



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

SKOPOLAMİNİN HAFIZA BOZUCU ETKİSİNDE AGOMELATİN VE QUERCETİNİN ROLÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ali Hossein ZADEH

**Samsun
Temmuz-2019**



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

SKOPOLAMİNİN HAFIZA BOZUCU ETKİSİNDE AGOMELATİN VE QUERCETİNİN ROLÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ali Hossein ZADEH

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Osman KUKULA

Samsun
Temmuz-2019

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

Ali Hossein Zadeh tarafından Dr.Öğr.Üyesi Osman KUKULA Danışmanlığında hazırlanan "SKOPOLAMİNİN HAFIZA BOZUCU ETKİSİNDE AGOMELATİN VE QUERCETİNİN ROLÜ " başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 25 Temmuz 2019 tarihinde yapılan sınav ile Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof.Dr.S.Sırrı BİLGE

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye: Dr.Öğr.Üyesi Osman KUKULA

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye: Dr. Öğr. Üyesi İlknur ERKÖSEOĞLU

Karadeniz Teknik Üniversitesi

ONAY:

Bu Tez , Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

...../...../.....

Prof.Dr.Ahmet UZUN

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tezimin konusunun belirlenmesinde, araştırma aşamasında, yön tayininde ve tamamlanmasında bana destek olan ve yolumu aydınlatan, her türlü bilgi ve becerisini benden esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım sayın Dr. Öğr. Üyesi Osman KUKULA'ya minnettarım. Tezimin başlangıcından bitimine kadar bana inanan ve her daim ellerini üzerimde hissettiğim değerli hocalarım farmakoloji anabilim dalı başkanı sayın Prof. Dr. S. Sırrı BİLGE'ye ve Fizyoloji anabilim dalı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Ayhan BOZKURT hocalarıma can-ı gönülden teşekkür ederim. Aydınlattığı yolda ışığından nasiplenebilme fırsatını yakaladığım, ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, yanında çalışmaktan onur duyduğum ve de sevgi ve şefkatini bizden hiçbir zaman esirgemeyen emekli hocamız sayın Prof. Dr. Yüksel KESİM'e de can-ı gönülden teşekkürlerimi arz ederim. Tez süresi boyunca bana yardımcı olan ve birlikte çalışmaktan zevk aldığım asistan arkadaşlarım, Arş. Gör. Bahar AKYÜZ, Arş. Gör. Özge DARAKÇI, ve Doktora Öğrencisi Hakan BALCI, Arş. Gör. Caner GÜNAYDIN, değerli Dr. Öğr. Üyesi Arzu AĞRI'ya, manevi desteklerinden dolayı bölümümüz çalışanlarından Sn. Selami Türel ve Sn. Elvan Yılmaz'a, bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan aileme ve dostlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, PYO.TIP.1904.19.006 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

SKOPOLAMİNİN HAFIZA BOZUCU ETKİSİNDE AGOMELATİN VE QUERCETİNİN ROLÜ

Amaç: Öğrenme ve bellekteki bozukluklar; hayat kalitesini negatif olarak etkileyen birçok hastalıkla primer veya sekonder olarak ilişkilidir. Antioksidanlar; yaşlanma ve yaş ile ilişkili nörodejeneratif hastalıklara pozitif yönde katkı sağlamıştır. Antioksidanlar; serbest radikallerle savaşıma, yaşlanmayı geciktirme gibi özelliklere sahiptir. Serbest radikaller vücudumuz oksijen kullanırken meydana gelen atık maddelerdir ve bu maddeler yüksek oranda tahrip edici özelliğe sahiptirler. Quercetin ise antioksidan özellik gösteren bir ilaçtır. Bazı çalışmalarda antioksidanların hafıza üzerinde iyileştirici etkileri bulunmaktadır. Biz de bu çalışmada öğrenme ve hafıza yetersizliğinde agomelatin ve antioksidanların etkisini araştırmayı amaçladık.

Materyal ve Metot: Çalışmada albino Balb C erkek fare kullanıldı. 1.gruba intraperitoneal (ip) serum fizyoloji (SF) verilmiştir, 2. gruba skopolamin verilmiş, 3. gruba agomelatin, 4. gruba quercetin, 5. gruba skopolamin + agomelatin ve 6. gruba skopolamin + quercetin verilmiştir. Pasif sakınma cihazı kullanılarak, fareler pasif sakınma testine tabi tutuldu.

Bulgular: Agomelatin ve quercetin kontrol grubu ile karşılaştırılması sonucunda öğrenme ve bellekle ilgili olarak istatistiksel bir fark vardır. Agomelatin ve skopolamin gruplarında belleği değerlendirdiğimiz platformu bulma süreleri uzarken, platformda geçirdikleri zaman kontrole göre kısalmıştır. Quercetin ve skopolamin ile agomelatin ve skopolamin grupları benzer sonuçlar vermiştir.

Sonuç: Bu çalışmada, farelere agomelatin ve quercetin enjekte edildikten sonra yapılan pasif sakınma testi sonucunda farelerin aydınlık bölgeden karanlık bölgeye geçiş yapmadığı gözlemlenmiştir. Bu sonuca dayanarak agomelatin ve quercetin'in hafıza düzeltici etkisi olduğu kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Öğrenme ve Bellek, Hafıza kaybı, Scopolamin, Agomelatin, Quercetin

Ali Hossein ZADEH, Yüksek Lisans Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Temmuz - 2019

ABSTRACT

THE ROLE OF AGOMELATIN AND QUERCETIN ON THE MEMORY- DEGRADING EFFECT OF SCOPOLAMINE

Aim: Learning and memory disorders; It is associated with many diseases that negatively affect quality of life as primary or secondary. Antioxidants; Aging and neurodegenerative diseases associated with age positively contributed. Antioxidants; free radicals, anti-aging. Free radicals are waste substances that occur when our body uses oxygen and these substances have a highly destructive nature. Quercetin is an antioxidant drug. In some studies, antioxidants have healing effects on memory. In this study, we aimed to investigate the effect of agomelatin and antioxidants in learning and memory impairment.

Materials and Method: Albino Balb C male mice were used in the study. The first group received intraperitoneal (ip) saline (SF), the second group received scopolamine, group 3 received agomelatin, group 4 received quercetin, group 5 received scopolamine + agomelatin and group 6 received scopolamine + quercetin. Using a passive avoidance device, the mice were subjected to a passive avoidance test.

Results: As a result of comparison of agomelatin and quercetin with control group, there is a statistical difference regarding learning and memory. In agomelatin and scopolamine groups, the time to find the platform where we evaluated memory was prolonged, and the time they spent on the platform was shorter than the control. Quercetin and scopolamine and agomelatin and scopolamine groups gave similar results.

Conclusion: In this study, it was observed that the mice did not pass from light to dark area as a result of passive avoidance test performed after injecting agomelatin and quercetin into mice. Based on this result, it was concluded that agomelatin and quercetin had a memory correcting effect.

Keywords: Learning and Memory, Memory loss, Scopolamine, Agomelatin, Quercetin

Ali Hossein ZADEH, Master Thesis

Ondokuz Mayıs University - Samsun, July - 2019

SİMGELER VE KISALTMALAR

5-HT₃	: 5-hidroksi triptofan-3
5-HT₂	: 5-hidroksi triptofan-2
Acetyl - CoA	: Asetil-koenzim A
BDNF	: Brain derived neutrotrophic factor
cAMP	: Siklik adenzin monofosfat
DEHAM	: Deney Hayvanları Merkezi
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
GABA	: Gamma aminobütirik asit
ip	: İntraperitoneal
JNK	: c-Jun N-terminal kinaz
LTP	: Long term potentiation
MAP	: Mitojen-aktif protein
MT₁/MT₂	: Melatonerjik Reseptörler
MWM	: Morris water maze
NaCl	: Sodyum klorür
NMDA	: N-metil-D-aspartat
NOR	: Yeni nesne tanıma
NCAM	: Nöronal hücre adezyon molekülü
NCAM	: Nöronal hücre adezyon Molekül
Nrf2	: Nükleer faktör (eritroid türevi 2) benzeri 2
OMÜ	: Ondokuz Mayıs Üniversitesi
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SSS	: Santral sinir sistemi
SF	: Serum fizyoloji
Tyr/Glu-Tub	: Tirozinlenmiş/Tirozinlenmemiş alfa-Tubulin

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER.	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Öğrenme ve Bellek.....	3
2.2. Öğrenmenin Nöroanatomi	3
2.2.1. Serebral Korteks	3
2.2.2. Limbik Sistem	4
2.2.3. Bellek sürecinde hipokampusun rolü	6
2.3. Öğrenme ve Bellekte Ölçümüne Yönelik Testler	6
2.3.1. Pasif sakınma testi	6
2.4. Öğrenme ve Bellek ile ilgili Kavramlar	7
2.4.1. Kazanım (Acquisition)	7
2.4.2. Aktif Sakınma (Active Avoidance).....	7
2.4.3. Pasif veya İnhibitör Sakınma (Passive avoidance).....	7
2.4.4. Alışma (Habituation).....	7
2.4.5. Kaçma (Escape).....	7
2.4.6. Pekiştirme (Consolidation).....	7
2.4.7. Eğitim Öncesi Tedavi (Pre-training treatments)	7
2.5. Bellek	8
2.5.1. Kısa Süreli Bellek.....	8
2.5.2. Orta uzun süreli bellek	8
2.5.3. Uzun Süreli Bellek	9
2.5.4. Belleğin Nöral Mekanizmaları	10
2.5.4.1. Santral kolinerjik sistem ve öğrenme	10
2.6. Antioksidan – Bellek İlişkisi.....	12
2.7. Agomelatin.....	13
2.8. Quercetin	15
3.MATERYAL VE METOT	16

3.1. Materyal	16
3.2. Deney Hayvanları.....	16
3.3. Kimyasallar	16
3.4. Pasif Sakınma Testi.....	16
3.5. Deney Protokolü	18
3.4. İstatistiksel Değerlendirme.....	18
4.BULGULAR	19
4.1 Skopolamin Pasif Sakınma Testinde Hafıza Bozucu Etkisi	19
4.2 Skopolamin Pasif Sakınma Testinde Hafıza Bozucu Etkisinde Agomelatin Rolü	19
4.3 Skopolamin Pasif Sakınma Testinde Hafıza Bozucu Etkisinde Quercetin Rolü .	20
4.4 Skopolamin Pasif Sakınma Testinde Hafıza Bozucu Etkisinde Agomelatin ve Quercetin Rolü	22
5. TARTIŞMA	24
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	29
KAYNAKLAR	30
EKLER	38
ÖZGEÇMİŞ	39

1. GİRİŞ

Öğrenme ve bellek, çevreden gelen uyarıların değerlendirilmesi ve uygun davranımların geliştirilmesi gibi gereken temel zihinsel süreçleri düzenler. İnsanlar yaptıkları her işlemde bilinçli veya bilinçsiz olarak bellek işlevlerine başvururlar. Çevre ile etkileşimle gerçekleşen her durumla elde edilen tecrübeler, davranışların değişmesine ve şekillenmesine yol açar. Böylece farklı davranışsal olguların öğrenilmesi gerçekleşmektedir (Pittenger ve Kandel, 2003).

Bellek ise öğrenilen bu davranışsal bilgilerin depolanması ve gerekli olduğu zaman kullanılmasını sağlamaktadır. Dolayısıyla santral sinir sistemi, özellikle memelilerde büyük oranda bilgi depolamaya ve işlem yapma kabiliyetine sahiptir (Gasparini Ve ark., 1998).

Duyu organlarıyla alınan bilgilerin merkezi sinir sistemi hücrelerine aktarılması, depolanması ve önceden öğrenilen bilgiler ile etkileşimi ve gerektiğinde hatırlanması öğrenme ve bellek sürecini oluşturan temel döngüdür. Bu döngüde beynin serebral korteks ve limbik sistemi etkindir. Özellikle asosiyasyon alanları, primer ve sekonder motor ve duyu alanlarından oluşan serebral korteksin önemli işlevleri vardır. Düşüncelerin işlenmesi ve olgunlaştırılması için prefrontal asosiyasyon alanı, okuma, nesneleri tanıma, dil kavrama, mekânsal koordinat çözüm alanı olarak; parietooksipitotemporal asosiyasyon alanı, motivasyon, duygular ve davranışlar ile ilgili serebral hemisfer, frontal lobun ön yüzü, limbik asosiyasyon alanı, temporal lob ön kısmı önemli işlevde öne çıkmaktadır (Gasparini ve ark., 1998).

Literatürde agomelatinin bilişsel işlevler, öğrenme ve bellek üzerine etkilerini araştıran çalışma sayısı oldukça kısıtlıdır. Gerçekleştirilen biri klinik üç çalışmanın sonuçları agomelatinin özellikle bellek işlevleri üzerine bazı olumlu etkilerine işaret etmiştir. Conboy ve ark., 22 gün süre ile agomelatinin 10 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak vermişler ve sıçan hipokampusunda nöronal hücre adezyon molekülünün (NCAM) ekspresyonunu artırdığını ve stresle indüklenen uzaysal bellek bozulmalarını düzelttiğini göstermiştir.

