



T.C.

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ

BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ

**SIĞAN HİPOKAMPUS CA1 NÖRONLARINDA POSTNATAL
ELEKTROFİZYOLOJİK DEĞİŞİKLİKLERİN İN VİTRO İZLEMLERİNDE
İNCELENMESİ**

PROJE NO: EÜBAP 11 TT07042

Proje Yöneticisi: Prof. Dr. Cem SÜER

Araştırmacılar: Dr. Mehmet Akif BAKTIR

Haziran 2011

KAYSERİ

KİMLİKLER

Özet	- 3 -
Abstract.....	- 5 -
Kısaltmalar ve Simgeler	- 6 -
Tablo ve Şekil Listesi	- 7 -
Giriş ve Amaç	- 8 -
Genel Bilgiler.....	- 10 -
Gereç ve Yöntem.....	- 21 -
Bulgular	- 25 -
Tartışma	- 31 -
Kaynaklar.....	- 33 -

Özet

Bu çalışmada seçanlarda; öğrenme işlevlerinde öncelikli rolü olan hipokampal CA1 bölgesi nöronların bazal sinaptik etkinliği ve yüksek frekanslı uyarı ile tetiklenen uzun süreli potansiyelizasyon (LTP) yanıtının postnatal 30, 60 ve 120nci günlerde incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada postnatal gelişimin 30, 60 ve 120nci gününde olan toplam 18 adet erkek seçan kullanıldı. Sağ medial perforan yolunun uyarı ile oluşan alan potansiyelleri ipsilateral hipokampusun CA1 bölgesinden kaydedildi. Biyolojik sinyaller bir pre-amplifierde yükseltildi (1000x) ve sayısallaştırıldı. Bilgisayar monitöründe gösterildi ve offline analiz için *óScope* kullanılarak saklandı.

Bir input-output (I/O) eğrisi elde etmek için her 20 sn'de bir 175 ms devam eden uyarı ve monofazik elektrik akımları verildi. Test uyarı şiddeti belirlendikten sonra 15 dk bazal kayıt alındı ve LTP oluşturmak için 5 dk arayla 15, 20, 25 ve 30uncu dakikalarda dört kez yüksek frekanslı uyarı (100 Hz) verildi. Son tetanik uyarıyı takiben test uyarı her 30 sn'de bir olacak şekilde 160nci dakikaya kadar uygulandı. Bazal periyot süresince EPSP eğimlerinin ve PS genliklerinin ortalama değeri her seçan için %100 olarak değerlendirildi. Bundan sonraki her EPSP eğimi ve PS genliği hesaplanan bu değerlerin yüzdesi olarak ifade edildi. Eğim ve amplitüdün istatistiksel değerlendirmesi için üç zaman penceresi seçildi ve bu dönemlerdeki ortalama değerler karşılaştırıldı.

Bu çalışmada elde edilen bulgular, hipokampusun CA1 bölgesindeki nöronal etkinliğin ve yüksek uyarıya yanıt olarak oluşan sinaptik değişikliklerin, postnatal 30, 60 ve 120nci günler arasında anlamlı bir farklılık göstermediğini ortaya koymaktadır.

Hipokampus CA1 sinapslarındaki yüksek frekanslı uyaran yapılmadan önceki bazal etkinliği, 0,1 mA-1,5 mA arasında değişen şiddetteki uyaranlara karşı postnatal 30, 60 ve 120nci gün kayıtlarından elde edilen EPSP eğimleri ve PS genlikleri birbirinden farklı bulunmamıştır. Postnatal 30, 60 ve 120nci gün kayıtlarının ortalama traseleri, bazal dönem, LTP indüksiyonundan hemen sonra ve deney sonu idame döneminde birbirinden farklı bulunmamıştır. 160 dakika süren kayıt boyunca EPSP eğimleri ve PS genliklerinin bazal döneme göre yüzde değişimleri, gruplar arasında farklılık göstermemiştir.

Abstract

The role of hippocampal CA1 neurons in the basal synaptic efficacy and their response to high frequency stimulation (long term potentiation, LTP) was studied in the rats aged of postnatal 30, 60 and 120 days. The field potentials evoked by right perforant pathways were recorded from CA1 region of the hippocampus. Biological signals were pre-amplified (1000x) and digitalized, and stored for off-line analysis using the óscopeô programme.

The input-output (I/O) curves were obtained using step pulse (duration: 175 msec) with increasing intensity in every 20 sec. After determination of test stimulus intensity basal recording lasted 15 min and LTP was induced with four trains with 100 Hz frequency at 5 min intervals. Then test stimulus delivery was continued at 30 sec intervals at the 160th min. The mean value of slope or amplitude of the field potential in the basal recording period was adopted as 100. The slope or amplitude of each field potential was expressed percent of the basal value. For statistical evaluation three time Windows were selected and mean values in these time-windows were compared between three groups.

It was found that basal synaptic efficacy and the response to HFS CA1 neurons did not differ between the rats aged postnatal 30, 60 and 120 days. The slope and amplitude of the field potentials and the efficacy of synapses in CA1 region of the hippocampus did not different in response to stimulus intensity changing between 0.1 and 1.5 mA in the rats aged 30, 60 and 120 days before HFS. Also there were no significant differences between the groups in the amplitude or slope of the field potentials in the time windows used. The changes according to basal period were the similar during 160 minutes.



Kısaltmalar ve Simgeler

AMPA	Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazol-propionik asit
BOS	Beyin omurilik sıvısı
CREB-1	cAMP response element binding
Ca	Kalsiyum
cAMP	Siklik adenilat mono
cGMP	Siklik guanilat mono fosfat
EPSP	Eksite edici postsinaptik potansiyel
HFS	High frekans stimülasyon
LTP	Uzun süreli potansiyasyon (Long-Term potentiation)
Mg	Magnezyum
MAPK	Mitojen aktive protein kinaz
mRNA	Mesenger ribonükleik asit
Na	Sodyum
NaCl	Sodyum klorür
NMDA	N-methyl-aspartate
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentetaz
PKC	Protein kinaz C
PS	Population spike

Tablo ve Lekil Listesi

Ėekil 1. Elektrofizyolojik kayıřların alıńdıkđ deney sisteminin Ėematik görünümü...	- 23 -
Ėekil 2. Bir �rnek deney sırasında beyine yerleştirilen elektrotların ve deney hayvanın görünümü.....	- 23 -
Ėekil 3. �rnek Kayış Trasesi.....	- 25 -
Ėekil 4. Hipokampus CA1 sinapslarının yüksek frekanslı uyarın yapışmadan önceki bazal EPSP eğimi etkinliği. PN30; Postnatal 30; PN60: Postnatal 60; PN120: Postnatal 120nci gün kayışlarından elde edilen EPSP-I/O grafikleri.	- 26 -
Ėekil 5. Hipokampus CA1 sinapslarının yüksek frekanslı uyarın yapışmadan önceki bazal PS genliği etkinliği. PN30; Postnatal 30; PN60: Postnatal 60; PN120: Postnatal 120nci gün kayışlarından elde edilen PS-I/O grafikleri.	- 27 -
Ėekil 6. Postnatal 30, 60 ve 120nci gün kayışlarının ortalama traseleri: Bazal dönemi (�st panel), LTP indüksiyonundan hemen sonrası(orta panel) ve deney sonu idame dönemi (alt panel).....	- 28 -
Ėekil 7. 160 dakika süren kayış boyunca EPSP eğimlerinin bazal döneme göre yüzde değilimleri.	- 29 -
Ėekil 8. 160 dakika süren kayış boyunca PS genliklerinin bazal döneme göre yüzde değilimleri	- 30 -

Giriş ve Amaç

İnsandaki nöronların büyük çoğunluğu prenatal yaşamın ikinci trimesterinin sonunda oluşur. Nöronal migrasyon gebeliğin ilk haftalarında başlar ve doğum esnasında büyük ölçüde tamamlanmış olur. Doğumu izleyerek 6 yaş civarına kadar sinaps oluşumu oldukça hızlıdır. On dört yaştan başlayarak sinaps sayılarında giderek bir azalma gözlenir (1). Bu azalma yavaşlayarak yaşam boyu devam eder. İnsan ve hayvanlarda postnatal dönemde fiziksel gelişme mental gelişme ile en çok da kognitif becerilerin gelişmesi ile birliktedir. Postnatal dönem seçanlarda süttten kesilme zamanı olan doğumdan sonraki 21. günden itibaren başlar ve 60 güne kadar sürer (2). Seçanlar üreme fonksiyonlarının gerçekleşmesiyle doğumdan sonraki 60. günden itibaren erişkin kabul edilirler (3).

