

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TAU AGREGASYON İNHİBİTÖRÜ ‘METİLEN MAVİSİ’NİN
ÖĞRENME VE HAFIZA ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Nurbanu YILDIZ**

**Danışman
Prof. Dr. Nurcan DURSUN**

Yükseklisans Tezi

**Aralık 2019
KAYSERİ**

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TAU AGREGASYON İNHİBİTÖRÜ ‘METİLEN MAVİSİ’NİN
ÖĞRENME VE HAFIZA ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

(Yüksek Lisans Tezi)

**Hazırlayan
Nurbanu YILDIZ**

**Danışman
Prof. Dr. Nurcan DURSUN**

**Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TYL-2018-8661 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Aralık 2019
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, tüm bilgilerin akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda akademik ve etik kuralların gerektirdiği gibi tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve kaynaklar listesinde gösterdiğimi belirtirim.

Adı- Soyadı: Nurbanu YILDIZ

İmza:

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Tau Agregasyon İnhibitörü ‘Metilen Mavisi’nin Öğrenme ve Hafıza Üzerine Etkilerinin Araştırılması” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Nurbanu YILDIZ

İmza

Danışman

Prof. Dr. Nurcan DURSUN

İmza

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Nurcan DURSUN

Prof. Dr. Nurcan DURSUN danışmanlığında **Nurbanu YILDIZ** tarafından hazırlanan “**Tau Agregasyon İnhibitörü ‘Metilen Mavisi’nin Öğrenme ve Hafıza Üzerine Etkilerinin Araştırılması**” isimli bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Fizyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

.../.../2019

JÜRİ

Danışman : Prof. Dr. Nurcan DURSUN

(Erciyes Üniversitesi Fizyoloji AD)

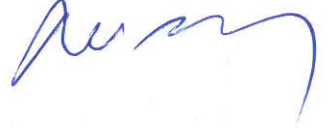
Üye : Prof. Dr. Cem SÜER

(Erciyes Üniversitesi Fizyoloji AD)

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ercan BABUR

(Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fizyoloji AD)

İMZA



ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih vesayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../2019

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca bilgi, deneyim ve desteğini esirgemeyen, çok değerli hocam, danışmanım Sayın Prof. Dr. Nurcan DURSUN'a,

Tezimin proje aşamasından yazımına kadar birlikte çalışmaktan onur ve mutluluk duyduğum, sevgi, hoşgörü, sabır ve emeğini esirgemeyen, çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Cem SÜER'e,

Yardımlarını ve desteklerini her zaman hissettiğim çalışma arkadaşlarım Özlem BARUTÇU'ya, Marwa Yousef WAEL'e, Burak TAN'a ve tüm asistan arkadaşlarıma,

Tez projemin gerçekleştirilmesinde katkıları bulunan Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP)'ne,

Eğitimim süresince maddi, manevi desteği ve göstermiş olduğu sabır ve sevgiyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan canım eşim Mehmet YILDIZ'a,

Bütün hayatım boyunca bana sonsuz destek olan babam Lut DEMİRCAN'a, annem Türkan DEMİRCAN'a, kardeşlerim Şule DEMİRCAN ve Kübra DEMİRCAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Nurbanu YILDIZ

TAU AGREGASYON İNHİBİTÖRÜ ‘METİLEN MAVİSİ’NİN ÖĞRENME VE HAFIZA ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Fizyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi Aralık 2019

Danışman

Prof. Dr. Nurcan DURSUN

ÖZET

Amaç: Siklik guanozin monofosfat'ın (cGMP), öğrenme ve hafıza süreçlerinin temelinde yer alan Uzun Dönemli Güçlenme (UDG) ve Uzun Dönemli Baskılanma (UDB) mekanizmalarında rol aldığı netleşmiştir. Mikrotübül stabilize eden protein Tau'nun, sinaptik fonksiyon ve plastisite modülasyonuna katıldığını gösteren çalışmalar vardır. Bununla birlikte, UDG ve UDB ile ilgili Tau fosforilasyonunda cGMP'nin rolü henüz belirlenmemiştir. Çalışmamızda bir guanilat siklaz (GC) inhibitörü olan Metilen Mavisi'nin (MM), sinaptik plastisite ile ilişkili Tau fosforilasyonunu değiştirip değiştirmediği araştırılmıştır.

Yöntem ve Gereçler: Çalışmada 40 adet Wistar albino genç erkek sıçan kullanıldı. Anestezi altında stereotaksik çatıya yerleştirilen sıçanlara perforant yoldan uyarı verilirken, dentat giristan (DG) hücre dışı alan potansiyelleri olan eksitatör postsinaptik potansiyel (EPSP) ve popülasyon spike (PS) kaydedildi. UDG'yi indüklemek için güçlü bir tetanik stimülasyon (100 Hz/sn×4 tekrar) kullanılırken, UDB için düşük frekanslı stimülasyon (1 Hz-15 dk) uygulandı. İndüksiyon protokollerinin uygulanması esnasında DG'ya 1 saat boyunca serum fizyolojik (SF) veya MM (50 µM) infüzyonu yapıldı. Kaydın son 5 dakikasındaki EPSP eğimlerinin ve PS genliklerinin ortalamaları, UDG veya UDB'nin büyüklüğünün bir ölçüsü olarak kullanıldı. İndüksiyondan 1 saat sonra çıkartılan hipokampus dokusunda, Tau proteininin 4 farklı epitopunun (thr²³¹, thr¹⁸¹, ser³⁹⁶, ser⁴¹⁶) fosforillenmiş formları Western-blot yöntemi ile ölçüldü.

Bulgular: Deney sonuçları, MM'nin perforan yol–dentat girus sinapslarında, UDB indüksiyonunu arttırırken, UDG'nin indüksiyonu üzerinde hiçbir etkisi olmadığını gösterdi. MM'nin UDB protokolünde var olan EPSP/PS disosiasyonunu önlediği gözlemlendi. MM infüze edilen sıçanlarda UDG ilişkili Tau fosforilasyonu değişmedi.

UDB indüksiyonu, Tau'nun thr¹⁸¹ ve thr²³¹ epitoplarında fosforilasyon oluşturmazken, ser³⁹⁶ ve ser⁴¹⁶ epitoplarında artmış fosforilasyon ile sonuçlandı.

Sonuç: Elde edilen veriler, MM infüzyonunun, UDB cevabını arttırması ve UDB ile ilişkili Tau epitoplarında fosforilasyonu değiştirmesi nedeniyle, cGMP düzeylerinin öğrenme-hafıza oluşumunda önemli rolü olduğunu gösterir. MM, UDG-UDB arasındaki dengenin stabilizasyonunda ve Alzheimer hastalığında görülen Tau fosforilasyonunun dereğülasyonunda etkin olmasına rağmen, bu hastalıkta MM kullanımında daha kesin kanıtlar ortaya çıkarmak için ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Hipokampus, Metilen Mavisi, Sinaptik Plastisite, Tau

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF TAU AGGREGATION INHIBITOR METHYLENE BLUE ON LEARNING AND MEMORY

Erciyes University Institute of Health Sciences Department of

Physiology Master Thesis December 2019

Counselor Professor Dr. Nurcan DURSUN

ABSTRACT

Propose: It has become clear that cGMP is involved in neuronal signal transduction and mechanism of the long-term potentiation (LTP) and long-term depression (LTD) suggesting its participation in learning and memory processes. There are studies showing that the microtubule-stabilizing protein Tau is involved in modulation of synaptic function and plasticity. However, the exact role of cGMP in LTP- and LTD-related tau phosphorylation has not been yet clearly established. To address this issue, we sought to determine whether the administration of methylene blue (MB), an inhibitor of guanylate cyclase (GC), alters the relationship between synaptic plasticity and related tau phosphorylation.

Methods: A total of 40 young, male Wistar albino rats were enrolled in the study. Extracellular field potentials were recorded from the dentate gyrus, stimulating perforant pathways as excitatory postsynaptic potential (EPSP) slope and population spike (PS) in anesthetized rats placed stereotaxic roof. To induce LTP, a strong tetanic stimulation (100 Hz/second×4 time) was used, while, for LTD, low-frequency stimulation (1 Hz-15 min) was applied. Infusions of saline or MB (50 µM) were made for 1 hour starting from the application of induction protocols. The averages of EPSP slopes and PS amplitudes in the last 5 minutes of recording were used as a measure of the size of the LTD or LTP. Phosphorylated tau levels (thr²³¹, thr¹⁸¹, ser³⁹⁶, ser⁴¹⁶) were measured in the hippocampus at least 60 min after induction protocols by Western-blot method.

Results: The results of the experiment showed that MB had no effect on the induction of LTP, while increasing the induction of LTD at perforant pathway–dentate gyrus synapses. Methylene blue was observed to prevent EPSP/PS dissociation existing in the LTD protocol. LTP-associated tau phosphorylation was unchanged in MB infused rats.

LTD induction did not alter phosphorylation in the thr¹⁸¹ and thr²³¹ epitopes of Tau, but resulted in increased tau phosphorylation at ser³⁹⁶ and ser⁴¹⁶ epitopes.

Conclusion: The data obtained indicates that cGMP levels have an important role in learning-memory formation, as MB infusion increases LTD response and alters phosphorylation in LTD-associated tau epitopes. Although MB is effective in stabilizing the balance between LTP-LTD and deregulation of Tau phosphorylation seen in Alzheimer's disease, detailed studies are needed to uncover more conclusive evidence in the use of MB in this disease.

Key words: Hippocampus, Methylene Blue, Synaptic Plasticity, Tau



İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	ii
ONAY	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR ve SİMGELER.....	xii
TABLolar LİSTESİ.....	xv
ŞEKİLLER LİSTESİ	xvi
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Öğrenme ve Bellek	3
2.1.1 Öğrenme.....	4
2.1.2 Bellek.....	5
2.1.3 Öğrenme ve Bellekte Beyinin Özgöl Bölgeleri	6
2.2 Belleğin Sınıflandırılması	7
2.2.1 Kısa süreli bellek	7
2.2.2 Orta süreli bellek	7
2.2.3 Uzun süreli bellek.....	7
2.3 Hipokampus.....	8
2.3.1 Hipokampus Anatomisi	8
2.3.2 Hipokampal Yollar ve Bağlantılar	10
2.3.3 Hipokampus Fizyolojisi.....	11
2.3.4 Hipokampus Fonksiyonu	12

2.3.5 Hipokampal Lezyonlar	14
2.4 Sinaptik Plastisite	14
2.4.1 Uzun Dönemli Güçlenme	16
2.4.2 Uzun Dönemli Baskılanma	19
2.5 Tau Proteini	20
2.5.1 Tau'nun Yapısı ve Fonksiyonu	20
2.5.2 Tau Mikrotübül ilişkisi	22
2.5.3 Tau'nun nöronlarda lokalizasyonu	24
2.5.4 Tau'nun Translasyon Sonrası Modifikasyonları	24
2.5.5 Tau agregasyonu	27
2.5.6 Taupatiler	28
2.5.7 Tau Agregasyon İnhibitörleri	31
2.5.7.1 Hiperfosforilasyon İnhibitörleri	31
2.5.7.2 Doğrudan agregasyon inhibitörleri	31
2.6 Tau Agregasyon İnhibitörü: Metilen Mavisi	32
2.6.1 Metilen Mavisi'nin Tarihçesi	32
2.6.2 Fizyokimyasal Özellikleri	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM	38
3.1 Deney Hayvanlarının Temini	38
3.2 Araştırmanın Türü	38
3.3 Hayvanların Gruplandırılması	38
3.4 Elektronörofizyolojik Kayıtların Alınması	40
3.4.1 Uyarı ve Kayıt	39
3.4.2 Tipik Elektriksel Yanıtın Elde Edilmesi	40
3.4.3 Lokal Alan Potansiyeli ve Sinaptik / Somatik Bileşenleri	41
3.4.4 Veri Kazanımı ve Uyarım	42

3.4.5 Girdi-Çıktı Eğrileri “Input/output(i/o) curve”	43
3.5 Veri Analizi ve İstatistik	44
3.6 Western Blot Yöntemi ile Protein Analizi	45
4.BULGULAR	47
4.1.Uzun Dönemli Güçlenme Deneyleri.....	47
4.1.1.Uzun Dönemli Güçlenme Öncesi Giriş/Çıkış Eğrileri	47
4.1.2. EPSP Eğimi ve PS Genliklerinde Uzun Dönemli Güçlenme	48
4.1.3.Uzun Dönemli Güçlenme İlişkili Tau Anlatımı ve Fosforilasyonu	50
4.2.Uzun Dönemli Baskılanma Deneyleri	51
4.2.1.Uzun Dönemli Baskılanma Öncesi Giriş/Çıkış Eğrileri.....	51
4.2.2.EPSP Eğimi ve PS Genliklerinde Uzun Dönemli Baskılanma	53
4.2.3.Uzun Dönemli Baskılanma İlişkili Tau Anlatımı ve Fosforilasyonu	55
5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	57
6.KAYNAKÇA	61
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR ve SİMGELER

5-HT	Serotonin
AChE	Asetilkolinesteraz enzimi
ACTH	Adrenokortikotropik hormon
AgH	Argyrophilic grain hastalığı
AH	Alzheimer hastalığı
AMPA	α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoxazolepropionate
AMPA	AMPA reseptörleri
ATP	Adenozin trifosfat
A β	Amiloid β
BDNF	Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
BuChE	Butirilkolinesteraz enzimi
CA	Cornu Ammonis
Ca ⁺⁺	kalsiyum
CaMKII	Kalmodulin bağımlı protein kinaz II
cAMP	Siklik adenozin trifosfat
CDK5	Siklin bağımlı kinaz 5
cGMP	Siklik guanozin mono fosfat
CK1	Kazein kinaz 1
CREB-1	cAMP yanıt elementi bağlayan protein 1
CRF	Kortikotropin salgılatıcı hormon
DFU	Düşük frekanslı uyarım
DNA	Deoksiribonükleik asit
DYRK1A	iki özgülüklü tirozin-fosforilasyon ile ilişkili kinaz 1A
EPSC	Eksitator postsinaptik akım
EPSP	Eksitator postsinaptik potansiyel

FXS	Fragile-X Sendrom
G/Ç	Giriş/Çıkış
GABA	Gama-amino bütirik asit
GC	Guanilat siklaz
GluR1	Glutamat reseptör 1
GSK-3	Glikojen sentaz kinaz-3
GSK3β	Glikojen sentaz kinaz-3β
IP3	İnositol trifosfat
IPSP	İnhibitör postsinaptik potansiyel
mA	Miliamper
MAP	Mikrotübüle bağlı protein
MAP1B	Mikrotübüle bağlı protein 1 B
MAPK	Mitojenle aktive olan protein kinaz
Mg ⁺⁺	Magnezyum
mGluR	Metabotropik glutamat reseptörleri
MM	Metilen Mavisi
MP	Metaplastisite
mRNA	Mesajcı ribonükleik asit
ms	Milisaniye
Na ⁺⁺	Sodyum
NFY	Nörofibriller yumaklar
NMDA	N-metil D-aspartat
NMDAR	NMDA reseptörleri
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
PDE	Fosfodiesteraz

PHF	Çift sarmallı filament
PKA	Protein kinaz A
PKC	Protein kinaz C
PKG	Protein kinaz G
PP	Fosfataz
PP1	Fosfataz 1
PP2A	Fosfataz 2A
PP2B	Kalsineurin
PP5	Fosfataz 5
PS	Populasyon spike
PSP	Progresif supranükleer palsi
Ser	Serin
SF	Serum Fizyolojik
SP	Senil plak
Thr	Treonin
TrkB	Tirozin ilişkili kinaz B
Tyr	Tirozin
UDB	Uzun dönemli baskılanma
UDG	Uzun dönemli güçlenme
V	Voltaj
YFU	Yüksek frekanslı uyarım
Zn ⁺⁺	Çinko

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 4.1. Uzun Dönemli Güçlenmenin indüksiyonundan önce elde edilen EPSP eğimi ve PS genlik değerleri.	48
Tablo 4.2. EPSP eğimlerinin ve PS genliklerinin 15 ila 20nci dakikalar ve 70 ile 75 dakikalar arasında ölçülen değerleri ve bozulma oranı.....	50
Tablo 4.3. Uzun Dönemli Baskılanmanın indüksiyonundan önce elde edilen EPSP eğimi ve PS genlik değerleri.....	52
Tablo 4.4. EPSP eğimlerinin ve PS genliklerinin 15 ila 20nci dakikalar ve 70 ile 75 dakikalar arasında ölçülen değerleri ve korunma oranı.	55



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Öğrenme ve Belleğin şematik gösterimi	3
Şekil 2.2. Hipokampus anatomisi.....	9
Şekil 2.3. Hipokampusun histolojik katmanları	10
Şekil 2.4. Entorhinal korteks, dentat girus, CA3 ve CA1 arasındaki bağlantıları içeren trisinaptik devre (Kaptan ve Üzümlü, 2016).	11
Şekil 2.5. A.NMDA ve AMPA reseptörleri B.Glutamatın AMPA reseptörlerine bağlanması ile Na^{++} 'nın hücre içine akışı ve hücre depolarizasyonu C.hücre depolarizasyonu ile NMDA reseptörlerinin aktivasyonu ve hücre içine Ca^{++} akışı.....	17
Şekil 2.6. Tau proteini geninin yapısı.....	21
Şekil 2.7. Farklı Tau proteini izoformları	21
Şekil 2.8. Tau protein-tubulin arasındaki iyonik ilişki	23
Şekil 2.9. Tau proteininin anterograd ve retrograd iletim üzerindeki rolü	23
Şekil 2.10. Tau protein agregasyonunun şematik gösterimi	27
Şekil 2.11. Taupatilerde görülen farklı Tau agregasyonları.....	30
Şekil 2.12. Metilen Mavisi'nin kimyasal formülü ve görünümü	33
Şekil 3.1. Deney gruplarının şeması.....	39
Şekil 3.2. Elektrofizyolojik kayıtlama için stereotaksik çatıya sabitlenmiş sıçanın görüntüsü.....	40
Şekil 3.3. Örnek bir deneyde elde edilen tipik bir elektriksel aktivite kaydı.....	42
Şekil 3.4. Uzun dönemli güçlenme indüksiyon protokolü şeması	43
Şekil 3.5. Uzun dönemli baskılanma indüksiyon protokolü şeması.....	44
Şekil 4.1. Uzun Dönemli Güçlenmenin indüksiyonundan önce elde edilen EPSP eğimi ve PS genliklerinin artan uyarı şiddetine karşı değişimi. Her bir deneyde, EPSP eğimi ve PS genliği ardıl verilen aynı şiddetteki 3 uyarının ortalaması alınarak elde edilmiştir.	47
Şekil 4.2. Metilen Mavisi'nin, YFU'nun indüklediği uzun dönemli güçlenmeye etkisi.	49
Şekil 4.3. Metilen Mavisi'nin UDG-ilişkili Tau fosforilasyonuna etkisi.	51

- Şekil 4.4.** Uzun Dönemli Baskılanmanın indüksiyonundan önce elde edilen EPSP eğimi ve PS genliklerinin artan uyarı şiddetine karşı değişimi. Her bir deneyde, EPSP eğimi ve PS genliği ardıl verilen aynı şiddetteki 3 uyarının ortalaması alınarak elde edilmiştir. 52
- Şekil 4.5** Metilen Mavisi'nin, DFU'nun indüklediği uzun süreli baskılanma üzerine etkisi. EPSP eğimi ve PS genliğinin düşük frekanslı uyarım protokolü (1 Hz, 900 atım; 0-15nci dakikalar arası) öncesi ve sonrasındaki zamansal değişimi, sırasıyla A ve B'de görülmektedir. 54
- Şekil 4.6** Metilen Mavisi'nin UDB-ilişkili Tau fosforilasyonuna etkisi. 56



1.GİRİŞ VE AMAÇ

Öğrenme ve bellek oluşumunun temelinde yatan hücrel mekanizma sinaptik plastisite olarak adlandırılır. Memeli beyninin en önemli ve büyüleyici özelliklerinden olan sinaptik plastisite, sinaptik iletimin gücünün veya etkinliğinin aktiviteye bağlı modifikasyonunu ifade eder. Uzun dönemli güçlenme (UDG) ve uzun dönemli baskılanma (UDB) sinaptik plastisitenin çalışılan en yaygın formlarıdır. Bu fenomenler sinaptik plastisitenin elektrofizyolojik göstergeleridir ve deneysel olarak tekrarlayan presinaptik uyarılarla indüklenir. Bilgi depolamada ve anıların kodlanmasında rol alan UDG sinapsların kuvvetinde kalıcı bir artış ile karakterizedir. Sinaptik plastisitenin diğer formu (UDB), UDG için bir silme mekanizmasını temsil eder. UDG ve UDB'nin ifadesi α -amino-3-hidroksi 5-metil-4-izoksazolepropionik asit (AMPA) reseptör fosforilasyonu ve defosforilasyonu ile ilişkilidir.

Yapılan çalışmalar, mikrotübül stabilize eden protein Tau'nun, sinaptik fonksiyon ve plastisitenin modülasyonunda rolü olduğuna dair deliller ortaya koymuştur (Chen ve ark., 2012; Kimura ve ark., 2014). Örneğin, birçok çalışmada Tau protein üretiminin engellendiği farelerin, normal hipokampal UDG gösterdiği ancak anormal UDB sergilediği bildirilmiştir (Roberson ve ark., 2011; Shipton ve ark., 2011; Regan ve ark., 2015). Yakın zamanda anabilim dalımızda yapılan bir çalışmada, UDG depotansiye edildiğinde, Tau ser416 epitopunun hiperfosforile, thr231 epitopunun hipofosforile olduğu gösterilmiştir (Babür ve ark., 2018). Tau fosforile edildikten sonra, sinaptik plastisiteye katkıda bulunan proteinler ile birlikte aksondan dendritlere ve spinlere taşınır (Roberson ve ark., 2011; Shipton ve ark., 2011). Bununla birlikte, sinaptik plastisitenin indüksiyonu sırasında aktive olan serin/treonin kinazlar, aynı zamanda Tau'yu fosforilleyerek toksik bir molekül haline getiren kinazlardır (Franses ve ark., 2014; Kobayashi ve ark., 2017). Hipokampal nöronlarda bulunan AMPA ve N-

metil D-aspartat (NMDA) reseptör aracılı glutamaterjik aktivasyonunun, Alzheimer hastalığının başlıca nedeni olan nörofibriller yumakların oluşumunda rol aldığı düşünülmektedir (Braak ve ark., 1994; Gotz ve ark., 1995). Önemli olan şudur ki; Tau'nun hiperfosforilasyonu, Tau fibrilasyonundan ve nörofibriller lezyonların ortaya çıkmasından önce meydana gelir (Gotz ve ark., 1995).

Beyindeki önemli bir ikincil haberci olan cGMP, UDG ve UDB gibi öğrenme ve bellek süreçlerine katılır. Pek çok fizyolojik fonksiyona aracılık eder. Bu fonksiyonlar çeşitli protein kinazların ve iyon kanallarının aktivasyonunun düzenlenmesidir (Wang ve Robinson, 1997; Thompson, 1997; Lucas ve ark., 2000). Ayrıca cGMP, protein kinaz G (PKG) aracılığı ile nükleer faktör kappaB (NFkB) ve aktivatör protein 1 (AP1) transkripsiyonel faktörlerini regüle ederek öğrenme ve bellek ile ilgili gen ekspresyonunu etkileyebilir (Hoby ve ark., 1994). cGMP, GC'nin iki izoformu ile sentezlenir ve birkaç fosfodiesteraz tarafından hidrolize edilir. Sentez ve yıkım arasındaki denge, farklı fizyolojik ve patolojik koşullarla düzenlenebilir. Önemli olarak, çözünür GC düzeyindeki değişiklikler yaşa bağlı bilişsel defisitlere ve Alzheimer hastalığına (AH) neden olan önemli bir faktör olabilir (Barger ve ark., 1995; Chalimoniuk ve Strosznajder, 1998; Fiscus, 2002; Puzzo ve ark., 2005).

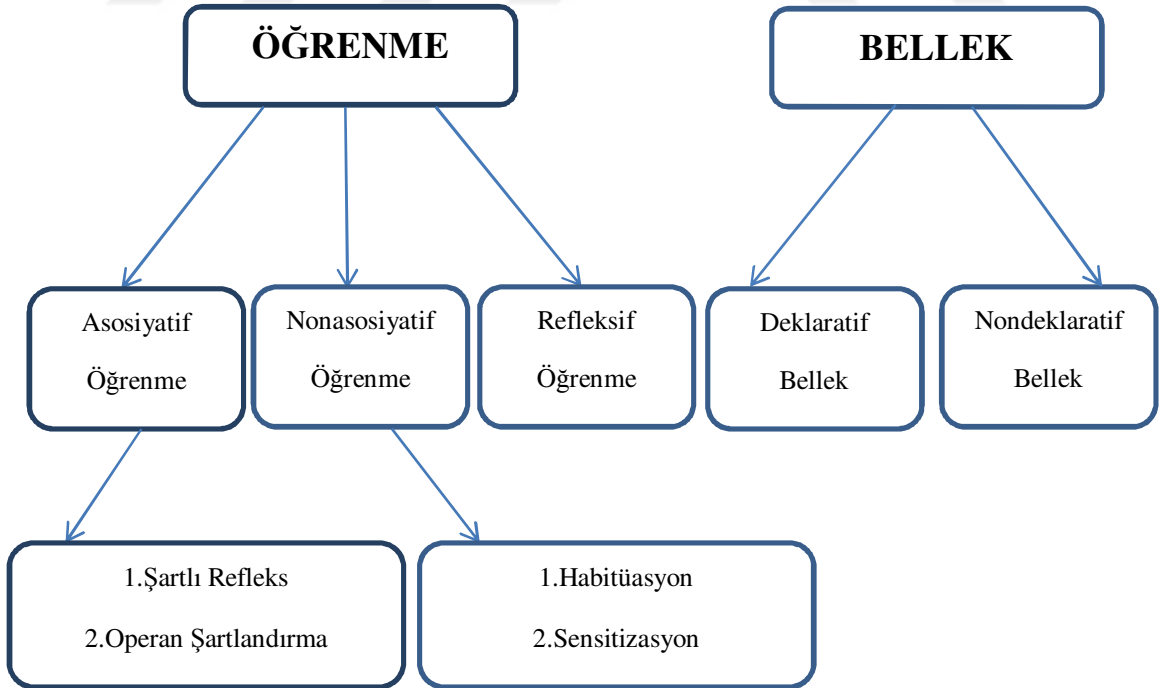
GC inhibitörü Metilen Mavisi FDA (U.S. Food and Drug Administration) onaylı olup klinikte kullanımında sakınca yoktur (Schirmer ve ark., 2011). Tau da dahil olmak üzere çeşitli nörodejeneratif proteinlerin agregasyonunu önler (Wischik ve ark., 1996; Taniguchi ve ark., 2005; Hosokawa ve ark., 2012). Bununla birlikte, MM'nin etkilerine aracılık eden mekanizmalar belirsizdir. MM mekanizma olarak; Tau'yu monomer formunda tutar, oksidatif hasarı azaltır ve protein degradasyonu uyarır (Medina ve ark., 2011; Cangdon ve ark., 2012; Stack ve ark., 2014). Buna ek olarak, Tau fosforilasyonu ve agregasyon arasındaki ilişki karmaşıktır. Çünkü Tau'nun mikrotübüllerden ayrılmasıyla sonuçlanan belirli bölgelerdeki fosforilasyonu Tau agregasyonunu önleyebilir (Schneider ve ark., 1999).

Bu çalışma, MM'nin hipokampüsteki plastisite ilişkili Tau fosforilasyonunu nasıl değiştirdiğine odaklanmaktadır. UDG ve UDB, öğrenme ve hafıza oluşumu ile ilişkili süreçler olduğundan, MM'nin nörodejeneratif hastalıklarda terapötik ajan olarak kullanılması için potansiyelinin anlaşılmasına yardımcı olabileceğini düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 ÖĞRENME VE BELLEK

Öğrenme ve belleğin anatomik ve fiziksel temellerinin analizi, modern nörobilimin en büyük başarılarından biridir (Byrne, 1990). Yaşamımız boyunca kazanılan bilgi ve deneyimlerin davranış biçimine yansması öğrenme olarak ifade edilirken, saklanıp geri çağrılabilir hale dönüştürülmesi bellek olarak tanımlanmaktadır. Birçok farklı sınıflandırılması olmasına rağmen genel olarak öğrenme 3 gruba ayrılırken; bellek tipleri içeriğine göre 2 gruba ayrılmıştır (Schacter ve Tulving, 1994) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Öğrenme ve Belleğin şematik gösterimi

2.1.1 Öğrenme

İlk olarak 1997’de Lanchman tarafından tanımlanmıştır (Lachman, 1997). Nörofizyolojik açıdan öğrenme, bireyin çevresinden gelen dış uyarılar ve sinir sisteminde gelişen kimyasal, elektriksel ve yapısal bazı değişiklikler sonucunda yeni sinaptik bağların kurulması olarak açıklanmaktadır. Öğrenme asosiyatif öğrenme, nonasosiyatif öğrenme ve refleksif öğrenme olmak üzere 3 farklı perspektif üzerinden tanımlanmıştır (Guyton ve Hall, 2001).

1.Asosiyatif Öğrenme

Bireyin bir uyarı ile başka bir uyarı arasında ilişki kurmasıyla meydana gelen öğrenme şeklidir. Şartlı refleks ve operan şartlandırma olarak 2 çeşidi tanımlanmaktadır (Byrne, 1987).

a. Şartlı Refleks (Klasik Koşullanma)

Tek başına verildiğinde hiç bir uyarı oluşturmeyen bir uyarının, cevap oluşturan başka bir uyarı ile tekrar tekrar yinelenmesi durumunda, cevap oluşturabildiği öğrenme çeşididir. Diğer bir ifadeyle organizmanın bir tip uyarıyı diğeriyle eşleştirerek öğrenmesidir. Bu bağlamda şartlı ve şartsız uyarılar arasında zaman farklılıkları vardır ve bu önem arz etmektedir. Bu süre ortalama 0.5 saniye olmalıdır ve şartlı uyarılar şartsız uyarılardan önce gelmelidir (Carew ve ark., 1983).

Bu öğrenme tipi ilk olarak Ivan Pavlov tarafından tanımlanmıştır. Pavlov şartlı refleks deneyinde önce zil çalınması ve ardından et verilmesiyle köpeği salya salgılamasına şartlandırmış ve belirli sayıdaki tekrardan sonra sadece zil sesinin salya salgılanmasını uyardığını göstermiştir. Bu koşullu bir reflekstir ve bu tip öğrenme işlevinde serebral korteks devrededir (Yiğit, 2001).

b. Operan Şartlanma (Enstrümental Koşullanma)

Ödül ve ceza sistemine dayanarak temellendirilen öğrenme çeşididir. Şartlı reflekste iki uyarı arasındaki ilişki incelenirken, operan şartlanmada bir davranış ve o davranışa olan tepki incelenmektedir. Bir davranış karşılığında kişinin ödüllendirilmesi davranışın tekrar edilebilirliğini artırır, buna pozitif pekiştirici denir. Aksine kişi ağrı ve acıya maruz kaldığında davranıştan uzaklaşır, buna da negatif pekiştirici denir. Böylelikle

olumlu sonuçlar veren davranışlar gerçekleştirilirken, olumsuz sonuçlar veren davranışlardan kaçınma öğrenilir (Kandel, 1991).

2.Nonasosiyatif Öğrenme

Nonasosiyatif öğrenmenin, habitüasyon (kanıksama-alışma) ve duyarlılaşma (sensitizasyon) olarak tanımlanan tipleri vardır.

a. Habitüasyon

Tekrarlı uyaranlara karşı oluşan motor yanıtın giderek azalması ve hatta yok olmasıdır. Düşük frekanslı tekrarlayan uyarılar sonucu presinaptik uçta daha az kalsiyum (Ca^{++}) kanalı açılır ve hatta bu düşük frekans nedeniyle açık olan kanallar da kapanır. Böylece nörotransmitter salınımı azalır ve bunun sonucunda da motor nöron yanıtı giderek azalır.

b. Sensitizasyon

Canlıya rahatsızlık verici bir uyarının ardından daha zayıf bir uyarın verildiğinde, bu zayıf uyarana karşı verilen yanıtta bir artış olur. Beklenen bazal yanıtta daha güçlü yanıt verilmesi durumuna sensitizasyon denir (Fioravante ve ark., 2009).

3.Refleksif Öğrenme

Sözel ve sembolik zeka gerektirmeyen sadece el ve fiziksel beceri kullanılarak oluşturulan öğrenme şeklidir (Ganong, 2011).

2.1.2 Bellek

Bellek, öğrenilen bilginin depolanması ve depolanan bilgilerin bilinçli ya da bilinçsiz düzeyde tekrar hatırlanmasıdır (Barrett ve ark., 2016). Bu süreçte beyinde elektriksel ve kimyasal etkileşimler ve yeni internöral bağlantıların oluşmasıyla gelişen mekanizmalar görev alır. Öğrenilen bilginin depolanması sırasında bilginin %1'i seçilir, ancak beynin bilgi depolama kapasitesi sınırsızdır (Ganong, 2011).

Fizyolojik olarak bellek deklaratif (eksplisit) ve nondeklaratif (implisit) olmak üzere ikiye ayrılır. Deklaratif bellekte bilginin hatırlanması için bilinç ve farkındalık gerekir; kodlama (encoding), depolama (storage), konsolidasyon (consolidation) ve geri çağırma (retrieval) işlemlerinden oluşur.

