

T. C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NÖROKİNİN 3 RESEPTÖRÜNÜN  
SIÇAN DENEYSEL ALZHEİMER MODELİNDE  
KOGNİTİF DAVRANIŞLAR ÜZERİNE ETKİSİ**

RAVİYE ÖZEN KOCA

DOKTORA TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Z. Işık SOLAK GÖRMÜŞ

KONYA 2019

T. C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NÖROKİNİN 3 RESEPTÖRÜNÜN  
SIÇAN DENEYSEL ALZHEİMER MODELİNDE  
KOGNİTİF DAVRANIŞLAR ÜZERİNE ETKİSİ**

RAVİYE ÖZEN KOCA

DOKTORA TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Z. Işık SOLAK GÖRMÜŞ

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından  
161418005 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA 2019

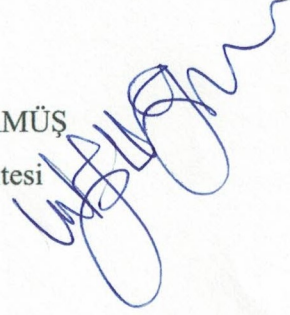
## TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Doktora Öğrencisi **Raviye ÖZEN KOCA**'nın "**Nörokinin 3 Reseptörünün Sıçan Deneysel Alzheimer Modelinde Kognitif Davranışlar Üzerine Etkisi**" başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Konya, Türkiye / 22.10.2019

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Z. Işık SOLAK GÖRMÜŞ  
Necmettin Erbakan Üniversitesi



Jüri Üyesi

Prof. Dr. Selim KUTLU  
Necmettin Erbakan Üniversitesi



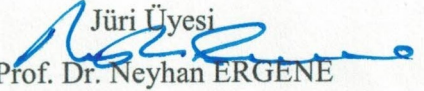
Jüri Üyesi

Prof. Dr. Ayşen ERDEM  
Hacettepe Üniversitesi



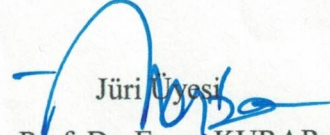
Jüri Üyesi

Prof. Dr. Neyhan ERGENE  
K. T. O. Karatay Üniversitesi



Jüri Üyesi

Prof. Dr. Ercan KURAR  
Necmettin Erbakan Üniversitesi



Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 06/11/2019 tarih ve 22/04. sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Enstitü Müdürü

İmzası



## APPROVAL

We certify that we have read this dissertation entitled “*Neurokinin 3 Receptor Effects on Cognitive Behaviour in a rat model of Alzheimer's disease*” by “*RAVIYE OZEN KOCA*” that in our opinion it is fully adequate, in scope and quality, as dissertation for the degree of **Doctor of Philosophy** in the Department of “**Physiology**”, Institute of Health Sciences, University of Necmettin Erbakan.

Konya, Turkey / 22.10.2019

Principal Advisor

Doç. Dr. Z. Isık SOLAK GORMUS

Necmettin Erbakan University

Examination Committee Member

Prof. Dr. Selim KUTLU

Necmettin Erbakan University

Examination Committee Member

Prof. Dr. Aysen ERDEM

Hacettepe University

Examination Committee Member

Prof. Dr. Neyhan ERGENE

K. T. O. Karatay University

Examination Committee Member

Prof. Dr. Ercan KURAR

Necmettin Erbakan University

This thesis has approved for the University of Necmettin Erbakan Institute of Health Sciences.

Prof. Dr. Kismet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Director of Institute of Health Sciences

Date and Signature

## **BEYANAT**

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

8.10.2019

Raviye ÖZEN KOCA



# TURNİTİN RAPORU



Ödevler Öğrenciler Not Defteri Kütüphaneler Takvim Tartışma Tercihler

GÖRÜNTÜLENİYOR: ANASAYFA > DOKTORA TEZİ > DOKTORA TEZİ

**Bu sayfa hakkında**  
Bu öğrenci portföy sayfasıdır. Bu öğrencinin sınıfınız için oluşturduğu gönderiler ilgili ödevlerinin yanında gösterilir.  
Bu sayfadan öğrencilerin gönderilerini yazılı ödevlerin başlığına tıklayarak görüntüleyebilir veya rapor simgelerine tıklayarak

**ödev listesi** **Raviye ÖZEN KOCA portföyü**

notları göster

#	Ödev	Başlık	Gönderildi	Benzerlik
1	Doktora tezi başlangıç: 07-Eki-2019 due: 14-Eki-2019	NÖROKİNİN 3 RESEPTÖRÜNÜN SIÇAN...	07-Eki-2019	%6 

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Z. Işık SOLAK GÖRMÜŞ

Necmettin Erbakan Üniversitesi

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini her zaman paylaşan, daima cesaret verici ve yol gösterici olan, hem akademisyenliğini hem de anneliğini örnek aldığım, beni hep destekleyen değerli danışman hocam Doç. Dr. Z. Işık Solak Görmüş'e;

Eğitimimiz için tüm gayretiyle uğraşan, bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, farklı bakış açıları edinmemizi sağlayan, hoşgörüsünü her durumda hissettiğim, her zaman destekleyici olan Fizyoloji Anabilim dalı başkanımız kıymetli hocam Prof. Dr. Selim Kutlu' ya;

Desteğini her zaman hissettiğim, yaşadığım her türlü sıkıntıyı paylaşan ve moral kaynağı olan arkadaşım Öğr. Gör. Hatice Solak'a ve tez çalışmamda desteğini esirgemeyen arkadaşım Dr. Öğr. Üyesi Aynur Koç'a;

Doktora eğitimimin bana güzellikler sunduğu Fizyoloji Anabilim dalının değerli öğretim üyeleri Doç. Dr. Leyla Aydın, Dr. Öğr. Üyesi Faik Özdengül, Öğr. Gör. Dr. Ayşe Özdemir'e;

Doktora eğitimim süresince katkılarını ve yardımlarını esirgemeyen Sağlık Bilimleri Enstitüsü müdürü değerli hocam Prof. Dr. Kısmet Esra Nurullahoğlu Atalık'a ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü idari personeli M. Gökçen Uçlusoy'a,

Tez çalışmasının istatistik kısmının hazırlanmasında destek olan sayın Öğr. Gör. Sinan İyisoy'a ve biyokimyasal sonuçların değerlendirilmesinde emeği geçen sayın Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Kılınç'a,

Hayatımın her anında yanımda olan, bugünlere gelmemde çok büyük emeği olan annem ve babama;

Desteğiyle zorlukları kolaylaştıran, varlığıyla hayatıma anlam katan, her zaman yanımda olan canım eşim Selim Koca, mutluluk kaynağım olan en büyük destekçilerim çocuklarım Ceylin ve Selim Arhan Koca'ya teşekkürlerimi sunarım.

Tezimi 161418005 numaralı proje ile destekleyen Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

**Raviye ÖZEN KOCA**  
**KONYA, 2019**

## İÇİNDEKİLER

<i>İç Kapak</i> .....	<i>i</i>
<i>Tez Onay Sayfası</i> .....	<i>ii</i>
<i>Approval</i> .....	<i>iii</i>
<i>Beyanat</i> .....	<i>iv</i>
<i>Turnitin raporu</i> .....	<i>v</i>
<i>Teşekkür</i> .....	<i>vi</i>
<i>İçindekiler</i> .....	<i>vii</i>
<i>Kısaltmalar ve Simgeler Listesi</i> .....	<i>x</i>
<i>ŞekillerListesi</i> .....	<i>xii</i>
<i>Resimler Listesi</i> .....	<i>xiii</i>
<i>Tablolar Listesi</i> .....	<i>xiv</i>
<i>GrafiklerListesi</i> .....	<i>xvi</i>
<i>Özet</i> .....	<i>xviii</i>
<i>Abstract</i> .....	<i>xix</i>
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>6</b>
2.1. <i>Alzheimer Hastalığı</i> .....	6
2.1.1. <i>Alzheimer Hastalığı Risk Faktörleri</i> .....	6
2.1.2. <i>Alzheimer Hastalığı Tanısı</i> .....	8
2.1.3. <i>Alzheimer Hastalığı Fizyopatolojisi</i> .....	9
2.1.3.1. <i>Amiloid Beta Patolojisi</i> .....	10
2.1.3.2. <i>Tau Patolojisi</i> .....	13
2.1.3.3. <i>Kolinerjik Sistem Patolojisi</i> .....	14
2.1.3.3.1. <i>Kolinerjik Sistemin Bileşenleri ve Lokalizasyonu</i> .....	14
2.1.3.3.2. <i>Hipokampus ve Kolinerjik Sistem</i> .....	15
2.1.3.3.3. <i>Alzheimer Hastalığı ve Kolinerjik Sistem</i> .....	16
2.1.3.4. <i>Alzheimer Hastalığı ve Katekolaminler</i> .....	18
2.1.4. <i>Alzheimer Hastalığının Klinik Özellikleri</i> .....	19
2.1.5. <i>Alzheimer Hastalığı Tedavisi</i> .....	19
2.1.6. <i>Alzheimer Hastalığı Deneysel Hayvan Modelleri</i> .....	21
2.1.7. <i>Deneysel Hayvan Modellerinde Kullanılan Öğrenme ve Bellek Testleri</i> .....	22
2.1.7.1. <i>Morris'in Su Labirenti Testi</i> .....	23



2.1.7.2. Yeni Obje Tanıma Testi.....	24
2.2. Taşikininler .....	25
2.2.1. Taşikinin Reseptörleri .....	27
2.2.2. Taşikininlerin Biyolojik Etkileri.....	28
2.2.3. Nörokinin B ve Nörokinin 3 Reseptörü .....	30
2.2.3.1. Nörokinin 3 Reseptörü ve Kolinerjik Sistem .....	32
2.2.3.2. Nörokinin 3 Reseptörü ve Amiloid Beta .....	35
2.2.3.3. Nörokinin 3 Reseptör Agonisti Senktid .....	36
2.2.3.4. Nörokinin 3 Reseptörü ve Öğrenme .....	40
2.2.3.5. Nörokinin 3 Reseptörü ve Anksiyete .....	42
2.2.4. Taşikininler ve Monoaminler .....	42
2.2.4.1. Dopamin.....	43
2.2.4.2. Noradrenalin.....	44
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>	<b>45</b>
3.1. Deney Hayvanları .....	45
3.2. İlaçların Hazırlanması.....	46
3.3. İlaç Uygulamaları .....	46
3.4. Ağırlık Takibi .....	48
3.5. Davranış ve Bellek Testleri .....	48
3.5.1. Açık Alan Testi .....	48
3.5.2. Morris Su Labirenti Testi .....	50
3.5.3. Yeni Obje Tanıma Testi .....	52
3.6. Deneyin Sonlandırılması ve Dokuların Alınması.....	54
3.7. ELISA Analizleri .....	54
3.8. Monoaminlerin Analizi.....	55
3.9. İstatistiksel Analiz .....	57
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>58</b>
4.1. Ağırlık Değişimi .....	58
4.2. Davranış ve Bellek Testleri .....	59
4.2.1. Açık Alan Testi .....	59
4.2.1.1. Katedilen Mesafe Parametresi .....	59
4.2.1.2. Hız Parametresi .....	60
4.2.1.3. Kenardan Merkeze Geçiş Sayısı.....	61

4.2.1.4. Hareket Yüzdesi.....	62
4.2.1.5. Şahlanma Parametresi .....	63
4.2.1.6. Süslenme Parametresi .....	64
4.2.2. Morris Su Labirenti Testi .....	65
4.2.2.1. Platforma Ulaşma Süresi (Kaçış Süresi) .....	65
4.2.2.2. Katedilen Mesafe (Kaçış Mesafesi).....	68
4.2.2.3. Hedef Kadrandan Geçiş Sayısı .....	72
4.2.2.4. Hız Parametresi .....	75
4.2.2.5. Hedef Kadrandaki Bulunma Süresi.....	78
4.2.3. Yeni Obje Tanıma Testi.....	78
4.3. ELISA Analizleri .....	81
4.3.1. Asetilkolinesteraz Miktarı Ölçümü.....	81
4.3.2. Kolinasetil Transferaz Miktarı Ölçümü .....	83
4.4. Monoamin Analizleri.....	85
4.4.1. Dihidroksifenil Glikol Ölçümü .....	86
4.4.2. Noradrenalin Ölçümü .....	87
4.4.3. Dihidroksifenilasetik Asit Ölçümü .....	87
4.4.4. Dopamin Ölçümü .....	88
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>89</b>
5.1. Davranış ve Bellek Testlerinin Değerlendirilmesi .....	90
5.1.1. Açık Alan Testi .....	90
5.1.2. Morris'in Su Labirenti Testi.....	91
5.1.3. Yeni Obje Tanıma Testi.....	93
5.2. ELISA Analizlerinin Değerlendirilmesi .....	94
5.3. Monoamin Analizlerinin Değerlendirilmesi .....	96
<b>6. SONUÇ.....</b>	<b>97</b>
<b>7. KAYNAKLAR .....</b>	<b>99</b>
<b>8. EKLER.....</b>	<b>109</b>
EK 1. Etik Kurul Onayı .....	109
<b>9. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>110</b>

## KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

<b>A<math>\beta</math></b>	Amiloid beta
<b>ACh</b>	Asetilkolin
<b>AChE</b>	Asetilkolinesteraz
<b>AH</b>	Alzheimer hastalığı
<b>Apo E</b>	Apolipoprotein E
<b>APP</b>	Amiloid prekürsör protein
<b>ChAT</b>	Kolin asetiltransferaz
<b>CH 1-6</b>	Kolinerjik hücre grubu
<b>DA</b>	Dopamin
<b>DHPG</b>	Dihidroksifenil glikol
<b>DOPAC</b>	Dihidroksifenilasetik asit
<b>GPCR</b>	G protein bağlı reseptör
<b>GSK3<math>\beta</math></b>	Glikojen sentaz kinaz 3 beta
<b>HK1</b>	Hemokinin 1
<b>HPLC</b>	High performance liquid chromatography (Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi)
<b>İSV</b>	İntraserebroventriküler
<b>LTP</b>	Long term potansiation (Uzun dönem potansiasyon)
<b>MR</b>	Muskarinik asetilkolin reseptörleri
<b>MSS</b>	Merkezi sinir sistemi
<b>MWM</b>	Morris Water Maze (Morris Su Labirenti)

<b>NA</b>	Noradrenalin
<b>NBM</b>	Nükleus basalis magnoselularis
<b>NKA</b>	Nörokinin A
<b>NKB</b>	Nörokinin B
<b>NK3R</b>	Nörokinin 3 reseptörü
<b>NMDA</b>	N-metil-D-aspartik asit
<b>NORT</b>	New object recognition test (Yeni obje tanıma testi)
<b>NR</b>	Nikotinik asetilkolin reseptörleri
<b>NY</b>	Nörofibriler yumak
<b>OF</b>	Open field (Açık alan)
<b>PS1</b>	Presenilin 1
<b>PS2</b>	Presenilin 2
<b>SN</b>	Substansiya nigra
<b>SP</b>	Substans P
<b>SORL1</b>	Sortilin ilişkili reseptör 1
<b>VTA</b>	Ventral tegmental alan
<b>TK</b>	Taşikininler

## ŞEKİLLER LİSTESİ

### Sayfa No

Şekil 2.1. AH fizyopatolojisi .....	10
Şekil 2.2. APP işlenmesi ve A $\beta$ oluşumu .....	12
Şekil 3.1. Deney dizaynı şematik gösterimi .....	45



## RESİMLER LİSTESİ

### Sayfa No

<b>Resim 3.1.</b> Bregma -4.36 mm koronal düzleme ait sterotaksik koordinatlar .....	47
<b>Resim 3.2.</b> Deney hayvanlarının sterotaksik cihaza yerleştirilmesi ve İSV enjeksiyonunun uygulanması .....	47
<b>Resim 3.3.</b> Deney hayvanlarının İSV enjeksiyon sonrası iyileşme süreci .....	48
<b>Resim 3.4.</b> Ethovision yazılım programı ile OF deneysel dizaynı .....	49
<b>Resim 3.5.</b> MWM testi deney düzeneği .....	51
<b>Resim 3.6.</b> Ethovision yazılım programı ile MWM testi deneysel dizaynı.....	51
<b>Resim 3.7.</b> NORT deney düzeneği .....	53
<b>Resim 3.8.</b> Ethovision yazılım programı ile NORT deneysel dizaynı .....	53
<b>Resim 3.9.</b> Katekolamin standartları 50 ppb konsantrasyon traseleri .....	56
<b>Resim 4.1.</b> Ethovision yazılım programı ile MWM testinde sıcaklığa duyarlı yol haritası .....	70
<b>Resim 4.2.</b> Ethovision yazılım programı ile MWM testinde yol haritası çizimi....	70

## TABLolar LİSTESİ

### Sayfa No

<b>Tablo 3.1.</b> Katekolaminlerin farklı standart konsantrasyonlarının HPLC’de oluşturdukları pik alanları.....	57
<b>Tablo 4.1.</b> Grupların ağırlık değişimleri.....	58
<b>Tablo 4.2.</b> OF testinde grupların katettikleri mesafe parametreleri.....	59
<b>Tablo 4.3.</b> OF testinde grupların hızları .....	60
<b>Tablo 4.4.</b> OF testinde kenardan merkeze geçiş sayıları.....	61
<b>Tablo 4.5.</b> OF testinde hareket yüzdeleri.....	62
<b>Tablo 4.6.</b> OF testinde grupların şahlanma sayıları.....	63
<b>Tablo 4.7.</b> OF testinde grupların süslenme süreleri.....	64
<b>Tablo 4.8.</b> MWM testinde grupların eğitim aşamasında platforma ulaşma süreleri .....	65
<b>Tablo 4.9.</b> MWM testinde grupların test aşamasında platforma ulaşma süreleri .....	66
<b>Tablo 4.10.</b> MWM testinde grupların eğitim skoru ile test aşaması karşılaştırması .....	67
<b>Tablo 4.11.</b> MWM testinde grupların eğitim aşamasında katettikleri mesafe değerleri .....	68
<b>Tablo 4.12.</b> MWM testinde grupların test aşamasında katettikleri mesafe değerleri .....	69
<b>Tablo 4.13.</b> MWM testinde grupların eğitim skoru ile test aşaması karşılaştırması .....	71
<b>Tablo 4.14.</b> MWM testinde grupların eğitim aşamasında hedef kadrandan geçiş sayıları.....	72
<b>Tablo 4.15.</b> MWM testinde grupların test aşamasında hedef kadrandan geçiş sayısı .....	73
<b>Tablo 4.16.</b> MWM testinde grupların eğitim skoru ile test aşaması karşılaştırması .....	74
<b>Tablo 4.17.</b> MWM testinde grupların eğitim aşamasında hız parametreleri.....	75
<b>Tablo 4.18.</b> MWM testinde grupların 5. gün test aşamasında hız parametresi .....	76
<b>Tablo 4.19.</b> MWM testinde grupların eğitim skoru ile test aşaması karşılaştırması .....	77

<b>Tablo 4.20.</b> MWM testinde grupların test aşamasında hedef kadranda bulunma süresi .....	78
<b>Tablo 4.21.</b> Kısa süreli NORT testinde tanıma indeksi ve ayırım indeksi .....	79
<b>Tablo 4.22.</b> Uzun süreli NORT testinde tanıma indeksi ve ayırım indeksi.....	80
<b>Tablo 4.23.</b> Hipokampus ve korteks dokularında AChE miktarı .....	81
<b>Tablo 4.24.</b> Hipokampus ve korteks dokularında ChAT miktarı .....	83
<b>Tablo 4.25.</b> Beyin sapı katekolamin değerleri.....	85





## GRAFİKLER LİSTESİ

### Sayfa No

<b>Grafik 4.1.</b> Ağırlık değişimleri için grup ve zaman etkisinin karşılaştırılması....	58
<b>Grafik 4.2.</b> Açık alan testinde katettiği mesafe parametresi için grup ve zaman etkisinin karşılaştırılması.....	59
<b>Grafik 4.3.</b> Açık alan testinde hız parametresi için grup ve zaman etkisinin karşılaştırılması .....	60
<b>Grafik 4.4.</b> Açık alan testinde kenardan merkeze geçiş sayısı için grup ve zaman etkisinin karşılaştırılması .....	61
<b>Grafik 4.5.</b> Açık alan testinde hareket yüzdesi için grup ve zaman etkisinin karşılaştırılması .....	62
<b>Grafik 4.6.</b> Açık alan testinde şatlanma parametresi için grup ve zaman etkisinin karşılaştırılması.....	63
<b>Grafik 4.7.</b> Açık alan testinde süslenme parametresi için grup ve zaman etkisinin karşılaştırılması.....	64
<b>Grafik 4.8.</b> MWM eğitim aşamasında platforma ulaşma süresi için grup, zaman etkisi ve grup-zaman etkileşiminin karşılaştırılması .....	65
<b>Grafik 4.9.</b> MWM test aşamasında platforma ulaşma süresi için grup etkisinin karşılaştırılması .....	66
<b>Grafik 4.10.</b> MWM testinde eğitim skoru dikkate alınarak 5. gün platforma ulaşma süresi için grup etkisinin karşılaştırılması.....	67
<b>Grafik 4.11.</b> MWM eğitim aşamasında katedilen mesafe parametresi için grup, zaman etkisi ve grup-zaman etkileşiminin karşılaştırılması .....	68
<b>Grafik 4.12.</b> MWM test aşamasında katedilen mesafe parametresi için grup etkisinin karşılaştırılması.....	69
<b>Grafik 4.13.</b> MWM testinde eğitim skoru dikkate alınarak 5. gün katedilen mesafe parametresi için grup etkisinin karşılaştırılması .....	71
<b>Grafik 4.14.</b> MWM eğitim aşamasında hedef kadrandan geçiş sayısı parametresi için grup, zaman etkisi ve grup-zaman etkileşiminin karşılaştırılması .....	72
<b>Grafik 4.15.</b> MWM test aşaması olan 5. gün hedef kadrandan geçiş sayısı parametresi için grup etkisinin karşılaştırılması.....	73

<b>Grafik 4.16.</b> MWM testinde eğitim skoru dikkate alınarak 5. gün hedef kadrandan geçiş sayısı parametresi için grup etkisinin karşılaştırılması .....	74
<b>Grafik 4.17.</b> MWM eğitim aşamasında hız parametresi için grup, zaman etkisinin ve grup-zaman etkileşiminin karşılaştırılması.....	75
<b>Grafik 4.18.</b> MWM testi 5. gün hız parametresi için grup etkisinin karşılaştırılması .....	76
<b>Grafik 4.19.</b> MWM testinde eğitim skoru dikkate alınarak 5. gün hız parametresi için grup etkisinin karşılaştırılması.....	77
<b>Grafik 4.20.</b> MWM test aşamasında 5. gün hedef kadranda bulunma süresi parametresi için grup etkisinin karşılaştırılması.....	78
<b>Grafik 4.21.</b> Kısa süreli NORT bellek testi tanıma indeksi için grup etkisinin karşılaştırılması .....	79
<b>Grafik 4.22.</b> Kısa süreli NORT bellek testi ayırım indeksi için grup etkisinin karşılaştırılması .....	79
<b>Grafik 4.23.</b> Uzun süreli NORT bellek testi tanıma indeksi için grup etkisinin karşılaştırılması .....	80
<b>Grafik 4.24.</b> Uzun süreli NORT bellek testi ayırım indeksi için grup etkisinin karşılaştırılması .....	81
<b>Grafik 4.25.</b> Hipokampus dokusu AChE miktarı için grup etkisinin karşılaştırılması .....	82
<b>Grafik 4.26.</b> Korteks dokusu AChE miktarı için grup etkisinin karşılaştırılması	82
<b>Grafik 4.27.</b> AChE miktarı için hipokampus ve korteks dokularında grup etkisinin karşılaştırılması.....	83
<b>Grafik 4.28.</b> Hipokampus dokusu ChAT miktarı için grup etkisinin karşılaştırılması .....	84
<b>Grafik 4.29.</b> Korteks dokusu ChAT miktarı için grup etkisinin karşılaştırılması	84
<b>Grafik 4.30.</b> ChAT miktarı için hipokampus ve korteks dokularında grup etkisinin karşılaştırılması.....	85
<b>Grafik 4.31.</b> Grupların beyin sapı katekolamin değerlerinin karşılaştırılması.....	86
<b>Grafik 4.32.</b> DHPG konsantrasyonu için grup etkisinin karşılaştırılması.....	86
<b>Grafik 4.33.</b> NA konsantrasyonu için grup etkisinin karşılaştırılması.....	87
<b>Grafik 4.34.</b> DOPAC konsantrasyonu için grup etkisinin karşılaştırılması.....	88
<b>Grafik 4.35.</b> DA konsantrasyonu için grup etkisinin karşılaştırılması.....	88

# ÖZET

T. C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

## Nörokinin 3 Reseptörünün Sıçan Deneysel Alzheimer Modelinde

### Kognitif Davranışlar Üzerine Etkisi

Raviye Özen Koca

Fizyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi/ KONYA-2019

Alzheimer hastalığı (AH) yaşlanan nüfusun artmasıyla ciddi sağlık sorunu haline gelen, progresif ve geri dönüşümsüz seyreden demansın bir formu olarak kabul edilir. Genellikle yakın bellekteki hasarla başlayan, günlük yaşam aktivitelerinin kaybına kadar ilerleyen kognitif bozuklukla karakterizedir. AH'de kolinerjik ve katekolaminerjik sistemlerin yaygın olarak etkilendiği bilinmektedir. Nörokinin B (NKB), taşıkininler ailesine ait bir hormondur. NKB'nin reseptörü olan nörokinin 3 reseptörü (NK3R) öğrenme ve bellek ile ilgili süreçlerde rol alır. NK3R aktivasyonunun asetilkolin (ACh), dopamin (DA) ve noradrenalin (NA) gibi birçok nörotransmitterin serbestlenmesini kolaylaştırdığı bilinmektedir.

Bu bilgilere dayanarak deneysel AH modelinde, NK3R agonizminin kolinerjik ve katekolaminerjik mekanizmalar aracılığıyla davranış ve öğrenme parametreleri, nörotransmitter aktiviteleri üzerine olumlu etkilerde bulunup bu sayede kognitif fonksiyonları geliştirebileceği hipotezi kurgulanmıştır. Bu çalışmada NK3R agonisti senktid uygulamasının deneysel Alzheimer sıçan modelinde kognitif fonksiyonlar ve nörodavranışsal mekanizmalar üzerine etkilerini incelemek amaçlanmıştır.

Deney Hayvanları Etik Kurulu izni alındıktan sonra 50 adet yetişkin erkek Wistar albino sıçan; 1) Kontrol grubu, 2) AH grubu, 3) Kontrol + NK3R agonisti grubu, 4) AH + NK3R agonisti (AHS) grubu, 5) AH + NK3R agonisti + antagonisti gruplarına ayrılmıştır. İntraserebroventriküler olarak amiloid beta 1-42 uygulanarak deneysel Alzheimer modeli oluşturulmuştur. NK3R agonisti ve antagonisti enjeksiyonlarını takiben davranış ve öğrenme parametrelerini değerlendirmek için açık alan (OF), Morris su labirenti (MWM) ve yeni obje tanıma testi (NORT) uygulanmıştır. Deneyin sonunda hayvanlar dekapite edilerek hipokampus, korteks ve beyin sapı dokuları toplanmıştır. Hipokampus ve korteks dokularından ELISA yöntemiyle kolinerjik mekanizmaların analizi, beyin sapı dokusundan da HPLC yöntemiyle katekolamin analizi yapılmıştır.

OF testinde katedilen mesafe, hız ve hareket yüzdesi parametrelerinde grup-zaman etkisi istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p < 0.05$ ). MWM'nin test aşamasında katedilen mesafe, hedef kadranda bulunma süresi parametrelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p < 0.05$ ). Kısa ve uzun süreli NORT'de ayırım ve tanıma indeksleri değerlendirildi. NORT'de gruplar arasında anlamlı fark görülmedi. Asetilkolinesteraz (AChE) ve kolin asetiltransferaz (ChAT) miktarı hipokampus ve korteks dokularında ELISA yöntemiyle belirlendi. AChE ve ChAT miktarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p < 0.05$ ). Sıçanların beyin sapı numunelerinde dihidroksifenil glikol (DHPG), dihidroksifenilasetik asit (DOPAC) ve DA konsantrasyonlarının gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklı olduğu gözlemlendi ( $p < 0.05$ ). NA konsantrasyonunda gruplar arasında anlamlı fark görülmedi ( $p > 0.05$ ). Fakat NA ve DA, AH grubunda diğer gruplara göre daha azken, AHS grubunda AH grubuna göre artmış olarak bulundu.

Sonuç olarak; NK3R agonistlerinin AH patolojisi oluşturulmuş sıçanlarda kognitif fonksiyonları iyileştirmekte etkili olduğu görülmüştür. Öğrenme ve bellek performanslarındaki olumlu etkilerin kolinerjik ve katekolaminerjik mekanizmalar aracılığıyla olabileceği gözlenmiştir. Demansın normal yaşlanma ve AH için karakteristik olduğu göz önüne alındığında NK3R'nin bu tür bilişsel gerilemede olası farmakolojik uygulamalar için daha ileri düzeyde araştırılması gereklidir. Henüz kesin bir tedavisi olmayan AH'ye yönelik insanlarda ve hayvan modellerinde daha çok araştırmanın yapılmasıyla daha etkin tedavi stratejileri geliştirilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Alzheimer hastalığı; nörokinin 3 reseptörü; öğrenme ve bellek

## ABSTRACT

REPUBLIC of TURKEY  
NECMETTIN ERBAKAN UNIVERSITY  
INSTITUTE of HEALTH SCIENCES

### Neurokinin 3 Receptor Effects on Cognitive Behaviour in a Rat Model of Alzheimer's Disease

Raviye Ozen Koca

Department of Physiology

Dissertation for the Degree of Doctor of Philosophy/ KONYA-2019

Alzheimer's disease (AD) is accepted as a form of progressive and irreversible dementia, which becomes a serious health problem with the increase of the aging population. It is characterized by cognitive impairment, which usually begins with near memory damage and progresses to loss of daily living activities. It is known that cholinergic and catecholaminergic systems are commonly affected in AD. Neurokinin B (NKB) is a hormone belonging to the tachykinins family. The neurokinin 3 receptor (NK3R), the NKB receptor, is involved in learning and memory related processes. Activation of NK3R is known to facilitate the release of many neurotransmitters such as acetylcholine (ACh), dopamine (DA) and noradrenaline (NA).

Based on this information, the hypothesis of the study that NK3R agonism can have positive effects on behavioral and learning parameters through cholinergic and catecholaminergic mechanisms. The aim of this study was to investigate the effects of NK3R agonist senktide on cognitive functions and neurobehavioral mechanisms in an experimental model of AD.

After obtaining the permission of the Experimental Animals Ethics Committee, 50 adult male Wistar albino rats were obtained; 1) Control group, 2) AD group, 3) Control + NK3R agonist group, 4) AD + NK3R agonist (ADS) group, 5) AD + NK3R agonist + antagonist groups. An experimental AD model was established by applying amyloid beta 1-42 intracerebroventricularly. Following NK3R agonist and antagonist injections, open field (OF), Morris water maze (MWM) and new object recognition test (NORT) were applied for behavior and learning parameters. At the end of the experiment, animals were decapitated. Then hippocampus, cortex and brain stem tissues were collected. Analysis of cholinergic mechanisms from hippocampus and cortex tissues by ELISA method and catecholamine analysis from brain stem tissue by HPLC method were performed.

Group-time effect was statistically significant in the OF test ( $p < 0.05$ ). There was a statistically significant difference between the groups at the test stage of MWM ( $p < 0.05$ ). The distinction and recognition indices were evaluated in short and long term NORT. There was no significant difference in NORT between the groups. AChE and ChAT levels were determined by ELISA in hippocampus and cortex tissues. There was a statistically significant difference between AChE and ChAT levels between the groups ( $p < 0.05$ ). The DHPG, DOPAC and DA concentrations of brainstem samples were statistically significant between the groups ( $p < 0.05$ ). There was no significant difference in NA concentration between the groups ( $p > 0.05$ ). However, NA and DA were found to be less in AD group compared to other groups, but increased in ADS group compared to AD group.

As a result; NK3R agonists were found to be effective in improving cognitive functions in rats with AD pathology. It has been observed that positive effects on learning and memory performances can be mediated by cholinergic and catecholaminergic mechanisms. NK3R should be further investigated for possible pharmacological applications in AD and other cognitive disorders. More effective treatment strategies can be developed by conducting more studies in humans and animal models for AD.

**Keywords:** Alzheimer's disease; neurokinin 3 receptor; learning and memory

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Demans grubu patolojiler, hasta sayısındaki ciddi artış ve sağlık hizmetleriyle ilgili sosyal maliyetler nedeniyle modern toplumlar için büyük bir tehdit olarak görülmektedir. Bellek kaybı, kognitif fonksiyon bozukluğu ve duygudurum değişiklikleriyle karakterize edilen Alzheimer hastalığı (AH) demans hastalarının büyük çoğunluğunu oluşturur (Loera-Valencia ve ark. 2018).

AH, karakteristik klinik ve patolojik özelliklere sahip, yaşla ilişkili nörodejeneratif bir hastalıktır (Chu 2012). AH, beynin erken yaşlanması olarak da tanımlanmaktadır. Hastalık orta yaşlarda başlamakta ve hızla ilerleyerek mental gücün çok ileri yaşlardakine benzer şekilde aşırı kaybına yol açmaktadır. Bu hastalar genellikle hastalık başladıktan sonra birkaç yıl içinde sürekli bakım gerektirecek hale gelmektedir (Guyton ve Hall 2013).

AH'nin nedeni çok faktörlüdür. Bu hastalığın fizyopatolojik mekanizmalarında rol oynayan birçok molekül bulunmaktadır. Amiloid beta peptidin ( $A\beta$ ) plaklar halinde hücre dışı birikimleri ve hiperfosforile tau proteini tarafından oluşturulan nörofibriler yumakların (NY) hücre içi birikimleri en önemli patolojik belirteçlerdir (Chu 2012; Loera-Valencia ve ark. 2018).

AH, hem makroskopik ve mikroskopik yapısal değişikliklerin, hem de beyinde nöronal devrelerin disfonksiyonunun öncülük ettiği nörodejeneratif bir hastalıktır. AH makroskopik olarak, lateral ventrikül genişlemesi ile beraber özellikle hipokampus ve kortikal bölgelerdeki beyin atrofisi ile ilişkilidir. Mikroskopik seviyede ise, AH ile senil plaklar, NY, özellikle hipokampus ve temporal korteksteki sinaptik ve nöronal kayıp arasında bağlantı kurulmuştur. Senil plaklar; anormal mitokondri, lizozom, periferdeki mikrotübülleri içeren distrofik nevitler ve merkez bölgedeki  $A\beta$  ile karakterize edilir. Nörofibriler değişiklikler, çoğunlukla çift sarmal filamentlerin intrasellüler birikimleridir (Trillo ve ark. 2013).

Sinaptik disfonksiyonun AH gibi nörodejeneratif hastalıkların fizyopatolojisinde önemli bir role sahip olduğu düşünülmektedir. Sinaptik değişiklikleri daha iyi anlayabilmek için AH'de genellikle etkilenen serebral korteks, putamen, kaudat nükleusun dorsolateral ve ventromediyal bölgelerinden diseke edilen otopsi materyalleri incelenmiştir.  $A\beta$  için pozitif sinaptozomal parçacık fraksiyonu,

şiddetli AH nöropatolojik tanısı olan hastaların frontal kortikal örneklerinde anlamlı derecede artmıştır ve hastalığın progresyonu ile pozitif ilişki göstermiştir (Postupna ve ark. 2014).

AH, çeşitli nörotransmitter sistemlerdeki dejeneratif değişikliklerle de karakterizedir. Nöronal sinapsların kaybı ve nöron ölümü, sonuçta, asetilkolin (ACh) ve diğer nörotransmitterlerin azalmasına yol açmaktadır (Chu 2012).

AH'de bazı nöromediyatör seviyelerinde ve özellikle normal fizyolojik koşullarda dikkati arttırarak öğrenmeye yardım eden ACh seviyelerinde değişiklikler meydana gelmektedir. ACh sentezinde meydana gelen azalmanın kolin asetiltransferaz (ChAT) enziminin miktarının, işlevlerinin ve kolin geri alımının azalmasına, kolinerjik nöron ve aksonlarda oluşan hasarlara, korteks ve hipokampusa projeksiyon yapan kolinerjik nöronlarda meydana gelen kayıplara bağlı olduğu rapor edilmiştir. AH'de meydana gelen kolinerjik kaybın, hastalarda gözlenen depresyon, ajitasyon, anksiyete ve psikoz gibi çeşitli davranışsal ve psikiyatrik belirtilerle de ilişkili olduğu bildirilmiştir. Söz konusu belirtilerin ortaya çıkmasında kolinerjik disfonksiyonun yanısıra katekolaminerjik nörotransmisyonunda meydana gelen düzensizliklerin ve nöron kayıplarının da etkili olduğu düşünülmektedir (Mesulam 2000).

Kolinerjik yollar öğrenme ve hafıza işlemlerinde önemli işlevlere sahiptir. Nikotinik (NR) ve muskarinik kolinerjik reseptörler (MR), beyinde yaygın olarak eksprese edilir. Serebral korteks ve subkortikal bölgelerde nöronların ve sinapsların kaybı, en sık görülen demans şekli olan AH'nin fizyopatolojisinde önemli role sahiptir. Klinik olarak AH'deki demans derecelerinin MR, NR, ChAT ve ayrıca ACh seviyeleri gibi bir dizi kortikal kolinerjik belirteçlerdeki azalmalar ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Yaşlılıkta ve AH'de bellek disfonksiyonunun altında yatan mekanizmanın kolinerjik hipofonksiyon olduğu düşünülmektedir (Bartus 2000). AH'li hastalarda ChAT aktivitesinde belirgin bir azalma ve bazal ön beyin nöron sayısında belirgin bir hücre kaybı tespit edilmiştir (Mesulam 2004).

A $\beta$ 'nın kolinerjik sistemi değiştirdiği ve bozulmuş kolinerjik nörotransmisyonun bilişsel işlev bozukluğuna neden olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, AH için sunulan tedavi protokolleri, asetilkolinesterazın (AChE) inhibisyonu

ile kolinerjik nörotransmitter sisteminin aktivitesini arttırmayı amaçlamaktadır (Pinz ve ark. 2018).

Kolinerjik sistemin işlev bozukluğu, demans ve normal yaşlanmanın bilişsel semptomları için önemli bir rol oynamasına rağmen, noradrenalin (NA), dopamin (DA) ve serotonin gibi diğer nörotransmitter sistemlerindeki değişikliklerin de bu patolojilere neden olabileceği gözden kaçırılmamalıdır (Garibotto ve ark. 2013).

Hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, AH benzeri patoloji ve ciddi kolinerjik eksikliklerin öğrenme ve bellek mekanizmalarının hasarına neden olduğunu göstermiştir (Laursen ve ark. 2013).

Taşikininler (TK) merkezi sinir sistemi (MSS) ve periferel dokularda yaygın olarak dağılan peptitlerdir. TK'nin nörotransmitter, nöromodülatör ve nöroprotektif rollerinin olduğu düşünülmektedir (Nagano ve ark. 2006). MSS'de geniş çapta dağılmış TK hem fizyolojik hem de patolojik koşullarda önemli fonksiyonel rol oynamaktadır (Severini ve ark. 2002).

Nörokinin B (NKB), nörokinin 3 reseptörü (NK3R) için en güçlü doğal agonist olarak etki etmektedir. Senktid gibi NK3R için seçici olan bazı agonistler, NKB'nin birincil yapısının modifikasyonu ile elde edilmiştir (Linari ve ark. 2002).

İnsan beyninde korteks, hipokampus ve hipotalamus bölgelerinde NK3R'nin yaygın olduğu gösterilmiştir (Mileusnic ve ark. 1999). Fare ve sıçanlarda öğrenme ve hafıza ile ilgili prefrontal, frontal ve anterior singulat korteksler, hipokampus, amigdala ve mediyal septum gibi beyin bölgelerinde NK3R bağlanma bölgelerinin yoğun dağılımları bulunmaktadır (Shughrue ve ark. 1996; Duarte ve ark. 2006).

NK3R'nin memeli merkezi sinir sistemindeki fizyolojik etkileri tam olarak bilinmemektedir. Çeşitli çalışmalar bu reseptörün aktivasyonunun ACh ve DA gibi birçok nörotransmitterin salınımını etkilediği rapor edilmiştir. Bu verilere dayanarak yapılan çalışmalar NK3R'nin şizofreni, Parkinson hastalığı, epilepsi, depresyon ve hafıza ile ilgili süreçlerde rol oynadığını göstermiştir (Siuciak ve ark. 2007).

NK3R'nin kolinerjik nöronlar üzerinde eksprese edildiği (Chen ve ark. 2001a) ve septohipokampal kolinerjik sistemdeki bu tür nöronların NK3R agonistleri tarafından aktive edildiği gösterilmiştir (Morozova ve ark. 2008). Ayrıca NK3R

agonistleri ACh salgılanmasına yol açar (Arenas ve ark. 1991) ve bazal ön beyin içindeki kolinerjik nöronları nörotoksiteden korumaktadır (Wenk ve ark. 1997). Senktid uygulaması, amigdala ve prefrontal korteks (Schable ve ark. 2011; De Souza Silva ve ark. 2013), striatum (Steinberg ve ark. 1995) ve hipokampusta (Marco ve ark. 1998; Schable ve ark. 2011; De Souza Silva ve ark. 2013) ACh salınımını artırır.

NK3R agonizminin ve aktive edici etkisinin ACh üzerindeki etkisi (Schable ve ark. 2011) ve NK3R'nin kolinerjik nöronlarda eksprese edilmesi (Chen ve ark. 2001a) NK3R'nin kolinerjik modülasyon yoluyla öğrenme ve hafızadaki olası rolünü göstermektedir.

NK3R agonisti senktidin öğrenme ve bellek ile ilişkili etkileri üzerine farklı çalışmalar yapılmış ancak A $\beta$  ile oluşturulmuş deneysel AH modelinde öğrenme ve bellek paradigmlarını ve altta yatan mekanizmaları bir bütün olarak değerlendiren, beyin monoaminleri ve kolinerjik sistem üzerine etkilerini inceleyen bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Bu bilgilere dayanarak deneysel AH modelinde, NK3R agonizminin kolinerjik ve katekolaminerjik mekanizmalar aracılığıyla davranış ve öğrenme parametreleri, nörotransmitter aktiviteleri üzerine olumlu etkilerde bulunup bu sayede kognitif fonksiyonları geliştirebileceği hipotezi kurgulanmıştır.

Bu çalışmada NK3R agonisti senktid uygulamasının deneysel Alzheimer sıçan modelinde kognitif fonksiyonlar ve nörodavranışsal mekanizmalar üzerine etkilerini incelemek amaçlanmıştır.

Bu amaçla deneysel AH modelinde NK3R aktivasyonu ile öğrenme ve bellek testlerinin, lokomotor aktivitenin nasıl değiştiğinin belirlenmesi, kolinerjik sistem aktivasyon düzeyinin ortaya konması, katekolaminerjik nörotransmisyonun ne düzeyde etkilendiğinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

Deney hayvanlarında öğrenme ve bellek durumlarının incelenmesi için yeni obje tanıma testi (NORT- New object recognition test) ve Morris su labirenti testi (MWM-Morris water maze) uygulanmıştır. NORT, kemirgenlerin görsel tanıma belleğine dayanarak geliştirilen bir testtir. Bu test ile epizodik bellek düzeyi değerlendirilmektedir (Darcet ve ark. 2014). MWM, uzaysal belleği test etmek amacıyla sıklıkla kullanılan bir yöntem olarak kabul edilmektedir (Vorhees ve Williams 2006). Locomotor aktivite ve anksiyeteyi belirlemek için açık alan (OF-



Open field) testi yapılmıştır. OF testi, hayvanın yeni ortamı keşfetme davranışları ile etrafı çevrilerek kaçması önlenmiş bu ortamdan hoşlanmama duygularının çatışması temeline dayanır. Testin yapıldığı ortam hayvanda keşfetme davranışı ve anksiyete geliştirir. OF testi ile deney hayvanlarının lokomotor aktivitesi ve keşfetme davranışları da değerlendirilir. OF testi parametreleri ile anksiyete değerlendirmesi yapılabilir. 5 dakika süreyle yapılan OF testinde hayvanın katettiği mesafe ile lokomotor aktivitesi değerlendirilirken şahlanma sayısı ile de keşfetme davranışı incelenir (Erdoğan ve ark. 2007).