Kemirgen beyni postnatal dönem boyunca önemli gelişme geçirir. Hacmi bu dönem boyunca artar (4). Hücre proliferasyon hızı ve dendrit yoğunluğu bu dönemde erişkinlerden daha fazladır, reseptör ekspresyonu, dendritik dallanma ve sinaptogenezis bu dönem boyunca devam eder (5). Yer ve yön öğrenmeyle ilişkili olan Uzamsal yetenek de pubertenin sonunda gelişmesini tamamlar. Kognitif profili etkileyen sağ ya da sol hemisfer dominansı da pubertenin başında belirmeye başlar (6). Ayrıca, kognitif performansta cinsiyete bağlı farklılıklar da puberte ile görülmeye başlar (7).

Hipokampus nöroplastisitesi en yüksek beyin bölgelerinden biridir. Her türlü zihinsel egzersiz ile hipokampal hacimde ve yeni nöron oluşumu anlamına gelen nörojenezde artma görülürken, sürekli stres durumları hipokampal hacimde ve hipokampal nörojenezde azalmaya neden olur (8).

Bu çalışmamızda sıçanlarda; öğrenme işlevlerinde öncelikli rolü olan hipokampal CA1 bölgesi nöronlarının bazal sinaptik etkinliği ve yüksek frekanslı uyarılarla tetiklenen uzun süreli potansiyelizasyon (LTP) yanıtının değişik postnatal dönemde incelenmesi ve literatüre katkı sağlanmasında amaçlanmıştır.

Genel Bilgiler

HİPOKAMPUSUN ANATOMİK BAĞLANTILARI

Hemen her türlü duyuşal uyarı (görme, işitme, koku, dokunma v.s.) küçük bir alan dahi olsa, hipokampusu aktive eder. Buna karşılık hipokampus, özellikle en büyük çıkış yolu olan forniks yoluyla ön talamus, hipotalamus ve limbik sistemin diğer bölgelerine sinyaller gönderir. Böylece hipokampus, hareketlerin davranış biçimine dönüşmesinden önce, gelen duyuşal sinyalleri farklı amaçlar için uygun davranış reaksiyonlarının içerisinde geçiren bir kanal rolü oynayarak, davranışların iletilmesine katkıda bulunur (9).

Hipokampus mediyal temporal lobda yer alan limbik sistem parçasıdır ve uzun erimli bellek ve uzamsal navigasyonda rol alır. Hipokampus ve komsu serebral korteksin tanımlanmasında genel bir uyum yoksa da hipokampal formasyonun dentat girus, CA1, CA2 ve CA3 alanları ile hilus denen dentat girus parçası olarak düşünülen CA4 alanlarından ve entorinal korteksten meydana gelir. CA1, CA2 ve CA3 esas hipokampusu oluşturur. Anatomik olarak temporal korteksin medial bölgesinin lateral ventrikülün alt boynuzunun ventral yüzeyini oluşturmak üzere yukarı ve içeri doğru kıvrılmış ve uzanmış, 5-8 cm uzunluğunda gri cevher kitlesidir. Denizatına benzediği için bu isimle anılır. Hipokampusun bir ucu amigdaloid çekirdeklerle bitilirken diğer

kenanareidan bir temporal lobun ventromedial korteksini oluşturan parahipokampal girusla kaynaşır (10).

Hipokampal formasyonun elemanlarė arasėndaki özel bir nöral devre (Papez devresi), yapėnė illevi aėşėndan önemlidir. Hipokampus içi bilgi islemeyi sağlayan bu 3-sinapslı devre, entorinal korteksten dentat girusa gelen perforan yol aksonlarė ile başlar. ikkinci basamak, dentat girus granüler hücre aksonlarėnė oluşturduğu yosunsu liflerin CA3 bölgesi piramidal hücrelerinde sonlanmasėdır. Son olarak CA3 priamidal aksonlar Schaffer kollaterallerini oluşturarak CA1 bölgesine ulaşır. Bu trisinaptik baėlantė tamamen eksitatör ve tek yönlüdür. Hipokampal intrinsik devre tek yönlüdür. Yani ne CA3 piramidal nöronu, dentat granül hücrelerine ne de CA1 piramidal hücreleri CA3 hücrelerine geri projekte olurlar. Daha sonra devre, CA1 aksonlarėnė subikuluma (singulum bandė ve fimbria/forniks) ve buradaki nöronlarėn da entorinal kortekse projekte olmasė ile tamamlanır. Böylece Entorinal korteksten baslayıp, intrahipokampal eksitatör sinapslar yaptıktan sonra yine entorinal kortekste sonlanan bir kapalıdöngü ağı oluşur (11). Parahipokampal ve peririnal korteksler aracėđı ile neokorteksin paryetal, prefrontal ve temporal alanlarė anlatđan tek yönlü kapalı döngüyü (Papez devresi) kontrol edebilir ve bu döngünün ıktığ hakkında bilgi alabilir. Bu kontroller, hipokampal döngünün kapığ niteliğindeki entorhinal korteks üzerinden olur. Entorinal korteks ve subikulum, direk olarak CA1 nöronlarėnda da sonlanır (12) Ayrėca dejenerasyon metoduyla yapığan çalışmalarda, hipokampüsten neokortekse direkt yollar da saptanmıştır (13.).

Adult Hipokampal nörogenez

Nörogenez, basitçe nöron yapma'dır. Kısandaki nöronların büyük çokunluğu prenatal ya'lamın ikinci trimesterinin sonunda olu'ur. Nöronal migrasyon gebeliğin ilk haftalarında ba'llar ve doğum esnasında büyük ölçüde tamamlanmı'dır olur. Doğumu izleyerek 6 ya'l civarına kadar yeni sinaps olu'umu oldukça hızlı'dır. On dört ya'ltan ba'llayarak sinaps say'darında giderek bir azalma gözlenir (23). Bu azalma yava'llayarak ya'lam boyu devam eder. Sinaps say'darında azalma ya'lanırken nöronların kendilerini yenileme veya onarma yeteneği ile yeni nöronların olu'ması devam eder. Eskiden sinaps say'darında azalmanın yanı'sına nöronların kendilerini yenileme yeteneklerinin de kaybolduğuna ve yeni nöronların olu'madığına inanılırken bugün bu dü'üncenin tam tersi kanı'lanmı'tır. Çalı'ma bulguları hipokampustaki nöronal devrelerin yeni nöron yapma'na devam ettiğini göstermektedir.

Adult dönemde beyinde nörogenez ba'llıca iki spesifik bölgede olur: hipokampal dentat girusun subgranüler zonu (SGZ) ve lateral ventriküllerin subventriküler zonu (SVZ). Adult nörogenezin basamakları (i) nöral progenitor hücrelerin proliferasyonu (ii) öfate spesifikasyonu ve (iii) maturasyon basamaklarıdır. Maturasyon akson ve dentritik hedeflerin tasarlanması ve illevsel sinaptik girdi ve çıktıların olu'munu kapsar. SVZ'da nöral kök hücreler rostral göç akını vasıtasıyla olfaktör bulbusa doğru göç edecek olan nöroblastları meydana getirir ve olfaktör bulbus içerisinde nöroblastlar internöronlara farklıdır (14, 15) DG'da adult doğumlu dentat granül hücreleri dentritlerini GC ve moleküler tabaka içerisine uzatırlar ve aksonlarını CA3 bölgesinin hilusuna doğru projekte ederler. Böylece olgun ve tam olarak entegre GC meydana gelir (16, 17). Timidin analogu bromodeoksiüridin ile yapılan çalışmaları nöral progenitor hücrelerin hilus ve GC tabakası arasındaki sını'da bölündüğünü göstermiştir (18,19)

Yaşam boyu yeni nöron yapma kapasitesinin olması hipokampusun plastik yeteneğini gösterir. Hipokampus beynin farklı uyarılardan sonra moleküler, hücresel ve yapısal değişikliklik gösteren en plastik yapıdır. Bu açıdan modellenmiş hipokampal bölgenin en çok çalışılan rollerinden olan bellek ve öğrenme süreçleri için önemlidir. (20). SGZ'daki nörogenez öğrenme ve bellek üzerindeki diğer işlevler için de uygun bir süreçtir (21),