- Kodlama: Edinilen yeni bilginin belleğe kaydedilmesi ve bellekteki bilgilerle bağlantısının kurulması sürecidir.
- Depolama: Bilgilerin bellekte depolanmasıdır. Uzun dönem belleğin kapasitesi tam olarak tahmin edilememektedir ve sınırsız gibi görünmektedir, buna karşın işler bellek bir anda sadece birkaç bilgiyi saklayabilir.
- Konsolidasyon: Labil (kararsız) olan bilginin protein sentezi, gen ekspresyonu ve sinapsların güçlendirilmesiyle kararlı (kalıcı) hale gelmesi sürecidir.
- Geri çağırma: Depolanan bilginin hatırlanmasıdır (Schacter ve Wagner, 2013).

Dekleratif bellek semantik ve episodik olmak üzere ikiye ayrılır. Semantik bellek dil, kelime ve kurallar gibi somut verilerin depolandığı bellektir. Lateral ve anterior temporal korteks ve prefrontal korteks ile ilişkilidir. Episodik bellek ise olaylar ve anılar ile ilgili bellek olup hipokampus, medial temporal lob ve neokorteksle ilişkilidir. Bu sınıflamayı ilk kez Endel Tulving yapmıştır (Ganong, 2011).

Nondekleratif bellekte bilginin yeniden kullanılması için bilinç ve farkındalık gerekmez; bu tip bellekte hipokampus etkin değildir. Beceri, alışkanlıklar, klasik koşullanma ve non asosiyatif öğrenmeyi içerir. Beceri ve alışkanlıklar, striatum, serebellum ve motor korteksin etkileşimi ile bellek oluşturur. Klasik koşullanma yani asosiyatif öğrenmede amigdala ve serebellum, nonasosiyatif öğrenmede ise beynin refleks mekanizmaları rol oynar (Ganong, 2011).

2.1.3 Öğrenme ve Bellekte Beynin Özgül Bölgeleri

Öğrenme ve bellek oluşum mekanizmasında beynin farklı bölgeleri arasında multipl etkileşim söz konusudur. Özellikle hipokampus ve medial temporal korteks anahtar rol oynamaktadır. Epilepsi tedavisi amacıyla hipokampusu çıkarılan hastalarda orta ve uzun süreli bellek oluşum yitişi bunun kanıtı niteliğindedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bellek oluşumunda prefrontal korteksin de en az hipokampus kadar etkin rol oynadığı gözlemlenmiştir. Hipokampus özellikle deklaratif bellek dediğimiz bilinçli bellek oluşumunda rol oynamaktadır. Bununla birlikte amigdala, serebellum, striatum, mamillar cisim ve diensefalon bellek oluşumunun farklı aşamalarında etkindir (Barrett ve ark, 2016; Eichenbaum, 2017).

2.2 Belleğin Sınıflandırılması

Anıların ömrü bazen birkaç saniye, bazen saatler, bazen de yıllarca sürebilmektedir. Belleğin zamansal yönden sınıflandırılması ilk kez 19. yüzyıl sonlarında Hering, Ebbinghaus ve ardından Atkinson ve Shiffrin tarafından yapılmıştır (Özen ve Rezaki, 2007).

2.2.1 Kısa süreli bellek

Kısa süreli bellek uzun süreli belleğe dönüştürülmedikçe süresi sadece saniyeler veya dakikalarla ölçülebilen bellektir. Kısa süreli bellek için olası bir açıklama presinaptik kolaylaştırma veya inhibisyon kavramıdır. Presinaptik bir nöron henüz postsinaptik bir nöron ile etkileşmeden önce, kendisi üzerinde sonlanan başka bir presinaptik sonlanmadan salıverilen nörotransmitterler genellikle saniye ile birkaç dakika arasında inhibisyona neden olur ve böylece kısa süreli bellek oluşur (Guyton, 2007). Kısa süreli bellek iki yönlüdür. Yeni algılanan duyuşsal veriler ve uzun süreli bellek depolarından geri çağrılan bilgiler ile hem bir giriş merkezi hem de çıkış merkezi görevini üstlenmiştir (Sweatt, 2010).

Kısa süreli belleğin üç temel bileşeni; duyuşsal bellek (sensory memory), kısa süreli depolanma (short-term storage) ve çalışan bellek (working memory)'tir. Duyuşsal bellek yeni algılanan duyuşsal veriler ile ilişkilidir. Kısa süreli depolanmada bilgi hiçbir işlem görmeden depolanır ancak eğer bilgi işleniyor ve geçici süre akılda tutuluyorsa çalışan bellekten söz edilir (Topuz, 2015).

2.2.2 Orta süreli bellek

Bilginin hatırlanma süresi birkaç dakikadan birkaç haftaya kadardır. Yapılan çalışmalarda presinaptik sonlanma veya postsinaptik membranda fiziksel veya kimyasal değişikliklerin meydana geldiği gözlemlenmiştir. Bilgiler etkinleştirilmedikçe söner ve yok olur (McGaugh, 2000).

2.2.3 Uzun süreli bellek

Orta süreli belleğin kalıcı hale getirilmek üzere etkinleştirilmesiyle uzun süreli bellek oluşur ve bilgi yıllarca hatta yaşam boyu korunabilir. Yapılan çalışmalarda uzun süreli belleğin oluşumunda yalnızca sinapslardaki kimyasal değişimler değil aynı zamanda gerçek yapısal değişikliklerin de olması gerekmektedir (nörotransmitter salgısının

artması için vezikül serbestlenme bölgelerinin artması ve vezikül sayısının artması, presinaptik sonlanma sayısının artması vb.) (Lüscher ve Malenka, 2012).

Ayrıca son yapılan çalışmalar tüm bu değişikliklerin yanı sıra gen ekspresyonunun da gerekliliğini ortaya çıkarmıştır. Çalışmalar protein kinaz A (PKA)'nın hücre sinapsından çekirdeğe hareket ederek transkripsiyon faktörü olansiklik adenosin monofosfat (cAMP) yanıt elementi bağlayan protein-1 (CREB-1) 'i aktive ettiğini göstermiştir. CREB-1, yeni proteinlerin sentezini ve yeni sinaptik bağlantıların olgunlaşmasını stimüle etmektedir (Kandel, 2001; Waddell ve Quinn, 2001).

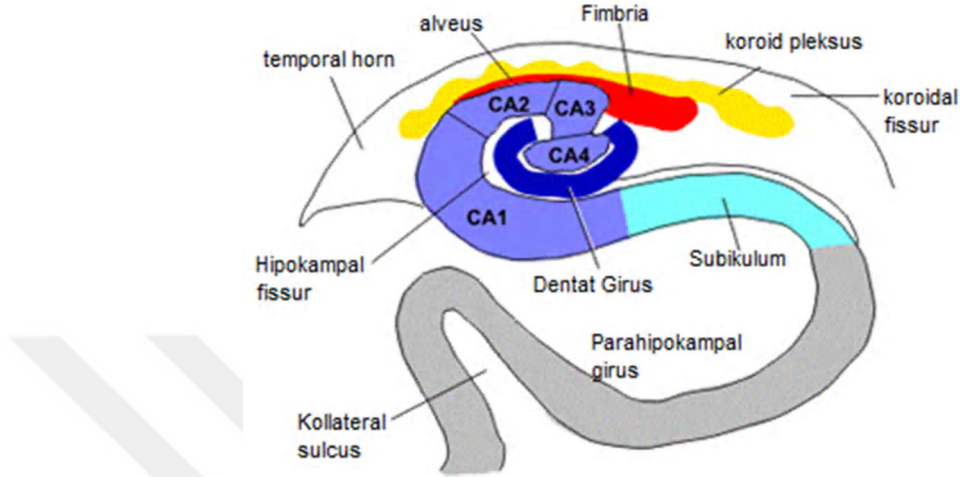
2.3 HIPOKAMPÜS

Filogenetik olarak beyinin en eski yapılarından biri olan hipokampus ilk olarak İtalyan bilim adamı Giulio Cesare Aranzi tarafından tanımlanmıştır. Koronal kesitlerde C harfi şeklindedir ve ilk zamanlar koç başına benzetildiğinden cornu ammonis adı ile anılsa da (ammon: koç başlı bir Mısır tanrısına verilen isim) daha sonraları denizatına benzerliğinden dolayı yunanca denizati anlamına gelen hipokampus ismini almıştır (Barr ve Klerman, 1988; Artis ve ark., 2012). 1957 yılında epilepsi tedavisi amacıyla hipokampus ve çevre yapıların çıkarılmasıyla meydana gelen bellek oluşturma mekanizmalarındaki problemler, hipokampus üzerine çalışmaları yoğunlaştırmıştır (Thammaroj ve ark., 2005). Temporal lobun medial kısmında bulunan yapı öğrenme, hafıza ve biliş için kritik öneme sahiptir. Nörobilimde en çok çalışılan beyin yapılarından biridir ve işlevlerini anlamaya yönelik çalışmalar devam etmektedir (Insausti ve Amaral, 2003; Bannerman ve ark., 2004).

2.3.1 Hipokampus Anatomisi

Anatomik olarak 5-8 cm uzunluğunda olup ventriküle bakan yüzü konveks, hemisferin alt kısmına bakan yüzü konkavdır (Barr ve Klerman, 1988). Ön tarafı geniş ve düz olup pes hippocampi adını alır. Burada pençeye benzeyen çıkıntılara digitationes hippocampi denir. Hipokampusün ventriküle bakan yüzeyi kendi hücrelerinden gelen aksonlar ile örtülü olup 'alveus' ismini alır. Bu lifler medialde birbirine yaklaşıp yassı bir bant oluşturur. Bu yapıya ise 'fimbria hippocampi' adı verilir. Alveustan gelip fimbriaya dahil olan lifler fornixin başlangıcını meydana getirir. Miyelinli liflerden oluşan fornixin önemi hipokampusün duyu liflerinin çıkış noktası olmasıdır (Songur ve ark., 2001).

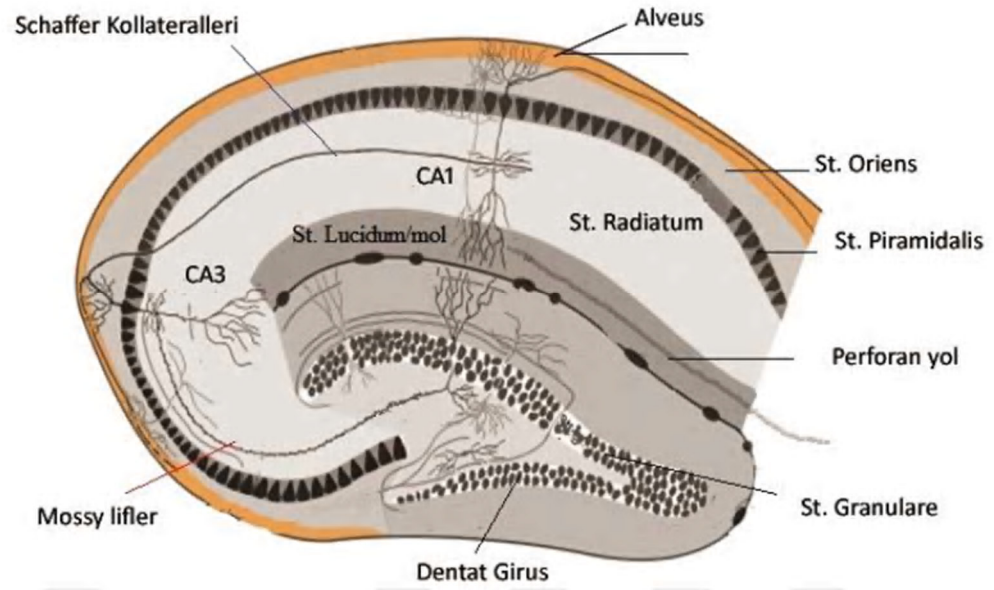
Şekil 2.2’de gösterildiği gibi hipokampus işlevsel olarak 4 bölüme ayrılır ve Cornu Ammonis’in baş harflerinin kısaltılmasıyla adlandırılır (CA1, CA2, CA3, CA4). CA1 subikuluma, CA4 ise dentat gyrusa çok yakındır (Mayer, 1971; Barry ve ark., 1995).



Şekil 2.2. Hipokampus anatomisi

Histolojik olarak hipokampus ventriküler yüzeyden başlayıp derine doğru şu şekilde sıralanır: (İzci ve Erbaş, 2015) (Şekil 2.3)

1. Alveus: piramidal hücre aksonlarından oluşur.
2. Stratum Oriens: piramidal hücre bazal dendritlerinden oluşur.
3. Stratum Pyramidalis: büyük piramidal ve golgi tip II hücrelerinden oluşur, hipoampüse asıl şeklini veren buradaki piramidal hücrelerin dizilimidir.
4. Stratum Lucidum: CA3 bölgesi ile bağlantı sağlayan yosunsu lifler içerir.
5. Stratum Radiatum: CA3'den CA1'e giden projeksiyon lifleri yani schaffer kollateralleri bu bölgededir.
6. Stratum Lakünozum: schaffer kollateralleri içerir ve çok ince olduğu için bazen stratum molekülare ile birlikte 'stratum lakünozum-molekülare' adı altında tek bir tabaka olarak anılır.
7. Stratum Molekülare: perforan lifler ve piramidal hücrelerin apikal dendritleri bulunur.



Şekil 2.3. Hipokampüsün histolojik katmanları

2.3.2 Hipokampal Yollar ve Bağlantılar

a) Afferent Yollar

Duyular entorinal korteksten hipokampüse temel olarak 4 yoldan taşınır:

1. Perforan yollar: Entorinal korteksten gelen aksonlar subiculum boyunca gyrus dentatusa ilerler, CA4 hariç tüm hipokampüse dağılır.
2. Mossy (yosunsu) lifler: Gyrus dentatustan CA3 alanına ilerler.
3. Schaffer kollateralleri: CA3 ve CA2'den CA1'e uzanan piramidal hücre uzantılarıdır.
4. Alvear lifler: Subkortikal alandan gelen lifler alveustan hipokampüsün CA1 bölgesine ve subikulumun iç bölgesine dağılır (Carpenter ve Sutin, 1983; Barr ve Klerman, 1988).

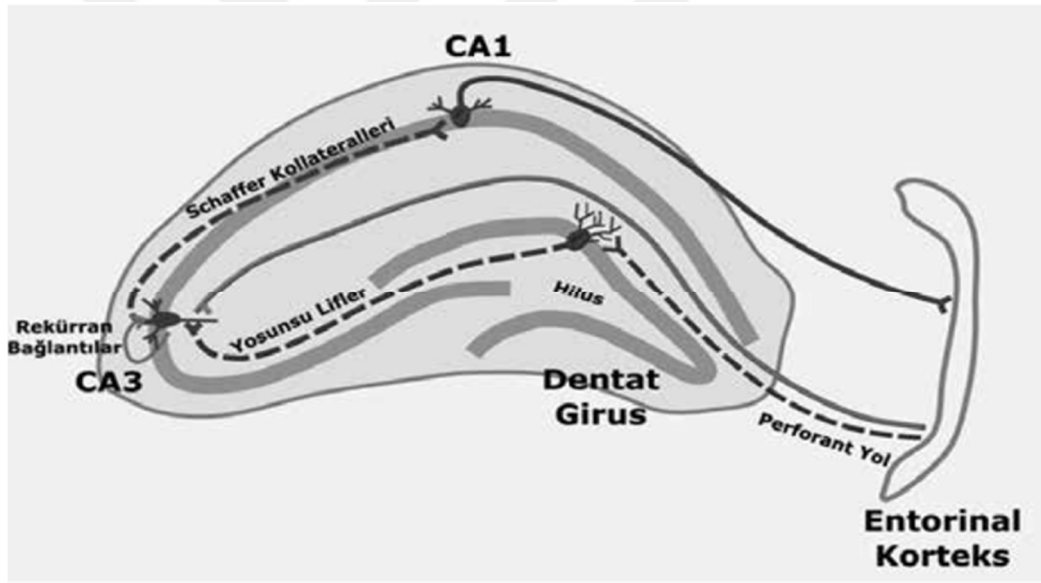
b) Efferent Yollar

Forniks hipokampüsün en büyük efferent yoludur (Insausti ve Amaral, 2003). Subiculum ve hipokampüsten başlayan ve yaklaşık 1.2 milyon miyelinli lif alveustan fimbria hippocampiye geçer (Williams, 1995). Bu lifler crus fornicis ve corpus fornicis olarak 2'ye ayrılır ve kendi aralarında çapraz yaparak commisura hippocampiye oluşturur. Corpus fornicis, columna fornicis olarak devam eder ve lifleri talamusa

uzanır. Buradan hipotalamusa giden liflerin çoğu corpus mamillarede sonlanır (Brodal, 1981).

c) Hipokampal Bağlantılar

Hipokampüste bilgi akışı genellikle tek yönlüdür ve ‘trisinaptik döngü’ olarak adlandırılmaktadır (Anderson ve ark., 1971) (Şekil 2.4). Entorhinal korteksten gelen bilgi perforant yol aracılığı ile dentat girusa ulaşır. Yosunsu lifler ile dentat girustan CA3 bölgesine taşınır. Ardından schaffer kollateralleri devreye girer ve girdi CA3’ten CA1 bölgesine ulaşır. Son olarak girdinin CA1 den entorinal kortekse ulaşmasıyla döngü tamamlanır. Burada klasik trisinaptik döngüye ek olarak CA3 aksonlarının, CA1’e olan projeksiyonlarına ek olarak, diğer CA3 nöronlarına tekrar sinaps yapan kollateral lifler göndermesidir. Son yıllarda CA3 ve CA1 bölgeleri arasında bulunan CA2’nin de kendine özgü işlevleri üzerine çalışmalar yapılmaktadır (Knierim, 2015).



Şekil2.4. Entorhinal korteks, dentat girus, CA3 ve CA1 arasındaki bağlantıları içeren trisinaptik devre (Kaptan ve Üzüm, 2016).

2.3.3 Hipokampus Fizyolojisi

Hipokampus beyindeki en kapsamlı araştırılan yapılardan biridir (Knierim, 2015). 1948 yılına kadar hipokampusün olfactor sistemin bir parçası olduğu düşünülmüştür (Songur ve ark., 2001). Bunun olası nedeni hipokampusün olfactor bulbustan direkt sinir lifleri aldığı düşüncesi idi. Ancak daha sonra koku duyusu gelişmemiş insanlarda hipokampusün gelişmiş olması bu teoriyi çürütmüştür. Yapılan çalışmalar sonucu koku

duyusunun formatio reticularis ve hipokampus ile anatomik bağlantıları açıklanmış ve hafıza, dikkat ve zihinsel uyanıklık üzerine etkisi olduğu kanıtlanmıştır (Zhang ve ark., 2014). Hipokampusün hafıza üzerindeki rolü, 1957 yılında Scoville ve Milner'in epilepsiyi tedavi etme amacıyla medial temporal lobun bilateral çıkarılması sonucu gün yüzüne çıkmıştır. Cerrahi işlem sonucu hastanın epilepsi nöbetleri azalmış ancak epizodik hafıza kaybı meydana gelmiştir. Yapılan çalışmalar, hipokampusün epizodik hafızayla ilgili olduğu ve semantik hafızayı etkilemediğini göstermiştir (Scoville ve Milner, 1957).

Hipokampusün 'uzun süreli hafıza' üzerinde rolü vardır. Genel kabul şu şekildedir; duyular kortekste kendi özgül alanlarına girdikten sonra hipokampüste değerlendirilir. Hipokampusün bu bilgileri işleyip depolamak için tekrar respektif kortekse ilettiği düşünülür (Guyton, 2005).

2.3.4 Hipokampus Fonksiyonu

Hipokampusün fonksiyonları yıllardır süren çalışmalar boyunca araştırılmıştır. Fakat hem hipokampusün kendi yapısının kamaşıklığı, hem de beyindeki diğer yapılarla olan yoğun bağlantısı nedeniyle fonksiyonlarını tam anlamıyla açıklamak güçtür (İzci ve Erbaş, 2015). 20. Yüzyılda hipokampusün hafıza üzerine rolü açıklandıktan sonra, sağ hipokampusün görsel, sol hipokampusün ise sözel hafızanın oluşumunda etkili olduğu saptanmıştır (Woollett ve Maguire, 2012). Özellikle CA3 bölgesindeki bağlantılar epizodik hafıza oluşumunda önemli rol oynar (Wixted ve ark., 2014).

Hipokampusün bir diğer fonksiyonu uzaysal öğrenme ve navigasyondur. Yapılan hayvan deneyleri, hipokampüste ve dentat girusta birçok sinir hücresinin konum ve yer bulma hafızasını taşıdığını ve hayvanların bilindik yerlerden geçerken bu nöronlarda aksiyon potansiyeli meydana geldiğini göstermiştir. Ayrıca beyin görüntüleme teknikleriyle yapılan çalışmalarda yön bulmaya çalışan kişilerin hipokampuslerinin aktif olarak çalıştığı görülmüştür (Moser, 2014). 1971 yılında John O'Keefe ve John Dostrovsky hipokampüste yer hücrelerini (place cell) keşfetmişlerdir. Uzaysal konum hakkındaki bilgi, hipokampusün genellikle CA1 ve CA3 bölgesinde yer alan, piramidal tipteki bu hücrelere ulaştırılır (O'Keefe ve Dostrovsky, 1971). Canlı herhangi bir konuma geldiğinde bu hücreler ateşlenir ve canlı daha sonra tekrar aynı konuma gelirse aynı hücrelerin aktiviteleri artar. Başka bir konuma gelince hipokampusün başka bir

yerinde bulunan yer hücreleri ateşlenir. Böylelikle iki konum arasındaki fark yer hücrelerinin aktivasyon farkıyla anlaşılır (Moser, 2014). 1978 yılında O’Keefe ve Conway bir adım ileri giderek yer hücrelerinin dinamik ve devamlı olarak kendilerini güncelleştirdiklerini saptamışlardır (O’Keefe ve Conway, 1978). 2005 yılında Edvard Moser ve May-Britt Moser grid hücrelerinin keşfederek beyinde bir koordinat sisteminin varlığından söz etmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar sınır hücrelerini (border cell) bulmuşlar ve hayvanların bir sınır ya da duvarla karşılaştığında bu hücrelerin aktive olduğunu bildirmişlerdir (Moser ve ark., 2008). 2008 yılında zaman hücreleri (time cell) bulunmuş ve hipokampüse gelen duysal girdilerin depolanmasında yer ve zaman hücrelerinin beraber çalışması gerektiği saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda zaman hücrelerinin yeri geldiğinde yer hücrelerinin görevlerini üstlendiği ve zamanla yer hücrelerine dönüşebildiği görüşü ileri atılmış ancak netlik kazanmamıştır (Moser ve ark., 2014).

Hipokampüsün endokrin fonksiyonu üzerinde de durulmaktadır. Adrenal korteksten üretilen ve kan yoluyla tüm vücuda yayılan kortizol beyinde hipokampüsteki reseptörlere bağlanır. Belirli bir seviyede kortizol bağlanmasıyla hipokampüs negatif feedback etkisiyle kortikotropin salgılatıcı hormon (CRF) salınımını inhibe eder. Böylelikle stres cevabı regüle edilir. Hipokampüs yeterli miktarda işlev görürse stres durdurulabilir ancak uzamış stres özellikle CA3 bölgesindeki dendritlerin büzüşmesine ve dentat girusta nöroenezin durmasına neden olur (Saransaari ve Oja, 1997). Bunun dışında hipokampüsün ön bölgesinde östradiol konsantre eden nöronların varlığından söz edilmiştir. Forniksin kesilmesinin ise Adrenokortikotropik hormon (ACTH) salınımını bozduğu saptanmıştır (Songur ve ark., 2001).

Hipokampüsün emosyonel işlevindeki önemli bir mekanizma Papez devresidir. James Papez 1937 yılında duyuların nöral temeli konusunda günümüzde bile önemi gittikçe artan kuramını ortaya atmıştır. Papez singulat girusdan çıkan duysal impulsların, hipokampüs üzerinden hipotalamusa geri dönmesiyle serebral korteksin emosyonları kontrol edebildiğini ileri sürmüştür. Korteks ile subkortikal yapıları bağlayan bu hayali devreye “Papez devresi” adı verilir. Klasik Papez Devresi sırasıyla; hipokampüs, forniks, corpus mamillare, tractus mamillothalamicus, nuclei thalamicus anterior, gyrus cinguli, gyrus parahippocampalis ve hipokampüse geri bağlantılar yapan nöronları

kapsar. Emosyonel tepkilerin olabilmesi için bu devrenin sağlam olması gerekir (Papez, 1937).

2.3.5 Hipokampal Lezyonlar

Hipokampüsün bilateral veya tek taraflı hasarlanması sonucu açığa çıkabilecek sonuçlar yıllarca araştırılmıştır. 1939 yılında Heinrich Klüver ve Paul Bucy, rhesus maymununun temporal lobunun büyük bir kısmını bilateral olarak çıkararak davranış değişikliklerini incelemişlerdir (Klüver ve Bucy, 1939). Klüver-Bucy Sendromu adı verilen bu tabloya ilişkin belirtiler genel olarak uysallık, beslenme alışkanlıklarında bozukluk, psişik körlük, hiperseksüalite ve amnezidir. Hipokampal lezyonlarda meydana gelen amnezi yakın zamanda meydana gelen olayların hatırlanamaması şeklindedir. Kişilerin sözcük bilgisi, genel bilgi birikimi ve uzak hafıza ise hipokampal hasarda etkilenmez (Isaacson, 2002).

Hipokampüs epileptik nöbetlerin kaynağıdır. Temporal lob epilepsisinde hipokampal skleroza eşlik eden CA1 piramidal hücre kaybı, dentat girusta granüler hücre inflamasyonu ve mossy liflerinde reorganizasyon görülür. Ancak hipokampal hasarın nöbetler sonucu mu oluştuğu yoksa nöbetlerin hasar sonucu mu oluştuğu tam olarak bilinmemektedir (Seress ve ark., 2009; Sendrowski ve Sobaniec, 2013).

Bazı araştırmalar B vitamini eksikliği ve kronik alkol kullanımının hipokampüs matür dendrit yoğunluğunu azalttığını ve hafıza problemlerine neden olduğunu göstermiştir (Korkotian ve ark., 2015). Bunlara ilave olarak hipokampüs üzerine yapılan son görüntüleme çalışmalarında hipokampüsün sadece geçmişin hatırlanmasında değil, geleceğin hayal edilmesinde de rol oynadığı gösterilmiştir (Addis ve Schacter, 2012).

2.4 SİNAPTİK PLASTİSİTE

Nöronlar arasındaki ara bağlantı sinaps olarak adlandırılır. Sinaps, sinir sistemindeki en temel bilgi iletimi birimidir. Her türlü bellek ve davranışsal adaptasyon da dahil olmak üzere bilgi depolamanın, hem kısa vadede hem de uzun vadede sinaptik plastisite olarak bilinen bir özellik olan nöronal iletimdeki değişikliklerden ortaya çıktığına inanılmaktadır (Nijholt, 2002). Memeli beyнинin en önemli ve büyüleyici özelliklerinden biri olan sinaptik plastisite, özellikle önceden var olan sinapslarda sinaptik iletimin gücünün veya etkinliğinin aktiviteye bağlı modifikasyonunu ifade eder ve bir yüzyılı

aşkın bir süredir, geçici deneyimleri kalıcı bellek izlerine dönüştürmek için beynin kapasitesinde merkezi bir rol oynadığı gösterilmiştir. Sinaptik plastisitenin nöral devrelerin erken gelişiminde önemli rol oynadığı düşünülmektedir ve bu mekanizmadaki bozuklukların birkaç belirgin nöropsikiyatrik rahatsızlığa katkıda bulunduğu dair kanıtlar birikmektedir. Bu nedenle, sinaptik plastisitenin altında yatan ayrıntılı moleküler mekanizmaları aydınlatmak, normal ve patolojik beyin fonksiyonunun birçok yönünün nöral temelini anlamak için kritik öneme sahiptir (Citri ve Malenka, 2008).

Sinaptik plastisite; sinapsların güçlenmesi veya zayıflamasını, reseptör yapısı ve sayısındaki değişiklikleri, sinaps sayısındaki ve postsinaptik sinyal ileti mekanizmalarındaki değişiklikleri ifade eder. Bilişsel işlevlerin ve bellek sürecinin genel olarak ilgili nöronlar arasındaki sinaptik ileti gücününün değişimine bağlı olduğu düşünülmektedir (Benington ve Frank, 2003; Lynch, 2004).

1949'da Kanadalı nörobilimci Donald O. Hebb sinaptik plastisite için aktivite-bağımlı bir mekanizma ileri sürmüştür ve Hebb kuramı olarak kabul edilmiştir. Bu kavrama göre eğer presinaptik nöron postsinaptik nöronun aktivasyonuna katkıda bulunuyorsa güçlenir, katkıda bulunmuyorsa zayıflar. Yani eğer presinaptik ve postsinaptik nöron eşzamanlı olarak aktive oluyorsa aralarındaki bağ güçlenir, olmuyorsa zayıflar. Postsinaptik yanıt ise nöronal aktivite veya uygulanan kimyasal maddeye göre zayıflayabilir veya güçlenebilir. Potansiyelizasyon veya depresyon, presinaptik bir uyarıya postsinaptik yanıtın ölçümüdür (Hebb, 1949).

Sinaptik plastisitenin oluşumunda kısa ve uzun dönem olmak üzere 2 farklı mekanizma yer almaktadır. Milisaniye ile dakika arasında süren kısa dönemli sinaptik plastisite; kısa süreli bellekte, adaptasyonda, emosyonel durumlarda ve duyuşal girdilerde işlevseldir (Zucker ve Regehr, 2002). Kısa süreli sinaptik plastisite formu, presinaptik sinir terminallerinde geçici bir kalsiyum birikimine neden olan kısa aktivite patlamaları ile tetiklenir. Presinaptik kalsiyumdaki bu artış, sinaptik veziküllerin ekzositozunun altında yatan biyokimyasal süreçleri doğrudan etkileyerek, nörotransmitter salınımında değişikliklere neden olur (Citri ve Malenka, 2008). Uzun dönemli sinaptik plastisite ise, dakika ile günlere hatta aylara ve yıllara dek uzanan hatıraların oluşmasında işlevseldir.

UDG ve UDB gibi sinaptik plastisite mekanizmaları, beynin çevresel girdilere yanıt olarak değişebilme yeteneğini ve dolayısıyla nörolojik işleyişi ve davranışsal adaptasyonu destekleyen önemli mekanizmalardır. Bu mekanizmalar aracılığıyla, sinapsların gücü ve nöronlar arasında bilgi geçişi regüle edilecektir (Hebb, 1949).

2.4.1 Uzun Dönemli Güçlenme

Hipokampüsteki sinaptik gücün UDG'si ilk olarak 1966'da keşfedilmiş ve daha sonra 1973'te Bliss ve Lømo tarafından ayrıntılı olarak tanımlanmıştır. Sinaptik güçteki bu uzun süreli artış, duyuşsal bilginin hücrel bir şekilde depolanmasını temsil eder (Bliss ve Lømo 1973). Tavşan hipokampuslerinde yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar sonucu perforant yola yüksek frekanslı tetanik elektriksel uyarıların verilmesi sonucu dentat girusta UDG meydana gelmiştir (Byrne; 1987; Malenka ve Bear, 2004). UDG'nin keşfinden sonra hücrel mekanizmaları araştırılmış; moleküler biyologlar ve biyokimyacılar tarafından UDG; erken ve geç faz olmak üzere ikiye ayrılmıştır (Raymond, 2007). Erken UDG (1-3 saat) NMDA reseptör aktivasyonu ile protein kinazların fosforilasyonunu gerektirirken; geç UDG (saatler, haftalar veya aylar) protein sentezi ve gen ekspresyonuna bağlıdır (Kelleher, 2004; Reynmann ve Frey, 2007).