Bu tez projesinde davranış ve bellek testlerin yanısıra moleküler analizlerin yapılması da planlanmıştır. Beyin dokularında kolinerjik sistem değişikliklerinin araştırılması için ELISA yöntemi ve beyin dokularında katekolamin değerlerinin analizi için yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (High performance liquid chromatography, HPLC) yöntemi kullanılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Alzheimer Hastalığı

AH, hastanın zihinsel yeteneklerinin yavaş yavaş ortadan kaybolduğu bir beyin disfonksiyonu olmakla beraber en sık görülen nörodejeneratif hastalıklardan birisidir. Dünya genelindeki yaşlı popülasyonda görülen demans olgularının çoğunun nedeni AH'dir. AH progresif olarak mental, davranışsal, işlevsel hasara ve öğrenme yeteneği kaybına neden olur. Hastalığın semptomları çalışma belleği kaybı ile başlar ve ilerleyen dönemlerinde zihinsel performans ve öğrenme yeteneğinde azalma görülür. Bu hastalık amiloid plak oluşumu, tau proteininin hiperfosforilasyonu, NY, nöronal sinapsların kaybı, inflamasyon, oksidatif hasar, sonuçta beyin hücrelerinin apoptozu ve nekrozu ile ilişkilidir (Kumar ve ark. 2015).

AH ilk kez Alman nöropatolog Alois Alzheimer tarafından demans bulguları olan 51 yaşında Auguste D. isimli bir hastanın 5 yıl boyunca takibi sonucu belirlenmiştir. Hastanın ölümü sonrası yapılan beyin incelemesinde NY ve amiloid plaklar görülmesi üzerine Alois Alzheimer tarafından bu hastalık presenil demansın bir türü olarak adlandırılmıştır (Burns ve ark. 2002; Kandel ve ark. 2013). Hastalık daha sonra psikiyatrist Emil Kraepelin tarafından "Alzheimer hastalığı" olarak tanımlanmıştır (Burns ve ark. 2002; Ramirez-Bermudez 2012).

AH yaşlanan toplumda görülen demansın başlıca nedenidir ve dünya genelinde 35 milyondan fazla kişiyi etkilediği düşünülmektedir (Bellozi ve ark. 2016). Amerikada ise 65 yaşından genç yaklaşık iki yüz bin erken başlangıçlı AH hastası olduğu bilinmektedir. 65 yaş ve üzeri AH hasta sayısı da tahminen 5 milyondur. 2050 yılına kadar her 33 saniyede bir, yeni bir AH vakasının veya yaklaşık her yıl 1 milyon yeni vakanın gelişeceği tahmin edilmektedir (Kumar ve ark. 2015). Alzheimer hastası olan kişilerin yüzdesi her beş yaşta iki katına çıkarak, 60 yaşta % 1 iken, 85 yaşta % 30'a kadar çıkmaktadır (Guyton ve Hall 2013).

#### 2.1.1. Alzheimer Hastalığı Risk Faktörleri

Epidemiyolojik çalışmalar, AH'nin tek bir faktöre bağlı olmadığına işaret etmektedir. Hastalığın oluşmasında yaşlanmaya bağlı olarak nöronal ve santral vasküler bozukluklar çok önemli bir role sahiptir. Bunun yanında kafa travmaları,

virüs enfeksiyonları ve metabolik lezyonlar da AH riskini artırmaktadır. Bazı vakalarda, genetik yatkınlığın önemli ölçüde katkısı söz konusudur (Uzbay 2003).

AH'nin potansiyel risk faktörleri olan yaş, genetik, kafa travması hakkında birçok veri vardır. Bunların yanısıra kognitif kapasite (zeka, eğitim), fiziksel aktivite, obezite, alkol ve sigara kullanımı gibi önemli değiştirilebilir risk faktörleri de vardır. İnme, diyabet, hipertansiyon ve hiperkolesterolemi gibi tedavi edilebilir birçok hastalık AH riskini artırmaktadır (Ballard ve ark. 2011).

Kolesterol taşıyıcısı apolipoprotein E (ApoE) geni gibi bazı risk faktörlerinin, AH'nin gelişimini nasıl etkilediğinin moleküler mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır. Bunun yanısıra beyinde hem astrositlerin hem de mikroglıyanın aktivasyonunu içeren nöroinflamasyon süreci gözlemlenmiştir. Bu patolojiler, ayrı ayrı veya birlikte, klinik semptomların oluşmasına yol açan şiddetli nörodejenerasyona neden olurlar (Loera-Valencia ve ark. 2018).

AH'nin genetik nedenleri amiloid prekürsör protein (APP), presenilin 1 (PS1), presenilin 2 (PS2) genlerini kodlayan dominant mutasyonları içerir. Bu genler AH mekanizmasını anlamamız için gereklidir, ancak genellikle erken yaşta klinik semptomları gösteren sadece % 5 hastada AH'ye neden olur. Sortilin ilişkili reseptör 1 (SORL1) geni de geç başlangıçlı AH'de önemli bir genetik neden olarak tanımlanmıştır (Rogaeva ve ark. 2007).

APP, sekretazlar tarafından bölünen bir membran proteindir. APP'nin sekretazlar tarafından bölünmesiyle amiloidojenik olmayan süreç ve A $\beta$  üretimi olur. Ailesel APP mutasyonu APP işleme sürecini amiloidojenik yolağa sürükler. PS1, APP'nin işlenmesinde rol alan alfa ( $\alpha$ ) sekretazın bir bileşenidir. Ailesel PS1 ve PS2 mutasyonu, plak oluşumuna A $\beta$ 1-40'dan daha fazla neden olan A $\beta$ 1-42 üretimini değiştirir (Ballard ve ark. 2011).

SORL1 geni, ApoE ile bağlantılıdır ve APP işlenmesini etkiler. SORL1 alfa sekretaz substratıdır. SORL1'in APP'ye bağlanması ile A $\beta$  üretimi azalmaktadır. SORL1 konsantrasyonu AH'de azalmıştır. SORL1, APP ve  $\beta$  sekretaz arasındaki bağlantıyı azaltır (Ballard ve ark. 2011).

AH'de muhtemel risk olan diğer birçok gen de A $\beta$  alımı ve klirensinde rol oynamaktadır. AH için çeşitli ApoE, glikojen sentaz kinaz 3 beta (GSK3 $\beta$ ), AH'nin erken dönemlerinde bulunan fosfotidilinozitol bağlayıcı kltrin proteini, A $\beta$  formasyonuna dahil olan klusterin gibi risk genleri de tanımlanmıştır. En fazla ilişkili olarak görülen risk geni ApoE genidir. ApoE'nin A $\beta$  klirens oranını da etkilediği görülmektedir. ApoE  $\epsilon$ 4 alleli amiloid birikimi ve kolinerjik disfonksiyon ile ilgilidir. Bireylerde ApoE  $\epsilon$ 4 alleli, ApoE  $\epsilon$ 3 ile karşılaştırıldığında 7 kattan fazla AH için risk oluşturur. GSK3 $\beta$  tau pteininini fosforiller ve yumak formasyonuna yol açar. APP bölünme ürünleri GSK3 $\beta$ 'yi aktive ederek tau fosforilasyonunun artmasına neden olur. GSK3 $\beta$  aktivitesi PS1 kompleksleri tarafından da arttırılır. Klusterin geni de AH'nin progresyonu ve şiddeti ile ilişkilidir (Ballard ve ark. 2011).

Tau proteininin hiperfosforilasyonu NY'yi oluşturur. Tau mutasyonları miktotübül bağlanmasını etkileyerek sadece Alzheimer hastalığına değil kortikobazal dejenerasyon ve frontotemporal demans gibi taupatilere de neden olur. Buna rağmen tau proteini AH'de önemli patolojik bir substrattır ve A $\beta$  plaklarından sonra demansın şiddeti ile yakından ilişkili olan NY'ler için potansiyel tedavi hedefidir (Ballard ve ark. 2011).

### 2.1.2. Alzheimer Hastalığı Tanısı

AH tanısı tam olarak postmortem konabilmektedir. Buna rağmen tanı teknikleri ve kriterleri geliştikçe erken tanı mümkün olabilmektedir. Hastalığın klinik olarak tanısının konabilmesi için detaylı anamnez alınmalı ve kognitif bozukluğu başka bir nöropsikiyatrik durumun etkileyip etkilemediği sorgulanmalıdır. Tomografi ve manyetik rezonans görüntüleme ile tümör, subdural hematom, serebrovasküler hastalık gibi intrakraniyal bir patolojinin olup olmadığı mutlaka değerlendirilmelidir (Waldemar ve ark. 2007).

AH'nin erken tanısını koyabilmek için çok daha fazla spesifik biyobelirteçe ihtiyaç vardır. Serebrospinal sıvıda A $\beta$  peptit ve fosforile tau araştırılmıştır. Analizler sonucunda diğer demanslardan farklı olarak A $\beta$ 1-42 ve yüksek seviyede hiperfosforile tau konsantrasyonu bulunmuştur (Hansson ve ark. 2006). Serebrospinal sıvı biyobelirteçlerinin geliştirilmesi AH erken tanısı için çok faydalı olacaktır. Total tau, hiperfosforile tau, A $\beta$ 1-42 ve yeni belirteç olan A $\beta$ 1-38 serebrospinal sıvı

biyobelirteçlerinin kombinasyonu tanının doğruluğunu geliştirecektir. Diğer olası biyobelirteçler inflamasyon ve oksidatif stres belirteçleridir (Welge ve ark. 2009).

### 2.1.3. Alzheimer Hastalığı Fizyopatolojisi

AH en sık karşılaşılan nörodejeneratif hastalıklardan birisidir ve yaşlılıktaki demansın temel nedenidir. Sinaptik disfonksiyon, progresif kognitif bozukluk, beyinde amiloid plak birikimi ve nörofibriler yumak formasyonu ile karakterizedir. Genetik, biyokimyasal ve deneysel kanıtlar AH patogenezi ile  $\beta$  ve  $\gamma$  sekretazın seri etkinliği sonucu APP'den üretilen A $\beta$  birikimi arasında ilişki kurmaktadır. Son yüzyılda AH'de amiloid plak birikimiyle oluşan sinaptik kayıp ile güçlü ilişkili olan çözünebilir A $\beta$  oligomerlerinin sinaptik ve kognitif disfonksiyonun anahtar mediyatörü olduğu ileri sürülmüştür. İn vitro ve in vivo çalışmalar çözülebilir A $\beta$  oligomerlerinin sinaptik plastisiteyi bozduğunu, hipokampal uzun süreli güçlendirmeyi (LTP) inhibe ettiğini ve elektrofizyolojik olarak öğrenme ve bellekle ilişkili olduğunu göstermektedir. Bellek bozukluğu ve LTP inhibisyonu AH fare modellerinde beyin parankiminde plak birikiminden önce belirtilmiştir (Balducci ve ark. 2010).

Artmış A $\beta$  seviyeleri, hem ailesel hem de sporadik AH ile ilişkilidir, bu da A $\beta$  düzeyinin azaltılmasının yararlı olabileceğini göstermektedir (Loera-Valencia ve ark. 2018).

APP çok sayıda biyolojik fonksiyona sahiptir ve APP olmayan farelerde yapılan çalışmalarda lokomotor aktivitenin azaldığı ve kognitif disfonksiyonun olduğu gözlenmiştir (Senechal ve ark. 2007). Farelere A $\beta$  enjeksiyonu sonrası öğrenme ve hafızanın bozulduğu, Barnes labirent testinde kaçış kutusunu bulma süresinde gecikme ve yeni nesne tanıma testinde yeni nesnenin keşif tercihinin azalması ile gösterilmiştir (Pinz ve ark. 2018).

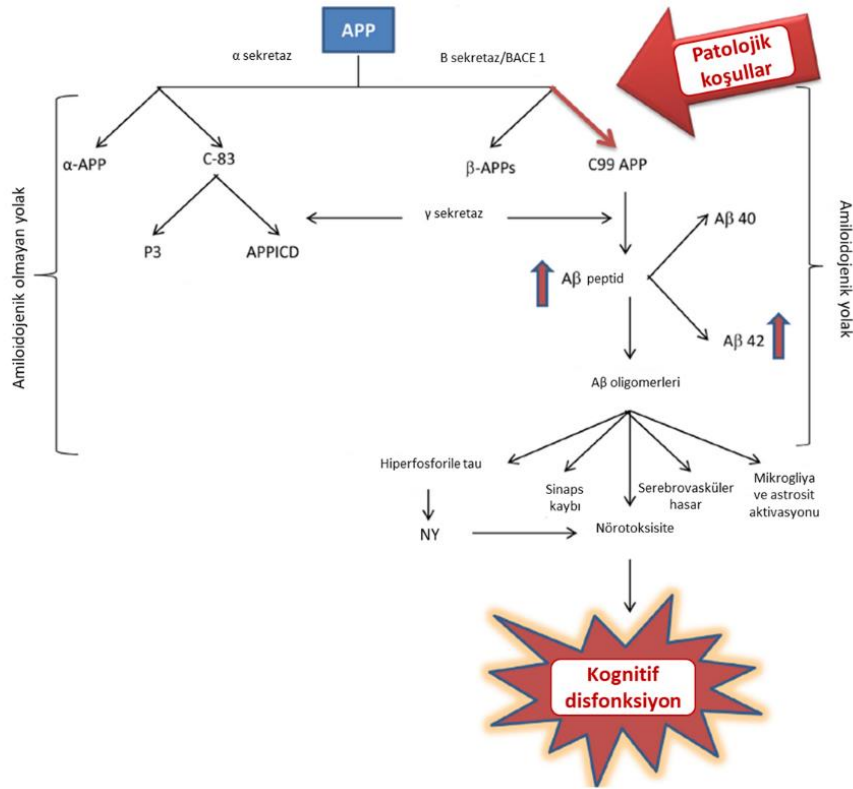
Kortikal alanlar içinde primer sensorimotor alanlar genellikle etkilenmemiş iken entorinal korteksin AH değişikliklerinden ilk etkilenen bölge olduğu gösterilmiştir (Trillo ve ark. 2013).

AH progresif ve irreversibl olarak seyreden demansın bir formu olarak kabul edilir. Progresif bellek bozukluğu ve azalmış kognitif performans ile karakterizedir. Depresyon, agresyon ve psikoz gibi kognitif olmayan semptomlar da AH'ye eşlik

edebilir. Beyin dokusunda kolinerjik sistemde özellikle nikotinik nöronların erken dejenerasyonu, nöroinflamasyon, amiloid plak birikimi, nörofibriler yumaklar ve beyaz cevher kaybı görülmektedir (Lecanu ve Papadopoulos 2013).

Yaşlanma, hücrelerde ve dokularda meydana gelen ilerleyici ve zararlı bir süreçtir. Oksidatif stres, AH gibi nörodejeneratif hastalıklarda yaşla ilişkili bilişsel gerileme ve nöronal kayıpta önemli bir rol oynar. Oksidatif stresin neden olduğu hasar serbest radikallerin oluşmasından kaynaklanmaktadır (Jha ve ark. 2013).

AH fizyopatolojisinde A $\beta$  birikimine bağlı plak formasyonu, tau hiperfosforilasyonuna bağlı NY oluşumu ve kolinerjik sistem patolojisi önemlidir.



Şekil 2.1. AH fizyopatolojisi (Cardenas-Aguayo ve ark. 2014'ten değiştirilerek alınmıştır.)

### 2.1.3.1. Amiloid Beta Patolojisi

Amiloidoz, vücutta amiloid protein birikimi veya plak birikmesi için kullanılan bir terimdir. Amiloid fibrillerin  $\beta$  yaprak yapısı edinmesi ile proteinlerin yapısı değişerek çoğu zaman uygunsuz katlanma sergiler. Yanlış katlanmış proteinler, birbirleriyle ve diğer proteinlerle etkileşime girerek agrege olurlar ve bu amiloid fibrillerinin belirli organlarda birikmesi ile AH gibi nörodejeneratif hastalıklar, bazı

ensefalopatiler, tip II diyabet ve ailevi amiloidoz patolojileri oluşabilir (Ramirez-Alvarado ve ark. 2000).

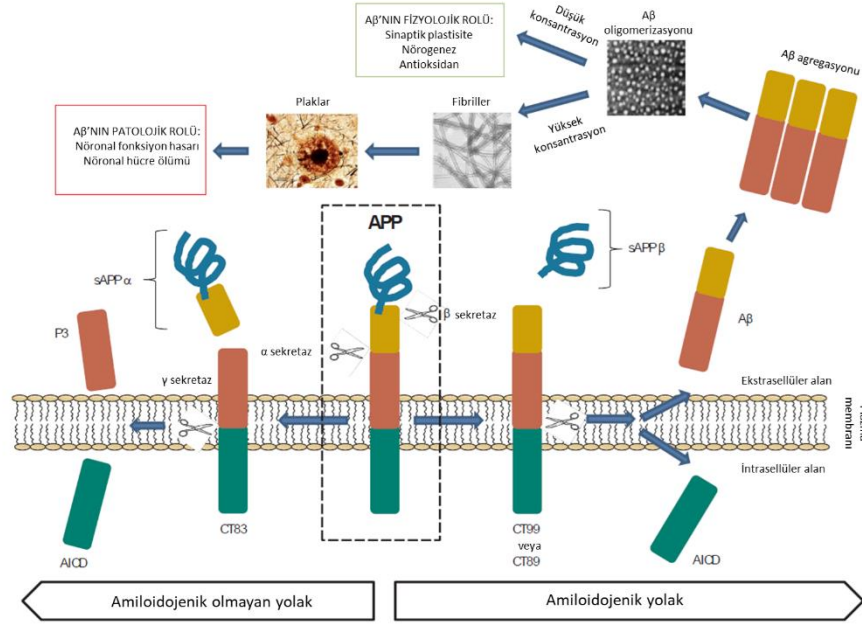
AH'nin ayırt edici özelliklerinden biri, APP'nin proteolitik işleminden türetilen nörotoksik A $\beta$  peptitlerin anormal hücre dışı birikimidir (Chow ve ark.2010). Bu nedenle, APP metabolizmasında rol alan sinyal yollarının açığa çıkarılması, AH'nin patolojisinin anlaşılmasına ve yeni tedavi stratejilerin geliştirilmesine fayda sağlayacağı için önemlidir.

APP, amiloidojenik ve amiloidojenik olmayan iki alternatif yolla işlenebilir (Şekil 2.1). Amiloidojenik yolda, APP'nin  $\beta$  sekretaz ve  $\gamma$  sekretaz ile ardışık bölünmesi ile APP'den A $\beta$  peptitleri üretilir.  $\beta$  sekretaz (BACE olarak da bilinir) tarafından APP'nin hücre dışı bölünmesi, çözünür bir hücre dışı parçayı (APP  $\beta$ ) açığa çıkarır. APP'nin  $\alpha$  sekretazlarla amiloidojenik olmayan bir şekilde işlenmesi A $\beta$  peptit dizisi içinde proteolitik bölünmeye yol açar ve büyük bir hücre dışı çözünür parça (APP  $\alpha$ ) üretir (Selkoe 2008).

Amiloid kaskad hipotezi beyinde A $\beta$ 'nin birikimi ile nöronal disfonksiyon ve nöronal ölümün gerçekleştiğini destekler. Bu hipotezde toplam amiloid yükünün toksik etki oluşturarak nöronal disfonksiyona ve ölüme neden olduğu düşünülmektedir. A $\beta$ 'nin işlem süreci ile ilgili araştırmalar daha çok APP'den A $\beta$ 1-42, A $\beta$ 1-40 peptitlerinin ve A $\beta$  oligomerlerinin oluşması üzerine odaklanmıştır. A $\beta$ 1-42 peptidi A $\beta$ 1-40'a göre daha kolay agregasyon özelliği gösterir. Bu iki izoformun oranı APP'nin  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$  sekretaz enzimleri tarafından bölünmesiyle etkilenir. Küçük A $\beta$  oligomerleri matür fibrillere göre daha toksiktir (Ballard ve ark. 2011).

A $\beta$ , APP bölünmesinde amiloidojenik yol tarafından üretilen bir peptittir. Transmembran protein olan APP  $\alpha$  veya  $\beta$  sekretazlarla parçalanarak çözünür ve zarla ilişkili karboksiterminal fragmanları oluşturur. A $\beta$  peptitlerin büyüklüğü 38-43 aminoasit arasında değişebilir.  $\beta$  sekretaz ile bölünme sonrası % 90 oranında A $\beta$ 1-40 ve % 10 oranında daha fazla fibrinojenik olan A $\beta$ 1-42 üretilir. A $\beta$  peptidi agregolmaya yeteneğine sahiptir. Bu nedenle monomerler, dimerler veya oligomerler olarak mevcut olup sırayla fibriller üretebilir ve hücre dışı plaklar (nöritik plaklar) oluşturmak üzere birikebilir. Amiloidoz normalde çözünür proteinlerin çözünmez hale geldiği ve çeşitli dokuların hücre dışı boşluğunda biriktiği bir durumdur. Hücre dışı A $\beta$  birikimi AH,

Down sendromu, beyin travmatik yaralanmaları ve yaşlanma gibi birçok nörolojik durumun karakteristiğidir. A $\beta$  özellikle Alzheimer hastalarının beyinlerinde temel histolojik özelliklerinden biri olan plaklardaki baskın proteindir (Cardenas-Aguayo ve ark. 2014).



Şekil 2.2. APP işlenmesi ve A $\beta$  oluşumu (Cardenas-Aguayo ve ark. 2014'ten değiştirilerek alınmıştır.)

A $\beta$  peptidleri normal beyinlerde, özellikle de sinaptik aktivite sırasında düşük seviyelerde bulunurken patolojik koşullarda yüksek miktarlarda üretilir. APP nöronal gelişimde rol oynayan bir membran proteinidir. Uzun yıllar boyunca, APP ve A $\beta$ 'nin patolojik olmayan koşullarda rolü açık değildi ve A $\beta$ 'nin fizyolojik bir rolü olmadan APP katabolizmasının tesadüfi bir ürünü olduğu düşünülüyordu (Luo ve ark. 1996). APP sinaptogenez ve hücre adezyonuna da katılmaktadır. APP antikorları hafıza oluşumunu engellemektedir. Yüksek konsantrasyonlarda A $\beta$  nörotoksitesi hücre ölümüne neden olur. Ek olarak, normal beyin interstisyel sıvısında mikrodializ ile pikomolar A $\beta$  düzeyleri tespit edilmiştir. Patolojik olmayan koşullarda A $\beta$  varlığı da bildirilmiştir (Şekil 2.2) (Cardenas-Aguayo ve ark. 2014).

A $\beta$ 'nin pozitif veya negatif etkileri göz önüne alındığında, peptidin hem nörotrofik hem de nörotoksik etkiler gösterdiği öne sürülmektedir. Bu etkilerin konsantrasyon, hüresel ortam ve bireylerin yaşı gibi faktörlere bağlı olabileceği düşünülmektedir. A $\beta$ 'nin düşük fizyolojik konsantrasyonları, sinaptik plastisitenin



düzenlenmesi ve bilişsel işlevlerin iyileştirilmesinde kilit bir rol oynayabilirken, yüksek konsantrasyonları ilerleyen yaşın etkileriyle birleştiğinde, AH'de gösterildiği gibi sinaptik fonksiyon kaybına neden olur (Shankar ve ark. 2007). Ek olarak, beyinde en çok bulunan tür olan A $\beta$ 1-40 monomerlerinin, metal kaynaklı oksidatif hasarın neden olduğu nöronal ölümü önleyerek antioksidan molekül olarak işlev görebileceği öne sürülmüştür. Ayrıca, A $\beta$ 1-42'nin düşük konsantrasyonlarının, LTP'nin belirgin bir artışına neden olduğu, yüksek konsantrasyonların ise LTP'de hasara yol açtığı bilinmektedir (Puzzo ve ark. 2008).

Amiloid hipotezi, AH'de gözlenen nörodejenerasyonun bir nedeni olarak uzun yıllardır yaygın olarak kabul edilmektedir. A $\beta$  bu hipotezde, nöronal fonksiyonu bozan ve hücre ölümüne yol açan toksik bir faktör olarak belirlenmiştir. Ancak son zamanlarda A $\beta$ 'nin fizyolojik rolleri hakkındaki bilgiler bu hipoteze meydan okuyor gibi görünmektedir. Alzheimer gibi hastalıklar için A $\beta$  seviyelerini düşürmeyi amaçlayan tedavilerin geliştirilmesinde A $\beta$ 'nin fizyolojik rollerinin dikkate alınması gerekir (Cardenas-Aguayo ve ark. 2014).

### 2.1.3.2. Tau Patolojisi

Mikrotübül ilişkili bir protein olan tau, NY'nin ana bileşenidir. Amiloid kaskad hipotezi, taudaki değişikliklerin ve sonucunda NY oluşumunun A $\beta$ 'nin toksik konsantrasyonları aracılığıyla tetiklendiğini ileri sürmektedir (Small ve Duff 2008).

Tau çözülebilir bir proteindir, fakat NY formasyonu esnasında nöronun yapısını ve fonksiyonunu bozan çözünemeyen agregatlar üretilir. Öncelikle tau monomerleri oligomerler oluşturmak için birbirlerine bağlanır, daha sonra nörofibriler yumakları oluşturmadan önce  $\beta$  tabaka halinde toplanır. Nörofibriler yumaklardaki tau hiperfosforile haldedir, fakat tau agregasyonuna fosforilasyonun dahil olup olmadığı belirsizdir, bununla birlikte taunun mikrotübüllere affinitesini azaltmak önemli görünmektedir. Bir kez filamentöz tau oluştuğunda diğer beyin bölgelerine de dağılmaktadır (Meraz-Rios ve ark. 2010). GSK3 $\beta$ , siklin bağımlı kinaz, ekstrasellüler sinyal ilişkili kinaz 2 içeren çeşitli fosfokinazlar tau fosforilasyonunu azaltmak için potansiyel tedavi hedefi olarak araştırılmaktadır (Takashima 2009).

### 2.1.3.3. Kolinerjik Sistem Patolojisi

#### 2.1.3.3.1. Kolinerjik Sistem Bileşenleri ve Lokalizasyonu

ACh üreten nöronlar ile muskarinik ve nikotinik alt tipleri olan farklı ACh reseptörleri kolinerjik sistemi oluşturur. ACh, kolinin asetillenmesini asetil koenzim A ile katalize eden ChAT enzimi tarafından sentezlenir. ACh, sinaptik veziküllerde ATPaz enzimine bağlı veziküler bir ACh taşıyıcı ile birikir (Parsons 2000). ACh'nin sinaptik aralığa salınması depolarizasyonla indüklenen kalsiyum akışı ile tetiklenir. ACh hem presinaptik ve postsinaptik MR'ye hem de NR'ye bağlanabilirler. ACh hidrolizi, yeniden alım ve sentez için asetik asit ve kolin oluşturmak üzere AChE veya butirilkolinesteraz tarafından çok kısa süre içerisinde gerçekleşir (Van der Zee ve Keijser 2011).

Kemirgen beyinde farklı projeksiyon alanları ile en az 6 kolinerjik hücre grubu (CH 1- 6) bulunmaktadır (Mesulam ve ark. 1983a; Mesulam ve ark. 1983b). Bazal ön beynin bir parçası olarak, CH1 mediyal septal çekirdeği ve CH2 Broca'nın diyagonal bandının vertikal kolunu içerir. Her ikisi de hipokampal formasyona yoğun projeksiyona sahiptir. CH3, Broca'nın diyagonal bandının horizontal kolunu içerirken hem olfaktor bulbusta hem de talamik retiküler bölgeye lifler vermektedir. CH4, nükleus basalis magnoselülaris (NBM), korteks ve amigdalaya ek olarak talamusa da bağlanır. Son olarak, CH5 ve CH6, sırasıyla pedüncülopontin ve laterodorsal tegmentumu (iki orta beyin bölgesi) içerir. CH5-CH6, kortikal ve çeşitli talamik bölgelere projeksiyon gönderirler (Mesulam ve ark. 1983a).

Bugüne kadar, sıçanlardaki MR'leri kodlayan, m1-m5 arasındaki küçük harflerle isimlendirilen beş gen doğrulanmıştır. MR, süper metabotropik reseptör ailesine aittir ve G proteinleri ile etkileşime girerek fosfolipaz C (M1, M3 ve M5) veya adenilat siklazı (M2, M4) ikinci haberci olarak kullanılırlar. Sıçanlarda, M1 reseptörleri sempatik gangliyonlarda ve ekzokrin bezlerde baskındır. M1, MSS'de yaygın olarak serebral korteks, hipokampus ve amigdalada baskın MR alt tipi olarak dağılmaktadır. M2 reseptörleri miyokard üzerinde bol miktarda bulunurken olfaktor bulbusta ve hipotalamusta daha az yoğunluktadır. M3 ise düz kas ve ekzokrin bezlerde yoğundur, ancak aynı zamanda korteks, hipokampus ve talamusta daha geniş ekspresyon gösterir.

M4 reseptörleri korteks ve striatumda dağınık bir görünüm ortaya çıkarırken, M5 reseptörleri hipokampus, habenula ve talamusta lokalizedir (Deiana ve ark. 2011).

NR, merkezde simetrik olarak düzenlenmiş  $\alpha$  ( $\alpha_2$ –  $\alpha_{10}$ ),  $\beta$  ( $\beta_2$ –  $\beta_4$ ),  $\gamma$ , delta ve kappa alt birimlerden oluşan pentamerik şekle sahip, ligand kapılı iyon kanallarının bir üst ailesinin parçasıdır. Aktivasyonları, sodyum ve kalsiyum için hücrenel geçirgenlikte hızlı bir artışa, depolarizasyon ve uyarılmaya neden olur.  $\alpha_7$  alt birimi daha çok hipokampus, korteks, beyin sapı ve serebellumda ifade edilirken ve  $\beta_2$  alt birimi korteks ve dorsal hipokampusta yoğun olarak bulunmaktadır (Deiana ve ark. 2011).

#### 2.1.3.3.2. Hipokampus ve Kolinerjik Sistem

Hipokampus mekansal hafıza oluşumunda önemli bir rol oynar. Hipokampal lezyon oluşturulmuş deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda radyal kol labirenti ve su labirenti deneylerinde eksiklikler görülmüştür. Bazı tartışmalı sonuçların hipokampusun şekli nedeniyle hipokampal lezyonların elde edilmesindeki zorluklardan kaynaklanıyor olabileceği ileri sürülmüştür (Deiana ve ark. 2011).

Üç ana teori, hipokampusun mekansal öğrenme ve hafıza oluşumundaki rolünü tartışmaktadır. Standart konsolidasyon teorisi, hipokampusun öğrenme ve konsolidasyona geçici bir katılımını ortaya koymaktadır. Çoklu izleme teorisi, mekansal öğrenmenin ve uzun süreli hafızanın hipokampal aktiviteye bağlı olduğunu göstermektedir. Eski hatıraların daha fazla iz oluşturduğu görülmektedir. Son olarak, bilişsel harita teorisine göre, uzamsal bilgi ile ortamın farklı nesnelere kodlayan yer hücreleri ile mekansal üç boyutlu harita oluşturulmaktadır (Deiana ve ark. 2011).

Verimli kodlama, birleştirme ve geri alma için hipokampal oluşumdaki optimum devre dinamikleri CH1 ve CH2'den gelen kolinerjik afferentler tarafından kontrol edilir. Böylece yüksek ACh seviyeleri, Schaffer kollaterallerini ön yüklemeye tekrarlayan ve yeni bilgilerin kodlanmasını kolaylaştırır, bu da yosunsu lifleri ve perforan yol girişlerinden kaynaklanan bilgileri kodlar. Tersine, düşük ACh seviyeleri yeni bilgilerin kodlanması için yeterli olmayabilir, ancak tanıdık bilgilerin birleştirilmesini ve alınmasını kolaylaştırır (Hasselmo ve ark. 1995; Hasselmo ve McGaughy 2004).

### 2.1.3.3.3. Alzheimer Hastalığı ve Kolinerjik Sistem

Beyinde kolinerjik sistem içerisinde yaşa bağlı morfolojik ve fizyolojik değişiklikler öğrenme ve hafıza bozukluklarının altında yatan önemli bir mekanizma olarak tanımlanmıştır. Yaşlı sıçanlarda yapılan çok sayıda çalışma, bazal ön beyin bölgesindeki kolinerjik nöronların dejenerasyonunun öğrenme ve hafıza açıkları ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Benzer şekilde kolinerjik dejenerasyon ve kognitif bozukluklar arasında bulunan tutarlı korelasyonlar asetilkolinerjik aktivite ile kognitif kaybın büyüklüğü arasındaki bağlantıyı göstermektedir. Bu ilişki AH olan bireylerde da gösterilmiştir (De Souza Silva ve ark. 2013).

Alzheimer hastalarında kortikal ve hipokampal bölgelerde kolinerjik belirteçlerin azalması bazal ön beyin nöronlarının hasarı ve dejenerasyonu ile ilgilidir. Bazal ön beyin lezyonları, öğrenme ve hafızada önemli bozulmalara neden olur (Schliebs ve Arendt 2011).

Bazal ön beyin, korteksin kolinerjik innervasyonunda baskın bir rol oynar. Çeşitli kortikal (frontal, temporal, parietal) ve subkortikal (hipokampus) beyin bölgelerine projeksiyonları vardır (Mesulam ve ark. 1983a). Alzheimer hastalarında ChAT aktivitesinde belirgin bir azalma ve bazal ön beyin nöron sayısında belirgin bir hücre kaybı tespit edilmiştir (Mesulam 2004). Ayrıca, Parkinson hastalarında da kolinerjik defisitlerin ve bu alandaki hücre sayısının azalmasının, AH'deki gibi bellek problemlerinde önemli rol oynadığı da açıktır (Bohnen ve Albin 2011). Mediyal septal bölge ve diyagonal bant, kolinerjik sistemin öğrenme ve bellek süreçlerinde en sık yer alan bölgelerindendir (Borbely ve ark. 2013). İnsanlarda NBM'deki kolinerjik nöronların kaybı, AH'deki bilişsel gerileme ile ilişkilendirilmiştir (Oliveira ve Hodges 2005).

Kolinerjik yollar öğrenme ve hafıza işlemlerinde önemli işlevlere sahiptir. NR ve MR, beyinde yaygın olarak eksprese edilir. Bu reseptörler serebral korteks ve subkortikal bölgelerde nöronların ve sinapsların kaybıyla karakterize, en sık görülen demans şekli olan AH'nin fizyopatolojisinde rol oynamaktadır. Klinik olarak demans derecelerinin ChAT, MR, NR ve ayrıca ACh seviyeleri gibi bir dizi kortikal kolinerjik belirteçlerdeki azalmalar ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Yaşlılıkta ve AH'de bellek

hasarının altında yatan mekanizmanın kolinerjik hipofonksiyon olduğu düşünülmektedir (Bartus 2000).

AH, ön beyin kolinerjik sisteminin yaygın dejenerasyonunun gözlendiği bir hastalıktır. Alzheimer hastalarında bazal ön beyin ve septumda % 75'e kadar kolinerjik nöron kaybı, kortikal ve hipokampal ChAT aktivitesinde azalma ve yoğun kolinerjik lif ağında incelme meydana gelebilir. Serebral korteks, hipokampus ve amigdaladaki kolinerjik eksiklik, AChE aktivitesinin pozitron emisyon tomografisi ölçümü ile de gösterilmiştir (Pepeu ve Giovannini 2017).

Ventral ve dorsal striatumun kolinerjik internöronları AH'de farklı şekilde etkilenir. Ventral striatum ChAT immünreaktivitesinde azalma görülürken tersine dorsal striatumdaki kolinerjik nöronlar AH'de korunmuştur. Benzer şekilde, ChAT eksprese eden nöronlarda belirgin bir azalma ventral striatumda tespit edilirken, dorsal striatumda hafif bir azalma görülür. Alzheimer hastalarının postmortem beyin dokularında, CH5-CH6 önbeyin çekirdeklerinde kolinerjik nöron kaybı görülmemiştir (Pepeu ve Giovannini 2017).

A $\beta$ , AH'de bulunan nöritik plakların ana protein bileşenidir. Kanıtlar, A $\beta$ 'nin fiziksel agregasyon durumunun nörotoksisiteyi ve spesifik hücre içi biyokimyasal olayları doğrudan etkilediğini göstermektedir. Ek olarak A $\beta$  oligomerlerinin, farklı beyin alanlarındaki kolinerjik MR ve NR'nin uyarılmasıyla ortaya çıkan birkaç nörotransmitterin (DA, p-aminobütirik asit, aspartat, glutamat) salınımını modüle edebildiği gösterilmiştir. Son zamanlarda hem  $\alpha 7$  hem de  $\alpha 4\beta 2$  NR'nin aktivasyonunun yanı sıra MR'nin aktivasyonu ile de hipokampal sinaptozomlardan glisin salınımının modüle edildiği gösterilmiştir (Zappettini ve ark. 2012).

A $\beta$ 'nin kolinerjik sistemi değiştirdiği ve bozulmuş kolinerjik nörotransmisyonun bilişsel işlev bozukluğuna neden olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, AH için tedaviler, AChE'nin inhibisyonu ile kolinerjik nörotransmitter sisteminin aktivitesini arttırmayı amaçlamaktadır. Günümüzde, AChE inhibitörleri AH için Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanan ana tedavi stratejisidir. Alzheimer hastalarında bilişsel işlevleri geliştirdiği için kolinerjik sistemin rolü önemlidir (Pinz ve ark. 2018).

AH tedavisi için kullanılan AChE inhibitörleri gibi kolinerjik aktiviteyi artıran ilaçların insanlarda epizodik hafızayı geliştirdiği gösterilmiştir. Hipokampustaki artan ACh salınımının yeni nesne keşfi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Çeşitli çalışmaların perihinal korteksin nesne bilgi işlemesine dahil edildiğini öne sürdüğü göz önüne alındığında mediyal prefrontal korteks nesne ve mekansal bilgi arasında bir ilişki kurmak için kritik öneme sahiptir (Schable ve ark. 2012a).

Kolinerjik sistem hasarı AH fizyopatolojisini açıklamak için önerilen ilk teoridir. Bu teori, Alzheimer hastalarının beyinde kolinerjik aktivite kaybının yaygın olarak gözlemlendiğinin tespitine dayanmaktadır (Craig ve ark. 2011).

Kolinerjik hipoteze dayanarak tedavide üç AChE inhibitörü (donepezil, rivastigmin ve galantamin) kullanılmaktadır. Bu ilaçların hepsinin benzer etkinliğe sahip olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte donepezil en çok reçete olanıdır (Craig ve ark. 2011).

#### *2.1.3.4. Alzheimer Hastalığı ve Katekolaminler*

AH, nöronal kayıp nedeniyle oluşan neokortikal ve hipokampal atrofi, A $\beta$  peptit birikimi ve nörofibriler düğümlerin formasyonu ile karakterizedir. Bununla beraber, önbeyin tabanında kolinerjik çekirdeklerde ve beyin sapında, en önemlisi lokus seruleustaki noradrenerjik çekirdeklerde progresif bir dejenerasyon vardır (Heneka ve ark. 2010).

Otopsi çalışmaları, AH'nin erken dönemlerinde dopaminerjik innervasyonun, özellikle nigrostriatal DA sisteminin nispeten sağlam kalırken; kortekste kolinerjik, noradrenerjik ve serotonerjik innervasyon kaybının meydana geldiğini göstermiştir (Hirao ve ark. 2015).

AH'de katekolaminerjik sistemlerin yaygın olarak etkilendiği bilinmektedir. Alzheimer hastalarının beyin sapında hem serotonerjik hem de noreadrenerjik nöronların total RNA seviyelerinde önemli oranda azalma olduğu ve monoaminerjik ilgili genlerde polimorfizmin AH'nin davranışsal ve kognitif özellikleri ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Trillo ve ark. 2013).

#### 2.1.4. Alzheimer Hastalığının Klinik Özellikleri

AH, yaşlılıktaki demansın en sık nedenidir (Kandel ve ark. 2013). AH'nin klinik özellikleri; unutkanlık tipinde bellek bozukluğu, dil işlevinde bozulma, görsel ve mekansal bozukluklardır. Motor ve duysal anomaliler, yürüme bozuklukları ve nöbetler hastalığın geç evrelerine kadar pek görülmezler. Alzheimer hastalığında limbik yolağın bellek süreçlerini yöneten bölümünde de nöron kaybı bulunmaktadır. Bu bellek işlevindeki kayıp yıkıcı düzeydedir. Alzheimer hastalığı kişinin günlük aktivitelerini gerçekleştirememesine ve hastalığın geç evrelerinde çeşitli nöropsikiyatrik semptomlara ve davranışsal bozukluklara yol açan ilerleyici ve ölümcül bir nörodejeneratif hastalıktır (Guyton ve Hall 2013).

AH, sadece kognitif bozukluk hastalığı değildir. Alzheimer hastaları ajitasyon, saldırganlık, anksiyete, depresyon, öfori, halusinasyon, irritabilite, psikoz ve uyku bozukluğu gibi değişen ciddi davranışsal ve psikolojik semptomlar gösterirler. Bu davranışsal semptomlar demansın başlangıcından önce var olabilir. Depresyon AH'ye en sık eşlik eden durumlardan birisidir. Alzheimer hastalarında depresyon insidansının % 30-50 civarında olduğu tahmin edilmektedir (Szot 2012).

#### 2.1.5. Alzheimer Hastalığı Tedavisi

AH tedavi seçenekleri AChE'yi inhibe ederek veya anormal N-metil-D-aspartik asit (NMDA) reseptör sinyalleşmesini bloke ederek hastalığın semptomlarını hafifletmeyi amaçlamaktadır. Ancak hastalığın kesin bir tedavisi henüz mevcut değildir (Loera-Valencia ve ark. 2018).

Semptomatik tedavi için kolinesteraz inhibitörleri (donapezil, rivastigmin, galantamin) ve NMDA reseptör antagonistleri (memantin) kullanılmaktadır. Nöropsikiyatrik semptomların tedavisi için atipik antipsikotikler (risperidon, olanzapin, aripiprazol), antidepresan (sitalopram, sertralin), antikonvülzan (karbamazepin) kullanılmaktadır. Yeni denenen tedavi seçenekleri arasında da immunoterapi (bapinuzumab), sekretaz inhibitörleri (tarenflurbil), amiloid agregatörleri (tramibrosat), bakır veya çinko modülatörleri (PBT2), tau agregasyon inhibitörleri (metiltioninyum klorid), GSK3 inhibitörleri (lityum), doğal ürünler ve vitaminler (vitamin E, ginko biloba, omega 3 yağ asitleri, dokosahekazonik asit) vardır (Ballard ve ark. 2011).

Son yıllarda, APP'den A $\beta$  oluşumunda yer alan BACE1 ve  $\gamma$  sekretaz enzimlerine yönelik antikolar kullanılarak immünoterapiler ile A $\beta$  seviyelerini düşürmek için tasarlanmış bir dizi klinik çalışma yapılmaktadır (Ankarcrone ve ark. 2016; Winblad ve ark. 2016). Bununla birlikte, immünoterapi yaklaşımının bilişsel performans üzerindeki etkileri sınırlı kalmıştır. Ek olarak, immünoterapiler insan popülasyonunun büyük bir kısmı için uygun maliyetli değildir. Sekretazların APP'den farklı birçok proteini de işlediği bilindiğinden sekretaz inhibitörlerinin kullanımı tam olarak iyi bir tedavi seçeneği olamamıştır. Alternatif olarak toksik A $\beta$ 1-42 üretimini daha az toksik A $\beta$ 1-40'a kaydıran  $\gamma$  sekretaz modülatörleri ve APP seviyelerini azaltmanın tedavi seçeneği olabileceği düşünülmektedir (Hong ve ark. 2006).

AH patogeneğinde APP, PS1, PS2 mutasyonları A $\beta$  oluşumu için önemli olmakla birlikte, A $\beta$  immünoterapilerinin sayısız başarısızlığı, sadece A $\beta$  indirgeyici tedavinin, AH'yi etkili bir şekilde tedavi etmek için yeterli olup olmayacağı sorusunu ortaya çıkarmaktadır (Loera-Valencia ve ark. 2018).

AH'nin tedavisinde kullanılan bilişsel güçlendiricilerin (donepezil, rivastigmin, galantamin, memantin), yaşam kalitesi üzerine yararlı etkileri konusunda tutarlı kanıtlar bulunmaktadır (Herrmann ve ark. 2011). Kolinesteraz inhibitörlerinin Parkinson hastalığında bilişsel işlev üzerindeki olumlu etkisi de bazı güncel verilerle desteklenmektedir (Rolinski ve ark. 2012). Bunun aksine, bu eylemlerin sadece semptomatik ve geçici olup mevcut terapötik yaklaşımların hastalığın ilerlemesini yavaşlatmadığını not etmek önemlidir. Ayrıca, AH'de A $\beta$  yolunu hedefleyen hastalık modifiye edici terapiler klinik çalışmalarda başarısız olmuştur (Yiannopoulou ve Papageorgiou 2013).