Adult nörogenez pek çok ekstrinsik ve intrinsik faktör ile düzenlenir. SGZ ve SVZ mikroçevresi adult nörogenezin farklı basamakları için anahtar rol oynar. Kök hücrelerin salgıladıkları bazı faktörler ve onların kök hücrelerle olan teması adult nöral progenitor hücrelerin kendi kendilerini yenilemelerini, proliferasyon ve diferensiyasyonunu sağlar. Nörojenik önüller tarafından sekrete edilen pek çok faktör arasında (22), Notch ve kemik morfogenetik proteini adult nörogenezin düzenleyicisi olarak (23), ve Wnt ligantları adult nöral progenitorların proliferasyon ve farklılaşmasına katkı sağlayan maddeler olarak (24, 25, 26) bildirilmiştir. Ek olarak GABA adult nörogenez sırasında önemli bir rol oynar. Erken dönemde prekürsör hücreler, herhangi bir spontan ya da uyarmı akım göstermeden önce non sinaptik mekanizmalar vasıtasıyla çevresel GABA ile aktive edilirler ve daha sonra, olgunlaşmalarında, yeni doğan nöronlar GABA sinaptik girdilerini alırlar (27). Matür nöronlarda GABA inhibitör tabiatta olsa da nöral progenitorlarda ve immatür nöronlarda eksitator rol oynar. GABA aracılığıyla depolarizasyonun sinaps oluşumu ve dentrik gelişme için önemli olduğu; glukokortikoidler ve mineralokortikoidlerin ise proliferasyonu olumsuz etkiledikleri bildirilmiştir.

HİPOKAMPUSUN BELLEK İŞLEVİNDEKİ ROLÜ

Hipokampus öğrenme ve bellek süreçlerinde önemli ve kilit bir rol oynar ve bilginin bellekte pekiştirilmesini sağlar. Merkezi sinir sisteminin yüksek seviyeli işlevlerinden olan bellek, deneyimlerin sonucunda organizmanın geliştirdiği / değiştirdiği davranışın (öğrenme) bir süre için (anlık, kısa veya uzun erimli) daha kolayca ve daha mükemmel bir şekilde tekrarlanabilmesi olarak tanımlanabilir. Kandel'e göre bellek aslında dünya hakkındaki bilginin kodlandığı, saklandığı ve geri çağırıldığı süreçte denir. Bir başka deyişle bellek, öğrenme sürecinin bir fazıdır. Epilepsi tedavisi amacıyla hipokampusları çıkarılan hastalar, önceden öğrenilmiş anıları tatminkar bir şekilde hatırlayabilir ancak sözel sembolizme dayanan yeni bilgi edinemezler (28). Bu tip hastalar saniyeler ile birkaç dakika arasında değişen kısa süreli bellek oluşturabilirler ancak yeni hatıraları veya olayları uzun süreli belleğe aktaramazlar. Bu durum "anterograd amnezi" olarak bilinir. Hipokampusun harabiyeti eskiden öğrenilmiş bilgilerin yitirilmesine de neden olur. Fakat bu, uzak geçmiş anılardan ziyade daha yakın geçmiş için geçerlidir. Bu fenomen "retrograd amnezi" olarak bilinir. Hipokampus olmadan verbal ya da uzun süreli anıları kalıcı olmasının imkansızdır (29).

Uzun erimli bellek, ya bilinçli geri-çağırma (declarative, açıklama ya da explicit, aleni bellek) ya da zihnen öğrenmeyi (procedural, usule ait veya implicit, zihni bellek) gerektirir. Deklaratif bellek (kemirgenlerde uzamsal bellek) esas olarak hipokampusun işlevidir ve semantik (anlamsal), epizodik (olaylara dayanan), otobiyografik, uzamsal / zamansal ve görsel bellek gibi alt birimlere de ayrılabilir. Hipokampusun beyin korteksinin kalanı ile gösterdiği iki yönlü yakın ilişki, ona bellek

inervleri için atfedilen rolü ne uyumludur. Yukarıda anlatılan intrahipokampal devre, kısa erimli belleğin altında yatan süreçleri gerçekleştirmek için ideal bir pozisyonadadır. Beyin sapından ve bazal ön beyinden gelen çıkan kontrol yolları davranışın süre giden sonuçlarına izlerler ve pekiştirme süreçleri ile ilişkili olabilirler. Prosedüral bellek ise başlıca motor becerilerin öğrenilmesi ile ilgilidir, serebellum ve bazal gangliyonların illevidir (30).

BELLEĞİN OLUŞUMUNDA SINAPSLARI ROLÜ

Öğrenme süreçlerini açıklayabilecek nöral devrelerle ilgili ilk görüşlerden biri ötekrarlayan girişli devre modelidir. Böyle bir devrede bir nöron diğerini uyarır; bu nöron da, direk veya dolaylı olarak aynı nöronu uyarır. Böyle bir devre, bir kez aktive olduğunda sinyal sürekli olarak devreyi dolanacaktır. Eğer bu devrenin belleğin temel devresi olduğu düşünülürse, devrede dolan sinyal kesilmesinin belleği bozması beklenir ancak, devreye uygulanan elektrodlar sinyal dolaşmasını bozsa bile bellek bozulmaz. Donald Hebb'ın teorisi (31) bu sorunu açıklar. Hebb Teorsine göre bir A nöronu B nöronunu tekrarlayan bir şekilde uyardıkça zaman hücrelerden birinde veya her ikisinde bazı metabolik veya morfolojik değişiklikler olur ve bu değişiklikler A-B hücreleri arasındaki sinapsın etkinliğini artırır. Bellek hakkındaki bugün geçerli kabul edilen düşünce, bu kuralın uzantısıdır. Nöroplastisite, kısaca belirli iç ve dış uyaranlara bağlı olarak beyindeki nöronların ve bunların oluşturduğu sinapsların yapısal özellikleri ve işlevlerindeki değişiklikler olarak tanımlanabilir. Nöroplastisite ile nöronların dendritleri gibi belli bir bölümünde veya bütününde bazı fiziksel değişiklikler ortaya çıkabilir. Ayrıca yeni nöron oluşumu, nöronların kronik şiddetli stres gibi olumsuz

etkenlere karşı dirençlerinde değişiklikler ve sinaptik etkinlikte artış veya azalmalar ortaya çıkabilir.

BELLEĞİN ELEKTROFİZYOLOJİK

Lokal alan potansiyelleri (LAP), lokal nöron gruplarından yeteri kadar uzaklaşa yerleştirilmiş düşük empedanslı ekstrasellüler mikroelektrotlar kullanılarak kaydedilen sinyallere denir. Düşük impedans ve elektrodun pozisyonu sinyale katkı sağlayan çok sayıda nöronun aktivitesinin kaydediş sağlar. Filtrelenmemiş sinyal, elektrot ucundan 50-350 μ m uzaklıktaki hücrelerden gelen aksiyon potansiyellerinin (32) ve elektrot ucundan 0.5-3 mm mesafedeki daha yavaş iyonik olayların (33) toplamış yansıdır. Alçak geçiren filtreler (cut off: 300 Hz) sinyalden spike componentini uzaklaştırır ve düşük frekanslı sinyali (LAP) geçirir. Voltmetre (A/D çeviricilerle beraber) mikroelektrot ile referans elektrot arasındaki elektriksel potansiyel farkı ölçerler. Referans elektrodun bir ucu voltmetreye (voltmetrenin diğer ucuna mikroelektrot) bağlanır ve diğer ucu ekstrasellüler ortamla el bileli me sahip ve onunla devam eden bir ortama yerleştirilir. Böyle bir sistem ile basit bir şekilde bir denge değeri etrafında hafif dalgalanmalar yapan bir potansiyel farkı kaydedilir. Bu dalgalanmalara termal gürültü denir ve ortamdaki iyonların ve elektrottaki elektronların rastgele hareketlerinden dolaydır. Ancak mikroelektroda yakın olan nöronlarda iyon kanallarının açılması ekstrasellüler ortamdan hücre içine yönelen (veya tersi yönde) iyon akışlarının oluşması lokal ekstrasellüler ortam ile kaydedici elektrodun içi arasında var olan

potansiyel farkında daha büyük değililiklere neden olur. Kaydedilen potansiyel tüm lokal akınların toplamının neden olduğu potansiyeli yansıtır.

