden Çıkarılan Sıçanlar ve Deneyden Çıkarılma Nedenleri

Deney esnasında herhangi bir anormal durum saptanmamıştır. Böylece herhangi bir sebepten dolayı hiçbir sıçan deneyden çıkarılmadı. Deney sonuna kadar tüm sıçanların sağlıklı olarak öğrenme ve bellek parametreleri kaydedildi.

3.2.3. Hipokampus Örneklerinin Homojenizasyonu

Aynı gruptaki farklı sıçanlara ait hipokampus örnekleri tartılıp yeterli protein konsantrasyonunu sağlamak amacıyla 2 hipokampus 1 örnek oluşturacak şekilde birleştirilmiş ve ardından 1/5 oranında homojenizasyon tamponu ile homojenize edildi. İlk adımda buz üzerinde teflon-cam homojenizatör ile 18-20 darbeye homojenizasyon yapıldı. Ardından 1 dak. Süreyle HD 2070 Sonopuls Ultrasonic homojenizatör ile (Bandelin Electronic, Berlin, Almanya) doku parçalama işlemi tamamlandı. Homojenize edilen örnekler 10000 g'de +4 °C'de 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Süpernatantlarında Lowry yöntemi kullanılarak protein tayini yapıldı (Lowry et al., 1951). Son olarak süpernatantları yedeklenerek çalışılınca kadar -80 °C'de saklandı.

3.2.4. SDS-PAGE Yöntemi

Esas olarak Laemmli'nin yöntemi çalışıldı (Laemmli 1970); % 7,5'lik lower jel ve % 4'lük upper jel hazırlanıp, kuyucuk başına son konsantrasyonu 50 µgr protein olacak şekilde, doku homojenatı sample buffer'la 1/1 oranında karıştırılarak uygulandı.

3.2.5. Western Blot Yöntemi

SDS-PAGE prosedürü ile örnekler jel üzerinde proteinlerine ayrıldı ve daha sonra polyvinylidene difluorid (PVDF) membrana (immobilon-P) transfer edilmek üzere transfer tankına alındı. Transfer prosedürü sonrası ayrı ayrı anti-NR2A, anti-NR2B, anti-nACh α 7, anti-5-HT_{2A} ve anti- β -aktin içeren solüsyonlarda bir gece boyunca (15 saat) bekletildi. Her bir grup için çalışılan anti- β -aktin pozitif kontrol olarak kullanılmıştır (Liaw et al., 2008). Daha sonra sekonder antikorla 1 saat süre ile inkübe edilen membranlar, taze hazırlanan BCIP/NBT solüsyonunda yeterli boyanma sağlanana kadar bekletildi. Oluşan bantlar Kodak Image Station 2000 MM cihazı kullanılarak tarandı. Elde edilen bant yoğunlukları her bir reseptör altbirimi için kendi arasında karşılaştırıldı (Delibas et al., 2005).

3.2.6. Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELİSA) Yöntemi

Glutamat, Asetilkolin ve Serotonin düzeyleri CUSABİO (Wuhan Huamei Biotech, China) adlı ticari kit ile, 8-OH-2'-Deoksiguanozin düzeyi için Cayman (Cayman Chemical Company, USA) adlı ticari kit kullanılarak ELİSA yöntemi ile çift tekrarlı çalışıldı. Her biri için 7 seviyeli standart kullanılarak, konsantrasyon optik dansite grafiği çizildi. Glutamat, Asetilkolin, Serotonin ve 8-OH-2'-Deoksiguanozin konsantrasyonları bu grafik kullanılarak hesaplandı. Glutamat düzeyi için duyarlılık sınırı 3.12 nmol/ml, Asetilkolin düzeyi için 0.078 ngr/ml ve Serotonin düzeyi için 0.4 ngr/ml ve 8-OH-2'-Deoksiguanozin düzeyi için 33 pg/ml'dir. Guanin, DNA bileşenleri içerisinde en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip olan ve oksidasyona en yatkın olan bazdır. Modifiye bir baz olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin, reaktif oksijen türlerinin DNA'da yaptığı 20'den fazla oksidatif baz hasar ürününden biri olup guaninin 8. karbon atomuna hidroksil radikali atakları

sonucu oluşan, oksidatif DNA hasarının duyarlı bir göstergesidir. DNA replikasyonu sırasında G-C'den A-T'ye dönüşüme neden olarak mutasyona eğilimi artırır (McDorman et al., 2005). Bu nedenle 8-OHDG ölçümü, DNA'daki oksidatif hasarın doğrudan göstergesi olarak kabul edilmekte ve oksidatif DNA hasarını belirlemede en sık kullanılan yöntem olarak uygulanmaktadır (Helbock et al., 1999).

3.2.7. Kolorimetrik Yöntem

TBARS VE NO düzeyleri Cayman (Cayman Chemical Company, USA) adlı ticari kitler kullanılarak kolorimetrik yöntem ile çift tekrarlı çalışıldı. Her biri için 8 seviyeli standart kullanılarak, konsantrasyon optik dansite grafiği çizdirildi ve TBARS ve NO konsantrasyonları bu grafik kullanılarak hesaplandı.

NOS enzimleri aracılığı ile oluşan NO biyolojik dokularda bir dizi reaksiyona girer. NO yarılanma ömrü çok kısa olan bir bileşiktir. Kan gibi fizyolojik ortamlarda yarılanma ömrü 6-20 saniye kadardır ve bu durum bazal koşullarda NO ölçümünü güçleştirmektedir. NO, her ne kadar elektrokimyasal ve kemilüminesans gibi yöntemler ile direkt olarak ölçülebilse de, hızlı ve basit bir yöntem olarak çoğu örnekte NO metabolizmasının dayanıklı son ürünleri olan nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) miktarlarının ölçülmesi de sıklıkla kullanılmaktadır. Bu çalışmada bahsedilen son yöntem kullanılmıştır. NO metabolizmasının incelenmesi için sadece nitrit miktarlarının ölçümü sıklıkla kullanılsa da, bu reaksiyonlar sonucunda nitratın da oluştuğu ve biyolojik sistemlerde nitritin hem demiri içeren proteinler varlığında nitrate okside olduğu da unutulmamalıdır. Fizyolojik koşullarda NO yaklaşık 3:2 oranında nitrit ve nitrate okside olmaktadır. Oksijenlenen çözeltilerde nitritin nitrate dönüşümü oldukça yavaştır. Bütün bunlar ile birlikte, nitrit ve nitratın oluşum oranları değişken ve örneğe de bağlı olduğundan, NO metabolizmasının derecesinin en iyi göstergesi nitrit ve nitratın ikisinin birden (NO_x olarak ifade edilir) ölçülmesi ile elde edilen sonuçlardır. Nitrit vücut sıvılarında nitrattan daha az konsantrasyonda bulunduğundan, çoğu durumda NO_x nitrat konsantrasyonlarını ifade eder. Nitrit ve nitrat düzeyleri için duyarlılık sınırı $2.5 \mu\text{M}$ 'dir.

3.2.8. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 18 for Windows paket programı kullanılarak yapıldı. Grupların tanımlayıcı istatistikleri ortalama ve standart hata (SE) şeklinde verilmiştir.

Değerlendirme öncesinde, verilerin normal dağılım gösterip göstermedikleri Kolmogorov-Simirnov testi ile bakıldı. İncelenen özelliklerin normal dağılım gösterdiği, Levene homojenite testi ile varyansların homojen olduğu ve parametrik testlerin güvenilirlikle kullanılabileceği görüldü. Sonrasında gruplar arası karşılaştırmalar parametrik testlerle yapıldı. Her bir zaman içinde incelenen özelliklerin gruplara göre karşılaştırılmasında tek faktörlü varyans analizi (one way anova), her parametre için grup içi günler arasında karşılaştırılmada tekrarlanan ölçümlü varyans analizi (Repeated measures) kullanıldı. Farklı olan ortalamaları belirlemek için; LSD, Bonferroni ve Tukey testi uygulandı. Varyansları homojen olmayan, örnek sayısı az olan ölçümlerde nonparametrik testlerden, Kruskal Wallis, Mann Whitney U testi kullanılmıştır. İkili grup karşılaştırmaları t testi ile yapıldı. İstatistiksel anlamlılık değeri % 95 güven aralığında $p < 0.05$ olarak alındı.

4. BULGULAR

4.1. Morris Su Labirenti Verileri

“Labirent Testi”ne ait veriler, 2 ana alt grupta sunulacaktır

4.1.1. Öğrenme

Eğitim yüzdürmeleri sırasında (trials) ölçülen parametreler:

- Platformu bulma süresi (sn)
- Dış kadranda yüzülen mesafe (cm)
- Dış kadranda yüzülen süre (sn)
- Dış kadranda yüzülen sürenin yüzdesi (%)
- Platformu bulana kadar hayvanın yüzdüğü ortalama hız (cm/sn)
- Platformu bulana kadar hayvanın yüzdüğü mesafe (cm)

olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 1. Çalışmada incelenen tüm parametrelerin aritmetik ortalama ve standart hata değerleri.

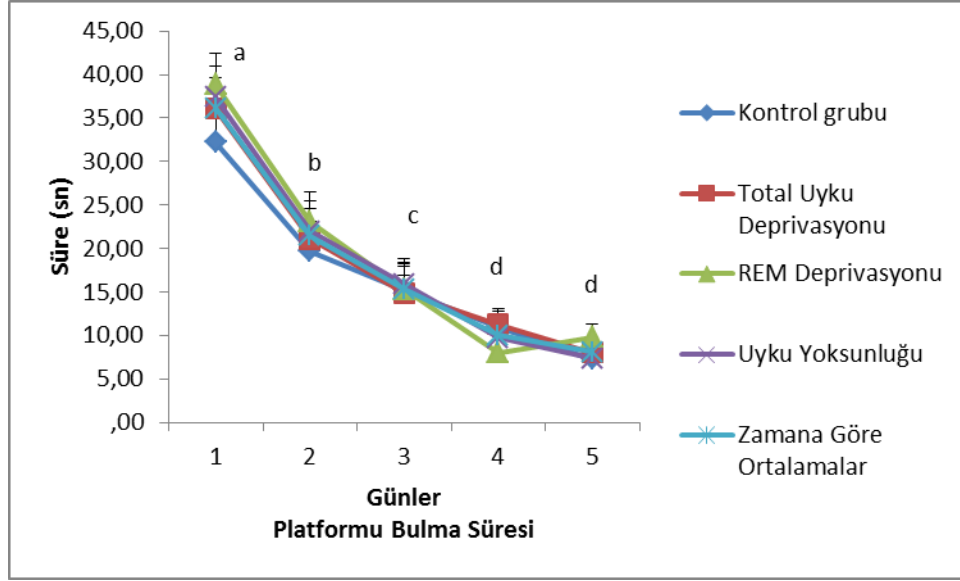
	ÖĞRENME				
	Blok 1	Blok 2	Blok 3	Blok 4	Blok 5
	Platformu Bulma süresi (sn)				
Grup I	32,18±2,52	19,70±2,54	15,25±3,26	10,97±1,97	7,28±1,42
Grup II	36,04±3,22	21,08±3,52	14,90±3,31	11,25±1,64	8,04±1,71
Grup III	38,89±4,50	23,04±3,42	15,33±2,69	8,00±1,75	9,79±1,39
Grup IV	37,41±3,63	21,97±4,17	15,88±2,74	9,70±1,83	7,37±1,54
	Dış kadranda yüzülen mesafe (cm)				
Grup I	414,89±51,51	183,05±33,27	88,55±26,03	55,49±14,37	21,65±4,47
Grup II	545,22±64,16	196,18±46,56	93,11±27,33	48,92±12,16	34,61±10,50
Grup III	704,88±102,88	255,90±54,33	108,28±22,41	26,96±4,18	46,71±12,81
Grup IV	586,66±56,45	226,46±66,14	115,86±30,66	57,00±21,72	34,26±9,99
	Dış kadranda yüzülen süre (sn)				
Grup I	19,59±2,49	7,77±1,55	3,89±1,14	2,27±0,59	0,90±0,24
Grup II	23,88±2,64	8,21±1,84	3,63±1,17	2,04±0,55	1,27±0,46
Grup III	29,58±3,87	10,20±2,20	4,30±0,84	1,11±0,16	1,75±0,41

Grup IV	26,34±2,71	10,28±2,80	4,97±1,21	2,49±0,79	1,52±0,43
	Dış kadranda yüzülen sürenin yüzdesi (%)				
Grup I	44,68±4,30	24,71±3,84	18,60±2,30	14,60±1,20	11,96±1,40
Grup II	56,04±2,95	27,70±4,11	16,20±2,04	15,60±1,69	12,89±1,56
Grup III	62,77±4,83	28,36±3,93	21,32±2,35	14,70±1,63	14,97±2,46
Grup IV	55,58±3,74	30,64±4,42	22,06±3,31	18,15±2,30	17,52±1,78
	Platformu bulana kadar hayvanın yüzdüğü ortalama hız (cm/sn)				
Grup I	23,27±1,16	26,97±0,91	25,64±1,05	27,37±1,15	28,22±1,34
Grup II	26,33±1,84	26,90±1,05	27,34±1,36	28,67±1,36	29,64±1,27
Grup III	25,31±1,09	27,88±1,25	28,25±1,08	27,80±0,96	28,09±1,14
Grup IV	23,52±0,72	24,70±1,16	25,33±1,52	24,95±1,55	27,28±1,45
	Platformu bulana kadar hayvanın yüzdüğü mesafe (cm)				
Grup I	739,97±59,05	523,14±58,35	374,24±75,19	296,10±50,98	200,19±31,89
Grup II	990,27±119,45	558,83±80,32	391,51±76,74	311,02±41,97	233,51±42,61
Grup III	996,45±120,33	635,16±91,75	422,31±70,66	203,10±22,19	271,60±40,27
Grup IV	900,95±85,00	535,86±101,11	390,84±68,90	259,17±53,06	198,37±34,21

(Grup I: Kontrol grubu, n=12; Grup II: Total Uyku Yoksunluğu, n=12; Grup III: REM Uyku Yoksunluğu, n=12; Grup IV: Uyku Yoksunluğu Grubu, n=12)

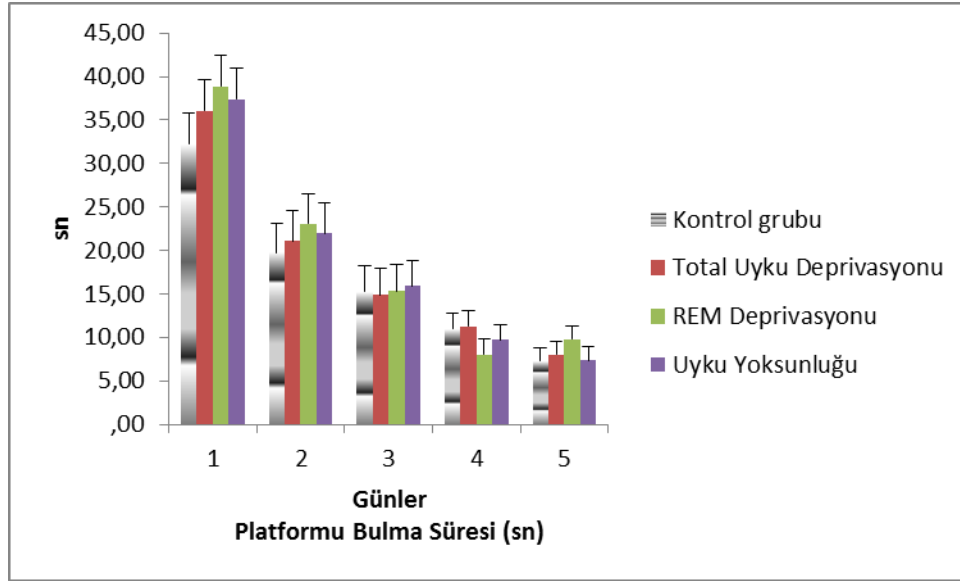
a) Platformu Bulma Süresi

Herbir grup için platformu bulma süresi açısından günler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark mevcuttu ($p= 0.01$). Tüm gruplarda 1. güne göre 2. günden itibaren anlamlı fark olduğu ve öğrenme sürecinin 2. günden itibaren arttığını göstermektedir. Bununla birlikte tüm gruplarda 1-3. günler, 1-4. günler, 1-5. günler arasında da anlamlı fark saptandı. Platformu bulma süresi tüm gruplarda azalmakta ve bu durum tüm gruplardaki sıçanların sistemi öğrendiğini göstermektedir (Grafik 1a).



Grafik 1a: Sıçanların günler arasında grup içi platforma ulaşma süreleri (Zamana göre ortalamalarda; aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu).

Bütün gruplar birbirleri ile karşılaştırıldıklarında platformu bulma süreleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$) (Grafik 1b).



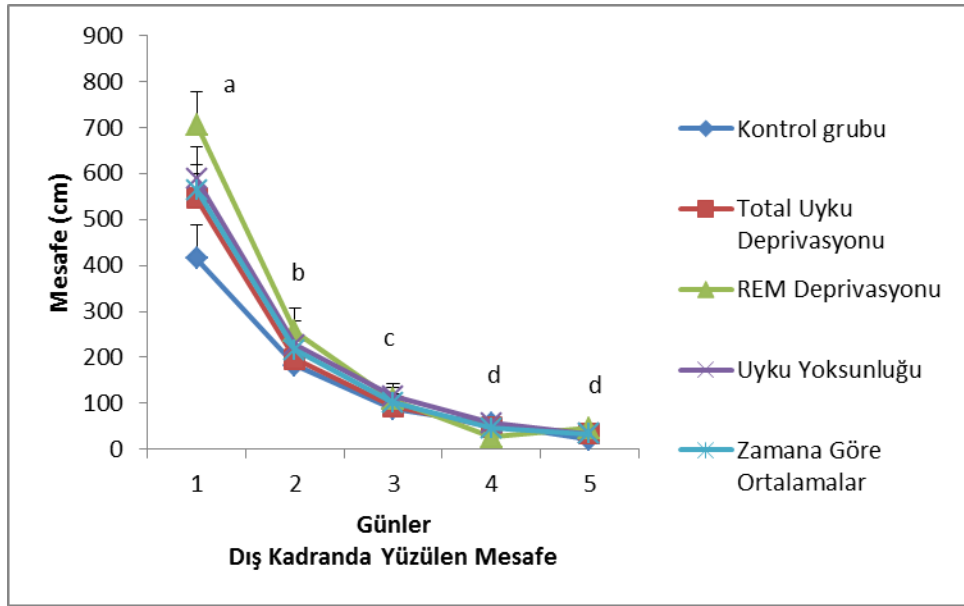
Grafik 1b: Sıçanların günler içerisinde gruplar arasında platforma ulaşma süreleri

b. Dış Kadrandaki yüzülen mesafe (cm)

Bütün gruplar birbirleri ile karşılaştırıldıklarında dış kadranda yüzülen mesafe açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

Herbir grup için dış kadranda yüzülen mesafe açısından günler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p=0.01$), sadece 4. ve 5. gün arasında fark istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$).

Testin ilk günlerinde sıçanlar ortamı ve sistemin amacını tanımadıklarından ve anksiyete nedeniyle de dış kadranda yüzme eğiliminde iken, 2. günden itibaren yani öğrenmenin başlaması ile birlikte dış kadranda yüzme mesafesini azaltarak, hedefe yönelik yüzmeye başladılar.

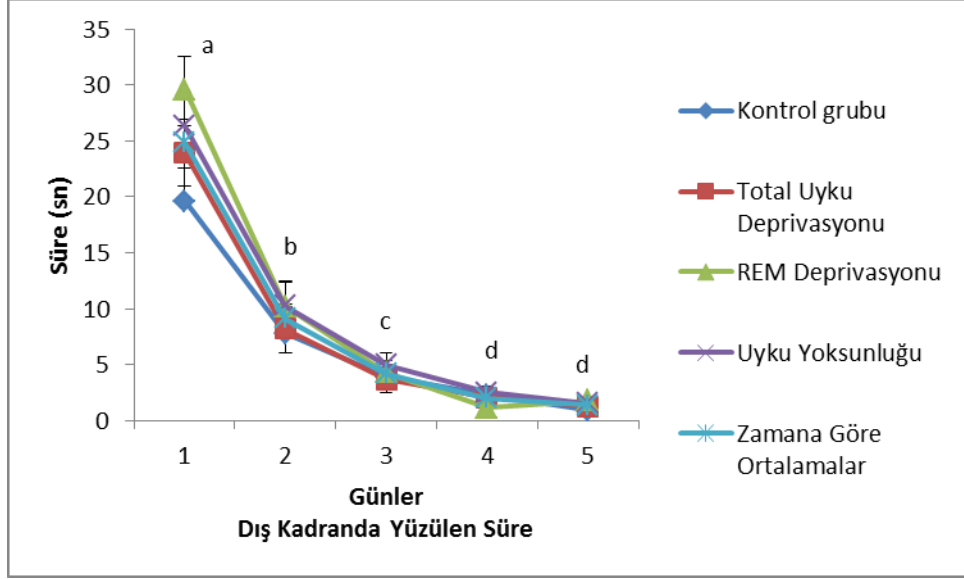


Grafik 2. Sıçanların günler arasında dış kadranda yüzdükleri mesafe (Zamana göre ortalamalarda; aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu).

c. Dış kadranda yüzülen süre (sn)

Bütün gruplar birbirleri ile karşılaştırıldıklarında dış kadranda yüzülen süre için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).

Dış kadranda yüzülen süre açısından günler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark mevcuttu ($p= 0.01$). Bu durum sıçanların dış kadranda yüzdükleri mesafe gibi yüzme sürelerinde de gün gün azaldığını göstermektedir.

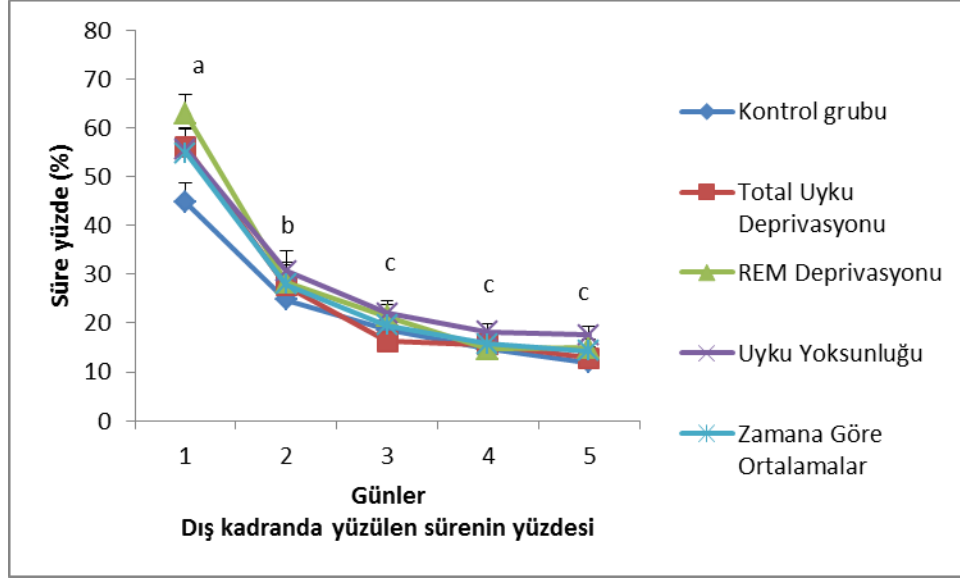


Grafik 3. Sıçanların günler arasında dış kadranda yüzdükleri süre (Zamana göre ortalamalarda; aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu).

d) Dış kadranda yüzülen sürenin yüzdesi

Bütün gruplar birbirleri ile karşılaştırıldıklarında dış kadranda yüzülen sürenin yüzdesi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Sadece gruplar arasında 1. günde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0.05$). Öğrenme süreci ile 2. günden itibaren bu fark ortadan kalkmakta ve tüm gruplar birbirine yakın değerler göstermektedir.

Dış kadranda yüzülen sürenin yüzdesi için günler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p= 0.01$), sadece 3. ve 4. günler ile 4. ve 5. günler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Bu durum sıçanların dış kadranda yüzdükleri sürenin yüzdesinin, bu alanda katettikleri mesafe gibi gün gün azaldığını göstermektedir.

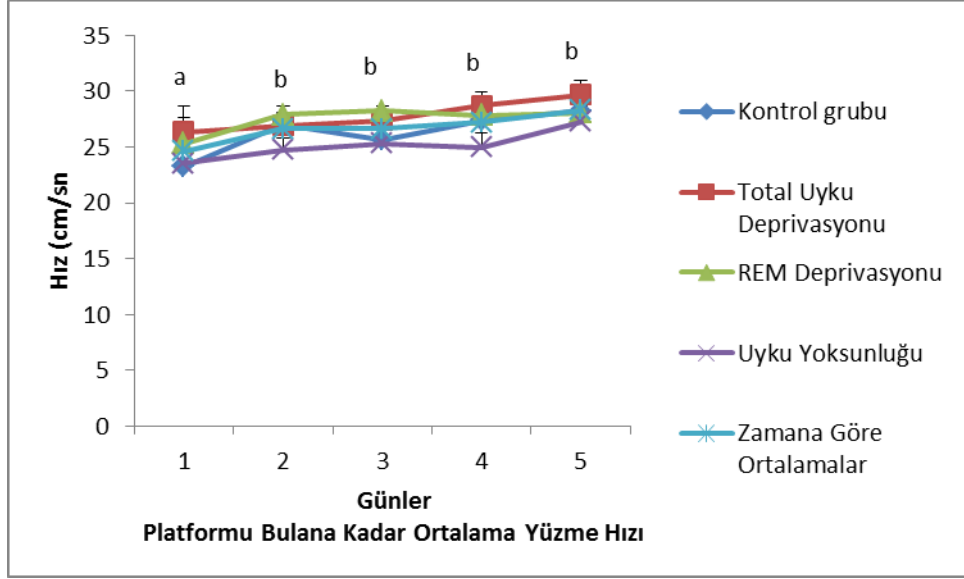


Grafik 4. Sıçanların günler arasında dış kadranda yüzdükleri sürenin yüzdesi (Zamana göre ortalamalarda; aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu).

e) Platformu bulana kadar hayvanın yüzdüğü ortalama hız

Bütün gruplar herbir gün için birbirleri ile karşılaştırıldıklarında, platformu bulana kadar hayvanın yüzdüğü ortalama hız açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$).

Platformu bulana kadar hayvanın yüzdüğü ortalama hız için günler arasında; 1.-2. Günler ($p = 0.028$), 1.-4. Günler ($p = 0.15$), 1.-5. Günler ($p = 0.01$), arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı. Bu durum sıçanların ortalama yüzme hızlarının 2. ve 3. günlerde birbirleriyle eşit durumda olduğunu göstermektedir ($p > 0.05$). Takip eden günlerde sıçanların ortalama hızları artarak, gizli platformu bulmak için daha hızlı yüzdükleri saptandı. Bu da sıçanların 2. günden itibaren öğrenmeye başladıkları ve bunun 5. günde tamamlandığını göstermektedir.



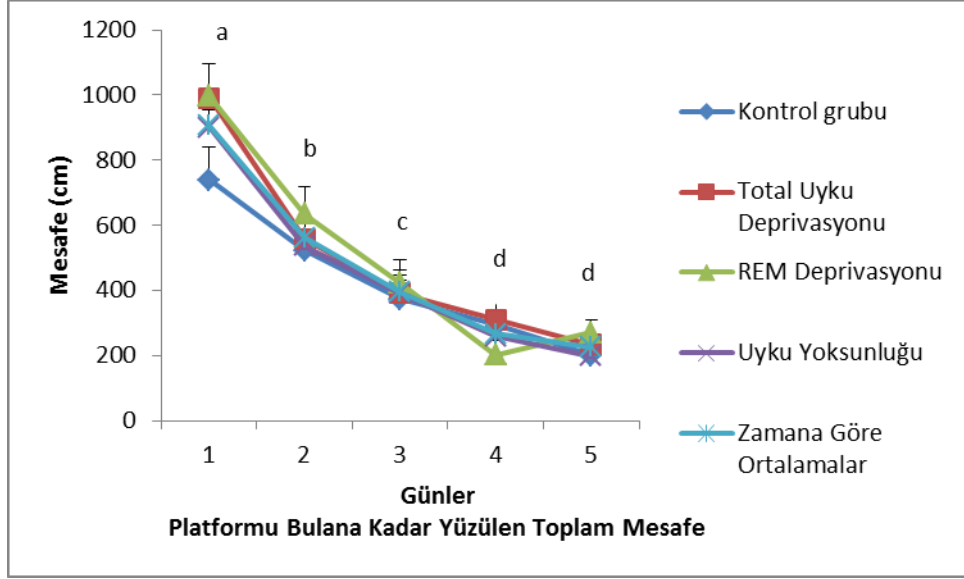
Grafik 5. Sıçanların günler arasında platformu bulana kadar yüzdükleri ortalama hızları (Zamana göre ortalamalarda; aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu).

f) Platformu bulana kadar hayvanın yüzdüğü mesafe

Gruplar arasında katettikleri mesafe açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).