AH için ilaç geliştirme çalışmaları şu ana kadar çok başarılı olmamıştır. Yıllardır ilaç üreticileri kolinerjik nörotransmisyon kaybına odaklanmıştır. Bu da sınıf lideri takrin olan AChE inhibitörlerinin gelişimine yol açmıştır. AChE çözücü enzimi inhibe etme hipotezine dayanan bu strateji, sinaptik aralıkta ACh'nin fizyolojik konsantrasyonlarını ve kolinerjik nörotransmisyon fonksiyonlarını restore edebilir ve terapötik fayda sağlayabilir. Takrin 1990'ların başlangıcından itibaren kullanılmaya başlanmıştır ve klinik çalışmalarda bir miktar etki göstermiştir. Ancak terapötik kullanımı karaciğer toksisitesine neden olmuştur. Daha sonra takrin yerini yeni nesil AChE inhibitörleri olan galantamin, donepezil, rivastigmin gibi karaciğer toksisitesi



yapmadan tartışmalı terapotik faydalar sağlayan ilaçlara bırakmıştır. 2004 yılında NMDA antagonisti memantin kullanılmaya başlanmıştır. Memantin de AH tedavisinde faydası az olmuştur. O zamandan beri klinik çalışmalarda AN 1792 A $\beta$  aşısı, amiloid peptit plak formasyon inhibitörü tramiprozate,  $\gamma$  sekretaz modülatörü tarenflurbil,  $\gamma$  sekretaz inhibitörü LY540139, antihistaminik latrepirdin ve son zamanlarda monoklonal antikolar bapinizumab ve solanezumab gibi ilaçlar denenmiştir. Bu bileşiklerin transgenik hayvan modellerinde anlamlı etkinlik gösterdiği rapor edilmiştir (Lecanu ve Papadopoulos 2013).

#### *2.1.6. Alzheimer Hastalığı Deneysel Hayvan Modelleri*

Hayvan modelleri, başka bir türde meydana gelen olgunun araştırılması amacıyla bir tür üzerinde gerçekleştirilen deneysel kurgulardır ve bir hastalığa dair tedavilerin belirlenmesine yardım eder (Kumar ve ark. 2013). Hayvan modelleri hastalıkla mümkün olduğu kadar benzer fenotipi yansıtmalı ve tedavi seçeneklerinin geliştirilmesinde anlamlı derecede katkısının olması gerekmektedir. Son 20 yılda ailesel AH'nin bilinen genetik kökenine dayanan transgenik AH modelleri, AH başlangıcı ve progresyonunda etkili olan moleküler mekanizmayı anlamamızda önemli derecede katkıda bulunmuştur. Bu modeller AH tedavisinin gelişiminde yaygın olarak kullanılmıştır. Birçok klinik çalışmada; yeni tedavi yöntemlerindeki hataların, AH'nin genetik modellerinin kullanımının insanlardaki AH'nin özelliklerini tam olarak yansıtmaması olduğu ve AH'yi % 95 yansıtan sporadik form ile ilgili diğer hayvan modelleri kullanılması gerektiği rapor edilmiştir (Lecanu ve Papadopoulos 2013).

Hayvan modelleri, AH gibi nörodejeneratif hastalıklarda psikolojik ve fizyolojik temellerin anlaşılmasında çok faydalı olmuştur. Öğrenme ve bellek alanındaki hayvan modelleri, hasarlı ve normal beyin işleyişinin nasıl olduğunun anlaşılmasını sağlamıştır (Narwal ve ark. 2012).

Sıçanlar davranışsal olarak iyi karakterize edilebilmekte ve zengin davranışsal özellikler göstermektedir. Aynı zamanda ince ve hassas motor koordinasyona sahiptir. Sıçanlar, MWM gibi testlerde az stres gösterirler ve yeteneklidirler. AH sıçan modelleri davranışsal düzeyde karakterizasyona izin vererek kognitif sonuçların değerlendirilmesinde daha doğru sonuçlar sağlamaktadır (Do Carmo 2013).

AH patogenezi ve progresyonunun altındaki mekanizmayı araştırmak için transgenik hayvan modelleri çok değerli olmasına rağmen, AH ilişkili genlerin aşırı üretimi, bu çalışmalardan elde edilecek bulguları yorumlarken hatalara yol açabilmektedir. APP ve PS1 aşırı üretimi ile bellek, sinaptik fonksiyon ve MSS'i gelişimi etkilenebilmektedir. Aşırı retilen APP ve PS1'in diğer etkilerinden A $\beta$ 'nın özel etkilerini ayırmak için, tek başına A $\beta$ 'nin sorumlu olduğu hastalık modelleri kullanılmaktadır (Puzzo ve ark. 2014).

Sentetik olarak üretilen insan A $\beta$  oligomerleri, doğrudan yetişkin hayvanların ventrikllerine veya hipokampusuna enjekte edilerek akut A $\beta$  patolojisi modeli oluşturulmaktadır. A $\beta$ 'nin uygulanacak bölgeye doğrudan ulaşımı ve kan beyin bariyeri ile ilgili sorunları önlemek için önceden implante edilen kanüller aracılığıyla infüzyon sağlanmaktadır. A $\beta$ , assosiatif ve referans bellek gibi farklı bellek tiplerinin bozukluğunda tek başına etkili olabilmektedir ve genel olarak bellek bozukluklarında doğrudan bir role sahip peptit olduğunu düşünülmektedir. Transgenik hayvan modeli geliştirmek ile karşılaştırılınca A $\beta$  modeli kullanmanın bir diğer avantajı daha düşük maliyet ve zaman gerekliliğidir (Puzzo ve ark. 2014).

#### *2.1.7. Deneysel Hayvan Modellerinde Kullanılan ğrenme ve Bellek Testleri*

ğrenme ve bellek, birçok beyin yapısının koordineli etkileşimini gerektiren kompleks bir olgudur. Diensefalon, talamus ve hipotalamusu içeren subkortikal bir bölgedir. Bellekle ilişkili birçok devre için bağlantı bölgesi olarak karakterize edilmiştir. Amigdala, striatum, hipokampus ile talamusun arasında bağlantılar vardır. Bu bölgeler belleğin farklı türleri için önemlidir. Hayvan modelleri, nörodejeneratif hastalıklarda psikolojik ve fizyolojik temellerin anlaşılmasında çok faydalı olmuştur. ğrenme ve bellek alanındaki hayvan modelleri, hasarlı ve normal beyin işleyişinin nasıl olduğunun anlaşılmasını sağlamıştır. ğrenme ve bellek süreçlerinin değerlendirilmesi için kullanılan davranışsal testler çeşitli labirent testlerinden oluşmaktadır (Narwal ve ark. 2012).

### 2.1.7.1. Morris Su Labirenti Testi (Morris Water Maze=MWM)

MWM testi, sadece temel araştırmalar için değil, aynı zamanda ilaç geliştirme için kullanılan bilişsel işlevlerin en popüler araştırma yöntemlerinden biridir (D'Hooge ve De Deyn, 2001). MWM uzaysal belleği test etmek amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır (Vorhees ve Williams 2006). İlk kez 1981'de Morris tarafından sıçanlar için tasarlanmıştır (Morris, 1981), daha sonra farelere de uyarlanmıştır. Test, 1 gün alışma aşaması, 4 gün eğitim aşaması ve 1 gün bellek testi aşaması olmak üzere toplam 6 gün ve 3 aşamadan oluşmaktadır. Öğrenme ve hafıza yeteneklerini değerlendirmek için yüzmeye ile ilgili parametreler değerlendirilir (Morellini, 2013).

MWM opaklaştırılmış, sıcaklığı yaklaşık 25°C su ile dolu, dairesel, boyutları değişebilen fakat genellikle çapı 150 cm ve yüksekliği 45 cm olan genişçe bir su tankı ve bu tank içine yerleştirilmiş bir platformdan oluşan düzenek kullanılarak yapılmaktadır (Narwal ve ark. 2012). MWM'de tank birbirine dik hayali iki çizgi ile dört eşit kadrana bölünmektedir. Bu dört eşit kadranın birinin merkezinde bir platform bulunmaktadır. Çalışma boyunca, laboratuvarında görsel ipuçları olarak bazı nesnelere kullanılır. Platform ve ipuçları her oturumda sabit tutulur (Galeano ve ark. 2011).

Deneye başlamadan önce görünür platform ile alıştırma eğitimleri yapılabilir. Alıştırma eğitimlerinin yapıldığı aşama, hazırlık aşaması olarak kabul edilir. Hazırlıktan sonra teste başlanır. Genel protokol 6 gündür; fakat alternatif protokoller eklenebilir. İlk gün görünür platform ile alıştırma oturumu ve sonraki 4 gün gizli platform ile öğrenmeyi sağlayacak eğitim oturumu yapılmaktadır. Son gün belleğin test edildiği oturum platform kaldırılarak uygulanmaktadır. Her denemede, farklı bir başlangıç noktasından (kadrandan) başlayarak günde dört denemeden oluşan eğitim oturumu ardışık dört gün boyunca yapılır. Her bir hayvan, her gün, farklı bir kadrandan yüzü tankın duvarına bakacak şekilde suya bırakılır. Deney hayvanlarına, her denemede 60 sn platformu bulmaları için izin verilir. Platformu bulamayan deney hayvanları nazikçe platforma doğru yönlendirilir ve platform üzerine bırakılır. Denemeler arasında, hayvanların platform üzerinde 20 sn kalmalarına izin verilir. Platformu bulmada gecikme olursa bu süre kaydedilir. Deneme aralarında deney hayvanları ısıtılmış bir bölüme alınır. Son denemeden sonra kendi ortamına bırakılmadan havlu ile kurutulur. Ardışık denemeler bittikten sonra, son gün bellek testi denemesinde platform kaldırılıp, deney hayvanı farklı bir kadrandan suya

bırakılır. 60 sn içinde, daha önceden platformun bulunduğu hedef kadranda ne kadar süre geçirdiği ve ne kadar mesafe aldığı kaydedilir (Vorhees ve Williams 2006).

#### 2.1.7.2. Yeni Obje Tanıma Testi (*New Object Recognition Test = NORT*)

Yeni obje tanıma testi açık bir kutuda gerçekleştirilir. Nesnelere plastik, cam veya metalden yapılabilir. Deney hayvanı tarafından yerinden oynatılmayacak ağırlıkta olmalıdır. Mekansal versiyonda iki özdeş nesne açık alan içine yerleştirilir ve deney hayvanının nesnelere serbestçe keşfetmesi beklenir. Testin ikinci aşamasında nesnelere biri yer değiştirilir ve bundan sonra hayvan kutuya yeniden yerleştirilir. Kemirgenler, yer değiştirmemiş olanın aksine yer değiştirmiş olan nesneyi araştırmayı tercih ederler. İki nesnenin keşfiyle harcanan zaman kaydedilir ve mekansal referans belleğinin değerlendirilmesi için kullanılır. Mekansal olmayan versiyonun yürütülmesi benzer şekildedir. Bu testte iki özdeş nesnenin biri yeni bilinmeyen bir nesne ile değiştirilir. Bu tür bir testin kuramsal temeli yenilik arayışıdır. Kemirgenlerin eski (tanıdık) nesneye kıyasla yeni nesneye daha fazla keşif zamanı harcamaları beklenir (Morellini 2013).

## 2.2. Taşikininler

TK, MSS ve periferik dokularda yaygın olarak dağılan peptitlerdir. TK'nin nörotransmitterler veya nöromodulatorler olarak kabul edilmekle beraber nörotrofik benzeri etkilere de sahip olabileceği düşünülmektedir (Calvo ve ark. 1996; Nagano ve ark. 2006). MSS'de geniş çapta dağılmış TK nörodejeneratif bozukluklar da dahil olmak üzere hem fizyolojik hem de patolojik koşullarda önemli fonksiyonel bir rol oynamaktadır (Severini ve ark. 2002).

TK ailesine ait olan nöropeptitler ortak C terminali dizisi Phe-X-Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub> ile karakterizedir. Şimdiye kadar altı memeli taşikinini tanımlanmış olup bunlar substans P (SP), nörokinin A (NKA), NKB, nöropeptit K ve nöropeptit gama ve hemokinin 1 (HK1) olarak isimlendirilmiştir. Üç ayrı G protein bağlı reseptör (GPCR), taşikininin NK1R, NK2R ve NK3R olarak tanımlanmıştır. NK1R ve NK3R beyinde yaygın olarak dağılır, NK2R sadece sınırlı alanlarda bulunur. SP, NKA ve NKB sırasıyla NK1R, NK2R, NK3R'ye yüksek affinite ile bağlanır, fakat tüm taşikininlerin üç reseptöre de bağlanabilme yeteneği vardır (Maggi ve ark. 1995; Massi ve ark. 2000; Chen ve ark. 2001a, b; Severini ve ark. 2002; Saffroy ve ark. 2003; Spooren ve ark. 2005; De Souza Silva ve ark. 2006; Nagano ve ark. 2006; Siuciak ve ark. 2007, Borbely ve ark. 2013).

Karakteristik olarak, tüm TK peptitleri aminopeptitlerdir. SP, NKA ve NKB'nin aminoasit sekansı, incelenen tüm memelilerde aynı iken, HK1'in aminoasit sekansı fare, sıçan ve insan türleri arasında değişmektedir (Almeida ve ark. 2004). Memelilerde TK peptitleri esas olarak nöronal dokularda eksprese edilir (Lundberg 1996).

İlk memeli taşikinini olan SP, 1931 yılında Von Euler ve Gaddum tarafından tanımlanmış ve yaklaşık 40 yıl sonra kimyasal olarak karakterize edilmiştir (Chawla ve ark. 1997; Duarte ve ark. 2006). Memelilerde bu peptit ailesinin daha yeni üyeleri olan NKA ve NKB, 1983 ve 1984'te farklı gruplar tarafından tanımlanmıştır. Bu peptitler hem merkezi hem de periferik sinir sistemlerinde yaygın olarak dağılırlar ve MSS'de nörotransmitterler olarak rol oynamaktadırlar (Almeida ve ark. 2004). Taşikininlerin biyolojik etkilerine GPCR ailesine ait nörokinin reseptörleri aracılık

eder (Lundberg 1996; Nagano ve ark. 2006; Borbely ve ark. 2013). Hem fosfotidilinositol hidrolizini hem de cAMP sinyal kaskadını aktive ederler (Severini ve ark. 2002; Pintado ve ark. 2003). SP ve NKA, Tac1 geni tarafından kodlanırken, NKB kemirgenlerde Tac2 geni ve insanlarda Tac3 geni tarafından kodlanmaktadır (Chawla ve ark. 1997; Borbely ve ark. 2013).

Taşikininlerin ve reseptörlerinin geniş dağılımı bu sistemin önemli bir fizyolojik role sahip olduğunu göstermektedir (Almeida ve ark. 2004). TK, periferde ve MSS'de bir dizi güçlü farmakolojik etki gösterirler. MSS'de taşikininler, özellikle çeşitli periferik otonomik fonksiyonların (kan basıncı, solunum, gastrointestinal hareketlilik, vb.), duygudurum ile ilgili işlevlerin (kalıplaşmış davranış, motilite, anksiyete, saldırganlık ve ağrı) ve daha yüksek serebral fonksiyonların (öğrenme ve bellek) düzenlenmesinde rol oynayan bölgelerde bulunurlar (Severini ve ark. 2002).

SP ve NKA, MSS'de ve periferik dokuları innerve eden kapsaisin duyarlı primer afferent nöronlarda mevcuttur (Lundberg 1996). Eksitator nörotransmitter olarak hem omurilikte hem de periferik sinir uçlarından serbest bırakılırlar (Almeida ve ark. 2004). Kemirgen ve primat beyinlerinde SP immünoreaktif hücreler duygudurum, öğrenme, hafıza, motor kontrolde önemli olan amigdala, hipotalamus, hipokampus ve striatum bölgelerinde bulunmaktadır (Nagano ve ark. 2006). SP, 11 aminoasitli bir nöropeptittir (Severini ve ark. 2002). Birçok çalışma ile farklı nöronal sistemlerde SP'nin nöroprotektif aktivitesi gösterilmiştir (Yankner ve ark. 1990; Kowall ve ark. 1991). SP, santral veya sistemik olarak uygulandığında, öğrenme, hafıza, kaygı ve korku gibi süreçlerin modülasyonunda rol oynadığı gözlenmiştir (Hasenöhr ve ark. 2000). Bununla birlikte, SP'nin insan endotel hücreleri, insan ve fare Leydig hücreleri ve insan, sıçan ve fareden gelen farklı enflamatuar ve immün hücreler gibi nöronal olmayan hücrelerde de eksprese edildiği gösterilmiştir (Almeida ve ark. 2004).

NKB, MSS'de ve omuriliğin dorsal boynuzunda saptanmıştır (Massi ve ark. 2000). Son raporlar ayrıca insan, fare ve sıçan plasentası, uterusu gibi farklı tiplerde nöronal olmayan üreme hücrelerinde NKB mRNA'nın varlığını göstermiştir. HK1'in de nöronal olmayan hücrelerde eksprese olduğu bulunmuştur (Almeida ve ark. 2004). HK1, NK1R için yüksek seçiciliğe ve potansiyele sahiptir, ancak aynı zamanda NK2R ve NK3R'ye de bağlanır (Zlomuzica ve ark. 2008).

NK1R ve NK3R, memeli beyinde en yaygın şekilde eksprese edilen TK reseptörleridir (Severini ve ark. 2002). NK3R sıçanlar, kobaylar, gerbiller ve insanlar olmak üzere birçok türün MSS'de gösterilmiştir (Ding ve ark. 1996; Shughrue ve ark. 1996; Mileusnic ve ark. 1999; Almeida ve ark. 2004; Siuciak ve ark. 2007).

İnsanlarda immünohistokimyasal analizler, beyinde korteks, hipokampus ve hipotalamus bölgelerinde NK3R'nin yaygın olduğunu göstermiştir (Mileusnic ve ark. 1999). NK3R bağlanma bölgelerinin yoğun dağılımları, fare ve sıçanların öğrenme ve hafıza ile ilgili prefrontal, frontal ve anterior singulat korteksler, hipokampus, amigdala ve mediyal septum gibi beyin bölgelerinde yer almıştır (Shughrue ve ark. 1996; Duarte ve ark. 2006).

NK3R'nin memeli MSS'deki fizyolojik etkileri tam olarak bilinmemektedir. Bazı araştırmalarda bu reseptörün aktivasyonunun ACh (Arenas ve ark. 1991; Steinberg ve ark. 1995; De Souza Silva ve ark. 2000) ve DA (Marco ve ark. 1998; Salthun-Lassalle ve ark. 2005; Jocham ve ark. 2006) gibi birçok nörotransmitterin salıverilmesini etkilediği rapor edilmiştir. Bu verilere dayanarak yapılan çalışmalar NK3 reseptörünün şizofreni, Parkinson hastalığı, epilepsi, depresyon ve hafıza ile ilgili süreçlerde rol oynadığını göstermiştir (Siuciak ve ark. 2007).

### *2.2.1. Taşikinin Reseptörleri*

Taşikininlerin biyolojik etkileri NK1R, NK2R ve NK3R aracılığı ile gerçekleşir. Bu reseptörler GPCR ailesine aittir (Maggi 1995). İnsan, sıçan ve kobay NK1R 407 amino asitlik bir proteindir, NK2R ise 402 amino aside sahiptir. Her bir tür içerisinde, NK3R (sırasıyla insan, sıçan ve kobay 465, 452 ve 440 amino asit), NK1R ve NK2R'den daha fazla amino asit içermektedir. İnsan reseptörleri içindeki amino asit dizisi özdeşliğinin derecesi, NK1R ve NK2R arasında % 47, NK1R ve NK3R arasındaki % 51 ve NK2R ile NK3R arasındaki % 41'dir (Almeida ve ark. 2004; Spooren ve ark. 2005).

Taşikinin reseptörleri endojen taşikininler tarafından ılımlı seçicilik ile tanınır. SP, NKA ve NKB tüm taşikinin reseptörlerine bağlanabileceği gibi sırasıyla NK1R, NK2R ve NK3R'ye daha yüksek affinite ile bağlanırlar (Mussap ve ark. 1993; Nagano ve ark. 2006).

Artan kanıtlar nöropeptit K ve nöropeptit  $\gamma$ 'nın sadece NKA öncüleri olarak değil, aynı zamanda nörotransmitterler olarak da rol oynayabileceğini göstermektedir. Bu nöropeptitler tercihen NK2R'ye bağlanırken aynı zamanda NK1R için de yüksek afinite gösterirler (Saffroy ve ark. 2003). Son farmakolojik çalışmalar fare, sıçan ve insan türlerinde HK1'in NK1R'yi tercih ettiğini göstermektedir. TK reseptörleri, her bir tür içinde heterojen olarak dağılmıştır (Almeida ve ark. 2004). NKA'nın dağılımı SP'nin dağılımı ile benzer şekildedir (Duarte ve ark. 2006).

NK1R nöronlar, vasküler endotel hücreleri, kas ve farklı tiplerde immün hücrelerin de dahil olduğu hem merkezi hem de periferik seviyede yaygın bir şekilde eksprese edilir (Saffroy ve ark. 2003). NK1R, MSS'de sadece nöronlar üzerinde değil, aynı zamanda astrositler, mikrogliya hücreleri ve oligodendrositler üzerinde de eksprese edilir (Schable ve ark. 2010). NK2R esas olarak periferde saptanır ve beyin çekirdeğinde selektif olarak eksprese edildiği bilinmektedir (Saffroy ve ark. 2003). Bunların aksine NK3R esas olarak MSS'de eksprese edilir. NK3R insan ve sıçanlarda plasenta ve uterus, insan iskelet kası, akciğer ve karaciğer, sıçan portalı ve mezenterik ven, farklı türlerin bağırsaklarında, enterik nöronlar gibi belirli periferik dokularda da tespit edilmiştir (Almeida ve ark. 2004).

### 2.2.2. Taşikininlerin Biyolojik Etkileri

TK, periferik ve MSS içinde geniş çapta dağılır ve çeşitli biyolojik etkilere neden olur (Jha ve ark. 2013). Endojen taşikininler, her tür taşikininin reseptörünü aktive edebilir ve bu nedenle gözlenen fizyolojik etkiler ligandların ve reseptörlerin dağılımına bağlı olacaktır (Patacchini ve Maggi 2001). TK geniş dağılımları anksiyete ve depresyon gibi farklı psikiyatrik hastalıkların fizyopatolojisinde rol oynamaktadır. Strese karşı kardiyovasküler ve davranışsal tepkilerden kısmen sorumludurlar (Massi ve ark. 2000).

Deneysel veriler NK1R ve NK2R antagonistlerinin antidepresan ve anksiyolitik etkilere sahip olabileceğini göstermiştir (Griebel 1999). NK3R'nin rolü daha az bilinmektedir. Seçici NK3R agonistleri ve antagonistlerinin hem anksiyojenik hem de anksiyolitik etkiler ortaya çıkardığı bildirilmiştir (Massi ve ark. 2000).

Birkaç çalışma, ağrı iletimi ve nörojenik inflamasyonda NK2R ve NK3R'nin rol oynadığını göstermiştir. Zararlı uyaranların ardından TK, hem omurilikte hem de



periferal dokularda kapsaisin duyarlı duyuşal nöronlardan serbestlenerek ağrı, vazodilatasyon ve ödem oluşumuna neden olur (Lundberg 1996).

Son çalışmalar SP ve NK1R'nin sinir ve bağışıklık sistemindeki rolünü tartışmaktadır. SP ve NK1R farklı tiplerde immün hücrelerde eksprese edilir. SP, NK1R aracılığıyla bağışıklık sistemi üzerinde uyarıcı etkilere sahiptir (Almeida ve ark. 2004).

TK, nörodejeneratif hastalık mekanizmalarında rol oynamaktadır. TK'in amiloid proteininin hipokampal hücreler üzerindeki nörotoksik etkisini in vitro ve in vivo olarak tamamen tersine çevirebileceği gösterilmiştir (Yankner ve ark. 1990; Kowall ve ark. 1991).

TK, Parkinson ve Huntington hastalığı gibi striatumu etkileyen çeşitli nörodejeneratif bozukluklarda da değişmektedir. Bu peptitler nigrostriatal yolakta nörotransmitter olarak görev yaparlar. Neostriatumda nörokinin reseptörlerinin üç alt tipinin orta seviyeleri bulunmuştur. TK'nin striatal kolinerjik internöronlar ile özel bir etkileşimi vardır ve striatal kolinerjik nöronlar üzerindeki fonksiyonel bir etkisi de tarif edilmiştir. TK reseptör agonistleri endojen ACh'i indüklemektedir. Ayrıca, Parkinson hastalığı deneysel modelinde ACh salıverilmesini düzenlediği gösterilmiştir (Calvo ve ark. 1996).

SP, NK1R'ye yüksek affinite ile bağlanır. Sıçanlarda neokorteks, hipokampus, bazal ön beyin, amigdala ve beyin sapında yüksek yoğunlukta NK1R bulunmuştur. NK1R antagonistlerinin sıçanlara uygulanmasından sonra antinosiseptif, antidepresan ve anksiyolitik etkiler bildirilmiştir. Bu kanıtlar doğrultusunda NK1R olmayan farelerde antidepresanlarla tedavi edilen farelere benzer şekilde davranışsal testlerde strese karşı duyarlılık azalmıştır (Kart-Teke ve ark. 2007). Öğrenme ve hafıza açısından NK1R olmayan fareler, korku koşullandırma ve MWM testinde gelişme göstermiştir. Ayrıca, bu farelerin hipokampusunda artmış nörogenez ve beyin kaynaklı nörotrofik faktör seviyeleri bildirilmiştir (Morcuende ve ark. 2003). SP'nin, bazal magoselüler nükleus, lateral hipotalamus, amigdala, mediyal septal nükleus gibi çeşitli beyin bölgelerine doğrudan enjeksiyonu veya sistemik uygulanmasıyla belleği güçlendirici etki elde edilebilir (Borbely ve ark. 2013).

Nörokinin reseptörlerinden NK2R ve NK3R davranış süreçlerine etki etmektedir. NK2R agonizmi bellek kaybı ve anksiyojenik etkiye sahipken, NK3R agonistleri belleği iyileştirici ve anksiyolitik etkiler gösterir (Schable ve ark. 2012b). NK1R ve NK2R antagonistleri için anksiyolitik ve antidepresan benzeri etkiler bildirilmiştir. Ek olarak, NK3R agonistlerinin farelerde ve sıçanlarda anksiyolitik ve antidepresan benzeri etkilere sahip olduğu gösterilmişken, NK3R antagonistinin farelerde anksiyojenik olduğu bildirilmiştir. Bu bulgular, farklı TK reseptör alt tiplerinin laboratuvar hayvanlarında belleği güçlendirici, anksiyolitik ve antidepresan benzeri etkilere dahil olabileceğini ve insanlarda bellek bozukluklarının, anksiyete ve depresyonun kontrolünde NK3R'nin olası rolünü göstermektedir (Massi ve ark. 2000).

### 2.2.3. Nörokinin B ve Nörokinin 3 Reseptörü

NK3R, diğer iki taşıkinin reseptöründen daha sonra keşfedilmiştir. NKB, NK3 reseptörü için en güçlü doğal agonist olarak etki etmektedir. NK3R için seçici olan bazı agonistler, NKB'nin birincil yapısının modifikasyonu ile elde edilmiştir (Linari ve ark. 2002).

1990 yılında, kassinin ile ilişkili bir peptit, Avustralya kurbağasının (*Pseudophryne guntheri*) derisinden çıkarılmıştır. Bu peptidin, sıçan ve kobayda NKB'den daha güçlü olan ve doğal, seçici bir NK3R agonisti olduğu gösterilmiştir (Linari ve ark. 2002).

NKB, endojen NK3R ligandıdır (Wenk ve ark. 1997). NK3R bağlanma bölgelerinin dağılımına uygun olarak, sıçanlarda frontal korteks, hipokampus, olfaktor bulbus, amigdala, striatum, ventral pallidum, habenula, ve arkuat nükleusta NKB immünoreaktivitesini içeren nöronlar bulunmuştur (Marksteiner ve ark. 1992; Massi ve ark. 2000).

NK3R'nin kemirgen beynindeki dağılımı ve ekspresyon paternleri kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Maymun ve insanda yapılan otoradyografik analizde önemli bir NK3R bağlanması görülmezken (Dietl ve Palacios 1991), insan korteks ve hipotalamus dokularında yapılan immünohistokimyasal analizlerde NK3R'nin bulunduğu gösterilmiştir (Mileusnic ve ark. 1999). Prefrontal kortekste NK3R mRNA'nın miktarı yüksek olarak bulunmuştur. NK3R mRNA'nın sıçan limbik sisteminde nispeten büyük bir miktarda varlığı tespit edilmiştir (Nagano ve ark. 2006).

NK3R neokorteks, ventral tegmental alan (VTA), substansiya nigra (SN) ve hipotalamusta da yaygın olarak ifade edilmektedir (Mileusnic ve ark. 1999).

NK3R öğrenme ve hafızayı temel alan bölgeler olan frontal korteks, amigdala, mediyal septum ve hipokampusta yaygın olarak bulunmaktadır (Ding ve ark. 1996; Massi ve ark. 2000; Duarte ve ark. 2006). NK3R'nin kolinerjik nöronlar üzerinde eksprese edildiği (Chen ve ark. 2001a) ve septohipokampal kolinerjik sistemdeki bu tür nöronların NK3R agonistleri tarafından aktive edildiği gösterilmiştir (Morozova ve ark. 2008). Ayrıca NK3R agonistleri ACh salgılanmasına yol açmakta (Arenas ve ark. 1991) ve bazal ön beyin içindeki kolinerjik nöronları nörotoksisiteden korumaktadır (Wenk ve ark. 1997).

NK3R agonizminin promnestik etkisi, farelerde spontan tanıma testinde (Kameyama ve ark. 1998), farelerde (Zlomuzica ve ark. 2008) ve sıçanlarda (Schable ve ark. 2011) epizodik bellek paradigmasında tanımlanmıştır. Ayrıca, NK3R olmayan fareler, pasif kaçınma, koşullu kaçınma ve MWM testlerinde bilişsel defisitler göstermiştir (Siuciak ve ark. 2007).

Bu bulgulardan birkaç nokta ortaya çıkmaktadır. Birincisi; amigdala, prefrontal korteks, striatum, hipokampus, lokus seruleus gibi hafıza ve duygusal kontrolde yer alan ön beyin bölgelerinde NK3R'nin geniş bir dağılımı vardır. İkincisi; NK3R bağlanma bölgeleri, olfaktor bulbus, Broca'nın diyagonal bandı, prefrontal ve frontal korteks, septumun mediyal çekirdeği, ventral tegmental alan, amigdala, hipokampus, lateral hipotalamus ve ventral pallidum dahil olmak üzere beyin ödül devreleri alanlarında lokalizedir. Hipotalamus içindeki, NK3R bağlanma bölgeleri, proopiomelanokortin ile ilişkili nöronların önemli bir yerleşim yeri olan ventral tegmental bölgeye uzanan arkuat çekirdekte bulunur. Üçüncüsü; NK3R bağlanma alanlarının yoğun dağılımı rafe çekirdeklerinde ve interpedünküler çekirdekte bildirilmiştir. Bunlar NK3R ve serotonerjik mekanizmalar arasındaki olası etki mekanizmalarını akla getirmektedir. Dördüncü olarak; sıçan paraventriküler ve supraoptik hipotalamik çekirdeklerde NK3R'nin yoğun bir dağılımı bildirilmiştir. Buna göre, NK3R agonistlerinin vazopressin sekresyonu yoluyla su ve elektrolit homeostazını etkilediği gösterilmiştir (Massi ve ark. 2000).

NK3R'nin lokalize olarak bulunduğu frontal korteks, NBM içindeki kolinerjik nöronlardan yoğun kolinerjik inervasyonlar alırken (Chen ve ark. 2001a), hipokampus ise mediyal septumdan innervasyon almaktadır. Mevcut bulgular dikkate alındığında, bir MR antagonisti olan skopolaminin neden olduğu hasara karşı NK3R agonisti senktidin olumlu etkileri olduğu göz önüne alınırsa, muskarinik ACh reseptörlerinin aktivitesini modüle etmesi muhtemeldir (Schable ve ark. 2012a). NK3R agonizminin ACh üzerindeki etkisi ve reseptörün kolinerjik nöronlarda ifade edilmesi, NK3R'nin kolinerjik modülasyon yoluyla öğrenme ve hafızadaki olası rolünü desteklemektedir (Chen ve ark. 2001a; Schable ve ark. 2011).

### *2.2.3.1. Nörokinin 3 Reseptörü ve Kolinerjik Sistem*

Beyinde yaşlanma esnasında kolinerjik aktivitede düşüş gösterilmiştir. Ayrıca bazal ön beyinde kolinerjik projeksiyon nöronları yaşlı kemirgenlerde belirgin atrofiye uğrar. Atrofinin derecesi kognitif bozuklukla yüksek oranda ilişkilidir (Schable ve ark. 2011).

ACh'nin öğrenme ve hafıza süreçlerinde önemli bir rolü olduğu kabul edilmektedir. Bazal ön beyindeki kolinerjik sistemin bozulması öğrenme ve hafıza eksiklikleri ile ilişkilendirilmiştir. Kolinerjik ajanların çeşitli öğrenme paradigmalarında promnestik etkileri olduğu gösterilmiştir. Skopolamin gibi antikolinerjik ilaçlar tarafından kolinerjik blokaja dayanarak deney hayvanlarında bilişsel hasarın görüldüğü farmakolojik bir model oluşturulmuştur. Bu muskarinik ACh reseptör antagonistinin, inhibitör kaçınma, radyal labirent, su labirenti ve obje tanıma testi gibi çeşitli bilişsel testlerde eksikliklere neden olduğu bulunmuştur (Schable ve ark. 2012a).

Nörokinin reseptörlerinin striatal kolinerjik nöronların korunmasında rol oynadığı gösterilmiştir. SP, NKA ve NKB'nin, NMDA reseptör agonisti tarafından indüklenen ChAT aktivitesindeki azalmayı engellediği rapor edilmiştir. Bu sonuçlar NK2R ve NK3R agonistlerinin temel olarak striatal dilimlerdeki ACh salıverilmesinde indüksiyonunda rol oynadığını göstermektedir (Calvo ve ark. 1996).

Striatal dilimlerde ACh salınımı incelendiğinde, TK ile uyarılan kolinerjik hücrelerin NMDA reseptör agonisti toksisitesine daha dirençli olduğu gözlemlenmiştir. TK'nin neostriatumdaki kolinerjik nöronların ve nöronal aktivitenin

korunmasında etkili olduğu ve hücre sağkalımını arttırabileceği öne sürülmüş olup, aynı zamanda erişkinlerde sinaptik bağlantıların korunmasında da önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. TK'nin nöroprotektif etkisi, nöronal aktivitede bir artış ile ilişkili olabilir. TK'nin striatal kolinerjik hücreler üzerindeki nöroprotektif etkisini bu peptitlerin kolinerjik nöronları etkileyen nörodejeneratif hastalıklara terapötik yaklaşımların geliştirilmesinde yararlı olabileceğini düşündürmektedir (Calvo ve ark. 1996).

Almeida ve arkadaşları, taşıkinin peptitleri olan SP, NKA ve NKB'nin noradrenerjik ve kolinerjik eksitator nörotransmisyona aracılık ettiğini öne sürmüştür (Almeida ve ark. 2004). Mikrodiyaliz yöntemi ile yapılan bir çalışmada sıçan striatumunda TK peptitlerinin doz bağımlı bir şekilde ACh salınımını arttırdığı bildirilmiştir. SP'nin ACh salımı üzerindeki etkisine muhtemelen NK1R aracılık eder, çünkü SP'ye yanıt olarak ACh salımı NK1R antagonistleri tarafından doza bağlı bir şekilde azaltılmıştır (Guzman ve ark. 1993).

NBM'ye akut lokal NKB uygulaması kortikal ChAT aktivitesinin düşmesini önlemiştir (Wenk ve ark. 1997) ve A $\beta$  toksisitesi etkilerinin geri çevrilmesine neden olmuştur (Mantha ve ark. 2006a). Bu sonuçlar yaşlı beyinde NK3R fonksiyonlarının yararlı etkileri olduğu hipotezini desteklemektedir (Chen ve ark. 2001a).

Sıçanlarda, farelerde, çöl farelerinde ve kobaylarda çok güçlü NK3 reseptör agonisti olduğu gösterilen senktid (Massi ve ark. 2000), striatuma infüze edilince striatal ACh (Steinberg ve ark. 1995), mediyal septum içine uygulanınca hipokampal ACh artmıştır (Marco ve ark. 1998). Amigdala ve frontal korteks NBM içindeki kolinerjik nöronlardan yoğun kolinerjik innervasyonlar alırken, hipokampus mediyal septumdan kolinerjik girdi almaktadır (Mesulam ve ark. 1983b). Kobaylarda mediyal septuma senktid uygulamasından sonra hipokampusta ACh nörotransmisyonunda artış bulunmuştur (Marco ve ark. 1998). Bu durum hipokampus, amigdala ve frontal kortekste muhtemelen senktidin kolinerjik hücre gövdeleri üzerindeki doğrudan etkisine bağlıdır.

Mediyal septum, hipokampusa yönelik kolinerjik projeksiyonları ile bilinir ve en yüksek NK2R bağlanma bölgeleri olan beyin bölgelerinden biridir (Saffroy ve ark. 2003). Ayrıca NK1R ve NK3R de içermektedir (Shughrue ve ark. 1996). NK1R,

NK2R ve NK3R agonistlerinin sıçanlarda mediyal septuma enjeksiyonu ile hipokampusta artmış ACh seviyeleri bulunmuştur (Steinberg ve ark. 1998). Endojen NK1R agonisti olan SP'nin, NBM bölgesine enjeksiyonu ile frontal kortekste ACh ve davranış paradigmalarının etkilendiği bilinmektedir (De Souza Silva ve ark. 2000).

Anatomik ve biyokimyasal kanıtlar, septohipokampal kolinerjik iletimde üç TK reseptöründe rol oynadığını göstermektedir. NK1R ve NK3R, kolinerjik nöronlarda bulunmaktadır (Steinberg ve ark. 1998, Chen ve ark. 2001a-b). Septohipokampal yolun kolinerjik nöronları postsinaptik mekanizmalarla NK1R, NK2R ve NK3R agonistleri tarafından aktive edilir (Morozova ve ark. 2008).

Schable ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada endojen NK3R ligandı olan NKB hipokampusta ACh seviyelerini arttırmıştır. Frontal kortekste anlamlı bir etki görülmemiştir. Amigdala ise ACh'de önemsiz bir artış bulunmuştur (Schable ve ark. 2012b).

AChE, yaşlanma ve nörodejeneratif hastalıklar sırasında değişiklik gösteren önemli bir nörotransmitter enzimdir. AChE inhibitörleri klinik olarak AH gibi nörodejeneratif hastalıklarda kullanılmaktadır (Jha ve ark. 2013). NKB'nin de nöronal hücrelerde AChE salınımlarında etkili olduğu bildirilmiştir (Yau ve ark. 1992).

Hipokampal ACh salınımlarının artışı ile yeni nesne keşfi, mekansal öğrenme ve referans bellekteki iyileşme süreci ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, AChE inhibitörleri gibi hipokampusta kolinerjik aktiviteyi arttıran ilaçların insanlarda epizodik belleği geliştirdiği gösterilmiştir. Aksine, azaltılmış hipokampal ACh nörotransmisyonu MWM, T labirent, radyal kol labirenti ve pasif kaçınma testinde eksiklikler ile ilişkilendirilmiştir. Amigdala duygusal hafızada önemli rol oynar. ACh'nin amigdala nöronlarının aktivitesini modüle ettiği ve bu nedenle duygusal hafızanın altında yatan süreçlerde yer aldığı öne sürülmüştür. Frontal kortekste kolinerjik aktivite dikkat süreçlerinde rol oynamaktadır. Bu nedenle, ACh düzeyindeki artış, epizodik hafıza testinde gözlemlenen uzamsal yer değiştirme belleğinin geliştirilmesinde potansiyel olarak yer alabilir (Schable ve ark. 2011).

ChAT, asetilkolinerjik nöronların kaybını gösteren duyarlı bir belirteçtir ve aktivitesindeki azalma, nöronal ölüm anlamına gelir (Borbely ve ark. 2013). Bazal önbeyinde ChAT içeren nöronlar NK3R ile yerleşmiş olarak gösterilmiştir (Chen ve

ark. 2001a). Kortikal ChAT aktivitesinin NMDA ile indüklenmiş inhibisyonu, NMDA reseptör antagonisti memantin ve ayrıca NKB'nin akut uygulaması ile önlenebilir. Kullanılan her iki madde de radyal labirent testinde hayvanların performansını desteklemiştir (Wenk ve ark. 1997).

NK2R ve NK3R agonistlerinin, ChAT aktivitesini in vitro olarak arttırabileceği gösterilmiştir. Bu durum bu reseptörlerin kolinerjik hücre ölümünün inhibisyonunda etkili olabileceğini ortaya koymaktadır (Calvo ve ark. 1996).

NKA ve NKB'nin intraseptal olarak enjekte edilmesi, hipokampus ve amigdaladaki ACh seviyelerini arttırmıştır. NK2 reseptör antagonistinin uygulamasıyla da hipokampal ve amigdaladaki ACh artışı inhibe edilmiştir. Bu nedenle, hipokampusun kolinerjik nörotransmisyonunun, mediyal septumdaki NK2R aracılığıyla düzenlediği varsayılabilir (Steinberg ve ark. 1998; Schable ve ark. 2012a).

TK ve kolinerjik sistemler arasındaki etkileşimin ilk kanıtı, taşıkinin reseptörlerinin neostriatumda ACh salıverilmesine yol açabilmesiydi. NK3R, ACh salıverilmesini en yüksek derecede etkilerken NK1 reseptörü en düşük şekilde etkilemiştir (Arenas ve ark. 1991).

Substantiya nigra, ventral tegmental ve septal bölgelere senktidin lokal uygulaması ile hücre dışı DA ve ACh seviyeleri önemli ölçüde artmıştır. Bu, NK3R'nin dopaminerjik ve kolinerjik sistemlerin modülasyonunda önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir (Marco ve ark. 1998).

NK3R'nin öğrenme ve bellek mekanizması ile kolinerjik modülasyon arasındaki olası rolü çeşitli çalışmalarda NK3R'nin kolinerjik nöronlar üzerinde eksprese edilmesi ve senktid uygulaması ile striatum, hipokampus (Steinberg ve ark. 1995; Marco ve ark. 1998; Schable ve ark. 2011; De Souza Silva ve ark. 2013) amigdala ve prefrontal kortekste (Schable ve ark. 2011; De Souza Silva ve ark. 2013) ekstrasellüler ACh artışı ile ilişkilendirilmiştir.

#### 2.2.3.2. Nörokinin 3 Reseptörü ve Amiloid Beta

TK nöropeptitleri nöronal hücrelerde nörotoksin amiloidleri oluşturan A $\beta$ 25-35 ile anlamlı sekans benzerliğine sahiptir (Singh ve Maji 2012). TK'nin beyindeki oksidatif stresi azalttığı (Mantha ve ark. 2006a; Mantha ve ark. 2006b), nöronlarda

A $\beta$ 'nin nörotoksik etkilerini tersine çevirdiği ve nörodejeneratif hastalıklarda rol oynadığı bilinmektedir (Yankner ve ark. 1990; Kowall ve ark. 1991).

NKB'nin yaşlanmış sıçan beyin sinaptozomlarında A $\beta$ 25-35 tarafından tetiklenen toksisite üzerindeki nöroprotektif rolü gösterilmiştir (Mantha ve ark. 2006a).

Jha ve arkadaşlarının yaptığı farklı bir çalışmada NKB'nin östrojen ile daha etkili olduğu ve yaşlanan sıçan beyin sinaptozomlarında A $\beta$ 25-35'in neden olduğu toksisiteye karşı koruduğu ileri sürülmektedir. Ayrıca, östrojenin NKB ile yaşa bağlı nörolojik bozuklukların başlangıcını yavaşlatabileceği de gösterilmiştir. Aynı zamanda NKB'nin AChE aktivitesinde koruyucu bir rol oynadığı ve lipid peroksidatif aracılı hasarı azalttığı da gösterilmiştir. NKB'nin östrojen ile kombine edildiğinde A $\beta$  toksisitesine karşı nöroprotektif etki gösterebileceği rapor edilmiştir (Jha ve ark. 2013).