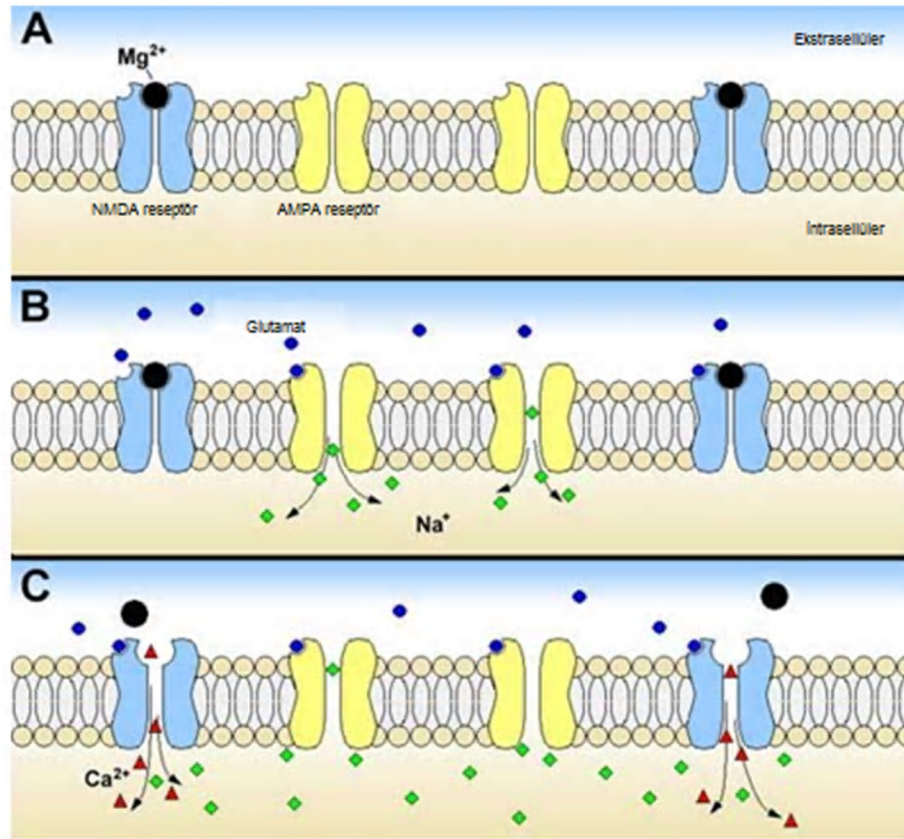
UDG indüksiyonu ile ilgili genel kabul pre ve post sinaptik nörondaki intrasellüler Ca^{++} artışıdır. Burada 2 majör yolak mevcuttur;

- İyonotropik glutamat reseptörleri (özellikle NMDA reseptörleri) ile Ca^{++} girişi
- Voltaj kapılı kalsiyum kanalları ile Ca^{++} girişi

NMDA Bağımlı UDG

UDG süreci postsinaptik NMDA reseptörünün aktivasyonu ile başlar. Glutamat reseptör ailesinin alt ailesi olan NMDA Reseptörü (NMDAR) ligand kapılı bir iyon kanalı proteindir (Moriyoshi ve ark., 1991). İyon kanalının açılması ve kapanması temel olarak ligand (glutamat) bağlanmasıyla sağlanırken, reseptörün belirli bölgelerine bağlanan magnezyum (Mg^{++}) ve çinko (Zn^{++}) iyonları diğer katyonların açık iyon kanalı içinden geçişini engeller. Bu nedenle sadece glutamat bağlanması reseptörü aktive etmek için yeterli değildir. Hücrenin depolarizasyonu ile Mg^{++} ve Zn^{++} iyonları porlardan uzaklaşır böylece kanal açılarak sodyum (Na^{++}) ve Ca^{++} hücre içine girer (Liu ve Zhang, 2000; Cull-Candy ve ark., 2001; Paoletti ve Neyton, 2007). Hücrenin

depolarizasyonunu sağlayan glutamat reseptörlerinin bir diğer tipi olan AMPA reseptörleridir. Presinaptik nörondan sinaptik boşluğa salınan glutamat AMPA reseptörlerini (AMPA) aktive ederek Na^{++} 'un hızla hücre içine girmesine izin verir, bu postsinaptik membranı depolarize eder. AMPAR aktivasyon sonucunda oluşan depolarizasyon NMDA reseptör kanallarında Mg^{++} 'un hücre dışı boşluğa itilerek baskılayıcı etkisinin kalkmasına neden olarak hücre içine Ca^{++} ve Na^{++} akışına izin verir (Lynch ve ark., 1983) (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. A.NMDA ve AMPA reseptörleri B.Glutamatın AMPA reseptörlerine bağlanması ile Na^{++} 'nın hücre içine akışı ve hücre depolarizasyonu C.hücre depolarizasyonu ile NMDA reseptörlerinin aktivasyonu ve hücre içine Ca^{++} akışı

Ca^{++} 'un hücre içine akışı; Ca^{++} / CaM-bağımlı protein kinaz II (CaMKII), protein kinaz C (PKC) ve adenilat siklaz enzimi aracılığıyla, cAMP gibi protein kinazların fosforilasyonuna neden olur (Malenka ve ark., 1988). PKC ve CaMKII'nin UDG'nin erken fazı ile ilişkili olup, PKC NMDA reseptörlerini fosforillerken, CaMKII AMPA reseptörlerini fosforiller ve sinapsa yeni AMPA reseptörünün taşınmasına neden olur (Hayashi ve ark., 2000; Lisman ve ark., 2012). Diğer taraftan, cAMP aktivasyonu, mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) yolu ve CREB proteininin fosforilasyonu

yoluyla sinyal kaskadlarına yol açar. Bunların UDG'nin geç fazının altında yatan yeni proteinlerin sentezi ve gen ekspresyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Frey ve ark., 1993; Huang ve ark., 1994; Nguyen ve Kandel, 1996; Rosenblum ve ark., 2000; Waltereit ve Weller, 2003).

UDG ile ilişkili olan bir diğer molekül beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) proteinidir. BDNF hem presinaptik hem postsinaptik glutamaterjik nöronlarda depolanır, nöronal sağkalım ve farklılaşmadan sorumludur. BDNF sinyal inhibisyonunun geç faz UDG oluşumunu engellediği için yetişkin dönem sinaptik plastisitede rol oynadığı düşünülmektedir (Korte ve ark., 1998; Messaoudi ve ark., 1998).

BDNF yüksek frekans ile indüksiyon sonucu sinaps içine salgılanır ve tirozin ilişkili kinaz B (TrkB) reseptörlerine bağlanır (Drake ve ark., 1999). TrkB, Ras-Raf-ERK ve PI3K-Akt-mTor kaskadlarını aktive eder (Messaoudi ve ark., 1998; Lu ve ark., 2011). Presinaptik bölgede nörotransmitter salınımında artışa, postsinaptik bölgede NMDAR aktivasyon artışıyla sonuçlanır (Panja ve Bramham, 2014). Aynı zamanda PKC, MAPK ve CREB gibi sinyal yollarının fosforilasyonunu ve aktivasyonunu sağlar (Finkbeiner ve ark., 1997). Pang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada anizomisin (protein sentez inhibitörü) ile baskılanan UDG'nin BDNF ile tekrar geriye dönebildiğini göstermiş ve buna dayanarak BDNF'nin protein sentezinde anahtar rolü olduğunu saptamışlardır (Pang ve ark., 2004). Tüm bunlar BDNF'nin hem erken hem de geç UDG'de sorumlu olduğunu göstermektedir (Panja ve Bramham, 2014).

NMDA Bağımsız UDG

UDG indüksiyonu sadece NMDAR ve AMPAR ile gerçekleşmez (Teyler ve DiScenna, 1987). UDG, postsinaptik voltaj bağlı kalsiyum kanallarının aktive olması ile de indüklenebilir. Bu çeşit UDG, NMDA bağımsız UDG olarak isimlendirilir (Harris ve Cotman, 1986). Ayrıca, nörotransmitter salınmasına etkiyecek presinaptik Ca^{++} akışı da indüksiyon mekanizmasında etkili olabilir (Katsuki ve ark., 1991). NMDA bağımsız UDG oluşumu kısmen daha yavaştır ve voltaj kapılı Ca^{++} kanal blokörü ile inhibe edilebilir (Johnston ve ark., 1992).

NMDAR aracılı UDG ve UDB uzun vadeli sinaptik plastisitenin en çok çalışılan formları olsa da, sinaptik gücü sürekli olarak değiştiren tek biyokimyasal yollar değildir.

Metabotropik glutamat reseptörleri (mGluR), adenilat siklazı aktive ederek veya hücre içi depolardan inositol trifosfat (IP3) aracılı kalsiyum akışı oluşturarak ikinci haberci seviyelerini modüle eden büyük bir glutamat reseptörü sınıfıdır. mGluR'lerin aktivasyonu, NMDAR'ler bloke edildiğinde bile UDG ve UDB'yi ortaya çıkarabilir. mGluR'lerin hem sinaptik plastisite hem de dendritik omurga morfolojisinin ve yoğunluğunun düzenlenmesindeki rolü, Fragile-X sendromu (FXS) ile en güçlü şekilde ilişkilendirilmiştir. FXS, zihinsel engellilik ve otistik özellikler ile karakterize bir hastalıktır. FXS'de mGluR'lerin aşırı sinyalizasyonu ve glutamaterjik nöronlarda bozulmuş dendritik omurga olgunlaşması görülmektedir (R Vose ve K Stanton, 2017).

Postsinaptik olarak indüklenen ve ifade edilen NMDAR olmayan mGluR bağımlı UDG ve UDB'ye ek olarak, glutamaterjik sinapsların presinaptik terminallerinde ifade edilen NMDAR olmayan uzun vadeli plastisite formları da vardır. Hipokampüsteki mossy lifleri ve CA3 bölgesi arasındaki sinapslar, ikinci haberci olan cAMP üretimini tetikleyen, voltaja bağlı kalsiyum kanalları aracılığıyla kalsiyum akışının aracılık ettiği presinaptik bir UDG'yi ifade eder. NMDAR bağımlı UDG ve UDB'yi ifade eden Schaffer kollateral ve CA1 piramidal hücre sinapslarında, UDB'nin Grup II mGluR ve A1 adenosin reseptörüne bağımlı formu da glutamatın presinaptik veziküler salınımında kalıcı bir azalma olarak ifade edilir (Santschii ve ark., 2006; Bailey ve ark., 2008).

Öğrenme ve hafıza işlevine büyük ilgi nedeniyle UDG hipokampüste yoğun olarak çalışılmıştır. Ancak korteksin diğer bölgelerinde de UDG oluşabildiğini kanıtlayan pek çok çalışma vardır. Her ne kadar hipokampüsteki mekanizmadan farklı olsa da visual, işitsel, somatosensorial kortekslerde, amigdalada ve hatta omirilikte UDG meydana gelebildiği yapılan çalışmalar sonucu kanıtlanmıştır (Artola ve Singer, 1987; Kudoh ve Shibuki, 1994; Crair ve Malenka, 1995). Ayrıca UDG'nin insan ve hayvanlar ağrı ve sensisitizasyonun modülasyonu altında yatan bir mekanizma olduğu saptanmıştır (Lien, 2005).

2.4.2 Uzun Dönemli Baskılanma

Santral sinir sitemindeki UDB öğrenme, hafıza ve çeşitli patolojik koşullara dahil olabilecek bir süreç olarak yoğun bir araştırma konusu olmuştur. Bu tip sinaptik plastisitenin çeşitli mekanik olarak farklı formları tanımlanmıştır ve moleküler mekanizmaları çözülmeye çalışılmıştır. Çoğu çalışma, NMDAR veya mGluR'lerinin sinaptik aktivasyonu ile tetiklenen UDB formlarına odaklanmıştır. Hipokampüste UDB

homosinaptik, heterosinaptik ya da önceden güçlendirilmiş sinapsın depresyonu (depotensiyasyon) olarak farklı şekilde ifade edilebilir. UDB'nin bu farklı formları benzer görünse de, farklı moleküler mekanizmalar kullanırlar ve muhtemelen farklı işlevlere sahiptirler (Collingridge ve ark., 2010).

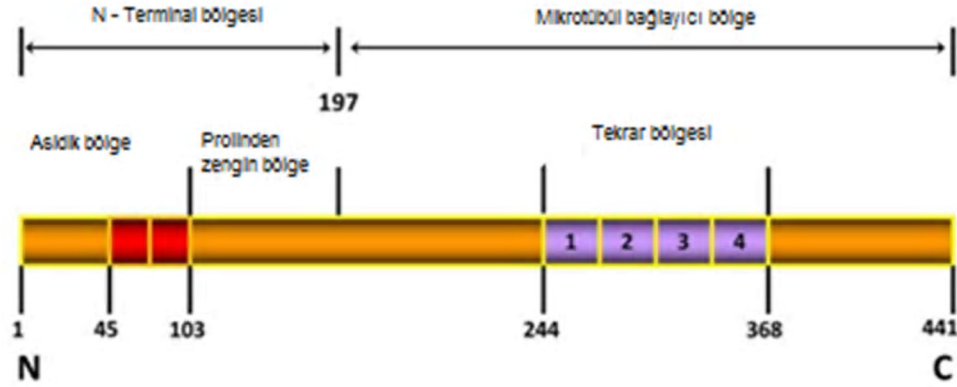
Presinaptik aksonların düşük frekanslı uyarımı (DFU), UDB'yi indüklemek için kullanılır. Tipik olarak bu tür protokoller 5-15 dakika boyunca 1-5 Hz'de uyarımı içerir. Şaşırtıcı bir şekilde, UDB'nin tetiklenmesi NMDA reseptör aktivasyonu ve postsinaptik kalsiyum konsantrasyonunda bir artış gerektirir. Bu düşük frekanslarda meydana gelebilir çünkü dinlenme zar potansiyellerinde, NMDA reseptör kanalının Mg^{++} tarafından voltaja bağlı bloğu %100 etkili değildir ve bu nedenle her uyarıcı çok az miktarda Ca^{++} girişine neden olacaktır (Dudek ve Bear, 1992; Mulkey ve Malenka, 1992). UDG'de hücre içi Ca^{++} artışı CaMKII ve diğer kinazların aktivasyonuna neden olurken; UDB'de fosfatazlar aktive olur. Özellikle kalsineurin (PP2B) ve protein fosfataz 1 (PP1), NMDA bağımlı UDB'de aktif olan fosfatazlardır. PP2B kalsiyuma karşı CaMKII'den daha yüksek bağlanma afinitesine sahiptir bu nedenle hücre içine giren daha düşük miktardaki kalsiyuma karşı duyarlılığı daha fazladır (Mulkey ve ark., 1993, 1994; Carroll ve ark., 2001). UDG için olduğu gibi, UDB'nin altında yatan hücre içi sinyal kaskadları kesinlikle iki fosfatazın aktivasyonundan daha karmaşıktır. Örneğin, mitokondri yoluyla kaspaz 3'ün aktivasyonunu içeren apoptotik mekanizmaların UDB için kritik olduğu ileri sürülmüştür (Li ve ark., 2010). Ayrıca UDG'de AMPA reseptörlerinin glutamat reseptör 1 (GluR1) alt tabakasının fosforilasyonu ile reseptör artışı meydana gelirken; UDB'de tam tersi olarak reseptörler defosforile edilir ve endositoz yoluyla AMPA reseptör aracılı iletim azalarak kısmen UDB'nin ifadesine katkıda bulunulur (Lee et al., 2003).

2.5 TAU PROTEİNİ

2.5.1 Tau'nun Yapısı ve Fonksiyonu

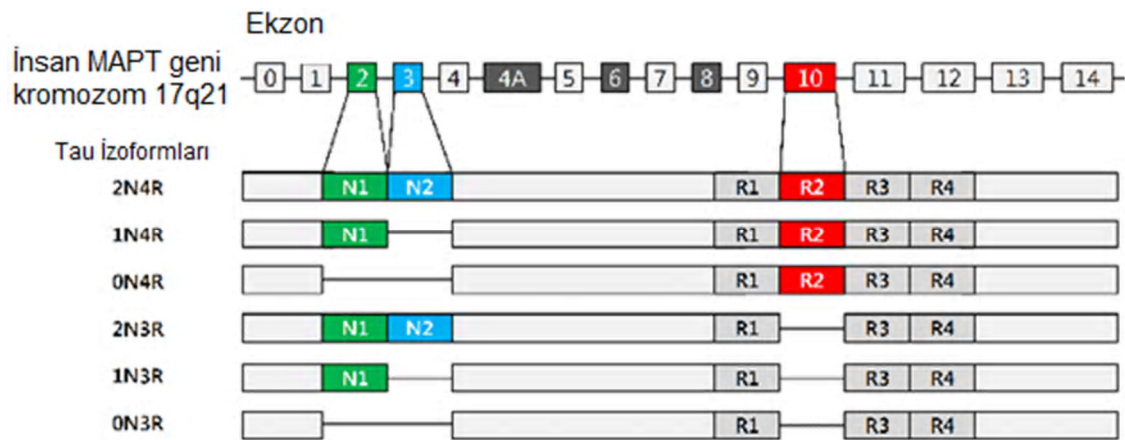
Tau ilk olarak 1975 yılında Weingarten ve arkadaşları tarafından mikrotübül montajı ve stabilitesinin düzenlenmesindeki fizyolojik rolüyle keşfedildi (Weingarten ve ark., 1975). İnsan Tau geni 17. kromozomun uzun kolunda 17q21 pozisyonundadır. Protein yapısal olarak Şekil 2.6'da gösterildiği gibi 4 bölgeye ayrılır; asidik bölge, prolin bakımından zengin bölge, mikrotübül bağlayıcı tekrar bölgesi ve C-terminal bölgesidir.

Dört bölge iki işlevsel etki alanı oluşturur: N-terminal projeksiyon etki alanı (N-domain) ve mikrotübül bağlama etki alanı (R-domain) (Mandelkow ve ark., 1996).



Şekil 2.6. Tau proteini geninin yapısı

16 ekzona sahip olan Tau'nun insan beyinde primer transkripti; üç ekzonun (2, 3, 10) altı değişik kombinasyonu (2-3-10-; 2+3-10-; 2+3+10-; 2-3-10+; 2+3-10+; 2+3+10+) 352 ile 441 aminoasit uzunluğu arasında altı farklı mesajcı ribonükleik asit (mRNA) üretilmesine yol açar. Bu izoformlar hem proteinin karboksi-terminal bölgesinde bulunan üç (3R) ya da dört (4R) tekrar bölgesinin varlığı ile hem de amino-terminal bölgede bulunan bir ya da iki insersiyon bölgesinin (29 veya 58 amino asit uzunlukta) varlığı ile birbirlerinden ayrılır (Andreadis ve ark.1992,Rademakers ve ark.2004, Sergeant ve ark.2005) (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Farklı Tau proteini izoformları

‘Kaset’ ekzonların (ekzon 2, 3 ve 10) kodladıkları bölgelerin varlığına bağlı olarak Tau izoformlarının spesifik işlevleri vardır ve her bir Tau izoformu farklı fizyolojik görevleri yerine getirir. Örneğin fetüste yalnızca 0N3R izoformu mevcut iken; yetişkin beyinde tüm izoformlar ifade edilir. Ayrıca bütün Tau izoformları nöronlarda eşit derecede ifade edilmezler, örneğin dentat girusun granüler hücrelerinde ekzon 10 içeren Tau mRNA’sı bulunmaz, bu Tau izoformlarının nöron alt-popülasyonlarında farklı derecelerde ifade edildiklerini gösterir (Goedert ve ark., 1989, Spillantini ve ark.,1998).

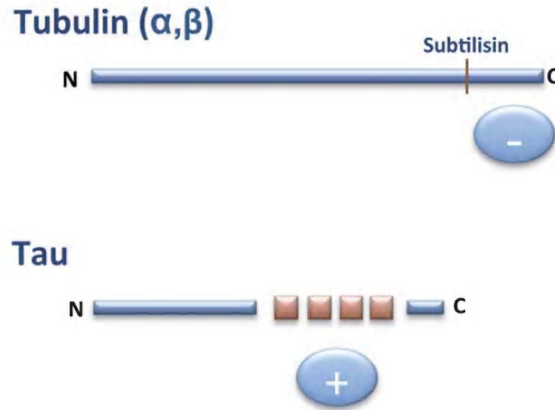
N-terminal projeksiyon alanı çoğunlukla asidiktir ve bilinen birçok protein ile etkileşime girer (Hirokawa ve ark., 1988). Proteinin bu bölümü mikrotübül yüzeyinden dışa doğru uzanır ve hücre zarı ve diğer sitoskeletal elementler ile etkileşir (Brandt ve ark., 1995). Bazı Src-ailesi kinazlar, fosfolipaz C- γ , büyüme faktörü reseptörüne bağlı protein 2, fosfatidilinositol bifosfat ile etkileşerek hücre sel sinyalleme modülüne ettiği ileri sürülmüştür (Surridge ve Burns, 1994; Flanagan ve ark., 1997; Lu ve Kosik, 2001; Reynolds ve ark., 2008; Morris ve ark., 2011).

Mikrotübül bağlayıcı etki alanı, öncelikle mikrotübül polimerizasyonunu düzenleyen dört yüksek korunmuş tekrarlayan motif (R1 - R4) ile çalışır (Simic ve ark., 2016). R1-R4 tekrarlı yetişkin Tau izoformları, mikrotübül montajının teşvik edilmesinde (R2 bölgesinden yoksun fetal Tau izoform) 0N3R'den önemli ölçüde daha yüksek etkinlik gösterir ve bu da R2 bölgesinin mikrotübül polimerizasyonunu düzenlemedeki önemini vurgular (Simic ve ark., 2003). İn vitro çalışmalar ayrıca 4R ve 3R Tau'nun mikrotübüllere daha yüksek bir bağlanma afinitesine sahip olduğunu göstermiştir (Lu ve Kosik, 2001).

2.5.2 Tau Mikrotübül ilişkisi

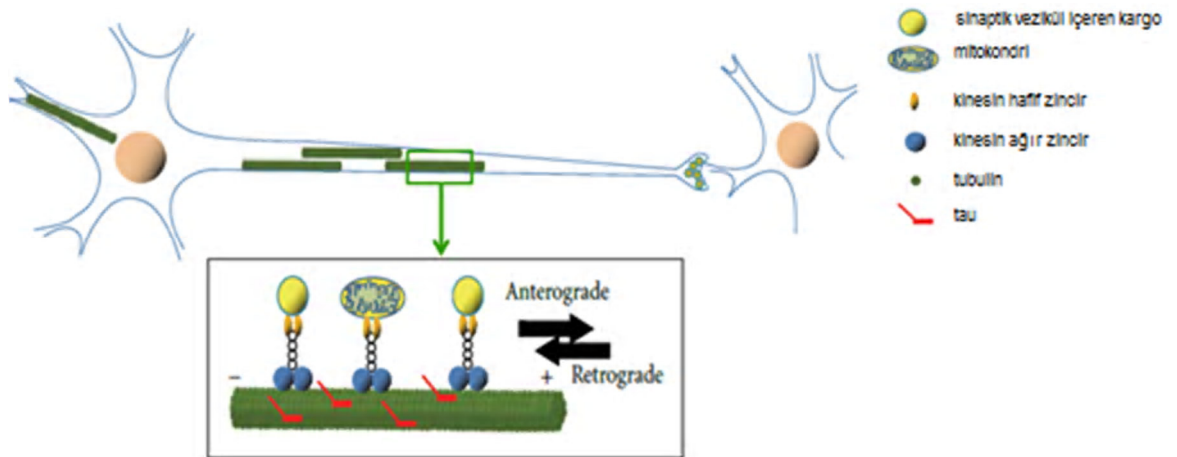
Tau'nun ana işlevi, tubulin polimerizasyonunu teşvik etmek, mikrotübülleri stabilize etmek ve esnekliklerini sağlamaktır (Weingarten ve ark., 1975; Bohm ve ark., 1990; Nixon ve Sihag, 1991). Mikrotübüller, morfogenez, hücre bölünmesi ve hücre içi madde taşınması gibi çeşitli hücre sel süreçlere katkıda bulunur (Drubin ve Nelson, 1996; Goodson ve ark., 1997). Hücrelerde, mikrotübüller dinamik instabilite ile uzunluklarını değiştirme yeteneğine sahiptir (Waterman ve Salmon, 1997). Tau proteininin mikrotübüllere bağlanması, kinazların ve fosfatazların koordineli eylemleri ile dengelenir ve bu bağlanma mikrotübüllerin bütünlüklerini korumak için gereklidir (Brady ve Sperry, 1995; Lippincott-Schwartz ve ark., 1995).

Tau'nun tubuline bağlanması iyonik bir etkileşimle gerçekleşir (Tau'nun C terminal bölgesi katyon, tubulinin C terminal bölgesi ise anyondur).



Şekil 2.8. Tau protein-tubulin arasındaki iyonik ilişki

Mikrotübüller üzerinde Tau'nun varlığı, akson boyunca yüklerin retrograd veya anterograd taşınmasında aktif olan dynein ve kinesin gibi motor proteinlerin dinamiğini değiştirir. Tau, mikrotübüllere sıkı bağlanması nedeniyle hücre içi trafiği değiştirir ve kinesinin hızı Tau proteini tarafından etkilenmemiş gibi görünse de, muhtemelen kinesin üzerinden taşınan maddeleri ayırır (Trinczek ve ark., 1999).



Şekil 2.9. Tau proteininin anterograd ve retrograd iletim üzerindeki rolü

Tau'nun mikrotübül stabilitesini düzenleme işlevi, diğer mikrotübüle bağlı protein (MAP) ailesi üyeleri tarafından kompanse edilir. Nöronal kültürde Tau'nun susturulması nörodejenerasyonu tetiklemeyebilir veya akson büyümesini engellemez (Qiang ve ark., 2006). Tau yerine mikrotübüle bağlı protein 1B (MAP1B)'nin mikrotübül

stabilitesinin düzenlenmesindeki rolünün daha önemli olduğu ileri sürülmektedir (Takei ve ark., 2000).

2.5.3 Tau'nun nöronlarda lokalizasyonu

Tau, özellikle beyin olmak üzere; submandibular bez, sigmoid kolon, karaciğer, kafa derisi ve karın derisi gibi alanlarda yaygın olarak bulunur (Gu ve ark., 1996; Dugger ve ark., 2016). Fizyolojik koşullar altında Tau, insan beynindeki nöronlarda, astrositlere ve oligodendrositlere oranla daha fazla eksprese edilir. İntranöronal Tau ise esas olarak akson olmak üzere, plazma membranı, mitokondri ve çekirdeği içeren somatodentritik bölgelerde de bulunur (Guo ve ark., 2017). Dendritlerde Tau'nun fizyolojik rolü henüz net olarak anlaşılamamıştır, ancak bir çalışma, Tau'nun hipokampal nöronlarda sinaptik plastisitenin düzenlenmesinde etkili olduğunu ileri sürmüştür (Chen ve ark., 2012). Yine yapılan çalışmalarda yeni doğan hipokampal granül nöronlarının morfolojik ve sinaptik olgunlaşmasında Tau'nun rolü olduğu bildirilmiştir (Pallas Bazarra ve ark., 2016). Nöronlarda, Tau'nun Fyn kinaz ve NMDA reseptörü de dahil olmak üzere birçok protein ile etkileşime girdiği gösterilmiştir (Lee ve ark., 1998; Klein ve ark., 2002; Mondragon ve ark., 2012). Farelerde Tau proteininin üretiminin engellenmesinden sonra gözlemlenen patolojik değişiklikler, Tau'nun nöronal aktivite, nörojenez ve UDB'nin düzenlenmesinde yer aldığını göstermiştir. Tau üretmeyen fareler hipokampus CA1 bölgesinde, UDB'de defisit sergilemişlerdir. Bu da Tau'nun sinaptik plastisitedeki rolünü göstermiştir (Kimura ve ark., 2014).

Çekirdekte Tau'nun lokalizasyonu, deoksiribo nükleik asit (DNA) modifikasyonuna veya translasyonel modifikasyona dahil olabileceğini göstermektedir (Rady ve ark., 1995). Akut oksidatif stres ve ısı stresine yanıt olarak, defosforile Tau'nun çekirdeklerde biriktiği ve DNA'yı oksidatif hasardan koruduğu ve DNA onarımını arttırdığı gösterilmiştir (Sultan ve ark., 2011).

2.5.4 Tau'nun Translasyon Sonrası Modifikasyonları

Tau proteini için fosforilasyon, trunkasyon, glikozilasyon, deamidasyon, oksidasyon, glikasyon veya ubiquitinasyon gibi çeşitli modifikasyonlar tanımlanmıştır. Bunlardan en çok fosforilasyon üzerine çalışmalar yapılmıştır (Avila ve ark., 2004).

Tau Fosforilasyonu

1980'lerde yapılan birçok çalışma sonucunda, Tau bir fosfoprotein olarak tanımlanmıştır (Ihara ve ark., 1986; Grundke-Iqbal ve ark., 1986; Baudier ve ark., 1987). Bu çalışmalar Tau proteininin serin/treonin fosforilasyonu üzerine yoğunlaşırken, daha sonra yapılan çalışmalar tirozin üzerindeki fosforilasyonuna dikkat çekmiştir (Williamson ve ark., 2002). 441 aminoasitlik en uzun Tau izoformunda 85 potansiyel fosforilasyon alanı tespit edilmiştir ve bunların 80'i Serin (Ser) veya Treonin (Thr) iken sadece birkaçı tirozin (Tyr)'dir (Hanger ve ark., 2009). Birkaç istisna dışında bu noktaların tamamı mikrotübül bağlanma alanının dışındadır (Lovestone ve Reynolds, 1997).

Tau fosforilasyon homeostazı, protein kinazların ve fosfatazların faaliyetleri ile düzenlenir. Her iki enzim de insan beyinde mikrotübül montajını ve normal nöron fonksiyonunu korumada çok önemlidir. Geçmiş çalışmalar kinazlar ve fosfatazlar arasındaki dengesizliğin beyinde hiperfosforile Tau oluşumunun potansiyel nedeni olduğunu göstermiştir (Wang ve ark., 2007).

Tau Kinazlar

Motif özgüllüğüne bağlı olarak, kinazlar prolin bağımlı ve prolin bağımlı olmayan kinazlar olmak üzere ikiye ayrılır (Meraz-Rios ve ark., 2010). Tau ile ilgili başlıca prolin-bağımlı protein kinazlar arasında glikojen sentaz kinaz-3 (GSK-3), siklin bağımlı kinaz 5 (CDK5), iki özgüllüklü tirozin-fosforilasyon ile ilişkili kinaz 1A (DYRK1A) ve MAPK bulunur. Hepsi, özellikle GSK-3 β (iki GSK-3 proteininden biri), hem fizyolojik hem de patolojik koşullarda Tau fosforilasyonu ile güçlü bir şekilde ilişkilidir (Wang ve Liu, 2008).

- GSK-3, genel olarak, metabolik ve yapısal protein fonksiyonlarını ve hücrel sinyalizasyonu düzenler. GSK-3'ün özellikle β formu, Tau proteinindeki 30 dan fazla alan üzerinde fosforilasyon yeteneğine sahip en önemli Tau kinazlardan biridir. Ayrıca GSK-3 β , patolojik koşullarda Tau'nun hiperfosforilasyonu ile Tau-mikrotübül bağlanma afinitesini de bozar (Grimes ve Jope, 2001). GSK-3'ün iyi bilinen bir inhibitörü olan lityum ile tedavi edilen hücrelerde Tau fosforilasyonunun azaltıldığı tespit edilmiştir (Stambolic ve ark., 1996, Hong ve ark., 1997).

- CDK5, hücresel fonksiyonun ve santral sinir sisteminin gelişiminin sürdürülmesinde rol oynar (Lew ve ark., 1994). CDK5'in stres koşulları altında uzun süreli aktivitesi Tau hiperfosforilasyonuna, sitoskeletal anormallığe ve nöron dejenerasyonuna yol açar (Patrick ve ark., 1999).
- DYRK1A nöronal büyüme ve gelişmede önemli bir rol oynar (Duchon ve Herault, 2016). Buna ek olarak, DYRK1A enzimini kodlayan genin, Down sendromuna neden olan kromozom 21'de lokalize olduğu bilinmektedir (Wiseman ve ark., 2009). Down sendromlu çoğu hastada 40 yaşına kadar Alzheimer benzeri demans meydana gelmesi; DYRK1A'nın Tau fosforilasyonunu düzenlediğini kanıtlar niteliktedir (Park ve ark., 2009).
- MAPK ailesi öncelikle sinyal iletimi ve hücre büyümesi, apoptoz ve proliferasyon gibi çeşitli hücresel fonksiyonlara katılırlar (Schaeffer and Weber, 1999; Munoz ve Ammit, 2010). Patolojik koşullarda jnk, ERK1/2 ve p38 gibi birçok MAPK üyesinin anormal Tau fosforilasyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Churcher, 2006).

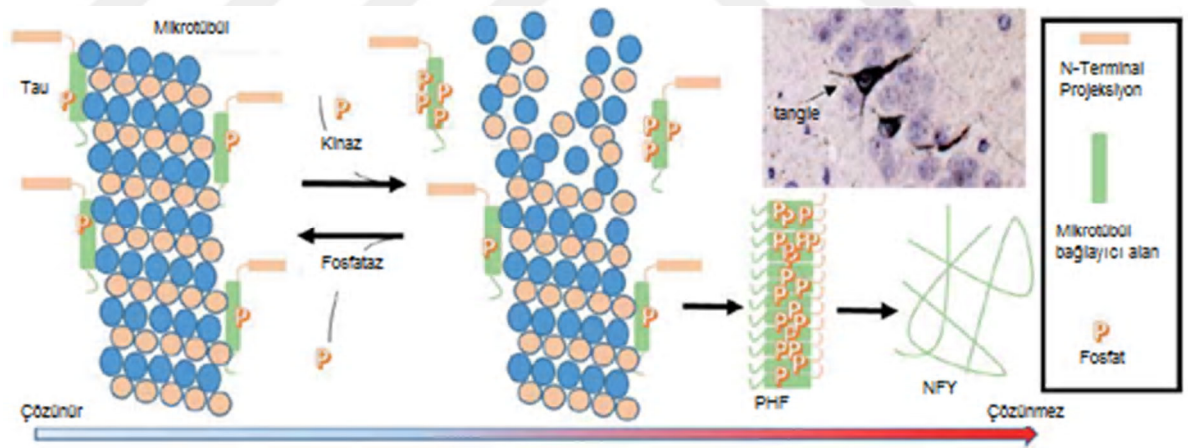
Tau'nun fosforilasyonunda rol alan prolin bağımlı olmayan protein kinazlar; kazein kinaz 1 (CK1), PKC, CaMKII, fyn ve PKA'dır (Wang ve Liu, 2008; Meroz-Rios ve ark., 2010). Tüm bu kinazların patolojik koşullarda Tau'nun anormal fosforilasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Kuret ve ark., 1997; Yamamoto ve ark., 2002; Liu ve ark., 2003; Lee ve ark., 2004).

Tau Fosfatazlar

Tau defosforilasyonunda çeşitli fosfotazlar (PP) etkin rol oynar (Avila ve ark., 2004; Sergeant ve ark., 2005). İn vitro çalışmalar ağırlıklı olarak sadece üç fosfatazın (PP1, PP2A ve PP2B), Tau'yu defosforile ettiğini göstermiştir (Yamamoto ve ark., 1988; Wang ve ark., 1995). Beyinde, Tau defosforilasyonu esas olarak fosfataz 2A (PP2A) tarafından düzenlenmiş gibi görünmektedir, ancak fosforilasyon alanlarının hepsi PP2A'ya bağlı değildir (Gong ve ark., 2000; Liu ve ark., 2005). PP2A'ya ek olarak, beyindeki Tau fosforilasyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan başka bir protein fosfataz 5 (PP5)'tir. PP5, memelilerde beyinde yüksek olmak üzere her yerde ifade edilir. İn vitro çalışmalarda, PP5'in Tau'yu defosforile ettiği ve mikrotübüller ile etkileşime girdiği gösterilmiştir (Gong ve ark., 2004).