Platformu bulana kadar hayvanın yüzdüğü mesafe açısından günler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p= 0.01$), sadece 4. ve 5. günler arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p>0.05$).

Testin sonunda sıçanlar mevcut sistemi günler içinde öğrenmiş ve hedefe yönelik yüzülen mesafenin günden güne tüm gruplarda anlamlı düzeyde azaldığı saptandı.



Grafik 6. Sıçanların günler arasında platformu bulana kadar yüzdükleri toplam mesafe (Zamana göre ortalamalarda; aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu).

4.1.2. Görünür Platform Testi (Visible Platform Test)

Bu testte sıçanların;

- platformu bulma süreleri (sn),
- Ortalama yüzme hızları (cm/sn),
- Toplam yüzdükleri mesafe (cm) olarak değerlendirilmiştir.

Görünür platform testi; öğrenme deneylerinin sonunda 6. günde yapıldı. Takip eden günlerde uyku bozukluğu uygulamaları başlanarak, uyku deprivasyon grubu için 3. günde, diğer gruplar için 7. günde tekrarlandı.

Tablo 2. Görünür Platform Testi için aritmetik ortalama ve standart hata değerleri.

	Görünür Platformu Bulma süresi (sn)		
	Başlangıç	3. gün	7. gün
Grup I	6,62±0,82		4,41±0,54
Grup II	5,62±0,41	11,08±4,44	
Grup III	6,75±0,93		4,58±0,52
Grup IV	5,75±0,68		4,50±0,65
	Ortalama Hız (cm/sn)		
	Başlangıç	3. gün	7. gün
Grup I	24,71±1,06		29,76±0,98
Grup II	26,51±1,69	32,12±1,37	
Grup III	24,12±2,22		33,06±1,56
Grup IV	24,80±1,38		29,03±1,45

	Yüzülen Toplam Mesafe (cm)		
	Başlangıç	3. gün	7. gün
Grup I	157,75±14,81		128,19±16,51
Grup II	150,63±9,10	346,09±139,57	
Grup III	177,11±28,19		143,64±13,32
Grup IV	133,56±9,22		121,82±11,85

(Grup I: Kontrol grubu, n=12; Grup II: Total Uyku Yoksunluğu, n=12; Grup III: REM Uyku Yoksunluğu, n=12; Grup IV: Uyku Yoksunluğu Grubu, n=12)

Görünür platform testi sonucunda; uyku deprivasyon grubunda 3. gün elde edilen veriler ile başlangıç günü değerleri, diğer gruplarda ise 7. gün ile başlangıç günü değerleri ile karşılaştırıldı.

Bu test sonucunda; sıçanların lokomotor aktiviteleri, deney sırasındaki görme kusurları ve deneye uyum ve motivasyon gibi parametrelerde uyku bozukluğu uygulamalarından sonra değişiklik olup olmadığını değerlendirildi.

Görünür platform testi sonuçlarına göre; öğrenme sürecinin ardından platformu bulma süreleri ($p= 0.610$), ortalama hız ($p= 0.763$) ve toplam yürüdükleri mesafe ($p= 0.360$) açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Bu durum öğrenme sürecindeki tüm sıçanların teste, ortama uyum gösterdiklerini ve lokomotor aktivitelerinde ise herhangi bir fark olmadığını göstermektedir.

Uyku deprivasyon grubundaki deney, çalışmanın 3. gününde sonlandırıldı. SD grubunun 3. gün görünür platformu bulma süresi, başlangıç günü süresi ile karşılaştırıldığında ($p= 0.236$) istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. 3. gün ortalama hızı, başlangıç günü hızı ile karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p= 0.05$). SD grubunun 3. gün toplam yürüdükleri mesafe, başlangıç günü ile karşılaştırıldığında ($p= 0.178$) istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

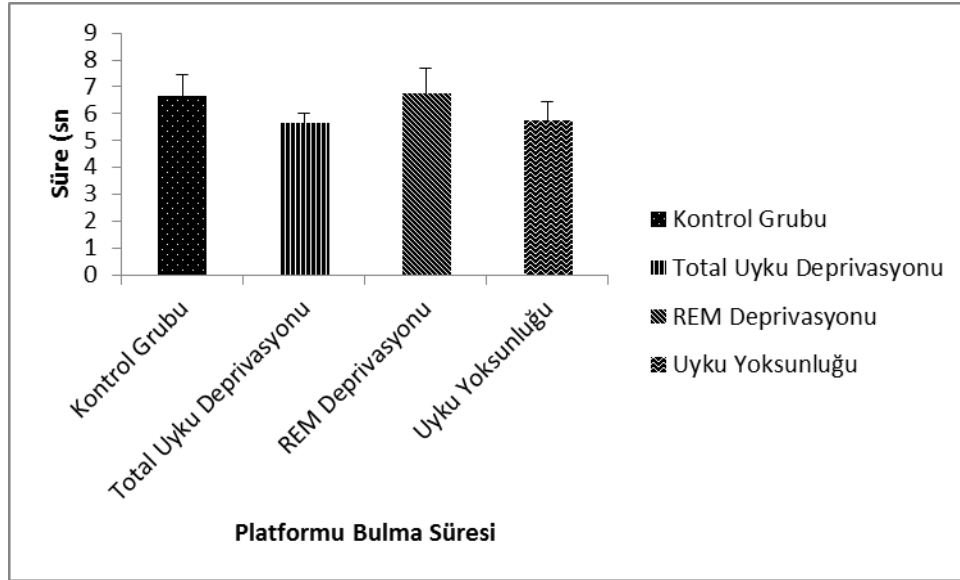
Kontrol, REM deprivasyonu ve Uyku yoksunluğu gruplarında; başlangıç günü verileri ile 7. gün verileri karşılaştırıldığında, platformu bulma süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p= 0.001$). Gruplar arasında ise anlamlı fark bulunamadı ($p= 0.665$).

Başlangıç günü ile 7. gün arasında ortalama hız açısından ($p= 0.00$) ve toplam yürülen mesafe ($p= 0.032$) açısından grup içerisinde istatistiksel olarak

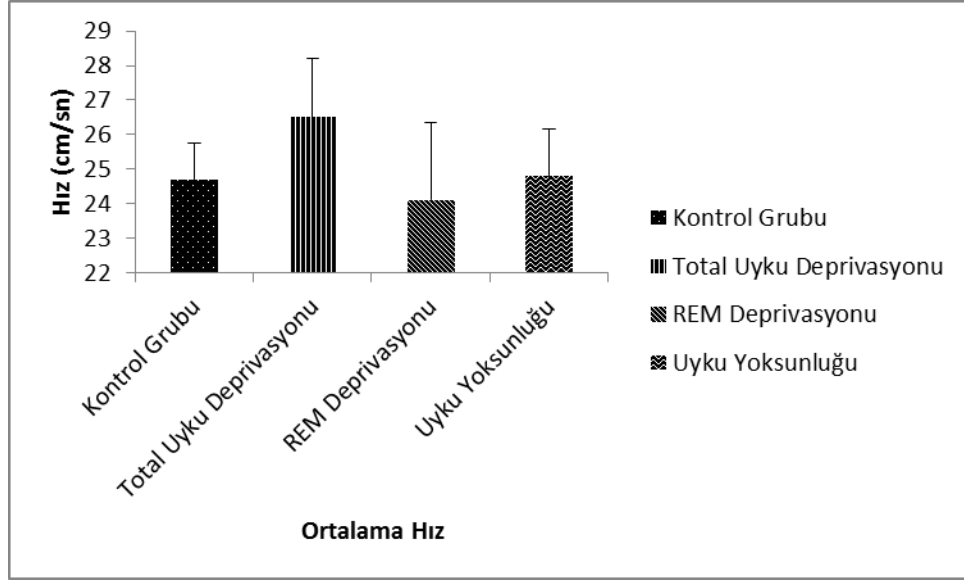
anlamli fark saptandi. Fakat gruplar arasinda anlamli fark yoktu (sirasıyla p= 0.653 ve p= 0.257).

Kontrol grubu, REM deprivasyonu ve uyku yoksunluğu gruplarında 7. günde görünür platformu bulma süreleri (p= 0.980), ortalama hızları (p= 0.099) ve toplam yüzülen mesafe (p= 0.534) açısından karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamli bir fark yoktu.

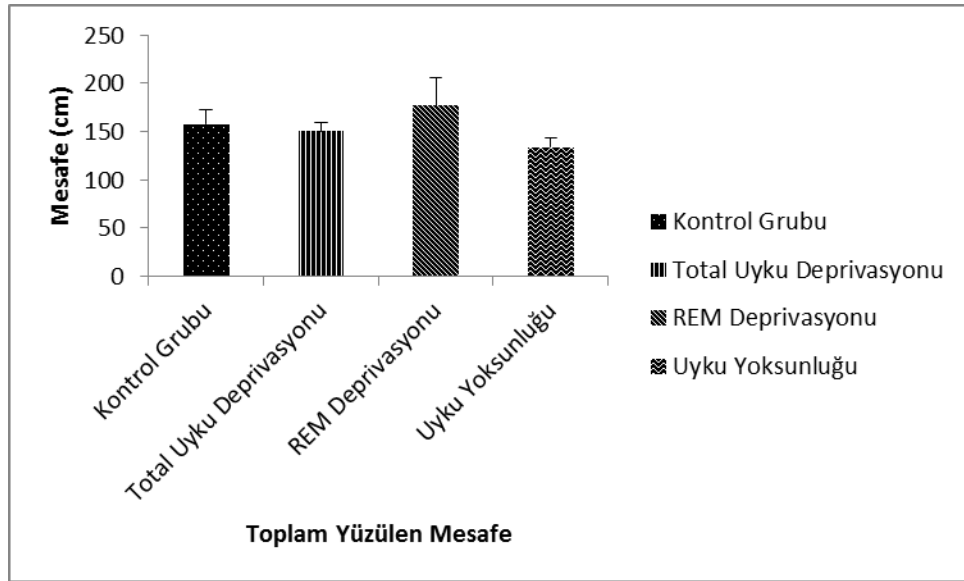
Bu bulgular öğrenme süreci sonunda tüm grupların sergilediği görünür platformu bulma sürelerinin deney sonunda azalmakta, fakat gruplar arasında farkın olmaması uygulanan uyku bozukluğu modellerinin lokomotor aktivite ya da motivasyon üzerine olumsuz bir etkisi bulunmadığını göstermektedir.



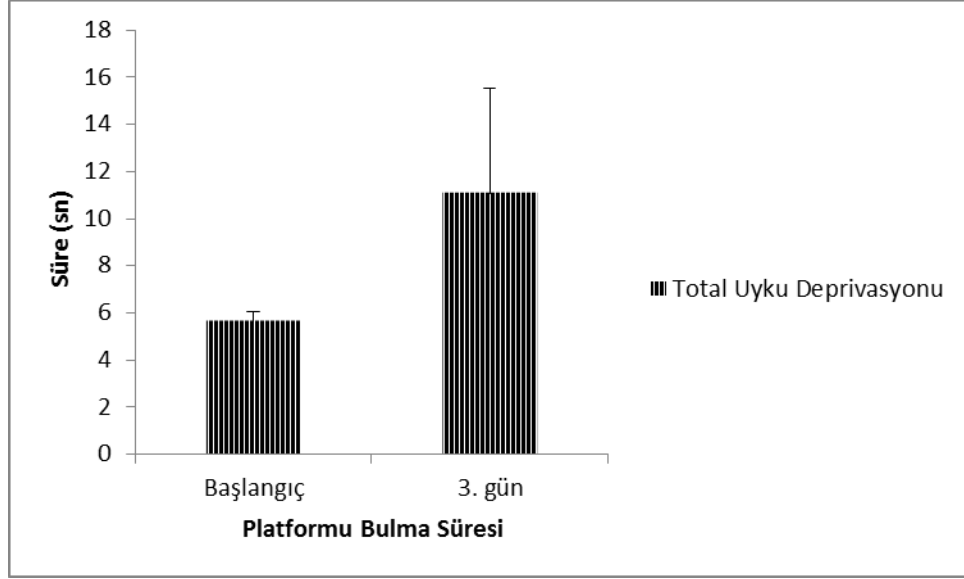
Grafik 7. Eğitim dönemi sonunda görünür platformu bulma süresi



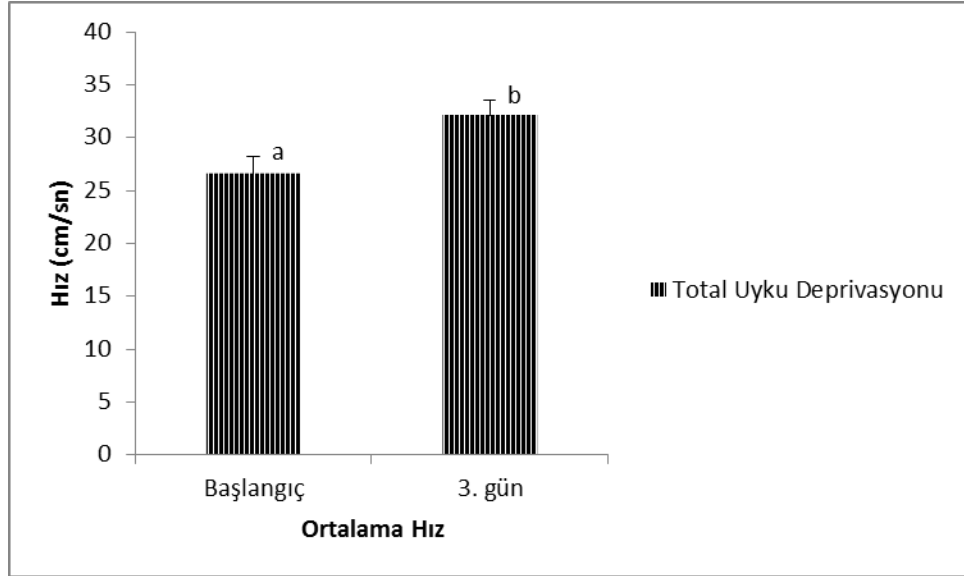
Grafik 8. Eğitim dönemi sonunda görünür platforma yüzme hızı



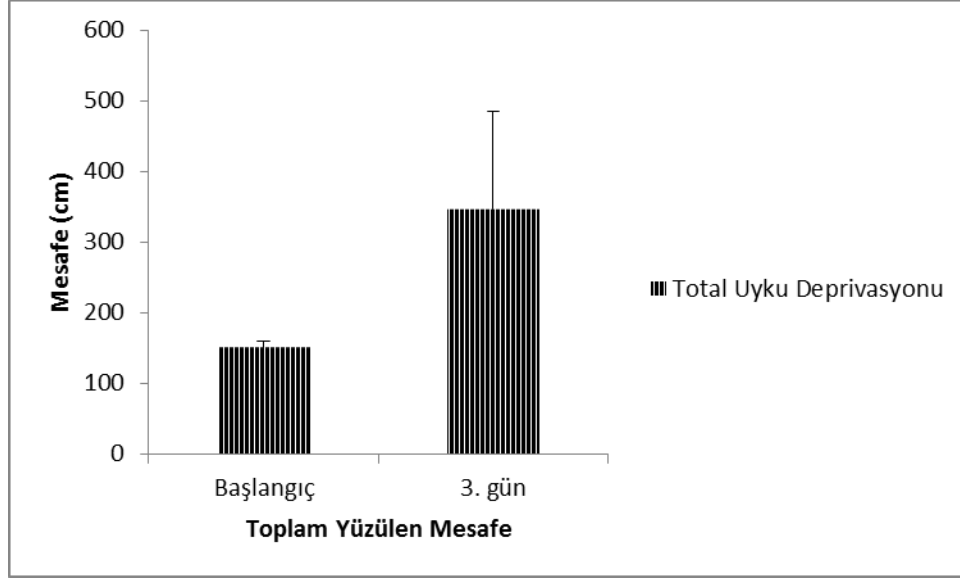
Grafik 9. Eğitim dönemi sonunda görünür platforma doğru yüzülen mesafe



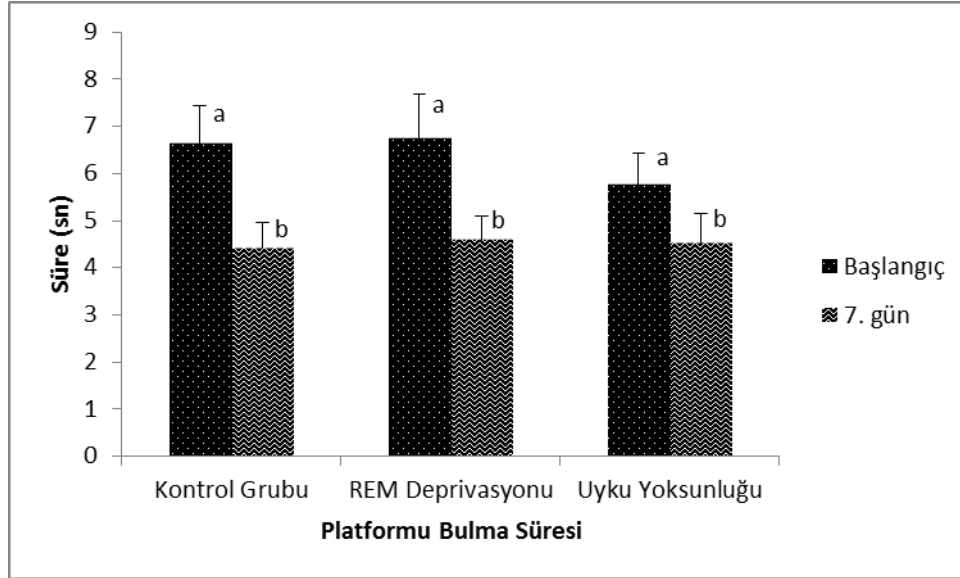
Grafik 10: SD grubu için, deney sonrası görünür platformu bulma süresi



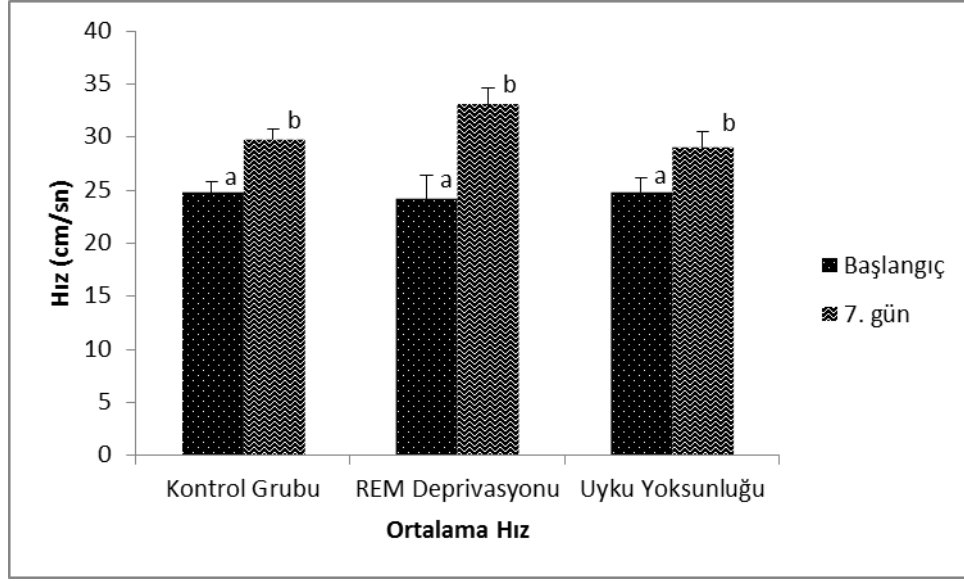
Grafik 11. SD grubu için deney sonrası görünür platforma yüzme hızı (Farklı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı).



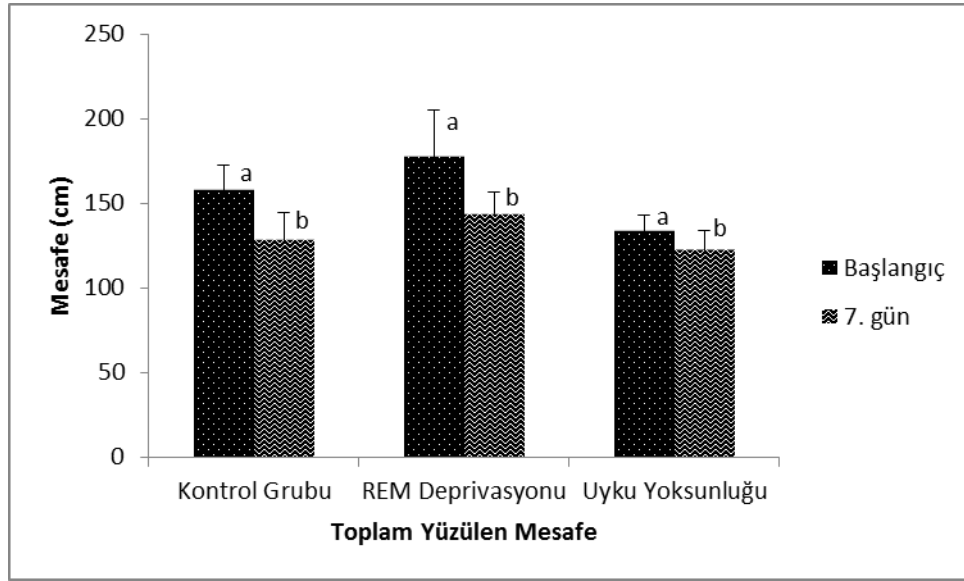
Grafik 12. SD grubu için, deney sonrası görünür platforma doğru yürülen toplam mesafe



Grafik 13. Görünür platform testinde deney öncesi ve sonrası platformu bulma süresi (Farklı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı).



Grafik 14. Görünür platform testinde deney öncesi ve sonrası görünür platforma yüzme hızı (Farklı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı).



Grafik 15. Görünür platform testinde deney öncesi ve sonrası görünür platforma doğru yüzülen toplam mesafe (Farklı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı).

4.1.3. Bellek

Bellek testi öğretim bloklarının ardından uyku bozuklukları oluşturulmadan önce hem platformlu hem de probe testi olarak yapılmıştır. Uyku bozuklukları oluşturulmasından sonra hergün tüm gruplara öncelikle probe testi, sonrasında platform testi yapıldı. Burada platform testinin hergün probe testi sonrası

yapılmasındaki amacımız, bilginin tekrar edilmesi ile korunması amaçlıydı. Çünkü sıçanlar hergün probe testi sonunda, platformu olması gereken yerde bulamadıkları için, motivasyon kaybı oluşabilirdi. Bunun için probe sonrası platform testi yapıldı ve platformun yeri hatırlatılarak bilginin tekrar edilmesi ve korunması, uzun süreli belleğe alınması sağlandı. Uygulanan uyku bozukluklu modellerinin bu süreçteki etkisi gün gün değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme için; test (probe) yüzdürmeleri sırasında ölçülen parametreler şunlardır:

- a) Platformun bulunduğu kadranda (2. Kadran, hedef hadran) yüzülen süre (sn),
- b) Platformun bulunduğu kadranda (2. Kadran, hedef hadran) yüzülen mesafe (cm),
- c) Sıçanların yüzdüğü ortalama hız (cm/sn),
- d) Sıçanların yüzdüğü toplam mesafe (cm),
- e) Dış kadranda yüzülen süre (sn),

Uyku bozukluğu uygulaması boyunca hergün alınan veriler; gruplar arasında ve grup içi günler arasında karşılaştırılmıştır.

a) Platformun bulunduğu kadranda (2. kadran, hedef hadran) yüzülen süre (sn).

SD grubunda 3 gün, diğer gruptaki sıçanlarda 7 gün boyunca uyku bozuklukları oluşturulmuştur. SD grubu 3. günün sonunda dekapite edilerek deney sonlandırılmış ve başlangıç gününden 3. güne ve yine başlangıç gününden 7. güne kadar olmak üzere bellek verileri değerlendirildi. Tüm gruplarda; başlangıç günü değerleri ile 3. gün değerleri arasında anlamlı fark ($p= 0.001$) bulunurken, hedef kadranda yüzülen süre artmıştı. 1. gün ile 3. gün arasında ($p= 0.002$), 2. gün ile 3. gün arasında ($p= 0.048$) istatistiksel olarak anlamlı fark saptanırken, hedef kadranda yüzülen süreler artmıştı.

Kontrol grubu için; zamana göre istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.001$). Başlangıç günü ile 2. gün arasında ($p= 0.004$) ve 3. gün arasında ($p= 0.010$) istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ve gün geçtikçe hedef kadranda geçirilen süre arttı.

SD grubu için başlangıç günü ile 3. gün verilerini değerlendirdiğimizde; zamana göre istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.001$). Uyku yoksunluğu grubunda başlangıç günü ile 3. gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p= 0.001$) ve 3. günde uyku yoksunluğu grubunda hedef kadranda yüzülen süre arttı. Yüzülen süre açısından total uyku deprivasyonu ve uyku yoksunluğu grubu arasında anlamlı fark vardı ($p= 0.044$). Yüzülen süre açısından uyku deprivasyonu ve REM deprivasyonu grubunda başlangıç günü ile 3. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).

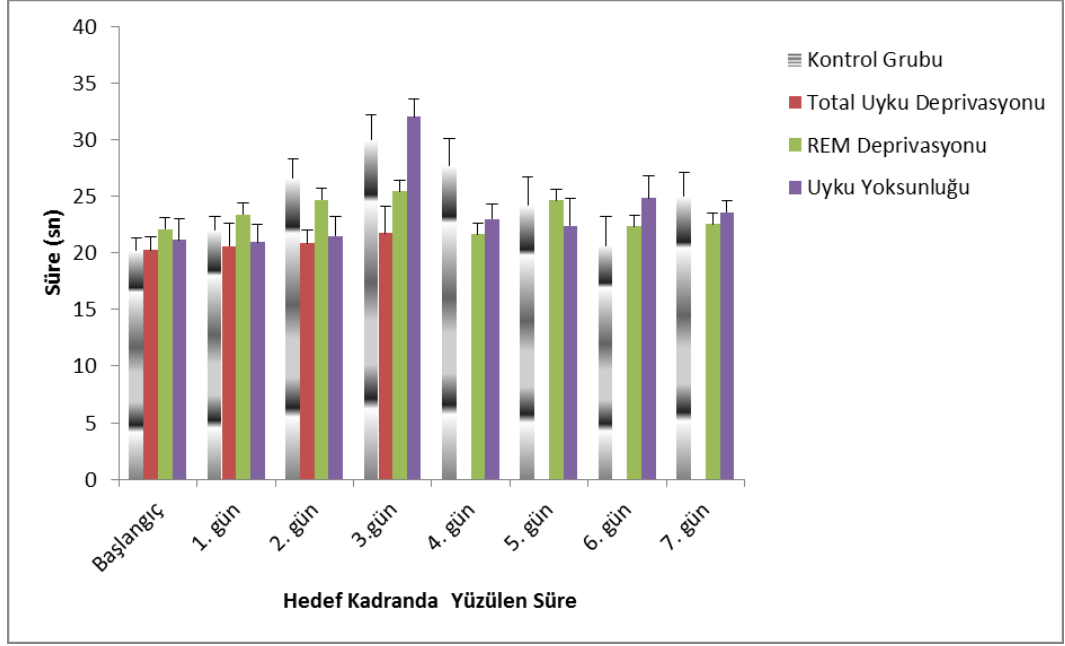
Uyku yoksunluğu grubu için zamana göre istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.001$). Uyku yoksunluğu grubunda, başlangıç günü ile 3. gün arasında ($p= 0.007$), 1. gün ile 3.gün ($p= 0.001$) arasında 2. gün ile 3. gün ($p= 0.003$) arasında anlamlı fark vardı ve hedef kadranda yüzülen süre arttı. 3. günle 5. gün arasında ($p= 0.023$), 3. günle 6. gün arasında ($p= 0.022$), 3. gün ile 7. gün arasında ($=0.013$) anlamlı fark vardı ve hedef kadranda yüzülen süre azaldı.

