



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
Fizyoloji Anabilim Dalı

SODYUM SELENİT VE SELENO-L-METİYONİN'İN
HİPOTİROİDİ İLE BOZULAN SİNAPTİK PLASTİSİTE VE
NÖROGENEZ ÜZERİNE ETKİSİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Ercan BABUR

KAYSERİ-2018



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
Fizyoloji Anabilim Dalı**

**SODYUM SELENİT VE SELENO-L-METİYONİN'İN
HİPOTİROİDİ İLE BOZULAN SİNAPTİK PLASTİSİTE VE
NÖROGENEZ ÜZERİNE ETKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Ercan BABUR

Danışman

Prof. Dr. Nurcan DURSUN

**Bu çalışma: Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TTU-2016-6732 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

KAYSERİ-2018

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
TEŞEKKÜR.....	iv
KISALTMALAR	v
TABLO LİSTESİ.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÖZET.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1.TİROİD HORMONLARI	4
2.1.1. Tiroid Bezi	4
2.1.2. Tiroid Hormonlarının Sentezi ve Salınması	4
2.1.3. Tiroid Hormonlarının Kanda Taşınımı	5
2.1.4. Tiroid Hormonlarının Genel Etkileri.....	5
2.1.5. Tiroid Hormon Reseptörleri	6
2.1.6. Tiroid Hormonlarının Genomik Etkileri	8
2.1.7 Tiroid Hormonlarının Non-genomik Etkileri	8
2.1.8. Tiroid Hormon Metabolizması ve Deiyodinazlar	11
2.1.9. Tiroid Hormonlarının Kan Beyin Bariyerinden Geçişİ	14
2.1.10. Tiroid hormonlarının Kan Beyin Omurilik Sıvısından Beyine Geçişİ....	15
2.2. HİPOKAMPÜS	16
2.2.1. Hipokampusün Yerleşimi	16
2.2.2. Dentat Girus	18
2.2.3. Hipokampusün Tabakaları ve Majör Yolaklar	19
2.2.4. Hipokampal Bağlantılar	21
2.2.5. Papez Devresi	22
2.2.6. Hipokampus Fiziyojisi	22
2.3. ÖĞRENME	23

2.3.1. Asosiyatif Öğrenme	25
2.3.2. Non-asosiyatif Öğrenme	26
2.3.3. Refleksif Öğrenme	26
2.4. UZUN DÖNEMLİ GÜÇLENME	26
2.4.1. Uzun Dönemli Güçlenme İndüksiyonu	27
NMDA Bağımlı Uzun Dönemli Güçlenme	28
NMDA Bağımsız Uzun Dönemli Güçlenme	28
2.5. UZUN DÖNEMLİ BASKILANMA	29
2.6. HAFIZA	29
2.6.1. Duyusal Hafıza	30
2.6.2. Kısa Dönemli Hafıza	30
Çalışma Belleği (Working Memory)	30
2.6.3. Uzun Dönemli Hafıza	31
A-Deklaratif Hafıza (Explicit Memory)	31
B.Motor Hafıza (İmplicit Memory)	32
2.7. ERİŞKİN NÖROGENEZ	33
2.7.1. Hipokampüste Nöroenez	33
2.7.2. Tiroid Hormonlarının Nöroenez Üzerine Etkisi	35
2.8. SELENYUM	36
2.8.1. Selenyum Metabolizması	37
2.8.2. Selenyum ve Sağlık	37
2.8.3. Selenosistein Biyosentezi	38
2.8.4. Selenoproteinler	40
2.8.5. Diyet Selenyum Formları	43
2.8.6. Hücre İçinde Selenyum Siklusu	44
2.8.7. Selenoprotein Hiyerarşisi	45
2.8.8. Selenyumun Vücuttan Atılımı	46
2.8.9. Karaciğerin Selenyum Düzenlenmesindeki Rolü	47
3.GEREÇ VE YÖNTEM	49
3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma	49
3.2. Morris Su Tankı Testi Uygulaması	50
3.3. Uzun Dönemli Güçlenme Kayıtlarının Alınması	51

3.4. Selenyum Seviyeleri Ölçümü	54
3.5. Plazma T3 ve T4 ölçümü.....	54
3.6. Western Blot ile Enzim Seviyelerinin Belirlenmesi	55
3.7. İmmünohistokimyasal Boyama	55
3.8. Veri Analizi ve İstatistik.....	56
4. BULGULAR.....	57
4.1. Sıçanların Ağırlıkları	57
4.2. Beyin ve Plazma Selenyum Seviyeleri.....	58
4.3. Grupların Plazma Serbest T3 ve T4 Seviyeleri	60
4.4. Hipokampus DİO ₂ ve DİO ₃ Seviyeleri	62
4.5. Morris Su Tankı Testi Bulguları	64
4.5.1. Sıçanların Yüzme Mesafesi Değerlendirmesi	64
4.5.2. Sıçanların Kaçış Süresi Değerlendirmesi.....	65
4.5.3. Sıçanların Yüzme Hızı Değerlendirmesi	67
4.5.4. Sıçanların Platforma Olan Ortalama Uzaklık Değerleri	69
4.5.5. Sıçanların Hedef Kadranda Bulunma Oranı Değerlendirmesi	71
4.5.6. Sıçanların Reverse Öğrenmede Yüzme Hızı Değerlendirmesi	72
4.5.7. Sıçanların Reverse Öğrenmede Yüzme Mesafesi Değerleri	73
4.5.8. Sıçanların Reverse Öğrenmede Kaçış Süresi Değerleri.....	75
4.5.9. Sıçanların Reverse Öğrenmede Platforma Olan Ortalama Uzaklık Değerleri	76
4. 6. Uzun Dönemli Güçlenme Kaydı Bulguları	78
4.6.1. Farklı Uyarın Şiddetlerine Karşı Oluşan Populasyon Spike Genlik Değerleri ve EPSP Değişimi İçin Eğim Değerleri	78
4.6.2. Uzun Dönemli Güçlenmenin İndüksiyon ve İdame Dönemlerine ait Populasyon Spike Genlik Değerleri	80
4.6.3 Uzun Dönemli Güçlenmenin İndüksiyon ve İdame Dönemlerine ait EPSP Değişimi İçin Eğim Değerleri	83
4.7. Nörogenez	85
5.TARTIŞMA	87
6.SONUÇ	95
7.KAYNAKLAR	96

TEŞEKKÜR

Hayatım boyunca bana destek olan ve üzerimdeki emekte en büyük pay sahibi olan anneme ve babama teşekkür ederim.

Tüm çalışmalarım ve tez yazımı aşamasında kendilerinden esirgediğim vakti sabırla karşılayan canım eşim Ayşe BABUR' a, canım oğullarım Çağın BABUR ve Anıl BABUR' a teşekkür ederim.

Çalışmaların her aşamasında yardımcı olan çalışma arkadaşlarım Arş. Gör. Dr. Umut BAKKALOĞLU' na, Arş. Gör. Burak TAN' a, Arş. Gör. Dr. Ali Yücel KARA' ya, Muhammed Ali YÜREKLİ' ye teşekkür ederim.

Projenin gerçekleştirilmesinde büyük katkıları bulunan Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi (BAP)' ne teşekkür ederim.

Patoloji Anabilim Dalı' ndan Prof. Dr. Özlem CANÖZ' e, Arş. Gör. Dr. Seher DARAKCI' ya teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca uyumlu bir çalışma ortamı sağlayarak destekte bulunan değerli hocalarım Prof. Dr. Sami AYDOĞAN' a, Prof. Dr. Bekir ÇOKSEVİM' e, Prof. Dr. Asuman GÖLGELİ' ye, Yrd. Doç. Dr. Erdem BAŞARAN' a, Öğr. Gör. Dr. Akif BAKTİR' a teşekkür ederim.

Proje aşamasından tez yazımının sonuna kadar birlikte çalışmaktan onur duyduğum, bilgi ve deneyimini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Cem SÜER'e teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimimin ilk günlerinden sonuna kadar büyük bir sabır ve ilgiyle emeğini esirgemeyen, tüm iyi niyeti ile bilimsel ve manevi destekte bulunan çok değerli hocam Prof. Dr. Nurcan DURSUN' a teşekkür ederim.