Bir çalışmada 2.5-40 mg/kg'lık doz aralığında verilen agomelatinin sıçanlarda "yeni obje tanıma testi" ile değerlendirilen bellek parametrelerinde olumlu değişiklikler yaptığı rapor edilmiştir (Bertina ve ark., 2011). Yapılan tek plasebo-kontrollü klinik

çalışmanın sonuçları da farklı dozlarda (25 veya 50 mg) 7 gün süre ile verilen agomelatinin sağlıklı gönüllülerde pozitif afektif belleği geliştirdiği gösterilmiştir (Harmar ve ark., 2011). Mikrotübüler işlevlerle ilişkili bir parametre olan tirozinlenmiş/tirozinlenmemiş alfa-tubulin oranı (Tyr/Glu-Tub) ve MAP-2 ekspresyonunun hipokampal bölgede azalması yeni obje tanıma testi ile saptanan bellek bozukluklarında belirleyici bir bulgu olmuştur. Agomelatinin hipokampal yapıda Tyr/Glu-Tub ve MAP-2 gibi mikrotübüler dinamiklerle ilişkili elemanları artırıcı etkilerinin antidepresan etkilerinin yanı sıra bellek üzerine olumlu etkileri ile de ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (Ladurelle ve ark., 2012). Tüm bu veriler agomelatinin öğrenme ve bellek işlevleri üzerine olumlu etkileri bulunabileceği izlenimini vermektedir.

Serbest radikaller vücudumuz oksijen kullanırken meydana gelen atık maddelerdir ve bu maddeler yüksek oranda tahrip edici özelliğe sahiptirler. Serbest radikaller temas ettikleri moleküllerin yapısını bozucu etki gösterirler. Quercetin ise antioksidan özellik gösteren bir ilaçtır (Samad ve ark., 2018; .Liu ve ark., 2015). Bazı çalışmalarda antioksidanların hafıza üzerinde iyileştirici etkileri bulunmaktadır. Antioksidanlarla olan etkileşimi skopolaminin hafıza yetersizliği etkisini geri çevirebilir (Samad ve ark., 2018; .Liu ve ark., 2015). Bu etkinin geri çevrilebilmesi ilacın parkinsonizm gibi hastalıklarda daha güvenli kullanımına imkân sağlar. Bu çalışmanın amacı antioksidan etkili agomelatin ve quercetin' in skopolaminle indüklenen hafıza bozukluğunda etkisini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Öğrenme ve Bellek

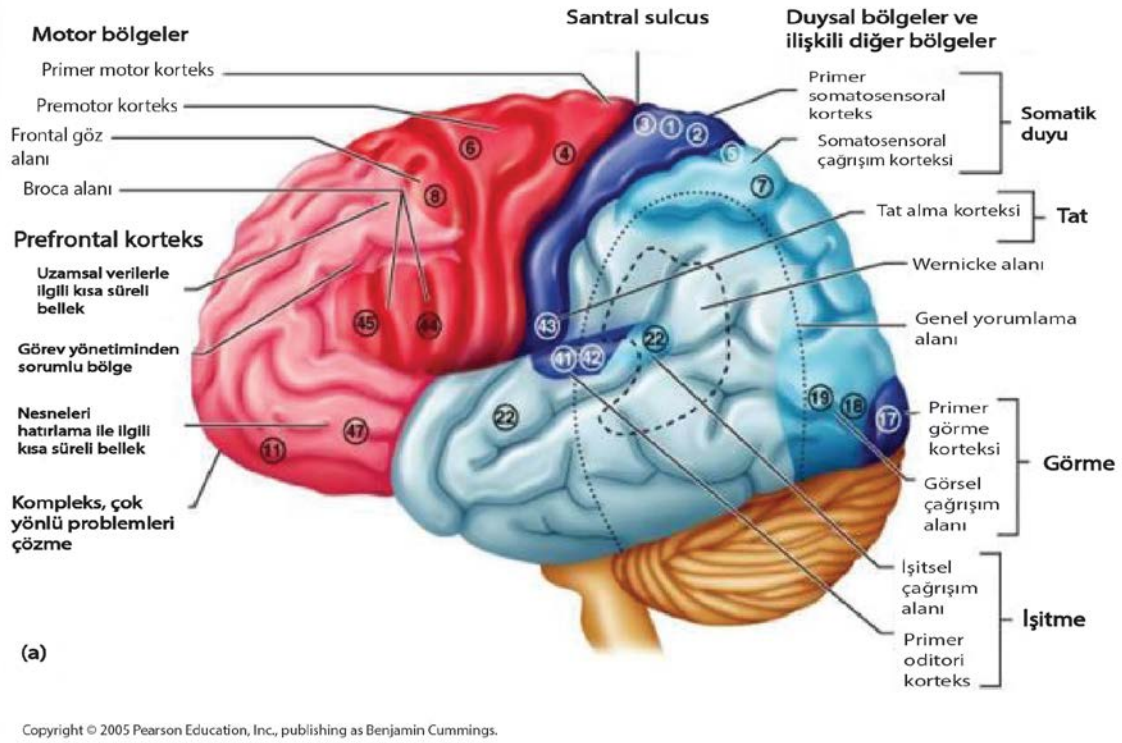
Öğrenme; kazanılan bilgi, bellek ise; kazanılan bilginin kodlanarak depolanması ve gerektiğinde tekrar hatırlanması sürecidir. Santral sinir sistemi memelilerde büyük oranda bilgi depolama ve icra etme potansiyeline sahiptir. Genotipik özelliklerimize çevresel faktörlerle etkileşimle ortaya çıkan davranışlarımız farklı tecrübelerle değişmekte ve öğrenmeyi meydana getirmektedir. Zaman içinde de birçok davranış öğrenilmektedir. Bu davranışların zaman içinde zihinsel olarak saklanması ve gerektiğinde kullanılması ise bellek olarak tanımlanmaktadır (Pittenger ve Kandel, 2003). Öğrenme ve bellek sürecinde; duyu organlarıyla bilgilerin alınması, bu bilgilerin santral sinir sistemi hücrelerine alınması, işlenmesi, depolanması, kodlanması, güncel bilgiler ile daha önce kazanılan bilgiler arasında ilişki kurulması, ihtiyaç duyulduğunda da bu bilgilerin anımsanması olayları gerçekleşir.

2.2 Öğrenmenin Nöroanatomi

Yapılan çalışmalar öğrenme ve bellek sürecinde korteks ve limbik sistemin rol oynadığını göstermektedir.

2.2.1. Serebral Korteks

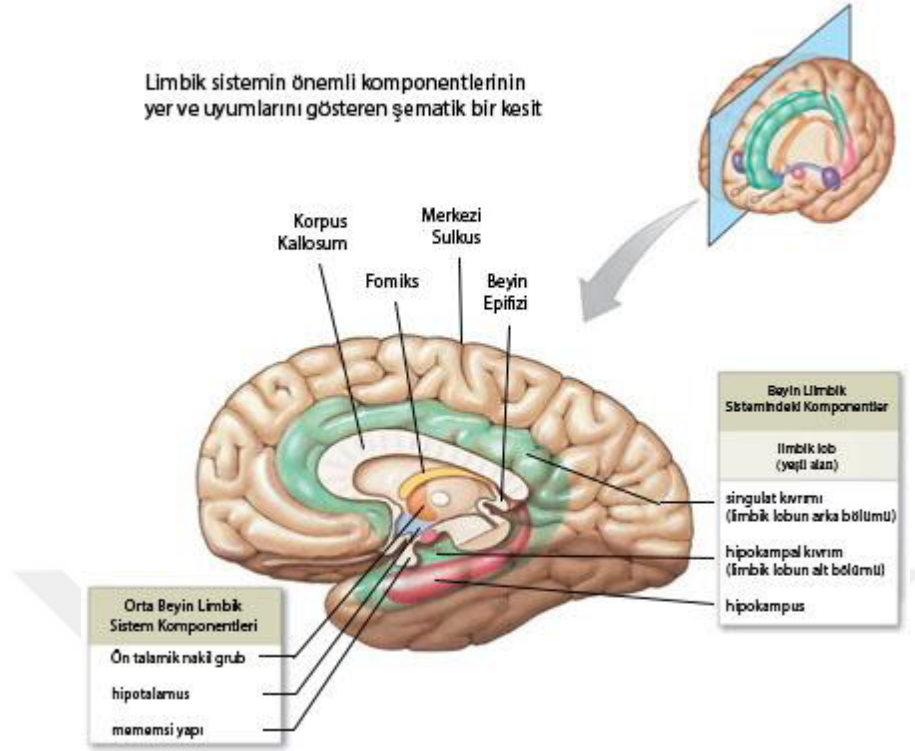
Serebral korteksteeki primer ve sekonder motor ve duyuşsal alanlar olan spesifik kortikal alanların önemli fonksiyonları bulunmaktadır. Primer ve sekonder motor ve duyuşsal alanların klasik sınıflandırmasına uymayan bazı büyük serebral korteks alanları vardır. Bunlara asosiyasyon alanları adı verilir. Bu alanlardan parieto-okspito-temporal asosiyasyon merkezinin, mekânsal koordinatları çözümleme, dili kavrama, görsel dili ön işleme (okuma), nesnelere adlandırma gibi işlevsel alt bölgeleri vardır. Prefrontal asosiyasyon alanı düşüncelerin işlenmesi ve olgunlaştırılması için önemli bir yapı olarak tanımlanmaktadır (Morgane ve ark., 2005).



Şekil 1. Serebral korteksin fonksiyonel ve yapısal bölgeleri (2011 Pearson Education Inc. Kaynağından alınarak düzenlenmiştir).

2.2.2. Limbik sistem

Limbik sistem, kişinin korunması ve türün devamlılığının sağlanmasına yardımcı bir sistemdir (Morgane, Galler ve Mokler, 2005). Bu sistem bellek, bağımlılık, stres ve plastisite oluşumunda birbiriyle etkileşimde olan ve serotonin, dopamin, noradrenalin, gamma aminobütirik asit (GABA), glutamat, asetilkolin gibi nörotransmitter sistemlerini barındıran spesifik bir nöronal ağdır. Limbik sistem, hipokampus, hipotalamus, parahipokampal alan, girus singuli, subkollozal oluşumlar, talamusun ön çekirdekleri, septum ve amigdaladan oluşur. Temel fonksiyonları, yeme davranışı, saldırma ya da kaçma reaksiyonu, agresyon ve cinsel içgüdülerin duygusal, otonomik ve endokrin yönünün sergilenmesine yöneliktir. Limbik sistem içerisinde bulunan hipokampus, özellikle hafıza ve mekânsal (üç boyutlu) problem çözmede önemli rol oynar. Hipokampal formasyon dental girus, hipokampus ve subikulumun oluşturduğu, parahipokampus tarafından sarmalanan, kendi çevresinde katlanmış primitif kortikal bir yapıdır (Waxman, Chugani ve Seibyl, 2002).



Şekil 2: Limbik sistem (2011 Pearson Education Inc. Kaynağından alınarak düzenlenmiştir.)

Amigdaloid nukleus kompleksi (amigdala), bir gri madde kitlesi olup, unkus ve parahipokampus arasında yerleşmiş medial temporal lob yapılarından birisidir. Amigdalanın, insan ve hayvan çalışmalarında özellikle korkunun öğrenilmesi ve duygusal işlemlerde, koşullu deneyimlerin ve korku cevabının oluşumunda, belleğin depolanması ve kazanımı için gerekli olduğu gösterilmiştir (Phelps ve LeDoux, 2005).

Deneyisel çalışmalarda, limbik sistem hasarının davranışlar üzerinde belirgin etkileri olduğu görülmüştür. Limbik sistemin belirli alanlarının hasarı ile hafıza da zarar görmektedir (Waxman, Chugani ve Seibyl, 2002).

Limbik sistemde davranışları etkileyen iki merkez bulunmaktadır. Ödül merkezi, ceza ve kaçma alanları yer almaktadır. Hayvan deneyleri ödül veya cezaya yol açmayan davranışların çok zor anlaşıldığını göstermiştir (Phelps ve LeDoux, 2005).

Eğer uyaran ödül ya da cezaya neden olursa, kortikal yanıt tekrarlayan stimulusla sönmez ve gittikçe güçlenir; bu durum tekrar kuvvetlendirilmiş yanıt olarak adlandırılır (Morgane ve ark., 2005).

2.2.3. Bellek sürecinde hipokampusun rolü

Korteksin medial kısmında bulunan hipokampus, beynin altına kıvrıldıktan sonra lateral ventrikülün alt yüzeyine doğru yükselir. Hipokampus, yeni bilgilerin depolanmasında çok önemlidir. Çünkü limbik ödülleme ve cezalanma sisteminden çıkan yolların en önemlilerinden birini oluşturmaktadır. Limbik ödülleme merkezi, haz, mutluluk ve ödülleme duygusu tarafından uyarılır. Limbik ceza merkezi ise, ağrı ve rahatsızlığa neden olan uyarılar ve düşünceler tarafından uyarılır. Özellikle hipokampus, daha az derecede de başka bir limbik yapı olan talamus dorsa-medial çekirdek, hangi düşüncelerin ödülleme ve cezalanma bazında anı olarak saklanacak derecede önemli olduğuna karar vermede etkilidirler (Cevik ve ark., 2017).

Sol ve sağ hipokampusu çıkarılmış hastalarda belleğe daha önce kaydedilmiş bilgiler üstünde ciddi bir etki görülmez iken, bu hastalarda sözel ve sembolik anıları kısa süreli bellekten uzun süreli belleğe geçirme yeteneği ve bu anıların birkaç dakika depolandığı orta süreli bellekte kalma yeteneği büyük ölçüde bozular. Bu hastalar zekanın temelini oluşturacak biçimde yeniden uzun süreli bellek oluşturamazlar. Buna anterograd amnezi denilmektedir. Hipokampus, olfaktor korteksin bir parçası olarak gelişmiştir. En ilkel hayvanlarda hangi besinlerin yeneceğini, hangi objelerin kokularından tehlikeli olabileceğini, kokunun seksüel olarak davet ediciliğini belirlemede ve hayati önemli birçok kararın alınmasında önemli rol oynamaktadır (Mineur, Obayemi ve Wigstrand, 2013).