Kontrol, RD ve SF grupları için başlangıç günü değerleri ile 7. gün değerlerini karşılaştırdığımız zaman; kontrol grubunda, REM deprivasyonu grubu ve uyku yoksunluğu grubunda başlangıç günü ile 7. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 3).

Tablo 3. Probe testinde platformun bulunduğu kadranda (2. Kadran, hedef hadran) yüzülen süre (sn) için, tüm grupların aritmetik ortalama ve standart hata değerleri

Gruplar Günler	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
Başlangıç	20,24±1,04	20,22±1,16	22,09±1,33	21,14±1,92
1. gün	21,97±1,24	20,61±2,04	23,38±1,96	20,95±1,59
2.gün	26,62±1,65	20,85±1,15	24,68±2,84	21,51±1,74
3.gün	29,95±2,19	21,75±2,35	25,44±2,93	32,02±1,58
4. gün	27,65±2,46		21,65±1,72	23,00±1,34
5. gün	24,16±2,56		24,63±1,44	22,40±2,43
6. gün	20,66±2,57		22,33±1,64	24,83±1,93
7.gün	25,03±2,04		22,53±1,90	23,58±1,03

(Grup I: Kontrol grubu, n=12; Grup II: Total Uyku Deprivasyonu, n=12; Grup III: REM Uyku Yoksunluğu, n=12; Grup IV: Uyku Yoksunluğu Grubu, n=12).



Grafik 16. Probe testinde hedef kadranda yüzülen süre

b) Platformun bulunduğu kadranda (2. Kadran, Hedef Kadran) yüzülen mesafe (cm)

SD grubunda 3 gün, diğer gruptaki sıçanlarda 7 gün boyunca uyku bozuklukları oluşturuldu. SD grubu 3. günün sonunda dekapite edilerek deney sonlandırıldı ve başlangıç gününden 3. güne ve yine başlangıç gününden 7. güne kadar olmak üzere bellek verileri değerlendirildi. Başlangıç gününden 3. güne kadar zaman içerisinde istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.001$) ve yüzülen mesafede değişim oldu. Tüm gruplar için; başlangıç günü değerleri ile 3. gün değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.036$) ve hedef kadranda yüzülen mesafe tüm gruplar için arttı. Hedef kadranda yüzülen mesafede; 1. gün ile 3. gün arasında ($p= 0.002$), 2. gün ile 3. gün arasında ($p= 0.048$) istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ve total uyku deprivasyonu grubunda azaldı ve diğer gruplarda hedef kadranda yüzülen mesafe arttı.

Kontrol grubunda; zamana göre istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.001$). Başlangıç günü ile 2. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p= 0.003$) ve hedef kadranda yüzülen mesafe arttı. Başlangıç günü ile 3. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.034$) ve hedef kadranda yüzülen mesafe arttı .

Hedef kadranda yüzülen mesafede; SD grubu için başlangıç günü ile 3. gün verilerini değerlendirdiğimizde; zamana göre istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.001$). Uyku deprivasyonu ve uyku yoksunluğu grubu arasında anlamlı fark vardı ($p= 0.044$). Uyku deprivasyonu grubunda başlangıç günü ile 3. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

Hedef kadranda yüzülen mesafede; uyku yoksunluğu grubu için zamana göre istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.001$). Uyku yoksunluğu grubunda; başlangıç günü ile 3. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.022$) ve hedef kadranda yüzülen mesafe arttı. 1. gün ile 3.gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.024$) ve hedef kadranda yüzülen mesafe azaldı. 2. gün ile 3. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.006$) ve hedef kadranda yüzülen mesafe arttı. 3. günle 5. gün arasında ($p= 0.023$), 3. gün ile 7. gün arasında ($p= 0.003$) istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ve hedef kadranda yüzülen mesafe azaldı.

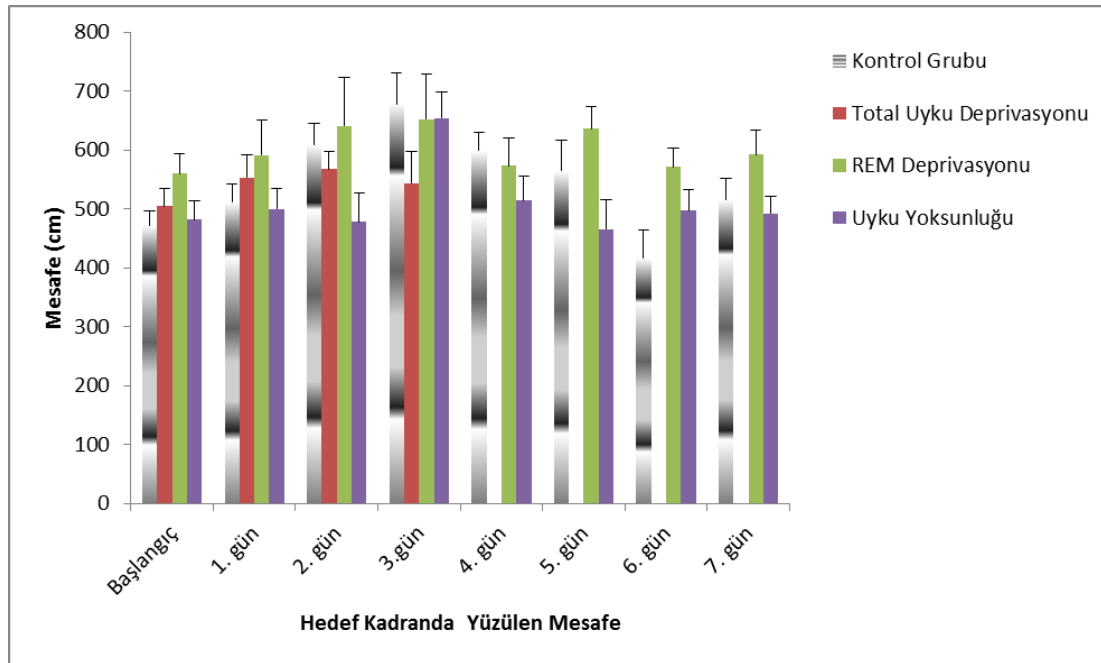
Hedef kadranda yüzülen mesafede; kontrol ve SD grubu için başlangıç günü ile 3. gün değerlerini karşılaştırdığımızda; zamana göre istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.000$) ve gruplarda başlangıç günü ile 3. gün arasında anlamlı değişim gerçekleşmiştir ($p= 0.001$). Kontrol grubunu değerlendirdiğimizde; başlangıç günü ile 3. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.006$) ve hedef kadranda yüzülen mesafe arttı. SD grubuna baktığımızda; başlangıç günü ile 3. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$) ama hedef kadranda yüzülen mesafe arttı. 3. günde SD grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.018$) ve kontrol grubunda yüzülen mesafe arttı. Uyku yoksunluğu grubunda ise; başlangıç günü ile 3. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.004$) ve hedef kadranda yüzülen mesafe arttı.

Kontrol, RD ve SF grupları için başlangıç günü değerleri ile 7. gün değerlerini karşılaştırdığımız zaman; başlangıç günü ile 7. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.045$) ve REM deprivasyonu grubu ile uyku yoksunluğu grubu arasında ($p= 0.047$) istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ve hedef kadranda yüzülen mesafe artmıştı (Tablo 4).

Tablo 4. Probe testinde platformun bulunduğu kadranda (2. Kadran, Hedef Kadran) yüzülen mesafe (cm) için, tüm grupların aritmetik ortalama ve standart hata değerleri.

Gruplar Günler	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
Başlangıç	470,77±24,84	504,57±30,10	559,68±33,76	482,04±31,02
1. gün	510,85±31,19	552,69±38,72	590,85±60,56	499,77±34,36
2.gün	608,32±36,63	567,06±29,39	640,99±82,05	477,51±49,20
3.gün	677,75±53,22	543,97±53,66	651,66±76,92	654,04±44,18
4. gün	599,46±29,60		573,28±46,96	513,72±40,78
5. gün	565,04±50,70		636,10±37,66	465,39±50,60
6. gün	416,23±48,31		570,91±32,32	496,78±35,28
7.gün	514,49±37,97		591,80±42,54	491,97±28,38

(Grup I: Kontrol grubu, n=12; Grup II: Total Uyku Deprivasyonu, n=12; Grup III: REM Uyku Yoksunluğu, n=12; Grup IV: Uyku Yoksunluğu Grubu, n=12)



Grafik 17. Probe testinde hedef kadranda yüzülen mesafe

c) Sıçanların yüzdüğü ortalama hız (cm/sn)

Sıçanların yüzdüğü ortalama hız olarak; başlangıç günü ile 3. gün arasında zaman içerisinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p= 0.019). Total uyku deprivasyonu grubu ile uyku yoksunluğu grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark

vardı ($p= 0.023$) ve uyku yoksunluğu grubunda ortalama yüzme hızı daha fazla azalırken total uyku deprivasyonu grubunda artmıştı.

Kontrol, SD ve RD grubu için başlangıç günü ile 3. gün değerlerini karşılaştırdığımızda; zamana göre istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p>0.05$). Uyku yoksunluğu grubunda ise; başlangıç günü ile 3. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.018$) ve 3. günde ortalama hız azalmıştı.

Başlangıç gününden 7. güne kadar ortalama hızı değerlendirdiğimizde, Kontrol grubu için; zamana göre istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.006$). 5. gün ile 7. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p= 0.037$) ve ortalama hız 7. günde azalmıştı. Uyku yoksunluğu grubu için; zamana göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p= 0.001$). Başlangıç günü ile 6. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.031$) ve ortalama yüzme hızı 6. günde azalmıştı. 1. gün ile 6. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.020$) ve ortalama yüzme hızı 6. günde azalmıştı.

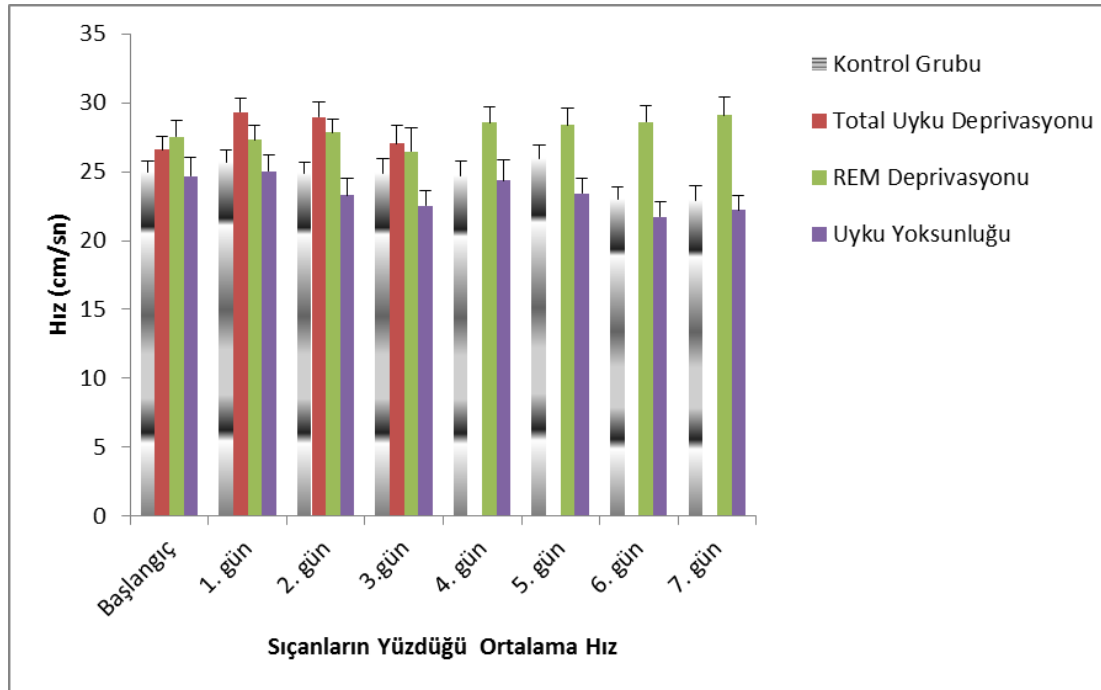
Kontrol, RD ve SF grupları için başlangıç günü değerleri ile 7. gün değerlerini karşılaştırdığımız zaman; kontrol grubu ile REM deprivasyonu grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.011$) ve kontrol grubunda ortalama hız azalırken, REM deprivasyonu grubunda artmıştır. REM deprivasyonu grubu ile uyku yoksunluğu grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.05$) ve REM deprivasyonu grubunda artarken, uyku yoksunluğu grubunda ortalama hız azalmıştır. Uyku yoksunluğu grubunda, başlangıç günü ile 7. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.006$) ve 7. günde ortalama hız azalmıştır.

7. günde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p= 0.001$) ve kontrol grubu ile REM deprivasyonu grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.002$). Kontrol grubunda azalırken, REM deprivasyonu grubunda ortalama hız artmıştı. REM deprivasyonu ile uyku yoksunluğu grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.001$). REM deprivasyonu grubunda artarken, uyku yoksunluğu grubunda ortalama hız azalmıştı (Tablo 5).

Tablo 5. Probe testinde sıçanların yüzdüğü ortalama hız (cm/sn) için, tüm grupların aritmetik ortalama ve standart hata değerleri.

Gruplar / Günler	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
Başlangıç	24,92±0,86	26,60±0,98	27,54±1,13	24,66±1,36
1. gün	25,66±0,88	29,30±1,00	27,30±1,10	25,03±1,21
2.gün	24,90±0,81	28,98±1,10	27,84±1,00	23,28±1,19
3.gün	24,90±1,00	27,05±1,32	26,44±1,72	22,53±1,08
4. gün	24,72±1,05		28,54±1,13	24,35±1,52
5. gün	25,93±1,02		28,39±1,18	23,40±1,13
6. gün	22,99±0,92		28,62±1,13	21,71±1,09
7.gün	22,89±1,13		29,11±1,28	22,23±1,04

(Grup I: Kontrol grubu, n=12; Grup II: Total Uyku Deprivasyonu, n=12; Grup III: REM Uyku Yoksunluğu, n=12; Grup IV: Uyku Yoksunluğu Grubu, n=12)



Grafik 18. Probe sıçanların yüzdüğü ortalama hızları.

d) Sıçanların yüzdüğü toplam mesafe (cm)

Sıçanların yüzdüğü toplam mesafede; başlangıç gününden 3. güne kadar zaman içerisinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p= 0.018). Total uyku deprivasyonu ile uyku yoksunluğu grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark

vardı ($p= 0.024$) ve uyku yoksunluğu grubunda toplam yüzülen mesafe daha fazla azalırken total uyku deprivasyonu grubunda artmıştı.

Kontrol ve SD grubu için başlangıç günü ile 3. gün değerlerini karşılaştırdığımızda; zamana göre istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p>0.05$) ve başlangıç günü ile 3. gün arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Kontrol grubu, SD grubu ve REM deprivasyonu grubunda; başlangıç günü ile 3. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Uyku yoksunluğu grubunda ise; başlangıç günü ile 3. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.018$) ve 3. günde ortalama hız azalmıştı.

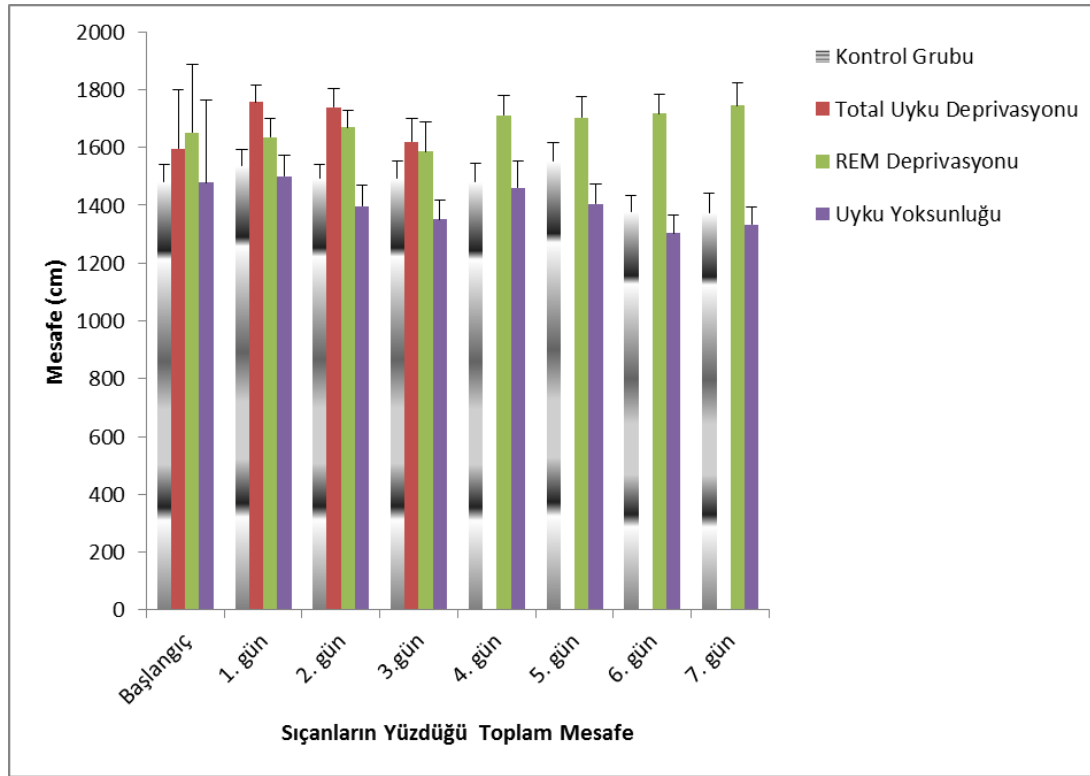
Başlangıç gününden 7. güne kadar toplam yüzülen mesafeyi değerlendirdiğimizde; kontrol grubu ile REM deprivasyonu grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.042$) ve kontrol grubunda toplam yüzülen mesafe azalırken, REM deprivasyonu grubunda artmıştı. REM deprivasyonu grubu ile uyku yoksunluğu grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.05$) ve REM deprivasyonu grubunda artarken, uyku yoksunluğu grubunda toplam yüzülen mesafe azalmıştı. Kontrol grubu için; zaman göre istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.006$). 5. gün ile 7. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p= 0.039$). 7. günde toplam yüzülen mesafe azalmıştı. Uyku Yoksunluğu grubu için; zamana göre istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.001$). Başlangıç günü ile 6. gün arasında ($p= 0.032$) 1. gün ile 6. gün arasında ($p= 0.020$) istatistiksel olarak anlamlı fark vardı, toplam yüzülen mesafeler azalmıştı.

Kontrol, RD ve SF grupları için başlangıç günü değerleri ile 7. gün değerlerini karşılaştırdığımız zaman; 7. günde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.001$). Kontrol grubu ile REM deprivasyonu grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.011$) ve kontrol grubu azalırken REM deprivasyonu grubunda toplam yüzülen mesafe artmıştır. REM deprivasyonu ile uyku yoksunluğu grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.006$) ve REM deprivasyonu grubunda artarken, uyku yoksunluğu grubunda toplam yüzülen mesafe azalmıştır. Uyku yoksunluğu grubunda başlangıç günü ile 7. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.006$) ve 7. günde toplam yüzülen mesafe azalmıştır (Tablo 6).

Tablo 6. Probe testinde sıçanların yüzdüğü toplam mesafe (cm) için, tüm grupların aritmetik ortalama ve standart hata değerleri.

Gruplar / Günler	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
Başlangıç	1483,02±56,76	1595,65±204,46	1650,75±236,00	1478,22±284,90
1. gün	1538,43±52,83	1757,14±60,16	1634,59±66,31	1501,16±72,50
2.gün	1492,83±49,16	1738,78±65,96	1669,52±60,28	1395,89±71,71
3.gün	1493,38±60,21	1619,84±80,16	1586,27±103,61	1350,69±65,31
4. gün	1482,42±63,28		1711,19±68,45	1461,19±91,22
5. gün	1554,21±61,63		1703,48±71,23	1403,85±68,14
6. gün	1379,26±55,40		1716,61±67,97	1302,35±65,59
7.gün	1372,73±68,39		1744,73±76,79	1332,91±62,77

(Grup I: Kontrol grubu, n=12; Grup II: Total Uyku Deprivasyonu, n=12; Grup III: REM Uyku Yoksunluğu, n=12; Grup IV: Uyku Yoksunluğu Grubu, n=12)



Grafik 19. Probe testinde sıçanların yüzdüğü toplam mesafe

e) Dış kadranda yüzülen süre (sn)

Dış kadranda yüzülen sürede; Başlangıç gününden 3. güne kadar olan verileri değerlendirdiğimizde; tüm gruplar için zamana göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p= 0.001$). 3. günde dış kadranda yüzme süreleri artmıştı. Başlangıç günü

ile 3. gün arasında ($p= 0.001$), 1. gün ile 3. gün arasında ($p= 0.001$), 2. günle 3. gün arasında ($p= 0.015$) istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ve dış kadranda yüzülen süre artmıştı. Kontrol grubu için; zamana göre istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p= 0.001$). Başlangıç günü ile 3. gün arasında ($p= 0.001$), 1. gün ile 3. gün arasında ($p= 0.035$) istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ve dış kadranda yüzülen süre artmıştır. Total uyku deprivasyonu grubu için; zamana göre anlamlı fark saptandı ($p= 0.046$) ve 3. güne doğru giderek dış kadranda yüzülen süre artmıştır. Kontrol ve SD grubu için başlangıç günü ile 3. gün değerlerini karşılaştırdığımızda; zamana göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).

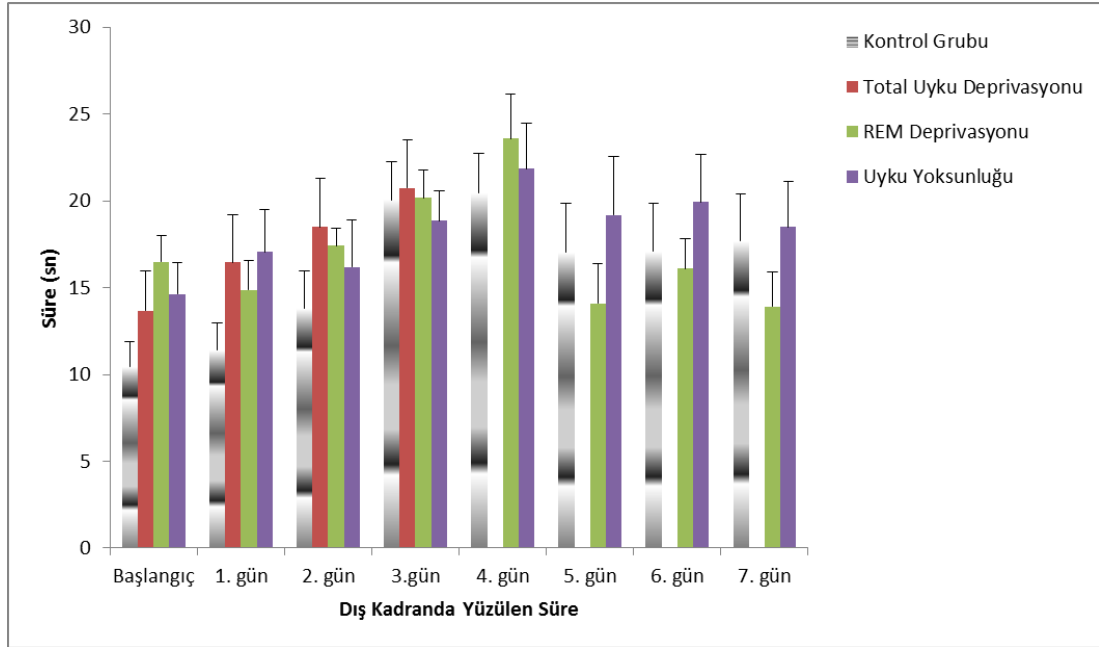
Dış kadranda yüzülen süreyi; başlangıç gününden 7. güne kadar değerlendirdiğimizde; zaman içerisinde istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.001$). Başlangıç günü ile 4. gün ($p= 0.004$), 1. gün ile 3. gün ($p= 0.008$) arasında, 1. gün ile 4. gün arasında ($p= 0.004$), 2. gün ile 3. Gün arasında ($p= 0.015$), 2. gün ile 4. gün arasında ($p= 0.003$) istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ve dış kadranda yüzülen süre artmıştı. Kontrol grubu için zamana göre anlamlı fark vardır ($p= 0.001$) ve başlangıç günü ile 3. gün arasında ($p= 0.004$), başlangıç günü ile 4. gün arasında ($p= 0.001$) istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ve dış kadranda yüzülen süre artmıştı. REM deprivasyonu grubu için zamana göre anlamlı fark vardır ($p= 0.004$) ve 4. gün ile 7. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.046$) ve dış kadranda yüzülen süre azalmıştı.

Kontrol, RD ve SF grupları için başlangıç günü değerleri ile 7. gün değerlerini karşılaştırdığımız zaman; Kontrol grubunda başlangıç günü ile 7. gün arasında anlamlı fark vardı ($p= 0.022$) ve 7. günde dış kadranda yüzülen süre artmıştı. SD grubu, REM deprivasyonu grubu ve uyku yoksunluğu grubunda; başlangıç günü 7. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$) (Tablo 7).

Tablo 7. Probe testinde dış kadranda yüzülen süre (sn) için, tüm grupların aritmetik ortalama ve standart hata değerleri.

Gruplar / Günler	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
Başlangıç	10,44±1,44	13,66±2,28	16,47±1,52	14,62±1,82
1. gün	11,40±1,57	16,46±2,74	14,87±1,67	17,05±2,44
2.gün	13,79±2,20	18,50±2,79	17,41±1,02	16,18±2,70
3.gün	20,05±2,22	20,75±2,75	20,17±1,60	18,86±1,73
4. gün	20,46±2,26		23,58±2,56	21,86±2,58
5. gün	17,03±2,80		14,09±2,30	19,17±3,38
6. gün	17,11±2,75		16,09±1,74	19,93±2,73
7.gün	17,70±2,70		13,91±1,98	18,50±2,60

(Grup I: Kontrol grubu, n=12; Grup II: Total Uyku Deprivasyonu, n=12; Grup III: REM Uyku Yoksunluğu, n=12; Grup IV: Uyku Yoksunluğu Grubu, n=12)



Grafik 20. Probe testinde dış kadranda yüzülen süre

4.2. Western Blot Analizi ile Hipokampüste NR2A, NR2B, nAChR $\alpha 7$ ve 5-HT_{2A}

Reseptör Düzeyleri

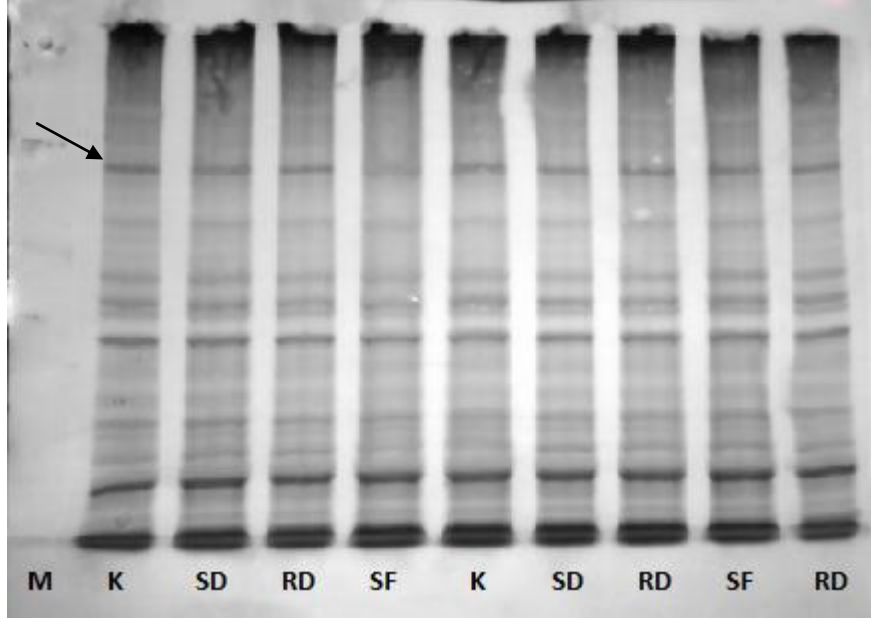
Hipokampus dokusunda; Glutamaerjik NR2A ve NR2B, Kolinerjik nAChR $\alpha 7$ ve Serotonerjik 5-HT_{2A} reseptörleri western Blot yöntemi ile çalışılarak sonuçlar optik dansite olarak ölçüldü.