#### 2.2.3.3. Nörokinin 3 Reseptör Agonisti Senktid

Senktid (suc- [Asp6, MePhe8] SP (6-11)), N-terminali süksinik asit ile korunan ve SP (6-11) ile karşılaştırıldığında, 6. pozisyonunda bir aspartik asit ve 8. pozisyonda bir metillenmiş fenilalanin gösteren bir heksapeptittir. Kobay ve sıçan beyin zarlarında seçici bir NK3R agonistidir (Linari ve ark. 2002). Senktid sıçanlar, fareler, gerbiller ve kobaylar gibi farklı hayvan türlerinde NK3R'ye yüksek afinite göstermektedir (Massi ve ark. 2000). Osanentan ise literatürde tanımlanan ilk peptidik olmayan, güçlü ve seçici NK3R antagonistidir. Benzolatlanmış nitrojenin sterik olarak daha sert bir piperidin parçasına gömülmesiyle NK2R antagonistisi saredutanthan türetilmiştir (Spooren ve ark. 2005).

Senktidin yaş ile ilişkili bellek kaybı olan sıçanlarda epizodik hafızayı önemli ölçüde geliştirdiği rapor edilmiştir (Schable ve ark. 2011). Senktid, hafızayı güçlendirmek de dahil olmak üzere farklı davranışsal etkilere sahiptir (Kameyama ve ark. 1998; Zlomuzica ve ark. 2008).

Senktid uygulamasının striatum (Steinberg ve ark. 1995), prefrontal korteks (Schable ve ark. 2011), amigdala (Schable ve ark. 2011) ve hipokampus (Marco ve ark. 1998, Schable ve ark. 2011) bölgelerinde ACh salınımını arttırdığı bulunmuştur.



Bu etkiye muhtemelen postsinaptik mekanizmalar aracılık eder. Çünkü NK3R agonizmi bir NK3R antagonisti tarafından bloke edildiğinde septohipokampal kolinerjik yol içinde uyarıcı tepkilere neden olmuştur (Morozova ve ark. 2008).

Senktid striatuma uygulandığında striatal ACh'de artışlara neden olmuştur (Steinberg ve ark. 1995). Mediyal septuma senktid uygulamasından sonra hipokampustaki ACh nörotransmisyonunda bir artış da elde edilmiştir (Marco ve ark. 1998). NK3R'nin kolinerjik nöronlar üzerinde lokalize olduğu gösterilmiştir (Chen ve ark. 2001a).

Senktidin hipokampus ve frontal korteksteki kolinerjik aktivasyon üzerine etkisi, bu yapıları promnestik etkiler için potansiyel etki alanları olarak gösterir. Septohipokampal ve frontal korteks kolinerjik yollarının aktivasyonu ile ACh artışı ve hafızanın iyileştirilmesi senktid ve NKB tarafından oluşturulan agonizmin promnestik etkilerini desteklemektedir (De Souza Silva ve ark. 2000).

NK3R'nin davranışsal ve farmakolojik mekanizmalar ile ilişkisi kısmen bilinmektedir. Son çalışmalar öğrenme ve bellek süreçleri ile ilgisi olabileceğini göstermiştir (Siuciak ve ark. 2007; Zlomuzica ve ark. 2008). Örneğin, NK3R'nin promnestik etkileri farelerde spasyal hafıza deneylerinde gösterilmiştir (Kameyama ve ark. 1998; Zlomuzica ve ark. 2008). Ayrıca NK3R'nin harabiyeti ile spasyal bellek ve kaçınma testlerinde zıt etki gözlenmiştir (Siuciak ve ark. 2007). Farelerde yapılan bir çalışmada NK3R blokajı anksiyete benzeri davranışa neden olmuştur (Salome ve ark. 2006). Araştırmacılar, farelerde NK3R agonisti ile (Panocka ve ark. 2001), sıçanlarda ise NK3R antagonisti ile (Dableh ve ark. 2005) antidepresan benzeri etki bildirmişlerdir. NK3R agonizminin anksiyolitik etkileri olduğu düşünüldüğünden mekansal belleğin iyileştirilmesinin performanstaki stres kaynaklı eksikliklerin hafifletilmesinin bir sonucu olduğu düşünülmektedir (Kart-Teke ve ark. 2007).

NK3R, beyinde yaygın olarak bulunmakla beraber, özellikle öğrenme ve bellek süreçlerinin yönetilmesinde etkili olan hipokampus, frontal korteks, mediyal septum, hipotalamus ve amigdalada bulunmaktadır (Ding ve ark. 1996; Shughrue ve ark. 1996; Mileusnic ve ark. 1999; Duarte ve ark. 2006). Mediyal septumdaki kolinerjik nöronların en az % 66'sı NK3R'yi eksprese eder. Bu durum NKB ve kolinerjik nöronlar arasında yakın bir bağlantı olduğunu gösterir (Chen ve ark. 2001a).

NK3R ve kolinerjik sistem arasında yakın bir etkileşim vardır. NK3R, bazal önbeyin (Chen ve ark. 2001a) ChAT içeren nöronlarda lokalizedir ve yetişkin hayvanlarda septohipokampal kolinerjik sistem aktivitesinin NK3R agonistleri tarafından uyarıldığı bulunmuştur (Morozova ve ark. 2008; Schable ve ark. 2011). NK3R'nin öğrenme ve hafıza süreçlerine katılımı sıçanlarda ve farelerde gösterilmiştir (Siuciak ve ark. 2007; Zlomuzica ve ark. 2008; Schable ve ark. 2012a).

Yaşlı sıçanlarda NK3R agonisti senktidin sistemik enjeksiyonu sonrası in vivo mikrodializ ile hipokampus, frontal korteks ve amigdala incelemesinde hücre dışı ACh seviyelerinde kalıcı bir artış gözlenmiştir (De Souza Silva ve ark. 2013).

NK3 agonisti senktidin intraserebroventriküler (İSV) infüzyonu, skopolamin ile oluşturulan bilişsel defisiti spontan nesne tercih testinde geri döndürmüştür (Kameyama ve ark. 1998).

NK3R ligandı NKB'nin AChE üzerinde etkisinin olduğu ve A $\beta$ 'nin toksik etkilerini tersine çevirdiği gösterilmiştir (Mantha ve ark. 2006a). NKB'nin NBM içerisine infüzyonu, kolinerjik nöronların kaybı için spesifik bir belirteç olan ChAT aktivitesinde düşüşü engeller ve bazal ön beyin kolinerjik hücrelerinin kaybını önler (Wenk ve ark. 1997). Bu sonuçlar, mevcut verilerle birlikte, NK3R agonizminin kolinerjik işlev bozukluğuna bağlı hafıza kaybı olan modellerde oluşan iyileştirici etkileri kuvvetle göstermektedir.

NK3R'nin aktivasyonunun kolinerjik nöronlar üzerinde nöroprotektif bir etkiye sahip olması mümkündür. NK3R'nin genetik olarak inaktivasyonu spontan aktivite, ağrı duyarlılığı, anksiyete ve depresyon benzeri davranışları değerlendiren testlerde herhangi bir etki yapmadan farelerin öğrenme ve hafıza ile ilişkili testlerdeki performansını spesifik olarak arttırmıştır (Siuciak ve ark. 2007).

NK3R agonisti senktidin septohipokampal yoldaki kolinerjik nöronları aktive ettiği (Morozova ve ark. 2008), intraseptal uygulamayı takiben hipokampal (Marco ve ark. 1998) ve striatal (Steinberg ve ark. 1995) ACh salınımını arttırdığı bulunmuştur. Ayrıca striatal dilimlere NKB uygulaması ACh salınımını başlatmıştır (Arenas ve ark. 1991).

Yaşlı sıçanlarda, subkutan uygulanan senktid hipokampus, amigdala ve frontal kortekste ACh'yi arttırmıştır ve aynı zamanda anksiyolitik, antidepresan ve promnestik etkileri bulunmuştur (Schable ve ark. 2010). İSV senktid uygulamasının da farelerde anksiyolitik benzeri etkiyi indüklediği bulunmuştur (Ribeiro ve ark. 1999). Senktidin sistemik ve periferik uygulamasına bağlı olarak NK3R'nin kaygı ve öğrenme süreçlerinde modüle edici bir role sahip olabileceği ve ön beyin kolinerjik sistemlerin bu eylemlere katılmasının muhtemel olabileceği sonucuna ulaşılabilir (Schable ve ark. 2012b).

Güçlü bir NK3R agonisti olan senktidin, yetişkin ve yaşlı kemirgenlerde promnestik etkilere sahip olduğu ve öğrenme denemesinden önce uygulandığında farelerde epizodik belleği kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada, yetişkin sıçanlarda senktidin öğrenme denemesi sonrası uygulandığında bellek konsolidasyonu üzerinde olumlu etkileri gözlenmiştir (Chao ve ark. 2014).

NK3R'nin senktid uygulaması tarafından aktive edilmesi ile bazı hayvan modellerinde öğrenme ve bellek üzerine olumlu etkiler görülmesine rağmen (Zlomuzica ve ark. 2008; Schable ve ark. 2011, 2012a; De Souza Silva ve ark. 2013) nörodejeneratif hastalıklar ile ilgili hala çok az kanıt bulunmaktadır.

Senktidin sistemik uygulamasının farelerde (Zlomuzica ve ark. 2008) ve yaşlı sıçanlarda (Schable ve ark. 2011), skopolamine bağlı mekansal çalışma hafızası bozulmalarını hafifleterek epizodik belleği geliştirdiği ve sıçanlarda nesne, yer ve zamansal tanıma belleği için skopolaminin neden olduğu defisitleri iyileştirdiği gösterilmiştir (Schable ve ark. 2012a).

NK3R agonizminin hem farelerde (Zlomuzica ve ark. 2008) hem de sıçanlarda (Schable ve ark. 2011) promnestik etki gösterdiği belirlenmiştir. NK3R'nin bilişsel işlevlere katılımı, NK3R bulunmayan farelerin gösterdiği öğrenme ve hafızadaki eksikliklerle de desteklenir (Siuciak ve ark. 2007). Ayrıca, NK3R kodlayan gen TACR3 yaşlı insanlarda bilişsel performans ile ilişkili olarak bulunmuştur (De Souza Silva ve ark. 2013).

Senktidin, kemirgenlerde nesne tanıma ve epizodik hafızaya katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Zlomuzica ve ark. 2008; Schable ve ark. 2011; De Souza Silva ve ark. 2013; Chao ve ark. 2014; Chao ve ark. 2015).

NK3R agonizminin korku koşullandırma testinde hafıza konsolidasyonunun işlenmesinde rol oynadığı düşünülmüştür (Andero ve ark. 2014). NK3R'nin kolinerjik bazal ön beyin hacmiyle ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Teipel ve ark. 2015).

Senktidin yer-nesne tanıma için hafızada tercihli bir eylem olması durumunda, bu seçeneklerden herhangi birine yönelik keşif önyargısı yapıp yapamayacağı incelenmiştir. Yer-nesne tanıma için hafızanın iyileştiği gözlenmiştir. (Chao ve ark. 2014). Senktid, Parkinson sıçan modelinde geçici bellek eksikliklerini de düzeltmiştir (Chao ve ark. 2015).

NK3R, kolinerjik nöronlarla birlikte eksprese edilir (Chen ve ark. 2001a) ve senktidin sistemik uygulamasının prefrontal kortekste ve hipokampusta hücre dışı ACh'i arttırdığı bulunmuştur (Schable ve ark. 2011; De Souza Silva ve ark. 2013). Kolinerjik sistemin hafıza konsolidasyonu için kritik olduğu göz önüne alındığında senktid konsolidasyonu kolaylaştırmak için prefrontal korteksi ve hipokampusu kolinerjik sistemler yoluyla düzenleyebilir (Chao ve ark. 2014).

Konsolidasyon süreçlerinde, senktidin epizodik hafızayı kolaylaştırdığı (Chao ve ark. 2014), yaşlı hafızasını iyileştirici etkileri olduğu (De Souza Silva ve ark. 2013) ve Parkinson modelinde hafızayı geliştirdiği (Chao ve ark. 2015) gösterilmiştir.

#### 2.2.3.4. Nörokinin 3 Reseptörü ve Öğrenme

Hipokampus bellek depolama ve geri çağırma için önemli bir merkezdir. Nörodejeneratif hastalıklar, bilişsel bozukluk, depresyon ve epilepsi gibi durumlarda etkilenen önemli bir beyin bölgesidir. Kanıtlar NKB ve NK3R'nin bu hipokampus hasarına bağlı bozukluklarda rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Duarte ve ark. 2006).

Hipokampal kolinerjik nörotransmisyonun modülasyonunun, sinaptik plastisiteyi ve sıçanlarda öğrenme performansını etkilediği iyi bilinmektedir. TK'nin nöroprotektif etkilerinin hipokampustaki artmış kolinerjik nörotransmisyon ile ilişkili olabileceği rapor edilmiştir (Kart-Teke ve ark. 2007).

Yaşlanma ile beraber değişen düzeyde bellek fonksiyonlarında bir kayıp gözlenmektedir. Hafif kognitif bozukluğa sahip bireyler AH gelişimi için risk taşımaktadırlar. Yaşlı sıçanlarda bazal ön beyin kolinerjik hücrelerindeki

dejenerasyon, öğrenme ve bellek bozukluklarıyla ilişkilidir. Kolinerjik dejenerasyon ve kognitif bozukluk arasındaki ilişki benzer şekilde Alzheimer hastalarında da gözlenmektedir (Schable ve ark. 2011). Kompleks taşıkinin sistemi AH'de demansın fizyopatolojisini anlamak için önemlidir (Borbely ve ark. 2013).

Güçlü bir NK3R agonisti olan senktid doza bağımlı olarak kemirgen modellerinde epizodik hafızayı destekler ve bu sonuç NK3R'nin bellek mekanizmasındaki rolüne kanıt sağlar (Zlomuzica ve ark. 2008; Schable ve ark. 2011).

MR antagonisti olan skopolamin, spontan tercih testlerinde ve obje tanıma testinde senktid ile iyileşebilen hafıza bozuklukları oluşturmuştur (Kameyama ve ark. 1998). Bu durum, NK3R'nin kolinerjik mekanizmaların aracılık ettiği bellek iyileştirmedeki etkisini doğrulamaktadır (Schable ve ark. 2012b).

Bazı araştırma sonuçları nesnelere tanıma, nesne-yer tanıma veya nesne-zaman tanıma belleğinde, mediyal prefrontal korteksin, hipokampus ve peririnal korteksin önemli bir rol oynadığını vurgulamaktadır (Schable ve ark. 2012a). Hipokampusun nesne-yer tanıma için önemli olduğu ve peririnal korteksin nesne tanıma için kritik olduğu, ancak nesne-yer tanıma için kritik öneme sahip olmadığı bildirilmiştir (Winters ve ark. 2004). İki taraflı hipokampal lezyonlar nesne-yer tanıma hafızasında eksikliklere neden olurken, tek başına nesne tanımada herhangi bir hasar oluşmamıştır (Schable ve ark. 2012a).

Hipokampus, peririnal korteks ve prefrontal korteks nesne tanımada önemli role sahiptir (Dere ve ark. 2007; Schable ve ark. 2011; Schable ve ark. 2012a). Mekansal bellek için hipokampusun bütünlüğünün gerekli olduğu göz önüne alındığında hipokampusta NK3R aktivasyonu ile senktidin mekansal hafızadaki olumlu etkiye aracılık etmesi mümkündür. Bu olumlu etki, hipokampal ACh'nin kaynağı olan mediyal septumdaki NK3R agonizminin, hipokampusta ACh salıverilmesiyle ilişkili olabilir (Steinberg ve ark. 1995; Schable ve ark. 2010).

NK3R uyarılmasının, hipokampustaki (Marco ve ark. 1998) ve septohipokampal kolinerjik nöronlardaki (Morozova ve ark. 2008) kolinerjik sistemleri aktive ettiği, bu reseptörün antagonizmasının veya genetik olarak hasarlanmasının hipokampusta kolinerjik aktiviteyi azaltabileceği öne sürülmüştür.

### 2.2.3.5. Nörokinin 3 Reseptörü ve Anksiyete

Yaşlı insanlarda, nörodejeneratif hastalıklar genellikle duygu-durum bozuklukları ile eş zamanlıdır. Ayrıca nörokimyasal, anatomik, genetik ve farmakolojik çalışmalar duygu-durum ile öğrenme ve hafıza arasındaki ilişkiye işaret etmektedir. Bu nedenle, öğrenme ile hafızadaki yaşa bağlı gerileme ve yüksek kaygı düzeyleri arasında karmaşık bir bağlantı belirlenmiştir (Schable ve ark. 2011).

Öğrenme ve hafıza bozukluğuna ek olarak anksiyete, AH'de sıklıkla gözlenen nöropsikiyatrik bir semptomdur. Birçok davranışsal çalışmada deney hayvanlarında A $\beta$  enjeksiyonu sonrası A $\beta$ 'nin anksiyojenik davranışa neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, araştırmalar anksiyete davranışının bilişsel bozulmaya yol açabileceğini ve anksiyetenin, hipokampal sinaptik plastisiteyi baskılayarak LTP üzerinde olumsuz etkilere neden olduğunu bildirmiştir (Pinz ve ark. 2018).

NK3R, beyinde korku ve anksiyeteye aracılık ettiği bilinen amigdala, hipokampus ve mediyal septumda yaygın olarak dağılmıştır (Schable ve ark. 2011). Kemirgenlerde korteks ve hipokampusta NK3R'nin yaygın olarak bulunduğu bilinmektedir (Shughrue ve ark. 1996). Bu nedenle, senktidin zamansal ve mekansal hafıza üzerindeki yararlı etkilerine, bu beyin bölgelerinde NK3R aktivasyonunun aracılık ettiği söylenebilir (Zlomuzica ve ark. 2008).

Senktid, kobayda septuma infüzyon ile hipokampusta spasyal ve epizodik bellekte önemli olan ACh salınımı artmıştır (Marco ve ark. 1998). Senktidin bu görevdeki hafızayı iyileştirici etkilerinin olası anksiyolitik özelliklerle ilişkisi olup olmadığı şüphelidir (Zlomuzica ve ark. 2008). İSV senktid enjeksiyonunun, yükseltilmiş artı labirent testinde anksiyolitik etkilere neden olduğu da bildirilmiştir (Ribeiro ve ark. 1999).

### 2.2.4. Taşikininler ve Monoaminler

NK3R'nin aktivasyonuna ACh (Steinberg ve ark. 1995; Marco ve ark. 1998), DA (Marco ve ark. 1998) ve NA gibi birçok nörotransmitterin serbest bırakılması eşlik eder (Bert ve ark. 2002).

#### 2.2.4.1. Dopamin

NK3R beynin limbik bölgelerinde belirgin bir şekilde eksprese edilir (Ding ve ark. 1996). NK3R SN, VTA, neokorteks, striatum ve habenular çekirdeklerde yüksek yoğunlukta bulunur. NK3R, SN ve VTA'da dopaminerjik hücrelerde lokalizedir (Jocham ve ark. 2006).

Ventral mezensefalik dopamin nöronlarındaki NK3R ekspresyonu, NK3R'nin DA fonksiyonunu etkileyebileceğini göstermektedir. Bu hipotez elektrofizyolojik ve biyokimyasal kanıtlar ile desteklenmiştir (Spooren ve ark. 2005).

SN, VTA ve septal bölgelere NK3R agonisti olan senktidin lokal olarak uygulanması, hücre dışı dopamin ve ACh seviyelerini önemli ölçüde arttırmaktadır (Marco ve ark. 1998; Jocham ve ark. 2006). Aynı bölgelere NK3R antagonisti uygulamasıyla da SN ve VTA'da DA salıverilmesinin azaldığı görülmüştür (Marco ve ark. 1998). Bu durum, NK3R'nin dopaminerjik ve kolinergik sistemlerin modülasyonunda önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir (Marco ve ark. 1998; Jocham ve ark. 2006).

NK3R'nin ayrıca orta beyindeki dopaminerjik nöronlar üzerinde bulunduğu da bilinmektedir. Orta beyinde bulunan NK3R'nin endojen ligand NKB veya spesifik agonist senktid ile aktivasyonu, striatum ve prefrontal korteksten dopamin salıverilmesini artırır. NK3R stimülasyonunun dopaminerjik nöronlar üzerindeki bu etkisi NK3R'nin DA salınımı sağlayabildiğini göstermektedir (Marco ve ark. 1998; Nordquist ve ark. 2008).

NK3R stimülasyonunun dopaminerjik nöronlar üzerindeki etkisiyle DA salıverilmesini ve katekolaminleri modüle ederek antipsikotik etki için bir mekanizma oluşturabilir. NK3R antagonistleri osanetant ve talnetant klinik testlerde bu bulguları desteklemiştir (Spooren ve ark. 2005).

NK1R ve NK3R agonistleri in vitro koşullarda, dopaminerjik hücrelerin hayatta kalmasını sağlamıştır. Parkinson hastalığında dopaminerjik hücre ölümüne karşı NK3R agonistlerinin potansiyel pozitif etkileri görülmüştür (Salthun-Lassalle ve ark. 2005).

Veriler, senktidin ventral mezensefalona ve SN pars kompaktaya lokal olarak uygulanmasının, nükleus accumbens, prefrontal korteks ve striatum gibi ilgili hedef bölgeler boyunca hücre dışı DA konsantrasyonlarını önemli ölçüde arttırdığını göstermektedir. Senktid ve NKB, DA'nın spontan salınımını konsantrasyona bağlı bir şekilde arttırmıştır. Bu etki osanetant tarafından bloke edilmiştir. Birlikte ele alındığında, bu veriler senktid bağımlı DA çıkışının DA nöronlarının uyarılmasının doğrudan bir sonucu olduğu görüşünü desteklemektedir (Spooren ve ark. 2005).

#### 2.2.4.2. *Noradrenalin*

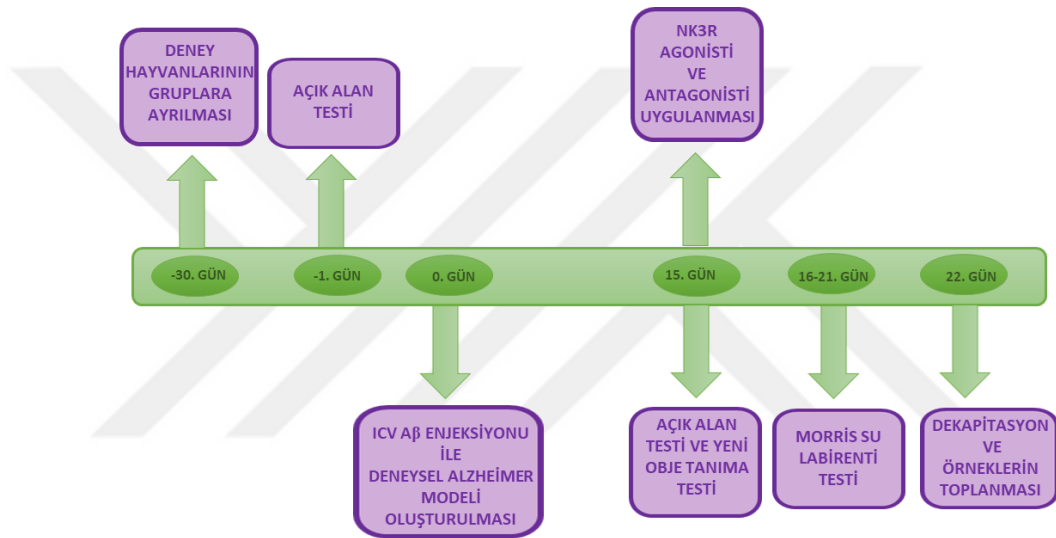
Lokus seruleus diyagonal bandında NK3R'nin orta derecede yoğunluğu gözlenmiştir (Massi ve ark. 2000).

Senktid kobaylarda, lokus seruleus kesitlerine uygulandığında noradrenerjik nöronları aktive etmiş ve İSV enjeksiyon ile mediyal prefrontal kortekste NA salınımı artmıştır. Bu etki NK3 antagonisti ile bloke edilmiştir (Jung ve ark. 1996). Bu durum, NK3R'nin noradrenerjik sistemlerin modülasyonunda rol oynayabileceğini akla getirmektedir.



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 30.09.2016 tarihli ve 2016-050 karar sayısı ile onaylanmıştır ve çalışmadaki bütün uygulamalar etik kurul protokolüne uygun şekilde gerçekleştirilmiştir. Deneyler Şubat 2018-Nisan 2019 tarihleri arasında yapılmıştır. Enjeksiyonlar, davranış ve bellek testleri Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM'da, HPLC analizleri Fizyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda, ELISA analizleri Biyokimya Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Deney dizaynı şematik gösterimi.

#### 3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada 12 aylık 50 adet erkek Wistar albino türü sıçan kullanılmıştır. Sıçanların bakım ve beslenmeleri Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır. Sıçanlar rahatça hareket edebilecekleri, yem ve su kaplarının olduğu plastik kafeslerde barındırılmış, yem ve suları *ad-libitum* olarak verilmiştir. Kafeslerin temizliği haftalık olarak yapıp, altlık olarak talaş kullanılmıştır. Hayvanlar standart laboratuvar şartlarında 12 saat aydınlık/karanlık periyodunda oda sıcaklığında ( $22\pm 1$  °C) muhafaza edilmiştir.

Hayvanlar 5 gruba ayrılmıştır:

- 1) Kontrol grubu (K, n=10)
- 2) Alzheimer grubu (AH, n=10)
- 3) Alzheimer+NK3 reseptör agonisti (Senktid) uygulanan grup (AHS, n=10)
- 4) Kontrol+NK3 reseptör agonisti uygulanan grup (KS, n=10)
- 5) Alzheimer+NK3 reseptör agonisti+NK3 reseptör antagonisti (Osanetant) uygulanan grup (AHSO, n=10)

### 3.2. İlaçların Hazırlanması

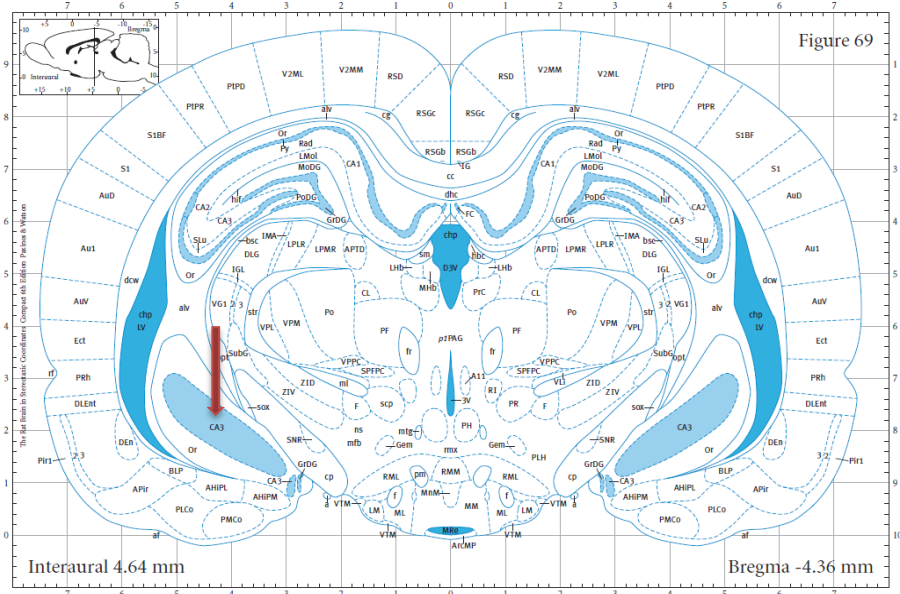
Sıçanlarda deneysel Alzheimer modeli oluşturmak için A $\beta$ 1-42 (Sigma-Aldrich, ABD) kullanıldı. A $\beta$  peptidi serum fizyolojik içinde çözüldü. 72 saat süreyle 37 °C'de inkübasyona bırakılıp bekletilerek İSV enjeksiyon için hazır hale getirildi.

NK3R agonisti senktid ([süksinil-Asp6-N-Me-Phe8] SP6-11; Bachem, Almanya) fosfat tamponlu fizyolojik salin (PBS) içerisinde % 5 dimetilsülfoksit ile çözüldü. Enjeksiyon hacmi 1 ml/kg olarak belirlendi. NK3R antagonisti osanetant (SR142801, Sigma Aldrich, ABD) % 0.01 Tween 80'de (Sigma-Aldrich, Steinheim, Almanya) ultra saf su içinde çözüldü. Senktid ve SR142801, 1 mg/kg vücut ağırlığı hacminde hazırlandı. Sistemik olarak senktid 0.2 mg/kg dozunda subkutan ve osanetant 6 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak uygulandı. Antagonist grubunda senktid, osanetant uygulanmasından 1 dakika sonra enjekte edildi. Kontrol hayvanlarına çözücü enjekte edildi. Dozlar, öğrenme ve bellek testlerinde iyileştirici etki gösteren önceki çalışmalar göz önüne alınarak belirlendi (Zlomuzica ve ark. 2008; De Souza Silva ve ark. 2013; Schable ve ark. 2011, 2012a, b; Chao ve ark. 2014, 2015). Tüm ilaç çözeltileri, deney gününde taze olarak hazırlandı. Hayvanın belirli bir bölgesine zarar vermemek amacıyla, enjeksiyonlar farklı bölgeler tercih edilerek yapıldı.

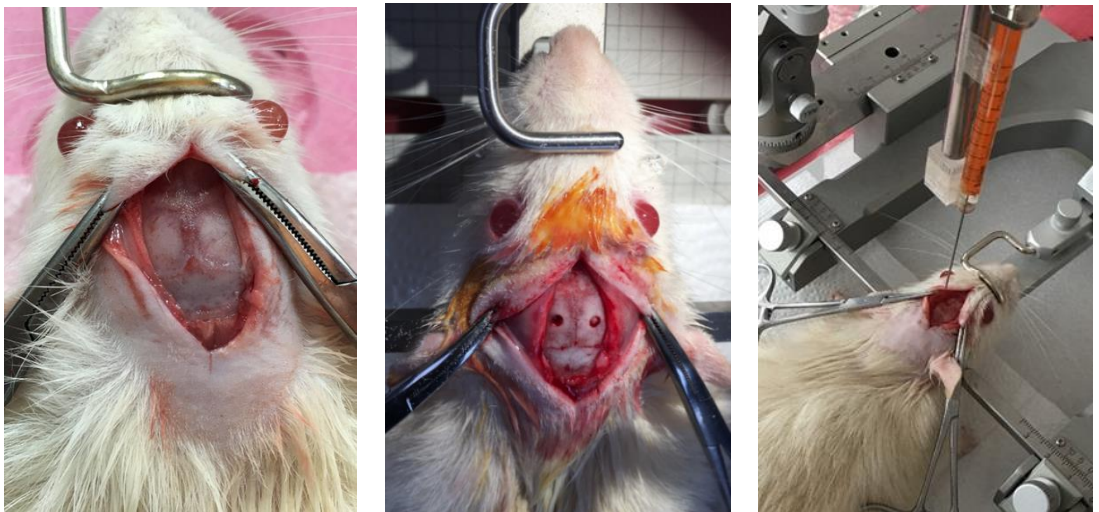
### 3.3. İlaç uygulamaları

İSV uygulama öncesinde hazırlanan ketamin (100 mg/kg) ve xylazine (5 mg/kg) kombinasyonu tüm sıçanlara intraperitoneal yolla uygulanarak anestezi oluşturulmuştur. Alzheimer modeli oluşturulacak sıçanlara (AH, AHS ve AHSO) A $\beta$ 1-42 peptidi (2,2 nmol/10 $\mu$ l) İSV olarak uygulanmak üzere hazırlanmıştır. Anestezik madde verildikten sonra stereotaksik cihaza yerleştirilen sıçanların kafası

cihazın kulak çubuklarıyla sabitlenmiştir. Sıçanların kafa derisi orta hattın bistiği ile kesilerek açıldıktan sonra referans nokta olan Bregma tespit edilmiştir. Aβ peptidi bilateral olarak hipokampusun CA3 bölgesine (AP: -4.36mm, ML: -4.4 mm, ve DV: -8.0 mm, Paxinos ve Watson 2009) (Resim 3.1) mikro enjektör (1µl Hamilton) kullanılarak 1µl/dak hızında enjekte edilmiş, enjektör 5 dakika boyunca belirlenen bölgede bırakılmıştır. K ve KS gruplarında bulunan sıçanlara aynı miktarda serum fizyolojik İSV olarak enjekte edilmiştir (Resim 3.2).



Resim 3.1. Bregma -4.36 mm koronal düzleme ait sterotaksik koordinatlar (Paxinos ve Watson 2009)



Resim 3.2. Deney hayvanlarının sterotaksik cihaza yerleştirilmesi ve İSV enjeksiyonunun uygulanması.

Cerrahi işlemden sonra 3 gün süreyle sıçanlara lokal olarak antienflamatuar ve analjezik uygulanmıştır (Resim 3.3). Davranış ve bellek deneylerinin başladığı 15. gün hayvanlara öncelikle NK3R agonisti senktid subkutan yolla enjekte edilmiş, bir gruba da önce NK3R antagonisti osanetant ve daha sonra senktid deney sonuna kadar uygulanmıştır.



Resim 3.3. Deneysel hayvanların İSV enjeksiyon sonrası iyileşme süreci.

#### 3.4. Ağırlık Takibi

Deneyin 0. günü ve 22. günü tüm hayvanlar tartılarak ağırlık takipleri yapılmıştır.

#### 3.5. Davranış ve Bellek Testleri

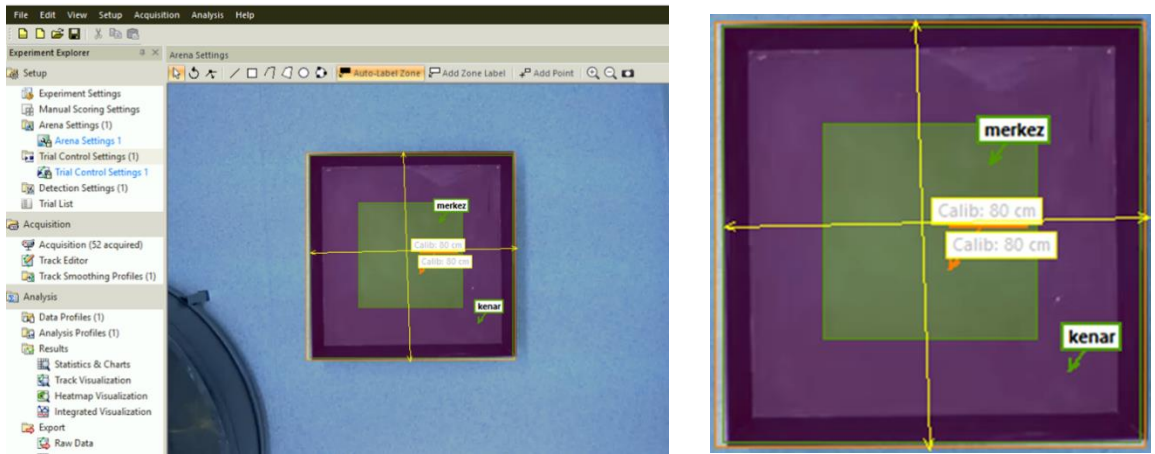
Hayvanların lokomotor aktivitesini, anksiyete benzeri davranışlarını, mekansal belleklerini, kısa ve uzun süreli hafızalarını değerlendirmek amacıyla OF test, MWM ve NORT yapılmıştır. NORT testinin kısa süreli bellek aşaması 13:00-17:00 saatleri arasında; NORT testi tanıma, NORT testinin uzun süreli bellek aşaması, OF test ve MWM 09:00-12:00 saatleri arasında gerçekleştirilmiştir. Aynı gün birden fazla davranışsal testin yapıldığı günlerde testler arasında 2 saat süre bırakılmıştır. Hayvanlar testten en az bir saat önce testin yapılacağı odaya getirilip ortama adaptasyonu sağlanmıştır.

##### 3.5.1. Açık Alan Testi

OF testi, genellikle kemirgenlerde keşif ve lokomotor aktivitelerin değerlendirilmesi için kullanılmaktadır. OF testi aynı zamanda hayvanın merkezde

geçirdiği süre, süslenme süresi, şahlanma ve defekasyon sayısı gibi parametrelerin ölçülmesiyle anksiyete değerlendirilmesinde de kullanılır (Valvassori ve ark. 2013). Sıçanlar kendileri için yeni olan bir çevreye girdiklerinde korumalı olarak gördükleri kenar kısımları tercih ederler. Bu korumalı alanlarda gezinerek diğer alanları keşfetmeye çalışırlar. Keşfetmek için şahlanma ve süslenme gibi davranışlar sergilerler (Aykaç ve ark. 2015).

Deney başlangıcında ve sonunda hayvanların lokomotor aktivitelerini, anksiyete ve depresyon benzeri bazı davranışları değerlendirmek amacıyla OF testi yapılmıştır. Kullanılan OF testi aparatı 80x80x30cm ebatında kare siyah pleksiglas malzemeden üretilmiştir. Özel yazılım programı (Ethovision Video İzleme Sistemi XT11, Hollanda) ile bağlantılı video kayıt sistemi ile tüm testler uygulamaları kaydedilmiştir (Resim 3.4). Yazılım programı ile test aparatında merkez ve kenar olmak üzere iki bölge belirlenmiştir. Merkez bölgesi tüm alanın yarısı olacak şekilde (40x40 cm) ayarlanmıştır. Sessiz kabin içerisinde, loş ışıkla tavadan aydınlatılan bu aparata hayvanlar tek tek ve hep aynı köşesinden koyularak 5 dakika süresince katettiği mesafe (cm), hız (cm/s), kenardan merkeze giriş sayısı parametreleri özel yazılım programı ile hesaplanmıştır. Video kaydı yapılan her testte hayvanların şahlanma (rearing) ve süslenme (grooming) davranışları manuel olarak skorlanmıştır. Test sabah saat 9:00 ile 12:00 arasında gerçekleştirilmiştir. Test aparatı her hayvandan sonra % 10 luk etil alkol solüsyonu ile temizlenmiştir.



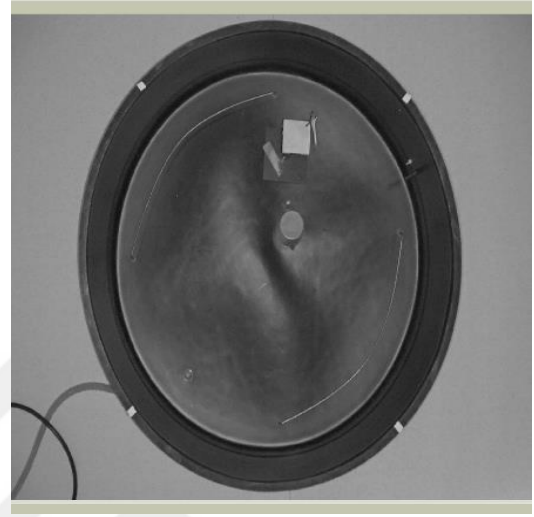
Resim 3.4. Ethovision yazılım programı ile OF deneysel dizaynı.

### 3.5.2. Morris Su Labirenti Testi

MWM düzeneği; çapı 180 cm metre derinliği 60 cm olan daire şeklinde bir havuz, su yüzeyinin 2 cm altında saklı bulunan 10x10 cm boyutunda bir platformdan oluşmaktadır (Resim 3.5). Su tankı platformun görülmemesi için siyah boya ile karartıldı. Deney düzeneğinin bulunduğu oda dışarıdan ışık almayacak şekilde düzenlendi ve deney süresince içerisi sabit bir ışık kaynağıyla aynı şiddette aydınlatıldı. Deneyin yapıldığı odanın duvarlarına denekler için ipucu oluşturabilecek farklı şekiller asıldı. Deneyin sürekli aynı ekiple yapılmasına, deney süresince aynı giysilerin giyilmesine, odada sessiz olunmasına ve denekler için ekstra bir uyarı oluşturulmamasına dikkat edildi. Test tüm hayvanlar için her gün sabah saat 9:00 ile 12:00 arasında gerçekleştirilmiştir.

Bütün sıçanlara, kendi deney günlerinden bir gün önce alışma (*habituation*) yüzmesi yaptırıldı. Alışma gününde platform suyun 1 cm üzerinde görünür şekilde tutuldu. Hayvanlar 60 sn boyunca yüzdürüldü ve platformu bulamayan hayvanlar platformun üzerine bırakılarak 20 sn süresince orada bekletildi. Platform, eğitim yüzdürmelerinin (*trial*) yapıldığı günlerde sabit bir noktada tutuldu, bellek testinin (*probe*) yapıldığı gün ise platform havuzdan çıkarıldı. Deneyin eğitim yüzdürmelerinde sıçanlar her gün ardışık olarak 4 kez farklı yönlerden havuza bırakıldı. Sıçanların 60 saniye içinde saklı platformu bulmaları beklendi. Platformu bulduktan sonra platform üzerinde yaklaşık 15 saniye kalmaları sağlandıktan sonra havuzdan alındılar. 60 saniye içinde platformu bulamayan sıçanlara yardım edilerek platformu bulmaları sağlandı ve yaklaşık 15 saniye platform üzerinde kaldıktan sonra havuzun dışına alındılar. Bellek testinde platform havuzdan çıkarıldı ve sıçanlar 60 saniye boyunca yüzdüler.

Tüm yüzme eğitimleri havuzun merkezi hizasında tavana yerleştirilen bir video kamera ile bilgisayara aktarılmış ve özel yazılım programı ile tüm testler kayıt edilmiştir (Resim 3.6). Toplam kat ettiği mesafe, platforma ulaştığı ilk süre, hedef kadranda geçirdiği süre, hız parametreleri hesaplanmıştır.



Resim 3.5. MWM testi deney düzeneği.



Resim 3.6. Ethovision yazılım programı ile MWM testi deneysel dizaynı.