2.5.5 Tau agregasyonu

Tau agregasyonu oluşumunda primer neden hiperfosforilasyon olarak düşünülmektedir. Fizyolojik koşullarda Tau mikrotübülleri bağlayarak stabilize eder. Tau fosforilasyonunun homeostazı kinazlar ve fosfotazlar aracılığıyla korunur. Fosforilasyon/defosforilasyon döngüsü bozulduğunda (artan kinaz aktivitesi veya azalan fosfataz aktivitesi) Tau'nun anormal fosforilasyonu ile hücrelerde hiperfosforile Tau birikimi meydana gelir. Tau'nun mikrotübüllere bağlanma afinitesi azalır, bu da mikrotübülleri destabilize eder. Bağlanmamış, serbest hiperfosforile Tau monomerleri kendi üzerlerine hatalı katlanırlar ve toksik oligomere ve ardından toksik özellikte çözilemeyen çift sarmallı filamanlara (PHF) dönüşürler. PHF'ler ısı şoku proteinleri ve başlıca ubiquitin proteazom sistemlerinin varlığında intranöronal nörofibriler yumaklar (NFY) halinde kondanse olurlar. NFY'lerin, PHF'lerin etkisini sınırlamaya çalışan bir savunma mekanizması olduğu düşünülmektedir. NFY'ler ise hücre iskeleti bütünlüğü ve aksonal iletimi bozarak hücrenin ölümüne neden olurlar (Gürvit 2004).



Şekil 2.10. Tau protein agregasyonunun şematik gösterimi

1990 yılında M. Goedert ve meslektaşları, PHF'de Tau'nun tüm izoformlarının hiperfosforile edildiğini bulmuşlardır ve bundan sonra, PHF'lerin çoğunlukla hiperfosforile edilmiş Tau türlerinden oluştuğu yaygın olarak kabul edilmiştir. Hiperfosforile Tau agregasyonu ile ilişkilidir ancak tek başına agregasyonu oluşturduğuna dair kanıt bulunamamıştır (Goedert ve Jakes, 1990).

Agregasyon oluşumunun bir diğer nedeni de trunkasyondur. Trunkasyon Tau'nun agregasyon özelliğiyle yakından bağlantılı olan posttranslasyonel modifikasyonlardan biridir. Tau, proteaz sindirimine çok duyarlıdır ve tam uzunluktaki bir Tau proteinin birden fazla potansiyel bölünme yeri vardır. Çok sayıda in vitro ve in vivo çalışmalar, Tau'nun kalpain, kaspaz, trombin, katepsin, puromisin spesifik aminopeptidaz ve asparajin endopeptidaz için bir substrat olduğunu göstermiştir (Zhou ve ark., 2018). Tau'nun trunkasyonları, agregasyona oldukça yatkın olan mikrotübül bağlayıcı olan bölgesini içeren birçok fragmana yol açar (Wang ve Mandelkow, 2016). Bazı çalışmalar PHF yapılarında kesik Tau formlarının varlığını bildirmiştir, bu da Tau trunkasyonunun Alzheimer beyinlerinde Tau agregasyonu ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (Mena ve ark., 1996; Gamblin ve ark., 2003). Ayrıca in vitro deneyler, C-terminal alanından kesilmiş Tau'nun, büyük olasılıkla daha hızlı ve daha büyük toplanma eğilimi nedeniyle, tam uzunlukta formuna kıyasla daha toksik olduğunu ortaya koymuştur (Abraha ve ark., 2000).

2.5.6 Taupatiler

'Tauopati' terimi, hareket bozuklukları ve Tau'nun patolojik birikimi ile klinik olarak karakterize edilen, heterojen hastalıklar grubunu ifade eder. Son on yılda araştırmacılar, tauopatilerin belirli özelliklerini (davranışsal, histolojik ve biyokimyasal) taklit etmek için hayvan modelleri geliştirdiler. Bu modeller, tauopatilerin patomekanizmalarının anlaşılması ve potansiyel terapötik stratejilerin belirlenmesi açısından kritiktir (Özcelik, 2013). En iyi bilinen taupati Alzheimer hastalığıdır.

Alzheimer Hastalığı

Alzheimer hastalığı hafıza, dikkat ve sosyal fonksiyonlarda bozulmaya ve demansa neden olan nörodejeneratif bir hastalıktır (Moodly ve Chan, 2014). İlk olarak 1901'de Alman psikiyatrist Alois Alzheimer (1864-1915) tarafından tanımlanmıştır. Dr. Alzheimer Frankfurt Asylum'da Bayan Auguste D. adlı bir hastayla tanıştı. Bu 51 yaşındaki kadının çeşitli bilişsel semptomlarının arasında kısa süreli hafıza kaybı yaşaması doktorun ilgisini çekti. Beş yıl sonra hastanın ölümünün ardından Dr. Alzheimer, Dr. Emil Kraepelin ile birlikte çalışarak, Münih'ten kendisine gönderilen beyni boyama yöntemiyle inceleyerek, ilk kez, senil plak ve nörofibriler yumaklardan bahsetti (Alzheimer, 1907, 1911).

AH'de, makroskopik olarak kortekste ve hipokampüste yaygın atrofi, serebral giruslarda düzleşme ve sulkuslarda genişleme görülür (Elmacı, 2012). Histopatolojik olarak hastalığın evresinin derecesine göre değişen oranlarda; temel bileşeni hiperfosforile 'Tau' proteini olan intrasellüler NFY, ana bileşeni A β proteini olan ekstrasellüler senil plaklar (SP), sinaps ve nöron kaybı ve özellikle korteks ve hipokampüste atrofi saptanır (Katzman ve Saitoh, 1991). Senil amiloid plak oluşumu özellikle amigdala, hipokampus ve neokortekste görülür (Khachaturian, 1985; Probst ve ark., 1991). SP'ler ve NFY'ler normal yaşlanmada ve bazı başka nörodejeneratif hastalıklarda görülebildiği için AH'nin kesin tanısında NFY'lerin neokortekste ve SP'lerin ise nöritik plak görünümünde limbik sistemde olmaları gerekmektedir (Gürvit, 2004).

Hastalığın patofizyolojisinin açıklanmasında kolinerjik hipotez, A β hipotezi, Tau hipotezi ve inflamasyon hipotezi gibi farklı hipotezler mevcuttur. Tau hipotezine göre; yukarıda açıklanan Tau hiperfosforilasyonu ve trunkasyonuna eşlik eden diğer posttranslasyonel modifikasyonlar sonucu, beyinde NFY oluşumu gözlenir (Kumar ve ark., 2015).

Progresif Supranükleer Palsi

Progresif supranükleer palsi (PSP) Steele-Richardson-Olszewski sendromu olarak da bilinir. Bu nörodejeneratif bozukluk supranükleer dik bakış palsisi, rijidite ve distoni gibi motor bozukluk ile karakterizedir. Nöropatolojik olarak, nöronal kayıp, gliosis ve NFY oluşumu PSP'nin karakteristik semptomlarıdır (Steele ve ark., 2014). NFY ilk olarak bazal gangliyonda (esas olarak globus pallidus ve subtalamik çekirdek), beyin sapı ve serebellumda ortaya çıktığı için "subkortikal demans " oluşturmaktadır (Albert, 1974; Cummings ve Benson, 1984). Tipik Tau agregaları ve NFY'ler, astrositler ve oligodendrositler gibi farklı beyin bölgelerinde görülür (Probst ve ark., 1988; Litvan ve ark., 1996).

Kortikobazal Dejenerasyon

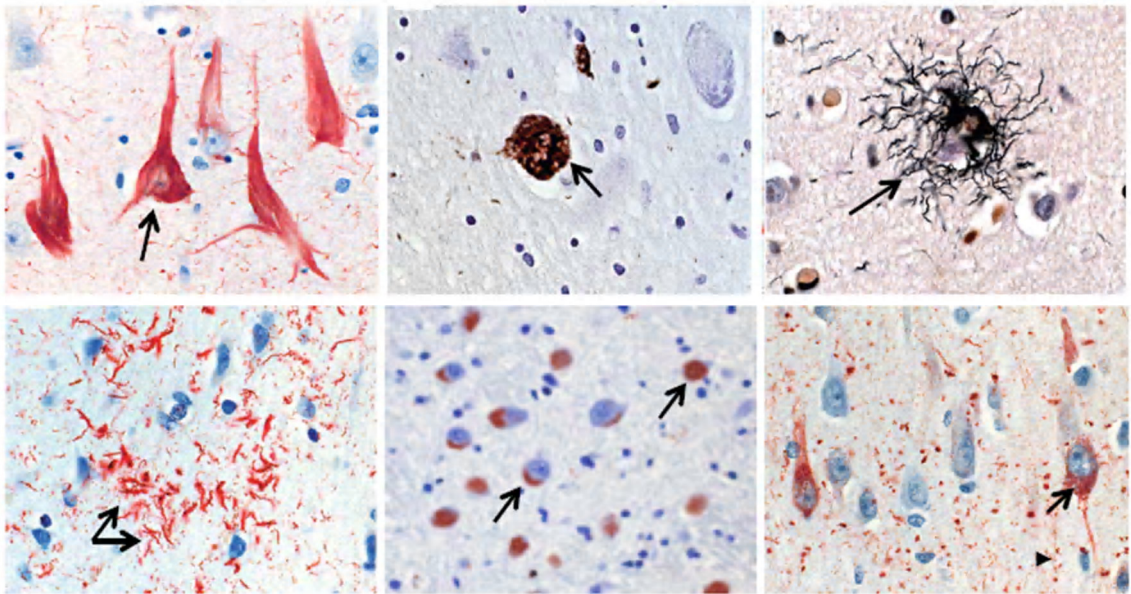
Kortikobazal dejenerasyon, afazi, apraksi, orta derecede demans gibi bilişsel bozukluklar ve ekstremitelerde rijidite, distoni ve tremor gibi motor rahatsızlıklar ile karakterize bir hastalıktır. Patolojik analizler frontoparietal atrofiyi ve nöronal Tau inklüzyonlarını göstermiştir. Tau hiperfosforile formda bulunur (Avila ve ark., 2004).

Pick hastalığı

Pick hastalığı davranış bozuklukları, duygu durum değişimi ve dil bozukluğu ile karakterize ilerleyici bir klinik seyir gösteren nadir, nörodejeneratif bir hastalıktır (Constantinidis ve ark., 1974). Pick organları olarak bilinen frontal lob nöronlarında sitoplazmik Tau inklüzyonlarının varlığı ile karakterizedir. Dentat girusun granüler hücreleri de etkilenir (Avila ve ark., 2004).

Argyrophilic grain hastalığı

Argyrophilic grain hastalığı (AgH), %5 prevalansı ile yaşlı bireyleri etkileyen yaygın, bir demanstır. AgH, entorinal kortekste, hipokampüste (CA1, subiculum) ve amigdalada sıklıkla AH'nin tipik nörofibriler yumakları ile birlikte immunoreaktif Tau birikimi ile karakterizedir. AgH'nin patogenezi bilinmemektedir. Patolojinin klinik semptomları hafıza kaybı, demans, ruh hali ve duygusal dengesizlik gibi davranışsal değişikliklerdir (Braak ve ark., 1998; Tolnay ve ark., 2001).



Şekil 2.11. Taupatilerde görülen farklı Tau agregasyonları **a.**Alzheimer hastalığında görülen nörofibriler yumaklar **b.**küre şeklindeki yumaklar **c.**Progresif Supranükleer Palsi'de görülen yumaklar **d.**Kortikobazal dejenerasyonda görülen yumaklar **e.**Pick hastalığında görülen yumaklar **f.**Argyrophilic Grain hastalığında görülen yumaklar

2.5.7 Tau Agregasyon İnhibitörleri

Agregasyonu inhibe etmeyi amaçlayan 2 ana yaklaşım tanımlanabilir;

1. Tau hiperfosforilasyon inhibitörleri
2. Doğrudan agregasyon inhibitörleri

2.5.7.1 Hiperfosforilasyon İnhibitörleri

Tau'nun hiperfosforilasyonu, Tau aracılı nörodejenerasyonda erken ve önemli bir olay gibi görünmektedir. Fosforilasyon miktarı, Tau kinazlarının ve fosfatazlarının faaliyetleri arasındaki dengeye bağlıdır. Tau kinazların inhibisyonu ve Tau fosfatazların aktivasyonu AH ve diğer taupatiler için terapötik hedeflerdir.

AH olan bireylerde kinaz GSK-3 inhibitörlerinin (Lityum ve tideglusib) uzun süreli kullanımında hiperfosforile Tau miktarının azaldığı ve motor semptomların düzeldiği gözlemlenmiştir. Uzun süreli kinaz inhibisyonunun nörodejenerasyon üzerindeki yararlı etkisi gösterilmeye devam etmektedir (Spillantini ve Goedert, 2013).

Başka bir strateji, fosfat gruplarını Tau'dan uzaklaştıran protein fosfatazları aktive etmektir. PP2A beyindeki primer Tau fosfatazdır. Yapılan çalışmalarda folik asit, antidiyabetik ilaç metformin ve düşük dozda sodyum selenatın, PP2A aktivitesini arttırarak Tau fosforilasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Böylece Tau agregasyonu ve nörodejenerasyon azaltılarak bilişsel düzey arttırılmıştır (Sontag ve ark., 2008; Kickstein ve ark., 2010; Van Eersel ve ark., 2010).

2.5.7.2 Doğrudan agregasyon inhibitörleri

Çözünür ve monomerik Tau'dan hiperfosforile, çözünmez ve ipliksi Tau'ya giden yol, insan taupatilerinin merkezidir. Bu nedenle, Tau agregasyonunun ve demontajının engellenmesi umut verici terapötik bir yoldur. İnhibitör polifenoller, fenotiyazinler, antrakınonlar ve kinoksalinler gibi küçük moleküller in vitro Tau filament oluşumunu inhibe edebilir. Üzüm çekirdeği polifenolik özünün, bir fare tauopati modelinde patolojik değişikliklerin gelişimini zayıflattığı gösterilmiştir (Spillantini ve Goedert, 2013). Emodin, daunorubisin ve adriamisin gibi antrakınonlar, eşleştirilmiş sarmal filament oluşumunu önlemek ve PHF demontajına neden olmak için Tau agregalarını hedefler. Bununla birlikte, antrakınonlar da dahil olmak üzere bazı Tau agregasyon inhibitörleri, potansiyel olarak toksik Tau agregalarının oluşumuna yol açabilen monomerik çözünür Tau seviyelerini azaltmaz (Martin, 2016). Fenotiyazin Metilen Mavisi, in vitro Tau agregasyonunu inhibe ettiği bildirilen ilk bileşik olmuştur. Bu

bileşik, Tau'nun tekrar bölgelerindeki sistein kalıntılarının sülfenik, sülfirik ve sülfonik aside modifikasyonu ile agregasyonu inhibe eder. Sonuç olarak, Tau agregasyonu baskılanmış olur. Hafif ile orta AH için yapılan bir faz 2 klinik çalışmasında, MM bilişsel defisitlerin tedavisinde etkili olmuştur (Spillantini ve Goedert, 2013).

2.6 TAU AGREGASYON İNHİBİTÖRÜ: METİLEN MAVİSİ

2.6.1 Metilen Mavisi'nin Tarihçesi

Ondokuzuncu yüzyılın sonlarında, zenginleşen tekstil endüstrisinde boyalara artan talep, sentetik boyaların araştırılmasında hızlı ilerlemeler getirdi. Bu ilerlemenin en belirgin sonuçlarından biri, Avrupa şehirlerinin günlük yaşamına çok sayıda rengin dahil edilmesi olmuştur (Streba ve ark., 2007). 1856'da William Perkin tarafından ilk anilin bazlı boyaların sentezi, sentetik boyaların popülaritelerinde bir artışa yol açtı ve boya öncüleri olarak anilin türevlerinin kullanımı üzerine araştırmaları teşvik etti. 1876'da MM Heinrich Caro tarafından pamuk boyanması için anilin bazlı bir boya olarak sentezlendi (Öz, 2011).

Robert Koch ve Paul Ehrlich gibi bilim adamları hücre boyama tekniklerinde bu sentetik boyaların kullanılabileceğini düşündüler. 1886 yılında Doktor Paul Ehrlich çalışmaları esnasında ilginç bir olayın farkına vardığında MM'nin tıbbi kabiliyeti ortaya çıktı. Caro tarafından sentezlenen MM, canlı nöronları maviye dönüştürmüş ve insan kanındaki plazmodyum (sıtmaya neden olan parazit) üzerinde de aynı etkiyi göstermişti. Ehrlich boyanın insan bedenindeki sıtmanın yerinin tespitinde ve bu hastalığın tedavisinde kullanılabileceği sonucuna vardı (Guttmann ve Ehrlich, 1891). Böylece MM, klinikte antiseptik olarak kullanılan ilk sentetik bileşik oldu. Ehrlich'in MM ile olan ilk çalışması, MM'nin çok sayıda ve yeni deneysel uygulamada kullanılmasını içeren bilimsel bir devrimi körükledi. Yüzyirmi yıldan fazla bir süre içinde araştırmacılar MM'nin benzersiz birçok biyoaktif yönünü keşfettiler ve klinikte birçok alanda kullandılar (Peter ve ark., 2000).

Yirminci yüzyılın başlarında, psikiyatristler MM'yi şizofreni için deneysel bir tedavi olarak kullanıyorlardı (Rojas ve ark., 2012). Bir yüzyıldan fazla bir süre sonra, MM'nin sinir dokusu için yüksek afinitesinin gözlemi, MM'nin bellek artırıcı ve nöroprotektif bir ajan olarak önemli etkilerini ortaya koyan araştırmalarda yeniden keşfedilmiştir. Spesifik olarak MM, hafif kognitif bozukluk, AH, Parkinson hastalığı, Leber optik

nöropati gibi nörodejeneratif bozukluklarda potansiyel bir farmakoterapi olarak yeniden tanıtılmıştır. MM sadece sinir dokusu için büyük bir afiniteye sahip bir boya değil, aynı zamanda en güçlü antioksidanlardan biri olarak kabul edilmiştir (Ohlow ve Moosmann, 2011). Yapılan çalışmalar sonucu, MM'nin sağlıklı hayvanlarda ve insanlarda hafızayı etkili bir şekilde geliştirdiği gösterilmiştir. Bu arttırıcı etkiler, çeşitli deneysel öğrenme ve hafıza paradigmlarında gösterilmiştir. Buna ek olarak, MM ruhsal bozukluklar ve kalp durması ile ilişkili beyin hasarı tedavisinde de kullanılmıştır (Sharma ve ark., 2011).

2.6.2 Fizyokimyasal Özellikleri

Metiltiyoninyum klorür ($C_{16}H_{18}ClN_3S \cdot 3H_2O$), 3,7-Bisdi-metilamino fenazathionium klorür trihidrat kimyasal adı ya da kısaca Metilen Mavisi adı ile anılan organik bir tiyazin boyasıdır. Su, alkol ve kloroformda çözünen koyu mavi-yeşil, kokusuz ve kristal toz halindedir. Molekül ağırlığı 319 g.mol^{-1} ve 10 g.l^{-1} sulu bir çözeltide pH 3'tür. Metiltiyoninyum klorür, 180°C erime noktasına sahiptir ve yanma durumunda toksik dumanlar gelişebilir. Güneş ışığından $15-25^\circ \text{C}$ sıcaklıkta saklandığında kararlıdır (Faber ve ark., 2005). MM, fenotiyazin sınıfına aittir ve merkezi sinir sisteminde hareket etmesi beklenen ilaç adayları için gerekli birçok özelliğe sahiptir. Bunlardan, sulu ortamdaki yüksek çözünürlüğü, sıçanlarda ve insanlarda düşük toksisitesi, kan-beyin bariyerini geçme kabiliyeti ve insanlarda kullanım onayı özellikle potansiyel bir terapötik olarak caziptir (Necula ve ark., 2007).



Şekil 2.12. Metilen Mavisi'nin kimyasal formülü ve görünümü

Metilen Mavisi, amiloid plaklar ve nörofibriller yumaklar

Son zamanlarda, MM'nin AH'de bilişsel düşüşü yavaşlatma potansiyeli dikkat çekti. AH histolojik olarak amiloid- β plakları, Tau proteininin anormal agregasyonundan kaynaklanan hücre içi nörofibriller yumaklar ve özellikle kolinerjik sistemi etkileyen nöronal hücre kaybı ile karakterizedir. Son çalışmalar, MM'nin AH'de gözlenen hücre ve nörotransmitter patolojilerinin çoğunda etkili olduğunu göstermiştir ve bu bulgular MM'nin yalnızca AH için değil, hafıza bozukluğuna neden olan bir dizi hastalık için de terapötik potansiyelini vurgulamaktadır (Edlin, 2011).

β -amiloid proteinin birikiminin AH patogeneğinde önemli bir rol oynadığına dair güçlü kanıtlar vardır. Amiloid plaklar olarak bilinen hücre dışı fibriller birikintilerine yol açan β -amiloid protein agregasyonu, proteinin üretiminde bir artış veya deagregasyonunda bir azalma içeren karmaşık bir süreçtir (Hardy ve Selkoe, 2002). Amiloid plakların oligomerizasyon ve fibril oluşumunun altında yatan mekanizmalar açıkça anlaşılamamasına rağmen, MM'nin in vitro β -amiloid oligomerizasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Necula ve ark., 2007). Yapılan çalışmalar sonucu MM'nin β -amiloid patolojisi üzerine etkisinin altında yatan mekanizmaların proteazom fonksiyonunda bir artış ile aracılık ettiği gösterilmiştir. Proteazom sistemi, β -amiloidin bölünmesi ve daha sonra temizlenmesi ile ilgilidir ve Alzheimer hastalığına sahip insanların beyinlerinde proteazom aktivitesinin azaldığı bildirilmiştir (Oddo ve ark., 2008). Bununla birlikte, MM'nin proteazom fonksiyonunu tam olarak nasıl etkilediği henüz bilinmemektedir, altında yatan mekanizmanın daha net anlaşılması için bu konu üzerine daha fazla araştırma yapılması gerektiği düşünülmektedir (Medina ve ark., 2010).

NFY, hiperfosforile Tau'dan oluşan eşleştirilmiş sarmal veya düz filamentlerden oluşur (Edlin, 2011). Hiperfosforile Tau proteininin birikimi, nöronal kayıp ve AH'deki kognitif bozukluğun şiddeti ile ilişkilidir. Wischik ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, Tau proteininin agregalarını inhibe etme potansiyeli nedeniyle bir dizi fenotiyazin araştırılmıştır. MM, eşleştirilmiş sarmal Tau filamentlerinin proteolitik stabilitesini tersine çevirerek bu görevde başarılı olduğu tespit edilen fenotiyazinler arasındaydı (Wischik ve ark., 1996). Tau proteininin mikrotübül bağlayıcı alanındaki dört tekrar bölgesinin (R1,R2,R3,R4) filament oluşumunda önemli bir rol oynadığı kabul edilmektedir. Bu nedenle, tekrarlama alanının MM'nin filament oluşumu üzerindeki inhibitör etkilerinde önemi de in vitro bir çalışmada araştırılmıştır (Edlin, 2011).

Metilen Mavisi ve Kolinerjik Sistem

Kolinerjik sistem, öğrenme ve hafızanın düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Ayrıca, *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar, kolinerjik aktivasyon ile amiloid plaklardaki protein metabolizması arasında bir bağlantı olduğunu göstermiştir. Kolinerjik çekirdeklerin lezyonları kortikal amiloid plaklarda hızlı bir artışa neden olur. Benzer şekilde, kolinerjik nörotransmisyonunda azalma amiloidojenik metabolizmaya yol açar ve AH'de nöropatolojiye ve bilişsel işlev bozukluğuna neden olur (Hattori ve ark., 2008). Bu nedenle, kolinerjik sistem AH'nin tedavisinde ilaç tasarımı için ortak bir hedef olmuştur. Yapılan çalışmalarda, güçlü bir muskarinik reseptör antagonisti olan skopolamin tarafından farelerde indüklenen bilişsel defisitlerin, MM tarafından tersine çevrildiği gösterilmiştir (Deiana ve ark., 2009).

Asetilkolinesteraz (AChE) asetilkolini hidrolize eden ve böylece bu nörotransmitterin kolinerjik sinapslarda etkisini sona erdiren bir enzimdir. AChE inhibitörleri sinaptik asetilkolin seviyesini artırır ve şu an Alzheimer hastalarında semptomatik tedavi olarak kullanılmaktadır. MM'nin AChE enzim aktivitesini inhibe ettiği uzun yıllardır bilinmektedir (Holzgrabe ve ark., 2007).

Memeli beyinde, kolinesterazın ikinci ana formu butirilkinesterazdır (BuChE). İki form, AChE ve BuChE, genetik ve yapısal olarak farklılık gösterir. İnsan beyinde BuChE, nöronlarda, glial hücrelerde, ayrıca Alzheimer hastaların nöritik plaklarında ve düğümlerinde bulunur (Greig ve ark., 2005). Alzheimer hastalarının beyinde AChE aktivitesi giderek azalırken, BuChE aktivitesi bir miktar artış gösterir. BuChE'nin Alzheimer hastalarında asetilkolini hidrolize etmek için azalmış AChE aktivitesini telafi edebileceği ileri sürülmüştür (Giacobini, 2003). Bu nedenle, ileri AH'nin tedavisi için AChE ve BuChE inhibitörleri önerilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucu MM'nin AChE enzim aktivitesini inhibe ettiği gibi, BuChE aktivitesini de inhibe ettiği bulunmuştur (Yücel ve ark., 2008).

Nöritik plakların ve nörofibriller yumakların oluşumunun yanı sıra AChE inhibisyonu üzerindeki etkiler dahil olmak üzere çoklu mekanizmaların, MM'nin AH ve muhtemelen diğer nörodejeneratif hastalıklarda yararlı etkilerine katkıda bulunduğu görülmektedir. Alzheimer ve Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarda geleneksel farmakolojik müdahale, tipik olarak nöronal dejenerasyona bağlı olarak azalan asetilkolin gibi spesifik nörotransmitterlerin sinaptik aktivitesini arttırmaya veya taklit etmeye çalışmaktır (Öz ve ark., 2009).

Metilen Mavisi ve Seratonerjik Sistem

Alzheimer hastalarının bilişsel işlevlerindeki düşüş büyük ölçüde kolinerjik disfonksiyonla ilişkili olabilirken, davranışsal ve psikolojik belirtilerde serotonin (5-HT) önemli bir rol oynamaktadır. Alzheimer hastalarında serotonin tükenmesi, frontal ve temporal kortekste serotonin reseptörlerinin azalması gibi serotonerjik sistem anormallliği görülür. Ek olarak, serebral kortekste serotonerjik projeksiyon liflerinde bir azalma bildirilmiştir. Nörofibriler yumakların sıklıkla olduğu dorsal ve medyan rafe çekirdeklerinde serotonerjik nöronların önemli bir kaybı mevcuttur (Lorke ve ark., 2006). MM'nin lokal veya sistemik uygulamadan sonra sıçan beyinde hücre dışı 5-HT düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir. Sonuç olarak, serotonin geri alım inhibitörleri ile birlikte uygulandığında, MM infüzyonu, serotonin sendromu olarak bilinen 5-HT toksisitesini çökeltebilir. Bu nedenle, serotonin geri alım inhibitörleri ile tedavi edilen hastalarda MM kullanımı kontrendikedir (Parlow ve ark., 2008).

Metilen Mavisi ve Glutamaterjik Sistem

MM'den etkilenen bir diğer önemli nörotransmitter sistemi glutamaterjik sistemdir. Sıçan hipokampuslarında, glutamat aracılı sinaptik iletim nispeten yüksek MM konsantrasyonları ile ortadan kaldırılır (Vutskits ve ark., 2008). Öte yandan, MM'nin hafıza ve iyonotropik glutamat reseptörlerinin dahil olduğu diğer beyin fonksiyonlarını arttırdığı bilinmektedir. NMDA reseptörlerinin uzun dönem güçlenmede ve sinaptik plastisite ile ilgili diğer olaylarda önemli rolleri göz önüne alındığında, MM'nin AMPA/kainat ve NMDA tipi iyonotropik glutamat reseptörlerinin işlevlerini farklı şekilde modüle etmesi mümkündür. MM uygulamasından sonra Alzheimer hastalarında gözlenen bilişsel işlevler üzerindeki yararlı etki, kısmen glutamaterjik sistem üzerindeki etkilere atfedilebilir (Callaway ve ark., 2004; Gonzales ve Bruchey, 2004).

Metilen Mavisi ve Mitokondriyal Fonksiyonlar

Bozulmuş mitokondriyal respirasyonu iyileştirmede başarılı olan ilaçların, nöronal enerji üretimini ve hafıza konsolidasyonunu iyileştirdiği de gösterilmiştir. Aslında, MM de bu tür bileşiklerden biridir (Öz ve ark., 2009). MM, hücrel ve mitokondriyal membranlardan nüfuz eder, mitokondri içinde birikir ve elektronları elektron taşıma zincirindeki oksijene aktararak düşük konsantrasyonlarda mitokondriyal respirasyonu geliştirir ve mitokondriyal metabolizmayı düzeltir (Visarius ve ark., 1997). Sitokrom oksidaz, elektron taşıma zincirindeki terminal enzimdir ve nöronal metabolizmayla ve ATP üretimiyle ilişkilidir. Belirli bir öğrenme görevini yerine getirirken, bellek

konsolidasyonu sırasında en yüksek metabolik talebe sahip beyin bölgeleri sitokrom oksidaz aktivitesindeki en büyük artışları göstermektedir. Sitokrom oksidaz aktivitesindeki bir artış, nöronların oksidatif metabolik kapasitesinin artmasına neden olur, çünkü beyinde daha fazla oksijen tüketimi ve adenozin trifosfat (ATP) oluşumuna izin verir. Sitokrom oksidaz aktivitesinin AH'de azaldığı gösterilmiştir (Pratico, 2008). MM uygulaması, sitokrom oksidazın enzimatik aktivitesini artırarak, beyindeki oksidatif metabolik kapasiteyi artırır. Ayrıca, yakın tarihli bir çalışmada, MM'nin hücrel yaşlanmayı geciktirdiği, oksijen tüketimini ve oksidatif strese direnci arttırdığı gösterilmiştir (Atamna ve ark., 2008).

Metilen Mavisi'nin Nitrik Oksit Sentaz ve Guanilat Siklaz Üzerine Etkisi

Nitrik oksit (NO) birçok biyolojik olayda önemli rolü olan, kısa yarı ömürlü bir serbest radikaldir. Nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi ile argininden sentezlenir. NOS'ın genetik olarak 3 farklı izoformu tespit edilmiştir. Bunlar; vasküler tonusu ayarlayan endotelial izoform (eNOS), nöroplastisite ve hafızada rol alan nöronal izoform (nNOS) ve immün/inflamatuvar olaylarda rol alan uyarılabilir form (iNOS)'dur (Çekmen ve ark., 2001).

NO diğer nörotransmitterlerden farklı olarak bir amino asit, amin yada peptid değildir, sinaptik veziküllerde depolanmaz, ekzositoz yoluyla salgılanmaz ve sinapslarda kendine özgü reseptörü bulunmaz. Gaz yapısında bir bileşik olup, üretilir üretilmez hücre membranından basit difüzyon yoluyla salınır. NO'nun öğrenme ve bellek üzerindeki rolü şu şekildedir; UDG oluşumu sırasında AMPA ve NMDA reseptörleri aracılığıyla hücre içi artan Ca^{++} , PKC ve CaMKII'yi aktive eder. CaMKII NOS enzimini aktive ederek NO üretilmesini sağlar. NO, postsinaptik nörondan difüzyon ile presinaptik nörona geçer, guanilil siklazı aktive eder ve cGMP artar. cGMP, protein kinaz G'nin uyarılmasına ve daha fazla glutamatın sinaptik aralığa salınmasına neden olur. Artan glutamat miktarı, postsinaptik nöronda Ca^{++} miktarının artışına ve dolayısı ile PKC aktivasyonunun artışına neden olarak protein fosforilasyonuna ve yeni reseptör oluşumuyla sonuçlanır (Eşsizoglu ve Yıldırım, 2009).

Yapılan çalışmalar, NO ve cGMP'nin UDB'ye katkıda bulunabileceği sonucuna varılmıştır (Hartel, 2001).

İn vitro ve in vivo yapılan çalışmalar sonucu MM'nin, guanilat siklaz ve NOS inhibitörü olduğu saptanmıştır (Volke ve ark., 1999).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Deney Hayvanlarının Temini

Mevcut çalışmada 40 adet erkek 2-3 aylık Wistar Albino türü sıçan kullanıldı. Sıçanların temini Erciyes Üniversitesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi (DEKAM) tarafından sağlandı. Bütün sıçanlar standart sıçan yemi ve çeşme suyu ile beslendi.