Tablo 8. Western Blot analizi ile NR2A, NR2B, nAChR $\alpha 7$ ve 5-HT_{2A} reseptör yoğunluklarının (optik dansite) ortalama ve standart sapma değerleri.

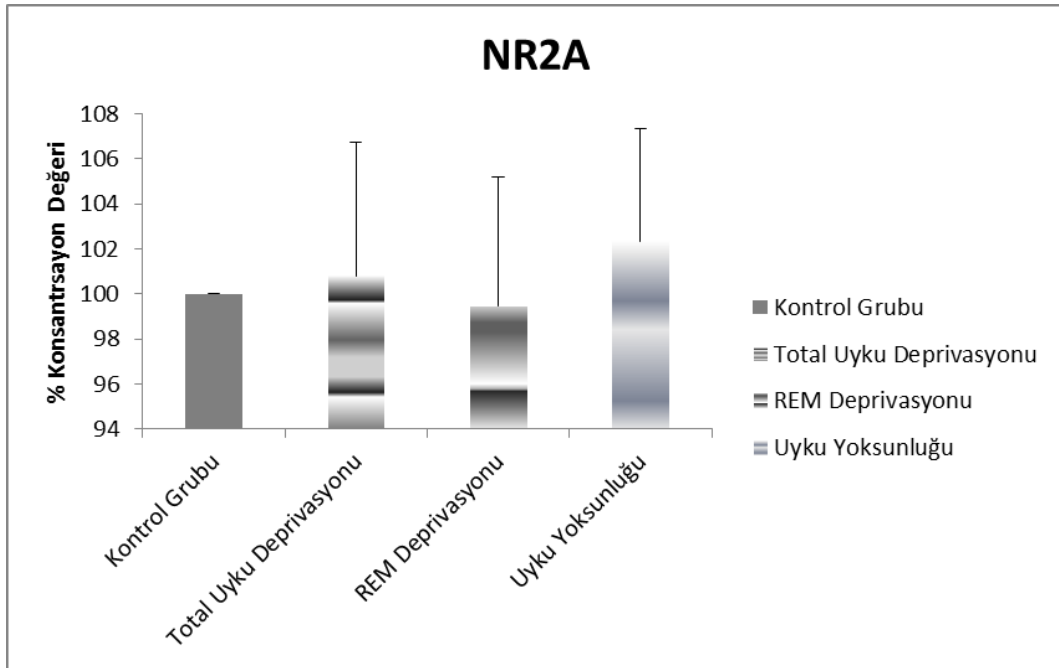
Gruplar	Kontrol (n=12)	Total Uyku Deprivasyonu (n=12)	REM Deprivasyonu (n=12)	Uyku Yoksunluğu (n=12)
NR2A (Optik Dansite)	100,0000±0.00	100,8135±5,94437	99,4528±5,73436	102,3552±4,96524
NR2B (Optik Dansite)	100,000±0.00	100,275±2,5437	100,102±3,6287	99,481±3,2378
5-HT _{2A} (Optik Dansite)	100,0000±0.00	102,0225±1,95612	101,3104±0,94887	102,2315±2,14709
nAChR $\alpha 7$ (Optik Dansite)	100,0000±0.00	99,6273±1,99657	97,9165±4,45800	99,1302±5,73606

*Reseptör yoğunlukları, kontrol grubu değerlerinin optik dansite ortalaması 100 kabul edilmiş ve tüm grupların optik dansiteleri kontrole göre hesaplanmıştır.

NR2A reseptör konsantrasyonu açısından, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$).

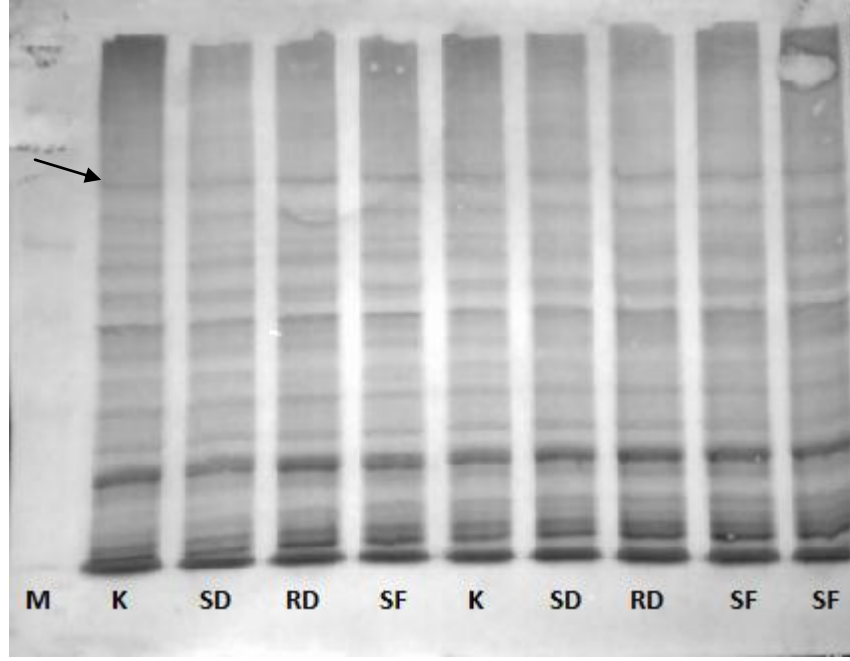


Resim 7. NR2A'ya ait Western Blot örneği

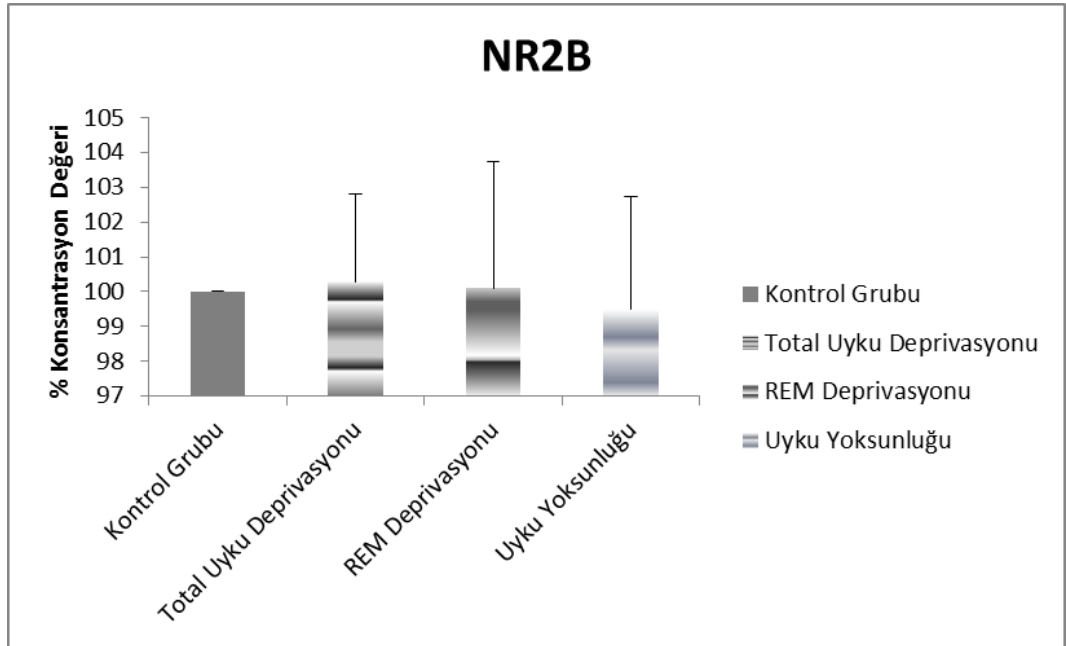


Grafik 21. NR2A'ya ait optik dansite sonuçları

NR2B reseptör konsantrasyonu açısından, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$).

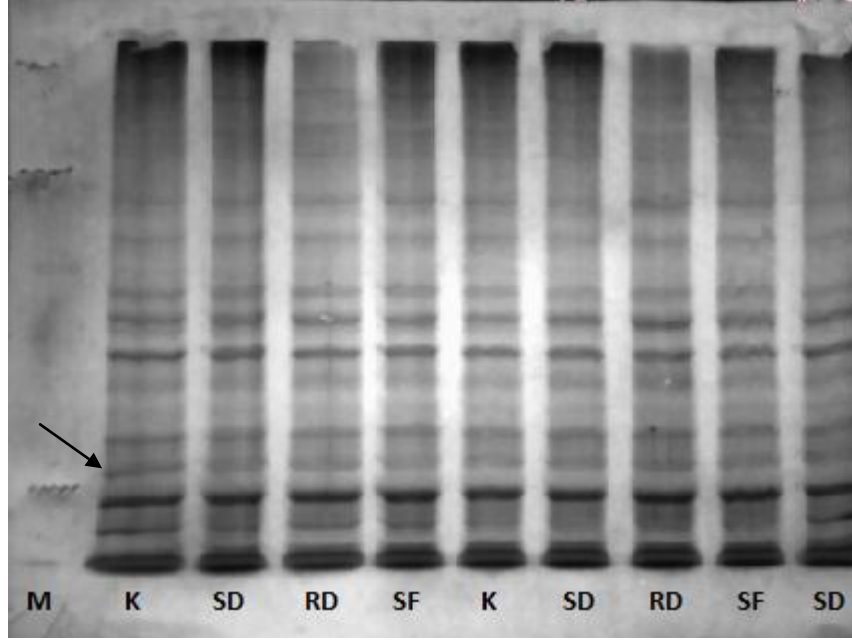


Resim 8. NR2B'ya ait Western Blot örneği.

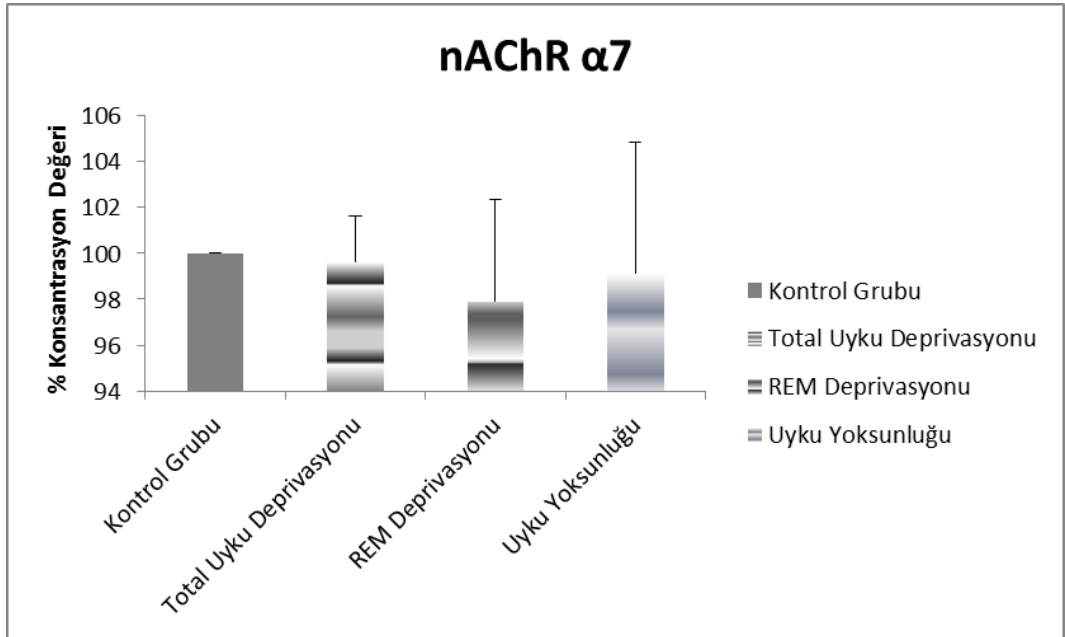


Grafik 22. NR2B'ya ait optik dansite sonuçları

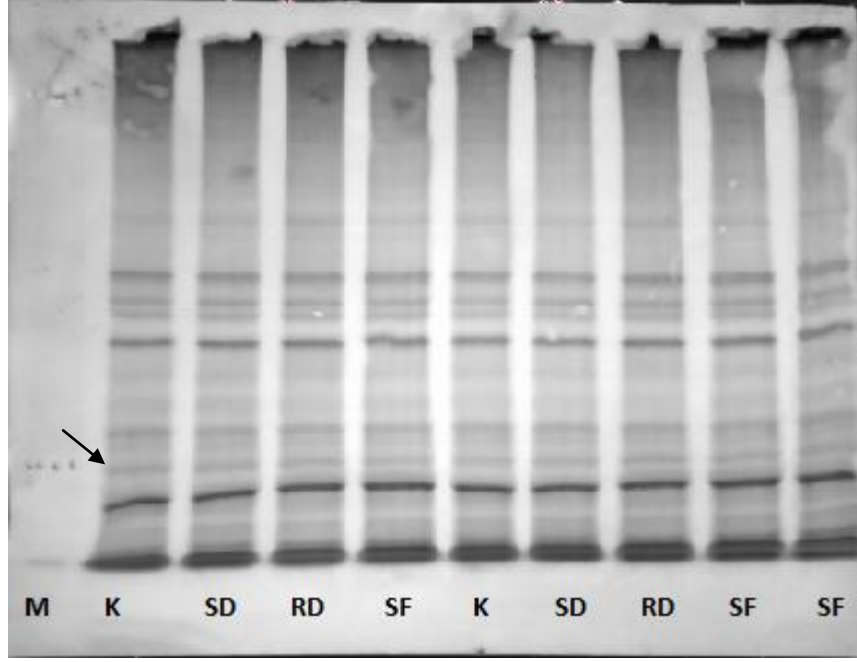
nAChR- $\alpha 7$ izoformu reseptör konsantrasyonu açısından, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p > 0.05$).



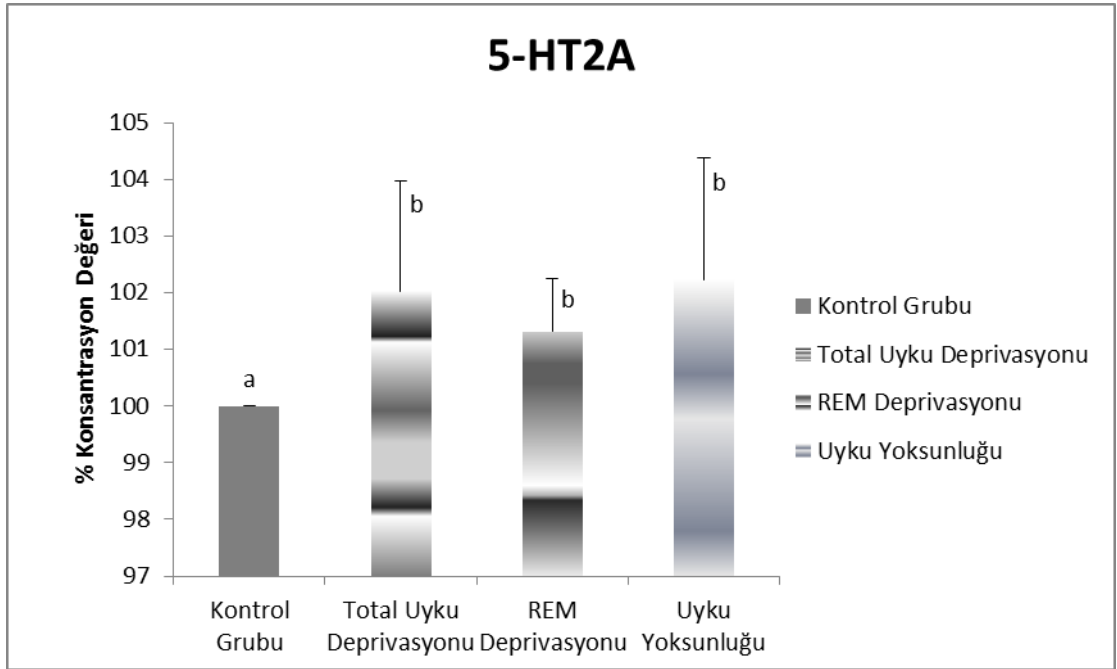
Resim 9. nAChR α7'ya ait Western Blot örneği.



Grafik 23. nAChR α7'e ait optik dansite sonuçları.



Resim 10. 5-HT_{2A}'ya ait Western Blot örneği.



Grafik 24. 5-HT_{2A}'ya ait optik dansite sonuçları (Farklı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır).

5-HT_{2A} reseptör ekspresyonunu değerlendirdiğimizde; Kontrol grubu ile SD grubu arasında 5-HT_{2A} reseptörü istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p= 0.29$) ve SD grubunda reseptör ekspresyonu artmıştı. Kontrol grubu ile REM deprivasyonu

grubu arasında 5-HT_{2A} reseptörü istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p= 0.14) ve REM deprivasyonu grubunda reseptör ekspresyonu artmıştı. Kontrol grubu ile uyku yoksunluğu grubu arasında 5-HT_{2A} reseptörü istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p= 0.14) ve SF grubunda reseptör ekspresyonu artmıştı. Sonuç olarak tüm gruplarda serotonin reseptör düzeyleri artmıştı.

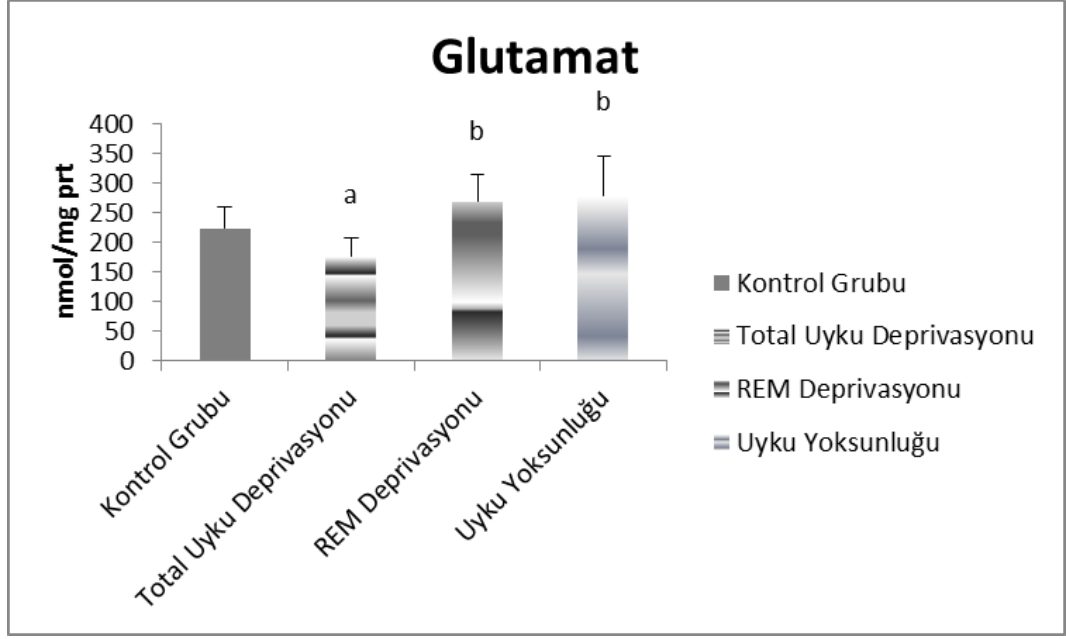
4.3. Hipokampüste Glutamat, Asetilkolin ve Serotonin Nörotransmitter Düzeyleri

Hipokampus dokusunda; Glutamat, Asetilkolin ve Serotonin düzeyleri Elisa yöntemi ile çalışılarak sonuçlar doku proteini başına verilmiştir.

Tablo 9. Hipokampus dokusunda Glutamat Düzeylerinin ortalama ve standart Sapma değerleri

Gruplar	Kontrol (n=12)	Total Uyku Deprivasyonu (n=12)	REM Deprivasyonu (n=12)	Uyku Yoksunluğu (n=12)
Glutamat nmol/mg prt	223,18± 35,91	176,02±31,34	268,93±46,01	278,51±68,01

Gruplar arasında Glutamat değerlerini karşılaştırdığımızda; total uyku deprivasyonu ile REM deprivasyonu grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu (p= 0.021) ve REM deprivasyonu grubunda Glutamat düzeyi artmıştı. Total uyku deprivasyonu ile Uyku yoksunluğu grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p= 0.021) ve uyku yoksunluğu grubunda Glutamat düzeyi artmıştır.

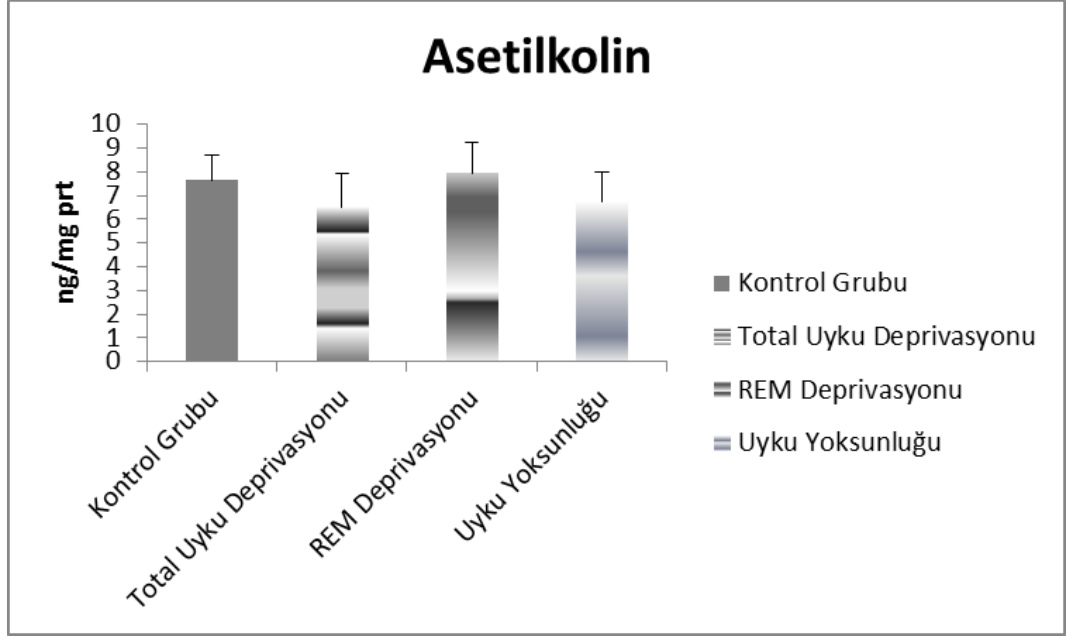


Grafik 25. Glutamat Düzeyi (Farklı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır).

Tablo 10. Hipokampus dokusunda Asetilkolin Düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri.

Gruplar	Kontrol (n=12)	Total Uyku Deprivasyonu (n=12)	REM Deprivasyonu (n=12)	Uyku Yoksunluğu (n=12)
Asetilkolin ng/mg prt	7,65±1,05	6,48±1,42	7,94±1,31	6,76±1,20
P değeri	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05

Gruplar arasında Asetilkolin düzeylerini karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

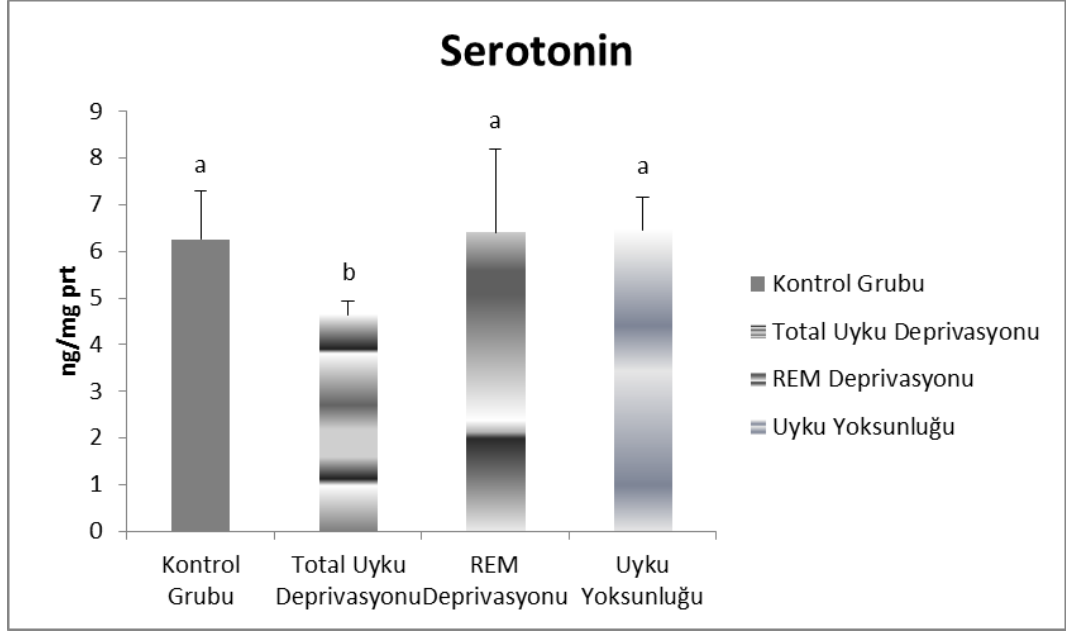


Grafik 26. Asetilkolin Düzeyi

Tablo 11. Hipokampus dokusunda Serotonin düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri.

Gruplar	Kontrol (n=12)	Total Uyku Deprivasyonu (n=12)	REM Deprivasyonu (n=12)	Uyku Yoksunluğu (n=12)
Serotonin ng/mg prt	6,26±1,03	4,64±0,30	6,41±1,79	6,45±0,71

Gruplar arasında Serotonin düzeylerini karşılaştırdığımızda; kontrol ile total uyku deprivasyonu grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.029$) ve total uyku deprivasyonu grubunda Serotonin düzeyi azalmıştı. Total uyku deprivasyonu ile REM deprivasyonu grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p= 0.043$) ve REM deprivasyonu grubunda Serotonin düzeyi artmıştı. Total uyku deprivasyonu ile Uyku yoksunluğu grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p= 0.021$) ve uyku yoksunluğu grubunda Serotonin düzeyi artmıştı.



Grafik 27. Serotonin Düzeyi (Farklı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır).

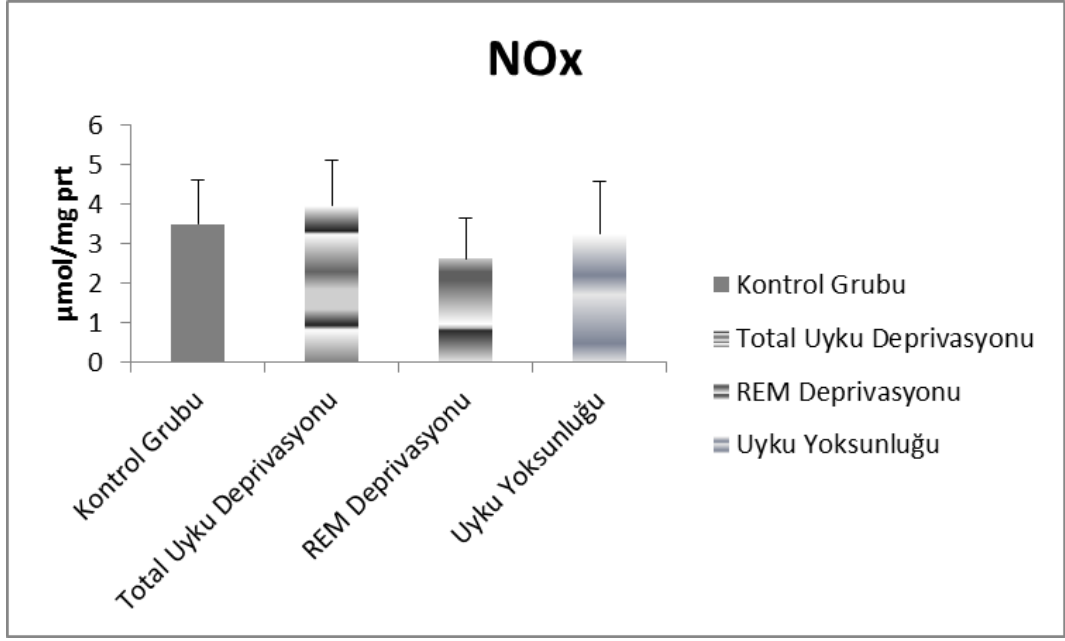
4.4. Hipokampüste Nitrik Oksit (NO), 8-OH-2'-Deoksiguanozin ve Tiyobarbitürat reaktif maddeler (TBARS) Düzeyleri

Hipokampus dokusunda; düzeyleri Nitrik Oksit (NO), 8-OH-2'-deoksiguanozin ve TBARS Düzeyleri kolorimetrik yöntemle çalışılarak sonuçlar doku proteini başına verilmiştir.