LAPın, gözlemlenen alanın çıktıının yansıtan spike verisinin tersine, bu alan giren eş-zamanlı girdiyi yansıtırına inanılır. LAPönde potansiyel farkındaki hızlı dalgalanmalar filterelenir ve sadece yavaş dalgalanmalar kalır. Hızlı dalgalanmalara aksiyon potansiyelinin içe veya dışa yönelen kısa akınlar neden olur. Aksiyon potansiyelleri LAPda yer almaz. Bu nedenle LAP dokudaki daha sürekli akınların, tipik olarak da somato-dentritik akınların sonucudur. En belirgin yavaş akın postsinaptik potansiyeldir (PSP). Eksitator ve inhibitör PSPler LAPının en önemli bileşenleridir (34).

NÖROPLASTİKTE

Öğrenme de sinaptik plastisite yolu ile gerçekleşir. Öğrenme iç ve dış uyarılara karşı santral sinir sisteminin verdiği en güçlü ve önemli adaptif yanıtır. Öğrenmenin olulabilmesi için nöronlarda sinaptik iletimde meydana gelen uzun süreli artış anlamına gelen uzun dönem potansiyalizasyonu (long-term potentiation=LTP) olulması gerekmektedir. Kronik ve şiddetli stres olulturnan nedenler depresyon gibi olumsuz nöroadaptif değililiklere neden olurken, kısa süreli ve belli bir düzeyde stres öğrenme için temel olulturnan LTP için gereklidir.

Nöroplastisite ile nöronların dendritleri gibi belli bir bölümünde veya bütününde bazı fiziksel değililikler ortaya çekabilir. Ayrıca yeni nöron olulumu, nöronların kronik şiddetli stres gibi olumsuz etkenlere karşı dirençlerinde değililikler ve sinaptik

etkinlikte artış veya azalmalar ortaya çıkabilir. Merkezi sinir sisteminde nöroplastik yanılrlarla ilgili değililiklerin bálleolaréöyle sáalanabilir:

- a. Dendritlerde dallanmanın azalması veya artması, kılma, boyca uzama
- b. Yeni sinaps oluşumu veya mevcut sinapsların ortadan kalkması ya da var olan sinapsların etkinliğinin değilmesi (artması veya azalması)
- c. Yeni nöron oluşumu (Nörogenez) veya ölümü (Apopitoz)
- d. Mevcut nöronların uyarıya karlı sinaps sonrasında potansiyellerindeki değililikler

Gelen uyarının ıiddeti ve süresi ile santral sinir sisteminde primer olarak yanıt verecek bölgenin özelliklerine bakılı olarak bu değililiklerin biri, birkaçé veya hepsi ortaya çıkabilir (35). Hipokampus nöroplastisitesi en yüksek beyin bölgelerinden biridir (36).

UZUN ERKMLK GÜÇLENME

ılk kez 1973 yılında, UEG fenomeni tavsan hipokampunda deklaratif belleğin depolanmasıé açıklamak üzere tanınlanmıótır (37). Aynı fenomen, hafızanın depolanmasıyla ilgili diğer birçok yerde de gözlenmiótir (38). Hipokampusün afferent liflerine yüksek frekanslı stimulus zinciri uygulanmasıyla, hedef nörondaki EPSP amplitüdü artar. Bu artış günler ve haftalar boyunca sürer ve beraberinde birçok afferent aksonun aktivasyonunu da sağlar. Örneğin CA3 nöronlarının Schaffer kollateralleri yüksek frekanslı bir dizi ile uyarıldıkında, CA1 nöronlarının tek bir uyarana karşıoluóan EPSP yanıtının genliği artar. Birçok bilim adamı bu fenomenin belleğin fizyolojik temeli olduğunu düóünmektedir. LTP hafızada önemli ılevleri olduğu bilinen hipokampusta en belirgindir. LTPnin altında yatan düzenek hipokampusun yukarda bahsedilen üç yolaıkında aynıdeğildir.

UEGöin oluşumunda glutamatın çok özellikli bir yeri vardır. Post-sinaptik membranlarda bulunan Glutamat reseptörleri, ligand kapalı iyon kanalları olan AMPA ve NMDA reseptörleridir. AMPA reseptörleri eksitator postsinaptik reseptörler gibi illev görür. NMDA-reseptör kanalları kalsiyum girişine aracılık eder, fakat açılması için sadece glutamatın bağlanmasıdan daha fazlası gerekir. Membranın voltajı negatif dinlenme potansiyeline yakın olduğu zaman bir magnezyum iyonu NMDA reseptör kanalını bloke eder ve magnezyumun bu blokajının ortadan kalkması için membran AMPA kanallarından geçen akıyla önemli derecede depolarize olmak zorundadır. Bu da bize, uzun süreli pekiştirme mekanizmasının tamamlanması için neden yüksek frekanslı presinaptik aksiyon potansiyellerinin gerekli olduğunu açıklar: Düşük frekanslarda, magnezyum iyonunu bloke ettiği kanaldan kaldırmak için gerekli olan 20-30 mV'lık depolarizasyonun sağlanması için, AMPA-reseptör EPSPlerinin zamansal birikimleri yetersiz kalır ve NMDA reseptörleri açamaz. Depolarizasyon yeterli olduğu zamansa NMDA reseptörleri açılarak postsinaptik hücreye kalsiyumun girişini sağlar. Sonra kalsiyum postsinaptik hücrede, farklı iki protein kinazın sürekli aktive olduğu, ikincil haberci kaskadını aktive eder ve de postsinaptik nöronun glutamata duyarlılığını artırır. Bu ikinci habercil sistemi ayrıca, henüz tanımlanmamış retrograd haberci ile presinaptik glutamat salınımını uzun süreli aktive eder. Bu presinaptik hücre boyunca sonradan gelen her aksiyon potansiyeli postsinaptik membranın daha fazla depolarize olmasına neden olacaktır. Böylece sinaptik atılımının belirli bir şekilde tekrar tekrar ve ıddetle aktive olması kimyasal ve yapısal değisikliklere yol açar. Daha sonra cAMP, cAMP Kinaz ve MAP Kinazda fosforillenir ve nükleusa gidip CRE bölgesini uyarır. Bunun sonucu protein sentezi ve yeni sinaps formasyonu gibi yapısal

değişiklikleri içeren bir süreç başlar. Yeni sinaps formasyonu sinaptik güçlenmeyi uzun süreli kılar (39).

LTP'nin de hafıza deposuna benzer fazları vardır. Erken LTP bir ila üç saat sürmekte ve yeni protein sentezi gerektirmemektedir. Dört veya daha fazla uyaran LTP'nin en az 24 saat süren daha kalıcı fazına (geç LTP) tetiklemekte ve bu faz yeni protein ve RNA sentezi gerektirmektedir. Schaffer ve Mossy fiber yollarında kısa dönem faz için gerekli düzenekler birbirinden farklıdır. Fakat uzun dönem faz her iki yolda benzer görünmektedir. Her iki yolda da geç faz LTP yeni mRNA ve protein sentezi gerektirmektedir ve cAMP-protein kinaz A-MAPK-CREB ileti yoluyla kullanılmaktadır. 24 Bu yüzden AMP'nin uyardığı MAPK aktivitesi nöral plastisite ve uzun süreli hafıza deposu için çok önemlidir. Kemiricilerde MAPK inhibitörlerinin cAMP'ye bağlı LTP'yi bozduğu gösterilmiştir.

Gereç ve Yöntem

Deney Hayvanları ve Gruplama. Çalışmada 18 adet erkek Wistar Albino sıçan kullanıldı. Bu sıçanlar, elit sayıda olmak üzere 1 aylık, 2 aylık ve 4 aylık sıçanlardan seçildi. Sıçanlar Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Biriminde 48x27x20 cm'lik kafeslerde 12/12 aydınlık karanlık döngüde tutuldu ve su ve yemi normal şekilde verildi.