### 3.5.3. Yeni Obje Tanıma Testi

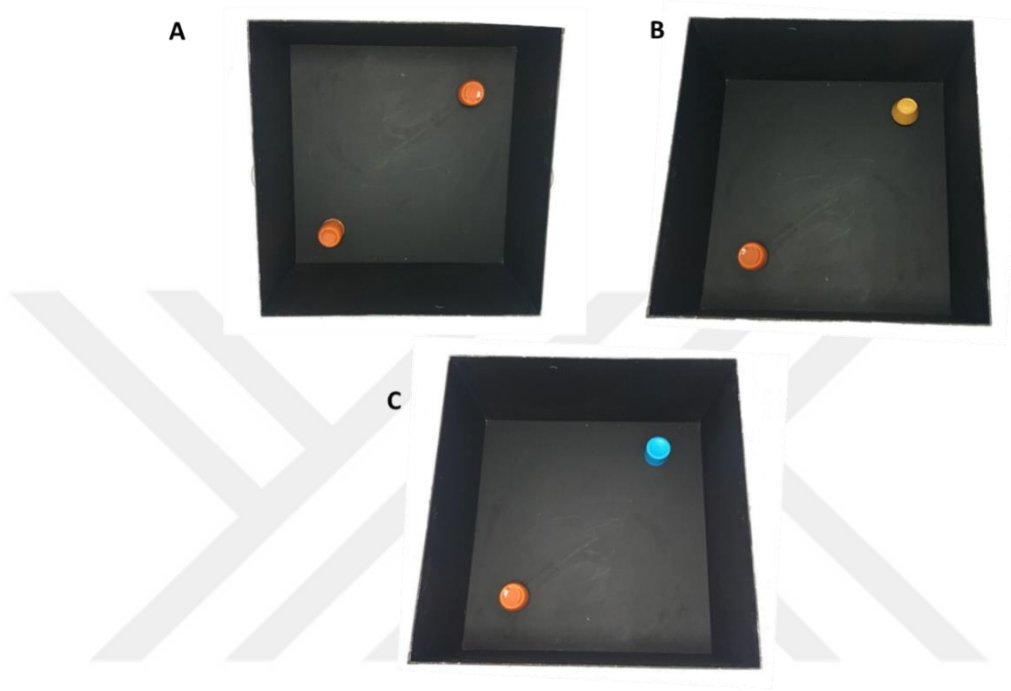
NORT ile sıçanların kısa ve uzun süreli görsel hafızasını test etmek amaçlanmıştır. Test, alışma (habituation), tanıma (retention), kısa süreli bellek test seansı ve uzun süreli bellek test seansı olmak üzere 4 aşamadan oluşmaktadır (Resim 3.7). Her bir aşama süresi 5 dk'dır. NORT tüm aşamaları 80x80x40 cm ebatındaki siyah pleksiglas OF testi aparatında yazılım programı (Ethovision Video İzleme Sistemi XT11, Hollanda) ile video kaydı yapılarak gerçekleştirilmiştir (Resim 3.8). Tanıma ve test aşamalarında birbirine özdeş boyutlarda farklı renklerde nesnelere (A1, A2, A3, A4, B ve C nesnelere) kullanılmıştır. A1, A2, A3 ve A4 birbirinin aynı; B ve C ise farklı renk ve şekilde objelerdir. Alışma aşaması hayvanların testin yapılacağı aparat boşken tanınması şeklindedir. Deneyin 22. gününde yapılmış olan OF testinde NORT ile aynı aparat kullanıldığından, bu test aynı zamanda alışma aşaması şeklinde sayılmıştır. Alışma evresinden 24 saat sonra, tanıma aşamasında OF test aparatı içine kenarlara 15 cm uzaklıkta olacak şekilde karşılıklı iki köşede zemine A1 nesnesi (9 cm çapında turuncu silindir kutu) ve A2 nesnesi (9 cm çapında turuncu silindir kutu) sabitlenmiştir. Kısa süreli bellek testinde, karşılıklı köşelere A3 nesnesi (9 cm çapında turuncu silindir kutu) ve B nesnesi (9 cm çapında ve 8 cm yüksekliğinde sarı konik şekilli kutu) yerleştirilmiştir. Uzun süreli bellek testinde ise A4 nesnesi (9 cm çapında turuncu silindir kutu) ve C nesnesi (9 cm çapında ve 8 cm yüksekliğinde mavi silindir kutu) kullanılmıştır. Nesnelere yerleştirildiği tüm aşamalarda yazılım programı (Ethovision Video İzleme Sistemi XT11, Hollanda) aracılığıyla nesnelere etrafında 3 cm'lik bir alan (9 cm çaplı nesne için 15 cm çaplı bir alan) seçilmiştir ve hayvanların nesnelere 3 cm ve daha az mesafede yakın olduğu süreler kaydedilmiştir. Hayvanların nesnelere 3 cm ve daha yakın olması, o nesneyi keşfi olarak değerlendirilmiştir. Yazılım programına hayvan tanıtılırken nesneye mesafesi gibi gerekli parametrelerin ölçülebilmesi için hayvanın burnu referans noktası olarak seçilmiştir. Sıçanlar test aparatına nesnelere olmadığı bir köşeden ve hep aynı köşeden bırakılmıştır. Tanıma evresinden 4 saat sonra kısa süreli bellek test seansı, 24 saat sonra uzun süreli bellek test seansı yapılmıştır. Tanıma evresinde, test bitiminde hayvan sabit nesne olan A nesnesi ile 6-8 s kadar temas ettirilmiştir. Tüm testler arasında koku etkileşimini önlemek amacıyla nesnelere ve test aparatı % 10'luk etil alkol ile temizlenmiştir. Ethovision programından elde edilen sıçanların nesnelere geçirdikleri süre verileri ile



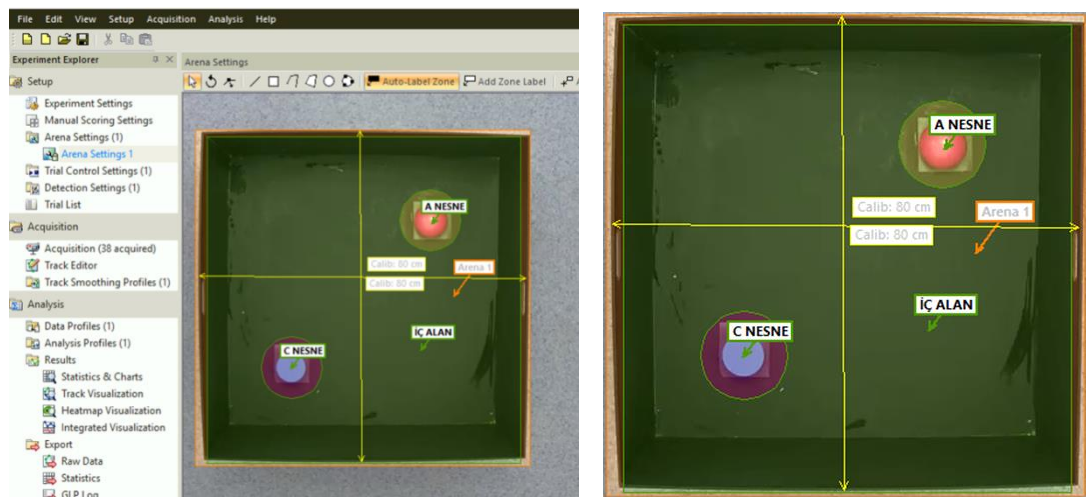
yeni nesneyi tanıdık nesneden ayırt etme becerisi olan ayırım indeksi ve hafızaya aldığıının göstergesi olan tanıma indeksi aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:

$$\text{Tanıma indeksi} = \frac{\text{Yeni nesne}}{\text{Yeni nesne} + \text{Tanıdık nesne}}$$

$$\text{Ayırım indeksi} = \frac{\text{Yeni nesne} - \text{Tanıdık nesne}}{\text{Yeni nesne} + \text{Tanıdık nesne}}$$



Resim 3.7. NORT deney düzeneği: A. NORT tanıma evresi. B. NORT kısa süreli bellek evresi. C. NORT uzun süreli bellek evresi.



Resim 3.8. Ethovision yazılım programı ile NORT deneysel dizaynı.

### 3.6. Deneyin Sonlandırılması ve Dokuların Alınması

Enjeksiyonlar ve davranışsal testler bittikten sonra hayvanlar ketamin hidroklorür (80 mg/kg) ve ksilazin (8 mg/kg) kas içi enjeksiyonu yapılarak anesteziye alındı ve kardiyak ponksiyon ile kanları jelli tüplere aktarıldı. Anestezi altında hayvanlar dekapite edilerek, kuru buz üzerinde beyin dokusunun hipokampus, korteks ve beyin sapı kısımları Paxinos ve Watson sıçan beyin atlasına göre ayrıldı ve tüpler içine koyuldu. Alınan kandan 4000 devirde 5 dk. santrifüj edilerek serum elde edildi. Tüm dokular analizleri yapılncaya kadar -80 °C' de muhafaza edildi.

### 3.7. ELISA analizleri

Sıçan hipokampus ve korteks dokuları ayrı ayrı soğuk fosfat tamponu dolu ependorf tüplerine konulmuştur. Aynı gruptaki sıçanların her bir hipokampus ve korteks doku örneği tartılıp yeterli çalışma örneğini sağlamak üzere üçer üçer birleştirilmiştir. Proteaz inhibitör kokteyli içeren homojenizasyon tamponu içerisinde cam homojenizasyon aparatıyla 20 darbe ile parçalanmıştır. Tüm homojenizasyon basamakları soğuk zincire uygun olarak yapılmıştır. Homojenatlar 10.000 g'de ve +4 °C'de 15 dakika süreyle Hettich Rotina 46R (Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Almanya) marka soğutmalı santrifüj cihazı kullanılarak santrifüj edilmiş ve iki parça olacak şekilde porsiyonlanarak -80 °C'ye kaldırılmıştır.

Parametrelerin çalışılma gününde sıçan hipokampus ve korteks doku homojenatlarında Rat Choline Acetyltransferase (Katalog numarası: MBS161266, Sensitivitesi: 0,01 ng/mL, % CV: <10) ve Rat Acetylcholinesterase (Katalog numarası: MBS725468, Sensitivitesi: 1 pg/mL, % CV: <10) seviyeleri (MyBioSource, San Diego, CA, USA) marka kitler kullanılarak üretici talimatlarına uygun olarak çift antikor sandviç ELISA yöntemi ile ölçüldü.

Sıçan hipokampus ve korteks dokularında protein seviyeleri Pierce bicinchoninic acid-BCA (Thermo Scientific, Illinois, ABD) kitleri kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile ölçüldü.

Sıçan hipokampus ve korteks dokularında parametre seviyeleri sonuçları protein konsantrasyonlarına bölünerek standardize edildi.

ELISA kitlerinin yıkama sürecinde Biotek ELX 50 mikropate yıkayıcı (BioTek Instruments, Vermont, ABD) kullanıldı. Spektrofotometrik ölçümlerde Bio-rad Mikropate absorban okuyucu xMark (Bio-rad Laboratories, California, ABD)

sistemi kullanılarak absorban konsantrasyon kalibrasyon grafiklerine göre sonuçlar hesaplandı.

### 3.8. Monoaminlerin Analizi

Beyin sapı dokularında NA ve DA monoaminleri ve bunların metabolitleri olan dihidroksifenil glikol (DHPG) ve dihidroksifenilasetik asit (DOPAC) konsantrasyonlarını belirlemek amacıyla dokular tartıldı ve 1 ml 0.1 M hidroklorik asit ile karıştırılarak cam homojenizatör ile homojenize edildi. Homojenatlar +4 °C'de 14000 devirde 15 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatantları ayrıldı. Süpernatantlar 0.2 µm'lik mikrofiltreden geçirilerek HPLC'de analize hazır hale getirildi.

Beyin sapı dokularında DHPG, NA, DOPAC ve DA düzeyleri HPLC kullanılarak analiz edildi (HPLC, Agilent Technologies 1260 marka; 250x4.6 mm'lik C18 ODS analitik HPLC kolonu). HPLC analiz aralığı 5 olarak ayarlandı. Kolon fırınının sıcaklığı 40 °C olarak sabitlendi. Analiz yapılmayan sürelerde HPLC'deki akım hızı 0.2 ml/dk iken, analizlere başlanmadan önce 1 ml/dk.'ya çıkarıldı. Elektrokimyasal dedektörün (Waters 2465 elektrochemical) cell (hücre) bölümü açık pozisyondayken en az 1 saat süreyle, analiz referans hattının 0'a gelmesi için (dengelenme süreci) beklendi. Enjeksiyonlar 20 µl hacimde (Hamilton enjektörüyle) gerçekleştirildi. Numune enjeksiyonları arasında cihazın enjeksiyon ünitesi metanol ile yıkandı.

Enjekte edilen numunenin sistem içinde taşınmasını sağlayan mobil faz, pH'sı 4.9 olacak şekilde 1 lt ultra distile su içerisinde aşağıdaki maddeler ile hazırlandı:

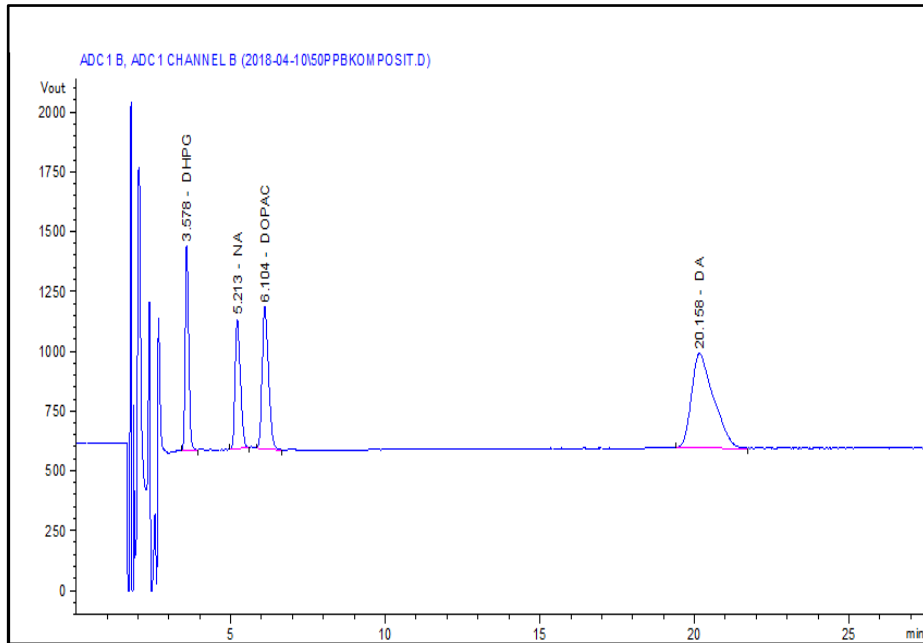
- Sitrik asit (Sigma- Aldrich) (32 mM)
- Sodyum sitrat (Sigma Aldrich, ABD) (16 mM)
- Sodyum 1- heptanosülfonik asit (Sigma Aldrich, ABD) (0.9 mM)
- EDTA (Sigma Aldrich, ABD) (0.16 mM)
- Tetrahidrofur (VNR) (36 mM)
- Glasiyal asetik asit (Merc, Almanya) (0.02 mM)
- Methanol (Sigma Aldrich, ABD) (0.616 mM)

Mobil faz çözeltisi, por çapı 0.2 µm'lik mikrofiltrelerden geçirildi.

Katekolamin standartları ayrı ayrı enjekte edilerek piklerin meydana geliş süreleri belirlendi. NA ve metaboliti DHPG ile DA ve metaboliti DOPAC'nin pik geliş süreleri sırasıyla dakika olarak 3.578 dk. DHPG, 5.213 dk. DOPAC, 6.104 dk. NA ve 20.158 dk. DA kaydedildi. Deteksiyonu yapılan monoaminler ve metabolitlerin standart çözeltileri tek tek sisteme verilerek monitörde ortaya çıkan piklerin görünme zamanları kaydedildi ve hangi maddenin hangi zaman diliminde ortaya çıktığı belirlenmiş oldu (Resim 3.9). Dokulardan hazırlanan numuneler sisteme enjekte edildikten sonra monitörde görülen pikler, standart pikleriyle karşılaştırılarak hangi madde oldukları saptandı.

Deneylerde numuneler analiz edilmeden önce, her bir katekolamin için DHPG 0.1-10 ppb/20µl, NA 0.1-10 ppb/20µl, DOPAC 0.1-10 ppb/20µl, DA 0.1-10 ppb/20µl arasında 5 farklı doz uygulanarak standart eğriler hazırlandı. Tüm standartlar için belirtilen dozlarda uygulamalar yapılarak HPLC'de çıkan alanlara karşılık gelen konsantrasyon miktarı hesaplandı (Tablo 3.1)

Dokularda hesaplanmış olan konsantrasyon sulandırma faktörü ile çarpılarak doku ağırlığına bölündü. Monoaminler ve metabolitlerinin konsantrasyonları pikogram (pg) amin/ mg yaş doku ağırlığı şeklinde ifade edildi.



Resim 3.9. Katekolamin standartları 50 ppb konsantrasyon traseleri. 2-3. dk. arasındaki solvent front, 3.578 dk. DHPG, 5.213 dk. DOPAC, 6.104 dk. NA ve 20.158 dk. DA ait pikler.

Tablo 3.1. Katekolaminlerin farklı standart konsantrasyonlarının HPLC' de oluşturdukları pik alanları.

NA		DHPG	
DOZ (ppb/20ul)	PİK ALAN	DOZ (ppb/20ul)	PİK ALAN
0.1	363.26	0.1	31.898
0.5	464.63	0.5	54.834
1	640.32	1	83.134
5	1117.8	5	296.06
10	1841.2	10	961.91
DOPAC		DA	
DOZ (ppb/20ul)	PİK ALAN	DOZ (ppb/20ul)	PİK ALAN
0.1	88.651	0.1	9.107
0.5	128.64	0.5	69.255
1	210.47	1	130.66
5	799.2	5	332.58
10	1882	10	661.78

### 3.9. İstatistiksel Analiz

Çalışmanın istatistiksel analizleri SAS University Edition 9.4 programı ile gerçekleştirildi. Değişkenlere ilişkin tanımlayıcı istatistikler verildi. Sayısal değişkenler için ortalama±standart hata (ORT±SH), niteliksel değişkenler için frekans ve yüzde değerleri verildi. Sayısal değişkenlerin analizinde deney hayvanı etkisinin rastgele etki olduğu karma etki modelleri kullanıldı.  $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.0001$ . anlamlı kabul edildi. Anlamlı çıkan etkiler için en küçük kareler ortalamaları karşılaştırmaları yapıldı. Bu işlemler yapılırken gerekli olduğunda Tukey-Kramer düzeltmesi kullanıldı. İlgili değişkenlerin en küçük kareler ortalamalarına ait standart hata grafikleri çizildi.

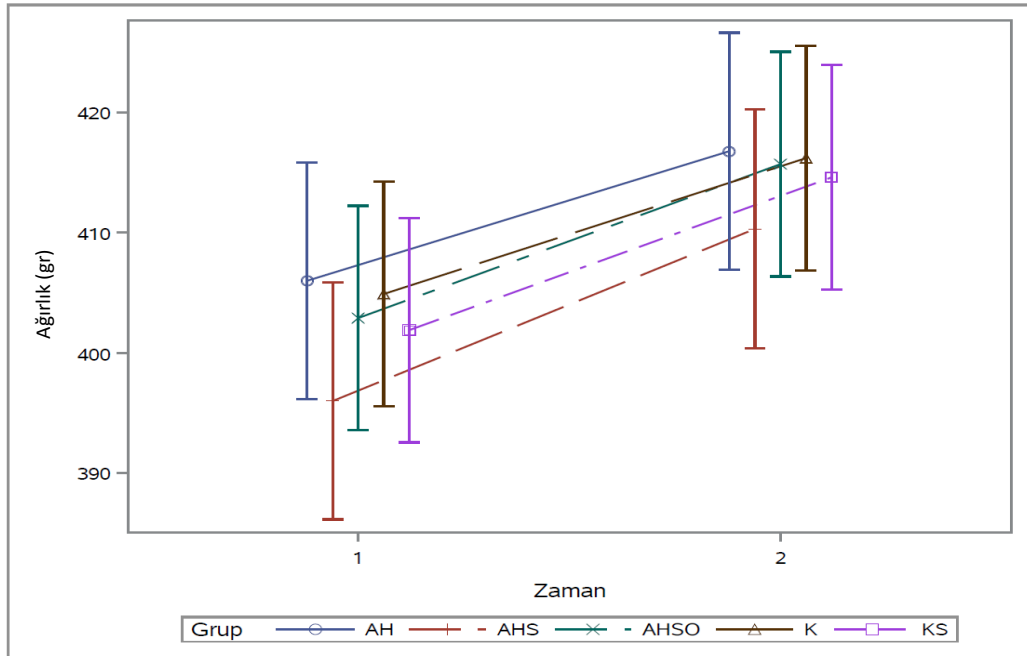
## 4. BULGULAR

### 4.1. Ağırlık Değişimi

Deneyin başladığı ilk gün ve deneyin son günü ölçülen hayvan ağırlıkları ölçüm değerleri karşılaştırıldı. Ağırlık değişimleri zamana göre anlamlı ( $p<0.05$ ) ( $p<0.0001$ ) çıkarken gruplar arasında ( $p=0.7645$ ) ve grup zaman etkileşiminde ( $p=0.7088$ ) anlamlı düzeyde bir farklılık gözlenmedi. Her grup için son ölçülen değerler ilk ölçülen değerlere göre artmış bulundu. Bu sonuç deneydeki uygulamalara bağlı olarak hayvan ağırlıklarının olumsuz etkilenmediğini ve ağırlıkların deneyin başlangıcından itibaren geçen zamana bağlı olarak artmış olduğunu düşündürdü (Tablo 4.1 ve Grafik 4.1).

Tablo 4.1. Grupların ağırlık değişimleri (gr)

ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS
1. ölçüm	416.20±4.62	416.70±4.87	410.31±4.92	415.70±4.62	414.60±4.62
2. ölçüm	404.90±4.62	406.00±4.87	396.00±4.87	402.90±4.62	401.90±4.62



Grafik 4.1. Grupların ağırlık değişimleri: Zamana göre iki ölçüm değeri arasında anlamlı fark bulundu (\*  $p<0.05$ ). Deneyin sonunda yapılan ölçümde hayvan ağırlıkları artmış olarak gözlemlendi.

## 4.2. Davranış ve Bellek Testleri

### 4.2.1. Açık Alan Testi

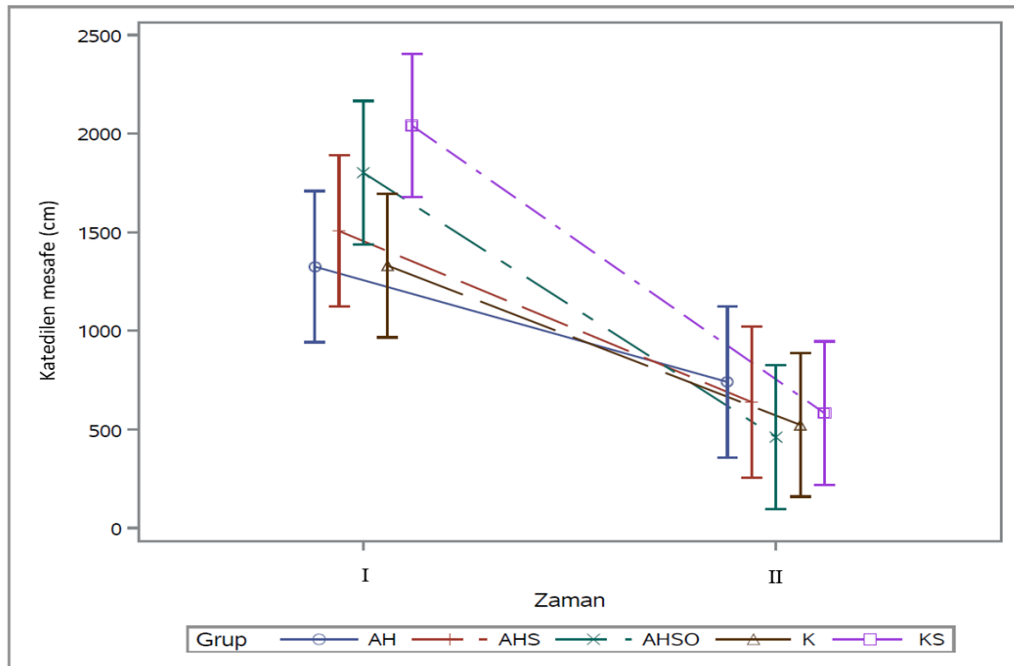
Deneyin başlangıcında ve sonunda yapılan OF testinde katettiği mesafe, hız, şahlanma sayısı ve süslenme süresi parametrelerinde zamana göre anlamlı bir fark ( $p<0.05$ ) gözlenirken gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p>0.05$ ).

#### 4.2.1.1. Katedilen Mesafe Parametresi

Katedilen mesafe parametresi 2 ölçüm değeri arasında zamana göre ve grup zaman etkileşiminde anlamlı fark gösterdi ( $p<0.05$ ). Grupların ilk katettiği mesafe parametresine göre ikinci ölçüm değerleri azalmış olarak bulundu (Tablo 4.2). Gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı ( $p=0.4185$ ) (Grafik 4.2).

Tablo 4.2. OF testinde grupların katettikleri mesafe parametreleri (cm)

ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS
<b>1. ölçüm</b>	1330.8±180.4	1325.6±190.2	1506.2±190.2	1801.8±180.4	2041.4±180.4
<b>2. ölçüm</b>	522.9±180.48	740.8±190.24	638.5±190.24	460.9±180.48	582.2±180.48



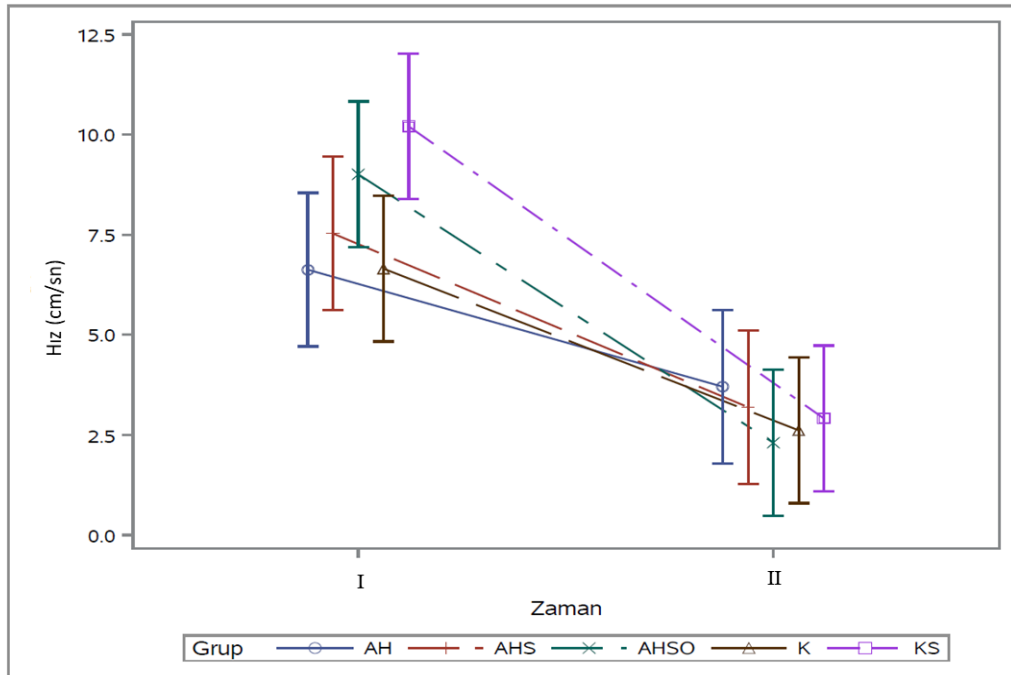
Grafik 4.2. Açık alan testinde katettiği mesafe parametresi: Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p=0.4185$ ) ( $p>0.05$ ). Deneyde iki ölçüm değeri karşılaştırıldığında, tüm gruplarda deney sonunda katedilen mesafe daha düşüktü ( $p<0.05$ ).

#### 4.2.1.2. Hız Parametresi

Hız değerleri için deneyin başlangıcında ve sonunda yapılan ölçümler arasında zamana göre anlamlı fark gözlemlendi ( $p<0.0001$ ). Gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı ( $p=0.4185$ ). Grup zaman etkileşiminde istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ( $p<0.05$ ). Grupların ilk hız ölçüm değerlerine göre ikinci ölçüm değerleri azalmış olarak bulundu. Deneyin sonunda en düşük hıza sahip AHSO grubu oldu (Tablo 4.3 ve Grafik 4.3).

Tablo 4.3. OF testinde grupların hızları (cm/sn)

ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS
1. ölçüm	6.65±0.90	6.62±0.95	7.53±0.95	9.00±0.90	10.20±0.90
2. ölçüm	2.61±0.90	3.70±0.95	3.19±0.95	2.30±0.90	2.91±0.90



Grafik 4.3. Açık alan testinde hız parametresi: Zamana göre ve grup zaman etkileşiminde anlamlı fark bulundu ( $p<0.05$ ). Deneyde iki ölçüm değeri karşılaştırıldığında tüm gruplarda 22. gün hız daha düşüktü ( $p<0.05$ ).

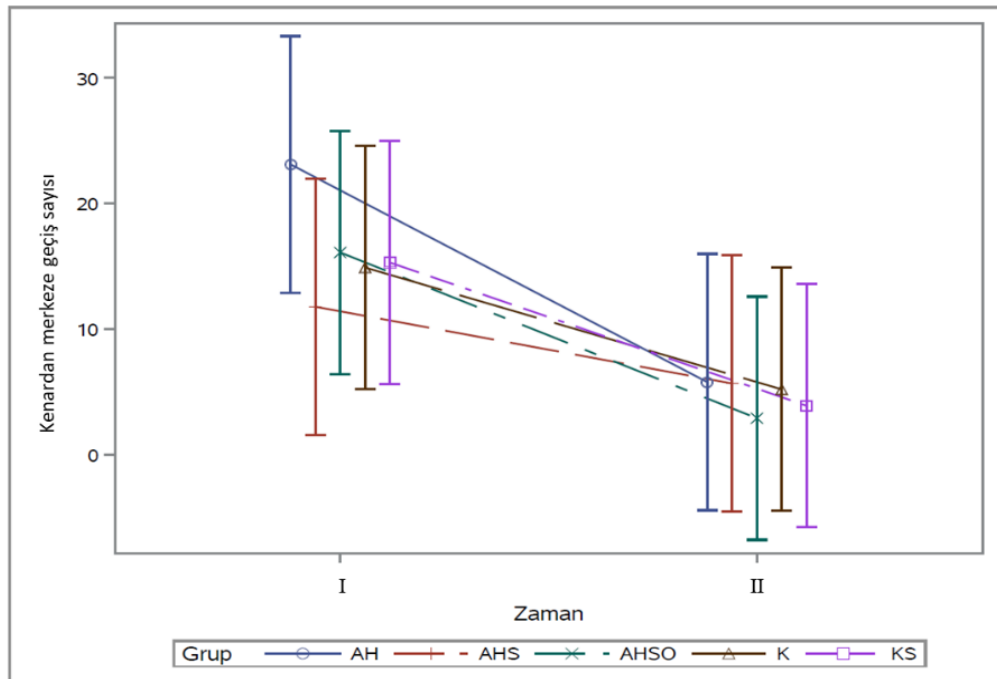


#### 4.2.1.3. Kenardan Merkeze Geçiş Sayısı

OF testinde kenardan merkeze geçiş sayısı hesaplandı. Deneyin ilk ve son günü ölçüm değerleri arasında zamana göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p=0.0006$ ) ( $p<0.05$ ). Gruplar arasında ( $p=0.8017$ ) ve grup zaman etkileşiminde ( $p=0.8488$ ) anlamlı fark gözlenmedi. Grupların ilk kenardan merkeze geçiş sayısı parametresine göre ikinci ölçüm değerleri azalmış olarak bulundu. İlk ölçümde kenardan merkeze geçiş sayısı en fazla olup son ölçümde azalan AH grubu olurken, deneyin sonunda kenardan merkeze geçiş sayısı en az olan AHSO grubu oldu (Tablo 4.4 ve Grafik 4.4).

Tablo 4.4. OF testinde kenardan merkeze geçiş sayıları

ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS
1. ölçüm	14.90±4.80	23.11±5.06	11.77±5.06	16.10±4.80	15.30±4.80
2. ölçüm	5.20±4.80	5.77±5.06	5.66±5.06	2.90±4.80	3.90±4.80



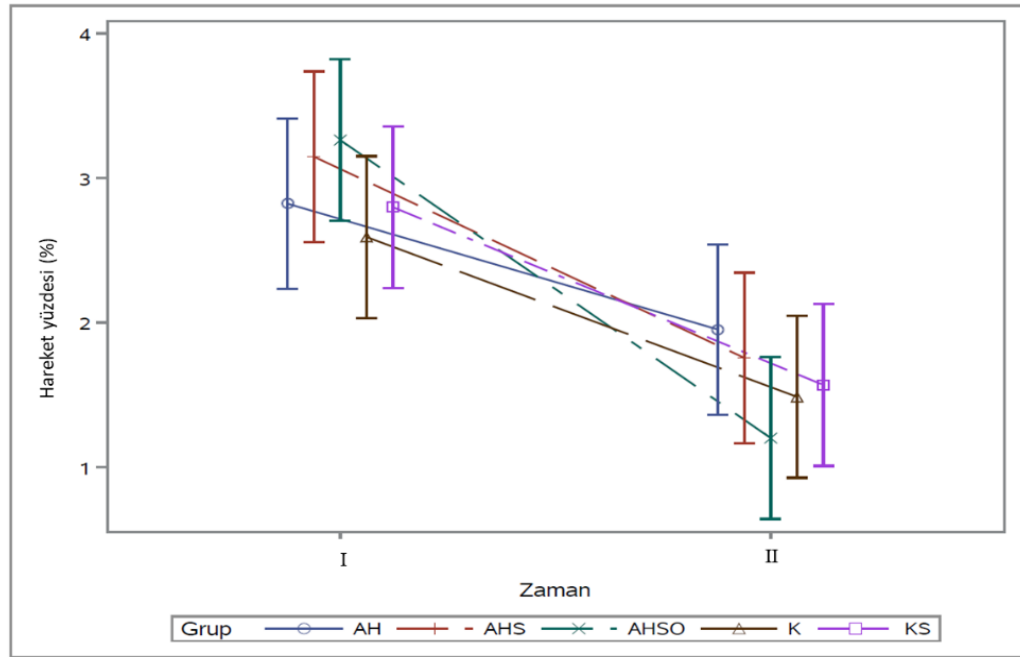
Grafik 4.4. Açık alan testinde kenardan merkeze geçiş sayısı parametresi: Zamana göre ve grup-zaman etkileşiminde anlamlı fark bulundu ( $p<0.05$ ). Deneyde iki ölçüm değeri karşılaştırıldığında tüm gruplarda son gün hız daha düşüktü ( $p<0.05$ ).

#### 4.2.1.4. Hareket Yüzdesi

Hayvanların hareket yüzde değişimleri deneyin başlangıcında ve sonunda yapılan ölçümler arasında zamana göre anlamlı fark bulundu ( $p<0.0001$ ). Gruplar etkisi ( $p=0.7501$ ) ve grup zaman etkileşimi ( $p=0.0969$ ) istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Grupların ilk hareket yüzdelere göre ikinci ölçüm değerlerinin azalmış olduğu gözlemlendi. Deneyin sonunda en düşük hareket yüzdesi değeri AHSO grubunda görüldü (Tablo 4.5 ve Grafik 4.5).

Tablo 4.5. OF testinde hareket yüzdeleri

ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS
<b>1. ölçüm</b>	2.59±0.27	2.82±0.29	3.14±0.29	3.26±0.27	2.79±0.27
<b>2. ölçüm</b>	1.48±0.27	1.95±0.29	1.75±0.29	1.20±0.27	1.56±0.27



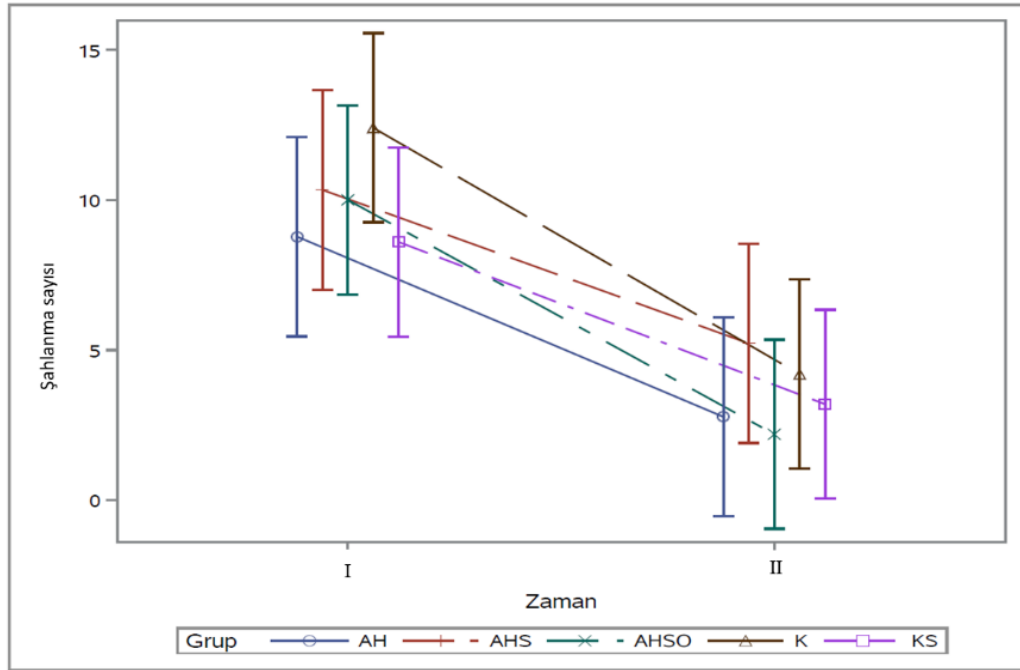
Grafik 4.5. Açık alan testinde hareket yüzdesi iki ölçüm değeri arasında anlamlı fark bulundu ( $p<0.05$ ). Deneyin sonunda hareket yüzdeleri tüm gruplarda daha düşüktü. Gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ( $p=0.7501$ ).

#### 4.2.1.5. Şahlanma Parametresi

Hayvanların şahlanma parametreleri için iki ölçüm değeri arasında zamana göre anlamlı fark görüldü ( $p<0.0001$ ). Gruplar arasında ( $p=0.3910$ ) ve grup-zaman etkileşiminde anlamlı bir fark bulunmadı ( $p=0.7976$ ). Grupların ilk şahlanma sayılarına göre ikinci ölçüm değerleri azalmış olarak gözlemlendi. Deneyin sonunda şahlanma sayısı en az olan gruplar AH ve AHSO iken en fazla olan grup AHS grubu olmuştur (Tablo 4.6 ve Grafik 4.6).

Tablo 4.6. OF testinde grupların şahlanma sayıları

ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS
<b>1. ölçüm</b>	12.40±1.56	8.77±1.64	10.33±1.64	10.00±1.56	8.60±1.56
<b>2. ölçüm</b>	4.20±1.56	2.77±1.64	5.22±1.64	2.20±1.56	3.20±1.56



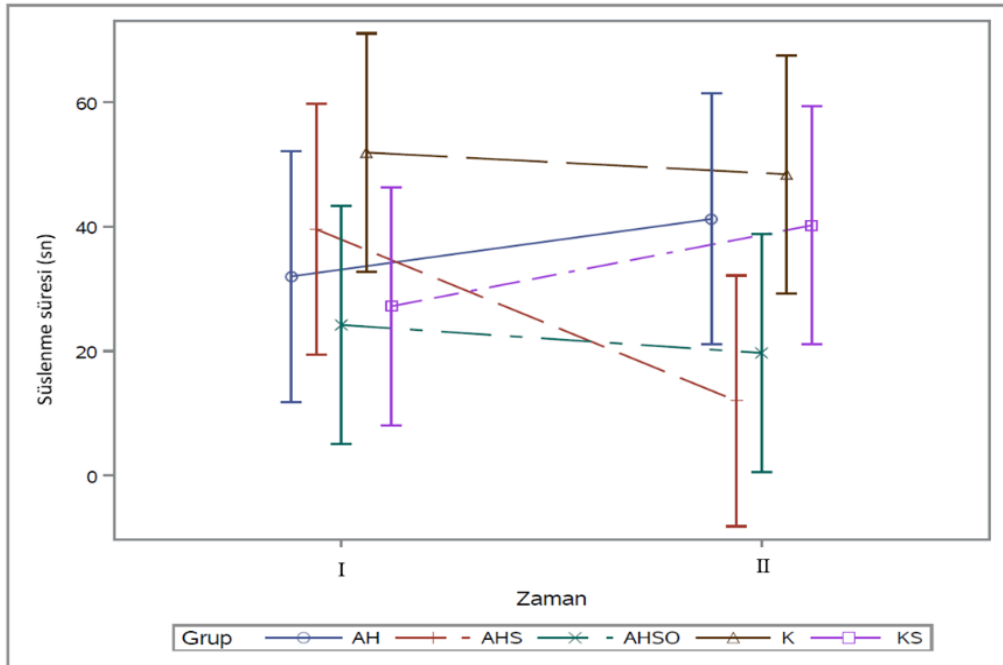
Grafik 4.6. Açık alan testinde şahlanma parametresi iki ölçüm değeri arasında anlamlı fark bulundu ( $p<0.05$ ). Deneyin son günü şahlanma sayıları tüm gruplarda daha düşüktü. Gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ( $p=0.3910$ ).

#### 4.2.1.6. Süslenme Parametresi

Hayvanların süslenme parametrelerinde deneyin başlangıcında ve sonunda yapılan ölçümlerde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ( $p<0.05$ ). Zaman etkisi ( $p=0.6658$ ) ve grup zaman etkileşimine ( $p=0.2862$ ) göre yapılan değerlendirmede ilk ve ikinci ölçüm arasında anlamlı fark bulunmadı. Kontrol grubu her iki ölçümde de en fazla süslenme süresine sahipti. İlk ölçümde en az süslenen AHSO grubu iken ikinci ölçümde en az süslenme süresine sahip olan AHS grubu oldu (Tablo 4.7 ve Grafik 4.7).

Tablo 4.7. OF testinde grupların süslenme süreleri (sn)

ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS
<b>1. ölçüm</b>	51.90±9.48	32.00±9.99	39.55±9.99	24.20±9.48	27.20±9.48
<b>2. ölçüm</b>	48.40±9.48	41.22±9.99	12.00±9.99	19.70±9.48	40.20±9.48



Grafik 4.7. Açık alan testinde süslenme parametresi: Gruplar arasında anlamlı fark bulundu ( $p<0.05$ ). Deneyde zaman etkisinin karşılaştırılmasında ise anlamlı bir fark gözlenmedi ( $p=0.6658$ ).

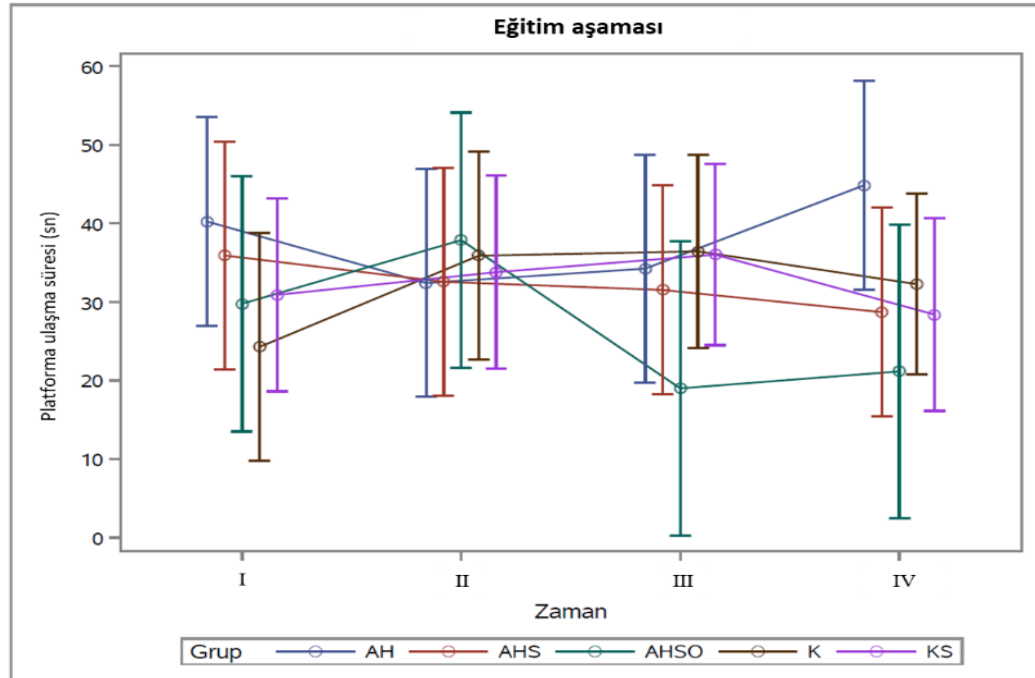
#### 4.2.2. Morris Su Labirenti Testi

##### 4.2.2.1. Platforma Ulaşma Süresi

MWM'nin eğitim aşamasındaki 4 ardışık gün platforma ulaşma süresi (kaçış süresi) karşılaştırıldığında gruplar etkisi ( $p=0.5198$ ), zaman etkisi ( $p=0.8516$ ) ve grup zaman etkileşiminde ( $p=0.7145$ ) istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (Tablo 4.8 ve Grafik 4.8).

Tablo 4.8. MWM testinde grupların ilk 4 gün eğitim aşamasında platforma ulaşma süreleri (sn)

ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS
<b>1. gün</b>	24.27±7.21	40.22±6.61	35.91±7.23	29.76±8.10	30.89±6.11
<b>2. gün</b>	35.87±6.59	32.40±7.22	32.55±7.24	37.86±8.09	33.78±6.12
<b>3. gün</b>	36.43±6.12	34.23±7.22	31.52±6.62	18.99±9.35	36.00±5.73
<b>4. gün</b>	32.25±5.74	44.85±6.61	28.69±6.62	21.15±9.31	28.39±6.11

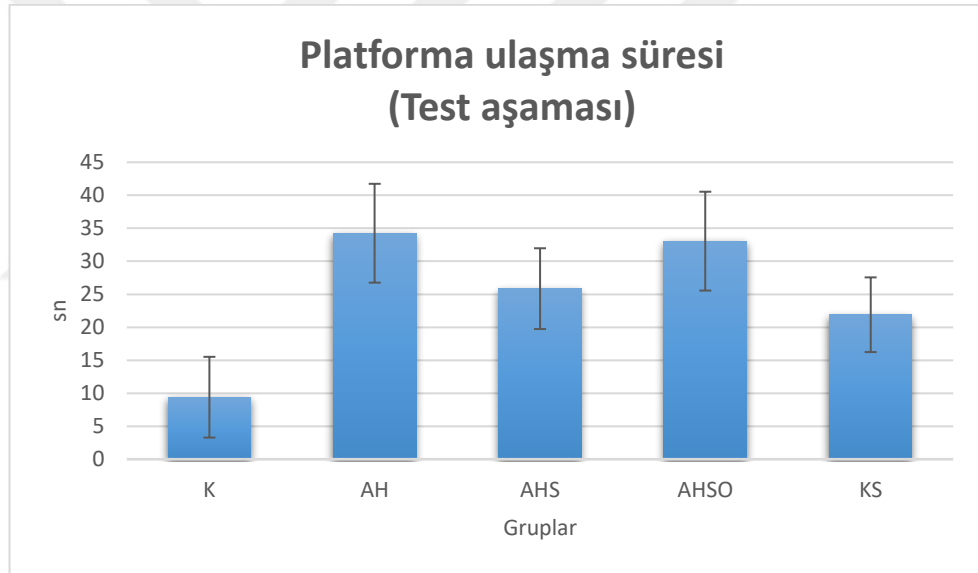


Grafik 4.8. MWM eğitim aşamasında 4 ardışık gün platforma ulaşma süresinde zamana göre ( $p=0.8516$ ) ve gruplar arasında ( $p=0.5198$ ) istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi.