Tablo 12. Hipokampus dokusunda NO_x, 8-OH-2'-Deoksiguanozin ve TBARS Düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri.

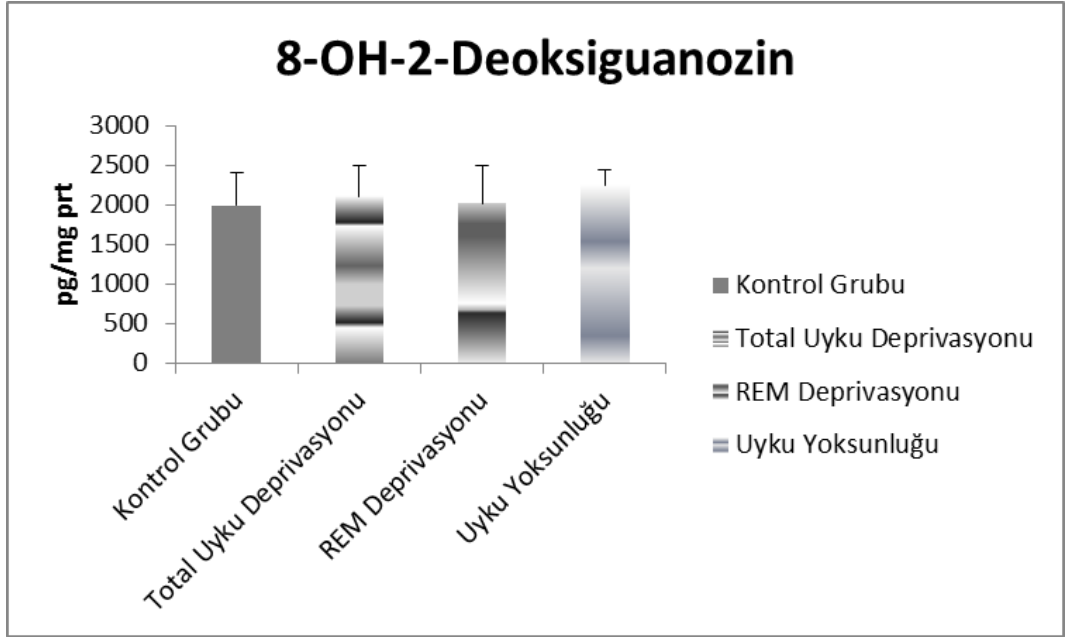
Gruplar	Kontrol (n=12)	Total Uyku Deprivasyonu (n=12)	REM Deprivasyonu (n=12)	Uyku Yoksunluğu (n=12)
NO _x μ mol/mg prt	3,49 \pm 1,14	3,97 \pm 1,16	2,63 \pm 1,01	3,25 \pm 1,32
8-OH-2'-Deoksiguanozin pg/mg prt	2002,76 \pm 413,41	2108,04 \pm 387,49	2025,25 \pm 473,91	2245,34 \pm 195,54
TBARS nmol/mg prt	0,44 \pm 0,19	0,48 \pm 0,21	0,38 \pm 0,12	0,48 \pm 0,16

Gruplar arasında NO_x değerlerini karşılaştırdığımızda; istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0.05).



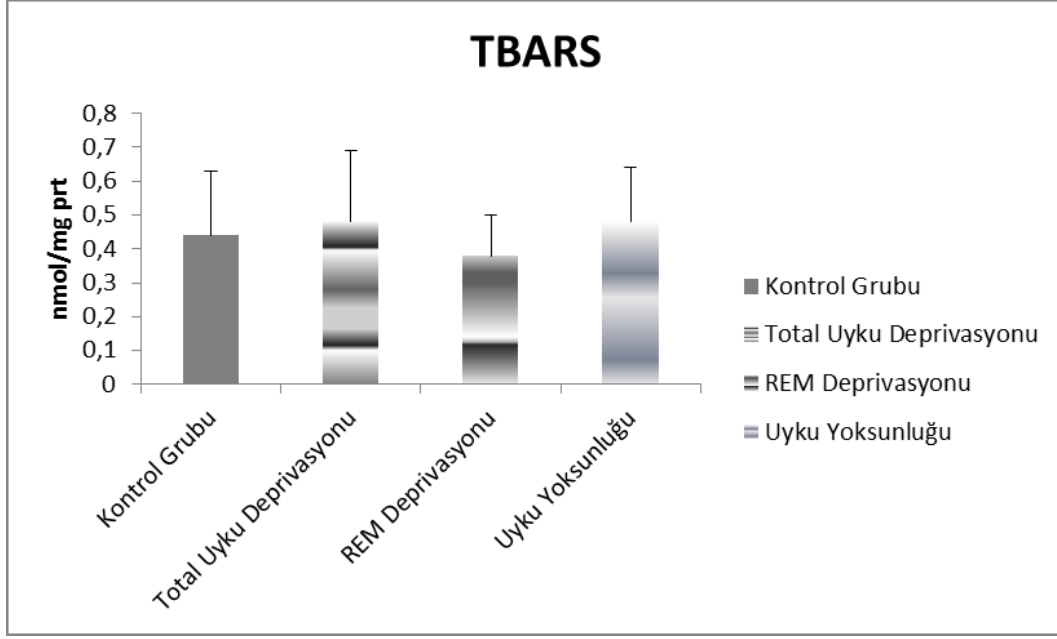
Grafik 28: NOx Düzeyi

Gruplar arasında 8-OH-2-deoksiguanozin değerlerini karşılaştırdığımızda; istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).



Grafik 29. 8-OH-2-Deoksiguanozin Düzeyi

Gruplar arasında TBARS değerlerini karşılaştırdığımızda; istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).



Grafik 30: TBARS Düzeyi

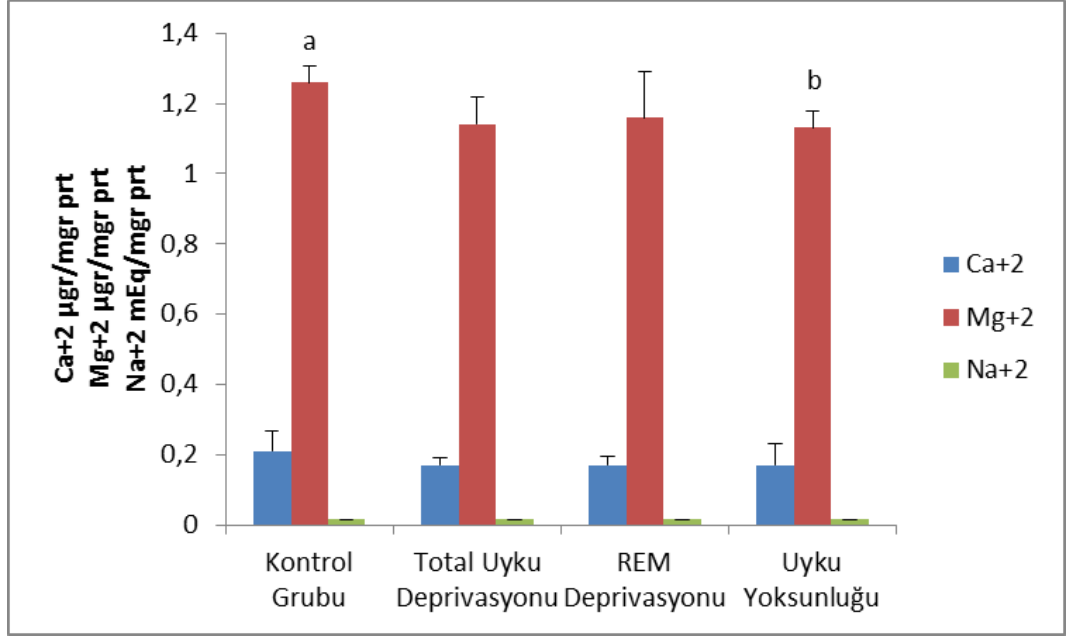
4.5. Hipokampüste Ca^{+2} ve Mg^{+2} Düzeyleri

Hipokampus dokusunda Ca^{+2} ve Mg^{+2} Düzeyleri rutin spektrofotometrik yöntemle AU5800 model (Beckman&Coulter, USA) otoanalizörde çalışıldı. Sonuçlar doku proteini başına verildi.

Tablo 13. Hipokampus dokusunda Ca^{+2} ve Mg^{+2} Düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri.

Gruplar	Kontrol (n=12)	Total Uyku Deprivasyonu (n=12)	REM Deprivasyonu (n=12)	Uyku Yoksunluğu (n=12)	p
Ca^{+2} $\mu\text{gr/mgr prt}$	0,21±0,058	0,17±0,021	0,17±0,027	0,17±0,064	P>0.05
Mg^{+2} $\mu\text{gr/mgr prt}$	1,26±0,047	1,14±0,08	1,16±0,13	1,13±0,05	P<0.05
Na^{+2} mEq/mgr prt	0,0157±0,0007	0,0163±0,0012	0,0164±0,0011	0,0169±0,0004	P>0.05

Gruplar arasında Mg^{+2} değerlerini karşılaştırdığımızda; Kontrol grubu ile uyku yoksunluğu grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p= 0.021) ve uyku yoksunluğu grubunda Mg^{+2} düzeyi azalmıştı.



Grafik 31. Ca⁺², Mg⁺² ve Na⁺² Düzeyi (Farklı harfi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır).

4.5. Sıçanların Ağırlıkları

Öğrenme deneyleri öncesinde, deney başlangıcında ve toplam 7 gün boyunca uygulanan uyku bozukluklarında sıçanların ağırlıkları (gr) hassas terazi ile deney uygulamalarından önce günlük olarak tartılarak kaydedilmiştir.

Tablo 14. Sıçanların ağırlıklarının ortalama ve standart sapma değerleri.

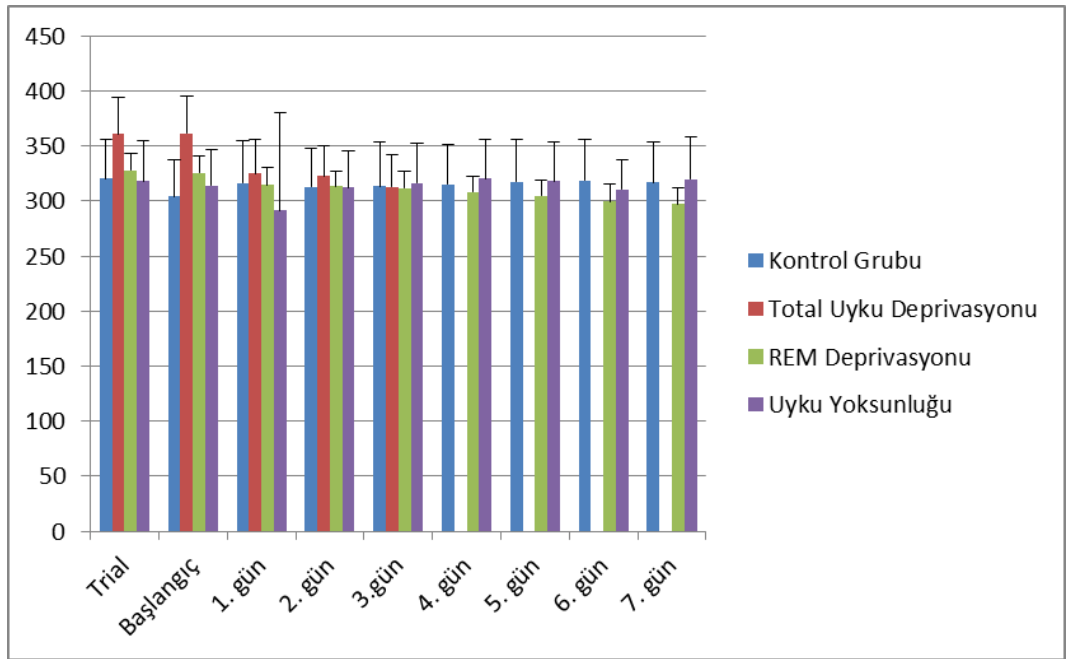
Gruplar	Kontrol (n=12)	Total Uyku Deprivasyonu (n=12)	REM Deprivasyonu (n=12)	Uyku Yoksunluğu (n=12)
Trial Öncesi	320,41±35,13	360,66±33,90	327,66±15,02	317,91±36,37
Başlangıç günü	303,91±33,79	361,66±34,000	325,58±15,19	313,83±32,98
1. Gün	316,25±38,34	324,83±31,379	314,75±15,22	291,66±88,54
2. Gün	312,66±35,71	322,41±27,86	313,25±13,56	312,00±32,92
3. Gün	313,25±40,17	313,00±29,16	311,91± 14,55	316,50±36,21
4. Gün	314,91±36,22		308,41±14,36	320,41±35,05
5. Gün	317,16±38,78		304,66 ±14,40	318,00±35,35
6. Gün	318,33±37,85		299,50±15,64	310,33±27,54
7. Gün	316,75±37,26		297,25± 14,94	319,75±38,65
p	P>0.05	P<0.001	P<0.01	P>0.05

Kontrol grubu için, günler arasında bir değişiklik olmamış ve istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p>0.05).

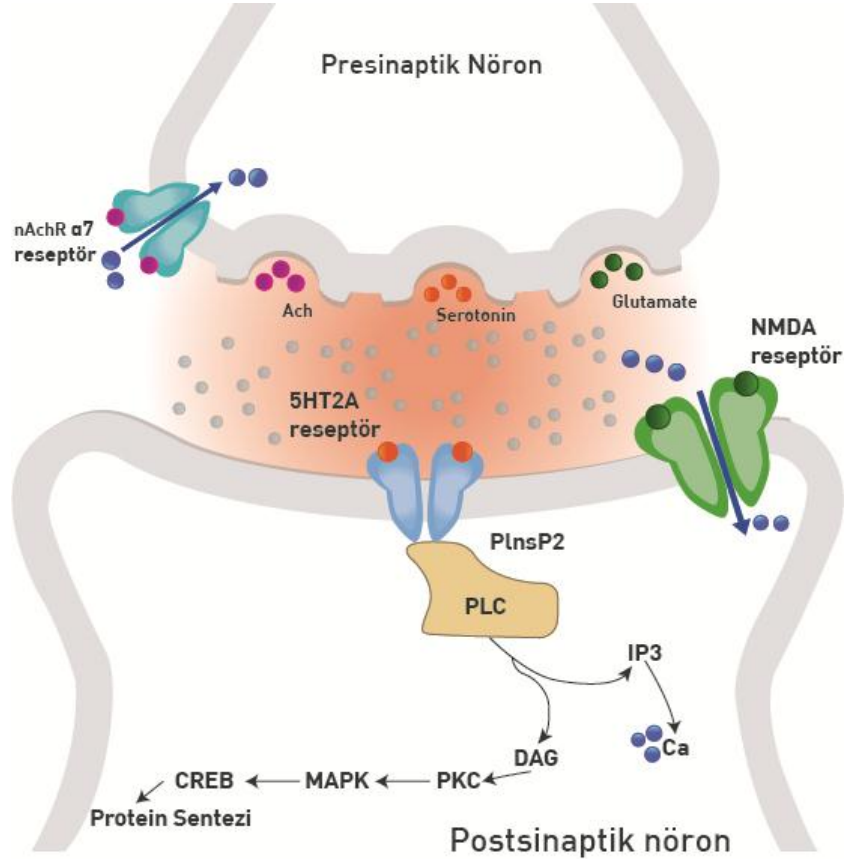
Total uyku deprivasyonu grubu için, günler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ve trialden deney sonuna kadar gruptaki sıçanların ağırlıkları azalmıştı ($p= 0.01$).

REM deprivasyonu grubu için, günler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ve trialden deney sonuna kadar gruptaki sıçanların ağırlıkları azalmıştı ($p= 0.01$).

Uyku yoksunluğu grubunda sıçanların ağırlıkları açısından bir değişiklik saptanmadı ($p>0.05$).



Grafik 32. Tüm grupların ağırlıklarının günlere göre değişimi.



Şekil 8. Hipokampüste Serotonin aracılı reseptör aktivasyon mekanizması

5. TARTIŞMA

Öğrenmenin, görünür platform ve belleğin, gizli platform ölçümleri ile hipokampüse dayalı mekansal hafızanın uyku bozuklukları ile ilişkisini değerlendirdiğimiz bu çalışmada; uyku yoksunluğu modeli oluşturulmuş ve ilk kez bu çalışmada kullanılmıştır. Bellek parametrelerinde bozulma ve serotonerjik sistemle ilişkili olarak, serotoninin ve 5-HT_{2A} reseptör ekspresyonunun farklı bulunmasıyla önemli bir bulgudur. Ayrıca literatürlere göre uyguladığımız total uyku deprivasyonu ve uyku yoksunluğu grubunda; bellek parametrelerinde bozulma ve serotonerjik sistemle ilişkili olarak, serotoninin ve 5-HT_{2A} reseptör ekspresyonunun farklı bulunması da bu tez çalışması için önem arzeden bir sonuçtur. Bu çalışmada diğer çalışmalardan farklı olarak sıçanlarda uyku bozuklukları oluşturmadan önce öğrenme testi yapılmıştır. Uyku bozuklukları ile beraber eş zamanlı olarakta bellek testi yapılmıştır ve her gün bellek tekrarı için sıçanlara platform testi uygulanmıştır. Bu şekilde materyal metoda literatürde pek rastlanmamıştır ve bulduğumuz veriler tamamen uyku bozuklukları ve bellek ile ilişkili moleküler mekanizmaları ortaya koymaktadır.

Öğrenme testlerinde; toplam 6 parametre değerlendirilmiştir. Bunlardan; platformu bulma süresinde her bir grup içerisinde günler arasında anlamlı fark oluşurken, bu fark 2. günden itibaren oluşmaya başlamıştır. Bu durumda öğrenmenin 2. günden başlayarak devam ettiği ve gruplar arasında fark olmaması da bize her grubun 5 gün sonunda eşit olarak sistemi öğrendiğini göstermektedir. Zhao et al. (2000), üç günlük REM deprivasyonu öncesinde yapılan öğrenme testinde 2. günden itibaren grupların sistemi öğrendiğini göstermişlerdir. Wang et al., (2009) 3 gün süreyle REM deprivasyonu öncesinde yaptıkları öğrenme testlerinde sürenin ve yüzülen mesafenin azaldığını ve deney sonunda tüm grupların sistemi benzer şekilde öğrendiğini göstermişlerdir. Bu bulgular bizim verilerimizle örtüşmekteydi.

Dış kadranda yüzülen mesafeyi değerlendirdiğimizde; sıçanlar ilk günler ortamı ve sistemin amacını tanımama ve anksiyete nedeniyle dış kadranda yüzme eğilimindeyken 2. günden itibaren yani öğrenmenin başlaması ile birlikte dış kadranda yüzme mesafesi azalarak hedefe yönelik yüzmeye başlamıştır. Dış kadranda yüzülen süre ve dış kadranda yüzülen sürenin yüzdesinde de aynı şekilde

gün gün azalma olmuştur. Platformu bulana kadar hayvanın yüzdüğü ortalama hızlara baktığımızda; bütün gruplarda günler içerisinde anlamlı fark saptanmadı. Sıçanların ortalama yüzme hızları 2. ve 3. günde birbirlerine eşit bulundu ve bu yüzden anlamlı farklılık yoktu. Sonraki günlerde ise sıçanların ortalama hızları artarak gizli platformu bulmak için daha hızlı yüzdükleri görüldü. Bu da bize sıçanların 2. günden itibaren öğrenmeye başladıkları ve bunun 5. günde tamamladıklarını göstermektedir.

Toplam yüzülen mesafe açısından, tüm gruplar birbirleri ile karşılaştırıldıklarında anlamlı fark saptanmamasına rağmen, grupların kendi içlerinde günler arasında anlamlı bir fark mevcuttu ve sadece 4. ve 5. günler arasında fark yoktu. Bu durumda her grup birbirine eşit mesafe yüzmüş ve grupların içerisinde, sıçanların sistemi gün geçtikçe öğrendiği ve yüzülen mesafenin günden güne tüm gruplarda anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlendi. Tüm bu parametreler sıçanların 5 günlük yapılan trial yüzdürme deneylerini öğrendiğini göstermektedir.

Öğrenme deneyleri olarak ele aldığımız ölçümler, sıçanların su tankındaki yüzme hızlarından etkilenmektedir. Burada ölçümler gruplar arasındaki farkların, öğrenmedeki farklılıklardan değil de yüzme hızı farklarından kaynaklandığını düşündürmektedir. Bu nedenle yüzme hızı bakımından gruplar karşılaştırılmıştır. Gruplar arasında yüzme hızı farkı görülmemiştir. Bu durumda; değerlendirdiğimiz öğrenme parametrelerinin, yüzme hızındaki olası değişikliklerden kaynaklanmadığını ve doğrudan öğrenme ile ilişkili olarak, yüzme hızının bu parametreleri etkilemediği söylenebilir.

Görünür platform testlerindeki (visible test) amacımız; sıçanların lokomotor aktiviteleri, deney sırasındaki görme kusurları ve deneye uyum ve motivasyon gibi parametrelerde, uyku bozukluğu uygulamalarından sonra bir değişiklik olup olmadığını ve ayrıca bu parametrelerin öğrenme ve bellek üzerine olumsuz etkilerinin olup olmadığını değerlendirmektir. Bunun için öğrenme deneylerinin sonunda 6. günde tüm gruplara görünür platform testleri yapıldı. Görünür platform testinde; öğrenme sürecinin ardından platformu bulma süreleri, ortalama hız ve toplam yüzdükleri mesafede gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. Bu durum bize öğrenme sürecinde; tüm gruplardaki hayvanların teste, ortama uyum

gösterdiklerini ve lokomotor aktivitelerinde da herhangi bir fark olmadığını ifade etmektedir. 3 gün süre ile yapılan total uyku deprivasyonunda görünür platform testi sonuçlarına göre; sıçanların platformu bulma sürelerinde ve yüzdükleri toplam mesafede anlamlı bir fark yoktu ama süre ve mesafe başlangıca göre arttı. Sıçanların ortalama hızlarında anlamlı fark saptandı. 3. günde sıçanların yüzdükleri ortalama hız değerleri artmıştı. Bu durum bize total uyku yoksunluğu etkisiyle sıçanların lokomotor aktiviteleri ve motivasyonlarındaki bozulmayı ortaya koymakta ve sıçanların daha ansiyetik davranış sergileyerek görünür platform olmasına karşın daha hızlı hedefe ulaşma çabası içinde olduklarını göstermektedir. Aynı karşılaştırma diğer gruplardaki sıçanlar için başlangıç günü değerleri ile 7. gün değerleri arasında yapıldığı zaman; platformu bulma süresinde anlamlı fark saptandı ve 7. günde bulma süreleri azaldı. Bu durum deney uygulamalarının sıçanların motivasyonunda herhangi bir bozulma olmadığını göstermekteydi. Ortalama hızı değerlendirdiğimizde, başlangıç günü ile 7. gün arasında anlamlı fark olup, sıçanların ortalama yüzme hızları artmıştı. Toplam yüzdükleri mesafede ise; başlangıç günü ile 7. gün arasında anlamlı fark bulunmuş ve grupların toplam yüzme mesafeleri azalmıştı. Bu durum ise bize uyku bozukluklarının sıçanlarda motivasyona ve deneye uyuma bir etkisi olmadığını göstermektedir. Sıçanların görünür platforma ulaşmak için daha hızlı yüzdükleri ve sürenin ve mesafenin 7. günde başlangıca göre azalması ile ilişkili olarak total uyku deprivasyonu, REM deprivasyonu ve uyku yoksunluğu uygulamalarının, sıçanlarda anksiyete ve lökomotor aktivitede bozulmaya neden olduğu, fakat deneye uyumda herhangi bir etkisi olmadığı sonucuna götürmektedir ve Wang et al. (2009) ve Hajali et al. (2012)'nin yaptıkları çalışmanın verileri ile örtüşmektedir.

Burada ele aldığımız öğrenme ve görünür platform verileri, uyku bozukluklarının hipokampus aracılı öğrenme ve hafızaya etkisinin değerlendirilmesinde öncelikli olarak sistemi öğrenme ve sonrasında sisteme uyumu gösterme açısından değerlidir. Çünkü bu testler, uyku bozuklukları uygulamaları sırasında, öğrenilmiş bir sistemi tekrar hafızadan geriye çağırma sırasında uyku bozukluklarının etkisini değerlendirebilmemize imkan tanımıştır. Sıçanlara hem sistem öğretilmiş hemde deneye uyumda etkili olan, motivasyon, lökomotor aktivite

ve deney sırasındaki görme bozuklukları elimine edilerek deney hataları en az seviyeye indirilmeye çalışıldı.

Uyku bozuklukları uygulamalarının, bellek parametreleri üzerine etkisini değerlendirdiğimizde; öncelikle platformun bulunduğu kadranda (2. Kadran, hedef hadran) yüzülen süre değerlendirilmiştir. Kontrol grubunu değerlendirdiğimizde ilk 3 gün için anlamlı değişim gerçekleşmiş ve hedef kadranda geçirilen süre artmıştır. Buda belleğe alınan bilginin tekrar edildiğinde uzun süreli hafızaya dönüştüğünü göstermektedir. SD grubu için başlangıç gününden 3. güne kadar olan verileri değerlendirdiğimizde; anlamlı fark vardır ve hedef kadranda geçirilen süre artmıştır. Fakat bu artış kontrol grubuna kıyasla çok az olarak gerçekleşmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen, bellek SD grubunda kontrol grubuna göre etkilendi. McCoy et al. (2013), günde 18h/5 gün süre ile yaptıkları uyku deprivasyonunda, kontrole göre hedef kadranda geçirilen sürenin azaldığını bulmuşlardır. Guan et al. (2004), 6 saat süreyle yaptıkları uyku deprivasyonunda kontrol grubunda uyku deprivasyonu grubuna göre hedef kadranda yüzülen sürenin arttığını göstermişlerdir. Bu bulgular bizim bulgularımızla örtüşmekteydi. REM deprivasyonu grubunu başlangıç gününden 7. güne kadar değerlendirdiğimizde; istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ve hedef kadranda geçirilen süre çok az arttı. İstatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen, bellek REM deprivasyonu grubunda kontrol grubuna göre etkilendi ve hedef kadranda geçirilen süre kontrol grubundaki kadar olmadı. 3 gün süreyle yapılan REM deprivasyonu çalışmalarında sürenin kontrol grubunda, REM deprivasyonu grubuna göre arttığı gösterilmiştir (Wang et al., 2009, Zhao et al., 2010). Bunun aksine yapılan bazı çalışmalarda ise REM deprivasyon grubunda sürenin azaldığı gösterilmiştir. Yang et al. (2008), yaptıkları çalışmada 5 günlük REM deprivasyonu sonucunda; kontrol ve REM deprivasyonu grubunda süre başlangıca göre azalmıştır. Hajali et al. (2012), 3 gün süreyle uyguladıkları REM deprivasyonu modelinde, erkek intakt dişi ve overoktemize dişi sıçan kullanılmış ve kontrole göre süre azalmıştır. Bu veriler bizim çalışmamızla örtüşmemektedir. Çalışmamızda sürenin uzun olması ve bellek tekrarında yapılmasının bu farklılığa neden olabileceğini düşünmekteyiz. Arıcanlı (2010)'nın yaptığı çalışmada; 13 gün süreyle REM deprivasyonu yapılan sıçanların hedef kadranda daha az süre geçirdiği fakat istatistiksel olarak anlamlı olmadığı

bulunmuştur. Bu durum bizim bulgularımızla örtüşmektedir ve belleğin REM deprivasyonundan etkilenebildiğini söyleyebiliriz. Aleisa et al. (2011), yaptıkları öğrenme sonrası 24 h'lik REM deprivasyonu ve REM Deprivasyonu+Nikotin verdikleri çalışmalarında, nikotin verilen grup anlamlı düzeyde daha az hata ile saklı platformu bulmuş ve araştırmacılar, REM deprivasyonunun uzun süreli belleği bozduğunu ve nikotinin bu etkiyi azalttığını bildirmişlerdir. SF grubunu değerlendirdiğimizde, başlangıç gününden 3. güne kadar hedef kadranda yüzülen sürenin arttığı fakat daha sonra bu sürenin azaldığı görüldü. İlk 3 günde bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ve bu durum ilk 3 günde belleğin etkilenmediğini ortaya koymaktadır. 3. günden sonra süre azalmaya başlamış ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ve belleğin 3. günden sonra bozulmaya başladığı ve hedef kadranda yüzülen sürenin azaldığı söylenebilir.