KISALTMALAR

AF-2	: Aktivasyon fonksiyonu 2
AKT	: Protein kinaz B
$\alpha v\beta 3$	: Alfa (v) beta 3 integrin reseptör
BrdU	: 5-Bromo-2-deoxyuridine
Ca^{+2}	: Kalsiyum
CA	: Cornu Ammonis
CREB	: Siklik Amp sorumlu element bağlayıcı protein
CAT	: Katalaz
DCX	: Doublecortin
DFU	: Düşük frekanslı uyarı
DG	: Dentat Girus
DIT	: Diiyodotironin
DİO	: İyodotironin deiyodinaz
DBB	: DNA bağlama bölgesi
ECM	: Ekstrasellüler Matriks Protein
EC	: Entorinal Korteks
EF	: Uzama faktörü
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
GAS	: İnterferon gama aktive sekans
GFAP	: Glial fibriler asidik protein

GPCR	: G protein bağlı reseptör
GPx	: Glutasyon peroksidaz
HIF-1	: Hipoksi indüklenabilir faktör-1
JAK	: Janus kinaz
I⁻	: İyodid
IFN-gama	: İnterferon-gama
KBB	: Kan beyin bariyeri
LAT	: L tipi aminoasit taşıyıcıları
LBB	: Ligand bağlama bölgesi
MAPK	: Mitojen aktive protein kinaz
MEK	: Mitojen aktive protein kinaz kinaz
Mg	: Magnezyum
MCT-8	: Monokarboksilat transporter-8
MMP-9	: Matriks Metalloproteinaz-9
MIT	: Monoiyodotironin
mRNA	: Haberci Ribonükleik Asit
Na	: Sodyum
NTCP	: Sodyum-Taurokolat Ko-transport polipeptidler
NCOR	: Nükleer ko-represör
NEUN	: Neuronal nüklei
NIS-	: Sodyum-iyodin simporter
NRGN	: Neurogranin

Neuro D	: Nöronal differansiyon 1
OATP-1	: Organik anyon transporter-1
PPAR	: Peroksizom proliferatör aktive reseptör
PKA	: Protein Kinaz A
PKC	: Protein kinaz C
PFC	: Prefrontal korteks
PSA-NCAM	: Polisialite nöral hücre adezyon molekülleri
Ptu	: 6- <i>n</i> -propil tiyourasil
RAR	: Retinoik asit reseptörleri
RXR	: Retinoid X reseptör
Se	: Selenyum
Sec	: Selenosistein
SeM	: Selenometiyonin
SECIS	: Selenosistein ekleme sekansı
SGZ	: Subgranüler zon
SVZ	: Subventriküler zon
SLC	: Solut taşıyıcı ailesi
SRC-1	: Steroid reseptör ko-aktivatör 1
SPS 2	: Selenofosfat sentetaz 2
SepP	: Selenoprotein P
SMRT	: Susturucu medyatör retinoik asit ve tiroid reseptör
STAT-1α	: Sinyal transduser ve transkripsiyon aktivatörü 1 α

STMN	: Stathmin
SSS	: Santral Sinir Sistemi
SOD	: Süperoksit Dismutaz
T3	: Triiyodotironin
T4	: Tetraiyodotironin
TBPA	: Tiroid bağlayıcı prealbumin
TBG	: Tiroid bağlayıcı globulin
TG	: Tiroglobulin
TPO	: Tiroid Peroksidaz
Trsp	: Selenosistein-tRNA geni
TR	: Tiroid hormon reseptörleri
TRx	: Tioredoksin redüktaz
TRH	: Tirotropin Salgılatıcı Hormon
TSH	: Tiroid uyarıcı hormon
TREs	: Tiroid hormon response elementi
TH	: Tiroid Hormonu
TTR	: Transtretin
TUJ-1	: Beta 3 tubulin
UDG	: Uzun dönemli güçlenme
YFU	: Yüksek frekanslı uyarı

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1	Selenoproteinler	41
Tablo 4. 1	Sıçanların sahip oldukları ağırlıkların haftalık değişim tablosu	58
Tablo 4. 2	Grupların plazma Se değerleri	58
Tablo 4. 3	Grupların beyin Se değerleri.....	59
Tablo 4. 4	Grupların plazma serbest T4 değerleri.....	60
Tablo 4. 5	Grupların plazma serbest T3 değerleri.....	61
Tablo 4. 6	Grupların DİO ₂ protein seviyeleri yüzdesel değişim tablosu.....	62
Tablo 4. 7	Grupların DİO ₃ protein seviyeleri yüzdesel değişim tablosu.....	63
Tablo 4. 8	Morris Su Tankında sıçanların platformu bulmak için katettiği mesafenin ortalama değerleri.....	65
Tablo 4. 9	Morris Su Tankında sıçanların kaçış sürelerinin ortalama değerleri ...	66
Tablo 4. 10	Morris Su Tankında sıçanların yüzme hızlarının ortalama değerleri ..	68
Tablo 4. 11	Morris Su Tankında sıçanların platforma olan ortalama uzaklıklarının ortalama değerleri	70
Tablo 4. 12	Morris Su Tankında sıçanların hedef kadranda bulunma oranı ortalama değerleri	71
Tablo 4. 13	Morris Su Tankında sıçanların 6, 7 ve 8.günlerdeki yüzme hızı ortalama değerleri.....	73
Tablo 4. 14	Morris Su Tankında sıçanların 6, 7 ve 8.günlerdeki kat ettiği mesafenin ortalama değerleri	74
Tablo 4. 15	Morris Su Tankında sıçanların 6, 7 ve 8.günlerdeki kaçış süresi ortalama değerleri	76
Tablo 4. 16	Morris Su Tankında sıçanların 6,7 ve 8. günlerdeki platforma olan ortalama uzaklık ortalama değerleri	77
Tablo 4. 17	Grupların 0,1 mA – 1,5 mA arasında değişen uyarı şiddetleri ile oluşan PS genliklerinin değerleri	79
Tablo 4. 18	Grupların 0,1 mA – 1,5 mA arasında değişen uyarı şiddetleri ile oluşan EPSP eğimi değerleri (mV)	80
Tablo 4. 19	Grupların indüksiyon ve idame dönemlerine ait PS genliği ortalama değerleri	80

Tablo 4. 20	Grupların indüksiyon ve idame dönemlerine ait EPSP eğimi ortalama değerleri ve standart sapmaları.....	83
Tablo 4. 21	Grupların dentat girus subgranüler tabakasındaki Ki-67 pozitif hücre sayısı ortalama değerleri ve standart sapmaları.....	86

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1	Tiroid hormon reseptörleri DNA bağlanma bölgesi	7
Şekil 2.2	Tiroid hormonlarının non-genomik etki mekanizması	9
Şekil 2.3	Tiroid hormonlarının yapısı ve deiyodinaz enzimleri.....	11
Şekil 2.4	Tiroid hormonlarının kan beyin bariyerinden geçişi	16
Şekil 2.5	Limbik Girusun Sınırları.....	17
Şekil 2.8	Granüler hücre bağlantıları ve hipokampus tabakaları	19
Şekil 2.9	Hipokampus tabakaları ve majör yollar	21
Şekil 2.10	Nörogenez aşamaları ve işaretleyicileri	34
Şekil 2.11	Sec tRNA sentezi	39
Şekil 2.12	Selenometiyoninin metabolik yolları	43
Şekil 2.13	Selenoproteinlerin metabolizması.....	45
Şekil 3.1	Morris Su Tankı Testi Protokolü	51
Şekil 3.2	Tipik bir elektriksel aktivite kaydında PS ve EPSP değeri hesaplanması .	53
Şekil 3.3	UDG kaydı deney protokolü şeması	54
Şekil 4. 1	Sıçanların sahip oldukları ağırlıkların haftalık değişim grafiği	57
Şekil 4. 2	Grupların plazma selenyum değerleri.....	58
Şekil 4. 3	Grupların beyin selenyum değerleri.....	59
Şekil 4. 4	Grupların plazma serbest T4 değerleri.....	60
Şekil 4. 5	Grupların plazma serbest T3 değerleri.....	61
Şekil 4. 6	Grupların DİO ₂ protein seviyeleri yüzdesel değişim grafiği.....	62
Şekil 4. 7	Grupların DİO ₃ protein seviyeleri yüzdesel değişim grafiği.....	63
Şekil 4. 8	Morris Su Tankında sıçanların katettiği mesafe grafiği.....	64
Şekil 4. 9	Morris Su Tankında sıçanların kaçış süresi grafiği.....	65
Şekil 4. 10	Morris Su Tankında sıçanların yüzme hızı grafiği	67
Şekil 4. 11	Morris Su Tankında sıçanların platforma olan ortalama uzaklık grafiği .	69
Şekil 4. 12	Morris Su Tankında sıçanların hedef kadranda bulunma oranı grafiği ...	71
Şekil 4. 13	Morris Su Tankında sıçanların 6,7 ve 8.günlerdeki yüzme hızı grafiği...	72