2.3. Öğrenme ve Bellekte Ölçümüne Yönelik Testler

2.3.1. Pasif sakınma testi

Pasif sakınma en hızlı bellek testlerinden biridir. Bu test birbirine eşit ebatta ve eşit özelliklere sahip biri hafif karanlık diğeri ise aşırı aydınlık iki bölmeli, tabanı ızgara ve birbirinden bir geçiş kapısı ile ayrılmış bir düzenek ile gerçekleştirilir. Normalde sıçan veya fare geniş ve aydınlık bölmeye konduktan sonra karanlık bölmeyi tercih eder. 300 saniyelik sürede karanlık bölmeye geçmeyen sıçan veya fareler deney dışı bırakılırlar.

Hayvan karanlık bölüme geçtiği sırada kapı kapatılır ve belirli süre ve şiddette elektrik şoku uygulanır. Bu eğitimden bir gün sonra hayvanın kendisine şok verilen başlangıçta tercih ettiği bölme yerine aydınlık bölme tercih etmesi ve burada zamanını geçirmesi pasif sakınma olarak kabul edilir (Sanger, 1991).

2.4. Öğrenme ve Bellek ile ilgili Kavramlar

2.4.1. Kazanım (Acquisition): Öğrenme deneyimleri veya eğitim dönemi sırasında oluşan ve özel işlemler sonunda belleğe dahil edilecek bilginin beyne girmesidir (Yu ve Sharp, 2015).

2.4.2. Aktif Sakınma (Active Avoidance): Ağrı gibi ızdırap verici veya hoş olmayan bir stimulustan özel bir cevap vererek çekinme veya sakınma yapılmasının öğrenilmesidir (Maehara ve ark., 2017).

2.4.3. Pasif veya İnhibitör Sakınma (Passive avoidance): Genellikle bir eğitim döneminde kazanılabilen ve daha çok bellek deneylerinde kullanılan ızdırap verici veya hoş olmayan stimulustan kendini tutarak sakınmadır (Yu ve Sharp, 2015).

2.4.4. Alışma (Habituation): En ilkel öğrenme şeklidir. Birçok kez belirli bir zaman süresinde tekrarlanarak verilen stimulus veya stimulus gruplarına ürkme, korkma veya araştırma gibi davranışlarda azalma olması veya bu stimuluslara alışma durumudur (Yu ve Sharp, 2015).

2.4.5. Kaçma (Escape): ızdırap verici bir uyarıdan kurtulmak için uyarı geldikten sonra verilen özel bir cevaptır (Yu ve Sharp, 2015).

2.4.6. Pekiştirme (Consolidation): Kazanmanın hemen sonrasında bilgilerin bazılarının depolanmasına yönelik, mekanizması bilinmeyen bir işlemdir (Yu ve Sharp, 2015).

2.4.7. Eğitim Öncesi Tedavi (Pre-training treatments): Eğitim döneminden önce verilen ve kazanma ile pekiştirme işlemlerini etkileyen tedavi şekli (Yu ve Sharp, 2015).

2.5. Bellek

Memeli SSS (Santral sinir sistemi)' nin en önemli özelliği büyük miktarda bilgi depolama ve işleme yeteneğinin olmasıdır. Modern davranışsal ve biyolojik çalışmalar, öğrenme ve belleğin tek bir süreçten oluşmadığını göstermiştir. İnsan belleği olmasaydı, belirli bir deneyimden öğrendikleri davranışları saklayamaz, her defasında aynı davranışları yeni baştan öğrenmek zorunda kalırlardı. Bazı anılar birkaç saniye, bazıları saatler, günler, aylar ya da yıllarca devam eder. Kısa-süreli bellek, uzun süreli belleğe dönüştürülmedikçe, anılar saniyeler veya en çok dakikalar sürer (Dere, Kart-Teke, Huston ve DeSouza Silva, 2006). Kısa süreli belleği (en fazla 60 dk) uzun süreli belleğe (birkaç gün veya daha uzun) dönüştürmede, hipokampus önemli rol oynar. Uzun-süreli bellek, bir anı bir kez saklandıktan sonra yıllar boyunca veya bir yaşam boyu hatırlanabilir (Pittenger ve Kandel, 2003).

2.5.1. Kısa Süreli Bellek

Kısa süreli bellek, bir telefon numarasında ki 7 ila 10 rakamı birkaç saniye veya birkaç dakika süre boyunca hatırd tutmak gibi, kişinin bu rakamları veya olayları sürekli düşünerek hatırlayabilmesini sağlayan bellektir. Kısa süreli belleğin diğer olası bir açıklaması; presinaptik fasilasyon veya inhibisyondur. Bu olaylar, presinaptik uçlar üzerinde yer alan sinapslarda gerçekleşir. Bu gibi uçlardan salınan nörotransmitterler çoğu zaman saniyelerce hatta dakikalarca süren bir fasilasyona veya inhibisyona neden olurlar. Bu tip devreler kısa süreli belleğe yol açabilir (Mutlu, Ulak ve Belzung, 2011).

2.5.2. Orta uzun süreli bellek

Orta uzun süreli bellek dakikalarca hatta haftalarca sürebilir. Bu bellekte saklanan anılar, bellekteki izleri daha sürekli hale getirilemezse zamanla kaybolur; sürekli hale getirilirse uzun süreli bellek olarak sınıflandırılırlar. Yapılan çalışmalar, bu tür belleklerin ya presinaptik uçlarda ya da postsinaptik uçlarda yer alan ve birkaç dakikadan birkaç haftaya kadar sürebilen geçici kimyasal veya fiziksel değişikliklerden veya her ikisinden kaynaklanabileceğini göstermiştir (Albright, Kandel ve Posner, 2000).

2.5.3. Uzun Süreli Bellek

Uzun süreli bellek genel olarak iki kategoriye bölünür: Explicit veya deklaratif bellek (insanlar, yerler ve şeyler hakkındaki bilginin bilinçli olarak hatırlanması) ve implisit veya nondeklaratif bellek. Deklaratif bellek bilinçli olarak kazanılan hafızadır. Bu bellek tipi çok esnek olup çoklu alanlar ve bilgi parçalarının ilişkisini içerir. Medial temporal lobla ilgilidir (Albright ve ark., 2000).

Deklaratif bellek ayrıca, episodik (olaylar ve kişisel deneyimlerle ilgili bellek) ve semantik (gerçekler için bellek tipi) olarak ikiye ayrılmıştır. Episodik bellek, dün ilkbaharın ilk çiçeklerini gördüğümüzü ya da birkaç ay önce Beethoven'ın bir sonatını dinlediğimizi hatırladığımız zaman kullanılır. Semantik bellek ise, okulda ya da kitaptan öğrendiğimiz objektif bilgiyi hatırlamak ve depolamak için kullanılır (kurşun sudan ağırdır). Episodik bellek, kişisel olarak deneyimlenen olaylar veya nerede, ne zaman, ne olduğunun hatırlanması için bir bellek tipidir. Semantik bellek, dünyadaki genel durumlar için bir bellek tipidir. Geçen Salı Londra'da yağmurdan ıslandığını hatırlamak episodik bellek, İngiltere'de sık sık yağmur yağdığını bilmek ise semantik bellekle ilgilidir. Episodik bellek otobiyografiktir, kişisel olarak deneyim edilen olayları otobiyografik olarak hatırlamaya yarar. Spatial ve temporal bilgileri gerektirir. Semantik bellek ise durumların, kuralların depolanması ve geri çağırılmasına yarar; spatiotemporal ve otobiyografik özelliği yoktur. Semantik ve episodik bellek anatomik olarak farklı beyin sistemleri aracılığıyla oluşur (Dere ve ark., 2006).

Fakat episodik bellek, semantik bilgi olmadan ortaya çıkmaz. Bu yüzden semantik sistemin hasarı hem semantik hem episodik belleği bozan implisit veya nondeklaratif belleğin (motor yetenek ve diğer görevlerin bilinçsiz olarak hatırlanması) klasik koşullama gibi basit assosiyatif formları ve sensitizasyon gibi non-assosiyatif formları vardır. Non-deklaratif bellek bilinçsiz olarak hatırlanabilir. Deklaratif belleğin aksine daha rijiddir ve öğrenmenin meydana geldiği orijinal stimulus koşullarıyla sıkı temas halindedir (Pittenger ve Kandel, 2003).

Bu sebeplerden ötürü bellek tek bir anatomik yapıda lokalize olamaz. Farklı bellek proseslerinin beyinde farklı yolaklar içermesi olasıdır (Gasparini ve ark., 1998).

Kısa süreli belleğin haftalar veya yıllar sonra hatırlanabilecek uzun süreli belleğe dönüştürülebilmesi için "pekiştirilmesi" gerekir. Yani bellek, sinapslarda uzun süreli bir bellek için gerekli kimyasal, fiziksel ve anatomik değişikliklerin gerçekleşmesini bir şekilde başlatılmalıdır. Bu süreç minimal bir pekiştirme için 5 ila 10 dakikalık bir süreyi, güçlü bir pekiştirme için ise 1 saat veya daha uzun bir süreyi gerektirir.

2.5.4. Belleğin Nöral Mekanizmaları

Bellek oluşumu sırasında çeşitli biyokimyasal ve yapısal nöral değişimler olur. Omurgasız ve kemirgenlerde yapılan deneysel çalışmalar belleğin aktif sinaps alanı ve sayısında morfo-fonksiyonel değişimler sonucu oluştuğunu göstermiştir. Uzun süreli bellekte konsolidasyon periyodunda moleküler olaylar kaskadı gerçekleşir. Kısa süreli belleğin uzun süreli belleğe dönüşümü sırasında önceden var olan proteinler daha kararlı uzun süreli forma dönüşür, bu duruma yeni sinaptik bağlantıların oluşması eşlik eder (Gasparini ve ark., 1998).

Omurgasız hayvanlardan elde edilen elektron mikrograflar, uzun süreli bellek gelişmesi esnasında sinaps yapısında pek çok fiziksel değişikliğin yer aldığını göstermiştir. Bu fiziksel değişikliklerin en önemlileri şunlardır: (Mutlu ve ark., 2011)

- 1- Transmitter taşıyan veziküllerin sayısında artış
- 2- Presinaptik uç sayısında artış
- 3- Sinaptik aralığa boşalan nörotransmitter sayısında artış
- 4-Dendritlerde yapısal değişiklik (Mutlu, 2011).

2.5.4.1. Santral kolinerjik sistem ve öğrenme

Uzun yıllardan beri kolinerjik sistemin kognitif fonksiyonlar üzerindeki rolü bilinmekle, özellikle ön beyin tabanındaki kolinerjik nöronların "korteks" ve "hipokampustaki" projeksiyon alanlarının "öğrenme ve bellek süreçleri" ile sıkı bir ilişki

içinde oldukları kabul edilmektedir (Mutlu, 2011).

Asetilkolin normal bellek işlevinde temel bir role sahiptir. Örneğin; antikolinergik etkili ilaçlar bellek bozukluğuna yol açabilmekte veya var olan bozukluğu artırmaktadır. Deney hayvanlarında kolinomimetik ilaçlar (fizostigmin ve intraventriküler verilen asetilkolin gibi) öğrenmeyi yani bilginin kazanılmasını bu arada pasif sakınmanın öğrenilmesini ve bilginin retansiyonunu kolaylaştırır; skopolamin ve diğer antikolinergik ilaçlar ise kazanmayı bozarlar; fakat retansiyona dokunmazlar. Yapılan incelemeler, deney hayvanlarında, muskarinik reseptörler aracılığı ile çalışan septohipokampal kolinerjik yolağın öğrenme ve kısa süreli bellek yönünden önemli olduğunu göstermiştir.

Kolinerjik merkezlerin bulunduğu ön beyin tabanının projeksiyon bölgelerinin; öğrenme-hatırlama süreçlerinde önemli bir yer tuttukları görülmektedir. Bu bölgenin lezyonu; serebral korteksteki kolin asetil transferaz aktivitesinde azalmaya neden olurken; bir yandan da pasif ve aktif sakınma, T-labirent, ışınal kollu labirent ve MWM gibi testlerde öğrenme ve hafızaya ilişkin performans bozukluklarını ortaya çıkarmaktadır (Karabeg ve ark., 2013).

Asetilkolinesteraz inhibitörü fizostigmin ile enzimatik yıkımların azalması sonucu kolinerjik aktivitenin artması sağlanarak; reseptör blokajı oluşur, kolin alımının blokajı sağlanır ve kolinerjik nükleus lezyonları ile oluşan yer öğrenme defektleri azalır. Bununla birlikte fizostigminin tek başına yüksek dozlarda uygulandığı zaman yer öğrenmeyi zayıflattığı bulunmuştur (Jin, Germann, Shin, Akk ve Steinbach, 2017).