Bir diğer değerlendirdiğimiz bellek parametresi ise, hedef kadranda yüzülen mesafedir. Kontrol grubu için; başlangıç günü ile 3. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ve hedef kadranda yüzülen mesafe arttı. Kontrol grubu için bu durum beklenen bir durumdu. SD grubu için başlangıç günü ile 3. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı, ama hedef kadranda yüzülen mesafe arttı. Ayrıca 3. gün verilerinde kontrol grubu ile SD grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olması bize SD grubu için hedef kadranda yüzülen mesafe açısından belleğin etkilendiğini göstermekteydi. RD grubu için; zaman göre anlamlı fark bulunmamasına karşın, başlangıç günü ile 7. günü değerlendirdiğimizde anlamlı fark vardı ve 7. günde hedef kadranda yüzülen mesafe arttı. Hajali et al., 3 gün süreyle uyguladıkları REM deprivasyonu modelinde, erkek intakt dişi ve overoktemize dişi sıçan kullanılmış ve kontrole göre mesafe azalmıştır (Hajali et al., 2012). Çalışmamızda bu verinin artmasını daha uzun süre uyku bozukluğu uygulaması ve bellek tekrarı ile açıklayabiliriz. Ayrıca SF grubu ile de anlamlı fark bulundu. Fakat mesafedeki artış SF grubundan daha az olduğu için RD grubunda belleğin daha fazla etkilendiğini söyleyebiliriz. SF grubunu değerlendirdiğimizde, başlangıç gününden 3. güne kadar hedef kadranda yüzülen mesafenin arttığı fakat daha sonra bu sürenin azaldığı görüldü. İlk 3 günde bu fark istatistiksel olarak anlamlı iken, bu durum ilk 3 günde belleğin etkilenmediğini göstermekte ve 3. günden sonra mesafe azaldı.

Diğer bellek parametremiz sıçanların yüzdüğü ortalama hızdır. Kontrol grubu için bu parametreye baktığımızda; başlangıç günü ile 3. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ve ortalama hızlar birbirine eşitti. SD grubu içinde aynı şekilde anlamlı fark saptanmadı ve ortalama hızda biraz artma mevcuttu. Bu durum uykusuzluğa bağlı anksiyete nedeni ile açıklanabilir. Kontrol grubu başlangıç gününden 7. güne kadar değerlendirdiğimizde 7. günde ortalama hız azaldı. Kontrol grubu ile RD grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ve kontrol grubunda ortalama hız azalırken, RD’de arttı. 4 gün boyunca yapılan REM deprivasyonunda kontrole göre yüzme hızlarında anlamlı fark bulmuşlardır (Youngblood et al., 1997, 1999). Yine Yang et al. (2008), 5 gün boyunca yaptıkları REM deprivasyonunda yüzme hızını kontrole göre yüksek bulunurken anlamlı fark gösterememişlerdir. REM deprivasyonu grubu ile uyku yoksunluğu grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ve REM deprivasyonu grubunda artarken, uyku yoksunluğu grubunda ortalama hız azaldı. Bu bulgularımız Arıcanlı (2010)’nın yaptığı çalışma verileri ile örtüşmektedir. Uyku yoksunluğu grubunda ise; anlamlı fark mevcuttu ve 7. günde ortalama hız azaldı. Yüzme hızındaki artış; uykusuzluğun oluşturduğu sempatik aktivite artışı, iritabilite ve hipereksitabilite gibi nedenlerle genel olarak hayvanlarda hareketlilik düzeyinin artmış olmasıyla açıklanabilir. Uykusuzluk, bellek oluşumu dışında vücutta pek çok farklı sistemi de etkilemektedir. Bunlar arasında metabolizma, immün sistem, endokrin sistem sayılabilir. Değerlendirilen parametreler özellikle hayvanlarda bellek oluşumunu değerlendirme amacına yöneliktir. Yüzme hızını değerlendirmekteki amaç bellek parametrelerinin yüzme hızından etkilenebilme potansiyellerini gösterebilmektir. Bu durumda REM uykusu deprivasyonunun yüzme hızını artırdığı, aksine uyku yoksunluğunun yüzme hızını azalttığı söylenebilir.

Sıçanların yüzdüğü toplam mesafeyi değerlendirdiğimizde; Kontrol grubu ve SD grubunda başlangıç günü ile 3. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ve gruplarda bir miktar artış gözlemlendi. SD grubu için bu bellek parametresinin etkilendiğini ve sıçanların platform bulmak için daha fazla mesafe yüzdükleri söylenebilir. Kontrol grubunda, 7. günde toplam yüzülen mesafe azaldı. Bu durumda kontrol grubundaki sıçanların platformun olduğu alanı belleğe aldıkları ve 5. günden itibaren platformun yerinden emin oldukları için daha az yüzdükleri ve hedef

kadranda platformu bulmaya çalıştıkları söylenebilir. RD grubunda arttığı görüldü. Bu da bellek bozulması ile hayvanların platform bulmak için daha fazla yüzmeleri ile açıklanabilir. SF grubuna baktığımızda, 7. günde toplam yüzülen mesafe azaldı. REM deprivasyonu grubu ile uyku yoksunluğu grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ve RD'de artarken, SF'de toplam yüzülen mesafe azalmıştır. Bu durumda uyku yoksunluğunda bellek parametresi olarak değerlendirdiğimiz toplam yüzülen mesafenin etkilenmediğini söyleyebiliriz.

Bir diüer değerlendirdiğimiz bellek parametresi dış kadranda yüzülen süredir. Kontrol grubunda, 3. günde dış kadranda yüzülen süre artmıştır. SD grubunda; zamana göre anlamlı fark vardı ve 3. güne doğru dış kadranda yüzülen süre arttı. SD grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark yoktu. Bu durumda sıçanlar platformu aramaya yönelik olarak ansiyetik bir davranış gösterdiler ve dış kadranda daha fazla yüzdüler. SD grubunda bu parametrenin belleğin bozulmadığı durumda azalması gerekirken burada artmış ama bu arttı kontrole göre anlamlı bulunmadı. Bu durumda belleğin etkilendiği düşünülebilir. Kontrol grubu için dış kadranda geçirilen süre arttı. Bu beklenen bir durumdu. RD grubu için 4. güne kadar artmış olan dış kadranda yüzülen süre azalmaya başladı. Bu durumda 4. güne kadar belleğin bozulduğu ve daha sonra bilginin tekrarı ile tekrar dış kadranda yüzülen süre azalarak sıçanlar hedefe yönelik yüzdü. SF grubu için; zamana göre anlamlı bir değişim olmadı ama dış kadranda yüzülen süre arttı. Bu da bize belleğin gün geçtikçe bozulduğu ve sıçanların hedeften uzak ve amaçsız olarak yüzdüklerini gösterdi.

Bellek oluşturma ve pekiştirme yeni kazanılmış labil bellek izlerinin daha kalıcı veya kuvvetlendirilmiş hale getirilmesidir. Bu sürecin esas olarak medial temporal loblar ve neokortikal alanlar arasında bağlantılar oluşturmak suretiyle gerçekleştirildiği ileri sürülmüştür (McGaugh 2000). Bellek ve uyku arasında ilişki olduğunun ileri sürülmesi, bellek pekiştirme teorilerinin ortaya çıkışı kadar eskidir. İkili-süreç teorisine göre (Plihal and Born 1997) farklı uyku evreleri farklı bellek izleri üzerine etki etmektedir. Diğer bir deyişle yavaş dalga uykusu (SWS) deklaratif bellek bilgilerinin pekiştirilmesi için gerekli iken, REM uykusu non-deklaratif bilgilere ait bellek izlerinin pekiştirilmesi için gereklidir (Rauchs et al., 2005). Sıralı veya çift-adım hipotezine göre ise NREM ve REM uyku dönemlerinin ardışık gelmesi bellek pekiştirme için gereklidir. Yani belleğin hangi tip olduğunun bir

önemi olmaksızın her iki uyku evresi de birbirini tamamlayıcı özellik gösterir ve pekiştirme için gereklidir. Günümüze kadar yapılan hayvan çalışmaları birlikte değerlendirildiğinde selektif REM uykusu uyku yoksunluğunun hipokampusa bağlı bellek pekiştirmesini bozduğu söylenebilir (Rauchs et al., 2005). Yine de bu etki REM uyku yoksunluğunun ne zaman uygulandığı, öğrenilecek bilginin karmaşıklığı ve öğrenme için yapılan çalışma düzeyi gibi faktörlere bağlıdır. REM uyku yoksunluğu çalışmaları modifiye platformlarda yapılmaktadır ve bizde çalışmamızda bu yöntemi kullandık. Total uyku deprivasyonu içinde platformlar yapılarak deney gerçekleştirildi. REM uykusuna giren hayvanda yaygın kas atonisi olacağından küçük platformun üzerinde duramayacak ve suyun içine düşecektir. Suda kalmayı sevmeyen sıçan, tekrar platformun üzerine çıkacak ve REM uykusuna girmediği sürece platform üzerinde kalabilecektir. Böyle bir düzenekte ortaya çıkan tek etki REM uykusuzluğu değildir. Küçük bir platform üzerinde kalan sıçan, aynı zamanda motor aktivite bakımından da kısıtlanmaktadır. SD grubunda bu durum daha da belirgin hale gelmekte, sıçanlar suyun içinde kalmamak için küçük bir platform üzerinde durmak zorunda kaldılar. Kemirgenlerde immobilizasyon da önemli bir stresör etkidir ve stres bellek oluşumunu etkileyebilir. Çalışmada her iki uygulama içinde yöntemin bu kısıtlılığını nispeten ortadan kaldırmak için modifiye platform tekniği kullanıldı. Bu yöntemde kafes içine konulan platformların tümüne sıçan konulmadı. Böylece boş kalan platformlara hareket imkanı sağlandı. Sıçanlar istediği zaman bir başka platformun üzerine geçerek hareket edebildi. Bu yöntemin bir başka avantajı da hayvanların tek tek kafeslere konulduğu yöntemle göre, sosyal izolasyon oluşturmayı engellemesidir. Bir kafes içine 4-5 hayvan konularak deney gerçekleştirildiği için sosyal izolasyon gibi bir başka stresör etkenden de kaçınılmış oldu. Ancak, REM uykusuna giren deney hayvanı suyun içine düştüğü için, sudan çıkıp platform üzerine yeniden otursa bile bir süre ıslak kalmakta. Aynı şekilde küçük platformlar üzerinde suyun içerisinde kalan total uyku deprivasyonu grubu içinde bu durum söz konusudur. Laboratuvar ortamının sıcaklığı her ne kadar kontrol altında tutulmuş olsa da hayvanlarda rektal sıcaklık ölçülmediği için bir miktar hipotermi gelişmesi söz konusu olabilir. Bu çalışmada total uyku deprivasyonu, REM deprivasyonu ve uyku yoksunluğu oluşturulan sıçanlarda hemen hemen bütün bellek parametrelerinde bozulmalar gözlemlendi.

Western Blot analizi ile NR2A, NR2B, nAChR $\alpha 7$ ve 5-HT_{2A} reseptörleri çalışılmıştır. NR2A, NR2B ve nAChR- $\alpha 7$ reseptör konsantrasyonları açısından, kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Bunlarla birlikte, reseptörlere bağlanarak aktivasyonu gerçekleştiren nörotransmitter düzeyleride karşılaştırıldı.

NMDA reseptörlerine bağlanarak kanal aktivasyonu sonucu Ca⁺² ve Na⁺ geçişini sağlayan Glutamat düzeylerine baktığımız zaman; SD, RD ve SF grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen kontrole göre SD'de düzey azalmış, RD ve SF'de düzey artmıştır. SD ile RD grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ve RD grubunda Glutamat seviyesi artmıştı. 3 günlük REM deprivasyonu yapılan sıçanlarda Glutamat düzeyinin arttığı gösterilmiştir (Mohammed et al., 2011). SD ile SF grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ve uyku yoksunluğu grubunda Glutamat düzeyi arttı. Bu durumda NR2A reseptörü RD grubunda azalmış ve NR2B reseptörü SF grubunda azalmış diğer gruplarda NR2A ve NR2B ekspresyonları artış gösterdi. Ama bu verilerin hepsi istatistiksel olarak anlamlı değildi. Glutamat aracılığı ile hücre içi Ca⁺² konsantrasyonunun artışı metabotropik glutamat reseptörünün aktivasyonuna bağlı fosfoinozidit düzeylerindeki yükselmeye birlikte proteinkinaz C (PKC) ve kalsiyum-kalmodulin bağlı protein kinaz II (CaMKII)'nin de dahil olduğu proteinkinazların aktivasyonuna neden olmaktadır. Bu proteinkinazlar daha sonra sinaptik kuvvette uzun süreli modifikasyonlara yol açacak proteinleri düzenlemektedir (Wittenberg and Tsien 2002). Bu durumda SD grubunda glutamat düzeyinin azalması, bunun yanındada reseptör ekspresyonlarının artması bellekle ilgili hücre içi proseslerin başladığını göstermekte. Bu bulgu Chen et al. (2005), yaptıkları 24 h'lik uyku deprivasyonunda NR2A ve NR2B reseptörlerinde anlamlı fark gösterememişlerdir ve bizim bulgularımızla örtüşmektedir. Ayrıca NMDAR aracılı EPSP'nin hipokampal slaylarda anlamlı olarak azaldığını saptamışlar ve hipokampus aracılı hafızadaki sinaptik plastisitenin NMDA reseptörleri ile ilişkili olduğunu vurgulamışlardır. Bu durumda SD grubunda kontrole göre NMDA reseptör ekspresyonunun artışı bu mekanizma ile açıklanabilir. RD grubuna baktığımızda glutamat düzeyi artmış ve NR2A reseptör ekspresyonu azalırken NR2B artmıştır. REM deprivasyonunda NR2A reseptörünün çok etkili olmadığı, bunun yanında

NR2B'nin bellekle daha ilişkili olduğu ama uygulamanın yetersizliği veya bellek tekrarı gibi nedenlerden dolayı bu grupta olası moleküler bellek mekanizması belleği düzeltecek kadar çalışmadı. SD grubuna göre Glutamat düzeyinin anlamlı olarak farklı olması da bu mekanizmayı destekler nitelikteydi. SF grubuna baktığımızda, Glutamat düzeyi artmış bununla birlikte NR2A reseptör ekspresyonu artarken, NR2B azalmıştır. Bu durumda uyku yoksunluğu grubunda NR2A'nın daha aktif rol oynadığı NR2B'nin ise bu mekanizma rolünün çok olmadığını söyleyebiliriz. Ayrıca SD grubuna göre Glutamat düzeyinin anlamlı olarak farklı olması bu mekanizmayı destekler niteliktedir.

Kontrol grubu ile diğer gruplar arasında asetilkolin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına karşın; SD ve SF'de azaldığı RD grubunda arttığı gösterildi. Aynı şekilde nAChR $\alpha 7$ reseptör ekspresyonuna baktığımızda; kontrole göre tüm gruplarda reseptörün ekspresyonu azaldı. SSS'deki nAChR'leri presinaptik lokasyonlarda fonksiyon gösterirler. Bu durumda SD ve SF grubunda Ach düzeyi azaldı ve paralel olarak nAChR $\alpha 7$ reseptör ekspresyonunda azaldı ve bellek için nöronda eksitasyon oluşmadı. Bu durumda uyku bozuklukları bu mekanizmayı baskılamıştır. RD grubunda ise kontrole göre Ach düzeyi arttı ve buna zıt olarak nAChR $\alpha 7$ reseptör ekspresyonu azaldı. Homomeric nAChR $\alpha 7$ Ca^{+2} 'a hayli geçirgendir (Bertrand et al., 1993, Castro and Albuquerque 1995, Couturier et al., 1990) ve nAChR $\alpha 7$ reseptörü öğrenme ve hafızadaki bozulmayla ilişkilendirilmiştir (Banerjee et al., 2000, Levin et al., 1999). Burada önemli olan rol nöroproteksiyonunda (Kihara et al., 2001, Li et al., 1999) içine alan Ca^{+2} bağımlı proseslerdir (Berg and Conroy, 2002; McGehee et al., 1995). Aleisa et al. (2011) yaptıkları öğrenme sonrası 24 h'lik REM deprivasyonu ve REM Deprivasyonu+Nikotin verdikleri çalışmalarında, nikotin verilen grupta presinaptik nAChR $\alpha 7$ üzerinden nikotin REM deprivasyonunun uzun süreli bellekteyi bozulmayı engellediği bildirmişlerdir. Bu durumda RD grubunda bellek için nAChR $\alpha 7$ üzerinden Ca^{+2} girişi ve bunun sonucunda presinaptik terminalden Glutamat salınımı ile eksitasyon oluşumuydu. Bu veriler bellek oluşum mekanizmasının (Gray et al., 1996, Ji et al., 2001) uyku deprivasyonu ile inhibe edildiğini ortaya koymakta.

Serotonin hipokampal mikrodializ yöntemleri ile maksimum salınımın uyanıklıkta olduğu ve NREM uykuda azaldığı, REM uykusunda bu azalmanın daha

da devam ettiği gösterilmiştir (Park et al., 1999, Pen˜alva et al., 2003). Hipokampal döngüde kısa süreli uyku deprivasyonunun 5-HT düzeyini arttırdığı ve uyku rebounduna hızlı bir şekilde geri döndüğü gösterilmiştir (Asikainen et al., 1997; Pen˜alva et al., 2003). 24 h REM deprivasyonu uygulanan sıçanlarda 5-HT döngüsüne bakılmış ve 3h ve 12h'lik dinlenme sonrası kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır (Senthilvelan et al., 2006). Kavramsal olarak 5-HT_{2A} reseptör artışı öğrenme ve hafızayı güçlendirmektedir, bunun yanında reseptör antagonistlerinin öğrenme üzerine olumsuz etkileri vardır (Meneses and Hong, 1997, Harvey, 1996, 2003). 5-HT_{2A} reseptör antagonisti MDL100907 (MDL) verilen sıçanlarda uyku artmış ve uyanıklık azalmıştır. Bunun yanında 3 farklı doz MDL uykuyu daha fazla sağlamış, NREM artışı ve delta dalgası artışı sağlamıştır (Morairty et al., 2008). 5-HT_{2A} reseptörü kognitif stimülasyon etkisi Ach ve Glutamat salınımının artırılması ile de ilişkili bulunmuştur (Hirano et al., 1995, Meneses 2002). Serotonin düzeylerine baktığımızda; Serotonin kontrol ile SD grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ve SD grubunda Serotonin düzeyi azaldı. Fakat serotonin reseptörü olan 5-HT_{2A} reseptör ekspresyonu kontrol grubuna göre SD grubunda istatistiksel olarak anlamlı arttı. Serotonin uyku-uyanıklık düzenlenmesinde önemli rol oynamakta ve 5-HT_{2A} reseptör yavaş dalga uykusu modülasyonuna katılmaktadır (Popa et al., 2005, Morairty et al., 2008). Serotonin ve 5-HT_{2A} reseptörünün uykuya etkisi; kemirgenlerde, NREM'e 5-HT 5-HT_{2A}-aracılı inhibitör etki gösterir (Popa et al., 2005). Fakat 5-HT_{2A} antagonistleri NREM uyku ve EEG delta dalgasını artırır (Popa et al., 2005; Morairty et al., 2008). Uyku deprivasyonu çeşitli beyin bölgelerinde serotonerjik sistemi aktive etmektedir (Hery et al., 1970). Lopez-Rodriguez et al. (2003) çalışmalarında 24 h'lik uyku deprivasyonu sonunda serotonin miktarı anlamlı olarak azalmıştır. SD grubunda total uykusuzluğun uzamasına bağlı olarak serotonin miktarı azaldı ve bunun yanıncada 5-HT_{2A} reseptör ekspresyonu artarak bunu kompanse etmeye çalıştı. Bu durumda SD grubunda bellek regülasyon mekanizmasını; nöron membranında fosfoinozididaz ile kenetlenen 5-HT_{2A} reseptörünün aktivasyonu, nöronda inozitol-trifosfat (IP3) ve Ca⁺² düzeyini artışı ve proteinkinaz C'yi stimülasyonu ile açıklayabiliriz. Böylece 5-HT_{2A} reseptör alttipi, nöronlarda serotonin'in eksitator etkilerine aracılık etmekte ve serotonin bellekle ve öğrenmeyle ilgili artırıcı etkisini düzenlenmekte. RD grubunda kontrole göre anlamlı

bulunmayan serotonin düzeyini; REM deprivasyonu grubunda uyku bozukluklarının süresiyle ilişkili olarak adaptasyon mekanizmalarının devreye girmesi ve bellek tekrarı etkisiyle oluşabilir. Ayrıca serotonin salınımının NREM uykuda azaldığı, REM uykusunda bu azalmanın daha da devam ettiği gösterilmiştir (Park et al., 1999, Pen˜alva et al., 2003). Bu durumda RD'de selektif REM deprivasyonu ile serotonin miktarı düşüşü devam etmemekte ve sonuç olarak kontrole göre anlamlı düzeyde azalma gerçekleşmedi. Huang ve ark. (2011), 3 günlük uyguladıkları REM deprivasyonunda benzer şekilde sonuçlara ulaşılmıştır. Dört gün REM deprivasyonu yapılmış ve diyetle valin verilen sıçanlarda hipokampüste serotonin konsantrasyonunda anlamlı bir fark bulunmamıştır. Fakat serotonin metabolizmasının bir göstergesi olan 5İHAA düzeyinin anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir (Youngblood et al., 1999). SD grubuna göre anlamlı bulundu ve RD grubunda serotonin seviyesi arttı. Machado et al. (2008), 4 gün boyunca REM deprivasyonu uygulamasından sonra sıçanlara tekli ve çoklu ayak şoku uygulamışlar ve hipokampüste serotonin düzeyinin anlamlı olarak azaldığını saptamışlardır. Kontrol grubu ile REM deprivasyonu grubu arasında 5-HT_{2A} reseptörü açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olup, REM deprivasyonu grubunda reseptör ekspresyonu arttı. Bu durumda da yine aynı mekanizma ile serotoninin 5-HT_{2A} reseptörü aracılığı ile bellek mekanizmasının aktivasyonundan söz edilebilir. SF grubunda kontrole göre anlamlı bulunmayan serotonin düzeyi; uyku yoksunluğu grubunda uyku bozukluklarının süresiyle ilişkili olarak adaptasyon mekanizmalarının devreye girmesi ve bellek tekrarı etkisiyle oluşabilir. SD grubuna göre anlamlı bulundu ve SF grubunda serotonin seviyesi arttı. Kontrol grubu ile SF grubu arasında 5-HT_{2A} reseptörü istatistiksel olarak anlamlı fark olup, SF grubunda reseptör ekspresyonu arttı. Bu durumda da yine aynı mekanizma ile serotoninin 5-HT_{2A} reseptörü aracılığı ile bellek mekanizmasını aktivasyonundan söz edilebilir. Bizim bulgularımız Holmes ve ark. yaptığı (Holmes et al., 1995) çalışmada stres ilişkili serotonin miktarının ve 5-HT_{2A} reseptör ekspresyonunun arttığını göstermişlerdir. Uykusuzluk sonucu artan stresle ilişkili olarak çalışmamızla bu veriler örtüşmektedir. Ayrıca Youngblood et al. (1999), yaptıkları çalışmada sonuç olarak hipokampal seronerjik sistemin detaylı olarak araştırılmasına dikkat çekmişlerdir. Çalışmanın nörotransmitter düzeyi ile ilişkili olarak sınırlayıcı noktalarından biride,

nörotransmitter ölçümünde kullanılan ELİSA yöntemi yerine, daha hassas bir yöntem olan, yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) ile ölçüm yapılmasıdır.

Nitrik oksidin santral sinir sistemindeki eksitatör nitelikli etkilerini presinaptik sinir ucunda guanilat siklaz aktivasyonu ve cGMP aracılığı ile glutamat salıverilmesini ve buna paralel olarak postsinaptik membranda NMDA reseptör aktivasyonunu arttırmak suretiyle oluşturduğu sanılmaktadır (Uzby and Oglesby 2001). Nitrik Oksit (NOx) düzeylerine baktığımızda; gruplar arasında NOx değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. SD grubunda kontrole göre artarken diğer gruplarda azaldı. Yapılan bir çalışmada 3 gün boyunca uyku deprivasyonu uygulanmış ve kontrol grubuna göre NOx seviyesi artmıştır (Kumar and Garg 2008, Kumar and Singh 2008). Bu bulgular, sonuçlarımızla uygunluk göstermekte. Bir başka çalışmada 3 gün uyku deprivasyonu sonunda kontrole göre anlamlı olarak nitrit seviyesini yüksek bulmuşlardır (Singh and Kumar 2007). NO çok önemli bir nöromodülatördür ve uyku-uyanıklık siklusunu düzenlemektedir. Fakat mekanizma henüz açık değildir (Hars 1999, Kapas et al., 1994). SD grubundaki artışı NO aracılığı ile presinaptik membrandan Glutamat salınımına aracılık etmesi ile açıklanabilir. Çünkü SD grubunda Glutamat düzeyi azaldı, buradada NO artışını da bu mekanizmayla ilişkilendirebiliriz. RD ve SF grubunda da NO düzeylerinin artmasını, RD ve SF grubunda SD'ye göre anlamlı olarak artış gösteren Glutamat düzeyleri ile açıklayabiliriz. Sonuç olarak NO aracılı nöromodülasyon mekanizmalarının devreye girmediği, sadece reseptörler üzerinden bellekle ilgili mekanizmaların aktive olduğu söylenebilir. Periferik metabolik hız, serebral korteks glutamaterjik iletim ve ekstrasellüler nitrik oksit konsantrasyonu spontan uyanıklıkta ve uyku deprivasyonunda non-REM uyku dönemine göre artmıştır (Bettendorff et al., 1996, Bonnet et al., 1991).