Şekil 4. 14 Morris Su Tankında sıçanların 6,7 ve 8. günlerdeki kat ettiği mesafe grafiği	73
Şekil 4. 15 Morris Su Tankında sıçanların 6, 7 ve 8.günlerdeki kaçış süresi grafiği. 75	
Şekil 4. 16 Morris Su Tankında sıçanların 6,7 ve 8.günlerdeki platforma olan ortalama uzaklık grafiği	76
Şekil 4. 17 Grupların dentat girus nöronlarından 0,1 mA-1,5 mA arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı alınan UDG kayıtlarında Populasyon Spike (PS) genliklerinin değişimleri	78
Şekil 4. 18 Grupların dentat girus nöronlarından 0,1 mA-1,5 mA arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı alınan UDG kayıtlarında Eksitator Post-sinaptik Potansiyel (EPSP) eğimi değerlerinin değişimleri	79
Şekil 4. 19 Tüm grupların UDG yanıtlarının indüksiyon dönemlerindeki ortalama PS genliği değerleri	81
Şekil 4. 20 Tüm grupların UDG yanıtlarının idame dönemlerindeki ortalama PS genliği değerleri	82
Şekil 4. 21 Uzun Dönemli Güçlenme deneylerinde elde edilen kontrol ve deney gruplarına ait PS genliklerinin ortalamaları	82
Şekil 4. 22 Tüm grupların UDG yanıtlarının indüksiyon dönemlerindeki ortalama EPSP eğimi değerleri	83
Şekil 4. 23 Tüm grupların UDG yanıtlarının idame dönemlerindeki ortalama EPSP eğimi değerleri	84
Şekil 4. 24 Kontrol ve deney gruplarına ait Uzun Dönemli Güçlenme kayıtlarında EPSP eğimlerinin ortalamaları	84
Şekil 4. 25 Grupların hipokampus subgranüler tabakasında Ki 67 pozitif hücrelerin immüno-histokimya boyama metodu ile elde edilen görüntüleri	85
Şekil 4. 26 Grupların dentat girus subgranüler tabakasındaki Ki 67 pozitif hücre sayısı grafiği	86

SODYUM SELENİT VE SELENO-L-METİYONİN'İN HİPOTİROİDİ İLE BOZULAN SİNAPTİK PLASTİSİTE VE NÖROGENEZ ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZET

Uzun yıllar sinir hücrelerinin kendini yenileme yeteneği olmadığı kanısının aksine son yapılan çalışmalarda beyin hücrelerinin kendini yenileme (nöroenez) yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir. Tiroid hormonları, fetüs ve doğum sonrası sinir sistemi gelişiminde gereklidir ve yetişkin beyin fonksiyonlarının korunmasında önemli rol oynamaktadır. Bu çalışmanın amacı; hipotiroidinin hipokampal nöroenez nasıl etkilediği ve selenyum takviyesinin hipotiroidi üzerindeki etkisini araştırmaktır.

Deneyler, 2 aylık, yetişkin, erkek Wistar Albino sıçanlar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubu (K, n = 32, serum fizyolojik), hipotiroid (Ptu, n = 32, 1mg/kg/gün Ptü (6-n-propyl thiouracil)), hipotiroid+sodyum selenit (Sena, n = 32, Ptü+0.5mg/kg/gün sodyum selenit) ve hipotiroid+seleno-L-metiyonin (Semet, n = 32, Ptü+0.7mg/kg/gün seleno-L-metiyonin) grubu olmak üzere 4 grup oluşturulmuştur. Tüm maddeler 21 gün boyunca gastrik gavaj tekniği ile uygulanmıştır. Uzamsal öğrenme ve bellek performansı Morris su tankı (MST, n=16) testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Uzun dönemli güçlenme (UDG, n=16) yanıtları dentat girus bölgesinden kaydedilmiştir. Hipokampus DİO2 ve DİO3 protein seviyeleri western blot yöntemi ile ölçülmüştür. Nöroenez, Ki-67 immünohistomkimyasal boyama yöntemi ile incelenmiştir. Plazma ve hipokampus selenyum (Se) değerleri, kütle spektrometre (ICP-MS) yöntemi ile ölçülmüştür. Plazma serbest T3 ve T4 seviyeleri ticari ELISA kiti kullanılarak ölçülmüştür.

Hipokampus DİO2 enzim seviyeleri Ptü grubunda kontrol grubuna göre artmış (p=0,04), DİO3 ise azalmıştır (p=0,001). Selenyum (Se) takviyeli gruplarda ise hipotiroidide gelişen bu farklılık ortadan kalkmıştır. Belleğin değerlendirildiği prob denemelerinde Ptü grubu kontrol grubuna göre hedef kadranda daha az süre geçirmiştir (p=0,032). Se takviyeli gruplarda hipotiroidide görülen bu bozulmanın düzeldiği gözlenmiştir. UDG' de Populasyon Spike (PS) genliğindeki artış Ptü grubunda kontrol grubuna göre azalmıştır (p=0,001). Se eklenen gruplarda UDG' deki bu bozulma düzelmiştir. Hipotiroidizm dentat girus subgranüler tabakasındaki projenitör hücre sayısını azaltmış (p<0,05), Se takviyesi (Sena) projenitör hücre sayısını arttırmasına rağmen bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu bulgular hipotiroidi hastalarında selenyum takviyesinin öğrenme ve bellek bozukluklarını düzeltebileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Hipotiroidizm, selenyum, nöroenez-Ki67, uzun dönemli güçlenme, öğrenme-hafıza

EFFECT OF SODIUM SELENITE AND SELENO-L-METHIONINE ON SYNAPTIC PLASTICITY AND NEUROGENESIS IMPAIRED BY HYPOTHYROIDISM

ABSTRACT

Contrary to the belief that nerve cells are not self-renewing for many years, recent studies have shown that nerve cells have neurogenesis ability. Thyroid hormones are essential for fetal and post-natal nervous system development and also play an important role in the maintenance of adult brain function. The purpose of this study is to investigate how hypothyroidism affects hippocampal neurogenesis and the effect of selenium supplementation on hypothyroidism.

The experiments were carried out on adult male Wistar rats aged of 2 months. The rats were divided into 4 groups; control (K, n=32, saline), hypothyroid (Ptu, n=32, 1mg/kg/day Ptu), hypothyroid+sodium selenite (Sena, n=32, Ptu+0.5mg/kg/day sodium selenite) and hypothyroid+seleno-L- methionine (Semet, n=32, Ptu+0.7mg/kg/day seleno-L-methionine) group. All drugs were administered with gastric gavage technique for 21 days. The spatial learning and the memory performance were measured by using Morris water maze (n = 16). The responses of LTP were recorded from region of dentate gyrus (n = 16). Hippocampus DIO2 and DIO3 protein levels were measured with western blot method. Neurogenesis was examined by Ki-67 immunohistochemical staining. Se values on plasma and hippocampus were measured with inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). Plasma free T3 and T4 levels were measured using a commercial ELISA kit.