Uyarı ve Kayıt. Sıçanlara ürethan ile anestezi (1,5 g/kg, ip) yapıldı ve stereotaksik çerçeveye kondu (Kopf Instruments, Tujunga, CA, ABD). Sağ medial perforan yolunu (bregmadan mm olarak AP: -8,0, ML: 4,2, DV:2,3) uyarmak için bipolar bir tungsten elektrot (paslanmaz çelik, teflon kaplı, 127 μ m, ucu dendaki kılınlar izole edilmiş) kullanıldı. Uyarı elektrodu stimülatöre (SEN 3201 Electronic Stimulator, Nihon Kohden, Tokyo, Japonya) bağlı olarak izolatörün (SS-201J İzolatör, Nihon Kohden, Tokyo, Japonya) çıkışına bağlandı. 3M NaCl (uç direnci: 2×10^6 megaOhm) ile doldurulmuş bir cam mikropipet (Borosilicate, o.d.: 1,5 mm, 10 cm uzunluk, World Precision Instruments) eksitator postsinaptik potansiyel alanlarının (fEPSPs) kaydı

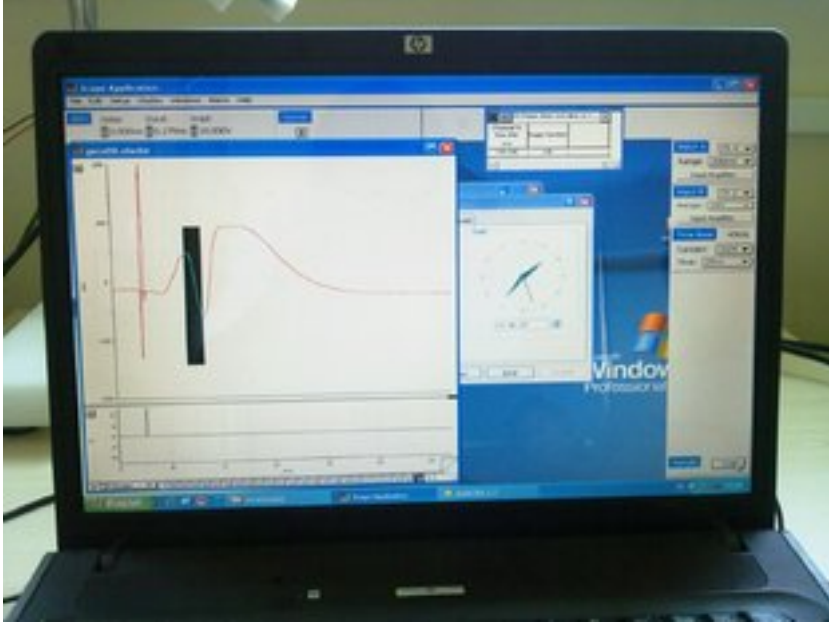
amnak için ipshatları nupokampus CA1 bölgesine (mm olarak: AP:-3,0, ML:2,44, DV:2,3 mm duradan asakça) sokuldu. Cam mikroelettrotlar, proje desteği ile alđan P30 mikropipet çekici vasasayla çekildi. Bir Ag-AgCl disk elettrot, referans elettrot olarak boyun derisinin altına yerleítirildi.

Aktif ve referans elettrotlar bir head-stage kullanđarak amplifiyere (Patch Clamp amplifiye edici sistem AXON, ABD) bağlandı Bütün sistem bir Faraday kafesi kullanđarak korundu. Kaydđn derinliği 0,1 mmdik adđnlarla uyarđarak genđ bir pozitif fEPSP ve üst üste negatif seyirli population spike (PS) elde etmek için denendi. En son derinlikte tipik cevap kaydedildikten sonra perforan yol uyarđına verilen cevaptaki PS amplitüdünün (genliğinin) maksimum olmasđ için uyarđ elettrodunun uyumu sağlandı Uyarđ ve kaydđn kotrolü için óScopeô programđ (ADInstruments, Colorado Springs, CO, ABD) kullanđdı Monofazik 10V ve 0.175 msdik uyarđar bir bilgisayarđn A/D boardđ (Powerlab/8SP, ADInstruments, Colorado Springs, CO, ABD) tarafđndan üretildi ve izolatörle bağlantığ bir stimülatörü tetikledi. Biyolojik sinyaller 0.1ñ10 kHz bant genisliğinde bir pre-amplifiyerde yükseltildi (1000x). Dalga biğimi 20 msde 40 kHz oranında on-line olarak sayđallastıđdı bilgisayar monitöründe gösterildi ve offline analiz için óScopeô kullanđarak saklandı Deney sistemi akđ semasđ Ékil 1de ve elettrotlarđn yerleítirilmesi sonrasında yapđan bir örnek deneyi gösteren fotoğraf ise Ékil 2de verilmiítir.

İlekil 2. Bir örnekle deney sırasında beyine yerlel tirilen elektrotların ve deney hayvanın görünümü.

Elektrofizyolojik parametrelerin değerlendirilmesi. Elektrot yerleştirildikten 15 dk sonra, bir input-output (I/O) eğrisi elde etmek için her 20 snöde bir 175 ms devam eden uyarı ve monofazik elektrik akımları verildi. Uyarı akımı 0,1-1,5 mA aralığında uygulandı Her akım değeri için üç uyarımdı cevapın ortalaması alındı Uyarı şiddeti ve fEPSP eğimi veya PS amplitüdü arasındaki ilişki sigmoidal bir eğri ile tanımlandı Bu eğriden maksimal yanıtın yarılmasını oluşturan uyarı şiddeti (test uyaran şiddeti) belirlendi. Deney hayvanları için belirlenen test uyarı şiddeti 0,15 ile 0,6 mA arasında oldu UÇK ve UEG deneyleri için belirlenen test uyaranları kullanıldı EPSPlerin 15 dk bazal kayıdan sonra UEG oluşturmak için 5 dk aralıyla 15, 20, 25 ve 30uncu dakikalarda dört kez yüksek frekanslı uyarım (100 Hz) verildi. Son tetanik uyarıyı takiben test uyarı her 30 snöde bir olacak şekilde 160ncü dakikaya kadar uygulandı Bazal peryot süresince EPSP eğimlerin ve PS genliklerinin ortalama değeri her saçan için %100 olarak değerlendirildi. Bundan sonraki her EPSP eğimi ve PS genliği hesaplanan bu değerin yüzdesi olarak ifade edildi. Sonraki veriler bazal süreye göre yüzde değilim olarak ifade edildi. fEPSPnin eğimi, PSnin başlangıındaki fEPSP ve dalga biçiminin başlangıı arasındaki voltaj farkının %20-80ındaki amplitüd değilimi olarak hesaplandı PS amplitüdü, pozitif pikten negatif pike doğru ölçüldü.

Veri analizi ve istatistik. Eğim ve amplitüdün istatistiksel değerlendirmesi için üç zaman penceresi seçildi ve bu dönemlerdeki ortalama değerler hesaplandı Her dönemdeki eğim ve amplitüd verilerinin gruplar arasında karlılaştırılması Mann-Whitney U testi ile yapıldı Değerler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi ve 0,05ten düşük olasılık değerleri anlamlı olarak değerlendirildi. Örnek bir kayıt trasesi Şekil 3öde sunulmuştur.

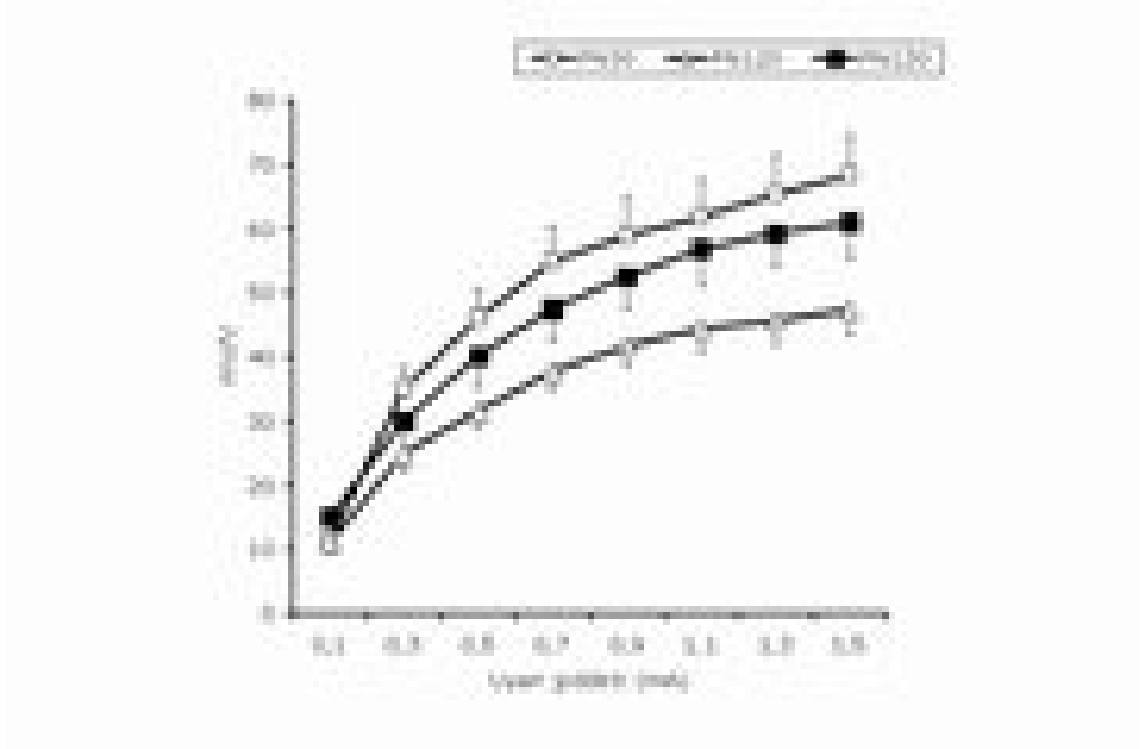


Ėekil 3. Ėrnek Kayđ Trasesi

Bulgular

Farklı postnatal gelişim dönemlerindeki CA1 sinapslarının bazal aktivitesinin karđılađtırılması