Farmakolojik çalışmalarda M1 (Nathanson, 2001; Messer, Bohnett, Stibbe, 1990). Alzheimer'lı hastalarda görülen algılama eksikliklerinde mAChR'lerinin önemli rolü olduğu düşünülmektedir. İnsanda dörtyüz altmış amino asit uzunluğundaki M1 reseptörü, merkezi sinir sisteminde asetilkolinle indüklenen MAP kinaz aktivasyonuna aracılık eden tek muskarinik reseptördür. Asetilkolinle MAP kinaz aktivasyonu hafızada önemlidir (Nathanson, 2001; English, Sweatt, 1997). Yetişkin memeli sinir sistemindeki nöronlar arasında sinaptik bağlantıların modifikasyonunda MAP kinaz yolağının rolü

vardır (English ve Sweatt, 1997). Striatumda M1 eksikliğinin dopaminerjik aktarımını anlamlı düzeyde arttırdığı ve lokomotor etkinliğin arttığı belirtilmektedir (van Koppen ve Kaiser, 2003). Muskarinik asetilkolin reseptörleri çeşitli hastalıkların tedavisinde hedef reseptörlerdir. Muskarinik reseptör sayısının değişimi ve işlevinin bozulmasının Alzheimer, Down sendromu ve Parkinson gibi nörolojik hastalıkların oluşumunun nedenlerinden biri olduğu bilinmektedir (Nathanson, 2001; Caulfield ve Birdsall, 1998).

Örneğin Alzheimer hastalığında, bilişsel kavramadaki eksiklikler beyinde asetilkolin düzeyinin yükselmesiyle azaltılabilir. Alzheimer'lı hastaların beyinde ölüm sonrası yapılan çalışmalar ile muskarinik reseptör ekspresyonlarında değişim belirlenmiştir.

2.6. Antioksidan – Bellek İlişkisi

Antioksidanlar hücreleri serbest radikallere karşı koruyan, bitkiler, flavonoidler, antosiyaninler, karotenoidler, vitaminler ve endojen metabolitler gibi çok çeşitli fenolik çekirdeğe sahip kaynaklardan alınan maddelerdir. Oksidatif stres ve serbest radikaller kanser patolojisinde, arterosklerozda, nörodejeneratif hastalıklarda ve yaşlanma sürecinde olduğu gibi çok sayıda hastalıkta rol oynar. Antioksidan maddeler; serbest radikallerle savaşma, yaşlanmayı geciktirme ve birçok tipteki hastalığı önleme gibi pek çok özelliğe sahiptir. Hayvan, bitki ve bakteri gibi aerobik organizmaların enerji ihtiyaçlarını karşılamak için son derece gerekli ve hayati öneme sahip oksijen elementi, aynı zamanda bu organizmalar için toksik, zararlı, mutajenik ve hatta ölümcül olabilir (Cahill- Smith ve Li, 2014). Oksijenin vücut için zararlı olan molekülleri oluşturması karşısında, vücutta kendi antioksidan savunma mekanizmasını geliştirmiştir. Bu sistem pek çok endojen ve ekzojen kaynaklara bağlı kompleks bir sistemdir (De Flora ve Ferguson, 2005).

Bazı çalışmalar flavonoidlerin hafıza, bellek ve nörodejenerasyona ve serebrovasküler kan akışını iyileştirme kabiliyetine etki ettiğini göstermektedir (Spencer JPE, 2009). Antioksidan etkiler gösteren flavonoidler içeren doğal ürünlerin hafıza bozukluklarını azalttığı bulunmuştur (Kang J ve ark., 2010). Yüksek doz P minus (100

mg / kg) algılanan skopolamin kaynaklı açığı in vivo olarak, toplam deneme yolu uzunluğu ve kaçış deliği bulmadan önce toplam hataların azalması ve hedef denemede hedef sürenin artmış süresinin azalmasıyla azaltılarak, hafızanın daha iyi olduğunu göstermiştir (Annie George ve ark., 2014). Klinik çalışmaların sonuçlarının analizi, *S. officinalis* ve *S. lavandulaefolia*'dan elde edilen bitkisel preparatların alımının, hafızadaki iyileşmeyle bilişsel performans üzerinde olumlu etkiler yaratabileceğini göstermektedir. Bazı çalışmalar, ikincil belleği, bilgiler tedavilerinden daha olumlu etkilenen bileşen olarak göstermektedir (Miroddi M ve ark., 2014). Amiloid β oligomer ($A\beta$ O) kaynaklı ROS yükselmesi azalmıştır ve PI3K / Akt / Nrf2'ye bağlı yol yoluyla nörodejenerasyon önlenmiştir ve aynı çalışmada, antosiyaninler, APP / PS1 farelerinde bellekle ilişkili pre ve postsinaptik belirteçleri ve bilişsel işlevleri iyileştirmektedir. Ayrıca benzer sonuçlar Amiloid β oligomerinde açığa çıkan HT22 faresi hipokampal nöronal hücrelerinde de bulunmuştur (Ali T ve ark., 2017).

2.7. Agomelatin

Agomelatin (N- [2- (7-metoksinaftalen-1-yl) etil] acetamid) molekülü 2000'li yılların ortalarında, Fransa'da Servier araştırma enstitüsünde daha etkili ve daha güvenli yeni antidepresan ilaçlar geliştirmeye yönelik çalışmalar sırasında sentezlenmiştir. Moleküler formülü $C_{15}H_{17}NO_2$ ' dir. Pineal bezde sentezlenip salıverilen melatonin hormonununun sentetik analogudur. Melatoninden kimyasal yapısında indol grubu yerine bir naftalen bioestere grubu ve NH grubu olan yerde HC=CH grubu içermesi ile ayrılır (Tinant ve ark., 1994). Agomelatin higroskopik olmayan beyaz veya beyaza yakın toz şeklindedir. Suda çözünmez. Etanol, DMSO ve dimetil formamid gibi organik çözücülerde çözünür. Bu çözücülerdeki çözünürlüğü 30 mg/ml şeklindedir. Etanolün 1:1 solüsyonunda 0.5 mg/ml'de pH 7.2' de çözülerek deneysel çalışmalar için enjeksiyonluk solüsyonu hazırlanabilir. Toz şeklindeki etken madde içeren formu oda sıcaklığında saklanabilir (Rao ve ark., 2010). Kemirgenlerle yapılan çalışmalarda genellikle %1' lik hidroksietil selülozda çözülerek kullanılır (Dagyt ve ark., 2011; Morley-Fletcher ve ark., 2011; Norman ve ark., 2012; Ladurelle ve ark., 2012).

Avrupa Birliği 2009 yılında agomelatin 25 mg' lık film kaplı tablet formunda depresyon tedavisinde kullanımına izin vermiştir (Sansone ve Sansone, 2011). 2011

yılında Sağlık Bakanlığı onayını alarak ülkemizde de depresyon tedavisi için reçetelenmeye başlanmıştır. Tablet dışında başka bir farmasötik formu yoktur. Optimal antidepresan etkinlik için 25 mg'lık tabletlerin günde bir kez akşam yatmadan önce alınması tavsiye edilmektedir. Gerek duyulduğunda dozu günde 50 mg' a kadar artırılabilir (Eser ve ark., 2009, Sansone ve Sansone 2011).

Etki düzeneğini anlamaya yönelik deneysel çalışmalar diğer antidepresanlardan farklı olarak agomelatinin beyin melatonin sistemini modüle ettiğini ve özellikle MT₁ ve MT₂ melatonerjik reseptörler ile etkileştiğini göstermektedir. Agomelatin melatonin MT₁ ve MT₂ reseptörler üzerine güçlü bir agonist aktiviteye sahip olmakla beraber, antidepresan etkinliği tek başına bu özelliği ile açıklanamaz (Millan ve ark, 2003, Norman 2012). İlacın MSS'deki antidepresan ve diğer psikotrop etkilerini melatonin kaynaklı MT₁ ve MT₂ reseptör aktive edici, monoamin kaynaklı serotonin 5-HT_{2C} reseptör antagonize edici ve beyin nöroplastisitesini düzenleyici etkilerinin sinerjik birlikteliği ile oluşturduğu düşünülmektedir (Paizanis ve ark., 2010, Hickie ve Roberts 2011, Norman 2012).

Agomelatinin adrenerjik, kolinerjik ve histaminerjik reseptörler ile herhangi bir etkileşimi söz konusu değildir (Manikandan, 2010). Bununla beraber, serotonin 5-HT_{2C} reseptörlerini seçici olarak bloke etmesi sekonder olarak frontokortikal yollarda noradrenalin ve dopamin aktivitesinde artışlara neden olur. İlacın bu özelliği de antidepresan etkisine katkıda bulunmaktadır (Millan ve ark., 2003, Stahl 2007). Günümüzde antidepresan ilaçların etkilerini yapısal nöroplastisiteyi etkileyerek oluşturduğu düşüncesi giderek daha fazla kabul görmeye başlamıştır. Kısaca MSS'nin iç ve dış uyarılara adapte olması ve yeniden modellenmesi olarak tanımlayabileceğimiz nöroplastisite ile özgül beyin bölgelerinde nöroenez, apoptozis, nöronların akson ve dendritlerindeki değişiklikler (kırılmalar veya bozulmuş yapının tamiri) ve bunlara bağlı olarak sinaptik etkinlikte değişiklikler söz konusudur. Nöroplastisite hipotezine göre depresyon, akut veya kronik strese bağlı olarak amigdala, hipokampus ve subgenual prefrontal korteks gibi yapılarda ve bunların bağlantılarında olumsuz yönde gerçekleşen bir yeniden modellenmedir. Antidepresan ilaçlarla tedavi bu yeniden modellenmeyi tersine çevirerek eski durumuna getirmektedir (Uzbay 2008, Uzbay 2011). Bu görüşü destekleyen ve antidepresanların MSS'nin sinyal iletim sistemleri üzerinde hücresel düzeydeki etkilerine işaret eden birçok çalışma yayınlanmıştır (bu çalışmalar için

bakınız, Uzbay 2011). Yeni bir antidepresan olan agomelatinin strese bağılı nöroplastisite üzerine etkileri de araştırılmıştır.

Racagni ve çalışma arkadaşları, agomelatonin yapısal nöroplastisite üzerine hücresele düzeydeki tüm bu olumlu etkilerinin ilacın melatonerjik MT₁/MT₂ reseptörleri uyarıcı ve serotonerjik 5-HT_{2C} reseptörleri bloke edici etkilerinin aynı anda ve birlikte çalışması ile ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir (Racagni ve ark., 2011, Ladurelle ve ark., 2012).

2.8. Quercetin

Quercetin, meyveler, sebzeler, yeşil çay gibi bitkilerin çoğunda ve hatta antioksidan aktiviteleri olan kırmızı şarapta bulunan flavonoid ailesine aittir. Piyasada bir besin takviyesi olarak bulunur ve fizyolojik sağlık etkilerine sahiptir. Quercetin, yüksek kolesterol, böbrek nakli, astım, diyabet, viral enfeksiyonlar, pulmoner, şizofreni ve kardiyovasküler hastalıklar üzerindeki yararlı etkileri ile birlikte anti-enflamatuar, anti-kanser ve anti-prostat aktivitelerine sahiptir. Quercetin, hidroksil radikal, hidrojen peroksit ve süperoksit anyonunun temizleme potansiyeline sahiptir. Bu reaktif oksijen türleri, epigenetik değişikliklere yol açan lipit, protein, amino asitler ve deoksiribonükleik asit işlemlerini engeller. Quercetin bu zararlı etkilerle mücadele etme kabiliyetine sahiptir. Reaktif oksijen türleri (ROS) Alzheimer hastalığının ilerlemesinde hayati bir rol oynar ve quercetin'in normal fizyolojik fonksiyonları düzenlemede hücresele ve moleküler sinyallerin üstesinden gelmek için en iyi seçim olabileceği araştırmacılar tarafından önerilmiştir. Quercetin nöroprotektif etkileri, esas olarak, sitokinlerin nükleer faktör (eritroid türevi 2) benzeri 2 (Nrf2), Paraoksonaz-2, c-Jun N-terminal kinaz (JNK) aracılığıyla potansiyel olarak yukarı ve / veya aşağı regülasyonundan kaynaklanmaktadır (Samad ve ark., 2018; .Liu ve ark, 2015).

3.MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi. OMÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 24.01.2019 tarih ve 2000 sayılı kararı ile onay alındıktan sonra deneylere başlandı.

3.2. Deneysel Hayvanları

Bu çalışmada, 42 adet ortalama $40,2 \pm 2,8$ g ağırlığında albino Balb C erkek cins fareler kullanıldı. Fareler OMÜ bünyesindeki DEHAM' dan temin edilmiş olup deneye başlamadan bir hafta önce deneyin yapılacağı Farmakoloji anabilim dalı laboratuvarında adaptasyona tutuldu. Tüm deney süresince standart laboratuvar koşulları ($22 \pm 1^\circ\text{C}$ oda sıcaklığı, % 60 nem oranı, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ritim) sağlandı. Her bir grupta yedi fare olup, uygulamalar aşağıda belirtilen protokoller çerçevesinde yapıldı.