Hippocampal DIO2 enzyme levels were increased in the Ptu group compared to the control group ($p = 0.04$), while DIO3 was decreased ($p=0.001$). In selenium (Se) supplemented groups, this difference has disappeared. In probe experiments where the memory was evaluated, the Ptu group spent less time on the target quadrant than the control group ($p=0.032$). It has been observed that the disruption of the hypothyroidism improved in Se-supplemented groups. Increase in the Population Spike (PS) amplitude of UDG decreased in Ptu group compared to control group ($p=0.001$). This deterioration improved in Se added groups. In hypothyroidism, the number of progenitor cells decreased in the subgranular layer of dentate gyrus ($p < 0.05$). Se supplementation increase the number of progenitor cells, although this increase was not statistically significant. These findings suggest that selenium supplementation in hypothyroid patients may improve learning and memory disorders.

Key words: Hypothyroidism, selenium, neurogenesis-Ki67, long term potentiation, learning-memory

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Tiroid hormonları, fetal ve post-natal sinir sistemi gelişimi ve erişkin beyin fonksiyonlarının devamı için esansiyel bir hormondur. Fetal ve neonatal dönemde tiroid hormon eksikliği tedavi edilmediğinde geri dönüşümsüz olarak zekâ geriliği, sağırılık ve ataksi ile karakterize kretinizme neden olur. Erişkin hipotiroidizmi aynı şekilde şiddetli entelektüel defektlere, denge kusurlarına ve motor becerilerde bozulmaya neden olur. Bu durum tiroid hormonlarının beyin gelişim ve fonksiyonlarında ne kadar etkili olduğunu göstermektedir. Biyolojik olarak iki aktif tiroid hormonu vardır; tetraiyadotironin (tiroksin)-T4 ve triiyadotironin-T3. Tiroid bezinden salınan tiroid hormonlarının %97' sini T4 oluştururken %3'lük oranda salgılanan T3 biyolojik olarak T4'ten 4-10 kat daha aktiftir. Dokularda deiyodinaz enzimleri ile T4'ün T3'e dönüşümü, T4'ün depo form olarak görev yapmasını açıklar. T3 hücrede etkisini genomik ve non-genomik olarak iki yolla gösterebilir. Genomik etki, T3 hormonunun hücre nükleusuna giderek DNA' da ilgili reseptöre bağlanması ve mRNA oluşumu sonrası protein sentezinin başlaması ile görülür. Non-genomik etki ise sitoplâzma membranındaki $\alpha_v\beta_3$ integrin reseptörü üzerinden görülür. T3-bağımlı transkripsiyonel etki saatler ya da günler içinde gerçekleşirken, non-genomik etki saniye ya da dakikalar içinde meydana gelir. Bu çalışmada non-genomik etkilerin aksine genomik etkiler üzerine yoğunlaşılacaktır. Tiroid hormonlarının tüm vücutta ve tiroid bezinden salınımında düzenleyici olan TSH-TRH sistemi, hücrelerde yerini deiyodinazlara bırakmıştır. Deiyodinazlar tiroid hormonu formlarının birbiri arasında dönüşümünü sağlayan enzimlerdir. Tiroid hormonlarından iyodun serbestlenmesini katalize ederler. Bu enzimlerin en önemli özelliği aktif bölgelerinde prostetik grup olarak selenyum (Se) içermeleridir. Dolayısı

ile selenyum eksikliklerinde tiroid hormon bozuklukları görülür. Üç tip deiyodinaz (DİO) vardır. DİO1 ve DİO2 dış halka deiyodinasyonu yaparken, DİO3 iç halka deiyodinasyonu yapar. DİO1 ve DİO2, T4' ü T3' e çevirirken DİO3, T4'ü rT3'e veya T3' ün inaktif form olan T2' ye dönüşümünde rol alır. Beyinde yoğun olarak bulunan DİO2 ve DİO3' tür. Santral sinir sisteminde DİO2 astrositlerde eksprese olurken DİO3 nöronlarda eksprese olur. DİO2' nin astrositlerde eksprese olmasının nedeni astrositlerin kan beyin bariyerini oluşturmasıdır. Kanda çoğunlukta bulunan T4, kan beyin bariyerinden geçerken ilk karşılaştığı hücreler olan astrositlerde DİO2 ile T3'e dönüşür. T3 daha sonra nöronlara ulaşarak burada eksprese olan DİO3 ile inaktif form olan T2'ye çevrilir. Nöronlarda bulunan DİO3'ün amacı nöronu aşırı tiroid hormon etkisinden korumaktır. Aynı şekilde DİO2'de hipotiroidi durumunda tiroid hormon eksikliği etkisinden nöronları koruma amaçlı ekspresyonunu arttırabilir. Literatürde deiyodinazların fizyolojisi hakkında kesin bilgiler yoktur. Bu çalışmada hipotiroidi ve hipotiroidi oluşturulmuş sıçanlara verilen farklı Se formlarının deiyodinazların üzerine etkisi western blot tekniği ile incelenecektir.

Öğrenme, deneyimler sonucunda davranışlarda meydana gelen değişiklik olarak tanımlanır. Öğrenme, canlının çevresinden gelen dış uyarılar ile nöronlardaki kimyasal, elektriksel ve yapısal değişiklikler sonucunda oluşan yeni sinaptik bağlantılar ile gerçekleştirilir. Bu sinaptik ağlarda sinirsel uyarılara bağlı olarak sinapsların aktivitelerinde değişiklikler olur. Buna sinaptik plastisite denir. Sinaptik plastisitenin en yaygın çalışılan tipi Uzun Dönemli Güçlenme (UDG)' dir. Uzun dönemli güçlenme yüksek frekanslı uyarı (YFU) protokolü ile sinapsların güçlendirilmesini tanımlarken, Uzun dönemli baskılanma (UDB) düşük frekanslı uyarılarla (DFU) sinapsın zayıflatılmasını tanımlar. Bu çalışmada UDG kayıtları hipokampus dentat girus ve entorinal korteksten dentat girusa ilerleyen perforan yola yerleştirilen elektrotlar ile alınacaktır. Hipokampus medial temporal lobta yer alan hafıza ve yön bulmada önemli rolleri olan gri cevher tabakasıdır. Limbik sistemin parçası olan bu bölge Alzheimer hastalığında ilk etkilenen bölgelerden biridir. Uzun süreli potansiyasyon ilk olarak bu yapıda saptanmış ve incelenmiştir. Hipokampusün, yeni hafıza oluşumu ve uzamsal öğrenmede önemli bir rol üstlendiği konusunda bilim dünyası hemfikirdir. Bu çalışmada UDG kayıtları yanısıra hipokampal bağımlı öğrenme ve bellek performansının değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılan Morris Su Tankı Testi kullanılacaktır.

Nöroenez, nöral kök hücre ve projenitör hücrelerden yeni nöronların oluşumu sürecidir. Beyinde hipokampus dentat girus subgranüler zon ve lateral ventriküllerin kenarındaki subventriküler zonda gösterilmiştir. Subgranüler zonda günlük 9000 projenitör hücre doğar. Bu hücreler granül hücrelerini oluşturmak üzere granül hücre tabakasına göç eder. Yeni oluşan bu hücrelerin fonksiyonel olup olmadıkları konusunda literatürde çelişkili bilgiler bulunmaktadır. Birçok çalışmacı yeni oluşan nöronların yeni hafıza oluşumu ile ilgili olduğunu öne sürmesine rağmen bunlar hipotez olmaktan öteye geçememiştir. Çalışmamızda tiroid hormonlarının santral sinir sistemi üzerine etkisi dikkate alınarak yeni oluşan bu nöronların hipotiroididen ve hipotiroidi oluşturulmuş sıçanlara verilen farklı Se formlarından nasıl etkilendiği Ki-67 immünohistokimyasal boyama yöntemi ile ortaya konmaya çalışılacaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.TİROİD HORMONLARI

2.1.1. Tiroid Bezi

Tiroid bezi yaklaşık 15-20 gram ağırlığında vücuttaki en büyük endokrin bezlerden biridir. Larinksin hemen altında ve trakeanın üst kısmının önünde uzanır. İki lateral lob, istmus adlı tiroid dokusu ile birbirine bağlanır. İstmus bölgesi trakeanın 2. ve 4. kıkırdağı arasında uzanır. Tiroid bezi lobları, folikül olarak adlandırılan içi boş, küresel yapılardan oluşur. Her folikül kolloid adı verilen sıvı ile doludur. Kolloidin temel bileşeni büyük bir glikoprotein olan tiroglobulindir (TG). Diğer endokrin bezlerde üretilen hormonlar hemen sekrete edilirken tiroid bezi, tiroid hormonlarını vücut tarafından ihtiyaç duyulana kadar kolloid halinde depolar. Tiroid bezinin esas işlevi vücuttaki birçok metabolik sürecin düzenlenmesi için gerekli olan L-Triiyodotironin (T3) ve L-Tiroksin (T4, tetraiyodotironin) hormonlarının üretimidir (1).