3.2 Araştırmanın Türü

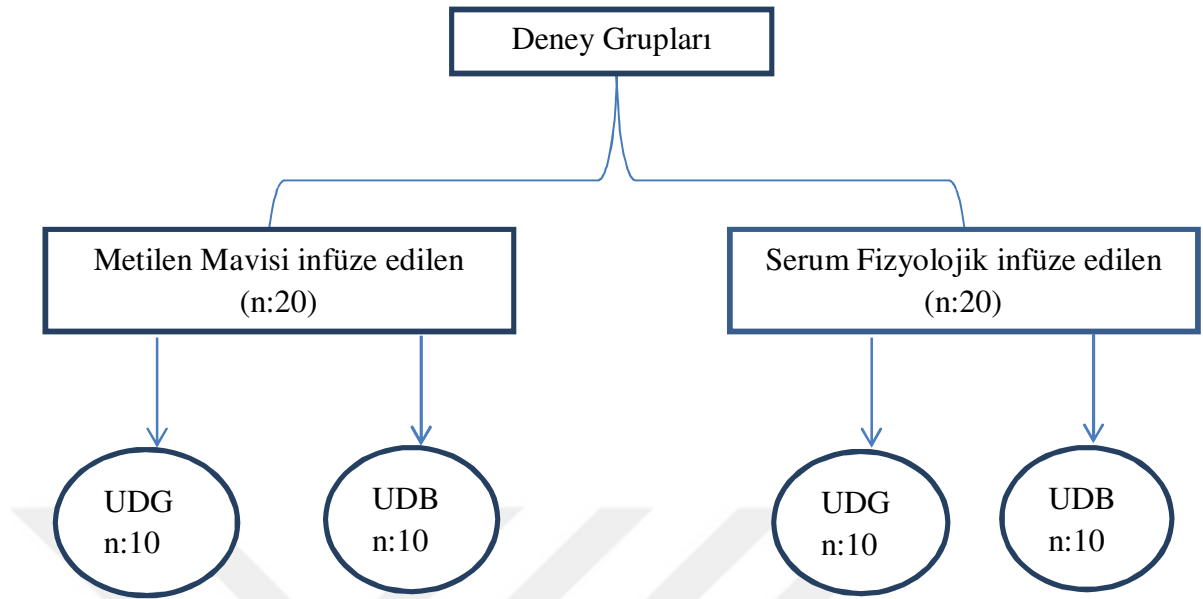
Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından desteklenen TYL-2018-8661 nolu yüksek lisans tez projesidir ve bu proje Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulunun 14.11.2018 tarih ve 18/139 sayılı onayı ile gerçekleştirilmiştir.

3.3 Hayvanların Gruplandırılması

Deney hayvanları 2 gruba ayrıldı.

1. Grup: Kontrol (Serum fizyolojik uygulanan) n:20
2. Grup: Metilen Mavisi uygulanan n:20

Metilen Mavisi verilen gruba 2 farklı uyarı protokolü uygulandı. Aşağıdaki şekilde bu gruplar özetlenmiştir;



Şekil 3.1. Deney gruplarının şeması

3.4 Elektronörofizyolojik kayıtların alınması

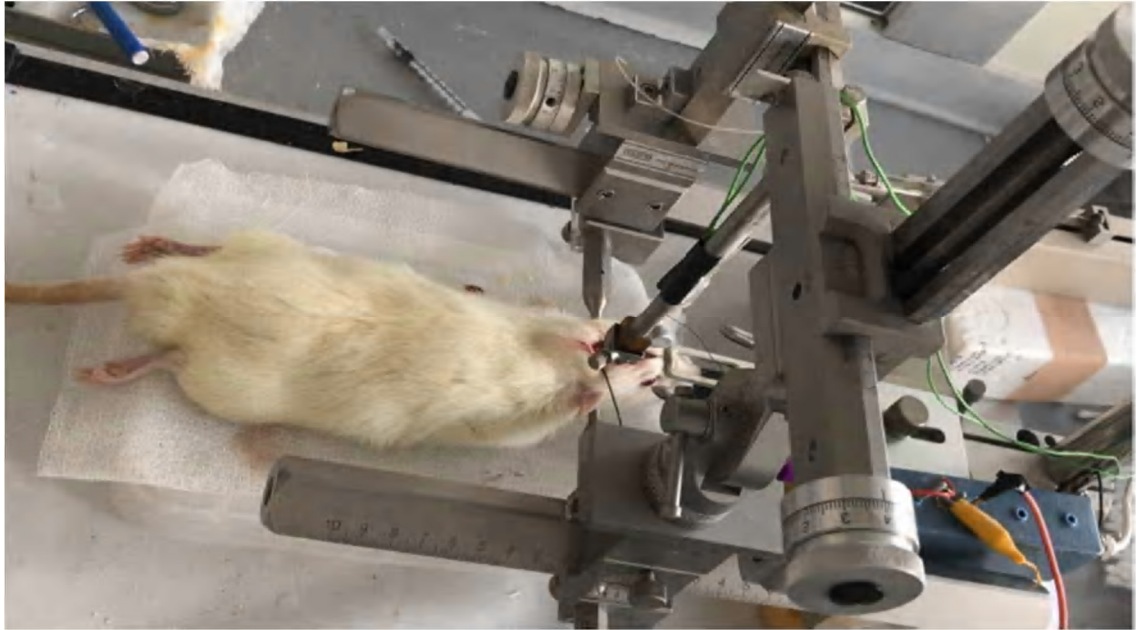
3.4.1 Uyarı ve Kayıt

Sıçanlar 1,2 g/kg dozda ürethanın intraperitoneal bölgeye uygulanması ile anestezi edildi. Anestezi altındaki sıçanlar sterotaksik çatıya ağız ve kulaklarından sabitlenerek yerleştirildi. Daha sonra uygun bir şekilde kafa derisi açılarak kafatasına ulaşıldı. Kafatasına ulaştıktan sonra bregma noktası belirlenerek işaretlendi ve sağ hemisferin hipokampus üzerine denk gelen kısmında delici matkap yardımıyla oval pencere açılarak ilgili bölgedeki kafatası kemiği çıkarıldı. Bregma referans alınarak Lambda ve bregma 'düzlem ayarlama çubuğu'yla (Rat Alignment Tool) aynı hatta getirildikten sonra, bipolar uyarıcı elektrot (Teflon kaplı, paslanmaz çelik, 127 µm çaplı, ucunun yüzeyi izole edilmiş) medyal perforan yol uyarımı için; koordinatları bregmaya göre mm: - Anterior - Posterior (AP) : 6,5; Medial - Lateral (ML) : 3,8 olacak şekilde yerleştirildi. Uyarıcı elektrotun iki kutbu düşük dirençli kablolar ile bir uyarım izolatörüne (A385, World Precision Instruments, USA) bağlandı. Dış çapı 1,5 mm ve uzunluğu 10 mm olan borosilikat kapiller tüplerden (World Precision Instruments) dikey bir mikropipet çekici (P30, Sutter Instrument Co, USA) ile hazırlanan ve içi 3M NaCl ile doldurulan cam mikropipet (uç direnci 2–10 MΩ) kayıt için ipsilateral dentat

girusun granül hücre tabakasına (bregmaya göre mm: AP: -3,5, ML: 2,15) yerleştirildi. Bir Ag-AgCl disk elektrot boyun derisi altına kondu ve referans elektrot olarak kullanıldı. NaCl ile doldurulan mikropipet içine kayıt elektrodu olarak yerleştirilen klorlanmış gümüş tel ve referans elektrodu bir head-stage kullanılarak tek kanal epitelyal voltaj/akım kısaç yükselteci (VCC600, Physiological Instruments) bağlandı. Bütün sistem bir Faraday kafesi kullanılarak topraklandı.

3.4.2 Tipik Elektriksel Yanıtın Elde Edilmesi

Hem uyarıcı hem de kayıt elektrodu, EPSP olarak tanımlanan pozitif yönlü bir sapmayı takip eden ve PS olarak tanımlanan maksimum negatif yönlü sapma elde edilene kadar derin yapılara indirildi. Granül hücre tipik yanıtı alınmaya başlandığında elektrot derinlikleri 0.1 mm artırılarak maksimal yanıt alındı. Tüm deneylerin sonunda ortalama elektrot derinlikleri uyarıcı elektrot için 2.5mm, kayıt elektodu için 3 mm olarak ayarlandı. Tipik kaydın elde edilmesi sırasında deney hayvanının durumu şekilde görülmektedir.



Şekil 3.2.Elektrofizyolojik kayıtlama için stereotaksik çatıya sabitlenmiş sıçanın görüntüsü

3.4.3 Lokal Alan Potansiyeli ve Sinaptik / Somatik Bileşenleri

Lokal alan potansiyeli, beyin dokusunun ekstrasellüler alanlarından, metal, silikon veya cam elektrotlar yardımı ile kayıt edilen elektrik potansiyelleridir. Bu yönüyle saçlı deri yüzeyinden makro-elektrotlarla kayıt edilen EEG'den farklıdır; ama EEG dalgalarının temelini oluşturur. Merkezi sinir sistemindeki nöronların bir aksiyon potansiyeli oluşturması, o nörondaki membran dinlenme potansiyelinin eşik değere yaklaştırılmış olması ile (yani depolarize olması ile) mümkündür. Bu depolarizasyon, pozitif yüklü iyonların postsinaptik hücreye akışından kaynaklanan geçici bir depolarizasyondur ve eksitator postsinaptik plastisite (EPSP) olarak bilinir. Dolayısıyla EPSP'ler postsinaptik nöronun aksiyon potansiyeli ateşleme olasılığını arttıran potansiyellerdir. EPSP'ye neden olan iyonların akışı eksitator postsinaptik akım (EPSC) olarak ifade edilir. Bu akım ya ligand kapılı iyon kanallarının açılmasının ya da hücreden deneysel olarak geçirilen pozitif akımların sonucudur. Bazı sinapslardaki potansiyel değişim membranı hiperpolarize edici yönde de olabilir. Nöronun aksiyon potansiyeli doğurmasını zorlaştıran bu potansiyeller ise inhibitör postsinaptik potansiyel (IPSP) olarak bilinir. Sonuç olarak, postsinaptik nöron membranında zamansal veya uzamnsal olarak biriken EPSP ve IPSP'ler, o nöronun aksiyon potansiyeli doğurma frekansını belirler.

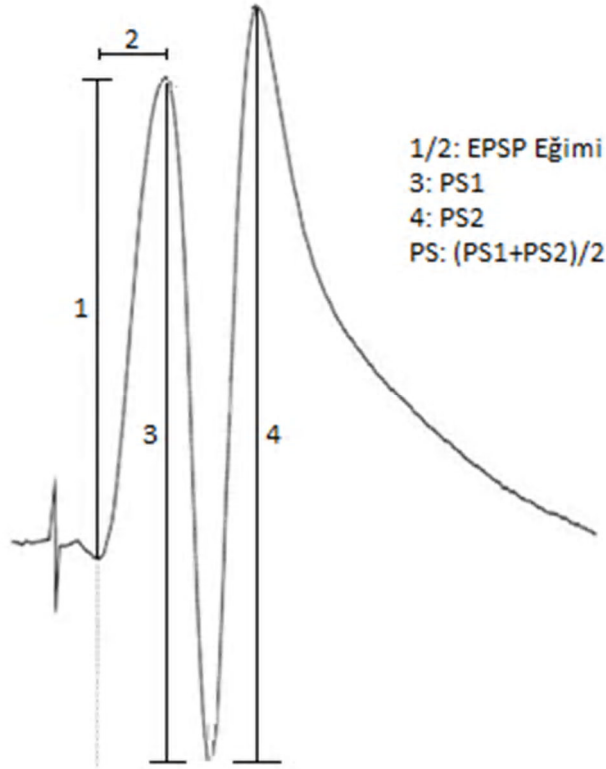
EPSP'ler hücre içi yöntemle kaydedildiğinde elektrik sinyal son derece küçüktür. Nöronların aynı oryantasyonda olacak şekilde düzenli bir yerleşim gösterdiği bazı beyin bölgelerinde (hipokampus gibi), bu nöronlar eş zamanlı olarak uyarıldıklarında (yani eş zamanlı sinaptik girdi aldıklarında) her bir nöronda oluşan EPSP'ler ekstrasellüler alana yerleştirilmiş bir mikroelettrot ile kolayca kaydedilebilecek bir sinyal üretirler. Nöron popülasyonundan kaydedilen hücre dışı sinyal lokal alan potansiyelidir. Perforan yolun uyarılması, hipokampal formasyonun dentat girusunda, böyle bir lokal alan potansiyeli oluşturur.

İlk pozitif sapmayı takip eden bir negatif dalga da görülmektedir. Bu dalga ilgili nöron havuzunda uyarımdan sonra aksiyon potansiyeli oluşturan nöronlardan kaynaklanır ve PS olarak bilinir. Popülasyondaki nöronların benzer oryantasyon göstermesi nedeni ile, aksiyon potansiyelini oluşturan akımlar da, EPSP'de olduğu gibi birikerek, ekstrasellüler yerleşimli elektroda yansır ama bu lokal akımların yönü, aksonların yerleşimi nedeni ile EPSP'yi oluşturan akımların tersinedir. Bu nedenle popülasyon spike (PS), negatif olarak kaydedilir. PS dalgasının genliği (daha doğrusu dalgaının

alanı), aksiyon potansiyeli doğuran hücre sayısı ile orantılıdır. Aksiyon potansiyelinin oluşması sinaptik güçteki değişmeye bağlı olduğundan, EPSP eğimi ve PS genliğindeki değişmelerin paralel olması beklenir. Ancak, sinaptik değişmelerden bağımsız olarak, hücrenin uyarılabilirlik düzeyinin değişmesi ve bu nedenle PS genliğinin EPSP eğimi ile paralellik göstermemesi de mümkündür.

3.4.4 Veri Kazanımı ve Uyarım

Veri kazanımı ve uyarım işlem kontrolü “Scope” yazılımı (ADInstruments, Colorado Springs, CO, USA) ile yapıldı. A/D çevirici (Powerlab/8SP, ADInstruments, Colorado Springs, CO, USA) vasıtasıyla tek fazlı 10 V 0.175-ms süreli pulslar olusturuldu, uyarı izolatörünün tetiklenmesinde kullanıldı. Kaydedilen biyolojik sinyaller 0.1-10 kHz band-genişliğinde bir yükselticide 1000x kez yükseltildi. Aktivite 20 ms için 40 kHz hızında çevrimiçi olarak rakamsallaştırıldı.



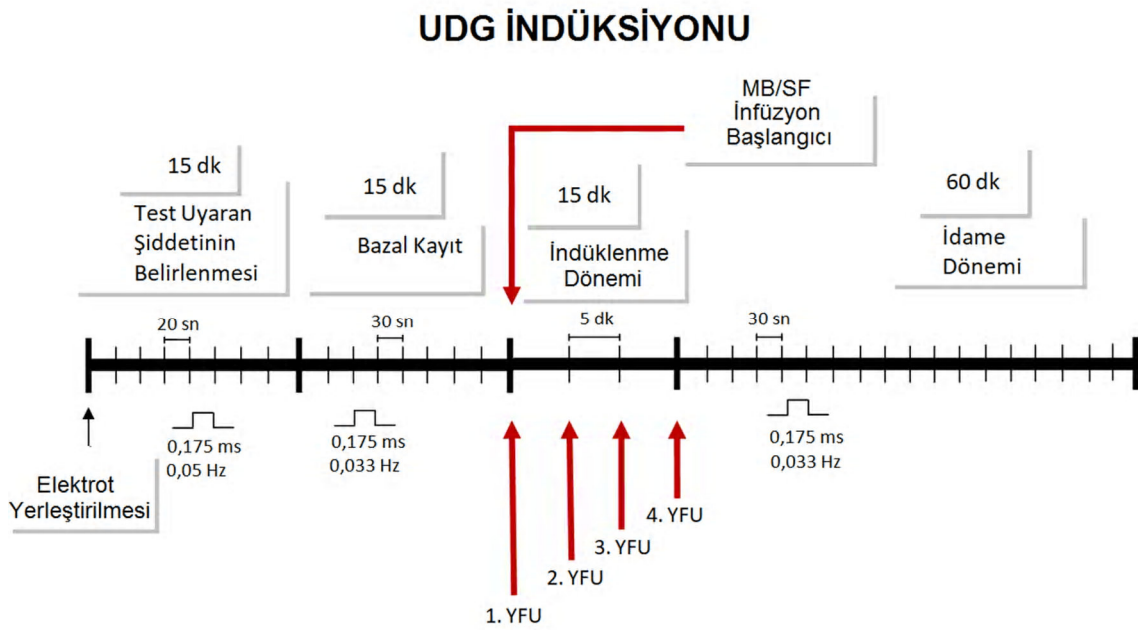
Şekil 3.3. Örnek bir deneyde elde edilen tipik bir elektriksel aktivite kaydı

3.4.5 Girdi-Çıktı Eğrileri “Input/output(i/o) curve”

Elektrotların kayıt alınacak uygun bölgeye yerleştirilmesinin ardından ilk 15 dakika boyunca test uyarın şiddetini belirlemek amacıyla hipokampusün dentat girus bölgesi 0.033 Hz frekanslı 0.5 mA şiddetinde 175 μ s süreli tek-fazlı sabit akım pulsları her 20 saniyede bir verilerek G/Ç eğrileri elde edildi. Bu sırada akım şiddeti 0.1 mA'den 1.5mA'e kadar 0.2 mA adımlarla artırıldı. Her akım şiddeti için kaydedilen 3 ardıl yanıtın ortalaması akım şiddetine karşı grafiklendirildi. En yüksek PS genliğinin yarısını oluşturan akım şiddeti test uyarın şiddeti olarak belirlendi ve deneyin sonraki aşamalarında bu akım şiddeti kullanıldı.

Protokollerin uygulanma metodları aşağıda açıklanmıştır.

1.Uzun Dönemli Güçlenme



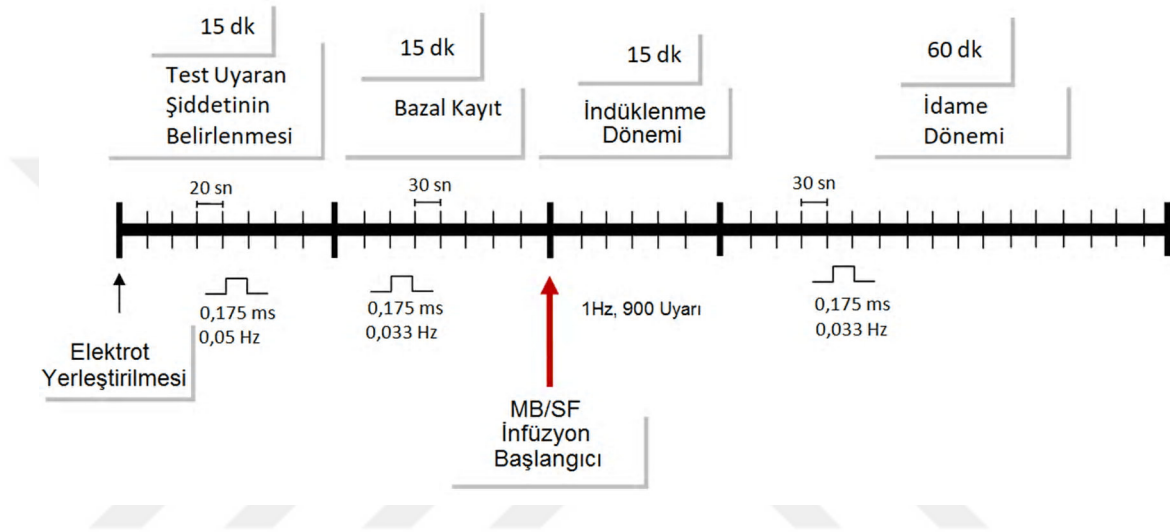
Şekil 3.4. Uzun dönemli güçlenme indüksiyon protokolü şeması

Test uyarını ile 30 sn'de bir uyarı verilerek 15 Dakikalık bir başlangıç kaydının ardından UDG, yüksek frekanslı uyarım (YFU) protokolü kullanılarak indüklendi. Bu protokolde YFU 100 Hz frekans altında 5'er dakika ara ile 4 kez uygulandı. YFU uygulaması ile birlikte başlayarak 1 saat boyunca dentat girusun granül hücre tabakasına

Hamilton enjektörü yardımıyla MM (50 uM) ya da serum fizyolojik (SF) infüze edildi ve 30 sn'de bir test uyarın şiddetinde uyarı verilerek kayıda devam edildi.

2.Uzun Dönemli Baskılanma

UDB İNDÜKSİYONU



Şekil 3.5. Uzun dönemli baskılanma indüksiyon protokolü şeması

Test uyarını ile 30 sn'de bir uyarı verilerek 15 Dakikalık bir başlangıç kaydının ardından UDB, düşük frekanslı uyarım (DFU) protokolü kullanılarak indüklendi. Bu protokolde DFU, 1 Hz frekans altında 15 dakika boyunca verildi. DFU uygulamasından itibaren başlayarak 1 saat boyunca dentat girusun granül hücre tabakasına Hamilton enjektörü yardımıyla MM (50 uM) ya da SF infüze edildi ve 30 sn'de bir test uyarın şiddetinde uyarı verilerek kayıda devam edildi.

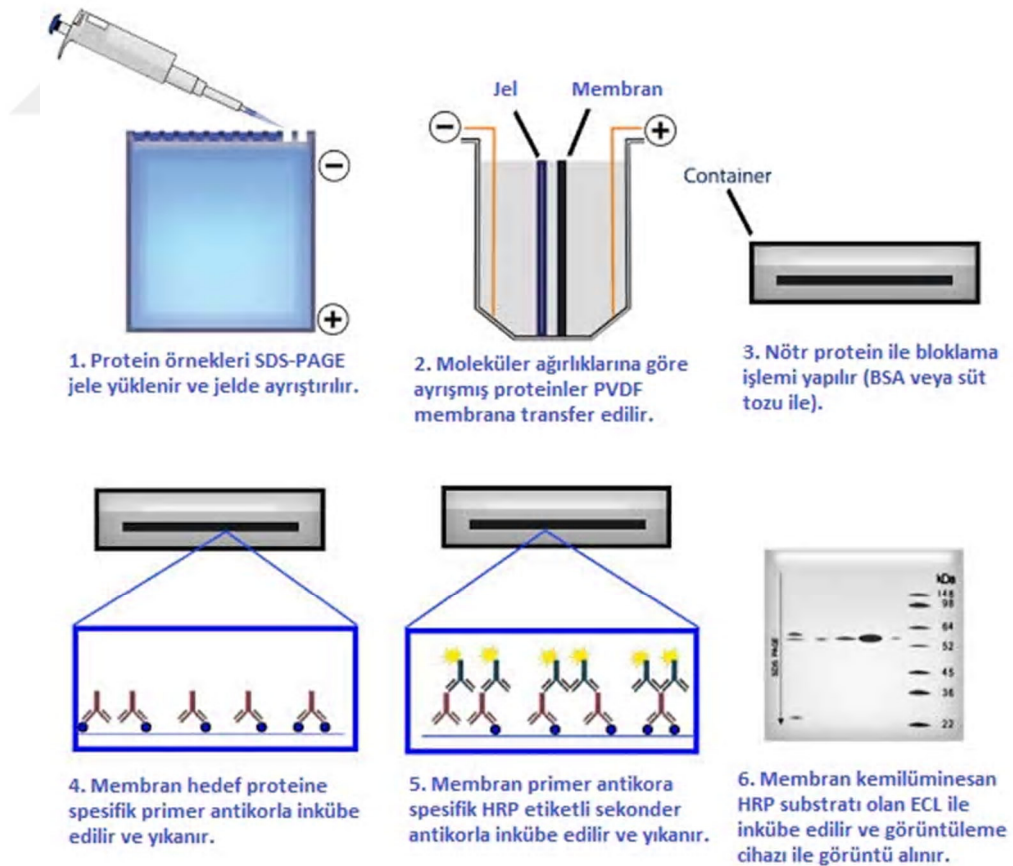
3.5 Veri Analizi ve İstatistik

EPSP dalgasının eğimi; dalga'nın başlangıcı ve PS dalgasının başlangıcı arasındaki voltaj farkının %20–80'si olacak şekilde hesaplandı. PS genliği ilk pozitif yükselti ve sonraki negatif yükselti arasındaki fark olarak hesaplandı. Başlangıçtaki 15 dakikalık bazal kayıt süresinde tetiklenen 30 alan potansiyelinin EPSP ve PS'lerinin ortalama eğim ve genlik değerleri 100 kabul edildi; YFU sonrasındaki her EPSP ve PS eğim ve genlik değerleri 100 kabul edilen değerlerin yüzdesi cinsinden hesaplandı. UDG'nin

indüksiyonu için YFU sırasında oluşan eğim ve genliklerinin, indüksiyon döneminden sonra 60 dakika süreyle kaydedilen idame dönemi için ise son YFU'dan deney sonuna kadarlık bölümde oluşan eğim ve genlik değerlerinin ortalamaları alındı. İstatistik karşılaştırmalar için, uygunluk durumu dikkate alınarak Mann-Whitney U testi, unpaired Student *t*-testi ve Tek Yönlü ANOVA testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak seçildi.

3.6 Western Blot Yöntemi ile Protein Analizi

Deney sonrası sıçanların beyinleri dekapite edilerek sağ ve sol hemisfer olarak ayrıldıktan sonra hipokampusleri çıkartıldı. Doku örnekleri ependorf tüplere alınarak çalışmanın yapılacağı zamana kadar -80 derecede saklandı. Çalışma yapılacağı esnada örnekler çıkartıldı ve hipokampal dokulardan RIPA lizis tamponu ile protein izolasyonu yapıldı. Biçinkonik asit (BCA) belirteci ile 520 nm'de protein konsantrasyon tayini yapıldı.



Şekil 3.6 Western-blot yöntemi aşamaları (<https://www.biolegend.com/en-us/western-blot> " web-adresinden alınmıştır.)

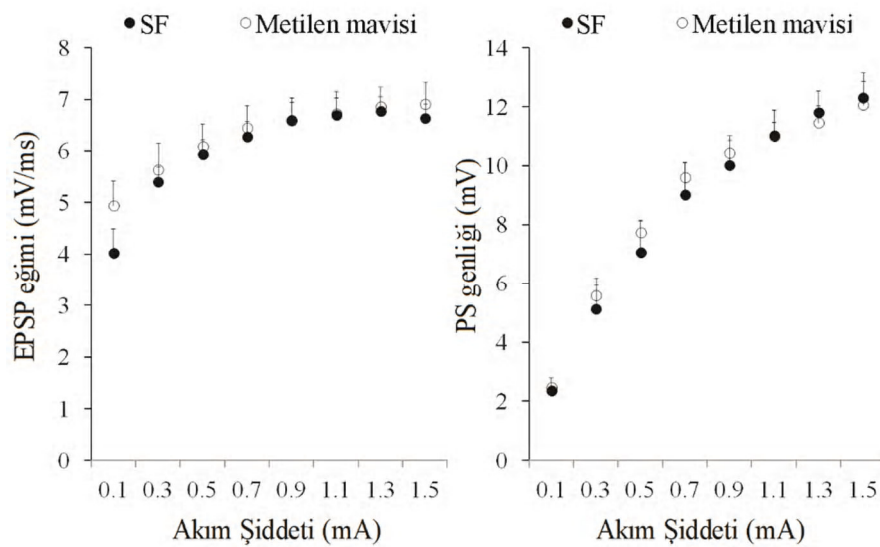
1. Örnekler jel elektroforezine 5 dakika etüvde inkübe edildikten sonra yüklendi. (Tüm gruplara ait örnekler her kuyucukta 20 µg protein olacak şekilde SDS jelle yüklendi. Proteinlerin yürütülme işlemi, maksimum voltaj (V) ve jel başına 25 mili amper (mA) olacak şekilde elektroforez tankında gerçekleştirildi.)
2. Daha sonra elde edilen SDS jeller, maksimum voltaj, 240 mA' de 90 dakika boyunca PVDF membrana aktarıldı.
3. Membrana transfer işlemi gerçekleştirildikten sonra TBS-T ile hazırlanan %5 lik süt tozu ile 1 saat bloklama işlemi yapıldı.
4. Bloklama işleminden sonra 5'er dakika aralıklar ile 5 defa TBS-T ile yıkama yapıldı.
5. TBS-T ile yıkadıktan sonra TBS-T ile hazırlanan %5'lik BSA içerisine ilgili primer antibody belirlenen oranda eklenerek hazırlandı ve membranın üzerine döküldü. Ertesi sabaha kadar +4 derecede inkübasyon yapıldı.
6. Primer antibody ile inkübasyon sonrası 5'er dakika aralıklar ile 5 defa TBS-T ile yıkama yapıldı.
7. Yıkama sonrasında %5'lik BSA ile belirlenen oranda hazırlanan sekonder antibody membran üzerine döküldü ve 1 saat süresince oda sıcaklığında inkübasyon yapıldı.
8. Sekonder antibody ile inkübasyon sonrası 5'er dakika aralıklar ile 4 defa TBS-T ve 1 defa ise TBS ile yıkama yapıldı. Son yıkamadan sonra TBS değiştirildi ve membranlar görüntü almaya hazır hale getirildi.
9. ECL solüsyonu ile Chemidoc cihazında görüntüleme işlemi gerçekleştirildi. Elde edilen membran görüntüleri Image-J programı kullanılarak değerler hesaplandı.

4.BULGULAR

4.1.Uzun Dönemli Güçlenme Deneyleri

4.1.1.Uzun Dönemli Güçlenme Öncesi Giriş/Çıkış Eğrileri

Uzun dönemli güçlenmenin indüksiyonundan önce elde edilen giriş/çıkış eğrileri, EPSP eğimi ve PS genliği olarak, Şekil 4.1’de görülmektedir. Tekrarlayan ölçümlü ANOVA testi, EPSP eğim ($F_{7,98} = 45,4$, $p < 0,001$) ve PS genliğinin ($F_{7,98} = 99,3$, $p < 0.001$) uyarı şiddeti arttıkça arttığını ancak bu artma profilinin, anlamlı olmayan grup $\times$ uyarı etkileşim değerleri ile gösterildiği gibi gruplar arasında farklı olmadığını gösterdi ($p > 0.05$). Bu bulgu, aşağıda verilen UDG sonuçlarının grupların bazal sinaptik güçlerindeki farklılığa bağlı olmadığını işaret etmektedir. Grupların 0,1 mA – 1,5 mA arasında değişen uyarı şiddetleri ile elde edilen EPSP eğim ve PS genlik değerlerinin ortalama $\pm$ SH değerleri Tablo 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1. Uzun Dönemli Güçlenmenin indüksiyonundan önce elde edilen EPSP eğimi ve PS genliklerinin artan uyarı şiddetine karşı değişimi. Her bir deneyde, EPSP eğimi ve PS genliği ardıl verilen aynı şiddetteki 3 uyarının ortalaması alınarak elde edilmiştir.