3.3. Kimyasallar

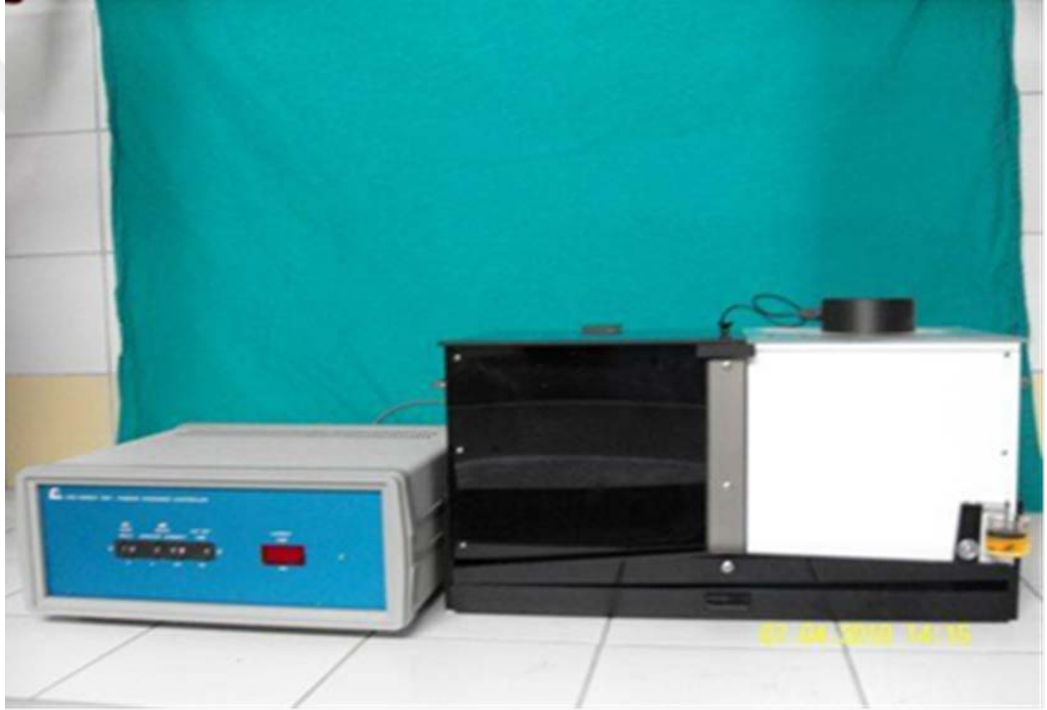
Bu çalışmada scopolamin (Sigma), agomelatin (Sigma), quercetin (Sigma) kullanıldı. İlaçlar intraperitoneal (i.p) olarak verildi. Tüm kimyasal maddeler % 0.9 'luk serum fizyolojikte çözdürüldü. İlaçlar intraperitoneal uygulamasından 30 dakika sonrasında pasif sakınma testi başlandı. Tüm deneyler günün aynı saatinde sessiz ve sıcaklığı $22-24^\circ\text{C}$ olan odada gerçekleştirildi.

3.4. Pasif sakınma testi

Pasif sakınma en hızlı bellek testlerinden biridir. Fareler pasif sakınma testine (Ugo Basile, Passive Avoidance Controller Cat 7551, İtalya) alındı. Bu cihazın (Şekil 3) 21x22x21 ebadında birbirine eşit iki odası bulunmaktadır. Bu odalardan bir tanesi tamamen koyu renk pleksiglastan yapılmış olan karanlık bölüm, diğeri ise beyaz, opak, pleksiglastan yapılmış aydınlık bir bölümden oluşmuştur. Aydınlık bölüm, üzerindeki ışık kaynağı ile aydınlatılmaktadır (Sanger, 1991). Her iki bölümün üzerinde bir kapak bulunmaktadır. Aygıtın zemin kısmında 0.3 cm çapında paslanmaz çelik telden yapılmış bir ızgara bulunmaktadır. Bu ızgara karanlık bölüme geçen farenin ayağına programlı bir şekilde elektrik akımı verebilecek şekilde tasarlanmıştır.

Fareler aydınlık bölümden karanlık bölüme geçtiği an 0.5 mA şiddetinde 3 saniyelik elektrik akımı verilecek ve aynı zamanda farelerin karanlık odaya geçme süreleri kaydedilecektir. Fare karanlık bölüme geçtikten ve ayaklarına şok uygulandıktan sonra aydınlık bölüme geçmemesi için kapı otomatik olarak kapanmaktadır. Bu nedenle fare şok kesildikten sonra karanlık bölümde kalmaktadır.

Aynı test 24 saat sonra tekrarlanarak hayvanın karanlık bölgeye geçip geçmediğine bakılır (retention). Testin sonlandırılma süresi 300 sn dir. Bu süre içinde karanlık tarafa geçmezse yani elektrik şoku almaktan kaçınırsa sıçanın öğrenmesinin bozulmadığı kabul edilir.



Şekil 3. Pasif sakınma test cihazı

3.5. Deney Protokolü

Her grupta 7 hayvan olmak üzere toplam 6 grup oluşturuldu (Tablo 1).

Tablo 1. Çalışma grupları

Gruplar	Kullanılan maddeler
1. Grup	Serum Fizyolojik (Salin)
2. Grup	Skopolamin 3 mg/kg
3. Grup	Agomelatin 75 mg/kg
4. Grup	Quercetin 100 mg/kg
5. Grup	Skopolamin 3 mg/kg + Agomelatin 75 mg/kg
6. Grup	Skopolamin 3 mg/kg + Quercetin 100 mg/kg

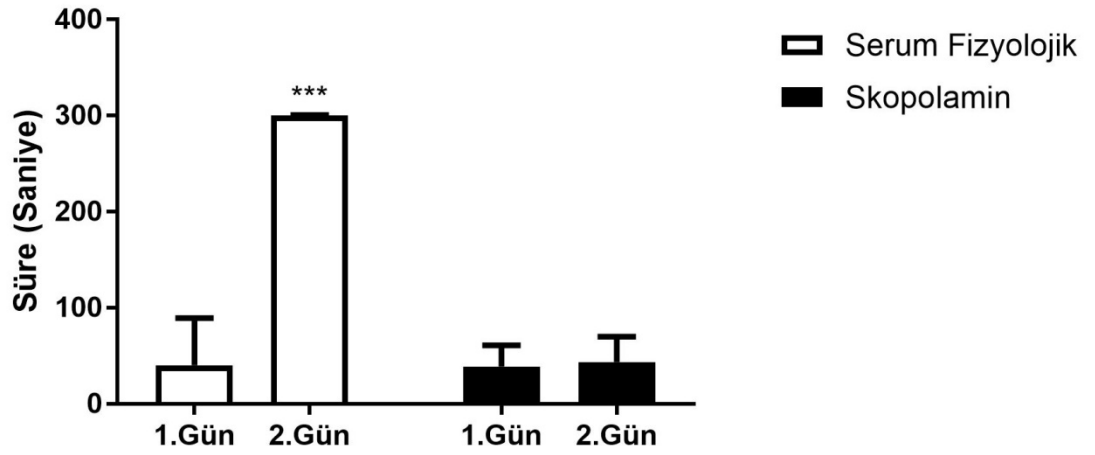
3.6. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin analizi IBM SPSS 21 paket programı ile yapıldı. Öğrenme ve bellek ile ilgili değerlendirmelerde tek yönlü varyans analizi One - Way (ANOVA) ve t-testi yapıldı. Sonuçlar ortalama ve standart sapma olarak gösterildi. $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

4.1. Skopolamin Pasif Sakınma Testinde Hafıza Bozucu Etkisi

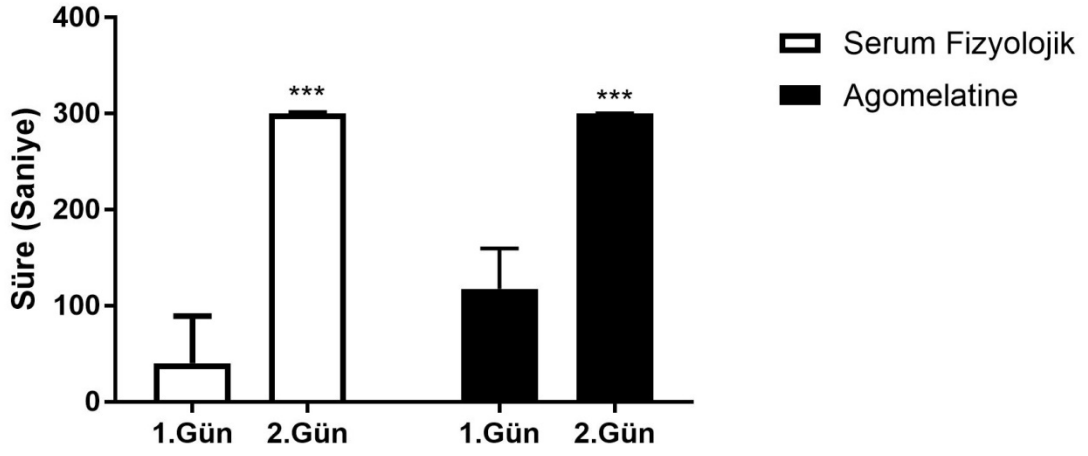
Skopolamin 3 mg/kg, i.p dozunda 2. günde uygulandığında birinci gün uygulamasına kıyasla anlamlı bir fark ortaya çıkarmadı ($p > 0.05$) (Şekil 4).



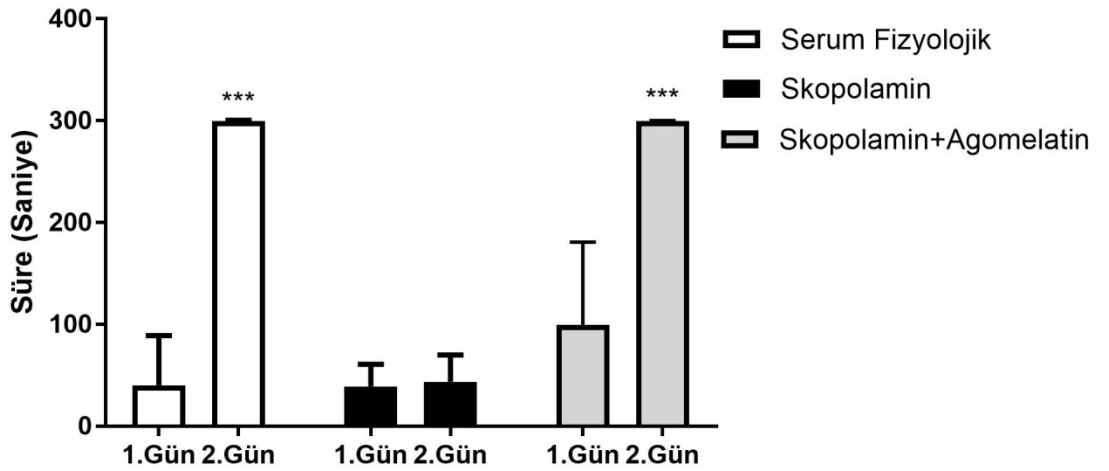
Şekil 4. Skopolamin 3 mg/kg uygulamasının pasif sakınma testindeki etkisinin serum fizyolojik grubuyla karşılaştırılması. *** $p < 0.001$ 2. gün sonuçlarının birinci gün sonuçları ile karşılaştırılması.

4.2. Skopolamin Pasif Sakınma Testinde Hafıza Bozucu Etkisinde Agomelatin Rolü

Agomelatin 75 mg/kg, i.p dozunda 2. gün pasif sakınma testinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olduğunu gösterdi (Şekil 5). Agomelatin 75 mg/kg, i.p, Skopolamin 3 mg/kg, i.p, hafıza bozucu etkisini anlamlı olarak azalttı ($p < 0.001$) (Şekil 6).



Şekil 5. Agomelatine 75 mg/kg uygulamasının pasif sakınma testindeki etkisinin serum fizyolojik grubuyla karşılaştırılması. *** p < 0.001 2. gün sonuçlarının birinci gün sonuçları ile karşılaştırılması.

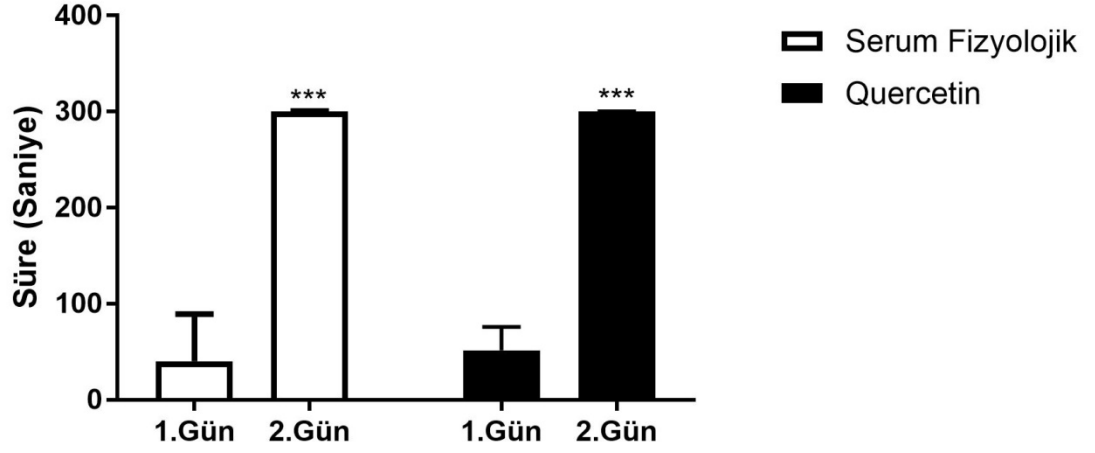


Şekil 6. Skopolamin 3 mg/kg + Agomelatine 75 mg/kg uygulamasının pasif sakınma testindeki etkisinin skopolamin ve serum fizyolojik grubuyla karşılaştırılması. *** p < 0.001 2. gün sonuçlarının birinci gün sonuçları ile karşılaştırılması.