2.1.2. Tiroid Hormonlarının Sentezi ve Salınması

Tiroid hormonlarının üretimi iyodine bağlıdır. İyodin eksikliği endemik guatr, hipotiroidizm ve foliküler tiroid kanseri gelişimi ile ilgilidir. İyodin gastrointestinal sistemden etkili bir şekilde emilir ve sistemik dolaşıma katılarak folikül hücrelere gelir. Folikül hücreler bir plazma membran proteini olan Sodyum-İyodin Simporter (NIS-) ile iyodini içeri alır. Folikül hücrede iyodin iyodide (indirgenmiş formda, I^-) okside olur ve İyodin-Klorid Transporter (Pendrin) ile lümene gönderilir. Tirozin vücutta yeterli miktarda sentez edilebilen bir aminoasittir. Tirozin molekülleri içeren

TG, folikül hücreleri tarafından sentezlenir ve folikül lümenine ekzositoz ile salgılanır. İyodinizasyon denilen aşamada Tiroid Peroksidaz (TPO) tarafından TG üzerindeki tirozin rezidüleri I^- ile birleştirilir. Sonuç olarak monoiyodotironin (MIT) ve diiyodotironin (DIT) oluşturulur. Daha sonra TPO'nun aracılık ettiği tepkimeyle MIT ve DIT birleşmesi ile T3 (triiodotironin) , iki DIT molekülünün birleşmesi ile T4 (tetraiyodotironin) oluşur (2).

Tiroid hormonlarının sistemik dolaşıma katılması kompleks bir süreçtir. T3 ve T4 tiroglobuline bağlı halde depo edilmektedir ve kana karışması için folikül hücrelerini katetmesi gerekmektedir. İlk aşamada folikül hücreleri kolloid yapıdan bir parçayı pinositoz yoluyla içine alır. Lizozomal enzimlerle T3 ve T4 aktif formları tiroglobulinden koparılır. T3 ve T4 sistemik dolaşıma katılır. Kana geçen bu hormonlardan çoğu T4 (%90), az bir kısmı ise T3 (%10)'tür. Bununla birlikte tiroid bezinden salınan T4'ün çoğu T3'e çevrilir. T3, T4'ün biyolojik formundan 4 kat daha etkilidir ve hedef hücrelerdeki etkiden sorumludur (1).

2.1.3. Tiroid Hormonlarının Kanda Taşınımı

Dolaşımdaki T3 ve T4'ün % 99'undan fazlası plazma proteinlerine bağlı durumdadır; tiroid bağlayıcı globulin (TBG) (% 75), tiroid bağlayıcı prealbumin (TBPA) (% 15) ve albumin. Dolaşımdaki T3' ün % 0,4' ü ve T4'ün % 0.02'si serbest haldedir. T4'ün bağlanma yüzdesi daha fazla olduğu için yarı ömrü bir haftayı bulurken T3'ün yarı ömrü 12-24 saat arasındadır (2).

2.1.4. Tiroid Hormonlarının Genel Etkileri

Tiroid hormonlarının genel etkisi, çok sayıda genin nükleer transkripsiyonunu aktive etmesidir. Neredeyse vücudun tüm hücrelerinde çok sayıda taşıyıcı protein, enzim, yapısal protein ve diğer maddelerin sentezinde bir artış meydana gelir. Bunların sonucunda tüm vücutta fonksiyonel aktivitede bir artış görülür. Tiroid hormonları büyük miktarlarda salgılandığında bazal metabolizma hızı normalin % 60 - % 100 oranında artış gösterebilir. Bu durumda besinlerin enerji için kullanım hızı da büyük oranda artar. Protein sentezi hızında artış görülmesine rağmen, aynı zamanda protein katabolizmasında da bir artış görülür. Gençlerin büyüme hızında belirgin bir artış olur. Zihinsel süreçler ve diğer birçok endokrin bezin aktivitesinde artış görülür (3).

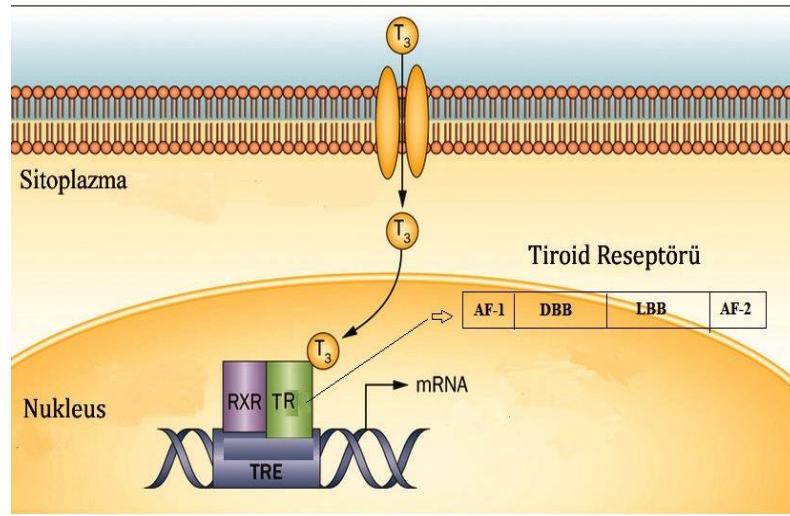
Tiroid hormonları glukozun hücreler tarafından alımı, glikoliz, glukoneogenez ve glukozun gastrointestinal kanaldan emilimi gibi neredeyse karbonhidrat metabolizmasının tümünü uyarır. Tüm bu etkilerin sebebi, tiroid hormonlarının hücrel metabolik enzimlerde artışa neden olmasıdır. Tiroid hormonları yağ metabolizmasını her yönüyle uyarır. Özellikle lipidlerin yağ dokusundan hızla mobilize (lipoliz) olmasına neden olurlar. Bu durum aynı zamanda plazmada serbest yağ asidi konsantrasyonunda artışa ve yağ asitlerinin hücreler tarafından hızla oksidasyonuna neden olur. Artan tiroid hormonu plazmada kolesterol, fosfolipid ve trigliserid oranını düşürürken, serbest yağ asidi miktarını artırır. Tiroid hormonlarının fazlalığı çoğu zaman kilo kaybı ile ilişkilidir. Ancak kilo kaybı her zaman görülmez, çünkü tiroid hormonu aynı zamanda iştahı artırır ve bu durum metabolik hızdaki değişimi tolere edebilir (3).

Tüm dokulardaki metabolizma artışı normalden fazla oksijen tüketimine ve metabolik son ürün üretimine yol açar. Bu etkiler birçok dokuda vazodilatasyona ve kan akımının artmasına neden olur. Sonuç olarak tiroid hormonu etkisinde kardiyak output % 60 veya daha fazla oranda artabilir. Kardiyak outputtaki bu artış beklenenden daha fazla kalp hızında artışa neden olur. Bu nedenle tiroid hormonunun kalbin uyarılabilirliği üzerine direk etkisi olduğu düşünülmektedir. Tiroid hormonları sistolik kan basıncında 10-15 mm civalık bir artışa neden olurken diyastolik kan basıncı aynı oranda azalır ve sonuç olarak ortalama arteriyel kan basıncı sabit kalır. Metabolik hızdaki artış oksijen tüketimi ve karbondioksit oluşumunu arttıracığı için solunum sayısı ve derinliği artar. Tiroid hormonlarının ayrıca mide-bağırsak hareketleri, merkezi sinir sistemi, kasların işlevi, uyku ve diğer endokrin bezler üzerine olmak üzere pek çok etkileri vardır (3).