8-OH-2'-Deoksiguanozin ve TBARS Düzeylerini karşılaştırdığımızda; Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Fakat kontrole göre 8-OH-2'-Deoksiguanozin düzeyleri SD, RD ve SF'de arttı. TBARS düzeyleri ise kontrole göre; SD ve SF'de arttı, RD grubunda azaldı. Bu bulgular; D'Almeida et al., hayvanlarda REM uyku deprivasyonunun lipid peroksidasyonu veya antioksidan defansta bir değişikliğe yol açmadığını bildirdikleri çalışmaları ile örtüşmektedir (D'Almeida et al., 1997). Bir başka çalışmada sıçanlarda ne kısa süreli ne de uzun

sürelî uyku deprivasyonunun beyinde ya da periferal dokularda oksidatif strese neden olmadığı saptanmıştır (Gopalakrishnan et al., 2004). Aynı şekilde 4 günlük yapılan REM deprivasyonunda genç ve yaşlı ratlarda oksidatif streste bir fark bulunmamıştır (Singh et al., 2007). Khadrawy et al. (2011), 72 saat REM uyku deprivasyonu yaptıkları çalışmalarında, korteks ve hipokampüste lipid peroksidasyonu ve glutasyonun azalması sonucunda, 72 saat REM uykusunun Na^+ , -K^+ -ATPase inhibisyonu ve asetilkolinesteraz aktivitesinin inhibe ederek belleğin bozulması, beyin eksitabilitesi ve aksiyetenin artmasının oksidatif stres aracılığı ile gerçekleştiğini öne sürmüşlerdir. Huang et al. (2011), 3 günlük uyguladıkları REM deprivasyonunda MDA düzeyleri kontrole göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bir başka çalışmada 3 gün uyku deprivasyonu sonunda kontrole göre anlamlı olarak MDA seviyesini yüksek bulmuşlardır (Singh and Kumar, 2007). Bu bulgulara göre bizim süremizin uzun olmasıyla kompensasyon mekanizmalarının devreye girmesi ile oksidatif stresin azaldığını söyleyebiliriz. Genel anlamda uyku bozukluklarında oksidatif streste bir artış gözlenmemekte. Uzun süreli uyku deprivasyonunda beyin metabolizmasındaki nisbi azalma ve noradrenerjik sistem etkinliğindeki değişikliklerin oksidatif ürünlerin potansiyel artışına karşı koruyucu rol oynayacakları da ileri sürülmektedir (Gopalakrishnan et al., 2004). Bizim bulgularımızda litaratürle uyuşmakta ve hipokampal hücrelerde oksidatif stres artışı olmadı ve eksotoksisite meydana gelmedi. Bu durumda değerlendirdiğimiz parametrelerin tamamen bellekle ilişkili olarak değişiklik gösterdiğini söyleyebiliriz. Uyanıklıkla ilişkili nöronal aktiviteyle uzun süre beyin hücrelerinde hasara ve hücre ölümüne neden olmaktadır. Çalışmanın sınırlayıcı noktalarından biride, hipokampal hücrelerde apoptozis markırlarının değerlendirilememesidir.

Gruplar arasında Ca^{+2} ve Na^{+2} değerlerini karşılaştırdığımızda; istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Kontrole göre Ca^{+2} ; SD, RD ve SF'de azalmış, kontrole göre Na^{+2} ; SD, RD ve SF'de artmıştır. Mg^{+2} değerlerini karşılaştırdığımızda Kontrol grubuna göre SD, RD ve SF'de azalmış, bu azalma SF'de istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Bu durumu; NMDA reseptörlerinin kanallarında, kanal içindeki katyon bağlanma bölgesine bağlanan Mg^{+2} 'un membran boyunca olan iyon akımını bloke etmesi ile açıklayabiliriz. Mg^{+2} 'un bu etkisi agonist ve voltaj bağımlıdır. Yani iyon kapısı olarak işleyen reseptörü istirahat membran potansiyeli (-70 mV) durumunda

bloke eder. Reseptörün tekrarlayan, uzun süreli uyarılarca (NMDA tanıma bölgesine sürekli bağlanan agonistlerin varlığında) depolarize edilmeye başladığı ve membran potansiyeli -30 mV düzeylerine ulaştığı zaman Mg^{+2} 'un etkisi kaybolarak iyon kapısı açılmaktadır. SF grubunda Mg^{+2} azalmış ve bunun yanında Glutamat seviyesi artmış ve kanal aktivasyonu ile hücre içine Ca^{+2} girişi gerçekleşmiş ve eksitasyon oluşumu ile bellekle ilişkili protein sentezi gerçekleşmiştir. Ama bu etki yeterli düzeyde oluşmamıştır. Çünkü NMDA reseptörlerinin ekspresyonunda bu grupta istatistiksel olarak anlamlı artış yoktu. Bellek tekrarı ile uyku bozukluğunda bu mekanizmanın aktivasyonu gerçekleşti, fakat uyku bozukluklarından NMDA reseptörlerinin etkilenmediği sonucuna göre bu mekanizma aktive olmadı.

Son olarak, sıçanların ağırlıkları karşılaştırıldığında kontrol grubu için, günler arasında bir değişiklik olmadı ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Bu durum uykusuzluk gibi bir strese maruz kalmadıkları için beklenen bir bulguydu. SD grubu için, günler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ve trialden deney sonuna kadar gruptaki sıçanların ağırlıkları azaldı. 3 gün süreyle uyku deprivasyonu uygulanan sıçanlarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak kilo kaybı gözlemlenmiştir (Kumar and Singh 2008). Bu bulgular bizim verilerimizi desteklemekte ve bu durumu stres kaynaklı enerji harcamasının artışı ile açıklayabiliriz. REM deprivasyonu grubu için, günler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ve trialden deney sonuna kadar gruptaki sıçanların ağırlıkları azaldı. Aynı şekilde Yang et al. (2008), 5 gün süreyle uyguladıkları REM deprivasyonunda ve 3 günlük uygulanan REM deprivasyonunda (Huang et al., 2011, Mohammed et al., 2011) sıçanlarda anlamlı şekilde kilo kaybının olduğunu göstermişlerdir. Bu grupta REM uyku deprivasyonunun hayvanların beslenme ile ilişkili fizyolojik mekanizmaları bozduğu, stres kaynaklı aşırı enerji harcanmasıyla yukarıdaki çalışmaların verileriyle uyumlu olarak kilo kaybının meydana geldiği söylenebilir. Uyku yoksunluğu grubu için, günler arasında bir değişiklik olmadı ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Bu grupta az uyumanın; total uyku yoksunluğu ve REM deprivasyonu gibi strese neden olarak kilo kaybına neden olmadığı söylenebilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Uyku, öğrenme ve hafıza ilişkisinin moleküler mekanizmaları araştırdığımız bu çalışmada total uyku deprivasyonu, REM uykusu deprivasyonu ve uyku yoksunluğu olarak 3 model uygulanmış ve öğrenme fizyolojisinin uyku ile ilişkisi farklı modellerle araştırılmıştır.

Uyku bozuklukları uygulamalarının, bellek üzerine etkileri 5 farklı parametre ile değerlendirilmiştir. Bu parametrelere göre genel olarak, SD, RD ve SF gruplarında bellekte parametrelerinde bozulma istatistiksel olarak anlamlı şekilde gerçekleşmiştir.

Total uyku yoksunluğu oluşturulan sıçanlarda; bellek bozulmasını serotoninin azalması ve serotonin reseptörü 5-HT_{2A}'nın ekspresyonun artışı ile nöronda hücre içi inozitol-trifosfat (IP3) ve Ca²⁺ düzeyini artışı ve proteinkinaz C'yi stimülasyonu ile gerçekleşen protein sentezi ile açıklayabiliriz. REM deprivasyonu ve uyku yoksunluğu grubunda belleği; serotonin düzeyinin artışı bu gruplarda uyku bozukluklarının süresiyle ilişkili olarak adaptasyon mekanizmalarının devreye girmesi ve bellek tekrarı etkisiyle oluşmakta ve serotonin reseptörü 5-HT_{2A}'nın ekspresyonun artışı ve 2. haberci aktivasyonu ve sonuçta bellekle ilişkili protein sentezi ile açıklayabiliriz. 5-HT_{2A} insomnia tedavisinde ilaç geliştirmek için hedef reseptördür.

Elde edilen sonuçlara göre, uyku bozukluklarının modern toplumda sık görülmesiyle uyku bozukluklarına paralel olarak gün içinde kognitif fonksiyonların azalmasıyla ilişkili olarak iş ve trafik kazaları meydana gelmektedir. Dikkat gerektiren işlerde ve insomnia veya uyuyamamanın majör semptom olduğu depresyon hastalarında, SSRI kullanımıyla veya 5-HT_{2A} agonistleri ile uykusuzluğa bağlı görülebilecek hafıza ve dikkat bozukluklarının tedavisinde serotonin ve serotonin alt reseptör tipi 5-HT_{2A} ile ilişkili mekanizmaların etkili olabileceğini ortaya koymaktadır.

ÖZET

Sıçanlarda uyku bozukluklarının hipokampüs aracılı öğrenme ve hafıza işlevleri üzerine etkisinin araştırılması

Bu çalışmada, uyku bozukluklarının hipokampüs aracılı öğrenme ve bellek üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Ağırlıkları 320-360 gr olan Sprague Dawley cinsi toplam 48 adet erkek sıçan, 4 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu (K) (n=12), REM Deprivasyonu Grubu (RD) (n=12), Total Uyku Deprivasyonu Grubu (SD) (n=12) ve Uyku Yoksunluğu Grubu (SF) (n=12). Sıçanlara günde 4 kez 5 gün boyunca, Morris su labirenti (Morris Water Maze) düzeneğinde yüzdürme eğitimi verildi (öğrenme dönemi); 6. günden sonra uyku bozuklukları uygulanmaya başlandı ve SD grubu 3 gün, RD ve SF gruplarında 7 gün boyunca uyku bozuklukları oluşturuldu. Günlük düzenekteki platform çıkarılarak hayvanlara 60 sn süreyle probe testi ve ardından platform testi yapıldı. SD grubunda başlangıç günü ve 3. gün, RD ve SF grubuna başlangıç günü ve 7. günde görünür platform testi (visible test) yapıldı. Bellek parametresi olarak, Platformun bulunduğu kadranda (2. Kadran, hedef hadran) yüzülen süre (sn), Platformun bulunduğu kadranda (2. Kadran, hedef hadran) yüzülen mesafe (cm), Sıçanların yüzdüğü ortalama hız (cm/sn), Sıçanların yüzdüğü toplam mesafe (cm), Dış kadranda yüzülen süre (sn) değerlendirilmiş ve tüm gruplarda bellek parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bozulmalar saptanmıştır ($p<0.05$). Deney sonunda sıçanların hipokampüs dokuları çıkarılarak; Glutamat, Serotonin, Asetilkolin ve 8-OH-2'-Deoksiguanozin düzeyleri ELİSA yöntemiyle, Glutamaerjik NR2A, NR2B, Nikotinik kolinerjik nAchR- $\alpha 7$ ve Serotonerjik 5-HT_{2A} reseptör ekspresyonlarına Wetsern Blot Analiziyle, NO, TBARS, Ca⁺², Mg⁺² ve Na⁺ düzeylerine kolorimetrik yöntemle bakıldı. Glutamat düzeyleri SD ve RD arasında, SD ve SF arasında anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$) ve RD ve SF'de artmıştır. Serotonin düzeyleri, K ile SD, SD ile RD ve SD ile SF arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$), kontrol grubuna göre SD grubunda azalırken, SD grubuna göre RD ve SF'de artmıştır. 5-HT_{2A} reseptör ekspresyonu K ile SD, K ile RD ve K ile SF arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ($p<0.05$) ve gruplarda kontrole göre ekspresyonu artmıştır. Mg⁺² düzeyi K ile SF arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$) ve SF'de azalmıştır. Ağırlıklar, SD, RD'de grup içinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$) ve gün geçtikçe azalmıştır.

Sonuç olarak uyku bozukluklarında; serotonin düzeyi ve serotonin 5-HT_{2A} reseptörlerinin ekspresyonu artmaktadır. Bellekle ilişkili olarak bozulan mekanizmanın kompensasyonu bu reseptörler aracılığı ile gerçekleşmektedir. Uyku bozukluklarında, serotonin geri alım inhibitörleri ve 5-HT_{2A} reseptör agonisti olan ilaçların kullanılabileceğini sonucuna vardık.

Anahtar Kelimeler: Uyku Bozuklukları, Öğrenme ve Hafıza, NMDA, $\alpha 7$, 5-HT_{2A}, Glutamat, Serotonin, Asetilkolin.

ABSTRACT

Investigation of the effects of sleep disorders on the hippocampal mediated learning and memory in rats

In this study, the effects of sleep disorders on the hippocampus mediated learning and memory were investigated. Forty-eight Sprague-Dawley male rats in total, weighing 320-360 g were divided into 4 groups including Control Group (K) (n = 12), the REM deprivation Group (RD) (n = 12), total sleep deprivation Group (SD) (n = 12) and sleep fragmentation group (SF) (n = 12). Rats were subjected to swimming training in the Morris Water Maze float assembly (learning period) for 4 times a day for 5 days period. At the 6th day sleep disorders were begun to be implemented and sleep disorders were created for the SD group in the course of 3 days and for the RD and SF groups for 7 days. Probe test was applied to the animals for a period of 60 seconds by removing the platform from the assembly. Visible platform test was conducted 1 day prior to experiment and 3rd days to the SD group and 1 day prior to experiment and 7th days to the RD and SF groups. As the parameters of memory; swim period (sec) at the platform quadrant (2nd quadrant, target quadrant) swim distance (cm) at the platform quadrant (2nd quadrant, target quadrant), average swim speed (cm/sec), total swim distance (cm), and swimming time (sec) at the outer quadrant were evaluated. For all groups, statistically significant disturbances in the memory patterns were recorded ($p < 0.05$). At the end of the experiment hippocampus tissues were removed and the levels of glutamate, serotonin, acetylcholine, and 8-OH-2'-deoxyguanosine were determined by means of ELISA test, glutamatergic NR2A, NR2B, nAChR- $\alpha 7$ nicotinic cholinergic and serotonergic 5-HT_{2A} receptor expressions were measured by using Western Blot analysis, and the levels of NO, TBARS, Ca²⁺, Mg²⁺ and Na⁺ were measured by a colorimetric method. Glutamate levels were found to be significant in SD and RD, SD and SF groups and an increase was observed in RD and SF ($p < 0.05$). Serotonin levels were found to be statistically significant between K and SD, SD and RD, and SD and SF ($p < 0.05$); while serotonin levels decreased in SD group comparing with control group, they increased in RD and SF groups comparing with SD group. In terms of 5-HT_{2A} receptor expression, significant relationships were found in K and SD, K and RD and K and SF ($p < 0.05$) and comparing with the controls the expression rates increased. In terms of Mg²⁺ level, statistically significant relationship was detected between K and SF, and it decreased in the SF group ($p < 0.05$). Weights were found to be statistically significant in SD and RD groups ($p < 0.05$) and the weights gradually diminished.

As a conclusion, it can be said that serotonin levels and expressions of serotonin 5-HT_{2A} receptors increased in sleep disorders. Compensation of the impairment mechanisms related with memory was realized by this receptor. We conclude that in sleep disorders, serotonin reuptake inhibitor drugs (SSRIs) and 5-HT_{2A} receptor agonists could be used.

Keywords: Sleep Disorders, Learning and Memory, NMDA, $\alpha 7$, 5-HT_{2A}, Glutamate, Serotonin, Acetylcholine.

KAYNAKLAR

- Abe K, Matsuki N. Measurement of cellular 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction activity and lactate dehydrogenase release using MTT. *Neurosci Res.* 2000; 38(4): 325-329.
- Abe K, Puertollano R. Role of TRP Channels in the Regulation of the Endosomal Pathway. *Physiology (Bethesda)* 2011; 26(1): 14-22.
- Acherman P and Borbely AA. Simulation of human sleep: ultradian dynamics of EEG slow wave activity. *J. vBiol. Rhythm*, 1990; 5(2): 141-157.
- Akerstedt T. Altered sleep-wake patterns and circadian rhythms. *Acta. Physiol. Scand. Suppl.* 1979; 469: 1-48.
- Aktan ZA. Limbik Sistem. *Sendrom* 1997; 9 (1): 65-69.
- American Academy of Sleep Medicine: *International Classification of Sleep Disorders: Diagnostic and Coding Manual*, 2nd ed. Westchester,3, American Academy of Sleep medicine. 2005; s.72-73.
- Amlaner C, Ball N “avian Sleep” in: Principles and practice of sleep medicine edited by M. Kryger, T Roth and W Dement. Philadelphia: WB Saunders Company, 1989: p:50-63.
- Angus RG, Heslegrave RJ, Myles WS. Effect of prolonged sleep deprivation with and without chronic physical exercise, on mood and performance. *Psychophysiology* 1985; 22(3): 276-282.
- Arendt T. Alzheimer’s Diseases as a Disorder of Mechanisms Underlying Structural Brain Self-Organization. *Neuroscience* 2001; 102 (4): 723-765.
- Arıcanlı N. Selektif rem deprivasyonunun bellek fonksiyonları üzerine etkisinde selektif serotonin reuptake inhibitörü sitalopramın etkisi. Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Edirne, (Prof. Dr. Çetin Hakan Karadağ), 2010.
- Arıncı K, Elhan A. *Anatomi* Ankara: Güneş Kitabevi, 1995; 2: s. 403-404.
- Asikainen M, Toppila J, Alanko L, Ward DJ, Stenberg D, Porkka-Heiskanen T. Sleep deprivation increases brain serotonin turnover in the rat. *Neuroreport* 1997; 8(7): 1577-1582.
- Association of Sleep Disorders Centers: Diagnostic Classification of Sleep and Arousal Disorders, Prepared by the Sleep disorders Classification Committee, Roffwarg HP, Chairman. *Sleep* 1979; 2: 1-137.
- Ayar A, Martin DJ, Ozcan M, Kelestimur H. Melatonin inhibits high voltage activated calcium currents in cultured rat dorsal root ganglion neurones. *Neurosci Lett.* 2001; 313(1-2): 73-77.
- Ayas NT, White DP, Manson JE, Stampfer MJ, Speizer FE, Malhotra A et al. A prospective study of sleep duration and coronary heart disease in women. *Arch Intern Med.* 2003; 163(2): 205-209.

- Aydın H and Özgen F. Effect of Imipramine on REM: paradoxial or parallel? *Eur. Neuropsychopharmacol.* 1992; 2: 389-391.
- Aydın H. Uykuda uyanan hayallerimiz, Rüya. *Bilim ve Teknik* 1994; 27(318): 22-28.
- Banerjee C, Nyengaard JR, Wevers A, de Vos RA, Jansen Steur EN, Lindstrom J et al. Cellular expression of alpha7 nicotinic acetylcholine receptor protein in the temporal cortex in Alzheimer's and Parkinson's disease: a stereological approach. *Neurobiol Dis* 2000; 7 (6 Pt B): 666–672.
- Bank U, Reinhold D, Ansorge S. Measurement of cellular activity with the MTT test. Optimization of the method. *Allerg Immunol (Leipz).* 1991; 37(3-4): 119-23.
- Bari MR, Akbar S, Eweida M, Kühn FJ, Gustafsson AJ, Lückhoff A, Islam MS. H₂O₂-induced Ca²⁺ influx and its inhibition by N-(p-amylcinnamoyl) anthranilic acid in the beta-cells: involvement of TRPM2 channels. *J Cell Mol Med.* 2009; 13(9B): 3260-3267.
- Barret KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL. *Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi.* 23. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti, İstanbul 2011; s. 290-291.
- Berg DK, Conroy WG. Nicotinic alpha 7 receptors: synaptic options and downstream signaling in neurons. *J Neurobiol* 2002; 53(4): 512-523.
- Bertrand D, Galzi JL, Devillers-Thierry A, Bertrand S, Changeux JP. Mutations at two distinct sites within the channel domain M2 alter calcium permeability of neuronal alpha 7 nicotinic receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90(15): 6971–6975.
- Bettendorff L, Sallanon-Moulin M, Touret M, Wins P, Margineanu I, Schoffeniels E. Paradoxical sleep deprivation increases the content of glutamate and glutamine in rat cerebral cortex. *Sleep* 1996; 19:65-71
- Bolshakov VY, Golan H, Kandel ER, Siegelbaum SA. Recruitment of new sites of synaptic transmission during the cAMP dependent late phase of LTP at CA3-CA1 synapses in the hippocampus. *Neuron* 1997; 19(1): 635-651.
- Bonnet MH. Infrequent periodic sleep disruption: effects on sleep, performance and mood. *Physiol. Behav.* 1989; 45(5): 1049-1055.
- Bonnet MH, Berry RB, Arand DL. Metabolism during normal, fragmented, and recovery sleep. *J Appl Physiol* 1991; 71(3): 1112-1118
- Bryan K, Whishaw IQ. Brain Plasticity and Behaviour. *Annual Review of Psychology* 1998; 49: 43-64.
- Candelario-Jalile E, González-Falco'na E. Wide therapeutic time window for nimesulide neuroprotection in a model of transient focal cerebral ischemia in the rat. *Brain Research* 2004; 1007(1-2): 98-108.
- Carola, Robert, John P. Harley, Charles R. Noback. *Human Anatomy and Physiology* New York: McGraw-Hill, Inc. 1990.
- Carrington MJ, Barbieri R, Colrain I M, Crowley K E, Kim Y, Trinder J. Changes in cardiovascular function during the sleep onset period in young adults. *J Appl Physiol* 2005; 98(2): 468-476.

- Carroll RC, Zukin RS. NMDA-receptor trafficking and targetting: Implications for synaptic transmission and plasticity. *Trends in Neuroscience*. 2002; 25(11): 571-577.
- Carskadon MA, Harvey K, Dement WC. Sleep loss in young adolescents. *Sleep* 1981; 4(3): 299-312.
- Castro NG, Albuquerque EX. α -Bungarotoxin-sensitive hippocampal nicotinic receptor channel has a high calcium permeability. *Biophys J* 1995; 68(2): 516-524.
- Cespuglio R, Walker E, Gomez ME, Musolino R. Cooling of the nucleus raphe dorsalis induces sleep in the cat. *Neurosci Lett*. 1976; 3(4): 221-227.
- Challamel MJ. Functions of paradoxical sleep and ontogenesis. *Neurophysiol Clin*. 1992; 22(2): 117-132.
- Chen C, Hardy M, Zhang J, LaHoste GJ, Bazan NG. Altered NMDA receptor trafficking contributes to sleep deprivation-induced hippocampal synaptic and cognitive impairments. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006; 10; 340(2): 435-440.
- Christopher GVS, Wannacott S. Neuronal nicotinic receptors. *Tocris Reviews* 2001; 19.
- Cicogna P, Natale V, Occhionero M, Bosinelli M. Slow wave and REM sleep mentation. *Sleep* 2000; 3(2): 67-72.
- Cizkova D, Vonicky I, Gottlieb M, Marsala J. Ischemic damage in the hippocampus: a silver impregnation and immunocytochemical study in the rat. *Archives Italiennes de Biologie*. 1996; 134(4): 279-90.
- Clayton DA, Browning MD. Deficits in the expression of NR2B subunit in the hippocampus of aged Fischer 344 rats. *Neurobiology of aging* 2001; 22(1): 165-168.
- Copper KR and Philips BA. Effect of short term sleep loss on breathing. *J. Appl. Physiol*. 1982; 53(4): 855-858.
- Couturier S, Bertrand D, Matter JM, Hernandez MC, Bertrand S, Millar N et al. A neuronal nicotinic acetylcholine receptor subunit ($\alpha 7$) is developmentally regulated and forms a homooligomeric channel blocked by α -btx. *Neuron* 1990; 5(6): 847-856.
- Coyle IT, Bird SI, Evans RH, Gulley RL, Nadler JV, Nicklas WJ et al. Excitatory amino acid neurotoxins: selectivity, specificity, and mechanism of action. *Neurosci Res Prog Bull* 1981; 19(4): 333-427.
- Cull-Candy S, Brickley S, Farrant M. NMDA receptors. *Current Opinion in Neurobiology* 2001; 11(1): 327-335.
- D'Almeida V, Hipólido DC, Azzalis LA, Lobo LL, Junqueira VB, Tufik S. Absence of oxidative stress following paradoxical sleep deprivation in rats. *Neurosci Lett* 1997; 235(1-2): 25-28.

- D'Almeida V, Hipólido DC, Lobo LL, de Oliveira AC, Nobrega JN, Tufik S. Melatonin treatment does not prevent decreases in brain glutathione levels induced by sleep deprivation. *Eur J Pharmacol* 2000; 390(3): 299-302.
- D'Almeida V, Lobo LL, Hipólido DC, de Oliveira AC, Nobrega JN, Tufik S. Sleep deprivation induces brain region-specific decreases in glutathione levels. *Neuroreport* 1998; 9(12): 2853-2856.
- Delibas N, Doguc DK, Sutcu R, Eroglu E, Gökalp O. Effect of nicotine on hippocampal nicotinic acetylcholine alpha7 receptor and NMDA receptor subunits 2A and 2B expression in young and old rats. *Int J Neurosci*. 2005; 115(8): 1151-1163.
- Dement W. A person history of sleep disorders medicine. *J Clin Neurophysiol* 1990; 7(1): 17-47.
- Dere E, Pause BM, Pietrowsky R. Emotion and episodic memory in neuropsychiatric disorders. *Behav Brain Res*. 2010; 215(2): 162-171.
- Dere F. *Nöroanatomi ve Fonksiyonel Nöroloji*, Okullar Pazarı Kitabevi, 1990.
- Dhir A, Kulkarni SK. Possible involvement of nitric oxide (NO) signaling pathway in the antidepressant-like effect of MK-801 (dizocilpine), a NMDA receptor antagonist in mouse forced swim test. *Indian Journal of Experimental Biology* 2008; 46(3): 164-170.
- Diagnostic Classification Steering Committee, Thorpy MJ, Chairman: *International Classification of Sleep Disorders: Diagnostic and Coding Manual*. Rochester, Minn, American Sleep Disorders Association 1990.
- España RA, Scammell TE. Sleep neurobiology for the clinician. *Sleep* 2004; 27(4): 811-20.
- Everson CA, Smith CB, Sokoloff L. Effects of prolonged sleep deprivation on local rates of cerebral energy metabolism in freelymoving rats. *J Neurosci* 1994; 14 (11 Pt 2): 6769-6778.
- Fujii S, Mikoshiba K, Kuroda Y, Ahmed TM, Kato H. Cooperativity between activation of metabotropic glutamate receptors and NMDA receptors in the induction of LTP in hippocampal CA1 neurons. *Neurosci Res* 2003; 46(4): 509-521.
- Goebel DJ, Poosch MS. NMDA receptor subunit gene expression in the rat brain: a quantitative analysis of endogenous mRNA levels of NR1, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D and NR3A. *Molecular Brain Research*. 1999; 69(2): 164-170.
- Gopalakrishnan A, Ji LL, Cirelli C. Sleep deprivation and cellular responses to oxidative stress. *Sleep* 2004; 27(1): 27-35.
- Grant SGN, O'Dell TJ, Karl KA, Stein PL, Soriano P, Kandel ER. Impaired long term potentiation, spatial learning, and hippocampal development in fyn mutant mice. *Science* 1992; 258(5090): 1903-1910.
- Gray R, Rajan AS, Radcliffe KA, Yakehiro M, Dani JA. Hippocampal synaptic transmission enhanced by low concentrations of nicotine. *Nature* 1996; 383(6602): 713-716.

- Green JD. The Hippocampus. In: Field J. editor. *Handbook of Physiology* (1st Ed). Vol. 2. Washington: American Physiological Society. 1960; 1373-1389.
- Greenberg MS and Farah MJ. The laterality of dreaming. *Brain Cogn.* 1986; 5(3): 307-321.
- Guan Z, Peng X, Fang J. Sleep deprivation impairs spatial memory and decreases extracellular signal-regulated kinase phosphorylation in the hippocampus. *Brain Research* 2004; 1018(1): 38–47.
- Gutbrod K, Cohen R, Maier T, Meier E. Memory for spatial and temporal order in aphasics and right hemisphere damaged patients. *Cortex* 1987; 23(3): 463-474.
- Guyton AC, Hall JE. 1996. *Tibbi Fizyoloji* çev. ed. Hayrünnisa Çavuşoğlu, Berrak Ç. Yegen, Zeynep Aydın, İnci Alican. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi Ltd Sti. s. 742-758.
- Gülpınar MA, Berrak ÇY. The Physiology of Learning and Memory: Role of Peptides and Stress. *Current Protein ve Peptide Science.* 2004; 5(6): 457-473.
- Halliwell B, Gutteridge JM. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radical Biol Med* 1995; 18(1): 125-126.
- Hars B. Endogenous nitric oxide in the rat pons promotes sleep. *Brain Res* 1999; 816(1): 209–19.
- Harvey JA. Role of the serotonin 5-HT_{2A} receptor in learning. *Learning&Memory* 2003; 10(5): 355-362.
- Hashimoto S. A new spectrophotometric assay method of xanthine oxidase in crude tissue homogenate. *Anal Biochem* 1974; 62(2): 425-435.
- Helbock HJ, Beckman KB, Ames BN. 8-hydroxydeoxyguanosine and 8-hydroxyguanine as biomarkers of oxidative DNA damage. *Methods Enzymol*, 1999; 300: 156-66.
- Heresco-Levy U. Glutamatergic neurotransmission modulation mechanisms of antipsychotic atypicality. *Neuropsychopharmacology&Biological Psychiatry* 2003; 27(7): 1113-1123.
- Hery F, Pujol JF, Lopez M, Macon J, Glowinski J. Increased synthesis and utilization of serotonin in the central nervous system of the rat during paradoxical sleep deprivation. *Brain Res.* 1970; 21(3): 391–403.
- Hirano H, Day J, Fibiger HC. Serotonergic regulation of acetylcholine release in rat frontal cortex. *Journal of Neurochemistry* 1995; 65(3): 1139–1145.
- Holmes MC, French KL, Seckl JR. Modulation of serotonin and corticosteroid receptor gene expression in the rat hippocampus with circadian rhythm and stress. *Brain Res Mol Brain Res.* 1995; 28(2): 186-92.
- Horne J and Wilkinson S. Chronic sleep reduction: daytime vigilance performance and EEG measures of sleepiness, with particular reference to “practice” effects. *Psychophysiology* 1985; 22(1): 69-78
- Horne J. Why we sleep. Oxford University Press, New York, 1987.