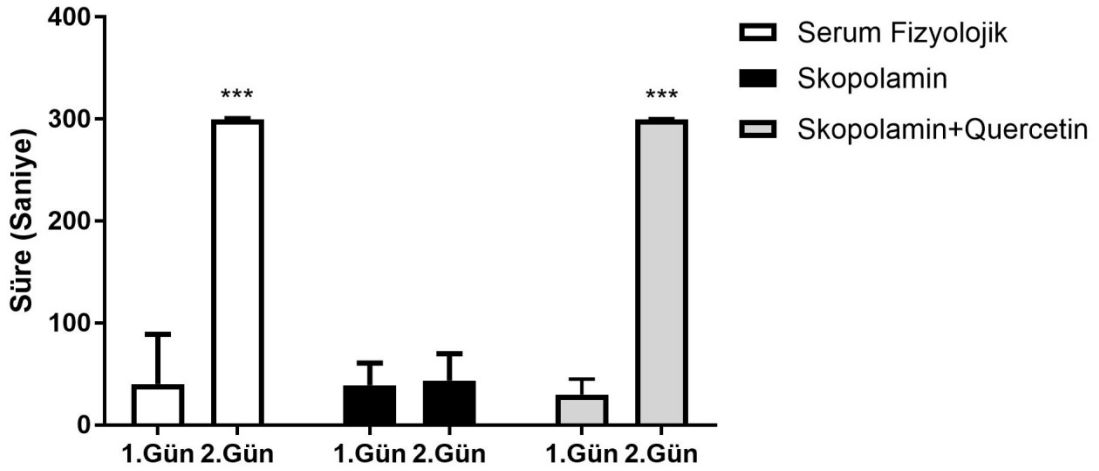
4.3. Skopolamin Pasif Sakınma Testinde Hafıza Bozucu Etkisinde Quercetin Rolü

Quercetin 100 mg/kg, i.p dozunda 2. gün pasif sakınma testinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olduğunu gösterdi (Şekil 7). Quercetin 100

mg/kg, i.p, Skopolamin 3 mg/kg, i.p, hafıza bozucu etkisini anlamlı olarak azalttı ($p < 0.001$) (Şekil 8).



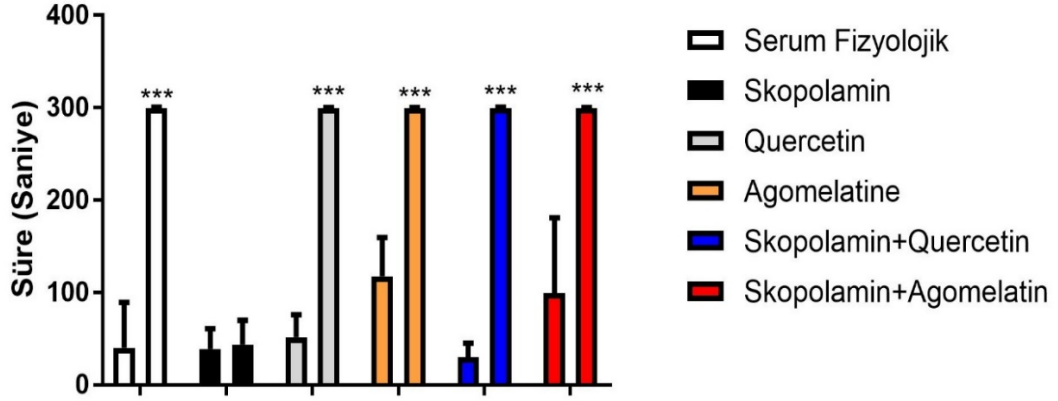
Şekil 7. Quercetin 100 mg/kg uygulamasının pasif sakınma testindeki etkisinin serum fizyolojik grubuyla karşılaştırılması. *** $p < 0.001$ 2. gün sonuçlarının birinci gün sonuçları ile karşılaştırılması.



Şekil 8. Skopolamin 3 mg/kg + Quercetin 100 mg/kg uygulamasının pasif sakınma testindeki etkisinin skopolamin ve serum fizyolojik grubuyla karşılaştırılması. *** $p < 0.001$ 2. gün sonuçlarının birinci gün sonuçları ile karşılaştırılması.

4.4. Skopolamin Pasif Sakınma Testinde Hafıza Bozucu Etkisinde Agomelatin ve Quercetin Rolü

Tüm grupların 2. gün sonuçları karşılaştırıldığında skopolaminin hafıza bozucu etkisi agomelatin ve quercetin tedavisiyle skopolamin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde geri çevrildi. (Şekil 9 ve Şekil 10).



Şekil 9. Tüm grupların 1. ve 2. gün sonuçların değerlendirilmesi. *** p < 0.001

	1. Gün	2. Gün		1. Gün	2. Gün		1. Gün	2. Gün
Serum Fizyoloji	149,5	300	Skopolamin	67,8	17,5	Quercetin	57,4	300
	19,9	298		61,9	67		57,6	299
	29,3	300		10,6	77,5		67,3	300
	30,8	300		49,2	66,4		23,3	300
	13,1	300		18,6	17,5		49	300
	29,8	300		26,2	19,2		18,7	300
	7,7	300		38,1	39		88,1	300
Ortalama	40,01429	299,7143	Ortalama	38,91429	43,44286	Ortalama	51,62857	299,8571
Standart Sapma	49,0991	0,755929	Standart Sapma	21,77617	26,44295	Standart Sapma	24,28454	0,377964

	1. Gün	2. Gün		1. Gün	2. Gün		1. Gün	2. Gün
Agomelatin	115,2	300	Skopolamin + Quercetin	32	300	Skopolamin + Agomelatin	113,2	300
	139,4	299		21,3	300		115,8	299
	185,7	300		24,5	298		48,1	300
	47,1	300		24	300		27,6	300
	115,3	300		36,2	300		12,5	300
	95,7	300		12,4	300		126,2	300
	123,2	300		59,5	300		251,8	300
Ortalama	117,3714	299,8571	Ortalama	29,98571	299,7143	Ortalama	99,31429	299,8571
Standart Sapma	42,04116	0,377964	Standart Sapma	15,07972	0,755929	Standart Sapma	81,3858	0,377964

Şekil 10. Tüm grupların 1. ve 2. gün sonuçlarının değerlendirilmesi

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada Skopolamin 3 mg/kg, i.p, dozunda pasif sakınma testinde hafıza bozucu etki göstermiş ve bu etkiyi melatonerjik reseptör agonisti Agomelatin ve antioksidan olan Quercetin azaltmıştır.

Hafıza bozukluğu önemli bir sağlık sorunudur, çeşitli ilaçlarda en sık görülen yan etkilerden biridir. Amitriptilin ve klomipramin gibi trisiklik antidepresan ilaçlar, atenolol ve metoprolol gibi antihipertansiyon ilaçlar, atorvastatin ve lovastatin gibi kolesterol düşürücü ve darifenasin, solifenasin ve skopolamin gibi antikolinerjik ilaçlar hafıza değişiminin neden olduğu ileri sürülmektedir.

Bir antikolinerjik reseptör antagonisti olan skopolaminin de LTP'yi etkileyerek bellek bozukluğuna yol açtığı, uzun süreli güçlenme müdahalesiyle amnezi oluşturduğu ve çeşitli anti-amnesik ilaçların etkinliğini ayırt etmek için kullanıldığı bildirilmektedir. Saraf ve arkadaşlarının (Saraf ve ark., 2010) bellek bozukluğunda post-sinaptik moleküllerin rolünü araştırdığı bir çalışmada, skopolaminin protein kinaz C ve nitrik oksit sentazı (iNOS) belirgin ölçüde, kalmodulin aktivitesini hafif bir şekilde baskıladığı; protein kinaz A, siklik adenozin monofosfat (cAMP), mitojen-aktif protein (MAP) kinaz, pCREB ve CREB'i (cyclic AMP response element binding protein) ise etkilemediği gösterilmiştir. Skopolaminin ileriye dönük bellek bozukluğu etkisini protein kinaz C ve iNOS'u baskılama yoluyla oluşturduğu ileri sürülmüştür. (Saraf ve ark., 2008). Azami ve arkadaşları (Azami ve ark., 2010) ise fareler üzerinde yaptıkları bir çalışma sonucunda skopolaminin bellek bozucu etkisinin ortaya çıkmasında dorsal hipokampal CA1 bölgesindeki alfa-1 ve alfa-2 adrenerjik reseptörlerin önemli role sahip olduğunu saptamışlardır. Muskarinik bir reseptör antagonisti olan Scopolamine, demans hayvan modeli olarak öne sürülen bellek performansını bozmaktadır (Quartermain , Leo, 1988; Collerton, 1986).

Yapılan bir çalışmada dorsal hipokampus içerisine test öncesi ve sonrası uygulanan skopolaminin (1 ve 2 µg/rat) doza bağımlı bir şekilde pasif sakınma test latensini azalttığı ve amnestik yanıtlar oluşturduğu gösterilmiştir. İlâveten test sonrası uygulanan skopolaminin (2 µg/rat) oluşturduğu amnezi test öncesi uygulanan skopolamin tarafından tersine çevrildi (Azami ve ark., 2010). Buna ek olarak İsmail ve arkadaşları (2019) fare üzerinde yaptıkları çalışmada skopolaminin intraperitoneal olarak verildikten sonra, lokomotor aktiviteyi ve keşif davranışlarını etkilemeden

uzaysal ve uzaysal olmayan öğrenmeyi, hafızayı ve bilişsel fonksiyonu bozmuştur (Ismail ve ark., 2019). Bu nedenle biz de çalışmamızda skopolaminin hafıza bozucu yaptığı etkisini araştırmayı planladık ve çalışmamızda kolinerjik reseptör antagonisti skopolamin 3 mg/kg, i.p dozunda 2. gün pasif sakınma testinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını gösterdi ama fareler aydınlık bölümden karanlık bölüme geçtiği için hafıza bozucu etkisini gösterdi.

Frontal korteksteki dopaminerjik ve noradrenerjik mekanizmalar, hepsi depresif durumlarda derinlemesine sarsılan bilişsel ve dikkat çekici performansları, ruh hali ve motor davranışlarını modüle ettiği için, özellikle hafıza, dikkat ve problem çözme gibi gelişmiş nörobilişsel fonksiyonların iyileştirilmesi makul olabilir. Agomelatinin kronobiyotik özelliği, sirkadiyen bozulma ile çevrimiçi ve hafıza görevlerinde, çevrede saklanabileceği alanda, bozukluklar arasında bir bağlantı olabileceğinden, buradaki de önemli olabilir (Fekete ve ark., 1985; Devan ve ark., 2001; Craig, McDonald, 2008).

Yeni antidepresan ajan agomelatin, melatonin reseptörlerinde (MT₁ ve MT₂) bir agonist ve serotonin (5-HT) (2C) reseptörlerinde bir antagonist olarak davranmaktadır. Uyku süresinin iyileşmesine, sirkadiyen ritmin restorasyonuna, uyku fizyolojisinin (MT₁ reseptörü, REM uykusu ve MT₂ reseptörü, REM dışı uykunun) iyileştirilmesine ve ruh halindeki iyileşmeye yol açan SCN, hipokampus, ön korteks ve striatum üzerinde etkilidir (Bonakis ve ark., 2012; Quera Salva ve ark., 2007; Comai ve ark., 2013; Plesničar, 2014). Aslında agomelatinin hafıza kolaylaştırıcı etkileri, antidepresan etkilerine ek olarak deneysel olarak gösterilmiştir. Radyal arm maze testi kullanılarak yapılan çalışmalarda, agomelatinin kronik uygulamasının (10 mg/kg, i.p., 22 gün boyunca) predator stresli sıçandaki uzamsal hafıza bozulmasını tersine çevirdiğini göstermiştir. Agomelatin tedavisinin bu belirgin etkisi, hafıza güçlendirilmesinde yer aldığı bilinen nöral hücre yapışma molekülünün hipokampal seviyelerindeki bir artışla ilişkilendirildi (Conboy ve ark., 2009). Lapmanee ve ark.(2017) yaptıkları çalışmada morris water maze testi (MWM) ve elevated T-maze testinde (ETM), agomelatin, venlafaksin ve egzersizle tedavi edilen gruplar, araçla tedavi edilen sedanter gruba göre daha az kaçış gecikmesi göstermiştir; bu, ilaçların ve egzersizin, stres kaynaklı öğrenme ve hafıza bozulmasına karşı koruyucu etkileri olduğunu göstermektedir (Lapmanee ve ark., 2017). Agomelatin (25 mg), pozitif

duygusal hafızayı geliştirdi ve duyguları güçlendiren geri çekilme tepkisini modüle etti (Harmer ve ark., 2011). Düşük agomelatin dozlarında (1 mg / kg., i.p) ve elektroensefalogram kayıtları kullanılarak, SB 242.084' ün uyanıklık durumlarında etkilemeden sıçanın neokortikal aktivitesini arttırdığı ve ilacın hafızanın etkilerini kolaylaştırdığı ihtimalini arttırdığı bildirilmiştir. (Kantor ve ark., 2005). Daha özel olarak, PFC' deki dopaminerjik sistemin, kemirgenlerde, maymunlarda ve insanlarda, PFC'deki dopaminerjik aktivitedeki bir artış yoluyla tanıma hafızasında agomelatinin rolünü destekleyen bir rol oynadığı gösterilmiştir. (Brozoski ve ark., 1979; Bubser ve Schmidt, 1990; Mizoguchi ve ark., 2009; Takahashi ve ark., 2008), T-labirent sol-sağ mekansal ayrımcılık prosedüründe, akut bir agomelatin uygulamasının (10 mg / kg' a kadar), akşamları hafıza performansına sabahtan daha iyi bir kolaylaştırıcı etkisi olduğu gösterilmiştir (Jaffard ve arkadaşları, 1993).