2.1.5. Tiroid Hormon Reseptörleri

Tiroid hormon reseptörleri (TR), östrojen reseptörü, D vitamini reseptörü, peroksizom proliferatör aktive reseptör (PPAR) ve retinoik asit reseptörlerini (RAR) içeren geniş bir nükleer reseptör süperfamilyası üyesidir (4). Bu gen ailesinin önemli bir üyesi olan Retinoid X reseptör (RXR), TR'ler gibi birçok nükleer reseptör için heterodimerizasyon ortağıdır. TR'ler amino ucunda terminal bölge (A-B Bölgesi), santralde DNA bağlanma bölgesi (DBB) ve karboksi ucunda ligand bağlanma

bölgesinden (LBB) oluşur (Şekil 2.1). Ligand bağlanma bölgesi içerisinde RXR, ko-aktivatör ve ko-represörlerle etkileşime giren fonksiyonel bölge bulunur. İn vitro olarak T3 hormonu DNA'ya monomer, homodimer veya retinoik asit gibi yardımcı proteinlerle ilişki kurarak heterodimer şeklinde bağlanır. DBB, 12 ve 13 aminoasitlik, sistein çiftleri ile bölünen ve çinko ile etkileşen iki bölge içerir. Bu çinko parmaklar protein yüzeyinden çıkıntı yaparak tiroid hormon response element (TRES) olarak adlandırılan spesifik DNA bölgeleri ile etkileşim kurar. TRES gen transkripsiyon başlangıç bölgesi yanındadır ve tiroid hormonları ile düzenlenir. Hedef genlerin transaktivasyonu için tiroid hormonları ve kofaktörlerin LBB'ye bağlanması gerekir. LBB'nin distal karboksi ucunda Activation Function-2 (AF-2) bölgesi bulunur. Bu bölgenin bağlanma ve dimerizasyona çok az etkisi bulunur. Ancak amfipatik alfa heliks yapısı nükleer ko-aktivatörler ile etkileşim için gereklidir (5).



Şekil 2.1 Tiroid hormon reseptörleri DNA bağlanma bölgesi

(T3' ün hücre membranından geçerek nükleusa ilerlemesini ve Tiroid Reseptörlerine bağlanmasını gösteren şekil. TR:Tiroid Reseptör, RXR:Retinoid X Reseptör, TRE: Tiroid Hormon Response Element, AF-1 :Aktivasyon fonksiyon 1, AF-2 :Aktivasyon fonksiyon 2, DBB :Dna Bağlanma Bölgesi, LBB :Ligand Bağlanma Bölgesi. *Nature Reviews Endocrinology*, vol. 10, no. 10, 2014, p.582)

TR α (alfa) ve TR β (beta) olmak üzere iki adet tiroid hormon reseptör geni mevcuttur. TR α 17. kromozomda, TR β 3. kromozomda lokalizedir. Her bir gen en az iki tiroid reseptörü üretir (alfa ve beta) (6). TR α geni, TR α 1, TR α 2 ve TR α 3 olarak gösterilen üç ürüne sahiptir. Bunlardan TR α 1, baskın olarak kalp, beyin ve iskelet kasında eksprese edilir ve T3 bağlayan üründür. Buna karşın TR α 2 ve TR α 3 formları T3

bağlamayan ürünlerdir. Tr β 3 çeşittir; Tr β 1 yaygın olarak eksprese olurken, Tr β 2 beyin, retina ve iç kulakta, Tr β 3 böbrek, karaciğer ve akciğerde yaygın olarak eksprese olur (7).

2.1.6. Tiroid Hormonlarının Genomik Etkileri

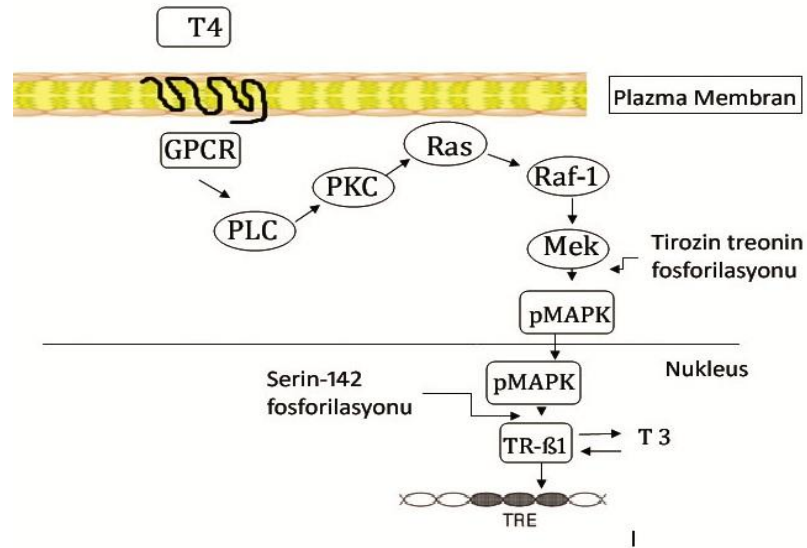
Tiroid hormonları etkilerinin büyük bölümünü nükleer tiroid hormon reseptörlerine bağlanarak gösterir. T3'ün tiroid hormon reseptörlerine bağlanması genlerin birçoğunda transkripsiyon artışı ile sonuçlanır. T3 hormonu yokluğu, TR genlerin ekspresyonunu baskılayarak genlerin susmasına neden olur. Tiroid hormonu-TR etkileşimi, birçok ko-aktivatör ve ko-represör aracılığı ile olur (8). T3 hormonunun TR' ye bağlanması ile p300 ve Steroid Reseptör Co-aktivatör 1 (SRC-1) transkripsiyonel olarak aktif bir kompleks oluşturur. Bu kompleksin TREs adlı gen bölgesine bağlanmasıyla haberci Ribonükleik Asit (mRNA) transkripsiyonu başlar ve bu transkriptler endoplazmik retikulumda gen ürünlerine (proteinlere) dönüştürülür (9).

2.1.7 Tiroid Hormonlarının Non-genomik Etkileri

Tiroid hormonları non-genomik etkilerini bir hücre yüzey proteini olan alfa (v) beta3 ($\alpha\beta$ 3) integrin reseptörü üzerinden gösterir. İntegrin $\alpha\beta$ 3 reseptörünün uyarılması bazı proteinlerin sitoplazmadan nükleer kompartımana taşınımı ve Mitojen Aktive Protein Kinaz (MAPK), Protein Kinaz B (AKT), Hipoksi İndüklenebilir Faktör (HIF-1), α -Fibroblast Büyüme Faktörü (α -FGF), β -FGF, FGF-2, Matriks Metalloproteinaz-9 (MMP9), onkojen ve protoonkojenleri içeren sinyal uyarıcı kinazların aktivasyonuna neden olur. Burada önemli olan tüm bu etkilerin hücre membranından başlaması ve tiroid hormon reseptöründen bağımsız olarak nükleer olayları uyarmasıdır. Nükleustaki tiroid hormon reseptörlerinin T3' e olan yüksek afinitesinin tersine $\alpha\beta$ 3 üzerine T4 hormonunun afinitesi T3' ten yüksektir (9). Birçok insan ve hayvan hücre hattında iyodotironinlerin, Ekstrasellüler sinyal ile regüle olan kinaz (ERK1/2;MAPK ailesi üyesi) yolağını aktive ettiği gösterilmiştir (6, 10, 11).