Tablo 4.1. Uzun Dönemli Güçlenmenin indüksiyonundan önce elde edilen EPSP eğimi ve PS genlik değerleri. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

Uyarı Şiddeti (mA)	EPSP eğimi (mV/ms)		PS genliği (mV)	
	SF (n=8)	Metilen Mavisi (n=8)	SF (n=8)	Metilen Mavisi (n=8)
0,1	4,07 $\pm$ 0,46	5,5 $\pm$ 0,4	2,38 $\pm$ 0,41	2,54 $\pm$ 0,41
0,3	5,59 $\pm$ 0,23	6,0 $\pm$ 0,6	5,25 $\pm$ 0,94	4,97 $\pm$ 0,30
0,5	6,09 $\pm$ 0,24	6,3 $\pm$ 0,5	6,99 $\pm$ 0,85	6,73 $\pm$ 0,27
0,7	6,43 $\pm$ 0,25	6,5 $\pm$ 0,5	9,04 $\pm$ 0,94	8,55 $\pm$ 0,44
0,9	6,81 $\pm$ 0,27	6,6 $\pm$ 0,5	9,74 $\pm$ 0,90	9,83 $\pm$ 0,49
1,1	6,90 $\pm$ 0,26	6,8 $\pm$ 0,5	10,41 $\pm$ 0,92	10,80 $\pm$ 0,55
1,3	6,93 $\pm$ 0,23	6,8 $\pm$ 0,4	10,91 $\pm$ 0,82	11,42 $\pm$ 0,72
1,5	6,73 $\pm$ 0,25	6,8 $\pm$ 0,4	11,35 $\pm$ 0,92	12,35 $\pm$ 0,95

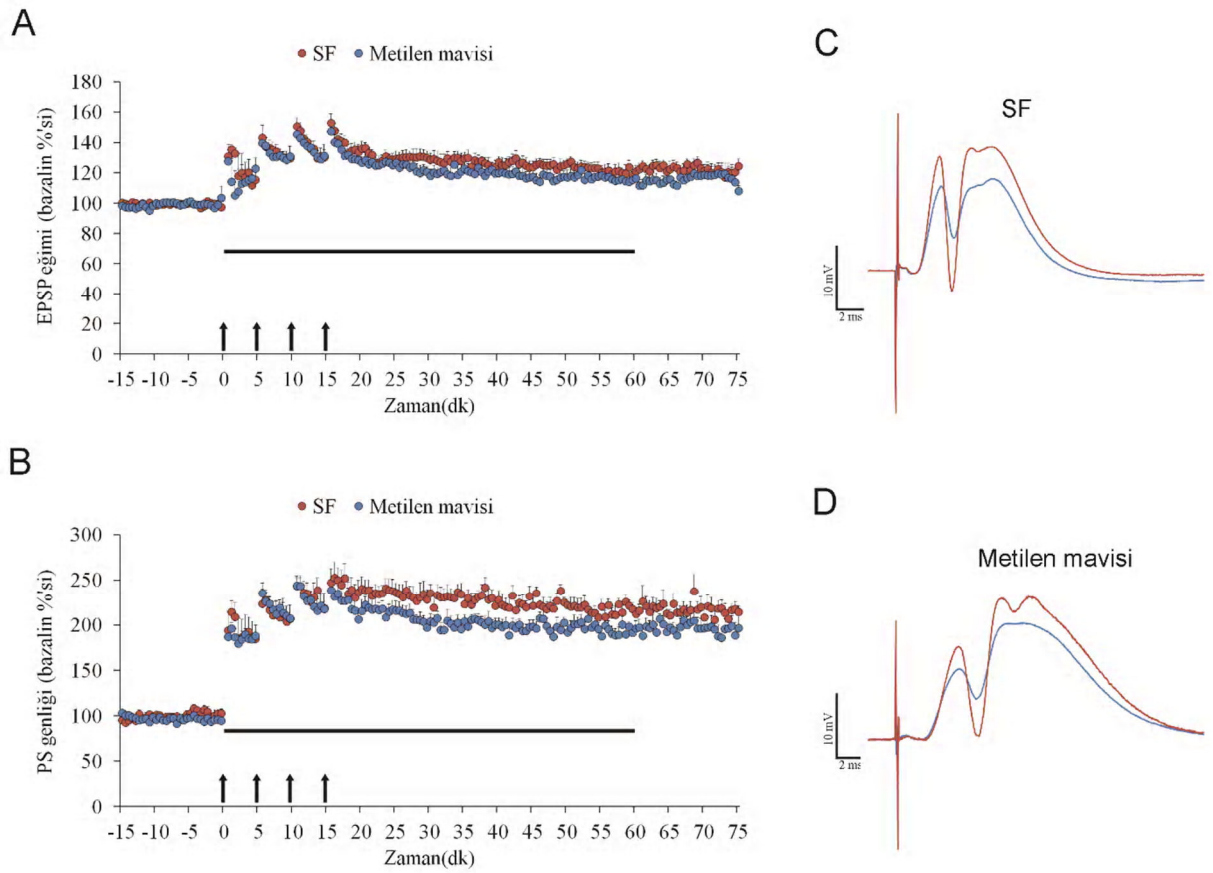
4.1.2. EPSP Eğimi ve PS Genliklerinde Uzun Dönemli Güçlenme

Şekil 4.2, Metilen Mavisi varlığında, EPSP eğimi (Şekil 4.2 A) ve PS genliğinin (Şekil 4.2 B), YFU'dan sonraki zaman-bağımlı değişimini göstermektedir. EPSP eğimleri ve PS genlikleri 15 ile 20nci dakikalar ve 70 ile 75 dakikalar arasında ölçüldü ve 70-75nci dakikalar arasındaki ortalamalar UDG büyüklüğünün bir ölçüsü olarak kullanıldı (Tablo 4.2). EPSP eğimleri, bu zaman aralıklarında sırasıyla, SF infüze edilen grupta bazale göre (%100) %140,1 $\pm$ 4,5 ($t_7=8,91$; $p < 0.001$) ve 121,3 $\pm$ 4,1 ($t_7=5,14$; $p = 0.001$) ve Metilen Mavisi infüze edilen grupta %135,0 $\pm$ 4,1 ($t_7=8,48$; $p < 0.001$) ve %117,6 $\pm$ 6,9 ($t_7=2,55$; $p = 0.038$) oranında arttı. PS genlikleri ise, EPSP eğimindeki artıştan beklenenden daha fazla olmak üzere, SF infüze edilen grupta bazal değere göre %243,6 $\pm$ 13,0 ($t_7=11,08$; $p<0.001$) ve %215,9 $\pm$ 7,6 ($t_7=15,38$; $p < 0.001$) ve Metilen Mavisi infüze edilen grupta 221,2 $\pm$ 8,7 ($t_7=12,24$; $p<0,001$) ve 183,9 $\pm$ 7,7 ($t_7=8,17$; $p < 0,001$) oranında artış gösterdi. Bağımsız örneklem t testi, 15-20nci dakikalar ve 70-75nci dakikalarda EPSP eğimi ($t_{14}=2,906$; $p = 0.011$) ve PS genliğinin ($t_{14}=13,534$; $p = 0.012$) Metilen Mavisi ve SF infüze edilen grup arasındaki farkın anlamlılığa ulaşmadığını gösterdi ($p > 0.05$).

YFU'dan sonraki beş dakika içerisinde oluşan post-tetanik güçlenmenin, bir saatlik sürenin son beş dakikasında ne oranda korunduğunu gösteren bozulma oranının istatistiksel analizi, sinaptik UDG'nin bu süre boyunca küçük bir oranda bozulmaya uğradığını ($p < 0.001$), somatik UDG'de ise anlamlı bir bozulma olmadığını

göstermektedir (Tablo 4.2). Sinaptik UDG'deki bozulma Metilen Mavisi'nin infüzyonunda da gözlemlendi ama somatik UDG'de bozulma ortaya çıktı ($p = 0.006$).

Bu sonuçlar, Metilen Mavisi'nin dentat girus nöronlarının UDG oluşturma yeteneğini değiştirmediyi ama somatik UDG'nin bozulmasını artırdığını göstermektedir.



Şekil 4.2. Metilen Mavisi'nin, YFU'nun indüklediği uzun dönemli güçlenmeye etkisi.

EPSP eğimi ve PS genliğinin güçlü bir tetanus protokolü (100 Hz, 4 kez, 5 dakika aralıklarla; oklar) öncesi ve sonrasındaki zamansal değişimi, sırasıyla **A** ve **B**'de görülmektedir. Serum fizyolojik (SF) veya Metilen Mavisi (50 μ M), sıfır zaman noktasından başlanarak 0.33 μ l/dak (siyah çizgi) hızında infüze edildi. Her EPSP ve PS, bazal önemdeki (-15 ile 0 dakikalar arası) ortalamanın yüzdesi olarak ifade edildi. EPSP eğimi ve PS genliğinin ortalamaları, 70-75 dakikalar arasında gruplar arasında farklılık gösterdi ($n = 8$ / grup, $*p > 0.5$). **C.** UDG uygulamasından hemen önce (mavi) ve kaydın sonunda (kırmızı) alınan örnek alan potansiyel kayıtları. Her grubun örnek kayıtlarından, EPSP (ilk yukarı çıkan sapma) eğimi ve PS (aşağı inen sapma) genliğinin, kırmızı trasede, mavi traseye göre değişiminin, Metilen Mavisi infuse edilen ve SF infuse edilen sıçanlarda benzer olduğu görülmektedir.

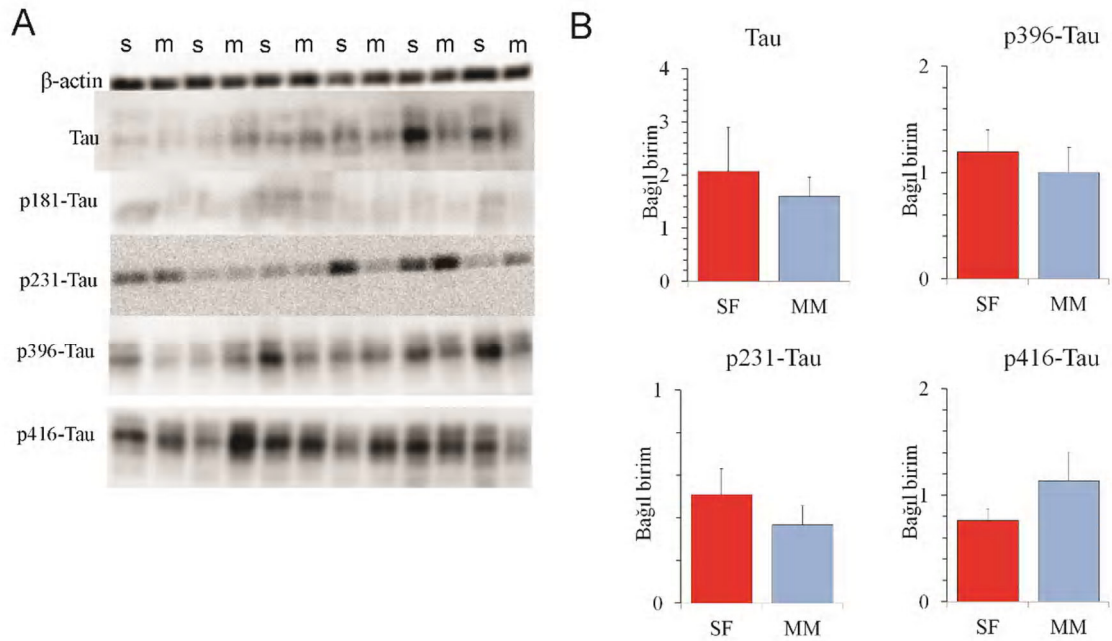
Tablo 4.2. EPSP eğimlerinin ve PS genliklerinin 15 ila 20nci dakikalar ve 70 ile 75 dakikalar arasında ölçülen değerleri ve bozulma oranı.

	EPSP eğimi (bazal değer %'si)		PS genliği (bazal değer %'si)	
	SF (n=8)	Metilen mavisi (n=8)	SF (n=8)	Metilen mavisi (n=8)
15-20nci dk arası (I1)	140,1±4,5 ^a	135,0±4,1 ^a	243,6±13,0 ^a	221,2±8,7 ^a
70-75nci dk arası (I2)	121,3±4,1 ^a	117,6±6,9 ^a	215,9±7,6 ^a	183,9±7,7 ^a
Bozulma oranı (decay)	13,3±2,1 ^b	13,1±3,3 ^b	8,7±8,0	15,8±5,6 ^b

^a: YFU-öncesi değerden anlamlı düzeyde farklı (tek örnek t test). ^b: “0” değerinden anlamlı düzeyde farklı (tek örnek t test) Bozulma oranı, (I1-I2)x100/I1 formülü ile hesaplanmıştır. Negatif sayılar güçlenmeyi; pozitif sayılar bozulmayı gösterir. I1’in I2’ye yakın bir değerde olması, yani istatistik analizde 0’dan farklı olmaması UDG’nin korunduğunu gösterir.

4.1.3.Uzun Dönemli Güçlenme İlişkili Tau Anlatımı ve Fosforilasyonu

Şekil 4.3 YFU’dan en az 60 dakika sonra çıkarılan hipokampüsteki Tau proteinin toplam ve fosforile formlarının Western-blot yöntemi ile elde edilmiş dansitometrik analiz sonuçları (Şekil 4.3 A) ve özgün bantları (Şekil 4.3 B) verilmiştir. Her iki grupta, elde edilen örneklerde Tau anlatımı görülmüş, bu proteinin, UDG’nin ifadelenmesi sırasında ser396, ser416 ve thr231 epitoplarından fosforillendiği; ancak thr181 epitopunda fosforillenme olmadığı tespit edilmiştir. Grupların karşılaştırılmasında toplam Tau anlatımı ($Z = 0,16$; $p > 0.05$), thr²³¹ ($Z = 0,64$; $p > 0.05$), ser³⁹⁶ ($Z = 0,48$; $p > 0.05$) ve ser⁴¹⁶ ($Z = 0,80$; $p > 0.05$) epitoplarından fosforillenmeleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. UDG bulguları ile birlikte ele alındığında bu bulgular, Metilen Mavisi’nin UDG-ilişkili Tau fosforilasyon kalıbını değiştirmedigine işaret etmektedir.



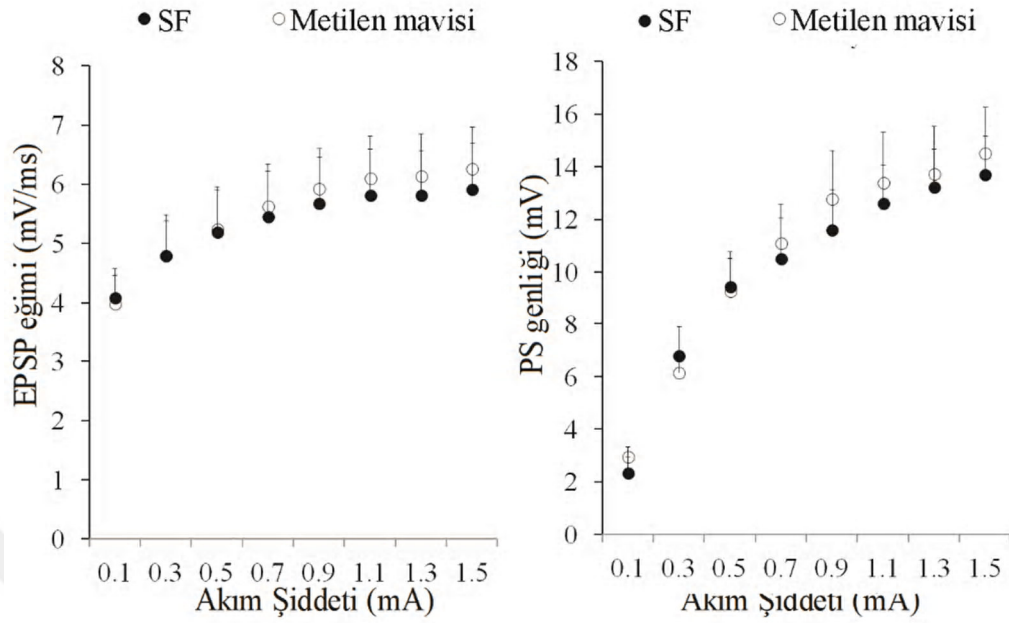
Şekil 4.3. Metilen Mavisi'nin UDG-ilişkili Tau fosforilasyonuna etkisi.

A: Örnek membran görüntüsü. B:Dansitometrik analiz sonuçları. SF: serum fizyolojik MM: Metilen Mavisi. Metilen Mavisi UDG-ilişkili Tau fosforilasyon kalıbını değiştirdiği görülmektedir. Ancak bu değişme anlamlılığa yakın bir seviyede kalmıştır ($\dagger$: $p < 0.06$) Değerler, grup başına 2'şer kez ölçüm yapılan altı örneğin aritmetik ortalaması $\pm$ standart hatadır. Bağıl birim, her membranda SF grubuna ait ilk örneğin optik dansitesine göre ifade edilen bant optik yoğunluğunun aynı örneğin beta aktin yoğunluğuna oranıdır.

4.2.Uzun Dönemli Baskılanma Deneyleri

4.2.1.Uzun Dönemli Baskılanma Öncesi Giriş/Çıkış Eğrileri

Uzun dönemli baskılanma indüksiyonundan önce elde edilen giriş/çıkış eğrileri, EPSP eğimi ve PS genliği olarak, Şekil 4.4'te görülmektedir. Tekrarlayan ölçümlü ANOVA testi, EPSP eğim ($p < 0.01$) ve PS genliğinin ($p < 0.001$) uyarı şiddeti arttıkça arttığını ve bu artışın ölçümün alındığı hayvanın grubundan etkilenmediğini gösterdi ($p > 0.05$). Bu bulgu, aşağıda verilen UDB sonuçlarının grupların bazal sinaptik güçlerindeki farklılığa bağlı olmadığını işaret etmektedir. Elde edilen EPSP eğim ve PS genlik değerlerinin ortalama $\pm$ SH değerleri Tablo 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.4.Uzun Dönemli Baskılanmanın indüksiyonundan önce elde edilen EPSP eğimi ve PS genliklerinin artan uyarı şiddetine karşı değişimi. Her bir deneyde, EPSP eğimi ve PS genliği ardıl verilen aynı şiddetteki 3 uyarının ortalaması alınarak elde edilmiştir.

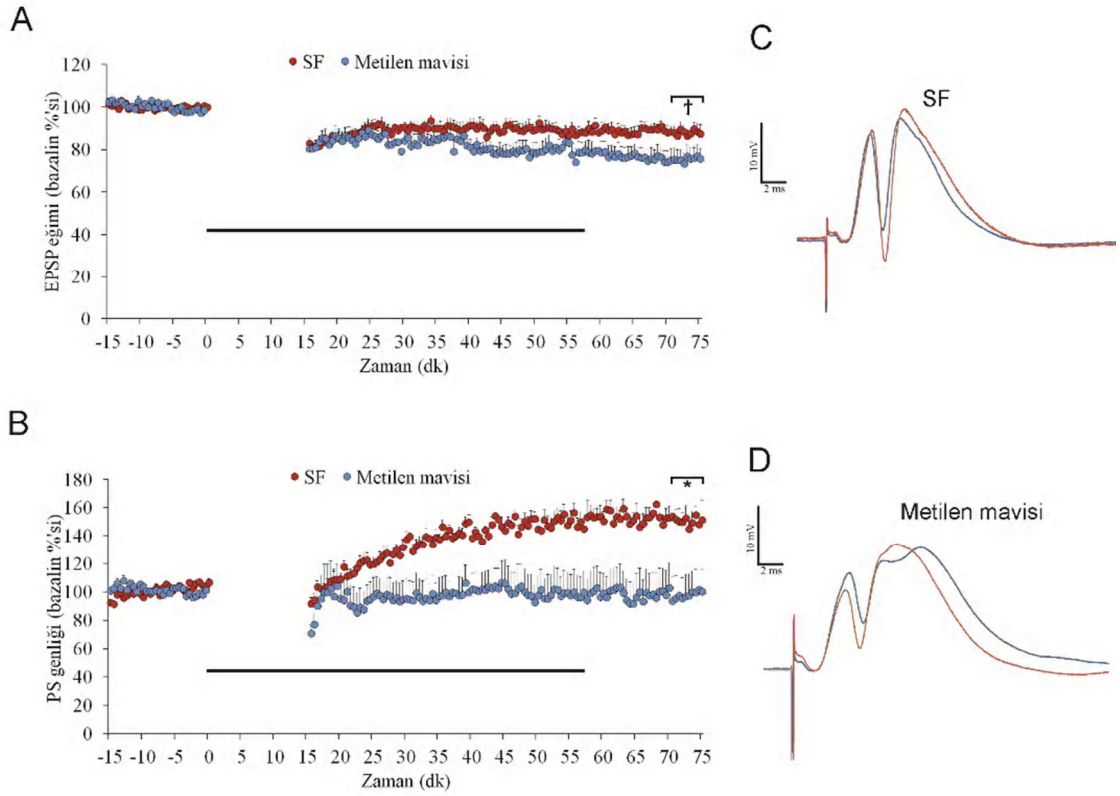
Tablo 4.3. Uzun Dönemli Baskılanmanın indüksiyonundan önce elde edilen EPSP eğimi ve PS genlik değerleri. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

Uyarı Şiddeti (mA)	EPSP eğimi (mV/ms)		PS genliği (mV)	
	SF (n=8)	Metilen mavisi (n=8)	SF (n=8)	Metilen mavisi (n=8)
0,1	4,41 $\pm$ 0,18	3,91 $\pm$ 0,50	2,39 $\pm$ 0,54	3,01 $\pm$ 0,45
0,3	5,00 $\pm$ 0,30	4,78 $\pm$ 0,63	5,89 $\pm$ 1,09	5,90 $\pm$ 0,75
0,5	5,53 $\pm$ 0,41	5,22 $\pm$ 0,72	7,88 $\pm$ 1,51	9,28 $\pm$ 1,45
0,7	5,73 $\pm$ 0,41	5,50 $\pm$ 0,79	9,13 $\pm$ 1,63	11,40 $\pm$ 1,85
0,9	5,93 $\pm$ 0,41	5,78 $\pm$ 0,74	9,88 $\pm$ 1,83	13,07 $\pm$ 2,18
1,1	6,06 $\pm$ 0,39	5,92 $\pm$ 0,80	10,48 $\pm$ 1,89	13,48 $\pm$ 2,25
1,3	6,04 $\pm$ 0,37	6,03 $\pm$ 0,81	10,93 $\pm$ 1,94	14,23 $\pm$ 2,23
1,5	6,24 $\pm$ 0,38	6,09 $\pm$ 0,80	11,19 $\pm$ 2,01	14,74 $\pm$ 2,11

4.2.2. EPSP Eğimi ve PS Genliklerinde Uzun Dönemli Baskılanma

Şekil 4.5, Metilen Mavisi varlığında, EPSP eğimi (Şekil 4.5 A) ve PS genliğinin (Şekil 4.5 B), DFU'dan sonraki zaman-bağımlı değişimini göstermektedir. EPSP eğimleri ve PS genlikleri 15 ila 20nci dakikalar ve 70 ile 75 dakikalar arasında ölçüldü ve 70-75nci dakikalar arasındaki ortalamalar UDB büyüklüğünün bir ölçüsü olarak kullanıldı (Tablo 4.4). Bu zaman aralığında kontrol grubunda, EPSP eğimleri, bazal değerlerin ($87,9 \pm 3,2\%$, $t_7 = 3.758$, $p = 0.007$) önemli ölçüde altındadır, ancak PS genliğinin potansiyalizasyonu bu UDB'ye eşlik etmektedir ($150,6 \pm 8,2\%$, $t_7 = 6.158$, $p < 0.001$). Bu bulgu, PS genliğindeki artışın nöronal çıkıştaki senkronizasyonu göstermesi nedeni ile, DFU'nun perforant yol – dentat girus sinapslarında sinaptik baskılanmaya rağmen nöronal çıkışta yavaş gelişen bir senkronizasyon artışına neden olduğunu göstermektedir. Metilen Mavisi varlığında DFU EPSP eğiminde bazal değerlerin $75,5 \pm 5,1$ 'ine ulaşan bir baskılanma ($t_7 = 4,783$, $p < 0.001$) oluştururken PS genliğinde bazal değerden farklı olmayan bir genlik değeri ölçülmüştür ($97,7 \pm 15,5\%$, $t_7 = 0,150$, $p > 0.05$). Gruplar arası karşılaştırmalar, Metilen Mavisi infüzyonunun EPSP'deki baskılanmayı anlamlılık düzeyine yakın olacak şekilde artırdığını ($t_{14} = 2,063$, $p = 0,058$) ve nöronal çıkıştaki senkronizasyon artışını tamamen inhibe ettiğini ($t_{14} = 3,017$, $p = 0,009$) göstermektedir.

DFU'dan sonraki beş dakika içerisinde oluşan baskılanmanın, bir saatlik sürenin son beş dakikasında ne oranda korunduğunu gösteren bozulma oranının istatistiksel analizi, SF infüze edilen grupta, EPSP bu süre boyunca bazal değerlerin $83,5 \pm 2,4$ 'ünden başlayarak ($t_7 = 6,964$, $p < 0.001$) $5,7 \pm 4,2$ oranında anlamlı olmayan bir artış gösterirken ($t_7 = 1,352$ ve $p > 0.05$), PS genliğinin $103,1 \pm 4,0$ ($t_7 = 0,76$ ve $p > 0.05$) değerinden başlayarak $48,8 \pm 11,8$ oranında ($t_7 = 4,135$ ve $p = 0.004$) artmaktadır (Tablo 4.4). Bu değerler, DFU ile indüklenen sinaptik baskılanmanın en az 1 saat süreyle korunduğunu; nöronal çıkışın senkronizasyonunda bir baskılanma yerine yavaş-artan bir UDG indüklendiğini göstermektedir. Metilen Mavisi infüzyonunda ise bazal değerlerin anlamlı seviyede altına düşen EPSP eğimi ($83,5 \pm 2,8$; $t_7 = 5,917$ ve $p < 0.001$) ve bazal değerden anlamlı bir farklılık göstermeyen PS genliği ($93,0 \pm 15,0$; $t_7 = 0,471$ ve $p > 0.05$) 1 saatlik sürenin sonunda bu değerlerden farklı bulunmamıştır (Tablo 4.4). Bu sonuçlar, Metilen Mavisi'nin sinaptik UDG'nin korunmasını artıran ama anlamlılığa ulaşmayan bir etkisinin olabileceğine, bunun yanında DFU ile indüklenen yavaş UDG oluşumunu güçlü bir şekilde inhibe ettiğini işaret etmektedir.



Şekil 4.5 Metilen Mavisi'nin, DFU'nun indüklediği uzun süreli baskılanma üzerine etkisi. EPSP eğimi ve PS genliğinin düşük frekanslı uyarım protokolü (1 Hz, 900 atım; 0-15nci dakikalar arası) öncesi ve sonrasındaki zamansal değişimi, sırasıyla A ve B'de görülmektedir. Serum fizyolojik (SF) veya Metilen Mavisi (50 μ M), sıfır zaman noktasından başlanarak 0.33 μ l/dak (siyah çizgi) hızında infüze edildi. Her EPSP ve PS, bazal önemdeki (-15 ile 0 dakikalar arası) ortalamanın yüzdesi olarak ifade edildi. Metilen Mavisi varlığında EPSP eğimlerinin azalma eğilimi gösterdiğini ($\square$ $p < 0.06$) ve PS genliklerinin ortalamalarının 70 ile 75 dakikalar arasında önemli ölçüde arttığı görülmektedir ($n = 8$ / grup, $*p < 0.05$). C. DFU uygulamasından hemen önce (kırmızı) ve kaydın sonunda (mavi) alınan örnek alan potansiyel kayıtları. Her grubun örnek kayıtlarından, Metilen Mavisi varlığında, DFU'dan sonra EPSP (ilk yukarı çıkan sapma) eğimindeki baskılanmanın arttığı ve PS (aşağı inen sapma) genliğindeki artışın ortadan kalktığı izlenebilir. Ğ

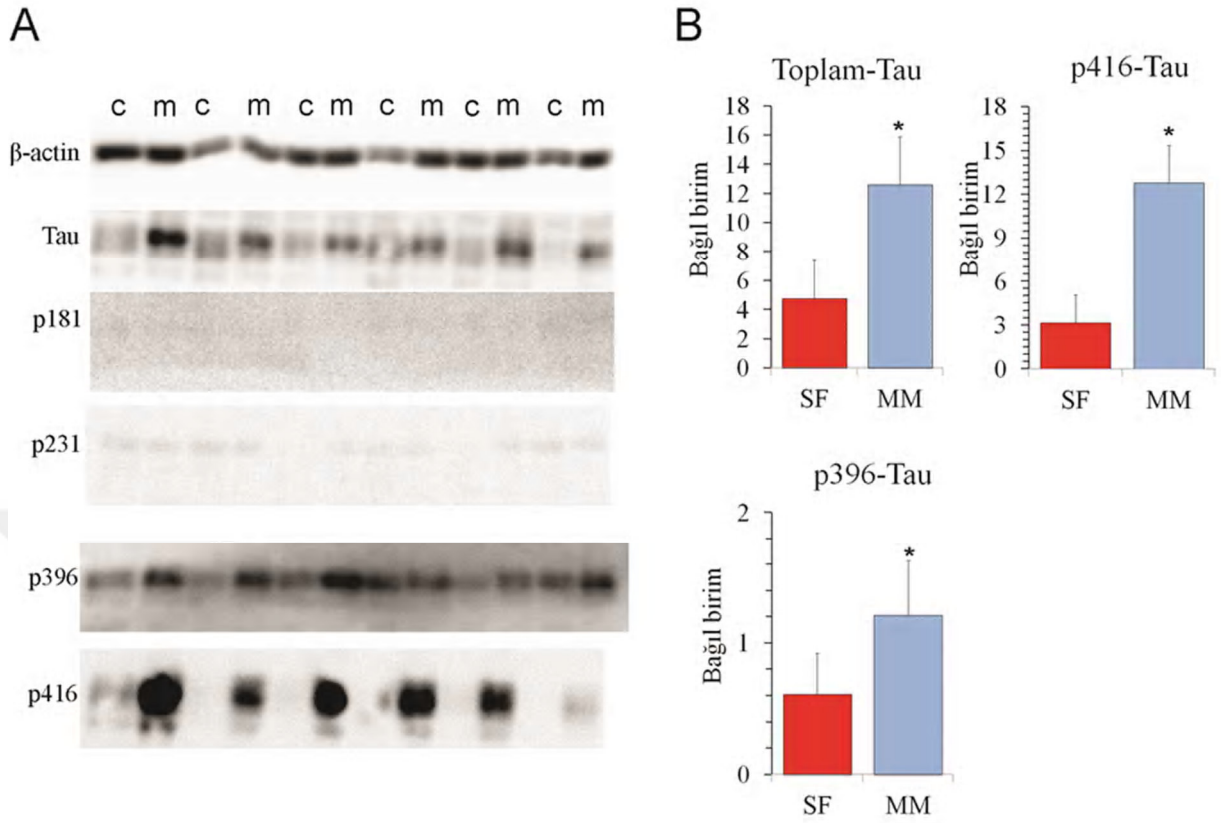
Tablo 4.4. EPSP eğimlerinin ve PS genliklerinin 15 ila 20nci dakikalar ve 70 ile 75 dakikalar arasında ölçülen değerleri ve korunma oranı.

	EPSP eğimi (bazal değer in %'si)		PS genliği (bazal değer in %'si)	
	SF (n=8)	Metilen Mavisi (n=8)	SF (n=8)	Metilen Mavisi (n=8)
15-20nci dk arası (I1)	83,5±2,4 ^a	83,5±2,8 ^a	103,1±4,0	93,0±15,0
70-75nci dk arası (I2)	87,9±3,2 ^a	75,5±5,1 ^a	150,6±8,2 ^a	97,7±15,5 ^c
Korunma oranı	-5,7±4,2	10,1±4,6 ^c	-48,8±11,8 ^b	-6,5±13,1 ^c

^a: DFU-öncesi değerden anlamlı düzeyde farklı (tek örnek t test). ^b: “0” değerinden anlamlı düzeyde farklı (tek örnek t test) c: SF grubundan anlamlı düzeyde farklı (Tukey testi). Bozulma oranı, (I1-I2)x100/I1 formülü ile hesaplanmıştır. I1'in I2'ye yakın bir değerde olması, yani istatistik analizde 0'dan farklı olmaması UDB'nin korunduğunu; negatif sayılar UDB'nin UDG'ye dönüştüğünü gösterir. Negatif sayılar güçlenmeyi; pozitif sayılar bozulmayı gösterir.

4.2.3.Uzun Dönemli Baskılanma İlişkili Tau Anlatımı ve Fosforilasyonu

Şekil 4.6 DFU'dan en az 60 dakika sonra çıkarılan hipokampüsteki Tau proteinin toplam ve fosforile formlarının Western-blot yöntemi ile elde edilmiş özgün bantları ve dansitometrik analiz sonuçları verilmektedir. . UDB-ilişkili Tau anlatımı (b.ü., 12,6±3,3' e 4,7±2,6; Z=2,08; p = 0,037), ser396 (b.ü., 0,61±0,3' e 1,20±0,41; Z=1,98; p = 0,047) ve ser416 epitopundaki fosforilasyonu (b.ü., 12,8±2,6'e 3,1±1,9; Z=2,40; p = 0,016) Metilen Mavisi verilen grupta, SF verilene göre anlamlı oranda daha yüksektir. Tau proteini, p181 ve p231 epitoplarından UDB bağımlı olarak her iki grupta da fosforillenmemektedir.



Şekil 4.6 Metilen Mavisi'nin UDB-ilişkili Tau fosforilasyonuna etkisi.

A: Örnek membran görüntüsü. B: Dansitometrik analiz sonuçları. SF: Salin, MM: Metilen Mavisi. Değerler, grup başına 2'şer kez ölçüm yapılan altı örneğin aritmetik ortalaması $\pm$ standart hatadır. Bağıl birim, her membranda SF grubuna ait ilk örneğin optik dansitesine göre ifade edilen bant optik yoğunluğunun aynı örneğin beta aktin yoğunluğuna oranıdır.

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda, guanilat siklazın iyi bilinen bir inhibitörü olan MM'nin plastisite ile ilişkili Tau fosforilasyonuna katkısını araştırdık. Deney sonuçlarımız, MM'nin perforan yol – dentat girus sinapslarında, UDB indüksiyonunu arttırken; UDG'nin indüksiyonu üzerinde hiçbir etkisi olmadığını göstermektedir. Buna ek olarak, bu gelişmiş UDB'ye, Tau proteini üzerindeki ser396 ve ser416 epitoplarında hiperfosforilasyon eşlik eder. cGMP'nin hücrelerdeki konsantrasyonu, sentezi ve yıkımı arasındaki dengeye bağlı olduğu için; bu çalışmanın sonuçları hipokampüsteki cGMP seviyelerinin azalmış olmasına atfedilebilir. Bu nedenle sunulan bulgular plastisite ve plastisite ile ilişkili Tau fosforilasyonunun regülasyonunda cGMP düzeyinin önemini vurgulamaktadır. UDG ve UDB arasındaki uygun dengenin korunması, normal bilişsel süreçler için gerekli olduğundan, bu çalışma, MM'nin Alzheimer hastalığı gibi hipokampal UDG ekspresyonunun bozukluğu ile karakterize edilen defisitleri düzeltebileceğine dair kanıtlar sunar (Fitzjhon ve ark., 2001; Li ve ark., 2009; Malleret ve ark., 2010).

Kontrol grubunda, EPSP eğiminden beklenenden daha fazla PS genlik artışı olması, DG'den UDG kaydeden önceki araştırmaların sonuçlarıyla uyumludur. Bu çalışmalar bu bölgedeki UDG'nin esasen EPSP/spike ilişkisindeki bir değişmeye bağlı olduğunu göstermektedir. (Tomasulo ve ark., 1991; Lopez-Rojas ve ark., 2016). Dentat girusdaki bu EPSP/spike potansiyasyonu, hipokampal fonksiyonun formasyonunda özel bir rol oynayabilir (Graselli ve ark., 2016). EPSP / spike potansiyasyonu özellikle ilgi çekicidir, çünkü dentat girusun deşarjı, doğal koşullar altında genel olarak bilinen deşarj sınırının çok daha altındadır ve beyindeki düşük frekanslı 1-4 Hz'lik EEG dalgaları çeşitli bellek biçimlerinin konsolidasyonunda kritik bir rol oynamaktadır (Jonas, 2014). Bu çalışmada ayrıca DFU verildiği zaman, plastisitenin iki komponentinin disosiasyona gittiğini açıkça gözlemledik. MM tarafından EPSP/spike disosiasyonunun önlenmesi, MM'nin GABA_A reseptör fonksiyonunu inhibe ettiği daha önce yapılan bir çalışmayla

uyumlu olmayıp (Chen ve ark., 2017), daha çok cGMP'nin nöronal eksitabilite modülasyonunda rolü olduğunu destekler.