Hipokampus CA1 sinapslarının yüksek frekanslı uyarım yapılmadan önceki bazal etkinliği 0,1 mA-1,5 mA arasında değilen uyarı Ėiddetlerine karđı test edilmiştir. Postnatal 30, 60 ve 120nci gđn kayđlarından elde edilen EPSP-I/O eğimleri Ėekil 4'de gösterilmiştir. İstatistiksel analiz, hiçbir uyarı Ėiddeti değerinde grupların EPSP eğimleri arasındaki farkın anlamlı olmadığını göstermiştir ($p>0.05$).

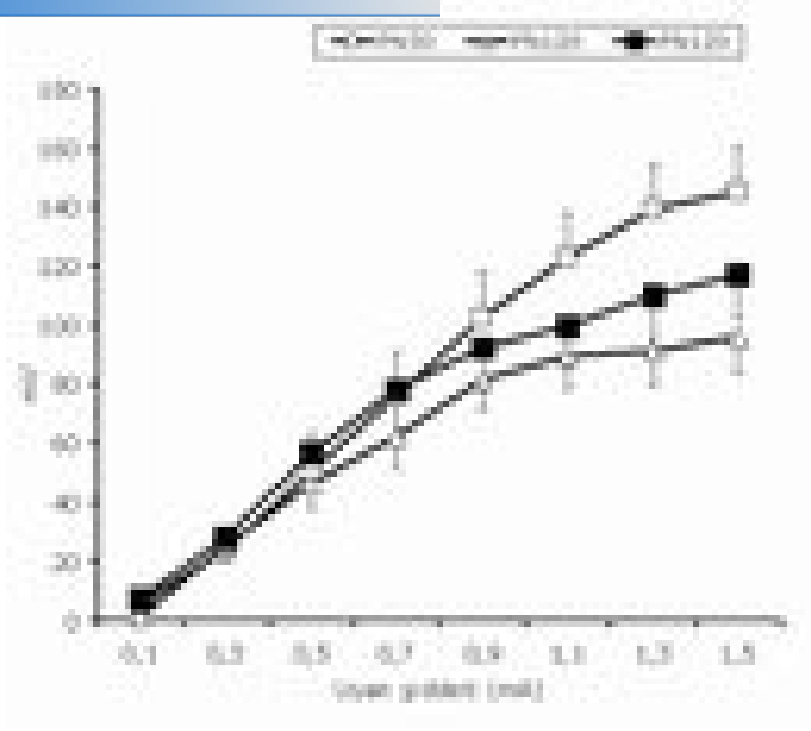


Şekil 4. Hipokampus CA1 sinapslarının yüksek frekanslı uyarı yapılmadan önceki bazal EPSP eğimi etkinliği. PN30; Postnatal 30; PN60: Postnatal 60; PN120: Postnatal 120nci gđn kayıtlarından elde edilen EPSP-I/O grafikleri.

Hipokampus CA1 sinapslarının yüksek frekanslı uyarı yapılmadan önceki bazal etkinliği 0,1 mA-1,5 mA arasında değilgen uyarı şiddetlerine karşı test edilmiştir. Postnatal 30, 60 ve 120nci gđn kayıtlarından elde edilen PS-I/O eğrileri Şekil 5de gösterilmiştir. İstatistiksel analiz, hiçbir uyarı şiddeti değerinde grupların PS genliklerinin arasındaki farkın anlamlı olmadığını göstermiştir ($p>0.05$)



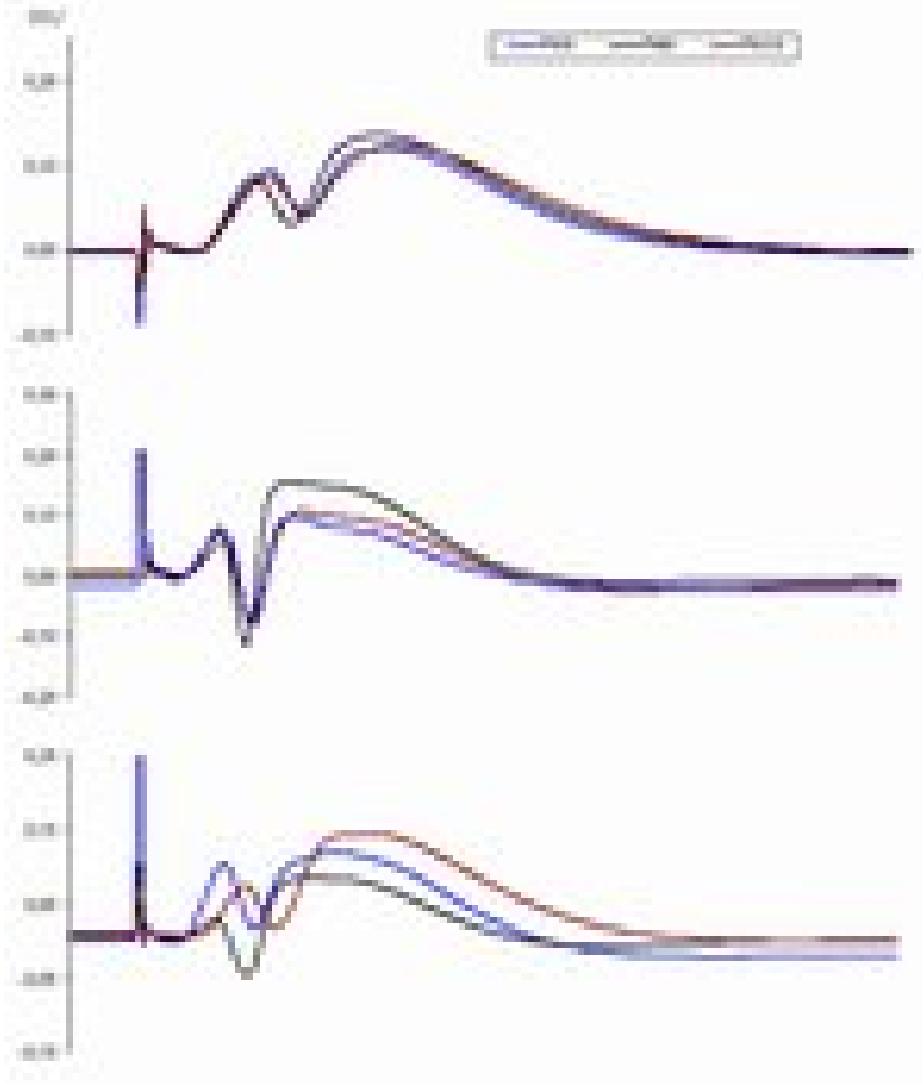
[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)



Şekil 5. Hipokampus CA1 sinapslarının yüksek frekanslı uyarı yapılmadan önceki bazal PS genliği etkinliği. PN30; Postnatal 30; PN60: Postnatal 60; PN120: Postnatal 120nci gün kayıtlarından elde edilen PS-I/O grafikleri.