Agomelatin, kemirgenlerde epizodik hafızayı değerlendirmek için iyi onaylanmış bir paradigma olan NOR testi ile ölçülen CSDS kaynaklı hafıza bozulmaları üzerinde kesin kesinti göstermiştir (Leger ve ark., 2013). Kronik agomelatin tedavisi, daha önce çeşitli bellek benzeri modellerde gösterildiği gibi, bu davranışta CSDS kaynaklı bilişsel işlev bozukluğunu tersine çevirdi. Gerçekten de agomelatinin, (Bertania ve ark., 2011; Ladurelle ve ark., 2012) sıçanlarda NOR görevinde hafızayı kolaylaştırıcı etkiler ürettiği veya öngörülemez hafif strese maruz bırakılan farelerde mnesik değişimi geliştirdiği gösterilmiştir (Gumuslu ve ark., 2014). Bazı çalışmalarda bir asetilkolinesteraz inhibitörünün sistemik olarak verilmesi de uykudaki rolünü destekleyerek, REM'in uykuda kalma sürelerinin artmasına ve fazık REM fenomeninin yoğunluğunun artmasına neden olmuştur (Jouvet, 1962; Grace ve Horner, 2015).

Bu çalışmalara dayanarak biz de agomelatinin skopolaminin hafıza bozucu etkisini geri çevirmesini düşünerek araştırdık ve bizim çalışmamızda melatonilerjik agonisti Agomelatin 75mg/kg, i.p, uygulandığında skopolamin'in hafıza bozucu etkisini geri çevirmesini göstermiştir.

Quercetin, toksik kinolin metabolizmasını katalize eden bir enzim (insan QR1 homologuyla birlikte) olan spesifik bir kinon redüktaz 2 (QR2) inhibitörüdür. Plasmodyumda QR2'nin inhibe edilmesi, potansiyel olarak öldürücü oksidatif strese neden olabilir. Quercetin gibi antioksidan ajanların oksidatif stresi azaltarak diyabet gibi kronik hastalıklar üzerinde yararlı etkilere sahip olduğu görülmüştür (Hollman, katan

1999; Skibola, smith 2000). Quercetin'in (50 mg / kg) kronik olarak uygulanmasının, sıçanlarda kronik stresin neden olduğu mekansal öğrenmeyi ve hafıza eksikliklerini önlediği bildirilmiştir (Mohammadi ve ark., 2014). Quercetin ayrıca oksidatif stres parametrelerini azaltarak hayvanlarda kolşisin kaynaklı bilişsel işlev bozukluğu ve intraserebral streptozotosin ile indüklenen hafıza bozukluğunda koruyucu etkiye sahiptir (Kumar ve ark., 2008; Tota ve ark., 2010). Ayrıca, Gingko biloba ve kırmızı şarap gibi quercetin bakımından zengin kompleks ekstraktların nöroprotektif etkisi birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu ekstraktların bilişsel işlev ve hafıza bozulmasında faydaları arttırdığı ve AD'nin önlenmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (Ono ve ark., 2003). Quercetin tedavisinin (14 gün boyunca 5 mg / kg i.p.), Morris su labirentinde iskemik sıçanların öğrenme performansını ve hafızasını arttırdığı tespit edilmiştir (Yao ve ark., 2010). Bitkilerde yaygın olarak bulunan bir biyoflavonoid olan Quercetin, güçlü bir anti-diyabetik, anti-oksidan, AChE inhibitörü ve bellek artırıcı olduğu rapor edilmiştir (Bhutada ve ark., 2010). Quercetin ROS' in sinaptik plastisite için gerekli olan fonksiyonel ve yapısal değişikliklerle ilgili küçük fizyolojik moleküller olarak işlev görebileceğini ve bellek işlemlerinin nöronların redoks durumuna bağlı olduğu gösterilmiştir (Massaad ve ark., 2011). Liu ve arkadaşları yaptıkları çalışmada quercetin'in d-galaktoz kaynaklı yaşlı farelerde keşif davranışını, mekansal öğrenmeyi ve hafızayı artırabildiğini bildirmiştir. Etkiler, beyin fonksiyonlarının artırılması ve kersetin tarafından oksidatif stresi önleme ile ilişkilidir ve GSH seviyesinin artırılması ve hipokampus ve serebral korteksin içindeki OH içeriğinin azaltılması ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Liu ve ark., 2006).

Pattanashetti ve ark.(2017) yaptıkları çalışmada quercetin, donepezil ve bunların kombinasyonu ile ön tedavi, Morris su labirentinin, pasif kaçınma testinin ve yükseltilmiş artı labirentin ilgili bilişsel modellerinde kaçış gecikme, adım gecikme ve düşük transfer gecikme sürelerinde önemli bir artış göstermiştir. Bununla beraber donepezilin sıçanlarda scopolamine bağlı amnezideki etkisini artırır ve histopatolojik çalışmalar, tedavi grubundaki nöronal hasarın, skopolaminle tedavi edilen kontrol grubuna kıyasla tersine döndüğünü ortaya koymuştur. Ayrıca birlikte uygulandığında, ilaçlar tek başına tedaviye kıyasla, AchE seviyesini, β amiloid 1-42 seviyesini önemli ölçüde azaltmıştır (Pattanashetti ve ark., 2017). Saraf ve ark., 2010 tarafından yapılan bir çalışmada skopolamin, cAMP, protein kinaz A, kalmodulin, MAP kinaz, nitrit, CREB

ve pCREB B monnierasını etkilemeden protein kinaz C ve iNOS'i regüle etmiştir, skopolamin kaynaklı amneziyi, kalmodülini önemli ölçüde iyileştirerek ve kısmen protein kinaz C ve pCREB'yi azaltarak tersine çevirmiştir.

Bizim çalışmamızda quercetin skopolaminin hafıza bozucu etkisini geri çevirmesini düşünerek araştırdık ve antioksidan quercetin 100 mg/kg, i.p, uygulandığında skopolamin'in hafıza bozucu etkisini geri çevirmesini göstermiştir.

Agomelatin ve quercetin, geliştirildikleri bilişsel belleğin, farelerin AchE seviyesinin etkisini azaltması, antioksidan etkilerden kaynaklanıyor olabilmektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Skopolamin pasif sakınma testinde hafıza bozucu etki gösterdi.
2. Agomelatin, Skopolaminin indüklediği hafıza bozucu etkisini pasif sakınma testinde geri çevirdi.
3. Quercetin, Skopolaminin indüklediği hafıza bozucu etkisini pasif sakınma testinde geri çevirdi.
4. Agomelatin ve quercetin geliştirildikleri bilişsel bellek, farelerin AchE seviyesini etkisini azaltarak ve antioksidan etkilerden kaynaklı olduğunu düşünülmektedir.
5. Mekanizmayı aydınlatılabilmek için hafıza oluşumu sırasında daha güçlü hale gelmesini sağlayan hücresel yolların rolü olan tüm sistemlerin araştırılması öncelikli çalışma alanımız olarak belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Albright TD, Kandel ER, Posner MI. Cognitive neuroscience. *Curr Opin Neurobiol.* 2000 Oct;10(5):612-24
- Ali T., Kim T., Rehman S.U., Khan M.S., Amin F.U., Khan M., Ikram M., Kim M.O. Natural dietary supplementation of anthocyanins via PI3K/Akt/Nrf2/HO-1 pathways mitigate oxidative stress, neurodegeneration, and memory impairment in a mouse model of Alzheimer's disease. *Mol. Neurobiol.* 2017:1–18. doi: 10.1007/s12035-017-0798-6.
- Annie George, Chee Perng Ng, Matthew O'Callaghan, Gitte S Jensen, and Hoi Jin Wong. In vitro and ex-vivo cellular antioxidant protection and cognitive enhancing effects of an extract of *Polygonum minus* Huds (Lineminus™) demonstrated in a Barnes Maze animal model for memory and learning, *BMC Complement Altern Med.* 2014; 14: 161. doi: 10.1186/1472-6882-14-161
- Azami NS, Piri M, Oryan S, Jahanshahi M, Babapour V, Zarrindast MR. Involvement of dorsal hippocampal alpha-adrenergic receptors in the effect of scopolamine on memory retrieval in inhibitory avoidance task. *Neurobiol Learn Mem* 2010; doi:10.1016/j.nlm.2010.01.003;93(4):455-62
- Bhutada P, Mundhada Y, Bansod K, Bhutada C, Tawari S, Dixit P, et al. Ameliorative effect of quercetin on memory dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neurobiology of Learning and Memory* 2010;94:293–302.
- Bonakis A, Economou NT, Papageorgiou SG, Vagiakis E, Nanas S, Paparrigopoulos T. J Clin, Agomelatine may improve REM sleep behavior disorder symptoms *Psychopharmacol.* 2012 Oct; 32(5):732-4.
- Brozoski TJ, Brown RM, Rosvold HE, Goldman PS. Cognitive deficit caused by regional depletion of dopamine in prefrontal cortex of rhesus monkey. *Science* 1979;205: 929–32.
- Bubser M, Schmidt WJ. 6-hydroxydopamine lesion of the rat prefrontal cortex increases locomotor activity, impairs acquisition of delayed alternation tasks, but does not affect uninterrupted tasks in the radial maze. *Behav Brain Res* 1990;37:157–68.
- Cahill-Smith S, Li JM. Oxidative stress, redox signalling and endothelial dysfunction in ageing-related neurodegenerative diseases: a role of NADPH oxidase 2. *Br J Clin Pharmacol.* 2014 Sep;78(3):441-53.

- Caulfield MP, Birdsall NJ. International Union of Pharmacology. XVII. Classification of muscarinic acetylcholine receptors. *Pharmacol Rev.* 1998 Jun;50(2):279-90.
- Cevik B, Solmaz V, Yigitturk G, Cavusoğlu T, Peker G, Erbas O. Neuroprotective effects of erythropoietin on Alzheimer's dementia model in rats *Adv Clin Exp Med.* 2017;26(1):23–29
- Comai S, Ochoa-Sanchez R, Gobbi G *Behav Brain Res.* Sleep-wake characterization of double MT₁/MT₂ receptor knockout mice and comparison with MT₁ and MT₂ receptor knockout mice. 2013 Apr 15; 243():231-8.
- Conboy L, Tanrikut C, Zoladz PR, Campbell AM, Park CR, Gabriel C et al. (2009). The antidepressant agomelatine blocks the adverse effects of stress on memory and enables spatial learning to rapidly increase neural cell adhesion molecule (NCAM) expression in the hippocampus of rats. *Int J Neuropsychopharmacol* 12: 329–341.
- Craig LA, McDonald RJ (2008). Chronic disruption of circadian rhythms impairs hippocampal memory in the rat. *Brain Res Bull* 76: 141–151.
- Dere E, Kart-Teke E, Huston JP, De Souza Silva MA. The case for episodic memory in animals. *Neurosci Biobehav Rev.* 2006;30(8):1206-24. Epub 2006 Oct 31
- De Flora S, Ferguson LR. Overview of mechanisms of cancer chemopreventive agents. *Mutat Res.* 2005 Dec 11;591(1-2):8-15. Epub 2005 Aug 16.
- Devan BD, Goad EH, Petri HL, Antoniadis EA, Hong NS, Ko CH et al. (2001). Circadian phase-shifted rats show normal acquisition but impaired long-term retention of place information in the water task. *Neurobiol Learn Mem* 75: 51–62.
- English JD, Sweatt JD. A requirement for the mitogen-activated protein kinase cascade in hippocampal long term potentiation. *J Biol Chem.* 1997 Aug 1;272(31):19103-6.
- Eser D, Bahai T.C. , Möller H-J, Agomelatine: The evidence for its place in the treatment of depression. *Core Evidence*, 2009;3:171-179.
- Fekete M, van Ree JM, Niesink RJ, de Wied D (1985). Disrupting circadian rhythms in rats induces retrograde amnesia. *Physiol Behav* 34: 883–887.
- Gasparini L, Racchi M, Binetti G, Trabucchi M, Solerte SB, Alkon D, Etcheberrigaray R, Gibson G, Blass J, Paoletti R, Govoni S. Peripheral markers in testing

- pathophysiological hypotheses and diagnosing Alzheimer's disease. *FASEB J.* 1998 Jan;12(1):17-34.
- Grace KP, Horner RL, Evaluating the Evidence Surrounding Pontine Cholinergic Involvement in REM Sleep Generation. *Front Neurol.* 2015; 6():190.
- Gumuslu, E. et al. The Antidepressant Agomelatine Improves Memory Deterioration and Upregulates CREB and BDNF Gene Expression Levels in Unpredictable Chronic Mild Stress (UCMS)-Exposed Mice. *Drug target insights* 8, 11–21 (2014).
- Harmer CJ, de Bodinat C, Dawson GR ve ark. (2011) Agomelatine facilitates positive versus negative affective processing in healthy volunteer models. *J Psychopharmacol*, 25:1159-1167.
- Hickie IB, Roberts NL (2011) Novel melatonin-based therapies: potential advances in the treatment of major depression. *Lancet*, 378:621-631.
- Hollman PC, KatanMB(1999) Health effects and bioavailability of dietary flavonols. *Free Radic Res* 31(Suppl):S75–S80
- Ismail O, Ishola IO, Mmesomachukwu O. Osele, Micah C. Chijioke, Olufunmilayo O. Adeyemi Isorhamnetin enhanced cortico-hippocampal learning and memory capability in mice with scopolamine-induced amnesia: Role of antioxidant defense, cholinergic and BDNF signaling *Brain Research* 1712 (2019) 188 196
- Jaffard R, Toumane A, Mocaër E. Facilitatory effects of S-20098 on learning and memory in mice depend on circadian rhythms. *Eur Neuropsychopharmacol* 1993;3:P5–27 (3 spec):449.
- Jin X, Germann AL, Shin DJ, Akk G, Steinbach JH. Determination of the residues in the extracellular domain of the nicotinic α subunit required for the actions of physostigmine on neuronal nicotinic receptors. 2017 Jun 19. pii: mol.117.108894. doi: 10.1124/mol.117.108894.
- JOUVET M, [Research on the neural structures and responsible mechanisms in different phases of physiological sleep]. *Arch Ital Biol.* 1962; 100():125-206.
- Kang J, Li Z, Wu T, Jensen GS, Schauss AG, Wu X. Antioxidant capacities of flavonoid compounds isolated from açai pulp (*Euterpeoleracea* Mart.) *Food Chem.* 2010;122:610–617. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.03.020