Hipokampal nöronlardaki UDG, AMPA reseptör membran ekspresyonunda artış ile ilişkilidir ki bu kinazların bazıları Tau-kinaz aktivitesine sahiptir. Öte yandan, sinapsın düşük frekanslı stimülasyonu, PP1 ve PP2A gibi protein fosfatazları aktive ederek UDB ile sonuçlanır (Castellani ve ark., 2005). NO/cGMP/PKG bağımlı yolun UDG ve UDB ile ilişkisi nispeten iyi tanımlanmış olmasına rağmen, sinaptik plastisitede MM'nin etkisine dair bir çalışma yapılmamıştır. Bu bağlamda bizim çalışmamız, MM'nin sinaptik güçlenmenin depresyonunda yer alabileceğine dair deliller sunmaktadır. MM, GC'nin inhibisyonuna aracılık eder ve hücre içi cGMP seviyelerinin azalmasına neden olur (Ginimuge ve Jyothi, 2010). cGMP intrasellüler etkilerini PKG, fosfodiesterazlar (PDE)'ler ve cGMP kapılı iyon kanalları üzerinden gösterir. Her ne kadar PKG, CA1 sinapslarında UDG (Lu ve ark., 1999; Hopper ve Garthwaite, 2006) ve serebellumda UDB (Kawaguchi ve Hirano, 2013) ile ilişkilendirilse de bizim çalışmamızın ve diğer çalışmaların bulguları (Wu ve ark., 1998; Kleppisch ve ark., 1999) dentat girus için benzer sonuçları desteklememiş ve PKG'nin aşağı doğru olan etkilerini belirsiz hale getirmiştir. Daha önce hipokampüste yapılan çalışmalar, PKG sinyal yolağının 3 saatten daha uzun süren geç faz UDG'ye katkıda bulunduğunu göstermiştir. Bizim çalışmamızda, anestezinin istenmeyen etkilerini önlemek için UDG kaydı 1 saat ile sınırlıydı. Bu nedenle bu kayıt süresi, MM'nin UDG üzerindeki etkisinin gösterilmesi için yeterli olmamış olabilir. Öte yandan, bir çalışmada MM ile hipokampal dilimlerin perfüzyonu, 1 saat içinde uyarılmış EPSP eğimlerini tamamen yok etmiştir. Üstelik, MM'nin bu etkisi geri dönüşümsüz olmuş ve spesifik GC inhibitörü olan H-oksadiazolo kinoksalin-1 maddesi tarafından da EPSP eğimleri değişmemiştir. Bu bulgu MM'nin sinaptik iletim üzerindeki etkilerinin, NO/cGMP/PKG yolu üzerinden göstermediğini savunmaktadır (Vutskits ve ark., 2008). Hipokampal nöronların sinaptik plastisitesinde cGMP kapılı kanalların potansiyel etkisi bildirilmiştir. Bu spesifik olmayan katyon kanalları, özellikle duyuşal transdüksiyona aracılık eden sinyalleme sistemlerinin önemli bir komponentidir. Ayrıca hipokampal nöronların uzantılarında ve hücre gövdelerinde eksprese edilir (Bradley ve ark., 1997). Bu sonuçların en basit yorumu, cGMP kapılı kanalı defosforile eden DFU ile aktive edilmiş protein fosfatazların, cGMP duyarlılığını arttırdığı ve kanalları fosforile eden YFU ile aktive edilmiş protein

kinazların, kanalları cGMP'ye daha az duyarlı hale getirdiği söylenebilir (Kramer ve Molokanova, 2001). Bu şekilde, cGMP seviyelerinde bir azalmaya rağmen, MM daha duyarlı cGMP kapılı kanallar aracılığıyla DFU-UDB'yi indükleyebilir, ancak YFU-UDG'yi modüle edemez.

Western-blot verilerimiz, NMDA reseptörlerinin fizyolojik koşullarda aktivasyonunun hipokampal bölgede Tau fosforilasyonunu etkileyebileceğini göstermektedir (Fleming ve Johnson, 1995; Fiumelli ve ark., 2008). Çalışmamızda kontrol grubunda Tau proteininin UDG indükleyen stimülasyondan en az 60 dakika sonra thr²³¹, ser³⁹⁶ ve ser⁴¹⁶ epitoplarından fosforile olduğunu; UDB indükleyen stimülasyondan sonra sadece ser³⁹⁶ epitopunun fosforile olduğunu gözlemledik. Bu nedenle ser³⁹⁶ bölgesinin DFU-UDB indüksiyonunda; thr²³¹ ve ser⁴¹⁶ bölgelerinin YFU-UDG indüksiyonunda spesifik rolü olduğunu düşünüyoruz (Regan ve ark., 2015). Ayrıca, thr²³¹ epitopu UDG'nin tersine çevrilmesi ile ilişkili olabilir, çünkü yakın zamanda yapılan bir çalışmada, UDG'nin depotansiyasyonu sırasında bu epitopun fosforilasyonunun azaldığı gösterilmiştir (Babür ve ark., 2018). UDG sırasında aktive olan hücre içi kinazlar Tau fosforilasyonundan sorumlu olabilir. Gerçekten de, UDG indüksiyonunda önemli faktörlerden biri olan CaMKII yolu (Fukunaga ve ark., 1996), ser⁴¹⁶ ve thr²³¹ üzerinde Tau fosforilasyonu ile ilişkilendirilmiştir (Yamamoto ve ark., 2005).

Bir Faz II klinik çalışmasında, MM'nin Alzheimer hastalarının bilişsel fonksiyonlardaki azalma üzerine yararlı etkileri olabileceği gösterilmiştir (Wischik ve ark., 2008). Bu etkinin, Tau-Tau etkileşiminin inhibisyonu ile Tau oligomerlerinin oluşumunun inhibisyonu (Wischik ve ark., 1996), çözünmeyen granüler Tau agregatlarının inhibisyonu (Yamashita ve ark., 2009) veya NFY oluşumunun inhibisyonu ile ilişkili olduğu iddia edilmiştir (Hattori ve ark., 2008; Soeda ve ark., 2019). Bu sonuçların aksine, MM anormal Tau fosforilasyonunu değiştirmemiş ve Tau bağımlı nöronal hücre toksisitesini Zebrafishlerde in vivo olarak inhibe etmemiştir (Van Bebbler ve ark., 2010). Nörofibriller yumakların oluşum sürecinin, Tau kinazların aktivasyonu ile Tau hiperfosforilasyonundan sonra başladığı ve bu kinazlardan bazılarının UDG indüksiyonu ile ilgili kinaz olduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda, MM'nin AH ile ilgili dört epitopta (thr¹⁸¹, thr²³¹, ser³⁹⁶ ve ser⁴¹⁶) UDG ile ilişkili Tau fosforilasyonu üzerine hiçbir etkisi bulunamadı (Zhang ve ark., 2018). Öte yandan bu çalışma, AH ile ilgili iki epitop (ser³⁹⁶ ve ser⁴¹⁶) UDB indüklenmiş hipokampüste MM infüzyonu ile

hiperfosforile edildi. Ser³⁹⁶'da fosforilasyonunun Tau-mikrotübül bağlanmasını azaltarak sinaptik depresyona katkıda bulunabileceği ve bu iki kalıntıda hiperfosforilasyonun Alzheimer hastalığı ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Bramblett ve ark., 1993; Yamamoto ve ark., 2005). Tau fosforilasyonu üzerine bu etkilerin UDB ile nasıl ilişkili olabileceği ve MM'nin Tau fosforilasyonunu nasıl modüle ettiği henüz bilinmese de, bizim çalışmamız düşük seviyeli Ca⁺⁺ iyonları ve/veya fosfataz enzim aktivitesini içeren bir mekanizmanın varlığını göstermektedir. Tau fosforilasyonu ile ilgili etkilerin ortaya çıkabilmesi için hem Ca⁺⁺ seviyesinin düşük olması, hem de bir takım fosfataz enzimlerinin aktive olması gerektiğini düşünmekteyiz.

Verilerimizin klinik uygulaması esnasında dikkatli olunması gerekmektedir. Sağlıklı ve nörodejenerasyondan etkilenen hipokampus arasındaki, MM ile ilişkili Tau fosforilasyonundaki farklılıkların önemi hafife alınmamalıdır. Sağlıklı hipokampus kullanılarak elde edilen veriler göz önüne alındığında, bilişsel gerilemenin en iyi patolojik göstergesi olan sinaps fonksiyonlarının kaybolduğu nöronlarda MM'nin etkisinin araştırılması gerekmektedir. Öte yandan MM, UDG indüksiyonu olmaksızın UDB'yi kolaylaştırdığı için, UDG ve UDB arasındaki dengeyi, bozulmuş UDG ile karakterize edilen sinaptik fonksiyon anormalliklerinde düzeltmek için fayda sağlayabilir.

Sonuç olarak, sağlıklı beyinde MM, UDG'den ziyade UDB'nin indüksiyonunu destekler. UDB ile ilişkili Tau hiperfosforilasyonunu indükler ve böylece potansiyel olarak Tau'nun sinaptik translokasyonunu ve sinaptik proteinlerle etkileşimini etkiler. Fizyolojik sinaptik plastisitedeki sapma Tau fosforilasyonunun deregülasyonunu tetikleyebilir ki bu mekanizma da AH gelişimine neden olabilir. Bu etkiler, Alzheimer hastalığında MM kullanımının, daha kesin kanıtları ortaya çıkarmak için ayrıntılı çalışmalara duyulan ihtiyacı vurgulamaktadır.

6.KAYNAKLAR

- Abraha A, Ghoshal N, Gamblin TC, Cryns V, Berry RW, Kuret J, Binder L. C-terminal inhibition of tau assembly in vitro and in Alzheimer's disease. J Cell Sci, 2000;113(21): 3737-45.
- Abraham WC, Bear MF. Metaplasticity: the plasticity of synaptic plasticity. Trends in neurosciences, 1996; 19.4: 126-130.
- Addis DR, Schacter D. The hippocampus and imagining the future: where do we stand. Frontiers in human neuroscience, 2012;5:173.
- Albert ML, Feldman RG, Willis AL. The subcortical dementia'of progressive supranuclear palsy. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 1974; 37.2: 121-130.
- Alzheimer A. Über eigenartige Krankheitsfälle des späteren Alters. Z ges. Neurol Psychiat, 1911; 4: 356-385.
- Alzheimer A. Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. Allg Z Psychiat Psych Gerichtl Med, 1907;64(1):146-148.
- Anderson P, Bliss T, Skrede K. Lamellar organization of hippocampal pathways. Exp Brain Res 1971; 13: 222-38.
- Andreadis A, Wagner BK, Broderick JA, Kosik KS. A tau promoter region without neuronal specificity. J Neurochem 1996;66:2257-2263.
- Arthur C.Guyton JEH. Textbook of Medical Physiology. 2005;Eleventh edition:726-7.
- Artis AS, Bitiktas S, Taskin E, Dolu N, Liman N, Suer C. Experimental hypothyroidism delays field excitatory post-synaptic potentials and disrupts hippocampal longterm potentiation in the dentate gyrus of hippocampal formation and Y-maze performance in adult rats. J Neuroendocrinol, 2012;24(3): 422-433.

- Artola A, Singer W. Long-term potentiation and NMDA receptors in rat visual cortex. *Nature* 1987; 330: 649-52.
- Atamna H, Nguyen A, Schultz C, et al. Methylene blue delays cellular senescence and enhances key mitochondrial biochemical pathways. *Faseb J* 2008;22:703–12.
- Avila J, Lucas JJ, Perez M, Hernandez F. Role of tau protein in both physiological and pathological conditions. *Physiological reviews*, 2004; 84.2: 361-384.
- Avila J, Perez M, Lim F, Gomez-Ramos A, Hernandez F, Lucas JJ. Tau in neurodegenerative diseases: tau phosphorylation and assembly. *Neurotox Res*, 2004; 6(6): p. 477-82.
- Babür E, Tan B, Delibaş S, Yousef M, Dursun N, Süer C. Depotential of Long-Term Potentiation Is Associated with Epitope-Specific Tau Hyper-/Hypophosphorylation in the Hippocampus of Adult Rats. *Journal of Molecular Neuroscience*, 2018; p:1-11.
- Bailey CP, Nicholls RE, Zhang XL, Zhou ZY, Müller W, Kandel ER, Stanton PK. G*α*2 inhibition of adenylate cyclase regulates presynaptic activity and unmasks cGMP-dependent long-term depression at Schaffer collateral-CA1 hippocampal synapses. *Learning & Memory*, 2008; 15.4: 261-270.
- Bannerman DM, Rawlins J, McHugh SB, Deacon R, Yee BK, Bast T, Feldon J. Regional dissociations within the hippocampus—memory and anxiety. *Neuroscience & biobehavioral reviews*, 2004; 28.3: 273-283.
- Barger SW, Fiscus RR, Ruth P, Hofmann F, Mattson MP. Role of Cyclic-Gmp in the Regulation of Neuronal Calcium and Survival by Secreted Forms of Beta-Amyloid Precursor. *Journal of Neurochemistry*, 1995; 64(5): p. 2087-2096.
- Barr ML, Klernam JA. *The Human Nervous System*. 5th ed. Philadelphia: JB Lippincott Comp, 1988; 266-9.
- Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL. *Ganong's Review of Medical Physiology*(25th edition). McGraw-Hill Education. 2016; 283-95.
- Barry M, Bannister LH, Standring SM. *Nervous System*. In: Williams PL, editor. *Gray's Anatomy*. (38th Edition). London: Churchill Livingstone, 1995; 1121-5.

- Baudier J, Lee SH, Cole RD. Separation of the different microtubule-associated tau protein species from bovine brain and their mode II phosphorylation by Ca^{2+} /phospholipid-dependent protein kinase C. *Journal of Biological Chemistry*, 1987; 262.36: 17584-17590.
- Benington JH, Frank MG. Cellular and molecular connections between sleep and synaptic plasticity. *Progress in neurobiology*, 2003; 69.2: 71-101.
- Bliss TV and Lømo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path, *J Physiol*, 232 (1973); 331-56.
- Bohm KJ, Vater W, Steinmetzer P, Kusnetsov SA, Rodionov VI, Gelfand VI, Unger E. Effect of MAP 1, MAP 2, and tau-proteins on structural parameters of tubulin assemblies. *Acta Histochem Suppl*, 1990; 39: 357-64.
- Braak H, Braak E. Argyrophilic grain disease: frequency of occurrence in different age categories and neuropathological diagnostic criteria. *Journal of neural transmission*, 1998; 105.8-9: 801-819.
- Braak E, Braak H and Mandelkow EM. A sequence of cytoskeleton changes related to the formation of neurofibrillary tangles and neuropil threads. *Acta Neuropathol*, 1994; 87(6): p. 554-67.
- Bradley J, Zhang Y, Bakin R, Lester HA, Ronnett GV, Zinn K. Functional expression of the heteromeric "olfactory" cyclic nucleotide-gated channel in the hippocampus: A potential effector of synaptic plasticity in brain neurons. *Journal of Neuroscience*, 1997; 17(6): p. 1993-2005.
- Brady ST and Sperry AO. Biochemical and functional diversity of microtubule motors in the nervous system. *Curr Opin Neurobiol*, 1995;5(5): 551-8.
- Bramblett GT, Goedert M, Jakes R, Merrick SE, Trojanowski JQ, Lee VM. Abnormal tau phosphorylation at Ser396 in Alzheimer's disease recapitulates development and contributes to reduced microtubule binding. *Neuron*, 1993; 10(6): p. 1089-1099.
- Brandt R, Leger J, Lee G. Interaction of tau with the neural plasma membrane mediated by tau's amino-terminal projection domain. *J Cell Biol* 1995;131:1327-1340.
- Brodal A. *Neurological anatomy. Relation to Clinical Anatomy*. 1981.

- Byrne JH. Learning and memory in Aplysia and other invertebrates. *Neurobiology of comparative cognition*, 1990; 293-315.
- Byrne JH. Cellular analysis of associative learning. *Physiological reviews*. 1987;67(2):329-439.
- Callaway NL, Riha PD, Bruchey AK, Munshi Z, Gonzalez-Lima F. Methylene blue improves brain oxidative metabolism and memory retention in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2004;77:175–81.
- Carew T, Hawkins R, Kandel ER. Differential classical conditioning of a defensive withdrawal reflex in *Aplysia californica*. *Science*, 1983; 219:4583: 397-400.
- Carpenter MB, Sutin J. *Human Neuroanatomy*. 8th ed. Baltimore: Williams & Wilkins Press, 1983; 237.
- Carroll RC, Beattie EC, von Zastrow M, Malenka RC. Role of AMPA receptor endocytosis in synaptic plasticity. *Nature Reviews Neuroscience*, 2001; 2.5: 315.
- Castellani GC, Quinlan EM, Bersani F, Cooper LN, Shouval HZ. A model of bidirectional synaptic plasticity: from signaling network to channel conductance. *Learning & Memory*, 2005; 12(4): p. 423-432.
- Chalimoniuk M and Strosznajder JB. Aging modulates nitric oxide synthesis and cGMP levels in hippocampus and cerebellum - Effects of amyloid beta peptide. *Molecular and Chemical Neuropathology*, 1998; 35(1-3): p. 77-95.
- Chen Q, Zhou Z, Zhang L, Wang Y, Zhang YW, Zhong M, Yu ZP. Tau protein is involved in morphological plasticity in hippocampal neurons in response to BDNF. *Neurochemistry international*, 2012; 60.3: 233-242.
- Chen Z, Liu R, Yang SH, Dillon GH, Huang R. Methylene blue inhibits GABA_A receptors by interaction with GABA binding site. *Neuropharmacology*, 2017; 119: p. 100-110.
- Churcher I. Tau therapeutic strategies for the treatment of Alzheimer's disease. *Current topics in medicinal chemistry*, 2006; 6.6: 579-595.
- Citri A, Malenka RC. Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 2008; 33.1: 18.

- Collingridge GL, Peineau S, Howland JG, Wang YT. Long-term depression in the CNS. *Nature reviews neuroscience*, 2010; 11.7: 459.
- Congdon EE, Wu JW, Myeku N, Figueroa YH, Herman M, Marinec PS, Duff KE. Methylthioninium chloride (methylene blue) induces autophagy and attenuates tauopathy in vitro and in vivo. *Autophagy*, 2012., 8(4): p. 609-22.
- Constantinidis J. Pick's disease. *European neurology*, 1974; 11.4: 208-217.
- Crair MC, Malenka RC. A critical period for long-term potentiation at thalamocortical synapses. *Nature* 1995; 375: 325-8.
- Cull-Candy S, Brickley S, Farrant M. NMDA receptor subunits: diversity, development and disease. *Curr Opin Neurobiol*, 2001;11(3): 327-335.
- Cummings JL. and Benson D. Subcortical dementia: Review of an emerging concept. *Archives of Neurology*, 1984; 41.8: 874-879.
- Çekmen MB, Turgut M, Türköz Y, Aygün AD, Gözükar EM. Nitrik Oksit (NO) ve Nitrik Oksit Sentaz (NOS)'in Fizyolojik ve Patolojik Özellikleri. *Türkiye Klinikleri Journal of Pediatrics*, 2001; 10.4: 226-235.
- Deiana S, Harrington CR, Wischik CM, Riedel G. Methylthioninium chloride reverses cognitive deficits induced by scopolamine: comparison with rivastigmine. *Psychopharmacology (Berl)* 2009;202:53–65.
- Drubin DG. and Nelson WJ. Origins of cell polarity. *Cell*, 1996;84(3):335-44.
- Duchon A. and Herault Y. DYRK1A, a dosage-sensitive gene involved in neurodevelopmental disorders, is a target for drug development in Down syndrome. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 2016; 10: 104.
- Dudek SM, Bear MF. Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:4363–4367.
- Dugger BN, Whiteside CM, Maarouf CL, Walker DG, Beach TG, Sue LI, Roher AE. The presence of select tau species in human peripheral tissues and their relation to Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2016; 51.2: 345-356.

- Edlin SM. Methylene blue, spatial memory and anterior thalamic lesions relevant to amnesic disorders. 2011.
- Eichenbaum H. Memory: organization and control. *Annual review of psychology*, 2017; 68: 19-45.
- Eşsizoglu A, Yıldırım EA. Ruhsal bozuklukların psikobiyolojisinde nitrik oksit. *Dicle Tıp Dergisi*, 2009; 36.1: 67-74.
- Faber P, Ronald A, Millar BW. Methylthioninium chloride: pharmacology and clinical applications with special emphasis on nitric oxide mediated vasodilatory shock during cardiopulmonary bypass. *Anaesthesia*, 2005; 60.6: 575-587.
- Finkbeiner S, Tavazoie SF, Maloratsky A, Jacobs KM, Harris KM, Greenberg ME. CREB: a major mediator of neuronal neurotrophin responses. *Neuron* 1997; 19: 1031-47.
- Fioravante D, Antzoulatos EG, Byrne JH. 18 Sensitization and Habituation: Invertebrate. *Concise Learning and Memory: The Editor's Selection*, 2009; 373.
- Fiscus RR. Involvement of cyclic GMP and protein kinase G in the regulation of apoptosis and survival in neural cells. *Neurosignals*, 2002; 11(4): p. 175-90.
- Fitzjohn SM, Morton RA, Kuenzi F, Rosahl TW, Shearman M, Lewis H, Seabrook GR. Age-related impairment of synaptic transmission but normal long-term potentiation in transgenic mice that overexpress the human APP695SWE mutant form of amyloid precursor protein. *Journal of Neuroscience*, 2001; 21(13): p. 4691-4698.
- Fiumelli H, Riederer IM, Martin JL, Riederer BM. Phosphorylation of neurofilament subunit NF-M is regulated by activation of NMDA receptors and modulates cytoskeleton stability and neuronal shape. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 2008; 65(6): p. 495-504.
- Fleming LM. and Johnson GV. Modulation of the phosphorylation state of tau in situ: the roles of calcium and cyclic AMP. *Biochem J*, 1995; 309 (Pt 1): p. 41-7.
- Frandemiche ML, De Seranno S, Rush T, Borel E, Elie A, Arnal I, Buisson A. Activity-Dependent Tau Protein Translocation to Excitatory Synapse Is Disrupted by Exposure to Amyloid-Beta Oligomers. *Journal of Neuroscience*, 2014; 34(17): p. 6084-6097.

- Frey U, Huang Y, Kandel E. Effects of cAMP simulate a late stage of LTP in hippocampal CA1 neurons. *Science* 1993; 260: 1661-4.
- Fukunaga K, Muller D, Miyamoto E. CaM kinase II in long-term potentiation. *Neurochemistry International*, 1996; 28(4): p. 343-58.
- Gamblin TC, Chen F, Zambrano A, Abraha A, Lagalwar S, Guillozet AL, Miller R. Caspase cleavage of tau: linking amyloid and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003; 100(17): 10032-7.
- Ganong W F. Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi (23), Gökbel H, Nobel Tıp Kitabevi, 2011; 289-99.
- Ganong WF. Tıbbi Fizyoloji. Gökbel H. Sinir sisteminin yüksek fonksiyonları: Sartlı Refleksler, Öğrenme ve ilişkili Olaylar. Barış Kitabevi, Cilt 1, 17. Baskı, 329-33.
- Giacobini E. Cholinesterases: new roles in brain function and in Alzheimer's disease. *Neurochem Res* 2003;28:515-22.
- Ginimuge PR. and Jyothi S. Methylene blue: revisited. *Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology*, 2010; 26(4): p. 517.
- Goedert M, Spillantini MG, Jakes R, Rutherford D, Crowther RA. Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Neuron* 1989;3:519-526.
- Goedert M, Spillantini MG, Potier MC, Ulrich J, Crowther RA. Cloning and sequencing of the cDNA encoding an isoform of microtubule-associated protein tau containing four tandem repeats: differential expression of tau protein mRNAs in human brain. *EMBO J* 1989;8:393-399.
- Goedert M. And Jakes R. Expression of separate isoforms of human tau protein: correlation with the tau pattern in brain and effects on tubulin polymerization. *The EMBO journal*, 1990; 9.13: 4225-4230.
- Gong CX, Grundke-Iqbal I, Damuni Z, Iqbal K. Dephosphorylation of microtubule-associated protein tau by protein phosphatase 5. *Journal of neurochemistry*, 2004; 88.2: 298-310.
- Gong CX, Lidsky T, Wegiel J, Zuck L, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Phosphorylation of microtubule-associated protein tau is regulated by protein phosphatase 2A in

- mammalian brain implications for neurofibrillary degeneration in Alzheimer's disease. *Journal of Biological Chemistry*, 2000; 275.8: 5535-5544.
- Gonzalez-Lima F, Bruchey AK. Extinction memory improvement by the metabolic enhancer methylene blue. *Learn Mem* 2004;11:633–40.
- Goodson HV, Valetti C, Kreis TE. Motors and membrane traffic. *Curr Opin Cell Biol*, 1997;9(1): 18-28.
- Götz J, Probst A, Spillantini MG, Schäfer T, Jakes R, Bürki K, Goedert M. Somatodendritic localization and hyperphosphorylation of tau protein in transgenic mice expressing the longest human brain tau isoform. *Embo Journal*, 1995; 14(7): p. 1304-13.
- Grasselli G, He Q, Wan V, Adelman JP, Ohtsuki G, Hansel C. Activity-Dependent Plasticity of Spike Pauses in Cerebellar Purkinje Cells. *Cell Rep*, 2016; 14(11): p. 2546-53.
- Greig NH, Utsuki T, Ingram DK, Wang Y, Pepeu G, Scali C. Selective butyrylcholinesterase inhibition elevates brain acetylcholine, augments learning and lowers Alzheimer beta-amyloid peptide in rodent. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:17213–8.
- Grimes CA. and Jope RS. The multifaceted roles of glycogen synthase kinase 3 β in cellular signaling. *Progress in neurobiology*, 2001; 65.4: 391-426.
- Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Tung YC, Quinlan M, Wisniewski HM, Binder LI. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1986;83.13: 4913-4917.
- Gu Y, Oyama F, Ihara Y. Tau is widely expressed in rat tissues. *Journal of neurochemistry*, 1996; 67.3: 1235-1244.
- Guo T, Noble W, Hanger DP. Roles of tau protein in health and disease. *Acta neuropathologica*, 2017; 133.5: 665-704.
- Guttmann P, Ehrlich PU. ber die Wirkung des Methylenblau bei Malaria. *Berlin Klin Woch* 1891;28:953–956.

- Guyton AC, Hall JE. Tıbbi Fizyoloji, Serebral korteks; Beynin entelektüel işlevleri; öğrenme ve bellek. Missisipi, Nobel Kitabevi 2001;673-747.
- Gürvit H. Demans sendromu, Alzheimer hastalığı ve Alzheimer dışı demanslar. Noroloji (Editor A. Emre Ogel. Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul. 2004; 377-204.
- Haby C, Lisovoski F, Aunis D, Zwiller J. Stimulation of the Cyclic-Gmp Pathway by No Induces Expression of the Immediate-Early Genes C-Fos and Junb in Pc12 Cells. *Journal of Neurochemistry*, 1994; 62(2): p. 496-501.
- Hanger D, Anderton BH, Noble W. Tau phosphorylation: the therapeutic challenge for neurodegenerative disease. *Trends in molecular medicine*, 2009; 15.3: 112-119.
- Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *science*, 2002; 297.5580: 353-356.
- Harris EW, Cotman CW. Long-term potentiation of guinea pig mossy fiber responses is not blocked by N-methyl D-aspartate antagonists. *Neurosci Lett*, 1986;70(1): 132-137.
- Hartell NA. Receptors, second messengers and protein kinases required for heterosynaptic cerebellar long-term depression. *Neuropharmacology*, 2001; 40.1: 148-161.
- Hattori M, Sugino E, Minoura K, In Y, Sumida M, Taniguchi T. Different inhibitory response of cyanidin and methylene blue for filament formation of tau microtubule-binding domain. *Biochem Biophys Res Commun* 2008;374:158–63.
- Hattori M, Sugino E, Minoura K, In Y, Sumida M, Taniguchi T, Ishida T. Different inhibitory response of cyanidin and methylene blue for filament formation of tau microtubule-binding domain. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008; 374(1): p. 158-63.
- Hayashi Y, Shi SH, Esteban JA, Piccini A, Poncer JC, Malinow R. Driving AMPA receptors into synapses by LTP and CaMKII: requirement for GluR1 and PDZ domain interaction. *Science*, 2000; 287.5461: 2262-2267.
- Hebb DO. The organization of behavior: A neuropsychological theory. Psychology Press, 2005.

- Holzgrabe U, Kapkova P, Alptuzun V, Scheiber J, Kugelmann E. Targeting acetylcholinesterase to treat neurodegeneration. *Expert Opin Ther Targets* 2007;11:161–79.
- Hong M, Chen DC, Klein PS, Lee V. Lithium reduces tau phosphorylation by inhibition of glycogen synthase kinase-3. *J Biol Chem*, 1997;272(40): 25326-32.
- Hopper RA, Garthwaite J. Tonic and phasic nitric oxide signals in hippocampal long-term potentiation. *Journal of Neuroscience*, 2006; 26(45): p. 11513-11521
- Hosokawa M, Arai T, Nonaka T, Yamashita M, Suzukake M, Hasegawa M, Akiyama H. Methylene blue reduced tau phosphorylation and aggregation in P301L tau transgenic mice. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, 2012; 8(4): p. P574.
- Huang Y-Y, Li X-C, Kandel ER. cAMP contributes to mossy fiber LTP by initiating both a covalently mediated early phase and macromolecular synthesis independent late phase. *Cell* 1994; 79: 69-79.
- Huang YY, Colino A, Selig DK, Malenka RC. The influence of prior synaptic activity on the induction of long-term potentiation. *Science*, 1992; 255.5045: 730-733.
- Ihara Y. Phosphorylated tau protein is integrated into paired helical filaments in Alzheimer's disease. *The Journal of Biochemistry*, 1986; 99.6: 1807-1810.
- Insausti R, Amaral DG. Hippocampal formation. In: *The Human Nervous System: Second Edition*. Elsevier Inc, 2003; p. 871-914.
- Isaacson RL. Unsolved mysteries: the hippocampus. *Behavioral and cognitive neuroscience reviews*, 2002; 1.2: 87-107.
- İzci Y, Erbaş YC. Hipokampus: Yapısı ve Fonksiyonları. *Türk Nöroşir Derg*, 2015; 25.3: 287-95.
- Johnston D, Williams S, Jaffe D, Gray R. NMDA-receptor-independent long-term potentiation. *Annual Review of Physiology*. 1992;54(1):489-505.
- Kandel ER. Cellular mechanisms of learning and the biological basis of individuality. *Principles of neural science*. 1991; 3:1009-31.

- Kandel ER. The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science*, 2001;294(5544): 1030-1038.
- Kaptan Z, Üzümler G. Eriskin Hipokampal Nörogenezin Öğrenme ve Hafıza Fonksiyonlarındaki Rolü. *Türk Nöroloji Dergisi*, 2016;22(4).
- Katsuki H, Kaneko S, Tajima A, Satoh M. Separate mechanisms of long-term potentiation in two input systems to CA3 pyramidal neurons of rat hippocampal slices as revealed by the whole-cell patch-clamp technique. *Neurosci Res*, 1991;12(3): 393-402.
- Kawaguchi SY, Hirano T. Gating of long-term depression by Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II through enhanced cGMP signalling in cerebellar Purkinje cells. *The Journal of physiology*, 2013; 591(7): p. 1707-1730.
- Kelleher RJ, Govindarajan A, Tonegawa S. Translational regulatory mechanisms in persistent forms of synaptic plasticity. *Neuron* 2004; 44: 59-73.
- Kickstein E, Krauss S, Thornhill P, Rutschow D, Zeller R, Sharkey J, Schneider R. Thornhill P, et al. Biguanide metformin acts on tau phosphorylation via mTOR/protein phosphatase 2A (PP2A) signalling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107: 21830–35.
- Kimura T, Whitcomb DJ, Jo J, Regan P, Piers T, Heo S, Sotiropoulos I. Microtubule-associated protein tau is essential for long-term depression in the hippocampus. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2014; 369.1633: 20130144.
- Klein C, Krämer EM, Cardine AM, Schraven B, Brandt R, Trotter J. Process outgrowth of oligodendrocytes is promoted by interaction of fyn kinase with the cytoskeletal protein tau. *Journal of Neuroscience*, 2002; 22.3: 698-707.
- Kleppisch T, Pfeifer A, Klatt P, Ruth P, Montkowski A, Fässler R, Hofmann F. Long-term potentiation in the hippocampal CA1 region of mice lacking cGMP-dependent kinases is normal and susceptible to inhibition of nitric oxide synthase. *Journal of Neuroscience*, 1999; 19(1): p. 48-55.
- Klüver H, Bucy PC. Preliminary analysis of functions of the temporal lobes in monkeys. *Archives of Neurology & Psychiatry*, 1939; 42.6: 979-1000.
- Knierim JJ. The hippocampus. *Curr Biol*, 2015;25(23): R1116-1121.