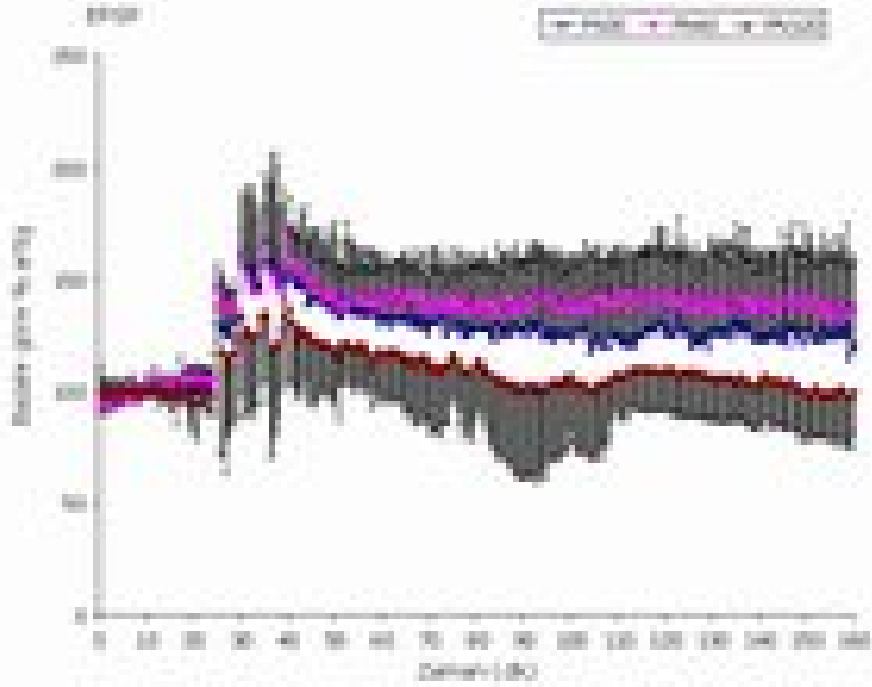
Farklı postnatal gelişim dönemlerindeki CA1 sinapslarının Yüksek frekanslı uyarı sonrasında etkinliklerinin karşılaştırılması

Şekil 6'da postnatal 30, 60 ve 120nci gün kayıtlarının ortalama traseleri kaydedilen bazal dönemi, LTP indüksiyonundan hemen sonrası ve deney sonu idame dönemi için verilmiştir. Bu traselerden her üç postnatal dönemde de yüksek frekanslı uyarının sinaptik etkinlikte bir artışa neden olduğu ve bu artışın, daha az düzeyde de olsa, deney sonunda da bulunduğu görülmektedir.



Şekil 6. Postnatal 30, 60 ve 120nci gün kaylarnn ortalama traseleri: Bazal dönemi (st panel), LTP indüksiyonundan hemen sonrası (orta panel) ve deney sonu idame dönemi (alt panel)

Şekilde 7de, 160 dakika süren kay boyunca EPSP eğimlerinin bazal döneme göre yüzde deilimleri grlmektedir. PN120nci günde alnan kaylarda eim art daha az olmuşsa da gruplar arasndaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamtr ($p>0.05$)



Ėekil 7. 160 dakika süren kayđ boyunca EPSP ekimlerinin bazal döneme göre yüzde değilimleri.

Ėekil 8öde, 160 dakika süren kayđ boyunca PS genliklerinin bazal döneme göre yüzde değilimleri görölmektedir. PN60ncėgünde alėnan kayđlarda ekim artđėdaha az olmul sa da gruplar arasėndaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamđtė ($p>0.05$)

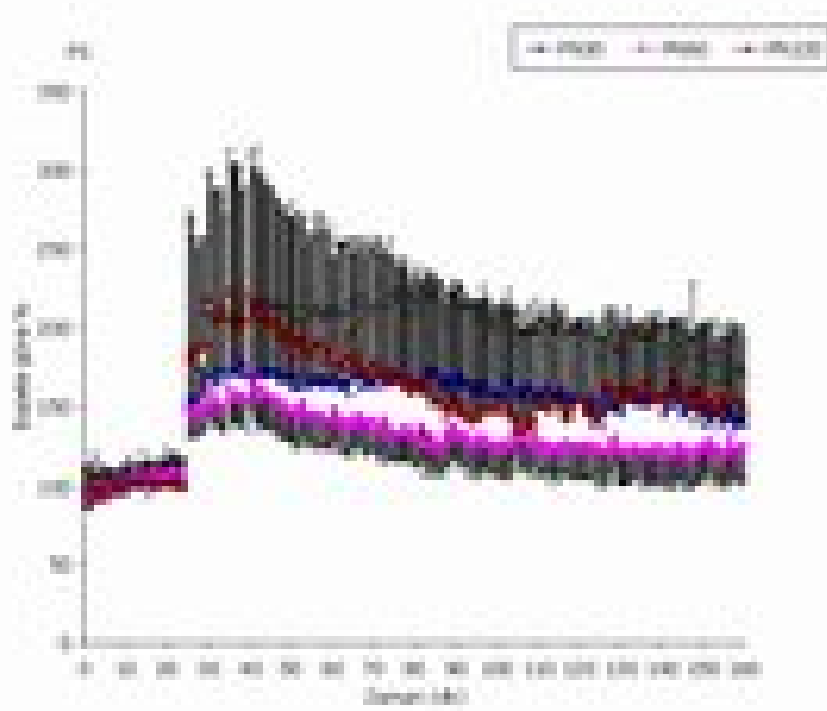


PDF
Complete

Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

- 30 -



Ėekil 8. 160 dakika süren kayă boyunca PS genliklerinin bazal döneme göre yüzde deđilimleri

İnterpretasyon

Bu çalışmada elde edilen bulgular, hipokampusun CA1 bölgesindeki nöronal etkinliğin ve yüksek uyarıya yanıt olarak oluşan sinaptik değişikliklerin, postnatal 30, 60 ve 120nci günler arasında anlamlı bir farklılık göstermediğini ortaya koymaktadır. Hipokampus CA1 sinapslarının yüksek frekanslı uyaran yapılmadan önceki bazal etkinliği, 0,1 mA-1,5 mA arasında değişen şiddetteki uyaranlara karşı postnatal 30, 60 ve 120nci gün kayıtlarından elde edilen EPSP eğimleri ve PS genlikleri birbirinden farklı bulunmamıştır. Postnatal 30, 60 ve 120nci gün kayıtlarının ortalama traseleri, bazal dönem, LTP indüksiyonundan hemen sonra ve deney sonu idame döneminde birbirinden farklı bulunmamıştır. 160 dakika süren kayıt boyunca EPSP eğimleri ve PS genliklerinin bazal döneme göre yüzde değişimleri, gruplar arasında farklılık göstermemiştir.

CA1 bulgularının tersine, yaklaşık 4-6 haftalık dönemde hipokampusun dentat girus granül hücrelerinin olgun dönemdekinden daha güçlü plastisite gösterdikleri bildirilmiştir (40- 43). Bu çalışmalarda 4-6 hafta yaındaki deney hayvanlarında daha yüksek LTP genliği ve daha düşük LTP indüksiyon eiliği bulunmuştur. BU artmış plastisitenin NMDA reseptör alt birimlerinden olan NR2B aracılığı ile oluştuğu ileri sürülmüştür (41). Kruppel-like faktör 9, bu süre içerisinde dentat girus granül hücrelerini için yalamsal önemli madde olarak görünmektedir (44). Her ne kadar dentritik spinlerin yapısal modifikasyonu ve aksonal butunların gelişmesi yalandıkça devam etse de 8 haftalık yaıla ulaıldığında dentat girus granül hücrelerinin temel fizyolojik özellikleri ve buradaki sinaptik plastisite, daha erişkin yaılardakilerden ayırt edilemez (45, 46).

tanı- hipokampal döngü (entorinal korteks- dentat girus- CA3- CA1- entorinal korteks) modelinde nörogenezisin, eğer dentat girusun rolü kodlama ile (geri çağırma dârdâ tutularak) sâñlanır ise depolama ve bilgiyi geri çağırma devrenin diğêr elemanlarânın artan etkinliğı ile karlığanabilir (47). Bu teoriye göre nörogenezis, dentat girusta gerçektelelmekle beraber devrenin diğêr elemanlarânâ da etkiler. Ancak çalışmamızdan elde edilen bulgular, en azından elektrofizyolojik düzeyde CA1 nöronlarında yađa bağınlâ bir değılmenin olmadığânâ göstermektedir. Dolayışyla bulgularânâz nörogenezde tam hipokampal döngü modelini desteklememektedir.

Bazê hipokampus bağınlâ davranâsal ilêlerin öğrenilmesinde girdi sinyalleri dentat girus üzerinden değıl doğrudan CA3 ve CA1 bölgelerine geliyor olabilir. Monosinaptik entorinal korteks- CA1 yollarânın morris su tankê öğrenmelerinde etkili olduğu gösterilmiştir (48). Bu araştışmada da CA1 sinapslarına yansêyan nörogenez etkisi bildirilmemiştir.