MWM'nin test aşaması olan 5. gün platforma ulaşma süresi karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ( $p=0.0908$ ). Kontrol grubu, diğer gruplara kıyasla platformu daha kısa sürede buldu. AHS grubu, AH ve AHSO grubuna göre platforma daha kısa sürede ulaştı. AH grubu ile AHSO grubunun platforma ulaşma süreleri birbirine yakındı (Tablo 4.9 ve Grafik 4.9).

Tablo 4.9. MWM testinde grupların 5. gün test aşamasında platforma ulaşma süreleri (sn)

ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS
5. gün	9.40±6.12	34.25±7.49	25.85±6.12	33.05±7.49	21.90±5.66

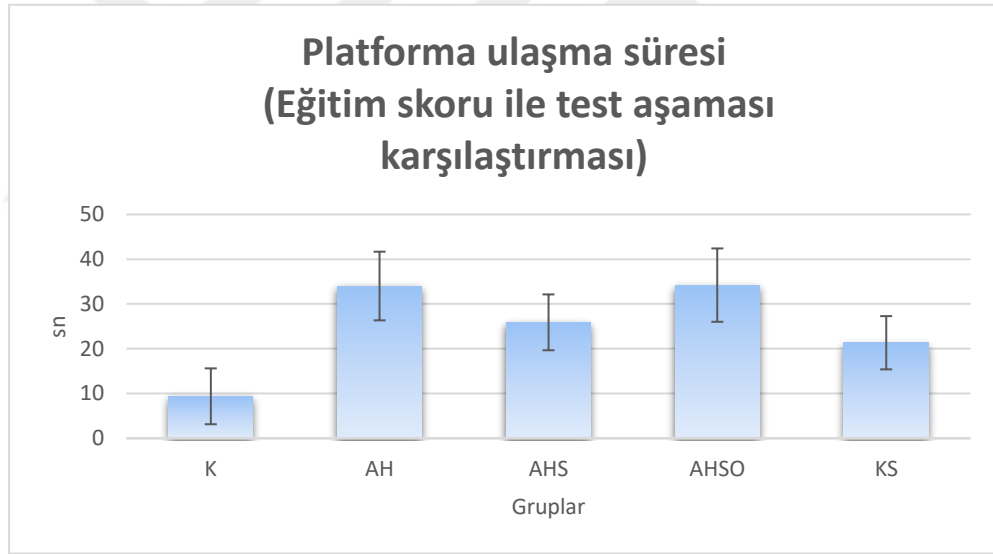


Grafik 4.9. MWM test aşaması olan 5. gün platforma ulaşma süresinde grup etkisi için anlamlı fark bulunamadı ( $p=0.0908$ ).

4 günlük eğitim aşaması ortalama değerleriyle eğitim skoru elde edildi. Eğitim skoru dikkate alınarak yapılan 5. gün platforma ilk ulaşma süresi değerlendirmesinde gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $p=0.098$ ). K ve KS grubu, AH ve AHSO grubuna göre platforma daha kısa sürede ulaşmıştır. AHS grubu da AH ve AHSO grubuna göre platformu daha kısa sürede bulmuştur (Tablo 4.10 ve Grafik 4.10).

Tablo 4.10. MWM testinde grupların eğitim skoru ile 5. gün test aşaması karşılaştırması (sn)

ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS
5. gün	9.38±6.24	34.01±7.67	25.90±6.24	34.21±8.19	21.34±5.95



Grafik 4.10. MWM testinde 4 günlük eğitim aşaması ortalama değerleriyle elde edilen eğitim skoru dikkate alınarak yapılan 5. gün platforma ulaşma süresinde gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ( $p=0.098$ ).

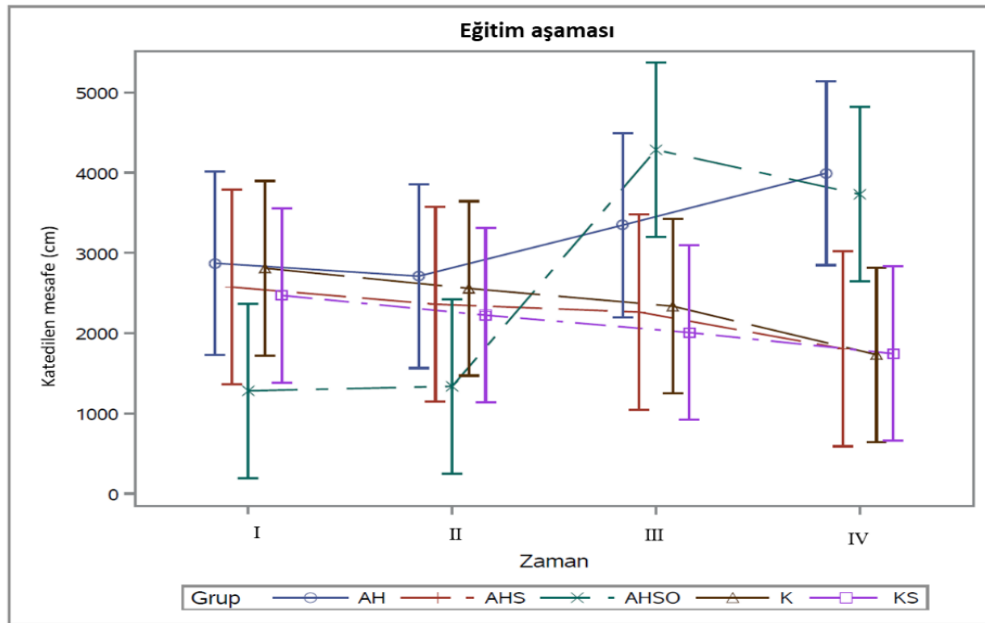
#### 4.2.2.2. Katedilen Mesafe

MWM'nin eğitim aşamasında 4 gün katedilen mesafe (kaçış mesafesi) karşılaştırıldığında grup etkisi ( $p=0.0535$ ) ve zaman etkisi için ( $p=0.3652$ ) istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. Grup zaman etkileşiminde anlamlı fark gözlemlendi ( $p<0.05$ ) (Tablo 4.11).

Eğitim aşamasında grupların katettiği mesafe tüm gruplarda ardışık 4 gün genel olarak azalma göstermiştir. 3. gün AHSO grubuyla KS grubu arasında anlamlı fark gözlemlenmiştir ( $p<0.05$ ). 4. gün AH grubuyla K ve KS grubu arasında anlamlı fark bulunmuştur ( $p<0.05$ ) (Grafik 4.11).

Tablo 4.11. MWM testinde grupların ilk 4 gün eğitim aşamasında katettikleri mesafe değerleri (cm)

ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS
<b>1. gün</b>	2809.20±549.1	2871.16±578.8	2574.36±613.9	1281.49±549.1	2470.04±549.1
<b>2. gün</b>	2557.63±549.1	2709.88±578.8	2360.40±613.9	1337.30±549.1	2223.79±549.1
<b>3. gün</b>	2335.68±549.1	3345.44±578.8	2262.47±613.9	4283.78±549.1	2007.53±549.1
<b>4. gün</b>	1731.64±549.1	3993.33±578.8	1805.46±613.9	3729.94±549.1	1744.11±549.1



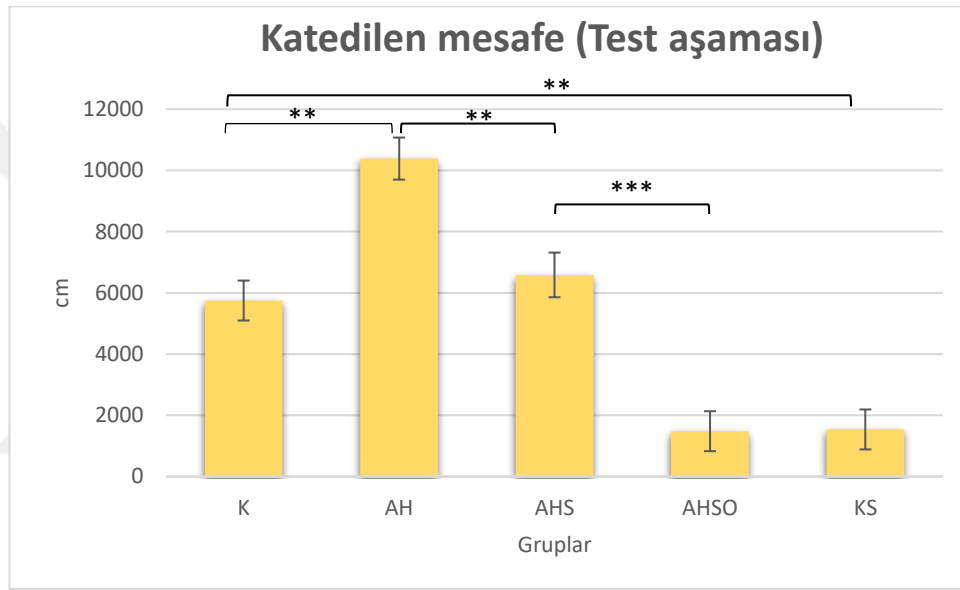
Grafik 4.11. MWM eğitim aşamasında 4 ardışık gün katedilen mesafe parametresinde grup-zaman etkileşiminde anlamlı fark gözlemlendi ( $p<0.05$ ).



MWM'nin test aşaması olan 5. gün katedilen mesafe karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p < 0.0001$ ) (Tablo 4.12 ve Grafik 4.12).

Tablo 4.12. MWM testinde grupların 5. gün test aşamasında katettikleri mesafe değerleri (cm)

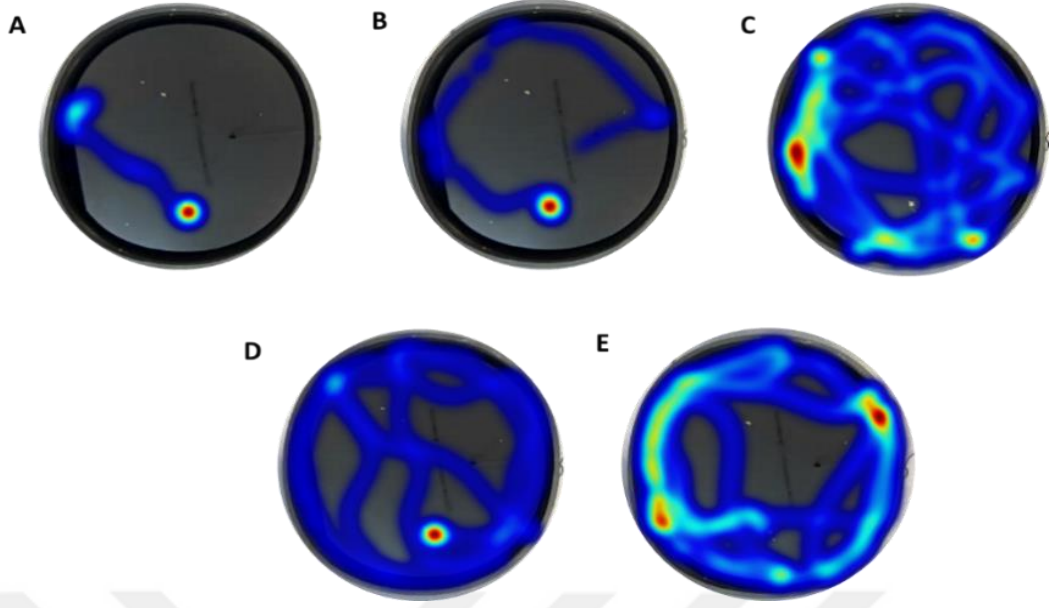
ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS
<b>5. gün</b>	5749.62±652.5	10387±687.81	6586.84±729.5	1481.40±652.5	1538.89±652.5



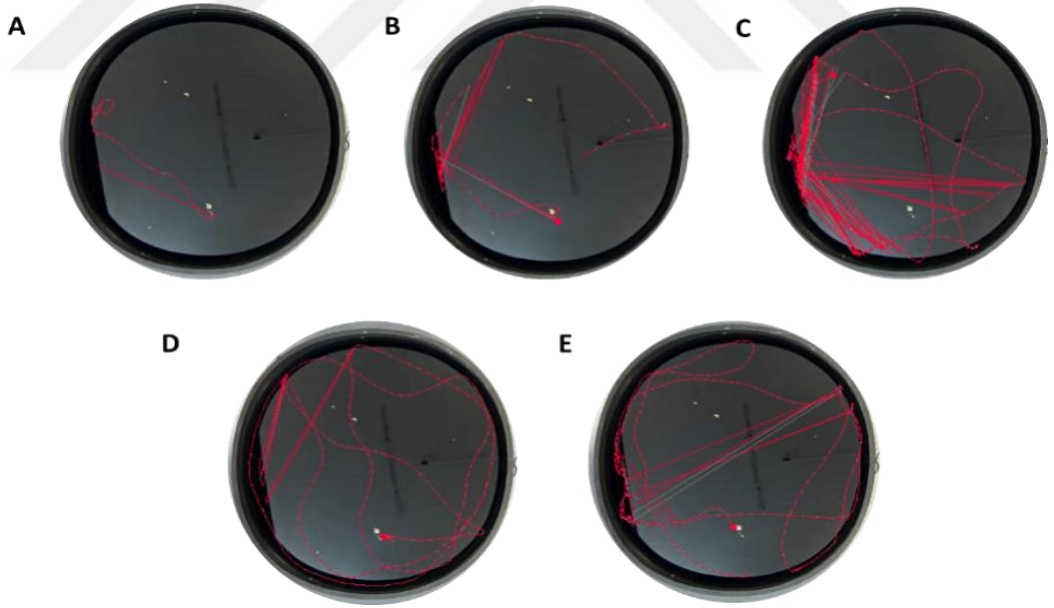
Grafik 4.12. MWM test aşaması olan 5. gün katedilen mesafe parametresinde gruplar arasında anlamlı fark bulundu (\*\*:  $p < 0.01$ ) (\*\*\*:  $p < 0.0001$ ).

Gruplar arası karşılaştırmada AH grubuyla diğer gruplar arasında anlamlı fark bulundu ( $p < 0.05$ ). AHS grubunun katettiği mesafe AHSO ve KS gruplarına göre anlamlıydı ( $p < 0.05$ ). AHSO grubunun katettiği mesafe K grubuna göre anlamlı olarak daha az bulundu ( $p < 0.05$ ).

MWM'nin test aşaması olan 5. gün katedilen mesafe karşılaştırıldığında gruplar arasında görünür şekilde fark vardı.



Resim 4.1. Ethovision yazılım programında MWM testi sıcaklığa duyarlı yol haritası (A: Kontrol grubu, B: Kontrol+Senktid grubu, C:Alzheimer grubu, D: Alzheimer+Senktid grubu, E: Alzheimer+Senktid+Osanetant grubu)



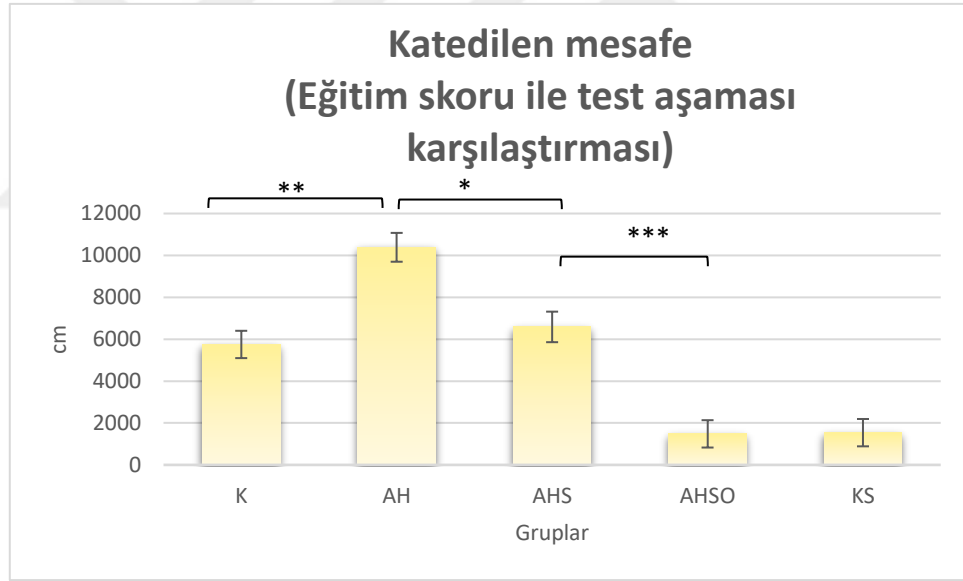
Resim 4.2. Ethovision yazılım programında MWM testi yol haritası çizimi (A: Kontrol grubu, B: Kontrol+Senktid grubu, C:Alzheimer grubu, D: Alzheimer+Senktid grubu, E: Alzheimer+Senktid+Osanetant grubu)

4 günlük eğitim skoru dikkate alınarak yapılan 5. gün katedilen mesafe değerlendirmesinde gruplar arasında anlamlı fark bulundu ( $p<0.05$ ) (Tablo 4.13 ve Grafik 4.13).

Tüm gruplar arasında katettiği mesafe en fazla olan AH grubu oldu. Gruplar arası katettiği mesafenin karşılaştırılmasında AH grubu tüm gruplara göre, AHS grubu AHSO, KS ve K grubuna göre anlamlı olarak bulundu ( $p<0.05$ ).

Tablo 4.13. MWM testinde grupların eğitim skoru ile 5. gün test aşaması karşılaştırması (cm)

ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS
5. gün	5754.69±663.4	10365±752.37	6595.34±746.0	1476.96±662.7	1551.82±680.2



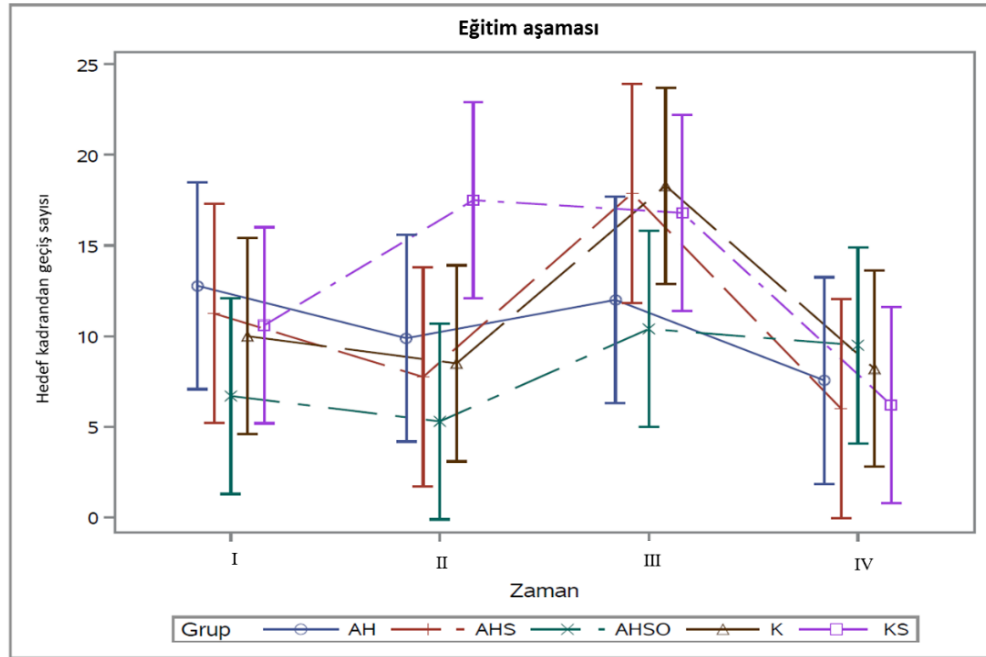
Grafik 4.13. MWM testinde eğitim skoru dikkate alınarak yapılan 5. gün katedilen mesafe parametresi gruplar arasında anlamlı fark bulundu AH grubu K ve AHS gruplarına göre, AHS grubu AHSO grubuna göre anlamlı olarak bulundu (\*:  $p<0.05$ ) (\*\*:  $p<0.01$ ) (\*\*\*:  $p<0.0001$ ).

#### 4.2.2.3. Hedef Kadrandan Geçiş Sayısı

MWM'nin eğitim aşamasında 4 gün boyunca hedef kadrandan geçiş sayısı parametresi karşılaştırıldığında zaman etkisi için yapılan istatistiksel analizde anlamlı fark gözlemlendi ( $p < 0.05$ ). Gruplar arasında ( $p = 0.1747$ ) ve grup zaman etkileşiminde ( $p = 0.2445$ ) istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (Tablo 4.14 ve Grafik 4.14).

Tablo 4.14. MWM testinde grupların ilk 4 gün eğitim aşamasında hedef kadrandan geçiş sayıları.

ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS
1. gün	10.00±2.73	12.77±2.87	11.25±3.05	6.70±2.73	10.60±2.73
2. gün	8.50±2.73	9.88±2.87	7.75±3.05	5.30±2.73	17.50±2.73
3. gün	18.30±2.73	12.00±2.87	17.87±3.05	10.40±2.73	16.80±2.73
4. gün	8.20±2.73	7.55±2.87	6.00±3.05	9.50±2.73	6.20±2.73



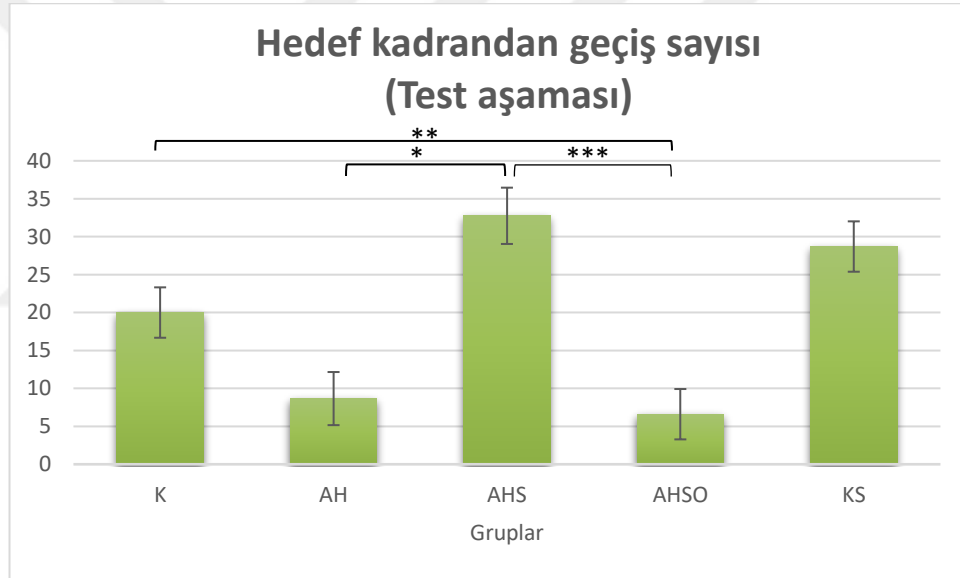
Grafik 4.14. MWM eğitim aşamasında 4 ardışık gün hedef kadrandan geçiş sayısı parametresinde zamana göre yapılan analizde anlamlı fark gözlemlendi ( $p < 0.05$ ). Gruplar arasında ve grup zaman etkileşiminde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ( $p > 0.05$ ).

Zamana göre hedef kadrandan geçiş sayısı karşılaştırmasında AH, K ve KS grubu eğitim aşamasındaki 4. gün, AHS grubu 1., 2. ve 3. gün, AHSO grubu 1., 3. ve 4. gün istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p < 0.05$ ).

MWM'nin test aşamasında 5. gün hedef kadrandan geçiş sayısı parametresi gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ) (Tablo 4.15 ve Grafik 4.15). AHS grubunun hedef kadrandan geçiş sayısının diğer gruplara göre daha fazla olduğu gözlemlendi.

Tablo 4.15. MWM testinde grupların 5. gün test aşamasında hedef kadrandan geçiş sayısı

ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS
<b>5. gün</b>	20.00±3.32	8.66±3.50	32.75±3.71	6.60±3.32	28.70±3.32



Grafik 4.15. MWM test aşaması olan 5. gün hedef kadrandan geçiş sayısı parametresinde gruplar arasında anlamlı fark bulundu (\*:  $p<0.05$ ) (\*\*:  $p<0.01$ ) (\*\*\*:  $p<0.0001$ ).

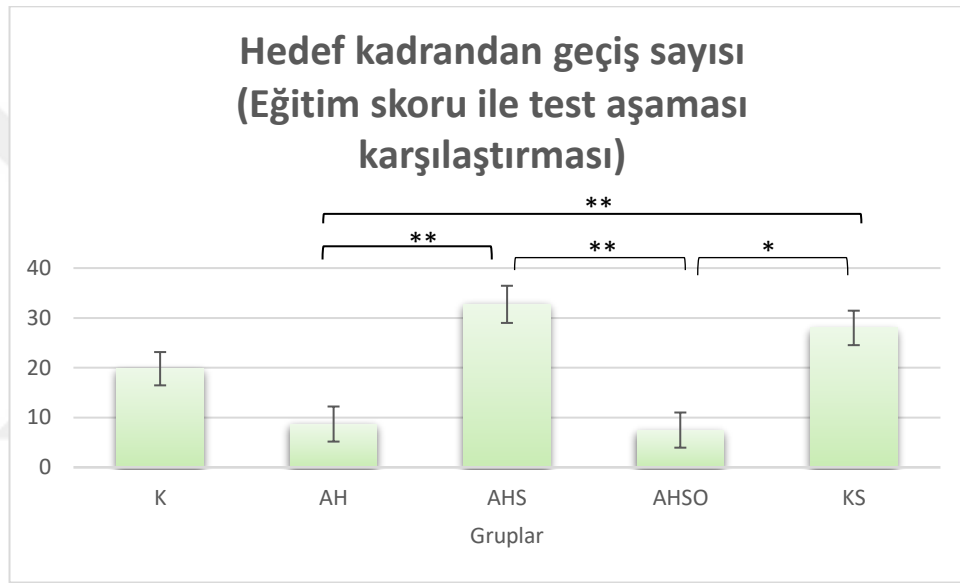
Gruplar arası hedef kadrandan geçiş sayısı karşılaştırmasında AH grubu AHS ve KS grubuna göre, AHS grubu AHSO grubuna göre, AHSO grubu K ve KS grubuna göre anlamlı olarak bulundu ( $p<0.05$ ).

4 günlük eğitim skoru dikkate alınarak yapılan 5. gün hedef kadrana geçiş sayısı değerlendirmesinde gruplar arasında anlamlı fark gözlemlendi ( $p<0.05$ ) (Tablo 4.16 ve Grafik 4.16).

Eğitim skoru göz önünde bulundurularak yapılan 5. gün hedef kadrana geçiş sayısı değerlendirmesi sonucunda K, KS, AHSO, AHS ve AH grupları arasında hedef kadrandan en fazla geçen AHS grubu, en az geçen AHSO grubu oldu.

Tablo 4.16. MWM testinde grupların eğitim skoru ile 5. gün test aşaması karşılaştırması

ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS
5. gün	19.80±3.34	8.69±3.52	32.72±3.73	7.48±3.53	27.99±3.46



Grafik 4.16. MWM testinde eğitim skoru dikkate alınarak yapılan 5. gün hedef kadrandan geçiş sayısı parametresinde gruplar arasında anlamlı fark bulundu (\*\*:  $p < 0.01$ ).

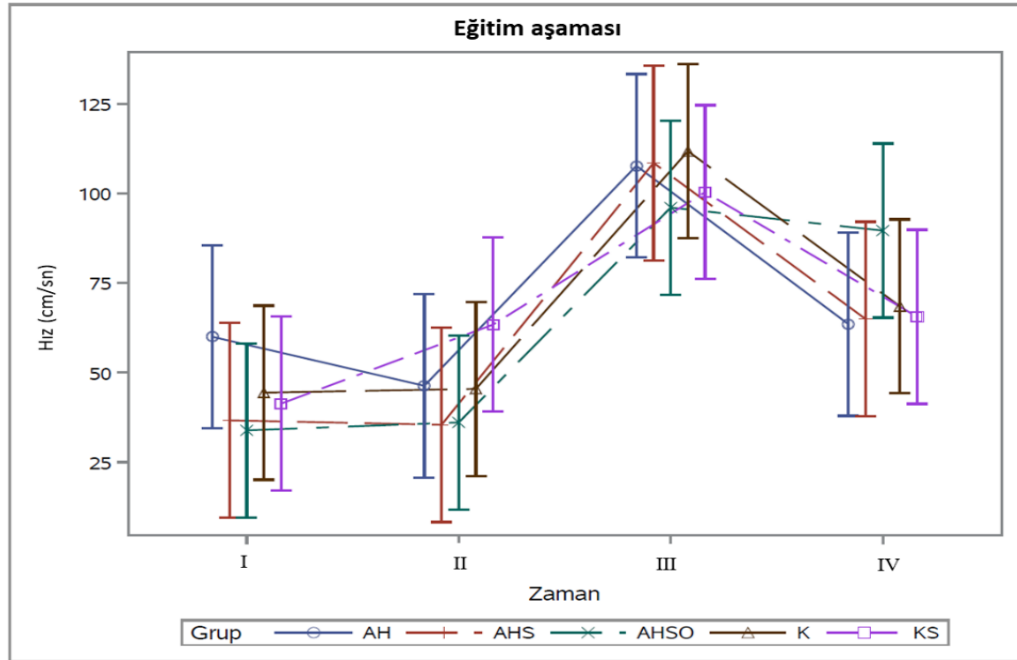
Eğitim aşaması dikkate alınarak 5. gün gruplar arası hedef kadrandan geçiş sayısı karşılaştırmasında AH grubu AHS ve KS grubuna göre, AHS grubu AHSO grubuna göre, AHSO grubu KS grubuna göre anlamlı olarak bulundu ( $p < 0.05$ ).

#### 4.2.2.4. Hız Parametresi

MWM'nin eğitim aşamasındaki 4 gün hız parametresi karşılaştırıldığında zamana göre yapılan istatistiksel analizde anlamlı fark gözlemlendi ( $p<0.0001$ ) (Tablo 4.17 ve Grafik 4.17). Gruplar arasında ( $p=0.9293$ ) ve grup zaman etkileşiminde ( $p=0.6697$ ) istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı.

Tablo 4.17. MWM testinde grupların ilk 4 gün eğitim aşamasında hız parametreleri (cm/sn)

ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS
<b>1. gün</b>	44.41±12.27	60.00±12.93	36.68±13.72	33.89±12.27	41.34±12.27
<b>2. gün</b>	45.46±12.27	46.32±12.93	35.43±13.72	36.10±12.27	63.41±12.27
<b>3. gün</b>	111.80±12.2	107.72±12.9	108.53±13.7	96.06±12.27	100.37±12.2
<b>4. gün</b>	68.49±12.27	63.53±12.93	64.95±13.72	89.63±12.27	65.57±12.27

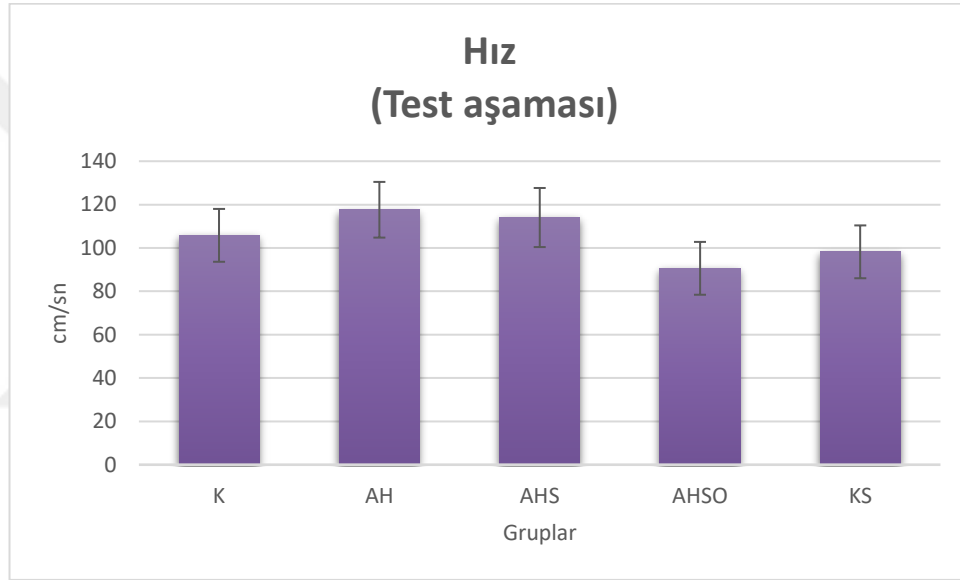


Grafik 4.17. MWM eğitim aşamasında 4 ardışık gün hız parametresinde zamana göre yapılan analizde anlamlı fark gözlemlendi ( $p<0.0001$ ). Gruplar arasında ve grup zaman etkileşiminde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ( $p>0.05$ ).

MWM'nin test aşamasında 5. gün hız parametresi için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p=0.5468$ ) (Tablo 4.18 ve Grafik 4.18).

Tablo 4.18. MWM testinde grupların 5. gün test aşamasında hız parametresi (cm/sn)

ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS
5. gün	105.81±12.1	117.61±12.8	114.03±13.6	90.59±12.19	98.20±12.19



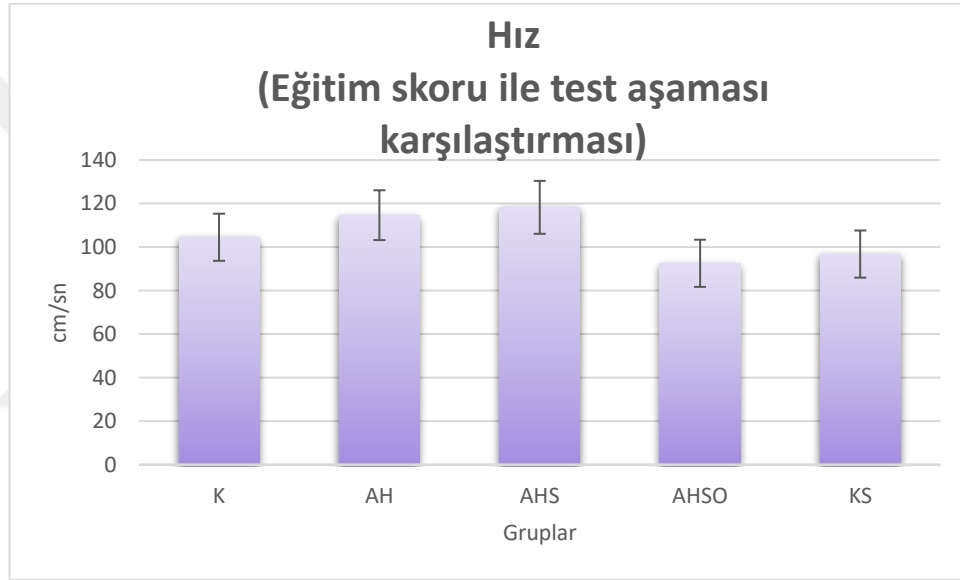
Grafik 4.18. MWM testi 5. gün hız parametresi için gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p>0.05$ ).



4 günlük eğitim skoru dikkate alınarak yapılan 5. gün hız değerlendirmesinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p=0.4442$ ) (Tablo 4.19 ve Grafik 4.19).

Tablo 4.19. MWM testinde grupların eğitim skoru ile 5. gün test aşaması karşılaştırması (cm/sn)

ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS
5. gün	104.52±10.8	114.66±11.4	118.26±12.1	92.56±10.84	96.79±10.83



Grafik 4.19. MWM testinde 4 günlük eğitim aşaması ortalama değerleriyle elde edilen eğitim skoru dikkate alınarak yapılan 5. gün hız parametresinde gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ( $p>0.05$ ).

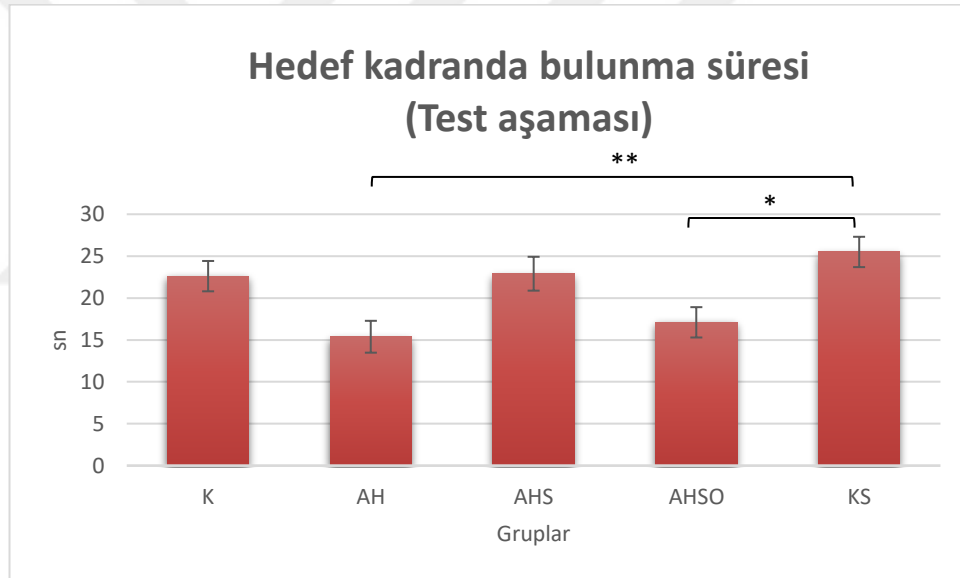
#### 4.2.2.5. Hedef Kadranda Bulunma Süresi

MWM test aşamasında 5. gün hedef kadranda bulunma süresi parametresi için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p<0.05$ ) (Tablo 4.20).

Hedef kadranda bulunma sürelerinde KS grubuyla AH ve AHSO grubu arasında anlamlı fark gözlemlendi ( $p<0.05$ ) (Grafik 4.20).

Tablo 4.20. MWM testinde grupların 5. gün test aşamasında hedef kadranda bulunma süresi (sn)

ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS
5. gün	22.61±1.81	15.38±1.90	22.90±2.02	17.10±1.81	25.50±1.81



Grafik 4.20. MWM test aşaması olan 5. gün hedef kadranda bulunma süresi parametresinde gruplar arasında anlamlı fark bulundu. AH ve AHSO grubunun hedef kadranda bulunma süreleri KS grubuna göre anlamlı derecede düşüktü (\*:  $p<0.05$ , \*\*:  $p<0.01$ ).

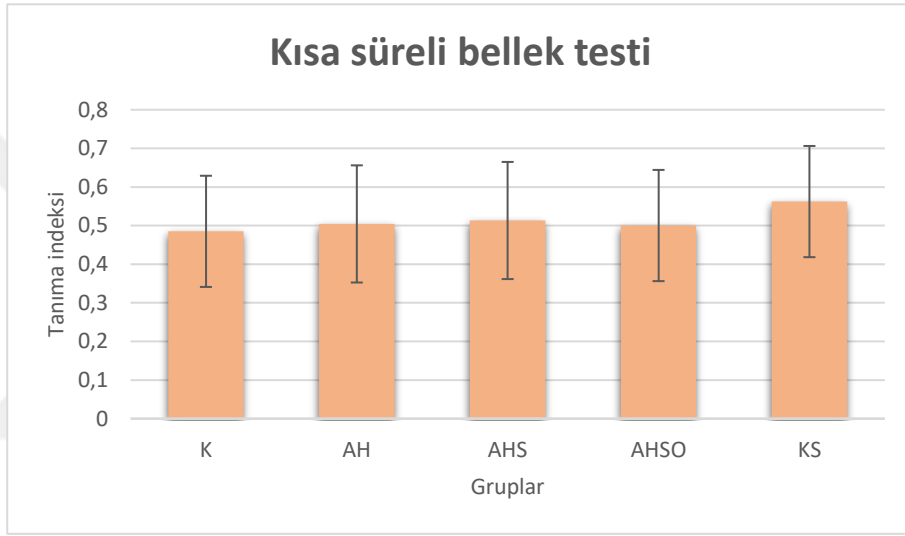
#### 4.2.3. Yeni Objeye Tanıma Testi (New Object Recognition Test- NORT)

Kısa ve uzun süreli NORT’de ayırım ve tanıma indeksleri değerlendirildi.

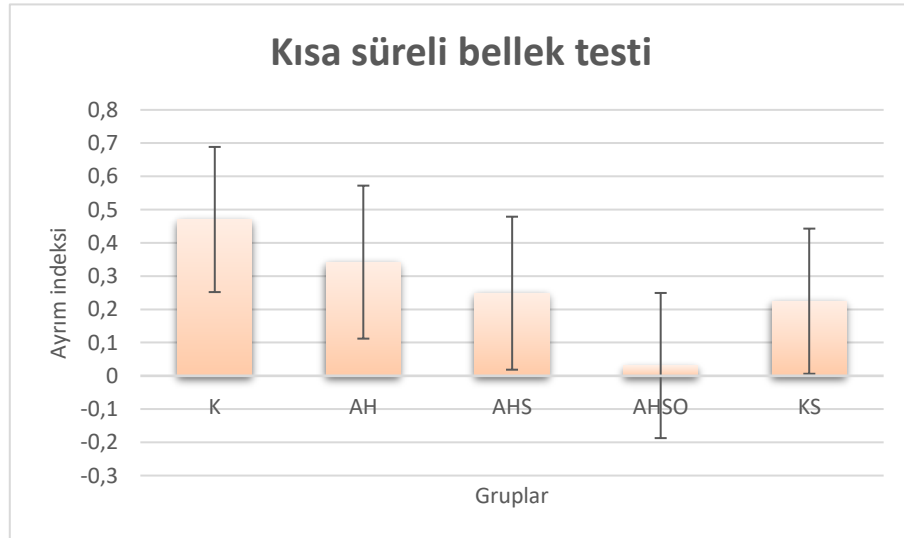
Kısa süreli NORT’de ayırım ( $p=0.6478$ ) ve tanıma indeksinde ( $p=0.9966$ ) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi (Tablo 4.21 ve Grafik 4.21-4.22).

Tablo 4.21. Kısa süreli NORT testinde tanıma indeksi ve ayırım indeksi.

ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS	P Değeri
<b>Tanıma indeksi</b>	0.48±0.14	0.50±0.15	0.51±0.15	0.50±0.14	0.56±0.14	0.9966
<b>Ayırım indeksi</b>	0.47±0.21	0.34±0.23	0.24±0.23	0.03±0.21	0.22±0.21	0.6478



Grafik 4.21. Kısa süreli NORT’de tanıma indeksinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p>0.05$ ).

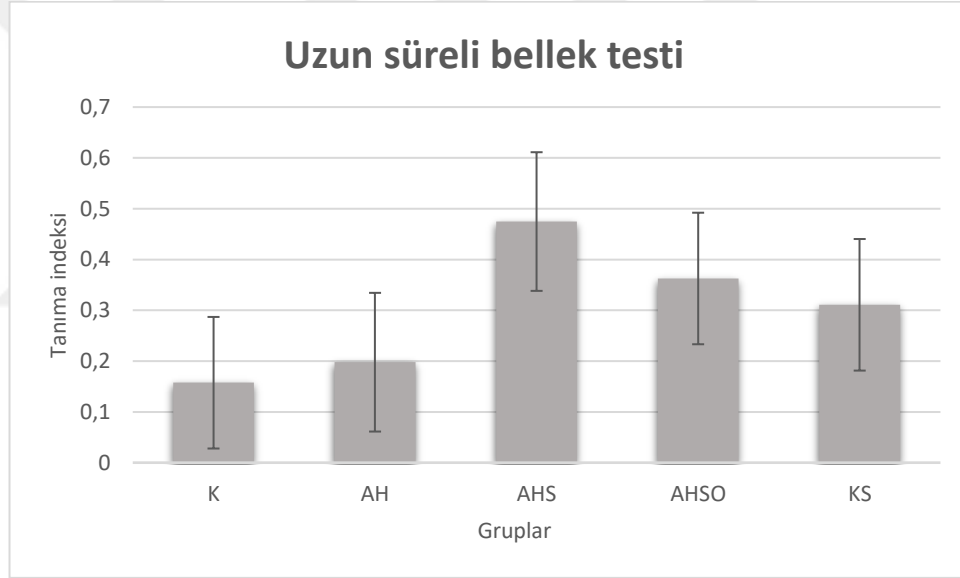


Grafik 4.22. Kısa süreli NORT’de ayırım indeksinde gruplar arasında anlamlı fark görülmedi ( $p>0.05$ ).