T4 bir plazma membran proteini olan G-protein Bağlı Reseptör (GPCR) ile etkileşime girerek Protein Kinaz C (PKC), Fosfolipaz C (PLC), RAS, RAF-1 ve MAPK kinaz (MEK)' in aktivasyonunu içeren birçok protein kinaz kaskatını

harekete geçirir (Şekil 2.2). MEK tarafından fosforillenen pMAPK nükleusa gider ve TR β 1 ile immüno-presipitat kompleksi oluşturur ve TR β 1' i serin 142 üzerinden fosforiller. Bu fosforilasyon daha önceden defosforile halde reseptöre bağlı Nükleer Ko-represör (NCOR) ve Retinoid ve Tiroid Hormon Reseptör sessizleştirme aracılı (SMRT, silencing mediator of retinoid and thyroid hormone receptors) reseptörden ayrılmasına neden olur. Bu ayrılmanın reseptörün tiroid hormon response elemente (TREs) bağlanması için gerekli olduğu düşünülmektedir. Ancak bu etki sadece ortamda T3 varlığında gerçekleşir. İnterferon-gama (IFN-gama) uygulanan hücrelerde IFN-gama reseptör fosforilasyonu ve dimerizasyonu Janus Kinazların (JAK-1 ve 2) ve Sinyal transduser ve transkripsiyon aktivatörü-1 α (STAT-1 α)' nın tirozin fosforilasyonu ile sonuçlanır. Bu dimerize proteinler nükleusa gider ve İnterferon-gama aktive sekansa (GAS)' a bağlanır. T4 varlığında STAT-1 α , pMAPK tarafından serin 727 üzerinden fosforillenir ve IFN-gama' nın submaksimal konsantrasyonlardaki etkisini 100 kat artırır. IFN-gama yokluğunda T4, MEK üzerinden yine STAT-1 α a tirozin fosforilasyonu yapar ancak bu durum IFN-gama üzerinde aynı etkiyi yapmaz (12).



Şekil 2.2 Tiroid hormonlarının non-genomik etki mekanizması

(GPCR: G protein bağlı reseptör, PLC :Fosfolipaz C, PKC :Protein kinaz C, Mek: MAPK Kinaz, TRE: Tiroid hormon response element, *Contemporary Endocrinology: Diseases of the Thyroid, 2nd Edition 2003, Nongenomic Actions of Thyroid Hormone,p.27*)

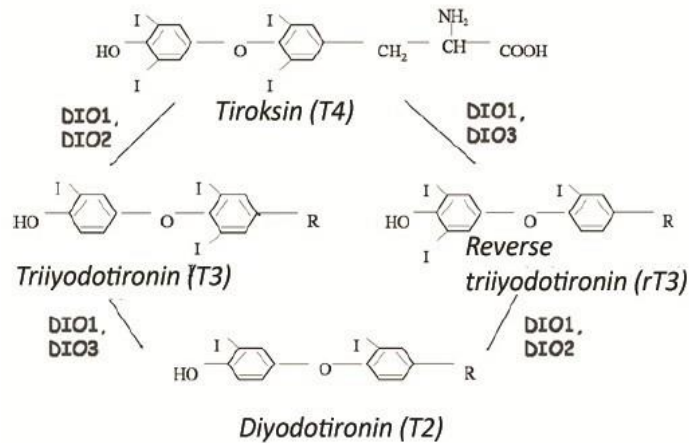
Tiroid hormonlarının non-genomik etkileri homeostatik görünmektedir. Plazma membranındaki iyon kanalları ve glukoz gibi non-iyonik solütlerin transportuna etkisi, hücre içi iyon ve glukoz konsantrasyonunu belirlemede rol aldığını düşündürmektedir. Miyokard hücrelerine T3 uygulamasını takiben depolarizasyon sonrası sodyum (Na^+) kanallarının açık kalma süresini uzattığı ve hücre içinde Na^+ birikimine yol açtığı gösterilmiştir (13). Hücre içinde Na^+ birikimi $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ pompasını aktive ederek hücre içi kalsiyum (Ca^{+2}) birikimini arttırması tiroid hormonlarının kalpteki inotropik etkilerini açıklayabilir. Tiroid hormonlarının non-genomik olarak hücre membran transportuna diğer etkisi Na^+/H^+ pompası üzerinedir. Sıçan miyoblast hücre hattına T3 ve T4 uygulamasını takiben hücre içinin asidik bir pH'a sahip olduğu görülmüştür (14). Tiroid hormonlarını eritrosit membranında Ca^{+2} -ATP az üzerine etkisi yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. T4' ün Ca^{+2} -ATP az üzerine etkisinin PKC üzerinden olduğuna inanılmaktadır ve eritrositlerdeki PKC aktivitesinin T4 tarafından non-genomik olarak arttırıldığı gösterilmiştir (15). Eritrosit membranındaki Ca^{+2} -ATP az aktivitesinin hipertiroidizmde artması ve hipotiroidizmde azalması bunu destekler görünmektedir (16). Bellaarba ve arkadaşları gelişen sıçan beynindeki sinaptozomlarda T3 bağlama alanlarını göstermiştir (17). Bu hormon bağlanma bölgeleri G protein ve GTP az aktivitesi ile ilişkili bulunmuştur. Tüm bunlar tiroid hormonlarının (TH) non-genomik olarak nörotransmisyonu düzenlediğini düşündürmektedir. T3 ve T4' ün sinaptozomal Ca^{+2} alımına etkisi santral sinir sistemi (SSS) fonksiyonlarına hipotiroidinin etkisini göstermede ışıktutacaktır (18).

Astrositlerin plazma membranında bulunan Tip 2 deiyodinaz (DIO_2) enzim aktivitesinin T4 ve rT3 kontrolünde olduğu gösterilmiştir (19). Yine aynı laboratuarda TH' lerin aktin polimerizasyonunu ve F-aktin stres liflerinin plazma membranı ile etkileşimini düzenlediği gösterilmiştir (20). Aktin üzerine etkisinin moleküler mekanizması bilinmemektedir. Tahmin edilen mekanizma tiroid hormonlarının Kalmmodulin- Ca^{+2} kompleksi üzerinden bu etkiyi yaptığıdır. Özellikle son yılların ilgi odağı T4' ün aktin üzerine etkisi glial hücrelerin bir Ekstrasellüler Matriks (ECM) proteini olan laminin ile etkileşimini kontrol etmesidir (21). Tiroid hormonlarının nöronal migrasyonu, sinaps formasyonu, morfogenez bu mekanizma ile kontrol ettiği düşünülmektedir (22).

2.1.8. Tiroid Hormon Metabolizması ve Deiyodinazlar

Tiroid hormonları birçok metabolik reaksiyona uğrar. Bunların en önemlisi tiroid hormon biyoaktivitesini düzenleyen deiyodinasyondur. Deiyodinasyona ek olarak tiroid hormonları fenol hidroksil grubundan sülfat ve glukuronik asit ile konjugasyona uğrayabilir. Sülfasyon ve glukuronidasyonun amacı; üriner ve biliyer klerensini sağlamak için substratların suda çözünürlüğünü arttırmaktır. Çok az miktarda iyodotironin sülfatları idrarda ve safrada görülür, çünkü bu bileşikler hızla DİO1 tarafından deiyodinize edilir (23). Deiyodinasyon T4' ün T3' e dönüşümünde kritik bir süreçtir. İyodotironin deiyodinazlar tiroid hormon aktivasyonu veya inaktivasyonuna neden olarak dokularda tiroid hormonlarının etkisini düzenler (24).

Omurgalılarda 3 tip deiyodinaz (DİO1, DİO2 ve DİO3) tanımlanmıştır. Deiyodinazların katalitik merkezlerindeki selenosistein rezidüleri dahil birçok ortak özelliğinin olmasının yanısıra tipe özgü farklılıklar görülür. Bu enzimlerden iki tanesi selektiftir; DİO2 sadece dış halka deiyodinasyonu yaparken DİO3 sadece iç halka deiyodinasyonu yapar (Şekil 2.3). DİO1 enzimi non-selektiftir, iç ve dış halka deiyodinasyonu yapar. DİO1 ayrıca DİO2 ve DİO3' ten farklı olarak Ptu' nun inhibisyonuna duyarlıdır (25). Ayrıca T3 ve rT3 substratına karşı yüksek Km değerlerine sahiptir (23).