- Kobayashi S, Tanaka T, Soeda Y, Almeida OF, Takashima A. Local Somatodendritic Translation and Hyperphosphorylation of Tau Protein Triggered by AMPA and NMDA Receptor Stimulation. *Ebiomedicine*, 2017; 20: p. 120-126.
- Korkotian E, Botalova A, Odegova T, Segal M. Chronic exposure to alcohol alters network activity and morphology of cultured hippocampal neurons. *Neurotoxicology*, 2015; 47: 62-71.
- Korte M, Kang H, Bonhoeffer T, Schuman E. A role for BDNF in the late-phase of hippocampal long-term potentiation. *Neuropharmacology*, 1998;37(4-5): 553-559.
- Kramer RH, Molokanova E. Modulation of cyclic-nucleotide-gated channels and regulation of vertebrate phototransduction. *Journal of Experimental Biology*, 2001; 204(17): p. 2921-2931.
- Kudoh M, Shibuki K. Long-term potentiation in the auditory cortex of adult rats. *Neurosci Lett* 1994; 171: 21-3.
- Kumar A, Singh A. A review on mitochondrial restorative mechanism of antioxidants in Alzheimer's disease and other neurological conditions. *Frontiers in pharmacology*, 2015; 6: 206.
- Kuret J, Johnson GS, Cha D, Christenson ER, DeMaggio AJ, Hoekstra MF. Casein kinase 1 is tightly associated with paired α helical filaments isolated from Alzheimer's disease brain. *Journal of neurochemistry*, 1997; 69.6: 2506-2515.
- Lachman SJ. Learning is a process: Toward an improved definition of learning. *The Journal of psychology*. 1997;131(5):477-80.
- Lee G, Thangavel R, Sharma VM, Litersky JM, Bhaskar K, Fang SM, Ksiezak-Reding H. Phosphorylation of tau by fyn: implications for Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience*, 2004; 24.9: 2304-2312
- Lee G, Newman ST, Gard DL, Band H, Panchamoorthy G. Tau interacts with src-family non-receptor tyrosine kinases. *Journal of cell science*, 1998; 111.21: 3167-3177.

- Lee HK, Takamiya K, Han JS, Man H, Kim CH, Rumbaugh G, Wenthold RJ. Phosphorylation of the AMPA receptor GluR1 subunit is required for synaptic plasticity and retention of spatial memory. *Cell*, 2003;112.5: 631-643.
- Lew J, Huang QQ, Qi Z, Winkfein RJ, Aebersold R, Hunt T, Wang JH. A brain-specific activator of cyclin-dependent kinase 5. *Nature*, 1994; 371.6496: 423.
- Li Z, Jo J, Jia JM, Lo SC, Whitcomb DJ, Jiao S, Sheng M. Caspase-3 activation via mitochondria is required for long-term depression and AMPA receptor internalization. *Cell*, 2010; 141.5: 859-871.
- Lien GF. " Induction of long-term potentiation in dorsal horn neurons and expression of immediate early genes Zif and Arc. 2005; Master's Thesis.
- Lisman J, Schulman H, Cline H. The molecular basis of CaMKII function in synaptic and behavioural memory. *Nature Reviews Neuroscience*, 2002; 3.3: 175.
- Li S, Hong S, Shepardson NE, Walsh DM, Shankar GM, Selkoe D. Soluble oligomers of amyloid Beta protein facilitate hippocampal long-term depression by disrupting neuronal glutamate uptake. *Neuron*, 2009; 62(6): p. 788-801.
- Lippincott-Schwartz J, Cole NB, Marotta A, Conrad PA, Bloom GS. Kinesin is the motor for microtubule-mediated Golgi-to-ER membrane traffic. *J Cell Biol*, 1995;128(3): 293-306.
- Litvan I, Agid Y, Calne D, Campbell G, Dubois B, Duvoisin RC, Hallett M. Clinical research criteria for the diagnosis of progressive supranuclear palsy (Steele-Richardson-Olszewski syndrome): report of the NINDS-SPSP international workshop. *Neurology*, 1996; 47.1: 1-9.
- Liu F, Iqbal K, Grundke-Iqbal I, Rossie S, Gong CX. Dephosphorylation of tau by protein phosphatase 5 impairment in Alzheimer's disease. *Journal of Biological Chemistry*, 2005; 280.3: 1790-1796.
- Liu SJ, Zhang AH, Li HL, Wang Q, Deng HM, Netzer WJ, Wang JZ. Overactivation of glycogen synthase kinase-3 by inhibition of phosphoinositide 3 kinase and protein kinase C leads to hyperphosphorylation of tau and impairment of spatial memory. *Journal of neurochemistry*, 2003; 87.6: 1333-1344.

- Liu Y, Zhang J. Recent development in NMDA receptors. *Chinese Med J-Peking*, 2000;113(10): 948-956.
- Lopez-Rojas J, Heine M, Kreutz MR. Plasticity of intrinsic excitability in mature granule cells of the dentate gyrus. *Sci Rep*, 2016; 6: p. 21615.
- Lorke DE, Lu G, Cho E, Yew DT. Serotonin 5-HT_{2A} and 5-HT₆ receptors in the prefrontal cortex of Alzheimer and normal aging patients. *BMC Neurosci* 2006;7:36.
- Lovestone S, Reynolds CH. The phosphorylation of tau: a critical stage in neurodevelopment and neurodegenerative processes. *Neurosci* 1997;78:309-324.
- Lu Y, Ji Y, Ganesan S, Schloesser R, Martinowich K, Sun M, Mei F, Chao MV, Lu B. TrkB as a potential synaptic and behavioral tag. *J Neurosci*, 2011;31(33): 11762-11771.
- Lu YF, Kandel ER, and Hawkins RD. Nitric oxide signaling contributes to late-phase LTP and CREB phosphorylation in the hippocampus. *J Neurosci*, 1999; 19(23): p. 10250-61.
- Lucas KA, Pitari GM, Kazerounian S, Ruiz-Stewart I, Park J, Schulz S, Waldman SA. Guanylyl cyclases and signaling by cyclic GMP. *Pharmacol Rev*, 2000; 52(3): p. 375-414.
- Lüscher C, Malenka RC. NMDA receptor-dependent long-term potentiation and longterm depression (LTP/LTD). *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2012;4(6)
- Lynch G, Larson J, Kelso S. Intracellular injections of EGTA block induction of hippocampal long-term potentiation. *Nature* 1983; 305: 719-21.
- Lynch MA. Long-term potentiation and memory. *Physiological reviews*, 2004;84.1: 87-136.
- Malenka RC, Bear MF. LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 2004; 44: 5-21
- Malenka RC, Kauer JA, Zucker RS. Postsynaptic calcium is sufficient for potentiation of hippocampal synaptic transmission. *Science* 1988; 242: 81-4.
- Malleret G, Alarcon JM, Martel G, Takizawa S, Vronskaya S, Yin D, Shumyatsky GP. Bidirectional regulation of hippocampal long-term synaptic plasticity and its influence on opposing forms of memory. *J Neurosci*, 2010; 30(10): p. 3813-25.

- Mandelkow E, Schweers M, Drewes O, Biernat G, Gustke J, Trinczek N. Structure, microtubule interactions, and phosphorylation of tau protein. *Ann N Y Acad Sci*, 1996; 777: 96-106.
- Martin M. Targeting Tau Degradation by Small Molecule Inhibitors for Treatment of Tauopathies. 2016.
- Mayer A. Historical Aspects of Cerebral Anatomy (2nd ed). London: Oxford University Press, 1971; 230.
- McGaugh JL. Memory a century of consolidation. *Science*, 2000;287(5451): 248-251.
- Medina DX, Caccamo A, Oddo S. Methylene Blue Reduces A beta Levels and Rescues Early Cognitive Deficit by Increasing Proteasome Activity. *Brain Pathology*, 2011; 21(2): p. 140-149.
- Mena R, Edwards PC, Harrington CR, Mukaetova-Ladinska EB, Wischik CM. Staging the pathological assembly of truncated tau protein into paired helical filaments in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol*, 1996;91(6): 633- 41.
- Meraz-Rios MA. Tau oligomers and aggregation in Alzheimer's disease. *Journal of neurochemistry*, 2010; 112.6: 1353-1367.
- Messaoudi E, Bårdsen K, Srebro B, Bramham CR. Acute intrahippocampal infusion of BDNF induces lasting potentiation of synaptic transmission in the rat dentate gyrus. *J Neurophysiol*, 1998;79(1): 496-499.
- Mondragon S, Trillaud-Doppia E, Dudilot A, Bourgeois C, Lauzon M, Leclerc N, Boehm J. Interaction of endogenous tau protein with synaptic proteins is regulated by N-methyl-D-aspartate receptor-dependent tau phosphorylation. *Journal of Biological Chemistry*, 2012; 287.38: 32040-32053.
- Moodly KK, Chan D. The hippocampus in neurodegenerative disease. *Front Neurol Neurosci*. 2014;34:95–108.
- Moriyoshi K, Masu M, Ishii T, Shigemoto R, Mizuno N, Nakanishi S. Molecular cloning and characterization of the rat NMDA receptor. *Nature*, 1991;354(6348): 31.
- Moser E, Moser MB. Mapping your every move. In: *Cerebrum: the Dana forum on brain science*. Dana Foundation, 2014.

- Moser EI, Kropff E, Moser MB. Place cells, grid cells, and the brain's spatial representation system. *Annu. Rev. Neurosci*, 2008; 31: 69-89.
- Moser EI, Roudi Y, Witter MP, Kentros C, Bonhoeffer T, Moser MB: Grid cells and cortical representation. *Nat Rev Neurosci*, 2014;15(7):466-481
- Mulkey RM, Malenka RC. Mechanisms underlying induction of homosynaptic long-term depression in area CA1 of the hippocampus. *Neuron* 1992;9:967–975.
- Mulkey RM, Endo S, Shenolikar S, Malenka RC. Involvement of a calcineurin/inhibitor-1 phosphatase cascade in hippocampal long-term depression. *Nature*, 1994;369.6480: 486.
- Mulkey RM, Herron CE, Malenka RC. An essential role for protein phosphatases in hippocampal long-term depression. *Science*, 1993; 261.5124: 1051-1055.
- Munoz L, Ammit AJ. Targeting p38 MAPK pathway for the treatment of Alzheimer's disease. *Neuropharmacology*, 2010; 58.3: 561-568.
- Necula M, Breydo L, Milton S, Kaye R, Van Der Veer WE, Tone P, Glabe CG. Methylene blue inhibits amyloid A β oligomerization by promoting fibrillization. *Biochemistry*, 2007; 46.30: 8850-8860.
- Nguyen PV, Kandel ER. A macromolecular synthesis-dependent late phase of long-term potentiation requiring cAMP in the medial perforant pathway of rat hippocampal slices. *J Neurosci* 1996; 16: 3189-98.
- Nijholt IM. Molecular mechanisms of synaptic plasticity: implications for immediate early gene expression and learning. University of Groningen, 2002.
- Nixon RA, Sihag RA. Neurofilament phosphorylation: a new look at regulation and function. *Trends Neurosci*, 1991;14(11):501-6.
- O'Keefe J, Conway DH. Hippocampal place units in the freely moving rat: Why they fire when they fire. *Exp Brain Res* 1978; 31(4): 573-590
- Oddo S, Caccamo A, Tseng B, Cheng D, Vasilevko V, Cribbs DH, LaFerla FM. Blocking A β 42 accumulation delays the onset and progression of tau pathology via the C terminus of heat shock protein70-interacting protein: a mechanistic

link between A β and tau pathology. *Journal of Neuroscience*, 2008; 28.47: 12163-12175.

Ohlow MJ, Moosmann B. Phenothiazine: the seven lives of pharmacology's first lead structure. *Drug discovery today*, 2011; 16.3-4: 119-131.

O'Keefe J, Dostrovsky J. The hippocampus as a spatial map: preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain research*, 1971.

Öz M, Lorke DE, Hasan M, Petroianu GA. Cellular and molecular actions of methylene blue in the nervous system. *Medicinal research reviews*, 2011; 31.1: 93-117.

Öz M. Methylene blue and Alzheimer's disease. *Biochemical pharmacology*, 2009; 78.8: 927-932.

Özçelik S. Mechanisms of tau fragmentation, aggregation and degradation in transgenic mouse models. PhD Thesis. University_of_Basel, 2013; part II: 20

Özen NE ve Rezaki M. Prefrontal Korteks: bellek işlevi ve bunama ile ilişkisi. *Türk Psikiyatri Dergisi* 2007; 18: 262, 269.

Pallas Bazarra N, Jurado Arjona J, Navarrete M, Esteban JA, Hernández F, Ávila J, Llorens Martín M. Novel function of Tau in regulating the effects of external stimuli on adult hippocampal neurogenesis. *The EMBO journal*, 2016; 35.13: 1417-1436.

Pang PT, Teng HK, Zaitsev E, Woo NT, Sakata K, Zhen S, Lu B. Cleavage of proBDNF by tPA/plasmin is essential for long-term hippocampal plasticity. *Science* 2004; 306: 487-91.

Panja D; Bramham CR. BDNF mechanisms in late LTP formation: a synthesis and breakdown. *Neuropharmacology*, 2014; 76: 664-676.

Paoletti P, Neyton J. NMDA receptor subunits: function and pharmacology. *Curr Opin Pharmacol*, 2007; 7(1): 39-47.

Papez JW. A proposed mechanism of emotion. *Archives of Neurology & Psychiatry*, 1937; 38.4: 725-743.

- Park J, Song WJ, Chung KC. Function and regulation of Dyrk1A: towards understanding Down syndrome. *Cellular and molecular life sciences*, 2009; 66.20: 3235-3240.
- Parlow JL, van Vlymen JM. The methylene blues: anticipating adverse reactions to non-anesthetic drugs. *Can J Anaesth* 2008;55:1–5.
- Patrick GN, Zukerberg L, Nikolic M, de La Monte S, Dikkes P, Tsai LH. Conversion of p35 to p25 deregulates Cdk5 activity and promotes neurodegeneration. *Nature*, 1999; 402.6762: 615.
- Pernia-Andrade AJ, Jonas P. Theta-gamma-modulated synaptic currents in hippocampal granule cells in vivo define a mechanism for network oscillations. *Neuron*, 2014; 81(1): p. 140-52.
- Peter C, Hongwan D, Küpfer A, Lauterburg BH. Pharmacokinetics and organ distribution of intravenous and oral methylene blue. *European journal of clinical pharmacology*, 2000; 56.3: 247-250.
- Pratico D. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease: a reappraisal. *Trends Pharmacol Sci* 2008;29:609–15.
- Probst A, Langui D, Lautenschlager C, Ulrich J, Brion JP, Anderton BH. Progressive supranuclear palsy: extensive neuropil threads in addition to neurofibrillary tangles. *Acta neuropathologica*, 1988; 77.1: 61-68.
- Puzzo D, Vitolo O, Trinchese F, Jacob JP, Palmeri A, Arancio O. Amyloid-beta peptide inhibits activation of the nitric oxide/cGMP/cAMP responsive element-binding protein pathway during hippocampal synaptic plasticity. *J Neurosci*, 2005; 25(29): p. 6887-97.
- Qiang L, Yu W, Andreadis A, Luo M, Baas PW. Tau protects microtubules in the axon from severing by katanin. *Journal of Neuroscience*, 2006; 26.12: 3120-3129.
- R.Vose L, K.Stanton P. Synaptic plasticity, metaplasticity and depression. *Current neuropharmacology*, 2017;15.1: 71-86.

- Rademakers R, Cruts M, van Broeckhoven C. The role of tau (MAPT) in frontotemporal dementia and related tauopathies. *Human Mutation* 2004;24:277-295.
- Rady RM, Zinkowski RP, Binder LI. Presence of tau in isolated nuclei from human brain. *Neurobiology of aging*, 1995; 16.3: 479-486.
- Raymond CR. LTP forms 1, 2 and 3: different mechanisms for the 'long' in long-term potentiation. *Trends in neurosciences*, 2007;30.4: 167-175.
- Regan P, Piers T, Yi JH, Kim DH, Huh S, Park SJ, Cho K. Tau Phosphorylation at Serine 396 Residue Is Required for Hippocampal LTD. *Journal of Neuroscience*, 2015; 35(12): p. 4804-4812.
- Reymann KG, Frey JU. The late maintenance of hippocampal LTP: requirements, phases, 'synaptic tagging', 'late-associativity' and implications. *Neuropharmacology* 2007; 52: 24-40.
- Reynolds CH, Garwood CJ, Wray S, Price C, Kellie S, Perera T, Hanger DP. Phosphorylation regulates tau interactions with Src homology 3 domains of phosphatidylinositol 3-kinase, phospholipase C γ 1, Grb2, and Src family kinases. *Journal of Biological Chemistry*, 2008; 283.26: 18177-18186.
- Roberson ED, Halabisky B, Yoo JW, Yao J, Chin J, Yan F, Palop JJ. Amyloid- β /Fyn-induced synaptic, network, and cognitive impairments depend on tau levels in multiple mouse models of Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience*, 2011;31.2: 700-711.
- Rojas JC, Bruchey AK, Gonzales-Lima F. Neurometabolic mechanisms for memory enhancement and neuroprotection of methylene blue. *Progress in neurobiology*, 2012;96.1: 32-45.
- Rosenblum K, Futter M, Jones M. ERK1/II regulation by the muscarinic acetylcholine receptors in neurons. *J Neurosci* 2000; 20: 977-85.
- Santschi LA, Zhang X, Stanton PK. Activation of receptors negatively coupled to adenylate cyclase is required for induction of long-term synaptic depression at Schaffer collateral-CA1 synapses. *Journal of neurobiology*, 2006; 66.3: 205-219.

- Saransaari P, Oja SS. Taurine release from the developing and ageing hippocampus: stimulation by agonists of ionotropic glutamate receptors. *Mechanisms of ageing and development*, 1997; 99.3: 219-232.
- Schacter DL and Tulving E. *Memory systems*. 1994.
- Schaeffer CJ, Weber MJ. Mitogen-activated protein kinases: specific messages from ubiquitous messengers. *Molecular and cellular biology*, 1999; 19.4: 2435-2444.
- Schirmer RH, Adler H, Pickhardt M, Mandelkow E. Lest we forget you—methylene blue.... *Neurobiology of Aging*, 2011; 32(12): p. 2325. e7-2325. e16.
- Schneider A, Biernat J, Von Bergen M, Mandelkow E, Mandelkow EM. Phosphorylation that detaches tau protein from microtubules (Ser262, Ser214) also protects it against aggregation into Alzheimer paired helical filaments. *Biochemistry*, 1999; 38(12): p. 3549-3558.
- Scoville WB, Milner B. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. 1957;20(1):11.
- Sendrowski K, Sobaniec W. Hippocampus, hippocampal sclerosis and epilepsy. *Pharmacological Reports*, 2013; 65.3: 555-565.
- Seress L, Ábrahám H, Horváth Z, Dóczy T, Janszky J, Klemm J, Bakay RA. Survival of mossy cells of the hippocampal dentate gyrus in humans with mesial temporal lobe epilepsy. *Journal of neurosurgery*, 2009; 111.6: 1237-1247.
- Sergeant N, Delacourte A, Buée L. Tau protein as a differential biomarker of tauopathies. *Biochimica et Biophysica Acta* 2005;1739:179-197.
- Sharma HS, Miclescu A, Wiklund L. Cardiac arrest-induced regional blood–brain barrier breakdown, edema formation and brain pathology: a light and electron microscopic study on a new model for neurodegeneration and neuroprotection in porcine brain. *Journal of neural transmission*, 2011;118.1: 87-114.
- Shipton OA, Leitz JR, Dworzak J, Acton CE, Tunbridge EM, Denk F, Vargas-Caballero M. Tau Protein Is Required for Amyloid beta-Induced Impairment of Hippocampal Long-Term Potentiation. *Journal of Neuroscience*, 2011;31(5): p. 1688-1692.

- Soed, Y, Saito M, Maeda S, Ishida K, Nakamura A, Kojima S, Takashima A. Methylene Blue Inhibits Formation of Tau Fibrils but not of Granular Tau Oligomers: A Plausible Key to Understanding Failure of a Clinical Trial for Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*, 2019.
- Songur A, Özen OA, Sarsilmaz M. Hipokampus. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 2001;21.5: 427-431.
- Sontag JM, Nunbhadki-Craig V, Montgomery L. Folate deficiency induces in vitro and mouse brain region-specific downregulation of leucine carboxyl methyltransferase-1 and protein phosphatase 2A α subunit expression that correlate with enhanced tau phosphorylation. *J Neurosci* 2008; 28: 11477–87.
- Spillantini MG, Bird TD, Ghetti B. Frontotemporal dementia and parkinsonism linked to chromosome 17: a new group of tauopathies. *Brain Pathology* 1998; 8:387-402.
- Spillantini MG, Goedert M. Tau pathology and neurodegeneration. *The Lancet Neurology*, 2013; 12.6: 609-622.
- Stack C, Jainuddin S, Elipenahli C, Gerges M, Starkova N, Starkov AA, Kaidery NA. Methylene blue upregulates Nrf2/ARE genes and prevents tau-related neurotoxicity. *Human molecular genetics*, 2014; 23(14): p. 3716-3732.
- Stambolic V, Ruel L, Woodgett JR. Lithium inhibits glycogen synthase kinase- 3 activity and mimics wingless signalling in intact cells. *Curr Biol*, 1996; 6(12):1664-8.
- Steele JC, Richardson JC, Olszewski J. Progressive supranuclear palsy: a heterogeneous degeneration involving the brain stem, basal ganglia and cerebellum with vertical gaze and pseudobulbar palsy, nuchal dystonia and dementia. In: *Seminars in neurology*. Thieme Medical Publishers, 2014; 129-150.
- Streba J, Walluschb J, Yinc S. Knowledge spill-over from new to old industries: The case of German synthetic dyes and textiles (1878–1913). *Explorations Econ Hist* 2007;44:203–223.
- Sultan A, Nessler F, Violet M, Bégard S, Loyens A, Talahari S, Colin M. Nuclear tau, a key player in neuronal DNA protection. *Journal of Biological Chemistry*, 2011; 286.6: 4566-4575.

- Surridge CD, Burns RG. The difference in the binding of phosphatidylinositol distinguishes MAP2 from MAP2C and Tau. *Biochemistry*, 1994; 33.26: 8051-8057.
- Sweatt DJ. *The Basics of Psychological Learning and Memory Theory. Mechanism of Memory*. 2th ed. Slovenia: Elsevier, 2010; 2-23.
- Takei Y, Teng J, Harada A, Hirokawa N. Defects in axonal elongation and neuronal migration in mice with disrupted tau and map1b genes. *The Journal of cell biology*, 2000; 150.5: 989-1000.
- Taniguchi S, Suzuki N, Masuda M, Hisanaga SI, Iwatsubo T, Goedert M, Hasegawa M. Inhibition of heparin-induced tau filament formation by phenothiazines, polyphenols, and porphyrins. *J Biol Chem*, 2005; 280(9): p. 7614-23.
- Teyler TJ, DiScenna P. Long-term potentiation. *Annu Rev Neurosci*, 1987;10(1): 131-161.
- Thammaroj J, Santosh C, Bhattacharya JJ. The hippocampus: modern imaging of its anatomy and pathology. *Practical Neurology*, 2005; 5.3: 150-159.
- Thompson SH. Cyclic GMP-gated channels in a sympathetic neuron cell line. *J Gen Physiol*, 1997; 110(2): p. 155-64.
- T.Siegelbaum SA, Hudspeth AJ. *Principles of Neural Science*. 5th ed Newyork: The McGraw-Hill Companies. 2013; 1441-60.
- Tolnay M, Monsch AU, Probst A. A frequent dementing disorder in aged patients. *Neuropathology and Genetics of Dementia*, 2001; 487: 39.
- Tomasulo RA, Levy WB, Steward O. LTP-associated EPSP/spike dissociation in the dentate gyrus: GABAergic and non-GABAergic components. *Brain Res*, 1991; 561(1): p. 27-34.
- Topuz RD. Morris su labirenti uzaysal öğrenme ve bellek modelinde, sıçan hipokampusündte histon asetilasyonu ve histon deasetilaz inhibitörünün etkisi. 2015; Master's Thesis. Trakya Üniversitesi.
- Trinczek B, Ebner A, Mandelkow EM, Mandelkow E. Tau regulates the attachment/detachment but not the speed of motors in microtubule-dependent

- transport of single vesicles and organelles. *J Cell Sci*, 1999; 112 (Pt 14): 2355-67.
- Van Bebber F, Paquet D, Hruscha A, Schmid B, Haass C. Methylene blue fails to inhibit Tau and polyglutamine protein dependent toxicity in zebrafish. *Neurobiology of disease*, 2010; 39(3): p. 265-271.
- Van Eersel J, Ke YD, Liu X. Sodium selenate mitigates tau pathology, neurodegeneration, and functional deficits in Alzheimer's disease models. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107: 13888–93.
- Visarius TM, Stucki JW, Lauterburg BH. Stimulation of respiration by methylene blue in rat liver mitochondria. *FEBS Lett* 1997;412:157–60.
- Volke V, Wegener G, Vasar E, Rosenberg R. Methylene blue inhibits hippocampal nitric oxide synthase activity in vivo. *Brain research*, 1999; 826.2: 303-305.
- Vutskits L, Briner A, Klauser P, Gascon E, Dayer AG, Kiss JZ. Adverse effects of methylene blue on the central nervous system. *Anesthesiology* 2008;108:684–92.
- Waddell S, Quinn WG. What can we teach *Drosophila*? What can they teach us?. *Trends Genet*, 2001;17(12): 719-726.
- Waltereit R, Weller M. Signaling from cAMP/PKA to MAPK and synaptic plasticity. *Mol Neurobiol* 2003; 27: 99-106.
- Wang JZ, Liu F. Microtubule-associated protein tau in development, degeneration and protection of neurons. *Progress in neurobiology*, 2008;85.2: 148-175.
- Wang JZ, Gong CX, Zaidi T, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Dephosphorylation of Alzheimer paired helical filaments by protein phosphatase-2A and– 2B. *Journal of Biological Chemistry*, 1995; 270.9: 4854-4860.
- Wang JZ, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Kinases and phosphatases and tau sites involved in Alzheimer neurofibrillary degeneration. *European Journal of Neuroscience*, 2007; 25.1: 59-68.
- Wang Y, Mandelkow E. Tau in physiology and pathology. *Nature Reviews Neuroscience*, 2016;17.1: 22.

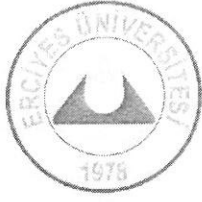
- Wang H, Wagner JJ. Priming-induced shift in synaptic plasticity in the rat hippocampus. *Journal of Neurophysiology*, 1999; 82.4: 2024-2028.
- Wang X, Robinson PJ. Cyclic GMP-dependent protein kinase and cellular signaling in the nervous system. *Journal of Neurochemistry*, 1997; 68(2): p. 443-56.
- Waterman-Storer CM, Salmon ED. Microtubule dynamics: treadmilling comes around again. *Curr Biol*, 1997; 7(6): R369-72.
- Weingarten M, Lockwood, A, Hwo S, Kirschner M. A protein factor essential for microtubule assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1975;72:1858-62.
- Wischik CM, Edwards PC, Lai RY, Roth M, Harrington CR. Selective inhibition of Alzheimer disease-like tau aggregation by phenothiazines. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1996; 93.20: 11213-11218.
- Williams PL. *Gray's anatomy. Nervous system*, 1995; 1240-1243.
- Williamson R, Scales T, Clark BR, Gibb G, Reynolds CH, Kellie S, Anderton BH. Rapid tyrosine phosphorylation of neuronal proteins including tau and focal adhesion kinase in response to amyloid- β peptide exposure: involvement of Src family protein kinases. *Journal of Neuroscience*, 2002; 22.1: 10-20.
- Wischik CM, Bentham P, Wischik DJ, Seng KM. Tau aggregation inhibitor (TAI) therapy with rember™ arrests disease progression in mild and moderate Alzheimer's disease over 50 weeks. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, 2008; 4(4): p. T167.
- Wiseman FK, Alford KA, Tybulewicz VL, Fisher EM. Down syndrome recent progress and future prospects. *Human molecular genetics*, 2009; 18.R1: R75-R83.
- Wixted JT, Squire LR, Jang Y, Papesh MH, Goldinger SD, Kuhn JR, Steinmetz PN. Sparse and distributed coding of episodic memory in neurons of the human hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2014; 111.26: 9621-9626.
- Woollett K, Maguire EA. Exploring anterograde associative memory in London taxi drivers. *Neuroreport*, 2012; 23.15: 885.

- Wu J, Wang Y, Rowan MJ, Anwyl R. Evidence for involvement of the cGMP–protein kinase G signaling system in the induction of long-term depression, but not long-term potentiation, in the dentate gyrus in vitro. *Journal of Neuroscience*, 1998; 18(10): p. 3589-3596.,
- Yamamoto H, Saitoh Y, Fukunaga K, Nishimura H, Miyamoto E. Dephosphorylation of microtubule proteins by brain protein phosphatases 1 and 2A, and its effect on microtubule assembly. *Journal of neurochemistry*, 1988; 50.5: 1614-1623.
- Yamamoto H, Yamauchi E, Taniguchi H, Ono T, Miyamoto E. Phosphorylation of microtubule-associated protein tau by Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II in its tubulin binding sites. *Archives of biochemistry and biophysics*, 2002; 408.2: 255-262.
- Yamamoto H, Hiragami Y, Murayama M, Ishizuka K, Kawahara M, Takashima A. Phosphorylation of tau at serine 416 by Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II in neuronal soma in brain. *Journal of Neurochemistry*, 2005;94(5): p. 1438-47.
- Yamashita M, Nonaka T, Arai T, Kametani F, Buchman VL, Ninkina N, Hasegawa M. Methylene blue and dimebon inhibit aggregation of TDP-43 in cellular models. *FEBS Lett*, 2009; 583(14): p. 2419-24.
- Yiğit R. Kontrol Sistemleri, Sindirim ve Boşaltım Fizyolojisi. 2001; 293-98.
- Yücel YY, Tacal O, Özer I. Comparative effects of cationic triarylmethane, phenoxazine and phenothiazine dyes on horse serum butyrylcholinesterase. *Arch Biochem Biophys* 2008;478:201–5.
- Zhang SJ, Ye J, Couey JJ, Witter M, Moser EI, Moser MB. Functional connectivity of the entorhinal–hippocampal space circuit. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2014; 369.1635: 20120516.
- Zhang YH, Wang DW, Xu SF, Zhang S, Fan YG, Yang YY, Guo C. alpha-Lipoic acid improves abnormal behavior by mitigation of oxidative stress, inflammation, ferroptosis, and tauopathy in P301S Tau transgenic mice. *Redox Biol*, 2018; 14: p. 535-548

Zhou Y, Shi J, Chu D, Hu W, Guan Z, Gong CX, Liu F. Relevance of phosphorylation and truncation of tau to the etiopathogenesis of Alzheimer's disease. *Frontiers in aging neuroscience*, 2018;10: 27.

Zucker RS, Regehr WG. Short-term synaptic plasticity. *Annual review of physiology*, 2002; 64.1: 355-405.





T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(EÜHADYEK)



Tarih: 14.11.2018

Toplantı Sayısı: 10

Karar No:18/139

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 14.11.2018 tarihinde Prof. Dr. Fahri OĞUZKAYA 'nın başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü	İmza
Fahri OĞUZKAYA	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fakültesi	
Gültekin ATALAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Fusun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Serpil SARIÖZKAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Yusuf KONCA	Prof. Dr.	Ziraat Fakültesi	
Ahmet ÖZTÜRK	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Zühal HAMURCU	Doç. Dr.	Tıp Fakültesi	
M. Betül AYCAN	Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Sezer DEMİRBUĞA	Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	
Zeynep CAFEROĞLU	Dr.Öğr.Üyesi	Sağlık Bilimleri Fakültesi	
Çağrı Çağlar SİNMEZ	Dr.Öğr.Üyesi	Veteriner Fakültesi	
Burcu ÜNLÜ ENDİRLİK	Dr.Öğr.Üyesi	Eczacılık Fakültesi	
Zeynep SOYER SARICA	Dr.	Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Arş.Mrkz.	KATILMADI
Özge AL	Arş. Görevlisi	Genom ve Kök Hücre Merkezi (GENKÖK)	
Ali KOÇ	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	Sivil Üye	
Mehmet TAV	Dernek Üyesi (Avukat)	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi	

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D.'dan Prof. Dr. Nurcan DURSUN tarafından sunulan "Hipotiroidizmde Gelişen Öğrenme-Hafıza Bozukluğunda Tau Agregasyon İnhibitörü "Methylene Blue"nın İyileştirici Etkisinin Sıçanlarda Araştırılması" başlıklı proje incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih

: 14.11.2018

Etik Kurul Başkanı

: Prof. Dr. Fahri OĞUZKAYA

İmza

:

TAU AGREGASYON İNHİBİTÖRÜ 'METİLEN MAVİSİ'NİN ÖĞRENME VE HAFIZA ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLİK RAPÖRÜ

%**5**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**4**

İNTERNET
KAYNAKLARI

%**1**

YAYINLAR

%

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

norosirurji.dergisi.org

İnternet Kaynağı

%**2**

2

www.journalagent.com

İnternet Kaynağı

%**1**

3

angora.baskent.edu.tr

İnternet Kaynağı

%**1**

4

pediatri.turkiyeklinikleri.com

İnternet Kaynağı

<%**1**

5

acikerisim.pau.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

<%**1**

6

prezi.com

İnternet Kaynağı

<%**1**

7

BERKTAŞ, Fatih, KIROĞLU, Olcay and AKSU, Fazilet. "Antidepresan İlaçların Öğrenme ve Bellek Mekanizması na Etkileri", Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2017.

Yayın

<%**1**

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı-Soyadı: Nurbanu YILDIZ

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum tarihi: 20/07/1993

Doğum yeri: Yozgat/ TÜRKİYE

Telefon: 05438894334

E-mail: nurbanu.93@hotmail.com

Yazışma adresi: Gevher Nesibe Mah. Ay Sok. Coşkun Erdoğan Apartmanı No:6/8
Kocasinan /KAYSERİ

EĞİTİM BİLGİLERİ

Yüksek Öğretim: Ahi Evran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Yüksekokulu, Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Bölümü (2011-2015)

Yüksek Lisans: Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı (2016-)

YABANCI DİL

İngilizce

MESLEKİ DENEYİM

Stajer Fzt. (2012) Kayseri Devlet Hastanesi

Stajer Fzt. (2013) Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi

Stajer Fzt. (2014) Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi

Fizyoterapist (2015-) Özel Büyükkılıç Özel Eğitim ve Rehabilitasyon Merkezi