- Kantor S, Jakus R, Molnar E, Gyongyosi N, Toth A, Detari L, et al. Despite similar anxiolytic potential, the 5-hydroxytryptamine 2C receptor antagonist SB-242084 [6-chloro-5-methyl-1-[2-(2-methylpyrid-3-yloxy)-pyrid-5-ylcarbamoyl]indoline] and chlordiazepoxide produced differential effects on electroencephalogram power spectra. *JPET* 2005;315:921–30.
- Karabeg,MM., Grauthoff,S., Kollert,SY., Weidner,M., Heiming,RS., Jansen, F., Popp, S., Kaiser, S., Lesch, KP., Sachser, N., Schmitt, AG., Lewejohann,L.(2013).3,4,5-HTT Deficiency Affects Neuroplasticity and Increases Stress Sensitivity Resulting in Altered Spatial Learning Performance in the Morris Water Maze but Not in the Barnes Maze. *PLos One*,8(10)
- Kumar A, Sehgal N, Kumar P, Padi SS, Naidu PS (2008) Protective effect of quercetin against ICV colchicine-induced cognitive dysfunctions and oxidative damage in rats. *Phytother Res* 22:1563–1569
- Ladurelle, N. et al. Agomelatine (S20098) modulates the expression of cytoskeletal microtubular proteins, synaptic markers and BDNF in the rat hippocampus, amygdala and PFC. *Psychopharmacology* 221, 493–509 (2012.)
- Lapmanee S, Charoenphandhu J, Teerapornpuntakit J, Krishnamra N, Charoenphandhu N. Agomelatine, venlafaxine, and running exercise effectively prevent anxiety- and depression-like behaviors and memory impairment in restraint stressed rats.*PLoS One*. 2017 Nov 3;12(11):e0187671.
- Leger, M. et al. Object recognition test in mice. *Nat. Protoc.* 8, 2531–2537 (2013).
- Liu J, Yu H, Ning X. Effect of quercetin on chronic enhancement of spatial learning and memory of mice. *Science in China Series C, Life sciences/Chinese Academy of Sciences* 2006;49:583–90
- Liu P, Zou D, Yi L, Chen M, Gao Y, Zhou R, Zhang Q, Zhou Y, Zhu J, Chen K. and Mi M, Quercetin ameliorates hypobaric hypoxia-induced memory impairment through mitochondrial and neuron function adaptation via the PGC-1 α pathway. *Restor Neurol Neurosci.* 33(2):143-57. DOI: 10.3233/RNN-140446, 2015
- Maehara S, Arakawa K, Hoshida K, Nagasue H, Chida N, Nakao K, Furusako S. *Eur J Pharmacol.* 2017 Jun 3. pii: S0014 2999(17)30397-7. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.06.002.

- Manikandan S (2010) Agomelatine: a novel melatonergic antidepressant. *J Pharmacol Pharmacother*, 1:122-123.
- Massaad CA, Klann E. Reactive oxygen species in the regulation of synaptic plasticity and memory. *Antioxidants & Redox Signaling* 2011;14:2013–54.
- Messer WS Jr, Bohnett M, Stibbe J. Evidence for a preferential involvement of M1 muscarinic receptors in representational memory. *Neurosci Lett*. 1990 Aug 14;116(1-2):184-9.
- Millan M, Gobert A, Lejeune F, The novel melatonin agonist agomelatine (S20098) is an antagonist at 5-hydroxytryptamine_{2C} receptors, blockade of which enhances the activity of frontocortical dopaminergic and adrenergic pathways. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003;306:954-964.
- Mineur YS, Obayemi A, Wigstrand MB, et al. (2013) Cholinergic signaling in the hippocampus regulates social stress resilience and anxiety- and depression-like behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110(9):3573–3578.
- Miroddi M., Navarra M., Quattropani M.C., Calapai F., Gangemi S., Calapai G. Systematic review of clinical trials assessing pharmacological properties of *Salvia* species on memory, cognitive impairment and Alzheimer's disease. *CNS Neurosci. Ther.* 2014;20:485–495. doi: 10.1111/cns.12270.
- Mizoguchi K, Shoji H, Tanaka Y, Maruyama W, Tabira T. Age-related spatial working memory impairment is caused by prefrontal cortical dopaminergic dysfunction in rats. *Neuroscience* 2009;162:1192–201.
- Mohammadi HS, Goudarzi I, Lashkarbolouki T, Abrari K, Elahdadi Salmani M (2014) Chronic administration of quercetin prevent spatial learning and memory deficits provoked by chronic stress in rats. *Behav Brain Res* 270:196–205
- Morgane PJ, Galler JR, Mokler DJ. A review of systems and networks of the limbic forebrain/limbic midbrain. *Prog Neurobiol*. 2005 Feb;75(2):143-60.
- Morley-Fletcher S, Mairesse J, Soumier A et al. (2011) Chronic agomelatine treatment corrects behavioral, cellular, and biochemical abnormalities induced by prenatal stress in rats. *Psychopharmacology*, 217:301-313.
- Mutlu O, Ulak G, Belzung C. Effects of nitric oxide synthase inhibitors 1-(2-trifluoromethylphenyl)-imidazole (TRIM) and 7-nitroimidazole (7-NI) on

- learning and memory in mice. *Fundam Clin Pharmacol*. 2011 Jun;25(3):368-77. doi: 10.1111/j.1472-8206.2010.00851.x.
- Nathanson NM (2001) Muscarinic acetylcholine receptors. *Encyclopedia of Life Sci*. 1-6, doi: 10.1038/npg.els.0000193.
- Norman TR, Cranston I, Irons JA ve ark. (2012) Agomelatine supresses locomotor hyperactivity in olfactory bulbectomised rats: A comparison to melatonin and to the 5-HT_{2C} antagonist, S32006. *Eur J Pharmacol*, 674:27-32.
- Ono K, Yashiike Y, Takashima A, Hasagawa K, Naiki H, Yamada M. 2003. Potent anti-amyloidogenic and fibril-destabilising effects of polyphenols in vitro: implications for the prevention and therapeutics of Alzheimer's disease. *J Neurochem* 87: 172–181.
- Paizanis E, Renoir T, Lelievre T ve ark. (2010) Behavioral and neuroplastic effects of the new -generation antidepressant agomelatine compared to fluoxetine in glucocorticoid receptorimpaired mice. *Int J Neuropsychopharmacol*, 13:759-774.
- Pattanashetti LA, Taranalli AD, Parvatrao V, Malabade RH, Kumar D. Evaluation of neuroprotective effect of quercetin with donepezil in scopolamine-induced amnesia in rats. *Indian J Pharmacol*. 2017 Jan-Feb;49(1):60-64.
- Pittenger C, Kandel ER. In search of general mechanisms for long-lasting plasticity: Aplysia and the hippocampus. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2003 Apr 29;358(1432):757-63.
- Plesničar BK, Efficacy and tolerability of agomelatine in the treatment of depression. *Patient Prefer Adherence*. 2014; 8():603-12.
- Quartermain, D., & Leo, P. (1988). Alleviation of scopolamine amnesia by different retrieval enhancing treatments. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 30, 1093–1096. Collerton, D. (1986). Cholinergic function and intellectual decline in Alzheimer's disease. *Neuroscience*, 19, 1–28.
- Quera Salva MA, Vanier B, Laredo J, Hartley S, Chapotot F, Moulin C, Lofaso F, Major depressive disorder, sleep EEG and agomelatine: an open-label study. Guilleminault C *Int J Neuropsychopharmacol*. 2007 Oct; 10(5):691-6.
- Racagni G, Riva MA, Molteni R ve ark. (2011) Mode of action of agomelatine: synergy between melatonergic and 5-HT_{2C} receptors. *World J Biol Psychiatry*, 12:574-587.

- Rao V, Prabhakar T, Naveen C.h.R. Clinical and pharmacological review on novel melatonergic antidepressant: Agomelatine. *Res J Pharm Biol Chem Sci*, 2010;1:446-450.
- Samad N, Saleem A, Yasmin F, Shezhad M.A, Quercetin protects against stress-induced anxiety- and depression-like behavior and improves memory in male mice. *Physiol Res*. 2018;Jul 25.
- Sanger DJ. Animal models of anxiety and the screening and development of novel anxiolytic drugs. In: Boulton AA, Baker GB, Martin-Iverson MT. *Neuromethods: Animal models in Psychiatry II*, New Jersey 1991; pp 150-186.
- Sansone R.A, Sansone L.A, 2011. Agomelatine: A novel antidepressant. *Innov Clin Neurosci*, 2011;8:10-14.
- Saraf MK, Anand A, Prabhakar S. Scopolamine induced amnesia is reversed by Bacopa monniera through participation of kinase-CREB pathway. *Neurochem Res* 2010; 35:279-287.
- Saraf MK, Prabhakar S, Pandhi P, Anand A. Bacopa monniera ameliorates amnesic effects of diazepam qualifying behavioral-molecular partitioning. *Neuroscience* 2008; 155:476-484.
- Skibola CF, Smith MT (2000) Potential health impacts of excessive flavonoid intake. *Free Radic Biol Med* 29:375–383
- Spencer JPE. The impact of flavonoids on memory, physiological and molecular considerations. *Chem Soc Rev*. 2009;38:1152–1161. doi: 10.1039/b800422f.
- Stahl SM (2007) Novel mechanism of antidepressant action: norepinephrine and dopamine disinhibition (NDDI) plus melatonergic agonism. *Int J Neuropharmacol*, 10:575-578.
- Takahashi H, Kato M, Takano H, Arakawa R, Okamura M, Otsuka T, et al. Differential contributions of prefrontal and hippocampal dopamine D1 and D2 receptors in human cognitive functions. *J Neurosci* 2008;28:12032–8.
- Tinant B, Declercq J, Pupaert J-H., 1994. N-[2-(7Methoxy-1-naphthyl)ethyl]acetamide, a potent melatonin analog. *Acta Cryst*, C50:907-910.
- Tota S, Awasthi H, Kamat PK, Nath C, Hanif K (2010) Protective effect of quercetin against intracerebral streptozotocin induced reduction in cerebral blood flow and impairment of memory in mice. *Behav Brain Res* 209:73–79

- Uzbay, IT, A New Approach to Etiopathogenesis of Depression - Neuroplasticity. New York, Nova Science Publishers, Inc.2011
- Uzbay, IT, Tianeptine: potential influences on neuroplasticity and novel pharmacological effects. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2008;32:915-924.
- Van, Kaiser B.Regulation of muscarinic acetylcholine receptor signaling. Pharmacol Ther. 2003 May;98(2):197-220.
- Waxman A, Chugani H, Seibyl J.Medical imaging in neurological disorders. J Am Pharm Assoc (Wash). 2002 Sep-Oct;42(5 Suppl 1):S48-9.
- Yao Y, Han DD, Zhang T, Yang Z. Quercetin improves cognitive deficits in rats with chronic cerebral ischemia and inhibits voltage-dependent sodium channels in hippocampal CA1 pyramidal neurons. Phytotherapy Research: PTR 2010;24:136–40.
- Yu G and Sharp BM (2015) Basolateral amygdala and ventral hippocampus in stress-induced amplification of nicotine self administration during reacquisition in rat. Psychopharmacology (Berl) 232:2741–2749.

EKLER

EK-1



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 68489742-604-E.2000
Konu : Hadyek İzin Onayı Hk.

24/01/2019

DR. OSMAN KUKULA
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ

Laboratuvar Hayvanlar üzerinde Araştırma amaçlı çalışma yapmak üzere başvuran Dr.Öğr.Üyesi Osman KUKULA 'in 2018/48 Kabul nolu **Skopolaminin hafıza bozucu etkisinde agomelatin ve quercetin rolü** başlıklı projesi 21.12.2018 tarihli Kurul toplantısında OMU- HADYEK 'in yönergesi kapsamında değerlendirilmiş ve Hayvan Hakları ve Deney Etik İlkelerine Uygun bulunmuştur. Karar onayı ekte sunulmuştur.

Gereğini bilgilerinize rica ederim

e-imzalıdır

Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ
HADYEK

Ek: ETİK KURUL KARARI 2018-48 Dr.Osman KUKULA

Adres: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü
Telefon: 0362 312 19 19 Faks: 0362 457 60 91
Elektronik Ağ: <http://www.omu.edu.tr/>

Kep Adresi: omu@hs01.kep.tr

Ali ÖZTÜRK
ali.ozturk@omu.edu.tr
Dahili Tel: 2782

5070 sayılı Elektronik İmza Kanunu'na uygun olarak Güvenli Elektronik İmza ile üretilmiştir.
Evrak teyidi <https://ebysorgu.omu.edu.tr> adresinden 02HV-5OZA-013P kodu ile yapılabilir.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Ali Hossein ZADEH

Doğum Yeri: İran

Doğum Tarihi: 06.08.1979

Medeni Hali: Bekar

Bildiği Yabancı Diller: Farsça, Azerice, İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Eczacılık Fakültesi	Baku Neriman Nerimanof	2015
Yüksek Lisans	Tıbbi Farmakoloji	Ondokuz Mayıs Üniversitesi	2019

E-posta: Ali.Hosseinzadeh7979@gmail.com