- Huang YY, Kandel ER, Varshavsky L, Brandon EP, QiM Irzerda RL et al. A genetic test of the effects of mutations in PKA on mossy fiber LTP and its relation to spatial and contextual learning. *Cell* 1995; 83 (7): 1211-1222.
- Huang YY, Kandel ER. Recruitment of long-lasting and protein kinase a-dependent long-term potentiation in the CA1 region of hippocampus requires repeated tetanization. *Learn Mem* 1994; 1(1): 74-82.
- Huang YY, Li XC, Kandel ER. cAMP contributes to mossy fiber LTP by initiating both a covalently mediated early phase and a macromolecular synthesis-dependent late phase. *Cell* 1994; 79(1): 69-79.
- Inoue S, Honda K, Komoda Y. Sleep as neuronal detoxification and restitution. *Behav Brain Res* 1995; 69(1-2): 91-96.
- Jacobs BL, Asher D, Dement WC. Electrophysiological and behavioral effects of electrical stimulation of the raphe nuclei in cats. *Physiol Behav* 1973; 11(4): 489-95.
- Ji D, Lape R, Dani JA. Timing and location of nicotinic activity enhances or depresses hippocampal synaptic plasticity. *Neuron* 2001; 31(1): 131-141.
- Johnson LC, Naitoh P, Moses JM, Lubin A. Interaction of REM deprivation and stage 4 deprivation with total sleep loss: experiment 2. *Psychophysiology*, 1974; 11(2): 147-159.
- Jones BE. Basic mechanisms of sleep-wake states. In: Kryger MH, Roth T, Dement WC, eds. *Principles and Practice of Sleep Medicine*. 4 th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005. p.136-153.
- Jouvet M. Paradoxical Sleep as a Programming System. *J Sleep Res.* 1998; 7 Suppl 1: 1-5.
- Jouvet M. Sleep and serotonin: an unfinished story. *Neuropsychopharmacology* 1999; 21(2 Suppl): 24S-27S.
- Jovanovic UJ. General considerations of sleep and sleep deprivation In: Degen R, Rodin EA (eds) *Epilepsy, Sleep and Sleep Deprivation*. *Epilepsy Res. Suppl.* 1991; 2: 205-15.
- Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM. *Principles of Neural Science* 4th ed. New York: Mc Graww-Hill Comp. 2000; p. 1233.
- Kapas L, Fang J, Krueger JM. Inhibition of nitric oxide synthesis inhibits rat sleep. *Brain Res* 1994; 664(1-2): 189-196.
- Kara HY. Kronik asetil salisilik asit ve C vitamini uygulamasının yaşlı sıçanlarda uzamsal hafıza, NMDA reseptörlerinden NR2A, NR2B ve Nikotinik kolinerjik asetilkolin Reseptörlerinden $\alpha 7$, $\alpha 4\beta 2$ subtiplerine etkileri. Tıpta Uzmanlık tezi, Isparta (Yrd. Doç. Dr. Duygu Kumbul Doğuç), 2009.
- Karabekiroğlu K, Gımsal A, Berkem M. Psikiyatrik bozukluklarda bellek sorunları. *Anadolu Psikiyatr Derg.* 2005; 6: 188-196.
- Karacan I, Rosenbloom AL, Williams RL. Slow wave sleep deprivation in relation to plasma growth hormone concentration. *Behav. Neuropsychiatry* 1971; 2(11): 11-14.

- Karadağ M, Ursavaş A. Dünyada ve Türkiye’de Uyku Çalışmaları. *Türkiye Klinikleri Arch Lung* 2007; 8(2): 62-64.
- Karadağ M. *Solunum sistemi ve hastalıkları temel başvuru kitabı*. İstanbul: Medikal Yayıncılık Bilimsel Eserler dizisi; 2010: 2099-2100.
- Karakaş S, Aydın H, Kafadar H, Çakmak ED, Irak M, Erzenin OU, Bekci B. Auditory information processing during sleep stages 1-4 and REM, Proceedings of the Brain-Machine 2000 Workshop, (Halıcı U, Leblebicioğlu K, Atalay V, Nalçacı E, eds.) Ankara 2000: 141-148.
- Kayaalp SO. *Tıbbi Farmakoloji*, 12. Baskı Bölüm 6: Santral sinir sisteminin farmakolojisinin Temelleri, Pelikan Tıp ve Teknik kitapçılık Tic ltd şti. 2009. S. 636-654, 743-745, 1256-1261.
- Kaynak H, Ardıç S. *Uyku Fizyolojisi ve Hastalıkları*. Türk Uyku Tıbbi Derneği. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti. İstanbul 2011: 8; 1-468.
- Keleş E, Çepni S. Beyin ve Öğrenme. *Türk Fen Eğitimi Dergisi* 2006; 3(2): 66-82.
- Khadrawy YA, Nour NA, Aboul Ezz HS. Effect of oxidative stress induced by paradoxical sleep deprivation on the activities of Na⁺, K⁺-ATPase and acetylcholinesterase in the cortex and hippocampus of rat. *Transl Res*. 2011; 157(2): 100-107.
- Khanduja KL, Sohi KK. Nimesulide inhibits lipopolysaccharide-induced production of superoxide anions and nitric oxide and iNOS expression in alveolar macrophages. *Life Sciences* 2006; 78(15): 1662-1669.
- Kihara T, Shimohama S, Sawada H, Honda K, Nakamizo T, Shibasaki H, Kume T, Akaike A. Alpha 7 nicotinic receptor transduces signals to phosphatidylinositol 3-kinase to block A beta-amyloidinduced neurotoxicity. *J Biol Chem* 2001; 276(17): 13541–13546.
- Kim EY, Mahmoud SG, Grover LM. REM sleep deprivation inhibits LTP in vivo in area CA1 of rat hippocampus. *Neuroscience Letters* 2005; 388(3): 163–167.
- Kim JJ, Lee HJ, Han J-S, Packard MG. Amygdala is critical for stress-induced modulation of hippocampal long-term potentiation and learning. *J Neurosci* 2001; 21(14):5222-5228.
- Kitajima T, Hara K. A model of the mechanism of cooperativity and associativity of long term potentiation in the hippocampus: a fundamental mechanism of associative memory and learning. *Biol Cybern* 1991; 64(5): 365-371.
- Kollar EJ, Namerow N, Pansav RO, Naitoh P. Neurological findings during prolonged sleep deprivation. *Neurology* 1968; 18(9): 836-840.
- Korn H, Faber DS. Quantal analysis and synaptic efficacy in the CNS. *Trends Neurosci*. 1991; 14(10): 439-445.
- Korz V, Frey JU. Stress-related modulation of hippocampal long-term potentiation in rats: involvement of adrenal steroid receptors. *J Neurosci* 2003; 23(19): 7281-7287.

- Kryger MH, Roth T, Dement WC (Editörler 3. Baskı). Tobler I. “*Philogeny of sleep regulation*” in. Principles and practice of sleep medicine. Saunders, Philadelphia, 2000 p: 91-100.
- Kumar A, Garg R. A role of nitric oxide mechanism involved in the protective effects of venlafaxine in sleep deprivation. *Behavioural Brain Research* 2008; 194(2): 169–173.
- Kumar A, Singh A. Possible nitric oxide modulation in protective effect of (*Curcuma longa*, Zingiberaceae) against sleep deprivation-induced behavioral alterations and oxidative damage in mice. *Phytomedicine* 2008; 15(8): 577–586.
- Kutlu G. EEG'nin Tarihçesi. *Sinaps* 2000; 13: 1-12
- Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970; 227: 680-689.
- Legendre R, Pieron H. LE probleme des facteurs du sommeil: Resultats d'injections vasculaires et intracerebrales de liquides insomniques. *C R Soc Biol* 1910; 68: 1077-1079.
- Levent Öztürk. Uyku yoksunluğunun sağlıklı insanlarda periferal immün sistem üzerine etkileri (tez). İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, İstanbul, (Prof.Dr. Lütfi ÇAKAR), 1997.
- Levin ED, Bettegowda C, Blosser J, Gordon J. AR-R17779, and alpha7 nicotinic agonist, improves learning and memory in rats. *Behav Pharmacol* 1999; 10(6-7): 675-680.
- Li R, Dozmorov M, Hellberg F, Tian Y, Jilderos B, Wigstrom H. Characterization of NMDA induced depression in rat hippocampus: involvement of AMPA and NMDA receptors. *Neurosci Lett* 2004; 357(2): 87-90.
- Li Y, Papke RL, He Y-J, Millard B, Meyer EM. Characterization of the neuroprotective and toxic effects of $\alpha 7$ nicotinic receptor activation in PC12 cells. *Brain Res* 1999; 830(2): 218–225.
- Liang KC, Hon W, Tyan YM, Liao WL. Involvement of hippocampal NMDA and AMPA receptors in acquisition, formation and retrieval of spatial memory in the Morris water maze. *The Chinese Journal of Physiology* 1994; 37(4): 201-212.
- Lin JS, Sakai K, Jouvet M. Evidence for histaminergic arousal mechanisms in the hypothalamus of cat. *Neuropharmacology* 1988; 27(2): 111-12.
- Lopez-Rodriguez F, Wilson CL, Maidment NT, Poland RE, Engel J. Total sleep deprivation increases extracellular serotonin in the rat hippocampus. *Neuroscience* 2003; 121(2): 523–530.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folinphenol reagents. *The Journal of Biological Chemistry*. 1951; 193: 265-275
- Machado RB, Tufik S, Suchecki D. Chronic stress during paradoxical sleep deprivation increases paradoxical sleep rebound: association with prolactin plasma levels and brain serotonin content. *Psychoneuroendocrinology* 2008; 33(9): 1211-1224.
- MacNish R. *The philosophy of sleep*. New York, D Appleton, 1834.

- Malinow R, Tsien RW. Presynaptic enhancement shown by whole cell recordings of LTP in hippocampal slices. *Nature* 1990; 357: 134-139.
- Maquet P. Current status of brain imaging in sleep medicine. *Sleep Med Rev* 2005; 9(3): 155-156.
- Maquet P. Functional neuroimaging of normal human sleep by positron emission tomography. *J Sleep Res* 2000; 9(3): 207-231.
- Maquet P. The Role of Sleep in Learning and Memory. *Science* 2001; 294 (5544): 1048-1052.
- Marrosu F, Portas C, Mascia MS, Casu MA, Fà M, Giagheddu M, Imperato A, Gessa GL. Microdialysis measurement of cortical and hippocampal acetylcholine release during sleep-wake cycle in freely moving cats. *Brain Res.* 1995; 671(2): 329-332.
- McCoy JG, Christie MA, Kim Y, Brennan R, Poeta DL, McCarley RW et al. Chronic sleep restriction impairs spatial memory in rats. *Neuroreport* 2013; 24(2): 91-95.
- McDorman KS, Pachkowski BF, Nakamura J, Wolf DC, Swenberg JA. Oxidative DNA damage from potassium bromate exposure in long-evans rats is not enhanced by a mixture of drinking water disinfection by-products. *Chem Biol Interact*, 2005; 152 (2-3): 107-117.
- McGaugh JL. Memory a century of consolidation. *Science* 2000; 287(5451): 248-251.
- McGehee DS, Heath MJS, Gelber S, Devay P, Role LW. Nicotine enhancement of fast excitatory synaptic transmission in CNS by presynaptic receptors. *Science* 1995; 269(5231): 1692-1696.
- McHugh TJ, Blum KI, Tsien JZ, Tonegawa S, Wilson MA. Impaired hippocampal representation of space in CA1-specific NMDAR1 knockout mice. *J Neurochem* 1996; 87(7): 1147-51
- McMillan M, Pritchard GA, Miller LG. Characterisation of Ca⁺⁺-mobilizing excitatory amino acid receptors in cultured chick cortical cells. *Eur J Pharmacol.* 1990; 30 189(4-5): 253-66.
- Mehta MR. Cooperative LTP can map memory sequences on dendritic branches. *Trends Neurosci* 2004; 27(2):69-72.
- Meldrum BS, Akbar MT, Chapman AG. Glutamate receptors and transporters in genetic and acquired models of epilepsy. *Epilepsy Research* 1999; 36(2-3): 189-204.
- Mellor J, Nicoll RA. Hippocampal mossy fiber LTP is independent of postsynaptic calcium. *Nat Neurosci* 2001; 4: 125-126.
- Meneses A, Hong E. Role of 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors in learning. *Behavioural Brain Research* 1997; 87(1): 105-110.
- Meneses A. Involvement of 5-HT (2A/2B/2C) receptors on memory formation: simple agonism, antagonism, or inverse agonism? *Cellular and Molecular Neurobiology* 2002; 22(5-6): 675-688.

- Mohammed HS, Aboul Ezzb HS, Khadrawyc YA, Noorb NA. Neurochemical and electrophysiological changes induced by paradoxical sleepdeprivation in rats. *Behavioural Brain Research* 2011; 225(1): 39-46.
- Morairty SR, Hedley L, Flores J, Martin R, Kilduff TS. Selective 5HT2A and 5HT6 receptor antagonists promote sleep in rats. *Sleep* 2008; 31(1): 34-44.
- Morozov A, Muzzio IA, Bourtchouladze R, Van-Strien N, Lapidus K, Yin D et al. Rap1 couples cAMP signaling to a distinct pool of p42/44MAPK regulating excitability, synaptic plasticity, learning, and memory. *Neuron* 2003; 39(2): 309-325.
- Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of Neuroscience Methods* 1984; 11(1): 47-60.
- Moruzzi G, Magoun H. Brain stem reticular formation and activation of the EEG. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1949; 1(4): 455-473.
- Newman MB, Arendash GW, Shytle RD, Brickford PC, Tighe T, Sanberg PS. Nicotine's oxidative and antioxidant properties in CNS. *Life Sciences* 2002; 71(24): 2807-2820.
- Nitz D, Siegel JM. GABA release in the dorsal raphe nucleus: role in the control of REM sleep. *Am J Physiol.* 1997; 273(1 Pt 2): R451-455.
- Nunn JA, Graydon FJ, Polkey CE, Morris RG. 0 Differential spatial memory impairment after right temporal lobectomy demonstrated using temporal titration. *Brain: a Journal of Neurology* 1999; 122(pt 1): 47-59.
- Ozawa S, Kamiya H, Tsuzuki K. Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. *Progress in Neurobiology* 1998; 54(5): 581-618.
- Öztürk L. Uyku ve uyanıklığın güncel fizyolojisi. *Türkiye Klinikleri J Pulm Med-Special Topics* 2008; 1(1): 5-10.
- Özyardımcı N. 2002-2003 Yılı Göğüs Hastalıkları Klinik Seminer Çalışmaları Kitabı. Uludağ Üniversitesi Basımevi. Bursa, 2003.
- Palmlblad J, Akerstedt T, Froberg J. Thyroid and adrenomedullary reactions during sleep deprivation. *Acta Endocrinol.* 1979; 90(2): 233- 239.
- Park SP, Lopez-Rodriguez F, Wilson CL, Maidment N, Matsumoto Y, Engel Jr J. In vivo microdialysis measures of extracellular serotonin in the rat hippocampus during sleep wakefulness. *Brain Res.* 1999; 833(2): 291-296.
- Patterson SL, Pittenger C, Morozov A, Martin KC, Scanlin H, Drake C ve ark. Some forms of cAMP mediated long-lasting potentiation are associated with release of BDNF and nuclear translocation of phospho-MAP kinase. *Neuron* 2001; 32(1): 123-140.
- Peker ÖG. *Beyin Korteksi, Beynin Zihinsel İşlevleri, Öğrenme ve Bellek.* (Çeviri: Hayrünisa Çavuşoğlu, Berrak Çağlayan Yeğen). Tıbbi Fizyoloji'de. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2007: s. 714-27.

- Pen˜alva, RG, Lancel M, Flachskamm C, Reul JM, Holsboer F, Linthorst, AC. Effect of sleep and sleep deprivation on serotonergic neurotransmission in the hippocampus: a combined in vivo microdialysis/EEG study in rats. *Eur. J. Neurosci.* 2003; 17(9): 1896-1906.
- Petrie RX, Reid IC, Stewart CA. The N-methyl-D-aspartate receptor, synaptic plasticity and depressive disorder. A critical review. *Pharmacology and therapeutics* 2000; 87(1): 11-25
- Pivik RT, Sircar S, Braun C. Nuchal muscle tonus during sleep, wakefulness and tonic immobility in the rabbit. *Physiol. Behav.* 1981; 26(1): 13-20.
- Plihal W, Born J. Effects of early and late nocturnal sleep on declarative and procedural memory. *J Cogn Neurosci* 1997; 9(4): 534-537.
- Poon HF, Calabrese V, Scapagnini G, Butterfield DA. Free radicals and brain aging. *Clin Geriatr Med* 2004; 20(2): 329-359.
- Popa D, Léna C, Fabre V, Prenat C, Gingrich J, Escourrou P et al. Contribution of 5-HT₂ receptor subtypes to sleep-wakefulness and respiratory control, and functional adaptations in knock-out mice lacking 5-HT_{2A} receptors. *J Neurosci.* 2005; 25(49): 11231-11238.
- Principles of Medicinal Chemistry by Foye WO, Lemke TL and Williams DA. Williams and Wilkins. 4th ed. 1995.
- Purves D. Chapter 30: Memory. In: Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hall WC, Lamantia AS, McNamara JO, Williams SM (Eds). *Neuroscience* 3rd Ed. Sinauer Associates Inc; 2004: p.733-53.
- Ramanathan L, Gulyani S, Nienhuis R, Siegel JM. Sleep deprivation decreases superoxide dismutase activity in rat hippocampus and brainstem. *Neuroreport* 2002; 13(11): 1387-1390.
- Rauchs G, Desgranges B, Foret J, Eustache F. The relationships between memory systems and sleep stages. *J Sleep Res* 2005; 14(2): 123-40.
- Rauchs G, Desgranges B, Foret J, Eustache F. The relationships between memory systems and sleep stages. *J Sleep Res* 2005; 14(2): 123-40.
- Reimund E. The free radical flux theory of sleep. *Med Hypotheses* 1994; 43(4): 231-233.
- Rodin EA, Luby ED, Gottlieb JS. The EEG during prolonged experimental sleep deprivation. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1962; 14(4): 544-551.
- Roehrs T. Sleep physiology and pathophysiology. *Clin Cornerstone.* 2000; 2(5): 1-15.
- Ross JJ. Neurological findings after prolonged sleep deprivation. *Arch. Neurol.* 1965; 12(4): 399-403.
- Scatton B, Carter C, Benavides J, Giroux C. N-methyl-D-aspartate receptor antagonists: A novel therapeutic perspective for the treatment of ischemic brain injury. *Cerebrovasc Dis.* 1999; 1(3): 121-124.

- Schiffman PL, Trontel MC, Mazar MF, Edelman NH. Sleep deprivation decreases ventilatory response to CO₂ but not load compensation. *Chest* 1983; 84(6): 695-668.
- Selkoe DJ. Physiological production of the beta-amyloid protein and the mechanism of the alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 1993; 16: 403-409.
- Senthilvelan M, Ravindran R, Samson J, Devi RS. Serotonin turnover in different duration of sleep recovery in discrete regions of young rat brain after 24 h REM sleep deprivation. *Brain Dev.* 2006; 28(8): 526-528.
- Serrano CP, Sanches AJC, Garcia GT. Mesial temporal sclerosis (I): histological data, physiopathological hypothesis and etiological factors. *Rev Neurol* 1997; 25 (140): 584-589.
- Siegel GJ. Basic Neurochemistry 6.ed.1999; Chapter 11: 213-242, Chapter 15: 315-334.
- Siegel JM. "The Evaluation of REM sleep". In Handbook of Behavioral state control. Lydic R and Baghdoyan (Eds.) 1999; 87-100.
- Silva RH, Abílio VC, Takatsu AL, Kameda SR, Grassl C, Chehin AB et al. Role of hippocampal oxidative stress in memory deficits induced by sleep deprivation in mice. *Neuropharmacology* 2004; 46(6): 895-903.
- Singh A, Kumar A. Protective effect of alprazolam against sleep deprivation-induced behavior alterations and oxidative damage in mice. *Neuroscience Research* 2008; 60(4): 372-379.
- Singh R, Kiloung J, Singh S, Sharma D. Effect of paradoxical sleep deprivation on oxidative stress parameters in brain regions of adult and old rats. *Biogerontology* 2008; 9(3):153-162.
- Sloviter RS. Decreased hippocampal inhibition and a selective loss of interneurons. In experimental epilepsy. *Science* 1987; 235(4784): 73-76.
- Smeyne RJ, Vendrell M, Hayward M, Baker SJ, Miao GG, Schilling K et al. Continuous C-fos expression precedes programmed cell death in vivo. *Nature* 1993; 363(6425): 166-169.
- Smith Y, Charara A, Paquet M, Kieval JZ, Paré JF, Jesse E. Ionotropic and metabotropic GABA and glutamate receptors in primate basal ganglia. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 2001; 22(1-2): 13-42.
- Songur A, Özen OA, Sarsilmaz M. Hipokampus. *T. Klinik Tıp Bilimleri.* 2001; 21: 427-31.
- Spedding M, Neau I, Harsing L. Brain plasticity and pathology in psychiatric disease: sites of action for potential therapy. *Curr Opin Pharmacol* 2003; 3(1): 33-40.
- Squire LR. Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem* 2004; 82(3): 171-177.
- Stanley N. The physiology of sleep and the impact of ageing. *Eur Urology Suppl.* 2005; 3(6): 17-23.

- Stenberg D. Neuroanatomy and neurochemistry of sleep. *Cell Mol Life Sci.* 2007; 64(10): 1187-204.
- Stewart CA, Morris GM. A Practical Approach The watermaze. *Behavioral Neuroscience* 1993; 1(9): 107-122.
- Stickgold R, Hobson JA, Fosse R, Fosse M. Sleep, learning, and dreams: off-line memory reprocessing. *Science* 2001; 294(5544): 1052-1057.
- Susic V, Kovacevic-Ristanovic R. Effects of restricted sleep with different exercise loads upon subsequent sleep. *Arch. Int. Physiol. Biochem.* 1980; 88(1): 1-13.
- Tucker DM, Hartry-Speiser A, McDougal L, Luu P, deGrandpre D. Mood and spatial memory: emotion and right hemisphere contribution to spatial cognition. *Biological Psychology* 1999; 50(2): 103-12.
- Uzday IT, Oglesby MW. Nitric oxide and substance dependence. *Neurosci Biobehav Rev* 2001; 25(1):43–52.
- Vollert C, Zagaar M, Hovatta I, Taneja M, Vu A, Dao A, Levine A, Alkadhi K, Salim S. Exercise prevents sleep deprivation associated anxiety like behavior in rats: potential role of oxidative stress mechanisms. *Behav Brain Res.* 2011; 224(2): 233-240.
- Wang GP, Huang LQ, Wu HJ, Zhang L, You ZD, Zhao ZX. Calcineurin contributes to spatial memory impairment induced by rapid eye movement sleep deprivation. *Neuro Report* 2009, 20(13): 1172–1176.
- Watling KJ. The RBI Handbook of Receptor Classification and signal Transduction, RBI. 3rd ed. 1998.
- Webb WB and Agnew HWJ. The effects of a chronic limitation of sleep length. *Psychophysiology* 1974; 11(3): 265-274.
- Webb WB and Agnew HWJ. The effects on subsequent sleep of an acute restriction of sleep length. *Psychophysiology* 1975; 12(4): 367-70.
- Webb WB, Agnew HWJ. Sleep: Effects of restricted regime. *Science* 1965; 150(704): 1745-1747.
- Wen-Jinn Liaw, Xu-Guang Zhu, Myron Yaster, Roger A Johns, Estelle B Gauda, Yuan-Xiang Tao. Distinct expression of synaptic NR2A and NR2B in the central nervous system and impaired morphine tolerance and physical dependence in mice deficient in postsynaptic density-93 protein. *Molecular Pain* 2008; 4: 45
- White DP, Douglas NJ, Pickett CK. Sleep deprivation and the control of ventilation. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1983; 128(6): 984-986.
- Wittenberg GM, Tsien JZ. An emerging molecular and cellular framework for memory processing by the hippocampus. *Trends in Neurosciences* 2002; 25(10): 571-577.
- Wong EHF, Kemp JA. Sites for antagonism on the N-methyl-D-aspartate receptor channel complex. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 1991; 31: 401-25.
- Wonnacott S. Presynaptic nicotinic ACh Receptors. *Trends in Neurosciences* 1997; 20(2): 92-98.

- Woolf NJ. Global and serial neurons form a hierarchically arranged interface proposed to underlie memory and cognition. *Neurosci.* 1996; 74(3): 625-651
- Wu J, Rowan MJ, Anwyl R. Synaptically stimulated induction of group 1 metabotropic glutamate receptor-dependent long-term depression and depotentiation is inhibited by prior activation of metabotropic glutamate receptors and protein kinase C. *Neuroscience* 2004; 123(2): 507-514.
- Yakamura T, Shimoji K. Subunit and site specific pharmacology of the NMDA receptor channel. *Progress in Neurobiology* 1999; 59(3): 279-298.
- Yang RH, Hu SJ, Wang Y, Zhang WB, Luo WJ, Chen JY. Paradoxical sleep deprivation impairs spatial learning and affects membrane excitability and mitochondrial protein in the hippocampus. *Brain research* 2008; 1230: 224–232.
- Yıldırım M. *Tip Öğrencileri İçin Klinik Nöroanatomi*, 4. basımdan çeviri. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti, İstanbul, 2000.
- Youngblood BD, Zhou J, Smagin GN, Ryan DH, Harris RB. Sleep deprivation by the “Flower Pot” technique and spatial reference memory. *Physiol Behav* 1997; 61(2): 249-56.
- Youngblood BD, Smagin N, Elkins PD, Ryan DH, Harris RBS. The Effects of Paradoxical Sleep Deprivation and Valine on Spatial Learning and Brain 5-HT Metabolism. *Physiol Behav* 1999; 67(5):643–649.
- Zepelin H, Siegel JM, Tobler I. *Mammalian sleep*. In: Principles and practice of sleep medicine. Eds: Kryger MH, Roth T and Dement WC. Elsevier, 2005: p: 91-100.
- Zhao Z, Huang L, Wu H, Li Y, Zhang L, Yin Y, Xiang Z, Zhao Z. Neuropeptide S mitigates spatial memory impairment induced by rapid eye movement sleep deprivation in rats. *NeuroReport* 2010, 21(9): 623–628.

ÖZGEÇMİŞ

Arş. Gör. Mustafa SAYGIN

Kişisel Bilgiler:

Doğum Tarihi : 08.10.1980

Doğum Yeri : Ödemiş

Yabancı Dil : İngilizce

Yazışma Adresi : Karaağaç Mahallesi 115. Divanyolu Caddesi, No:77 Kara
Apt Kat:4 Daire:11 PK:32000 TR–32260 Merkez / Isparta

Telefon No : 0 505 852 36 77

Elektronik Posta : fizyolog@gmail.com

Öğrenim Durumu:

Derece	Bölüm / Program	Üniversite	Yıl
Yüksek Lisans	Fizyoloji (Tıp)	Süleyman Demirel	2009

Doktora Tezi ve Danışmanı

“Sıçanlarda uyku bozukluklarının hipokampus aracılı öğrenme ve hafıza işlevleri üzerine etkisinin araştırılması”

I. Danışman : Prof. Dr. Mehmet Fehmi ÖZGÜNER

II. Danışman : Doç. Dr. Önder ÖZTÜRK