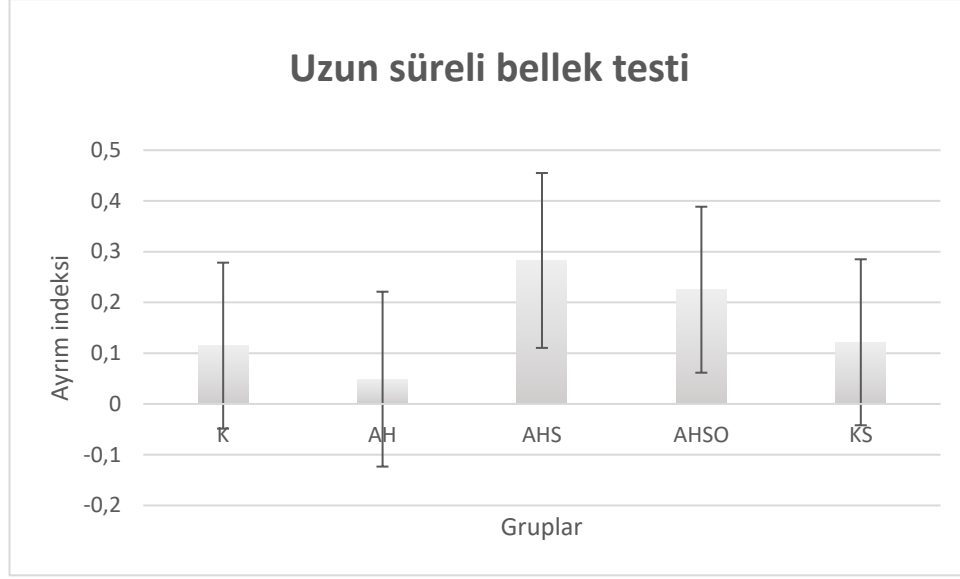
Uzun süreli NORT’de ayırım ( $p=0.7010$ ) ve tanıma indeksinde ( $p=0.4650$ ) gruplar arasında anlamlı fark görülmedi (Tablo 4.22 ve Grafik 4.23-4.24).

Tablo 4.22. Uzun süreli NORT testinde tanıma indeksi ve ayırım indeksi.

ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS	P Değeri
<b>Tanıma indeksi</b>	0.15±0.12	0.19±0.13	0.47±0.13	0.36±0.12	0.31±0.12	0.4650
<b>Ayırım indeksi</b>	0.11±0.16	0.048±0.1	0.28±0.17	0.22±0.16	0.12±0.16	0.7010



Grafik 4.23. Uzun süreli NORT’de tanıma indeksinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p>0.05$ ).



Grafik 4.24. Uzun süreli NORT’de ayırım indeksinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ( $p>0.05$ ).

### 4.3. ELISA Analizleri

#### 4.3.1. Asetilkolinesteraz Miktarı Ölçümü

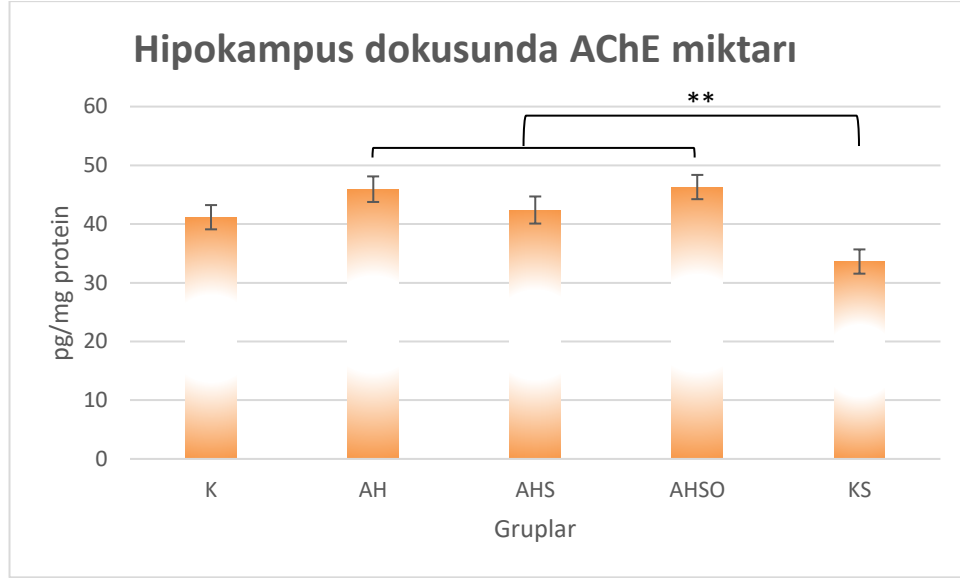
AChE miktarı hipokampus ve korteks dokularında ELISA yöntemiyle belirlendi. Gruplar arasında ve grup doku etkileşiminde istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p<0.0001$ ) (Tablo 4.23 ve Grafik 4.27). Dokular arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p= 0.7005$ ).

Hipokampus dokusu AChE miktarı, AH grubuyla KS grubu arasında ve AHSO grubuyla KS grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.01$ ) (Grafik 4.25).

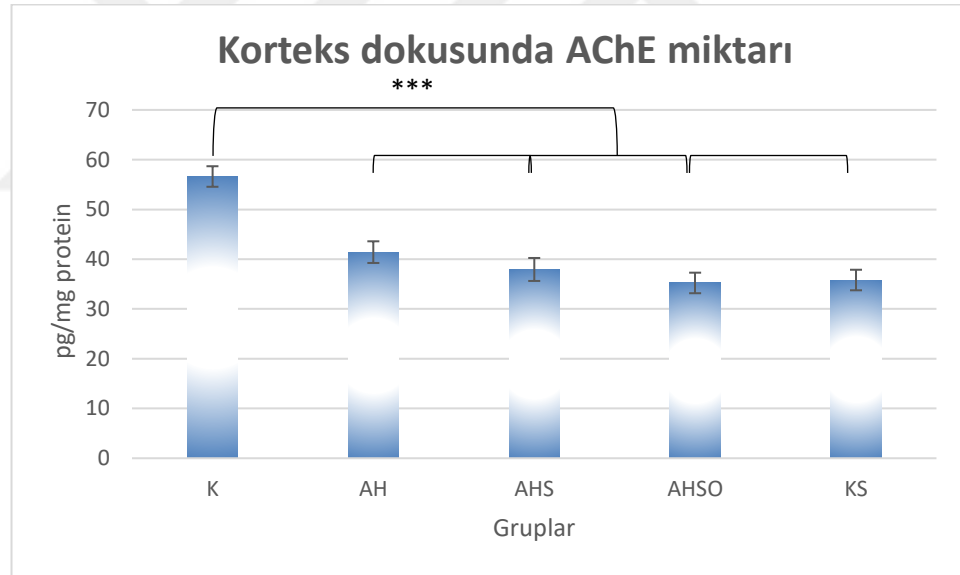
Korteks dokusunda, K grubuyla tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlendi ( $p<0.0001$ ) (Grafik 4.26).

Tablo 4.23. Hipokampus ve korteks dokularında AChE miktarı (pg/mg protein)

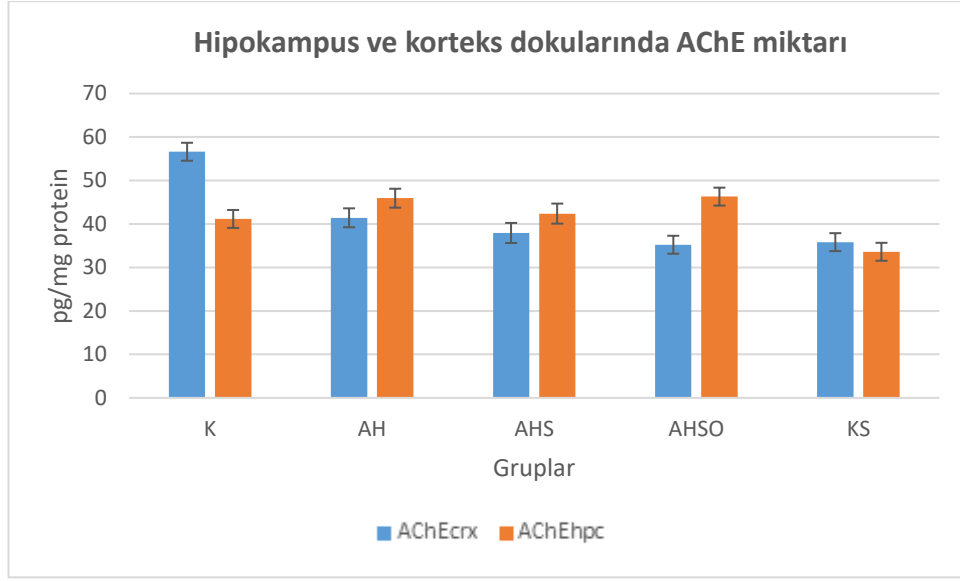
ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS
<b>AChEcrx</b>	56,62±2,06	41,42±2,17	37,93±2,30	35,23±2,06	35,82±2,06
<b>AChEhpc</b>	41,16±2,06	45,93±2,17	42,38±2,30	46,3±2,06	33,61±2,06



Grafik 4.25. Hipokampus dokusu AChE miktarı gruplar arasında ve grup doku etkileşiminde anlamlı olarak farklı bulundu ( $p < 0.0001$ ). KS grubuyla AH ve AHSO grubu arasında ( $p = 0.0008$ ) istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (\*\*:  $p < 0.01$ ).



Grafik 4.26. Korteks dokusu AChE miktarı gruplar arasında ve grup doku etkileşiminde anlamlı olarak farklı bulundu ( $p < 0.0001$ ). Korteks dokusunda K grubuyla tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi (\*\*\*:  $p < 0.0001$ ).



Grafik 4.27. Hipokampus ve korteks dokusu AChE miktarı gruplar arasında ve grup doku etkileşiminde anlamlı olarak farklı bulundu ( $p<0.0001$ ).

#### 4.3.2. Kolinasetil transferaz (ChAT) miktarı ölçümü

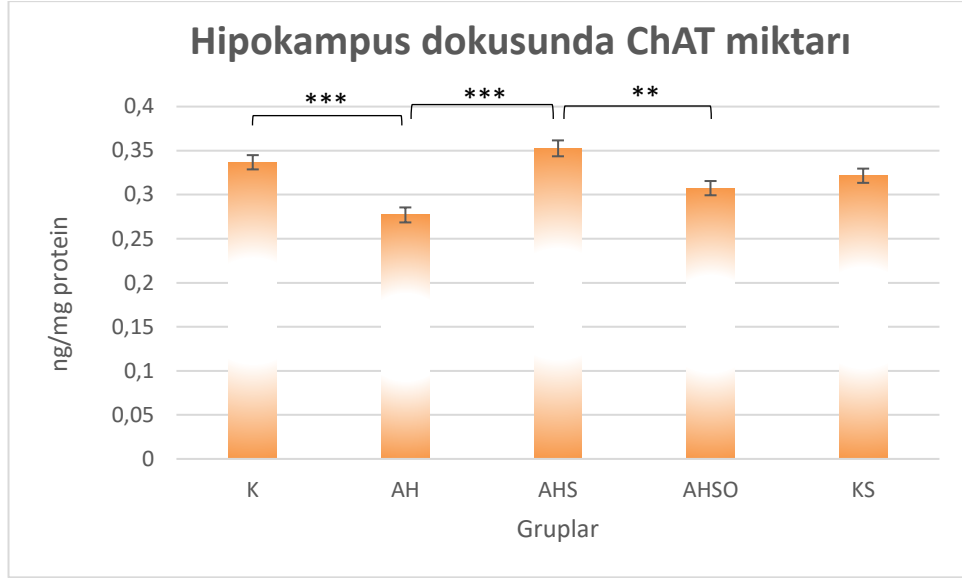
ChAT miktarı hipokampus ve korteks dokularında ELISA yöntemiyle belirlendi. Gruplar arasında ( $p<0.05$ ), dokular arasında ve grup doku etkileşiminde ( $p<0.0001$ ) istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Tablo 4.24 ve Grafik 4.30).

Hipokampus dokusu ChAT miktarında, AH grubuyla AHS ve K grubu arasında ( $p<0.0001$ ), AHS grubuyla AHSO grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p<0.01$ ) (Grafik 4.28).

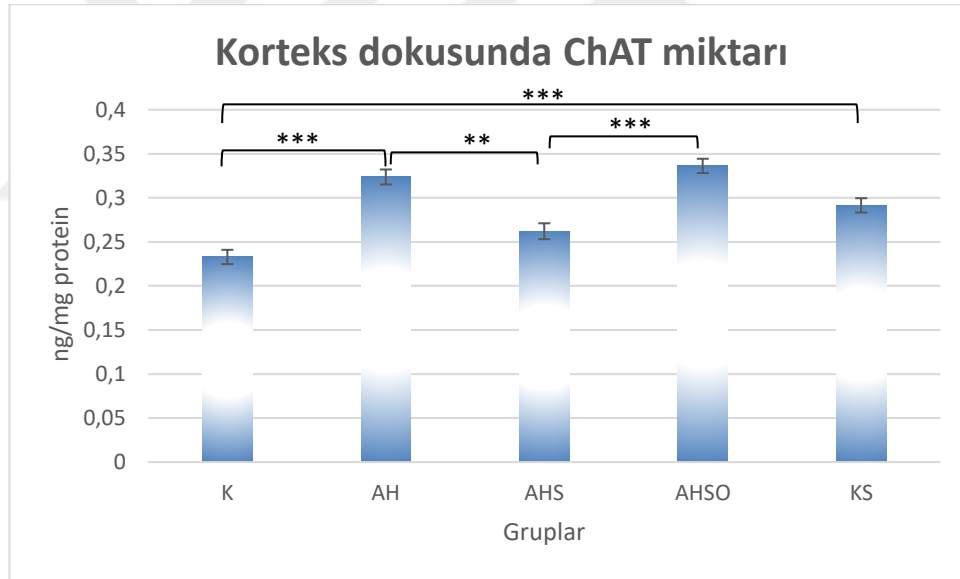
Korteks dokusu ChAT miktarında AH grubuyla AHS grubu ( $p<0.01$ ) ve K grubu arasında, AHS grubuyla AHSO grubu arasında, AHSO grubuyla K grubu, K grubuyla KS grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi ( $p<0.0001$ ) (Grafik 4.29).

Tablo 4.24. Hipokampus ve korteks dokularında ChAT miktarı (ng/mg protein)

ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS
CHATcrx	0,23±0,008	0,32±0,008	0,26±0,009	0,33±0,008	0,29±0,008
CHAThpc	0,33±0,008	0,27±0,008	0,35±0,009	0,30±0,008	0,32±0,008

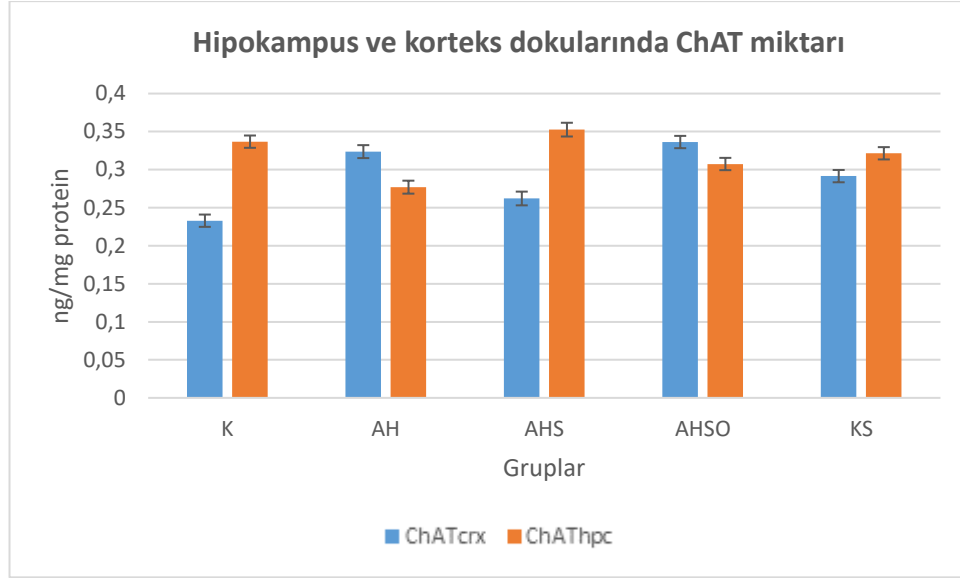


Grafik 4.28. Hipokampus dokusu ChAT miktarı gruplar arasında, dokular arasında ve grup doku etkileşiminde anlamlı olarak farklı bulundu. AH grubuyla AHS ve K grubu arasında ( $p < 0.0001$ ), AHS grubuyla AHSO grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (\*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.0001$ ).



Grafik 4.29. Korteks dokusu ChAT miktarı gruplar arasında, dokular arasında ve grup doku etkileşiminde anlamlı olarak farklı bulundu. AH grubuyla AHS grubu ve K grubu arasında, AHS grubuyla AHSO grubu arasında, AHSO grubuyla K grubu, K grubuyla KS grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi (\*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.0001$ ).





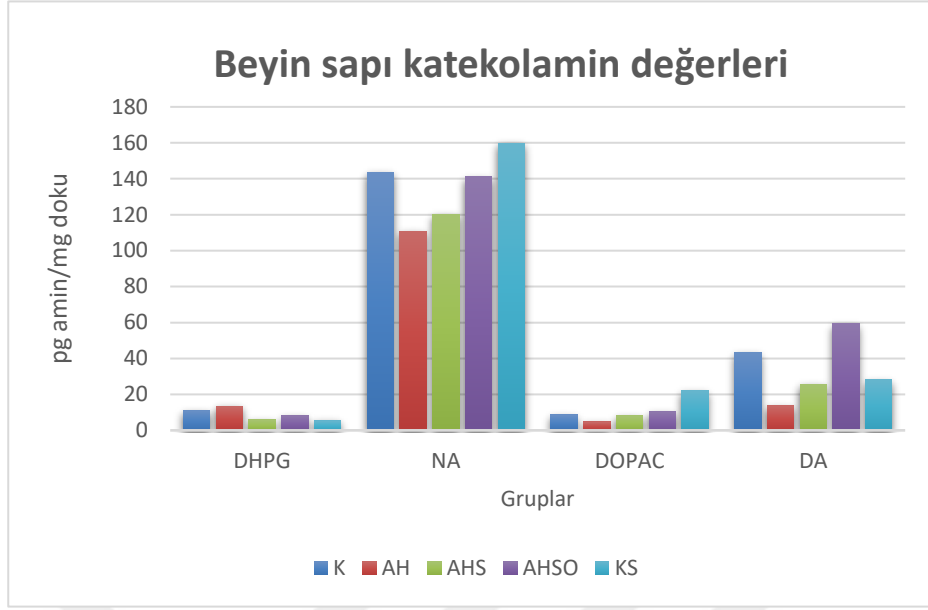
Grafik 4.30. Hipokampus ve korteks dokusu ChAT miktarı gruplar arasında, dokular arasında ve grup doku etkileşiminde istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p < 0.05$ ).

#### 4.4. Monoamin Analizleri

Sıçanlarda beyin sapı numunelerinde DHPG, NA, DOPAC ve DA konsantrasyonları değerlendirildi (Tablo 4.25 ve Grafik 4.31).

Tablo 4.25. Beyin sapı katekolamin değerleri (pg amin/mg doku)

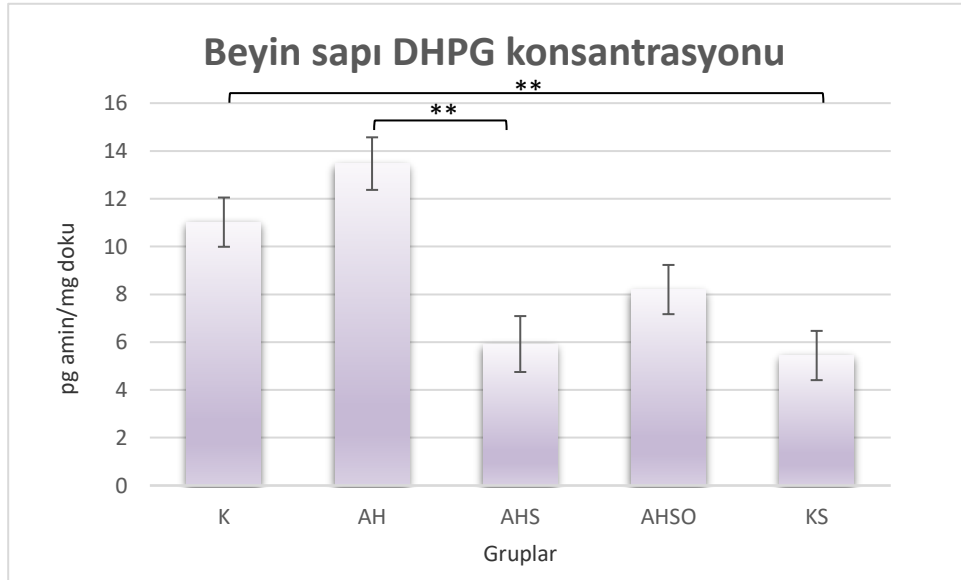
ORT±SH	K	AH	AHS	AHSO	KS	P Değeri
<b>DHPG</b>	11.02±1.03	13.47±1.10	5.92±1.17	8.20±1.03	5.44±1.03	<.0001
<b>NA</b>	143.66±20.8	110.93±22.1	120.14±23.6	141.16±20.8	159.80±20.8	0.5293
<b>DOPAC</b>	8.71±1.71	4.79±1.81	8.03±1.93	10.28±1.71	22.08±1.71	<.0001
<b>DA</b>	43.11±5.81	13.69±6.16	25.60±6.59	59.26±5.81	28.10±5.81	<.0001



Grafik 4.31. Grupların beyin sapı katekolamin değerlerini gösteren grafik.

#### 4.4.1. Dihidroksifenil Glikol Ölçümü

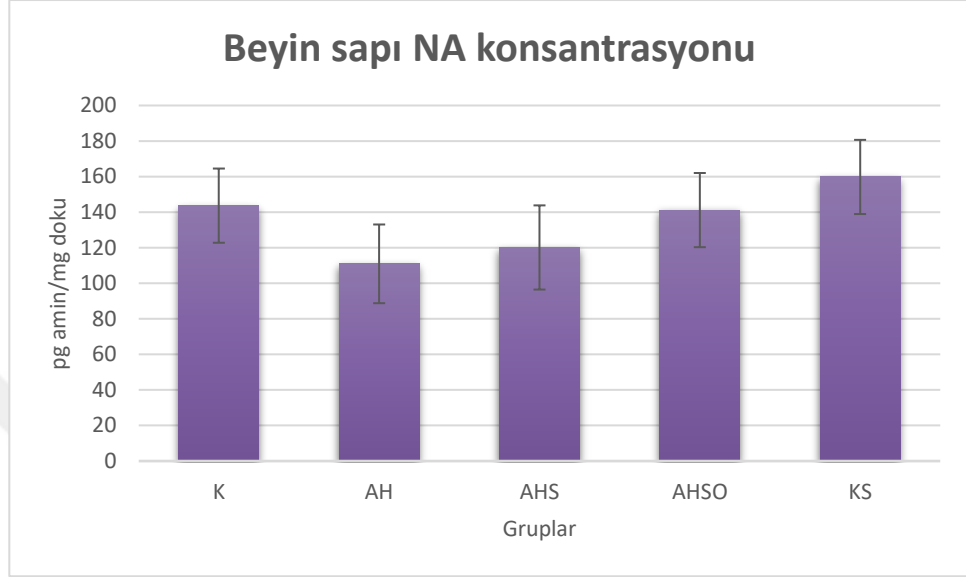
DHPG konsantrasyonu gruplar arasında istatistiksel olarak farklı bulundu (Grafik 4.32). Gruplar arası DHPG konsantrasyonu karşılaştırmasında AH grubu AHS grubuna göre, K grubu KS grubuna göre anlamlı olarak bulundu ( $p < 0.01$ ).



Grafik 4.32. DHPG konsantrasyonu gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulundu. AHS grubu AH grubuna göre, KS grubu K grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu (\*\*:  $p < 0.01$ ).

#### 4.4.2. Noradrenalin Ölçümü

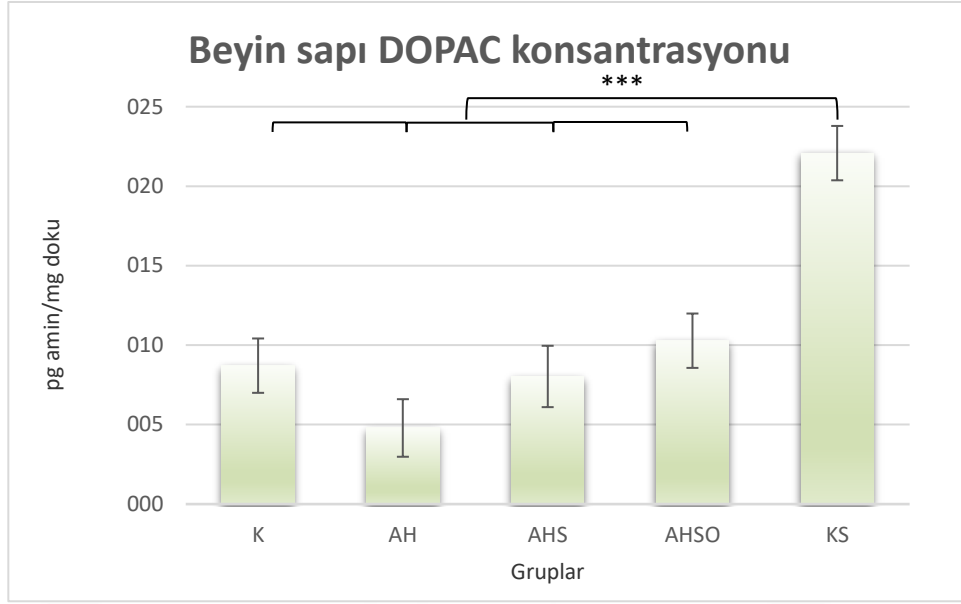
NA konsantrasyonunda gruplar arasında anlamlı fark görülmedi ( $p>0.05$ ) (Grafik 4.33). İstatistiksel olarak anlam görülmesine de AH grubunun NA konsantrasyonu tüm gruplara göre daha düşüktü.



Grafik 4.33. NA konsantrasyonu için gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı ( $p>0.05$ )

#### 4.4.3. Dihidroksifenilasetik Asit Ölçümü

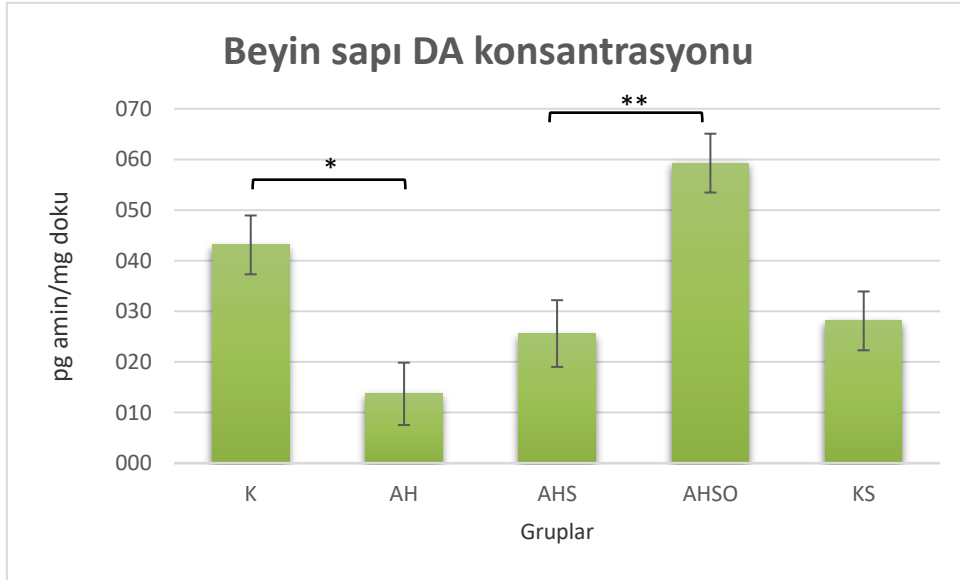
DOPAC konsantrasyonu gruplar arasında istatistiksel olarak farklı bulundu. Gruplar arası DOPAC konsantrasyonu karşılaştırmasında KS grubu tüm gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p<0.0001$ ) (Grafik 4.34).



Grafik 4.34. DOPAC konsantrasyonu gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulundu. KS grubu tüm gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulundu (\*\*\*:  $p < 0.0001$ ).

#### 4.4.4. Dopamin ölçümü

DA konsantrasyonu gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulundu (Grafik 4.35). Gruplar arası DA konsantrasyonu karşılaştırmasında AH grubu K grubuna göre ( $p < 0.05$ ), AHS grubu AHSO grubuna göre anlamlı olarak bulundu ( $p < 0.01$ ).



Grafik 4.35. DA konsantrasyonu gruplar arasında anlamlı olarak bulundu ( $p < 0.05$ ). AH grubu K grubuna göre, AHS grubu AHSO grubuna kıyasla anlamlı olarak düşük bulundu (\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ ).

## 5. TARTIŞMA

TK merkezi sinir sistemi ve periferel dokularda yaygın olarak dağılan peptitlerdir. TK'nin nöromodülatör ve nöroprotektif rollerinin olduğu düşünülmektedir (Nagano ve ark. 2006).

İnsan beyninde korteks, hipokampus ve hipotalamus bölgelerinde NK3R'nin yaygın olduğu gösterilmiştir (Mileusnic ve ark. 1999). Çeşitli çalışmalar ile NK3R'nin aktivasyonunun ACh ve DA gibi birçok nörotransmitterin salınımını etkilediği rapor edilmiştir (Siuciak ve ark. 2007).

Senktid gibi NK3R için seçici olan bazı agonistler, NKB'nin modifikasyonu ile elde edilmiştir (Linari ve ark. 2002). Senktid uygulamasının, amigdala, prefrontal korteks (Schable ve ark. 2011; De Souza Silva ve ark. 2013), striatum (Steinberg ve ark. 1995) ve hipokampusta (Marco ve ark. 1998; Schable ve ark. 2011; De Souza Silva ve ark. 2013) ACh salınımını arttırdığı gösterilmiştir.

NK3R agonizminin ACh üzerindeki etkisi ve NK3R'nin kolinerjik nöronlarda eksprese edilmesiyle NK3R'nin kolinerjik mekanizmalar üzerine olası rolünü göstermektedir (Chen ve ark. 2001a; Schable ve ark. 2011). NK3R'nin senktid uygulaması tarafından aktive edilmesiyle bazı hayvan modellerinde öğrenme ve bellek üzerine olumlu etkiler görülmesine rağmen (Zlomuzica ve ark. 2008; Schable ve ark. 2011, 2012a; De Souza Silva ve ark. 2013) nörodejeneratif hastalıklar ile ilgili hala çok az kanıt bulunmaktadır.

Araştırmacılar NK3R olmayan fare ve normal fareleri karşılaştırmak için spontan lokomotor aktivite testi, anksiyete için açık alan testi, depresyon değerlendirmesi için zorlu yüzme testi, ağrı parametreleri için ayak şoku testleri gibi birçok davranışsal test uygulamıştır. NK3R olmayan farelerde en belirgin görülen öğrenme ve hafızayla ilgili testlerdeki (pasif kaçınma ve MWM) bozulmalar olmuştur. Taşikininlerin belirgin olarak öğrenme ve belleği etkiledikleri rapor edilmiştir (Siuciak ve ark. 2007).

Yaşlılıkta ve AH'de bellek disfonksiyonunun altında yatan mekanizmanın kolinerjik hipofonksiyon olduğu düşünülmektedir (Bartus 2000). AH'li hastalarda ChAT aktivitesinde belirgin bir azalma ve bazal ön beyin nöron sayısında belirgin bir

hücre kaybı tespit edilmiştir (Mesulam 2004). AH'de ACh sentezinde meydana gelen düşüşün ChAT enzim miktarının ve kolin geri alımının azalmasına, kolinerjik nöron ve aksonlarda oluşan hasarlara, korteks ve hipokampusa projekte olan kolinerjik nöronlarda meydana gelen kayıplara bağlı olduğu bildirilmiştir (Mesulam 2000).

Kolinerjik sistemin işlev bozukluğu, demans ve normal yaşlanmanın bilişsel semptomları için önemli bir rol oynamaktadır. NA, DA ve serotonin gibi diğer nörotransmitter sistemlerindeki değişikliklerin de bu patolojilere neden olabileceği bilinmektedir (Garibotto ve ark. 2013). AH'de nöronal sinapsların kaybı ve nöron ölümü, sonuçta ACh ve diğer nörotransmitterlerin azalmasına yol açmaktadır (Chu 2012).

Sistemik senktid uygulamasının periferik etkileri her ne kadar göz ardı edilemese de, sistemik olarak enjekte edilen senktidin beyin penetrasyonunu gösteren birçok çalışma olduğundan, mevcut çalışmadaki sonuçların ilacın doğrudan merkezi etkileri olarak yorumlanabileceği rapor edilmiştir (Ciccocioppo ve ark. 1995; Zlomuzica ve ark. 2008)

## *5.1. Davranış ve Bellek Testlerinin Değerlendirilmesi*

### *5.1.1. Açık Alan Testi (Open Field Test=OF Test)*

Hayvanların hem lokomotor aktivitelerini test etmek, hem de anksiyete düzeylerini incelemek için deneyin başlangıcında ve sonunda OF testi yapıldı. OF testinde katedilen mesafe, hız, kenardan merkeze geçiş sayısı, hareket yüzdesi, şahlanma sayısı, süslenme süresi parametreleri değerlendirildi.

Lokomotor aktivite için önemli olan katedilen mesafe, hız ve hareket yüzdesi parametrelerinde ilk ölçülen değerlere göre son değerler tüm gruplarda azalmış olarak bulundu. Senktidin tek başına 0.1-0.4 mg/kg dozlarında lokomotor aktivite üzerine herhangi bir etkisi olmamıştır (De Souza Silva ve ark. 2006). Mevcut çalışmamızda lokomotor aktivitenin azalmasına deney süresince yapılan uygulamalar nedeniyle oluşan anksiyete düzeyinin neden olabileceği düşünüldü.

NK3R agonisti ve antagonistinin açık alan ve zorlu yüzme testlerinde anksiyolitik, anksiyojenik ve antidepresan benzeri etkiler görülmüştür (Massi ve ark. 2000, Schable ve ark. 2011). Açık alan testinde hem düşük doz (0.2 mg/kg) hem de

yüksek doz (0.4 mg/kg) senktid ile anksiyolitik benzeri etki görülmüştür (Schable ve ark. 2011). Farklı bir çalışmada ise NK2R agonizmi bellek kaybı ve anksiyojenik etkiye sahipken, NK3R agonistlerinin belleği iyileştirici ve anksiyolitik etkiler gösterdiği rapor edilmiştir (Schable ve ark. 2012b). Projemizde hayvanların anksiyete düzeyinin belirlenmesinde katedilen mesafe, hız, hareket yüzdesi, şahlanma sayısı ve süslenme süresi değerlendirildi. Katedilen mesafe, hız, hareket yüzdesi ve şahlanma sayısı parametreleri son ölçüm değerlerinde azalmış olarak bulundu. Gruplar arasındaki farklı sonuçlar; AH grubunda anksiyete oluştuğunu, senktidin anksiyolitik etkilerinin olduğunu ve antagonist uygulaması ile anksiyolitik etkilerin tersine çevrildiğini gösterdi.

Senktid uygulamasının tek başına hayvanların özbakımını etkilemediği rapor edilmiştir (De Souza Silva ve ark. 2006). Bunun aksine NK3R aktivasyonunun süslenme davranışı üzerinde kolaylaştırıcı etkisi de gösterilmiştir (Hall ve ark. 1987). Çalışmamızda süslenme parametresinde senktid uygulanan gruplarda gözlenen düşüş, yapılan diğer çalışmaların aksine senktidin özbakım üzerine olumsuz etkide bulunduğunu göstermektedir.

#### 5.1.2. *Morris'in Su Labirenti Testi (Morris Water Maze=MWM)*

NK3R genetik olarak hasarlanmış farelerde öğrenme ve bellek mekanizmasıyla ilgili çelişkili bulgular bildirilmiştir. Araştırmacılar koşullu kaçınma ve MWM testlerinde eksiklikler bulmuştur (Siuciak ve ark. 2007). Bunun tersine operant görev ve mekansal öğrenme performansında bir iyileşme görülmüştür. Etkinin yönündeki bu farklılık, bu hayvanların üretilmesinde kullanılan farklı genetik arka planların kullanılmasından kaynaklanabileceğini düşündürmüştür (Nordquist ve ark. 2008). Senktidin, mekansal çalışma belleği görevinde skopolamine bağlı bozukluğu hafiflettiği bulunmuştur (Kameyama ve ark. 1998). Senktid enjeksiyonuyla MWM'de platformun yerini bulma görevinde iyileşme gözlemlenmiştir. Bu etki, bir NK3R antagonisti ile ön muamele sonucunda tamamen bloke edilmiştir. NK3R antagonisti kendisi tek başına öğrenme ve hafızayı etkilememiştir (De Souza Silva ve ark. 2013).

Araştırmamızda MWM'de uzaysal belleğin değerlendirilmesi için platforma ulaşma süresi, katedilen mesafe, hedef kadrandan geçiş sayısı, hız, hedef kadranda bulunma süresi parametreleri incelendi.

MWM’de test aşamasında platforma ulaşma süresi en kısa olan K grubu iken, en uzun olan AH grubudur. AHS grubunda senktidin etkisi ile platforma ulaşma süresi kısalmıştır. AHSO grubunda bu etki osanetant ile geri dönerek süre uzamıştır. AHS grubunun AH ve AHSO grubuna göre platformu daha kısa sürede bulmasıyla senktidin öğrenme üzerine olumlu etkileri olduğu görülmüştür.

MWM’nin eğitim aşamasında grupların katettiği mesafe tüm gruplarda ardışık 4 gün genel olarak azalma göstermiştir. Test aşamasında katettiği mesafe en fazla olan AH grubu oldu. K grubu ve AHS grubunun katettiği mesafe sonuçları birbirine yakın ve AH grubuna göre daha azdı. AHS grubunun katettiği mesafe parametresinin AH grubuna göre az olması senktidin AH’de oluşan öğrenme defisitlerini iyileştirici etkide bulunduğunu düşündürdü.

MWM testinde hedef kadrandan geçiş sayısı hayvanların platformun yerini öğrendiklerini ve o bölgede arama yaptıklarını gösteren bir parametredir. MWM’nin test aşamasında AHS grubunun hedef kadrandan geçiş sayısı diğer gruplara göre daha fazlaydı. AH ve AHSO grubunun sonuçları birbirine yakın olmakla beraber diğer gruplara göre hedef kadrandan geçiş sayıları oldukça azdı. Bu durum AH grubu hayvanların hedef kadranı öğrenemediklerini ve AHS grubunda senktidin öğrenme defisitlerini iyileştirici etkisinin olduğunu gösterirken, AHSO grubunda da AH grubuna benzer bulguların bulunması senktidin etkilerinin NK3R’ye bağımlı olduğunu düşündürmüştür.

MWM testinde hız parametresinde fark bulunamaması hayvanların lokomotor aktivitelerinde gruplar arasında herhangi bir değişiklik olmadığını düşündürdü. Hayvanların hızlarında farklılık olmaması diğer sonuçlar (platforma ulaşma süresi, kaçış mesafesi, hedef kadrandan geçiş sayısı) üzerinde de hızın etkisinin olmadığı anlamına gelmektedir.

MWM’de hedef kadranda bulunma süresi hayvanın platformun hangi kadranda olduğunu öğrenip öğrenmediğini göstermektedir. AH ve AHSO grubu platformun bulunduğu kadranda en az süre geçiren gruplardır. K ve AHS grupları hedef kadranda birbirlerine yakın süre geçirmişlerdir. Bu parametreyle de senktid uygulanan AH’li hayvanlardan oluşan AHS grubunun kontrol grubuna yakın öğrenme düzeyi gösterirken, AH ve AHSO grubu hayvanların hedef kadranı öğrenemedikleri



görülmüştür. AHSO grubunda senktidin olumlu etkilerinin osanetant ile geri döndürülmesi senktidin NK3R'ye bağımlı olarak etki gösterdiğini düşündürmüştür.

Enjeksiyon prosedürünün, çözücü uygulanan gruptaki hafıza performansındaki bozulmaya neden olabileceği düşünülmüştür. Bu durumda senktidin, enjeksiyon prosedürünün neden olduğu stresi azaltarak belleği desteklediği belirtilmiştir (Kart-Teke ve ark. 2007). K ve KS gruplarındaki farklı sonuçlar bununla ilişkili olabilir.

### 5.1.3. Yeni Obje Tanıma Testi (New Object Recognition Test=NORT)

NK3R agonistlerinin öğrenme ve bellek paradigmalarına etkilerini inceleyen birkaç çalışmada NK3R agonizminin promnestik etkisi, farelerde spontan tercih testinde (Kameyama, ve ark. 1998), farelerde (Zlomuzica ve ark. 2008) ve sıçanlarda (Schable ve ark. 2011) epizodik bellek testinde tanımlanmıştır. Ayrıca, NK3R olmayan fareler, pasif kaçınma, koşullu kaçınma ve MWM testlerinde bilişsel defisitler göstermiştir (Siuciak ve ark. 2007).

Yapılan bir çalışmada senktid NORT'de epizodik hafızaya ait bir bileşen olan mekansal yer değiştirme için nesne hafızasının gelişmesine yol açmıştır. Epizodik hafızada etkili doz 0.2 mg/kg olmuştur (Schable ve ark. 2011). Aynı araştırmacıların farklı bir çalışmasında skopolamin alan sıçanlarda nesne tanıma hafızasının bozulduğu, yeni ve tanıdık nesnelere arasında ayırım yapamadıkları görülmüştür. Senktid, skopolamin ile hafıza bozulmasının önlenmesinde etkili olmuştur. 0.2 mg/kg senktid alan hayvanlar tanıdık nesneye göre yeni nesneyi araştırmak için daha fazla zaman harcamışlardır. Senktid tek başına verildiğinde nesne tanıma görevinde performans üzerinde hiçbir etkisi olmamıştır (Schable ve ark. 2012a).

Senktidin, farelerde 0.1, 0.2 ve 0.4 mg/kg dozlarında sistemik olarak uygulanmasıyla epizodik hafızanın gelişip gelişmeyeceğini incelenmiştir. 0.1 mg/kg dozunda yapılan tedavinin performansta etkisi görülmemiştir. Buna karşılık, orta (0.2 mg/kg) ve yüksek (0.4 mg/kg) senktid dozuyla muameleden sonra, fareler, iki farklı nesneyle ilişkili zamansal sırayı hatırlamış, ne ve ne zaman soruları için bellek performansının iyileştiği gösterilmiştir. 0.2 ve 0.4 mg/kg'lık dozlar ne ve nerede soruları için hafızanın gelişmesinde etkili olmuştur. 0.4 mg/kg dozu, nesnelere zamansal düzeni ile uzamsal konumlandırılması arasında bir etkileşimin indüklenmesinde etkili olmuştur (Zlomuzica ve ark. 2008).

Senktid uygulanan hayvanlarda diğer hayvanlara kıyasla epizodik bellek testinde nesne yeri bulma hafızasında iyileşme gözlenmiştir. Farklı bir grupta da senktid enjeksiyonundan hemen önce NK3R antagonisti osanetant (6 mg/kg, ip) uygulanmıştır. Osanetant uygulanan gruptaki hayvanlar testte başarısız olmuşlardır. Senktidin 0.4 mg/kg dozunda uzun süreli NORT’de ne ve nerede bilgisi için nesne konumu hafızasını eski durumuna getirdiği gösterilmiştir. Bu sonuçlar senktidin konsolidasyonu kolaylaştırdığını ve etkisinin NK3R’ye bağımlı olduğunu göstermektedir (Chao ve ark. 2014).

Araştırmamızda deney hayvanlarının öğrenme düzeylerini test edebilmek için kısa ve uzun süreli NORT’de ayırım ve tanıma indeksleri değerlendirildi. Uzun süreli NORT’de AH grubuna göre AHS grubunun tanıma ve ayırım indeksinde artış görülmüştür. Artış AHSO grubunda osanetantın etkisi ile geri dönmüştür. Bu durum hafıza üzerine senktidin olumlu etkisinin osanetant ile tersine çevrildiğini göstermiştir.

Mevcut çalışmada AH oluşturulan hayvanlara 0.2 mg/kg senktid uygulanmıştır. İleri çalışmalarda daha yüksek doz senktid denenebileceği gibi, profilaktik olarak da senktid yapılabilir.