Kaynaklar

1. O'Kusky JR, Ye P, D'Ercole AJ. Insulin-like growth factor-I promotes neurogenesis and synaptogenesis in the hippocampal dentate gyrus during postnatal development. *J Neurosci.* 2000; 20(22):8435-42.
2. Eriksson PS. Neurogenesis and its implications for regeneration in the adult brain. *J Rehabil Med.* 2003;(41 Suppl):17-9.
3. Shinoda K. Sex-steroid receptor mechanism related to neuronal aromatase and the stigmoid body. *Horm Behav.* 1994; 28(4):545-55
4. Hasegawa M, Kida I, Wada H. A volumetric analysis of the brain and hippocampus of rats rendered perinatal hypothyroid. *Neurosci Lett.* 2010; 479(3):240-4.
5. Kirksey A, Morré DM, Wasynczuk AZ. Neuronal development in vitamin B6 deficiency. *Ann N Y Acad Sci.* 1990;585:202-18.
6. Akers KG, Candelaria-Cook FT, Rice JP, Johnson TE, Hamilton DA. Delayed development of place navigation compared to directional responding in young rats. *Behav Neurosci.* 2009;123(2):267-75.
7. Meng XH, Liu P, Wang H, Zhao XF, Xu ZM, Chen GH, Xu DX. Gender-specific impairments on cognitive and behavioral development in mice exposed to fenvalerate during puberty. *Toxicol Lett.* 2011; 203(3):245-5

8. Grace L, Heschnan S, Kenaway LA, Bugarith K, Russell VA. Effect of exercise on learning and memory in a rat model of developmental stress. *Metab Brain Dis.* 2009; 24(4):643-57
9. Richter-Levin G, Canevari L, Bliss TV. Long-term potentiation and glutamate release in the dentate gyrus: links to spatial learning. *Behav Brain Res.* 1995; 66(1-2):37-40
10. Carpenter MB, Sutin J. Human neuroanatomy. 1983: Baltimore:Williams & Wilkins, 1996.
11. Moscovitch M, Rosenbaum RS, Gilboa A, et al. Functional neuroanatomy of remote episodic, semantic and spatial memory: a unified account based on multiple trace theory. *J Anatomy* 2005; 207: 35-66.
12. Insausti R, Cebada-Sanchez S, Marcos P, Postnatal Development of the Human Hippocampal Formation. *Adv Anat Embryol Cell Biol.* 2010;206:1-86.
13. Dagi TF, Poletti CE. Reformulation of the Papez Circuit - Absence of Hippocampal Influence on Cingulate Cortex Unit-Activity in the Primate. *Brain Research* 1983; 259: 229-36.
14. Alvarez-Buylla A, Garcia-Verdugo JM. 2002. Neurogenesis in adult subventricular zone. *J Neurosci* 2002; 22:629-634.

15. Ma DK, Bonaguidi MA, Ming GL, Song H. Adult neural stem cells in the mammalian central nervous system. *Cell Res* 2009;19:672-682
16. van Praag H, Schinder AF, Christie BR, et al. Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature* 2002; 415:1030-1034.
17. Deng W, Aimone JB, Gage FH. New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? *Nat Rev Neurosci* 2010; 11:339-350.
18. Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T, et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 1998; 4:1313-1317
19. Kornack DR, Rakic P. Continuation of neurogenesis in the hippocampus of the adult macaque monkey. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 5768-5773
20. Bast T. Toward an integrative perspective on hippocampal function: from the rapid encoding of experience to adaptive behavior. *Rev Neurosci* 2007; 18:253-281.
21. Deng W, Saxe MD, Gallina IS, Gage FH. Adult-born hippocampal dentate granule cells undergoing maturation modulate learning and memory in the brain. *J Neurosci* 2009; 29:13532-13542

22. Sun H, Deng W, Gage FH. Signaling in adult neurogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2009;25:253-75.
23. Johnson MA, Ables JL, Eisch AJ. Cell-intrinsic signals that regulate adult neurogenesis in vivo: insights from inducible approaches. *BMB Rep.* 2009; 42(5):245-59.
24. Lie DC, Colamarino SA, Song HJ, et al. Wnt signalling regulates adult hippocampal neurogenesis. *Nature.* 2005; 437(7063):1370-5.
25. Jessberger S, Gage FH, Eisch AJ, Lagace DC. Making a neuron: Cdk5 in embryonic and adult neurogenesis. *Trends Neurosci.* 2009; 32(11):575-82.
26. Inestrosa NC, Arenas E. Emerging roles of Wnts in the adult nervous system. *Nat Rev Neurosci.* 2010;11(2):77-86.
27. Ge S, Pradhan DA, Ming GL, Song H. GABA sets the tempo for activity-dependent adult neurogenesis. *Trends Neurosci.* 2007; 30(1):1-8.
28. Tudesco Ide S, Vaz LJ, Mantoan MA, et al. Assessment of working memory in patients with mesial temporal lobe epilepsy associated with unilateral hippocampal sclerosis. *Epilepsy Behav.* 2010;18(3):223-8.

29. Çavusoglu, H (Çeviri editörü). In: Tubbi Fizyoloji. Beynin Davranış ve Motivasyonla İlgili Mekanizmaları Limbik Sistem ve Hipotalamus,. 1996, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Sti: İstanbul. p. 737-8
30. Robertson LT. Memory and the brain. J Dent Educ 2002; 66: 30-42
31. Hebb DO. Cognition and Consciousness in Nonhuman Species - Comment. Behavioral and Brain Sciences 1978; 1: 577.
32. Legatt AD, Arezzo J, Vaughan HG. Averaged multiple unit-activity as an estimate of phasic changes in local neuronal activity - Effects of volume- conducted potentials. J Neuroscience Methods 1980; 2: 203-17.
33. Juergens E, Guettler A, Eckhorn R. Visual stimulation elicits locked and induced gamma oscillations in monkey intracortical- and EEG-potentials, but not in human EEG. Experimental Brain Research 1999; 129: 247-59.
34. Kamondi A, Acsady L, Wang XJ, Buzsaki G. Theta oscillations in somata and dendrites of hippocampal pyramidal cells in vivo: Activity-dependent phase-precession of action potentials. Hippocampus 1998; 8: 244- 61.
35. Rønn LC, Berezin V, Bock E. The neural cell adhesion molecule in synaptic plasticity and ageing. Int J Dev Neurosci. 2000;18(2-3):193-9

36. Woolley CS. Estrogen-mediated structural and functional synaptic plasticity in the female rat hippocampus. *Horm Behav.* 1998; 34(2):140-148.
37. Bliss TV, Lomo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiology* 1973; 232: 231-56.
38. Daoudal G, Debanne D. Long-term plasticity of intrinsic excitability: Learning rules and mechanisms. *Learning & Memory* 2003; 10: 456-65.
39. Kandel ER, Schwartz JH. Molecular biology of learning- modulation of transmitter release. *Science* 1982; 218: 433-43.
40. Zhao C, Teng EM, Summers RG Jr, Ming GL, Gage FH. Distinct morphological stages of dentate granule neuron maturation in the adult mouse hippocampus. *J. Neurosci.* 2006;26:3111.
41. Esposito MS, Piatti VC, Laplagne DA, et al. Neuronal differentiation in the adult hippocampus recapitulates embryonic development. *J. Neurosci.* 2005;25:10074-10086.
42. Ge S, Yang CH, Hsu KS, Ming GL, Song H A critical period for enhanced synaptic plasticity in newly generated neurons of the adult brain. *Neuron.* 2007;54:559-566.

43. Ambrogini P, et al. Morpho-functional characterization of neuronal cells at different stages of maturation in granule cell layer of adult rat dentate gyrus. Brain Res. 2004;1017:21ñ31.
44. Scobie KN, et al. Kruppel-like factor 9 is necessary for late-phase neuronal maturation in the developing dentate gyrus and during adult hippocampal neurogenesis. J. Neurosci. 2009;29:9875ñ9887.
45. Toni N, et al. Synapse formation on neurons born in the adult hippocampus. Nature Neurosci. 2007;10:727ñ734.
46. Toni N, et al. Neurons born in the adult dentate gyrus form functional synapses with target cells. Nature Neurosci. 2008;11:901ñ907.
47. Becker S. A computational principle for hippocampal learning and neurogenesis. Hippocampus. 2005;15:722ñ738.
48. Nakashiba T, Young JZ, McHugh TJ, Buhl DL, Tonegawa S. Transgenic inhibition of synaptic transmission reveals role of CA3 output in hippocampal learning. Science. 2008;319:1260ñ1264.