## *5.2. ELISA Analizlerinin Değerlendirilmesi*

Düşük hipokampal ACh nörotransmisyonu MWM’de, T labirentinde, radyal kol labirentinde ve pasif kaçınma testinde eksiklikler ile ilişkilendirilmiştir. Kolinerjik sistemin aktivitesinin yetişkin hayvanlarda NK3R agonizmiyle uyarılabileceği tespit edilmiştir. Sistemik senktid uygulamasından sonra yapılan mikrodializ sonuçları, ACh seviyelerinin yaşlı sıçanların frontal korteks, amigdala ve hipokampus bölgelerinde arttığını göstermiştir. Düşük doz (0.2 mg/kg), frontal korteks ve amigdaladaki ACh düzeylerinin artmasında ve yüksek doz (0.4 mg/kg) ise hipokampus ACh seviyelerinin artmasında etkili olmuştur (Schable ve ark. 2011). Elde edilen veriler senktidin etkilerinin kolinerjik nörotransmisyondaki değişikliklerden kaynaklanabileceğini göstermektedir. NK3R ligandı olan NKB’nin hipokampusta ACh seviyelerini arttırdığı bulunmuştur. Frontal kortekste anlamlı bir etki görülmemiştir. Amigdalada ise ACh’de önemsiz bir artış olmuştur (Schable ve ark. 2012b).

NK3R'nin farmakolojik uyarılmasının yaşlı hayvanlarda öğrenme ve hafızayı önemli ölçüde artırabildiği gösterilmiştir. Bu etkilere büyük olasılıkla, bazal ön beyin majör kolinerjik projeksiyon hedef bölgelerindeki ACh düzeylerinin artması ve hipokampusta NK3R'nin regülasyonunun aracılık ettiği düşünülmüştür. NK3R agonizmi, öğrenme ve hafızayla ilgili beyin bölgelerinde ACh aktivitesini de arttırmıştır. Bu etki NK3R'ye özgüdür, çünkü NK3R antagonisti tarafından tamamen engellenmiştir (De Souza Silva ve ark. 2013).

Metabolize edici enzim AChE'nin farmakolojik inhibisyonunun, ACh seviyelerini arttırdığı ve yaşlı organizmada öğrenme ve hafızayı geliştirdiği gösterilmiştir. Bununla birlikte, AChE inhibitörleri periferik ve otonom sinir sisteminde ciddi yan etkilere sahip olabilir. NK3R agonistlerinin ACh aracılı periferik mekanizmalar üzerinde düşük bir etkisi vardır ve bu nedenle beyin ACh aktivitesi üzerine yan etkilere karşı daha düşük riskli bir yol olduğu düşünülmektedir (De Souza Silva ve ark. 2013).

Yaşlanmayla ilişkili kolinerjik nöron kaybının, endojen NK3R agonisti NKB tarafından önlenilebileceği bildirilmiştir (Wenk ve ark. 1997). Yaşlı sıçanlarda subkutan uygulanan senktid hipokampus, amigdala ve frontal kortekste ACh'yi arttırmış, anksiyolitik ve promnestik etki göstermiştir (Schable ve ark. 2010).

Mevcut projede AChE ve ChAT miktarı hipokampus ve korteks dokularında ELISA yöntemiyle belirlendi. Hipokampustaki AChE miktarı AH ve AHSO grubunda artmış olarak bulunurken AHS grubunda bu gruplara göre daha düşük olarak tespit edilmiştir. Hipokampal ChAT miktarının ise bunun tersine AH ve AHSO grubunda daha düşükken AHS grubunda artmış olduğu bulunmuştur. Yani hipokampus dokusunda AChE ve ChAT miktarında hipotezimiz ile uyumlu sonuçlar elde edilmiştir.

NK3R agonistlerinin sistemik uygulamasının ACh aracılı periferik mekanizmalar üzerinde düşük bir etkisi olduğu bilgisine dayanarak (De Souza Silva ve ark. 2013) yan etki kapsamının daha güvenli olabileceği düşünülmektedir. Daha sonra planlanan çalışmalarda sistemik senktid uygulamasını takiben mikrodializ yöntemiyle MSS'de öğrenme ile ilgili bölgelerde kolinerjik sistemin nasıl etkilendiği araştırılabilir.

### 5.3. Monoamin Analizlerinin Değerlendirilmesi

AH'de lokus seruleustaki noradrenerjik çekirdeklerde progresif bir dejenerasyon bulunmaktadır (Heneka ve ark. 2010, Trillo ve ark. 2013). AH'de özellikle nigrostriatal DA sistemi fazla etkilenmezken kortekste noradrenerjik innervasyon kaybının meydana geldiği rapor edilmiştir (Hirao ve ark. 2015).

Senktidin hafıza arttırıcı etkilerinin kolinerjik sistemin yanısıra DA gibi diğer nörotransmitter sistemleri de etkileyebileceği rapor edilmiştir (Chao ve ark. 2014). NK3R agonisti senktidin düşük dozunun orta beyin DA aktivite hasarı olan sıçanlarda zamansal nesne tanıma hafızası üzerinde olumlu etkileri vardır. Bu etki, mediyal prefrontal korteks ve hipokampustaki ACh salınımı nedeniyle olabilir. 0.2 mg/kg senktid ile tedavi edilen hemiparkinson modeli fareler, çözücü enjekte edilen kontrol grubunun aksine, DA mekanizması aracılığıyla bozulmamış geçici zamansal nesne tanıma belleği sergilemiştir (Chao ve ark. 2015).

Mevcut çalışmada beyin sapı NA ve DA konsantrasyonu AH grubunda diğer gruplara göre daha düşükken, AHS grubunda ise AH'ye göre artmış olarak bulundu. AH grubunda azalan katekolamin değerlerinin kognitif fonksiyonların bozulmasıyla ilişkili olabileceği ve NK3R agonizminin katekolaminerjik mekanizmalar aracılığıyla kognitif fonksiyonları düzeltebileceği düşünüldü. AHSO grubundaki bazı uyumsuz sonuçların da katekolamin değerlerindeki farklılıklardan kaynaklanabileceği yorumu yapıldı.

## 6. SONUÇ

Yaşlı nüfusun giderek artmasıyla AH çok önemli bir sağlık sorunu haline gelmektedir. Bu yüzden AH'nin tanı ve tedavisi için yapılan araştırmalar zorunlu hale gelmiştir. İnsanlarda, AH fizyopatolojisinin açığa kavuşması ve yeni farmakoterapilerin keşfedilmesinde hayvan modelleri oldukça yardımcıdır. Deneysel AH modellerinde, çeşitli öğrenme ve bellek testleri uzun zamandır yapılmaktadır. Bu testler aracılığıyla AH'deki kognitif bozukluğun tedavisi amacıyla çeşitli terapötik ajanlar denenebilmektedir.

Mevcut tez projesinde OF testi bulguları, Alzheimer fizyopatolojisine ek olarak anksiyetenin eşlik ettiğini, NK3R agonistinin anksiyolitik etkilerinin olduğunu ve antagonist uygulaması ile anksiyolitik etkilerin tersine çevrildiğini göstermiştir. MWM testi bulgularıyla Alzheimer patolojisi sonucunda öğrenme ve bellek mekanizmasının bozulduğu ve NK3R agonisti ile öğrenmenin iyileştirilebileceği görülmüştür. Uzun süreli NORT'de hafıza üzerine senktidin olumlu etkisinin osanetant ile geri döndüğü gösterilmiştir. Hipokampal AChE ve ChAT miktarı bulguları senktidin öğrenme üzerine kolinerjik mekanizma aracılı olumlu etkilerini destekleyerek hipotezimizi doğrulamıştır. Beyin sapı dokusunda DA ve NA konsantrasyonlarının AH grubunda diğer gruplara göre daha düşükken AHS grubunda artmış olması hipotezimiz ile uyumlu olarak senktidin katekolaminerjik mekanizmalar aracılığıyla da öğrenme ve bellek fonksiyonlarını değiştirebileceğini düşündürmüştür.

Elde edilen veriler ile şu sonuçlar çıkarılabilir:

1. AH fizyopatolojisini daha iyi anlayabilmek üzere deneysel AH modeli standardizasyonu yapılmıştır.
2. AH fizyopatolojisine ek olarak oluşan anksiyete üzerine NK3R agonistinin anksiyolitik etkilerinin olduğu görülmüştür.
3. NK3R agonizminin AH patolojisi oluşturulmuş sıçanlarda kognitif fonksiyonları iyileştirmekte etkili olduğu gözlenmiştir.
4. NK3R agonistinin öğrenme mekanizması üzerine olumlu etkilerinin NK3R antagonisti ile geri döndürülmesi etkilerin NK3R'ye bağımlı olduğunu göstermiştir.

5. Kognitif fonksiyonlar üzerindeki olumlu etkilerin kolinerjik ve katekolaminerjik mekanizmalar aracılığıyla nörotransmitter aktivitelerinin modülasyonu yolu ile olabileceği çıkarımı yapılabilir.

Demansın normal yaşlanma ve Alzheimer hastalığı için karakteristik olduğu göz önüne alındığında NK3R'nin bu tür bilişsel gerilemede olası farmakolojik uygulamalar için daha ileri düzeyde araştırılması gereklidir.

Henüz kesin bir tedavisi olmayan AH'ye yönelik, yeni ve gelişmiş teknikler kullanılarak, insanlarda ve hayvan modellerinde daha çok bilimsel araştırmaların yapılmasıyla daha etkin tedavi stratejileri geliştirilebilir.



## 7. KAYNAKLAR

- Almeida TA1, Rojo J, Nieto PM, Pinto FM, Hernandez M, Martín JD, Candenas ML. Tachykinins and tachykinin receptors: structure and activity relationships. *Current Medicinal Chemistry*. 2004; 11(15): 2045-81.
- Andero R, Dias BG, Ressler KJ. A role for Tac2, NkB, and Nk3 receptor in normal and dysregulated fear memory consolidation. *Neuron*. 2014; 83(2): 444-454.
- Ankarcrona M, Winblad B, Monteiro C, Fearn C, Powers ET, Johansson J, Westermark. GT, Presto J, Ericzon BG, Kelly JW. Current and future treatment of amyloid diseases. *Journal of Internal Medicine*. 2016; 280: 177-202.
- Arenas E, Alberch J, Perez-Navarro E, Solsona C, Marsal J. Neurokinin receptors differentially mediate endogenous acetylcholine release evoked by tachykinins in the neostriatum. *Journal of Neuroscience*. 1991; 11, 2332–2338.
- Aykaç A, Süer K, Taşkıran C. Anksiyete araştırmalarında kullanılan sıçan davranış modelleri. *Marmara Medical Journal*. 2015; 28: 1-7.
- Balducci C, Beeg M, Stravalaci M, Bastone A, Scip A, Biasini E, Tapella L, Colombo L, Manzoni C, Borsello T, Chiesa R, Gobbi M, Salmona M, Forloni G. Synthetic amyloid-beta oligomers impair long-term memory independently of cellular prion protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010; 107(5): 2295-300.
- Ballard C, Gauthier S, Corbett A, Brayne C, Aarsland D, Jones E. Alzheimer’s disease. *Lancet*. 2011; 377(9770): 1019-31.
- Bellozi PM, Lima IV, Doria JG, Vieira EL, Campos AC, Candelario-Jalil E, Reis HJ, Teixeira AL, Ribeiro FM, de Oliveira AC. Neuroprotective effects of the anticancer drug NVP-BEZ235 (dactolisib) on amyloid- $\beta$  1–42 induced neurotoxicity and memory impairment. *Scientific Reports*. 2016; 6: 25226.
- Bert L, Rodier D, Bougault I, Allouard N, Le-Fur G, Soubrie P, Steinberg R. Permissive role of neurokinin NK(3) receptors in NK(1) receptor-mediated activation of the locus coeruleus revealed by SR 142801. *Synapse*. 2002; 43, 62–69.
- Bohnen NI, Albin RL. The cholinergic system and Parkinson disease. *Behavioural Brain Research*. 2011; 221(2): 564-73.
- Borbely E, Scheich B, Helyes Z. Neuropeptides in learning and memory. *Neuropeptides*. 2013; 47(6): 439-50.
- Bartus RT. On neurodegenerative diseases, models, and treatment strategies: lessons learned and lessons forgotten a generation following the cholinergic hypothesis. *Experimental Neurology*. 2000; 163(2): 495-529.
- Burns A, Byrne E, Maurer K. Alzheimer’s disease. *Lancet*. 2002; 360(9327): 163-5.
- Calvo N, Reiriz J, Perez-Navarro E, Alberch J. Tachykinins protect cholinergic neurons from quinolinic acid excitotoxicity in striatal cultures. *Brain Research*. 1996; 740(1-2): 323-8.

- Cárdenas-Aguayo M. del C, Silva-Lucero M. del C, Cortes-Ortiz M, Jiménez-Ramos B, Gómez-Virgilio L, Ramírez-Rodríguez G, Vera-Arroyo E, Fiorentino-Pérez R, García U, Luna-Muñoz J, Meraz-Ríos MA. Physiological Role of Amyloid Beta in Neural Cells: The Cellular Trophic Activity. *Neurochemistry*. 2014; 978-953-51-1237-2
- Chao OY, Nikolaus S, Huston JP, De Souza Silva MA. The neurokinin-3 receptor agonist senktide facilitates the integration of memories for object, place and temporal order into episodic memory. *Neurobiology of Learning and Memory*. 2014; 114: 178-85.
- Chao OY, Wang AL, Nikolaus S, De Souza Silva MA. NK3 receptor agonism reinstates temporal order memory in the hemiparkinsonian rat. *Behavioural Brain Research*. 2015; 285: 208-12.
- Chawla MK, Gutierrez GM, Young WS, McMullen NT, Rance NE. Localization of neurons expressing substance P and neurokinin B gene transcripts in the human hypothalamus and basal forebrain. *Journal of Comparative Neurology*. 1997; 384(3): 429-42.
- Chen LW, Wei LC, Liu HL, Ding YQ, Zhang H, Rao ZR, Ju G, Chan YS. Cholinergic neurons expressing neuromedin K receptor (NK3) in the basal forebrain of the rat: A double immunofluorescence study. *Neuroscience*. 2001a; 103, 413-422.
- Chen LW, Wei LC, Liu HL, Qiu Y, Chan YS. Cholinergic neurons expressing substance P receptor (NK(1)) in the basal forebrain of the rat: a double immunocytochemical study. *Brain Research*. 2001b; 904, 161-166.
- Chow VW, Mattson MP, Wong PC, Gleichmann M. An overview of APP processing enzymes and products. *Neuromolecular Medicine*. 2010; 12(1): 1-12.
- Chu LW. Alzheimer's disease: early diagnosis and treatment. *Hong Kong Medical Journal*. 2012; 18(3): 228-37.
- Ciccocioppo R, Panocka I, Pompei P, Polidori C, de Caro G, Massi M. Subcutaneous injections of the tachykinin senktide reduce alcohol intake in alcohol-preferring rats. *Peptides*. 1995; 16, 533-537.
- Craig LA, Hong NS, McDonald RJ. Revisiting the cholinergic hypothesis in the development of Alzheimer's disease. *Neuroscience Biobehavioural Reviews*. 2011; 35(6): 1397-409.
- Dableh LJ, Yashpal K, Rochford J, Henry JL. Antidepressant-like effects of neurokinin receptor antagonists in the forced swim test in the rat. *European Journal of Pharmacology*. 2005; 507, 99-105.
- Darcet F, Mendez-David I, Tritschler L, Gardier AM, Guilloux J, David DJ. Learning and memory impairments in an neuroendocrine Mouse model of anxiety/depression. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2014; 8: 136.
- Deiana S, Platt B, Riedel G. The cholinergic system and spatial learning. *Behavioral Brain Research*. 2011; 221(2): 389-411.
- Dere E, Huston JP, De Souza Silva MA. The pharmacology, neuroanatomy and neurogenetics of one-trial object recognition in rodents. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2007; 31(5): 673-704.



- De Souza Silva MA, Hasenohrl RU, Tomaz C, Schwarting RK, Huston JP. Differential modulation of frontal cortex acetylcholine by injection of substance P into the nucleus basalis magnocellularis region in the freelymoving vs. the anesthetized preparation. *Synapse*. 2000; 38, 243–253.
- De Souza Silva MA, Mello EL Jr, Müller CP, Jocham G, Maior RS, Huston JP, Tomaz C, Barros M. Interaction of the tachykinin NK3 receptor agonist senktide with behavioral effects of cocaine in marmosets (*Callithrix penicillata*). *Peptides*. 2006; 27(9): 2214-23.
- De Souza Silva MA, Lenz B, Rotter A, Biermann T, Peters O, Ramirez A, Jessen F, Maier W, Hüll M, Schröder J, Frölich L, Teipel S, Gruber O, Kornhuber J, Huston JP, Müller CP, Schable S. Neurokinin3 receptor as a target to predict and improve learning and memory in the aged organism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2013; 110(37): 15097-102.
- D'Hooge R, De Deyn PP Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Research Reviews*. 2001; 36(1): 60-90.
- Dietl MM, Palacios JM. Phylogeny of tachykinin receptor localization in the vertebrate central nervous system: apparent absence of neurokinin-2 and neurokinin-3 binding sites in the human brain. *Brain Research*. 1991; 539, 211–222.
- Ding YQ, Shigemoto R, Takada M, Ohishi H, Nakanishi S, Mizuno N. Localization of the neuromedin K receptor (NK3) in the central nervous system of the rat. *Journal of Comparative Neurology*. 1996; 364: 290–310.
- Do Carmo S, Cuello AC. Modeling Alzheimer's disease in transgenic rats. *Molecular Neurodegeneration*. 2013; 8: 37.
- Duarte CR, Schütz B, Zimmer A. Incongruent pattern of neurokinin B expression in rat and mouse brains. *Cell and Tissue Research*. 2006; 323(1): 43-51.
- Erdoğan F, Küçük A, Gölğeli A, Liman N, Sağsöz H. Ratlarda pentilentetrazol ile oluşturulan kindlingin davranış ve emosyonel öğrenme üzerine etkisinin değerlendirilmesi. *Epilepsi*. 2007; 13(2-3): 66-72.
- Galeano P, Blanco Calvo E, Madureira de Oliveira D, Cuenya L, Kamenetzky GV, Mustaca AE, Barreto GE, Giraldez-Alvarez LD, Milei J, Capani F. Long-lasting effects of perinatal asphyxia on exploration, memory and incentive downshift. *International Journal of Developmental Neuroscience*. 2011; 29 (6): 609-19.
- Garibotto V, Tettamanti M, Marcone A, Florea I, Panzacchi A, Moresco R, Virta JR, Rinne J, Cappa SF, Perani D. Cholinergic activity correlates with reserve proxies in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*. 2013; 34(11): 2694, 3-8.
- Griebel G. Is there a future for neuropeptide receptor ligands in the treatment of anxiety disorders? *Pharmacology & Therapeutics*. 1999; 82(1): 1-61.
- Guyton AC, Hall JE. *Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji*. Çev. Ed. Yeğen BÇ. Beynin etkinlik durumları, uyku, beyin dalgaları, epilepsi, psikozlar, Alzheimer hastalığı-amiloid plaklar ve baskılanmış bellek. Nobel Tıp Kitapevleri 2013; 59: 727-8.
- Guzman RG, Kendrick KM and Emson PC. Effect of substance P on acetylcholine and dopamine release in the rat striatum: A microdialysis study. *Brain Research*. 1993; 622, 147-154.

- Hall ME, Grantham P, Limoli J, Stewart JM. Effects of substance-P and neurokinin-A (substance-K) on motor behavior—unique effect of substance-P attributable to its amino-terminal sequence. *Brain Research*. 1987; 420: 82–94.
- Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P, Londos E, Blennow K, Minthon L. Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study. *Lancet Neurology*. 2006; 5(3): 228-34.
- Hasenöhrl RU, De Souza Silva MA, Nikolaus S, Tomaz C, Brandao ML, Schwarting RK, Huston JP. Substance P and its role in neural mechanisms governing learning, anxiety and functional recovery. *Neuropeptides*. 2000; 34, 272–280.
- Hasselmo ME, Schnell E, Barkai E. Dynamics of learning and recall at excitatory recurrent synapses and cholinergic modulation in rat hippocampal region CA3. *Journal of Neuroscience*. 1995; 15 (7 Pt 2): 5249-62.
- Hasselmo ME, McGaughy J. High acetylcholine levels set circuit dynamics for attention and encoding and low acetylcholine levels set dynamics for consolidation. *Progress in Brain Research*. 2004; 145: 207-31.
- Heneka MT, Nadrigny F, Regen T, Martinez-Hernandez A, Dumitrescu-Ozimek L, Terwel D, Jardanhazi-Kurutz D, Walter J, Kirchhoff F, Hanisch UK, Kummer MP. Locus ceruleus controls Alzheimer's disease pathology by modulating microglial functions through norepinephrine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010; 107(13): 6058-63.
- Herrmann N, Chau SA, Kircanski I, Lanctôt KL. Current and emerging drug treatment options for Alzheimer's disease: a systematic review. *Drugs*. 2011; 71(15): 2031-65.
- Hirao K, Pontone GM, Smith GS. Molecular imaging of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's and parkinson's disease. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2015; 49C: 157-170.
- Hong CS, Goins WF, Goss JR, Burton EA, Glorioso JC. Herpes simplex virus RNAi and neprilysin gene transfer vectors reduce accumulation of Alzheimer's disease-related amyloid- $\beta$  peptide in vivo. *Gene therapy*. 2006; 13: 1068-79.
- Jha R, Mahdi AA, Pandey S, Baquer NZ, Cowsik SM. Neuroprotective role of 17 $\beta$  estradiol with tachykinin neuropeptide NKB and A $\beta$  (25 - 35) in aging female rat brain. *Advances in Aging Research*. 2013; Vol.2, No.4, 130-136
- Jocham G, Lezoch K, Müller CP, Kart-Teke E, Huston JP, De Souza Silva MA. Neurokinin receptor antagonism attenuates cocaine's behavioural activating effects yet potentiates its dopamine-enhancing action in the nucleus accumbens core. *European Journal of Neuroscience*. 2006; 24(6): 1721-32.
- Jung M, Michaud JC, Steinberg R, Barnouin MC, Hayar A, Mons G, Souilhac J, Emonds-Alt X, Soubrié P, Le Fur G. Electrophysiological, behavioural and biochemical evidence for activation of brain noradrenergic systems following neurokinin NK3 receptor stimulation. *Neuroscience*. 1996; 74(2): 403-14.
- Kameyama T, Ukai M, Shinkai N. Ameliorative effects of tachykinins on scopolamine-induced impairment of spontaneous alternation performance in mice. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*. 1998; 20, 555–560.

- Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. Learning and Memory. In: Principles of Neural Science. The McGraw-Hill Companies. 2013; 5th Edition, USA, p:1441-60.
- Kart-Teke E, Dere E, Brandao ML, Huston JP, De Souza Silva MA. Reinstatement of episodic-like memory in rats by neurokinin-1 receptor antagonism. *Neurobiology of Learning and Memory*. 2007; 87(3): 324-31.
- Kowall NW, Beal MF, Busciglio J, Duffy LK and Yankner BA. An in vivo model for neurodegenerative effects of  $\beta$ -amyloid and protection by substance P, *Proceedings of the National Academy of Science*. 1991; 88: 7247-51.
- Kumar V, Bhat ZA, Kumar D. Animal models of anxiety: A comprehensive review. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 2013; 68: 175-83.
- Kumar A, Singh A, Ekavali. A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. *Pharmacological Reports*. 2015; 67(2): 195-203.
- Laursen B, Mørk A, Plath N, Kristiansen U, Bastlund JF. Cholinergic degeneration is associated with increased plaque deposition and cognitive impairment in APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup> mice. *Behavioural Brain Research*. 2013; 240: 146-52.
- Lecanu L, Papadopoulos V. Modeling Alzheimer's disease with non-transgenic rat models. *Alzheimer's Research & Therapy*. 2013; 5(3): 17
- Linari G, Broccardo M, Nucерito V, Improta G. Selective tachykinin NK3-receptor agonists stimulate in vitro exocrine pancreatic secretion in the guinea pig. *Peptides*. 2002; 23(5): 947-53.
- Loera-Valencia R, Piras A, Ismail MAM, Manchanda S, Eyjolfssdottir H, Saido TC, Johansson J, Eriksson M, Winblad B, Nilsson P. Targeting Alzheimer's disease with gene and cell therapies. *Journal of Internal Medicine*. 2018; 28(1): 2-36.
- Lundberg JM. Pharmacology of cotransmission in the autonomic nervous system: integrative aspects on amines, neuropeptides, adenosine triphosphate, amino acids and nitric oxide. *Pharmacological Reviews*. 1996; 48(1): 113-78.
- Luo Y, Sunderland T, Roth GS, Wolozin B. Physiological levels of beta-amyloid peptide promote PC12 cell proliferation. *Neuroscience Letters*. 1996; 217(2-3): 125-8.
- Maggi CA. The mammalian tachykinin receptors. *General Pharmacology*. 1995; 26(5): 911-44.
- Mantha AK, Moorthy K, Cowsik SM and Baquer NZ. Neuroprotective role of neurokinin B (NKB) on amyloid  $\beta$  (25 - 35) induced toxicity in aging rat brain synaptosomes: Involvement in oxidative stress and excitotoxicity. *Biogerontology*. 2006a; 7, 1-17.
- Mantha AK, Moorthy K, Cowsik SM and Baquer NZ. Membrane associated functions of neurokininB (NKB) on A $\beta$  (25- 35) induced toxicity in aging rat brain synaptosomes. *Biogerontology*. 2006b; 7, 19-33.
- Marco N, Thirion A, Mons G, Bougault I, Le Fur G, Soubrie P, Steinberg R. Activation of dopaminergic and cholinergic neurotransmission by tachykinin NK3 receptor stimulation: an in vivo microdialysis approach in guinea pig. *Neuropeptides*. 1998; 32, 481-488.
- Marksteiner J, Sperk G, Krause JE. Distribution of neurons expressing neurokinin B in the rat brain: immunohistochemistry and in situ hybridization. *Journal of Comparative Neurology*. 1992; 317: 341-56.

- Massi M, Panocka I, de Caro G. The psychopharmacology of tachykinin NK-3 receptors in laboratory animals. *Peptides*. 2000; 21(11): 1597-609.
- Meraz-Ríos MA, Lira-De León KI, Campos-Peña V, De Anda-Hernández MA, Mena-López R. Tau oligomers and aggregation in Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*. 2010; 112(6): 1353-67.
- Mesulam MM, Mufson EJ, Levey AI, Wainer BH. Cholinergic innervation of cortex by the basal forebrain: cytochemistry and cortical connections of the septal area, diagonal band nuclei, nucleus basalis (substantia innominata), and hypothalamus in the rhesus monkey. *Journal of Comparative Neurology*. 1983a; 214(2): 170-97.
- Mesulam MM, Mufson EJ, Wainer BH, Levey AI. Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1–Ch6). *Neuroscience*. 1983b; 10, 1185-1201.
- Mesulam MM. Aging, Alzheimer's Disease and Dementia: Clinical and Neurobiological Perspectives. In: M.-Marsel Mesulam (ed): *Principles of Behavioral and Cognitive Neurology*, New York, Oxford University Press 2000; 2: 432-529.
- Mesulam MM. The cholinergic lesion of Alzheimer's disease: pivotal factor or side show? *Learning and Memory*. 2004; 11(1): 43-9.
- Mileusnic D, Lee JM, Magnuson DJ, Hejna MJ, Krause JE, Lorens JB, Lorens SA. Neurokinin-3 receptor distribution in rat and human brain: an immunohistochemical study. *Neuroscience*. 1999; 89, 1269–1290.
- Morcuende S, Gadd CA, Peters M, Moss A, Harris EA, Sheasby A, Fisher AS, De Felipe C, Mantyh PW, Rupniak NM, Giese KP, Hunt SP. Increased neurogenesis and brain-derived neurotrophic factor in neurokinin-1 receptor gene knockout mice. *European Journal of Neuroscience*. 2003; 18, 1828–1836.
- Morellini F. Spatial memory tasks in rodents: what do they model? *Cell and Tissue Research*. 2013; 354(1): 273-86.
- Morozova E, Wu M, Dumalska I, Alreja M. Neurokinins robustly activate the majority of septohippocampal cholinergic neurons. *European Journal of Neuroscience*. 2008; 27, 114–122.
- Morris RGM. Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and Motivation*. 1981; 12, 239–260.
- Mussap CJ, Geraghty DP, Burcher E. Tachykinin receptors: a radioligand binding perspective. *Journal of Neurochemistry*. 1993; 60(6): 1987-2009.
- Nagano M, Saitow F, Haneda E, Konishi S, Hayashi M, Suzuki H. Distribution and pharmacological characterization of primate NK-1 and NK-3 tachykinin receptors in the central nervous system of the rhesus monkey. *British Journal of Pharmacology*. 2006; 147(3): 316-23.
- Narwal S, Sainia DR, Kumaria K, Narwalb S, Singhb G, Negi SR, Sarina RV. Behavior & pharmacological animal models for the evaluation of learning & memory condition. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012; 2(2): 121-129

- Nordquist RE, Delenclos M, Ballard TM, Savignac H, Pauly-Evers M, Ozmen L, Spooren W. Cognitive performance in neurokinin 3 receptor knockout mice. *Psychopharmacology*. 2008; 198, 211–220.
- Oliveira AA Jr & Hodges HM. Alzheimer's disease and neural transplantation as prospective cell therapy. *Current Alzheimer Research*. 2005; 2, 79–95.
- Panocka I, Massi M, Lapo I, Swiderski T, Kowalczyk M, Sadowski B. Antidepressant-type effect of the NK3 tachykinin receptor agonist aminosenktide in mouse lines differing in endogenous opioid system activity. *Peptides*. 2001; 22, 1037–1042.
- Parsons SM1. Transport mechanisms in acetylcholine and monoamine storage. *Faseb Journal*. 2000; 14(15): 2423-34.
- Patacchini R, Maggi CA. Peripheral tachykinin receptors as targets for new drugs. *European Journal of Pharmacology*. 2001; 429(1-3): 13-21.
- Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. San Diego: Academic Press. 2009.
- Pepeu G, Giovannini MG. The fate of the brain cholinergic neurons in neurodegenerative diseases. *Brain Research*. 2017;1670:173-184.
- Pintado CO, Pinto FM, Pennefather JN, Hidalgo A, Baamonde A, Sanchez T, Candenas ML. A role for tachykinins in female mouse and rat reproductive function. *Biology of Reproduction*. 2003; 69: 940–946.
- Pinz MP, Dos Reis AS, Vogt AG, Krüger R, Alves D, Jesse CR, Roman SS, Soares MP, Wilhelm EA, Luchese C. Current advances of pharmacological properties of 7-chloro-4-(phenylselanyl) quinoline: Prevention of cognitive deficit and anxiety in Alzheimer's disease model. *Biomedicine Pharmacotherapy*. 2018; 105:1006-1014.
- Postupna NO, Keene CD, Latimer C, Sherfield EE, Van Gelder RD, Ojemann JG, Montine TJ, Darvas M. Flow cytometry analysis of synaptosomes from post mortem human brain reveals changes specific to Lewybody and Alzheimer's disease. *Laboratory Investigation*. 2014; 94(10): 1161-72.
- Puzzo D, Privitera L, Leznik E, Fà M, Staniszewski A, Palmeri A, Arancio O. Picomolar amyloid-beta positively modulates synaptic plasticity and memory in hippocampus. *The Journal of Neuroscience*. 2008; 28(53):14537-45.
- Puzzo D, Lee L, Palmeri A, Calabrese G, Arancio O. Behavioral assays with mouse models of Alzheimer's disease: practical considerations and guidelines. *Biochemical Pharmacology*. 2014; 88(4): 450-67.
- Ramirez-Alvarado M, Merkel JS, Regan L. A systematic exploration of the influence of the protein stability on amyloid fibril formation in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2000; 97(16): 8979-84.
- Ramirez-Bermudez J. Alzheimer's disease: critical notes on the history of A medical concept. *Archives of medical research*. 2012; 43(8); 595-599.
- Ribeiro SJ, Teixeira RM, Calixto JB, De Lima TC. Tachykinin NK(3)receptor involvement in anxiety. *Neuropeptides*. 1999; 33:181–188.

- Rogaeva E, Meng Y, Lee JH, Gu Y, Kawarai T, Zou F, Katayama T, Baldwin CT, Cheng R, Hasegawa H, Chen F, Shibata N, Lunetta KL, Pardossi-Piquard R, Bohm C, Wakutani Y, Cupples LA, Cuenco KT, Green RC, Pinessi L, Rainero I, Sorbi S, Bruni A, Duara R, Friedland RP, Inzelberg R, Hampe W, Bujo H, Song YQ, Andersen OM, Willnow TE, Graff-Radford N, Petersen RC, Dickson D, Der SD, Fraser PE, Schmitt-Ulms G, Younkin S, Mayeux R, Farrer LA, St George-Hyslop P. The neuronal sortilin-related receptor SORL1 is genetically associated with Alzheimer disease. *Nature Genetics*. 2007; 39(2): 168-77.
- Rolinski M, Fox C, Maidment I, McShane R. Cholinesterase inhibitors for dementia with Lewy bodies, Parkinson's disease dementia and cognitive impairment in Parkinson's disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2012; (3): CD006504.
- Saffroy M, Torrens Y, Glowinski J, Beaujouan JC. Autoradiographic distribution of tachykinin NK2 binding sites in the rat brain: comparison with NK1 and NK3 binding sites. *Neuroscience*. 2003; 116(3): 761-73.
- Salome N, Stemmelin J, Cohen C, Griebel G. Selective blockade of NK2 or NK3 receptors produces anxiolytic- and antidepressant-like effects in gerbils. *Pharmacology Biochemistry and Behaviour*. 2006; 83, 533–539.
- Salthun-Lassalle B, Traver S, Hirsch EC, Michel PP. Substance P, neurokinins A and B, and synthetic tachykinin peptides protect mesencephalic dopaminergic neurons in culture via an activity-dependent mechanism. *Molecular Pharmacology*. 2005; 68(5):1214-24.
- Schable S, Huston JP, Brandao ML, Dere E, De Souza Silva MA. Neurokinin-2 receptor antagonism in medial septum influences temporal-order memory for objects and forebrain cholinergic activity. *Peptides*. 2010; 31:108–115.
- Schable S, Topic B, Buddenberg T, Petri D, Huston JP, De Souza Silva MA. Neurokinin(3)-R agonism in aged rats has anxiolytic-, antidepressant-, and promnesic-like effects and stimulates ACh release in frontal cortex, amygdala and hippocampus. *European Neuropsychopharmacology*. 2011; 21(6), 484–494.
- Schable S, Huston JP, Barros M, Tomaz C, De Souza Silva MA. The NK3 receptor agonist senktide ameliorates scopolamine-induced deficits in memory for object, place and temporal order. *Neurobiology of Learning and Memory*. 2012a; 97(2): 235-40.
- Schable S, Huston JP, Silva MA. Neurokinin2-R in medial septum regulate hippocampal and amygdalar ACh release induced by intraseptal application of neurokinins A and B. *Hippocampus*. 2012b; 22(5): 1058-67.
- Schliebs R, Arendt T. The cholinergic system in aging and neuronal degeneration. *Behavioural Brain Research*. 2011; 221(2): 555-63.
- Selkoe DJ. Soluble oligomers of the amyloid beta-protein impair synaptic plasticity and behavior. *Behavioural Brain Research*. 2008; 192(1): 106-13.
- Senechal Y, Kelly PH, Cryan JF, Natt F, Dev KK. Amyloid precursor protein knockdown by siRNA impairs spontaneous alternation in adult mice. *Journal of Neurochemistry*. 2007; 102: 1928-40.
- Severini C, Improta G, Falconieri-Erspamer G, Salvadori S, Erspamer V. The tachykinin peptide family. *Pharmacological Reviews*. 2002; 54(2): 285-322.

- Shankar GM, Bloodgood BL, Townsend M, Walsh DM, Selkoe DJ, Sabatini BL. Natural oligomers of the Alzheimer amyloid-beta protein induce reversible synapse loss by modulating an NMDA-type glutamate receptor-dependent signaling pathway. *Journal Neuroscience*. 2007; 27(11): 2866-75.
- Shughrue PJ, Lane MV, Merchenthaler I. In situ hybridization analysis of the distribution of neurokinin-3 mRNA in the rat central nervous system. *Journal of Comparative Neurology*. 1996; 372:395–414.
- Singh KP and Maji SK. Amyloid-like fibril formation by tachykinin neuropeptides and its relevance to amyloid  $\beta$ -protein aggregation and toxicity. *Cell Biochemistry and Biophysics*. 2012; 64, 29-44.
- Siuciak JA, McCarthy SA, Martin AN, Chapin DS, Stock J, Nadeau DM, Kantesaria S, Bryce-Pritt D, McLean S. Disruption of the neurokinin-3 receptor (NK3) in mice leads to cognitive deficits. *Psychopharmacology*. 2007; 194, 185–195.
- Small SA, Duff K. Linking Abeta and tau in late-onset Alzheimer's disease: a dual pathway hypothesis. *Neuron*. 2008; 60(4): 534-42.
- Spooren W, Riemer C, Meltzer H. Opinion: NK3 receptor antagonists: the next generation of antipsychotics? *Natura Reviews Drug Discovery*. 2005; 4(12): 967-75.
- Steinberg R, Rodier D, Souilhac J, Bougault I, Emonds-Alt X, Soubrie P, Le Fur G. Pharmacological characterization of tachykinin receptors controlling acetylcholine release from rat striatum: An in vivo microdialysis study. *Journal of Neurochemistry*. 1995; 65, 2543–2548.
- Steinberg R, Marco N, Voutsinos B, Bensaid M, Rodier D, Souilhac J, Alonso R, Oury-Donat F, Le Fur G, Soubrie P. Expression and presence of septal neurokinin-2 receptors controlling hippocampal acetylcholine release during sensory stimulation in rat. *European Journal of Neuroscience*. 1998; 10: 2337–2345.
- Szot P. Common factors among Alzheimer's disease, parkinson's disease, and epilepsy: possible role of the noradrenergic nervous system. *Epilepsia*. 2012; 53 (Suppl. 1): 61–66.
- Takashima A. Amyloid-beta, tau, and dementia. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2009; 17(4): 729-36.
- Teipel SJ, Grothe MJ, Wittfeld K, Hoffmann W, Hegenscheid K, Völzke H, Homuth G, Grabe HJ. Association of a neurokinin 3 receptor polymorphism with the anterior basal forebrain. *Neurobiology of Aging*. 2015; 36(6): 2060-7.
- Trillo L, Das D, Hsieh W, Medina B, Moghaddam S, Lin B, Dang V, Sanchez MM, De Miquel Z, Ashford JW, Salehi A. Ascending monoaminergic systems alterations in Alzheimer's disease. Translating basic science into clinical care. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2013; 37 (8): 1363-79.
- Uzbaş İT. Alzheimer hastalığına yönelik çalışmalarda kullanılan deneysel hayvan modelleri. *Demans Dergisi*. 2003; 1: 5-14.
- Valvassori SS, Budni J, Varela RB, Quevedo J. Contributions of animal models to the study of mood disorders. *Revista Brasileira De Psiquiatria*. 2013; 35(2): 121-31.
- Van der Zee EA, Keijsers JN. Localization of pre- and postsynaptic cholinergic markers in rodent forebrain: a brief history and comparison of rat and mouse. *Behavioural Brain Research*. 2011; 221(2): 356-66.

- Vorhees CV, Williams MT. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nature Protocols*. 2006; 1(2): 848–858.
- Waldemar G, Dubois B, Emre M, Georges J, McKeith IG, Rossor M, Scheltens P, Tariska P, Winblad B; EFNS. Recommendations for the diagnosis and management of Alzheimer's disease and other disorders associated with dementia: EFNS guideline. *European Journal of Neurology*. 2007; 14(1): e1-26.
- Welge V, Fiege O, Lewczuk P, Mollenhauer B, Esselmann H, Klafki HW, Wolf S, Trenkwalder C, Otto M, Kornhuber J, Wiltfang J, Bibl M. Combined CSF tau, p-tau181 and amyloid-beta 38/40/42 for diagnosing Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission (Vienna)* 2009 Feb;116(2):203-12.
- Wenk GL, Zajackowski W, Danysz W. Neuroprotection of acetylcholinergic basal forebrain neurons by memantine and neurokinin B. *Behavioural Brain Research*. 1997; 83, 129–133.
- Winblad B, Amouyel P, Andrieu S, et al. Defeating Alzheimer's disease and other dementias: a priority for European science and society. *The Lancet Neurology*. 2016; 15: 455-532.
- Winters BD, Forwood SE, Cowell RA, Saksida LM, Bussey TJ. Double dissociation between the effects of peri-postrhinal cortex and hippocampal lesions on tests of object recognition and spatial memory: heterogeneity of function within the temporal lobe. *Journal of Neuroscience*. 2004; 24(26): 5901-8.
- Yankner BA, Duffy LK and Kirschner DA. Neurotrophic and neurotoxic effects of amyloid  $\beta$ -protein: reversal by tachykinin neuropeptides. *Science*. 1990; 250: 279-282.
- Yau WM, Mandel KG, Dorsett JA, Yother ML. Neurokinin3 receptor regulation of acetylcholine release from myenteric plexus. *American Journal of Physiology*. 1992; 263, 659-664.
- Yiannopoulou KG, Papageorgiou SG. Current and future treatments for Alzheimer's disease. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*. 2013; 6(1): 19-33.
- Zappettini S, Grilli M, Olivero G, Mura E, Preda S, Govoni S, Salamone A, Marchi M. Beta Amyloid Differently Modulate Nicotinic and Muscarinic Receptor Subtypes which Stimulate in vitro and in vivo the Release of Glycine in the Rat Hippocampus. *Frontiers in Pharmacology*. 2012; 3: 146.
- Zlomuzica A, Dere E, Huston JP, De Souza Silva MA. NK(3) receptor agonism promotes episodic-like memory in mice. *Neurobiology of Learning and Memory*. 2008; 90(2): 420-5.



## 8. EKLER

### EK 1: Etik Kurul Onayı



T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve  
Araştırma Merkezi Müdürlüğü



Karar Sayısı: 2016 – 050

Karar Tarihi: 30.09.2016

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D.'den Yrd.Doç.Dr.Z.İşık SOLAK GÖRMÜŞ ve Arş.Gör.Dr.Raviye ÖZEN KOCA tarafından sunulan "Nörokinin 3 Reseptörünün Sıçan Deneysel Alzheimer Modelinde Kognitif Davranışlar Üzerine Etkisi" başlıklı tez projesi 12 üyenin katılımı ile değerlendirildi.


Projede 5 grupta toplam 50 adet sıçan kullanılacağı ve sıçanların anestezi altında dekapitasyon ile sakrifiye edileceği bildirilmiştir.

Projenin deney hayvanlarına ilişkin yönlerinin, Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ndeki ilgili maddeler gereğince "Etik Kurallara Uygunluk Esası" dikkate alınarak hazırlandığı belirlenmiştir.

Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ndeki ilgili maddelerde belirtilen başvuru sahibinin sorumlulukları ve hayvan deneyleri ile ilgili etik ilkeler saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında yönerge ilkelerine uyulduğu ve çalışmanın deneysel kısmını gerçekleştirecek araştırmacıların deney hayvanları kullanım sertifikasına sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım etiği açısından "Uygun" olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.


  
Prof.Dr.Selim KUTLU  
Başkan


  
Prof.Dr.Lema TAVLI  
Üye


  
Prof.Dr.Ayşe Saide  
ŞAHİN  
Üye

  
Prof.Dr.Mehmet GÜL  
Üye

  
Doç.Dr.Ercan KURAR  
Üye

  
Doç.Dr.Tevfik  
KÜÇÜKKARTALLAR  
Üye

  
Yrd.Doç.Dr.Hasan  
Hüseyin KOZAK  
Üye

  
Yrd.Doç.Dr.Ömer  
TANYELİ  
Üye

  
Vet.Hek.Halil Aydın  
ŞİMŞEK  
Üye

  
Vet.Hek.Alpaşan ÖZKÜRKÇÜLER  
Üye

  
Mustafa ŞİRİN  
Üye

Adres : Meram Tıp Fakültesi Kampüsü 42080 Akyokuş – Meram / KONYA  
Tel : +90 332 223 71 11 e-posta : [konudam@konya.edu.tr](mailto:konudam@konya.edu.tr)  
Faks : +90 332 223 71 24 Elektronik Ağ : <http://www.konya.edu.tr/merkezler/konudam>

## 9. ÖZGEÇMİŞ

1985 yılı Mersin ilinin Anamur ilçesi doğumluyum. İlköğrenimimi Anamur İlköğretim Okulu'nda 1996'da, orta ve lise öğrenimimi Anamur Anadolu Lisesi'nde 2003'de tamamladım. 2009 yılında Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi'nden mezun oldum. 2009-2014 yılları arasında Elazığ ve Konya'da çeşitli sağlık kuruluşlarında pratisyen hekim olarak görev yaptım. 2014 yılından itibaren Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmakta ve doktora eğitimime devam etmekteyim. Evli olup, iki çocuk annesiyim.

e-posta: raviyeozen@hotmail.com