Şekil 2.3 Tiroid hormonlarının yapısı ve deiyodinaz enzimleri

Deiyodinazların katalitik merkezlerinde bulunan Se normalde stop kodonu olan UGA ile kodlanır. Tüm deiyodinazlar mRNA'nın 3-UTR ucunda bulunan Selenosistein

Ekleme Sekansı (SECIS) elementine sahiptir (26). SECIS elementi translasyonel mekanizmalarla (Selenosistein-tRNA ve Uzama faktörü) etkileşim kurmak için gereklidir. mRNA boyutu 2-2.1 kilobaz arasındadır ve hepsi aktif bölgesinde UGA kodonu içerir (27). DİO1 plazmada dolaşan T3' ün önemli oranını oluşturur. DİO1 geni 1.kromozomda p32-p33 bölgesinde lokalizedir ve dört ekzon bölgesi içerir. Omurgalılarda DİO1 yoğun olarak karaciğer ve böbrekte eksprese olur. Erişkin memelilerde tiroid, hipofiz bezi, barsaklar, plasenta ve gonadlarda eksprese edilmiştir (23).

İnsanlarda DİO1 enziminin etkisi halen tartışmalıdır. Periferik T3' ün yaklaşık %80' i DİO1 ve DİO2 tarafından deiyodinasyon ile oluşur. İnsan DİO1 ve DİO2 enzim kaynaklı T3 üretimi tiroid durumuna göre değişir. Birçok çalışmada hipertiroidi durumunda T3' ün kaynağı DİO1 gösterilirken ötiroid durumda DİO2 potansiyel kaynak rolünü alır. DİO1 dış halka deiyodinasyonu ile T3 oluşumuna yardım ederken iç halka deiyodinasyonu ile tiroid hormonlarını inaktive eder (rT3). DİO1 ekspresyonu tiroid hormonu tarafından arttırılır. Hipotiroidi durumunda DİO1 katalizatörlüğündeki T4-T3 dönüşümü azalır. Tam tersine düşük serbest T4 ve T3 seviyelerinde DİO2 transkripsiyonu artar. DİO1 ve DİO2' nin farklı hücresel yerleşimleri fonksiyonel rollerine katkıda bulunabilir. DİO1 plazma membranının iç yüzeyinde yer alırken DİO2 endoplazmik retikulumda yerleşir. DİO1' in yerleşimi, plazma T3 seviyesi dengelenmesine hızlı cevap vermesini sağlar (28).

DİO2' nin lokal T3 üretiminden sorumlu olduğu düşünülür. Sıçan serebral korteksindeki nükleer T3' ün %75 kadarından sorumludur. DİO2 esas olarak hipofiz, beyin ve kahverengi yağ dokusunda eksprese edilir. Yine iskelet kası ve tiroid bezinde DİO2 eksprese edilmiştir. İskelet kasında DİO2 aktivitesi gözlenmesi plazma T3' ü için iskelet kaslarının ekstra-tiroidal kaynak oluşturabileceğini düşündürür (29). DİO2 mRNA ve aktivitesi insan hipofiz, beyin tümörleri ve mezotolyoma hücrelerinde gösterilmiştir (30). DİO2 yarı ömrü 1 saatten kısadır. T4, rT3 ve yüksek konsantrasyonda T3' e maruz kalan hücrelerde bu zaman daha da kısalmaktadır. T4, DİO2 aktivitesini non-genomik yolla post-tranlasyonel aşamada proteozomlarda ubikinyasyon ve degradasyon ile etkiler. DİO2 aktivitesi hipotiroidizmde artar. İyodin eksikliğinde DİO2 aktivitesi artarak T3 konsantrasyonu

beyin ve plazmada devam ettirir. İyodin eksikliğinde DİO1 ve DİO3 aktivitesinde bir değişiklik gözlenmemiştir (23).

Beyinde DİO2 ve DİO3 baskın olarak eksprese olur. DİO2 astrositlerde, DİO3 nöronlarda gösterilmiştir. Astrositlerin T4' ten T3 oluşumunu sağladığı ve nöronların T3'ü rT3 veya T2'ye çevirdiği düşünülmektedir. Beyinde DİO2'yi en güçlü eksprese eden tanisit olarak bilinen hipotalamik hücrelerdir. Tanisitler 3. ventrikül duvarında bulunur. Uzantıları hipotalamus ve median eminens bölgesine ulaşır. Tanisitler monokarboksilat transporter (MCT-8) ve organik anyon transporter-1 (OATP-1) eksprese eder. T4, T3'e dönüştürülür. Oluşan T3 beyin omurilik sıvısına geçer ve diğer beyin bölgelerine difüzyonla gider. Bu yolla T3, Tirotropin Salgılatırıcı Hormon (TRH) üretiminin düzenlendiği para-ventriküler nükleusa ulaşır. Bu hücrelerde DİO2 aktivitesinin gözlenmesi, tanisitlerin tiroid hormonları gibi periferik sinyallere aracılık eden hipotalamik fonksiyonlara katkıda bulunduğu hipotezini destekler (31). Nöronlar genel olarak DİO2 eksprese etmez. Ancak hipotiroidi durumunda bazı internöronal hücrelerin DİO2 eksprese ettiği gösterilmiştir (32). DİO2- Knock Out (KO) farelerde hipotiroidizmde olduğu gibi beyin T3 seviyeleri düşmüştür. DİO2 KO sıçanlarda minimal nörolojik zayıflama, hafıza kaybı ve anksiyete görülmüştür. Ancak adult DİO2 KO sıçanlarda santral veya muskuler orijinli şiddetli motor zayıflama gözlenmiştir (33). Eski çalışmalarda, DİO2 KO farelerde RC3/neurogranin (NRGN) gibi T3 sorumlu genlerin ekspresyonunda değişiklik olmadığı görülmüştür. Bu tezatlıkların nedeni bilinmemektedir. Ancak düşünülen diğer mekanizmalar T3' ün T4' ten lokal olarak üretildiği ve T3' ün nöronlara direk ulaştığıdır (34).

DİO3, T3 ve T4 hormonlarını T2 ve rT3' e çevirerek inaktive eden deiyodinazdır. Tiroid hormon homeostazındaki temel işlevi, dokuları aşırı miktarda aktif hormondan korumaktır. DİO3 düzenlenmesi çok açık değildir. Beyinde T3, DİO3 aktivitesini transkripsiyonel olarak arttırırken plasentada bu düzenleme görülmez. Farklı dokularda farklı düzenlemeler olduğu düşünülmüştür. DİO3'ün yerleşimi DİO1 enzimi gibi plazma membranıdır. DİO3, plasenta, gebe uterusu, beyin, insan embriyonik karaciğeri, infantil hepatik ve kutanöz hemanjiom ve adult vasküler tümörlerde eksprese edilmiştir. İnsan infantil hemanjiomasında görülen yüksek aktivitesi, şiddetli hipotiroidizme yol açar. Genel olarak DİO3 aktivitesi embriyonik

ve fetal hayatta yetişkinlere göre daha fazladır ve doğumdan sonra hızla düşer. Embriyogenez aşamasında tiroid hormon homeostazisi için DIO_3 kritik bir rol oynar. DIO_3 ekspresyonu uterin implantasyon bölgesinde ve fetal kaviteyi saran uterus lümenindeki epitel hücrelerinde çok yüksektir. DIO_3 ' ün uterus, amniyonda ve plasentada artmış aktivitesi maternal tiroid hormonunun fetüse geçişini engellemek için olduğunu düşündürmektedir (23, 34).

2.1.9. Tiroid Hormonlarının Kan Beyin Bariyerinden Geçiş ve Tiroid Hormon Taşıyıcıları

1970 yılına kadar tiroid hormonlarının hücre membranından geçişinin pasif difüzyonla olduğu düşünülmekteydi. Ancak membran geçirgenliği yüksüz ve moleküler ağırlığı büyük olan moleküllerde hızla azalır. 2004 yılında Monokarboksilat transporter (MCT) genindeki mutasyonun tiroid hormon transportu ile ilişkisi bu hormonların beyine geçişini açıklamada çığır açmıştır (35) .

Tiroid hormonları beyne ya direk olarak kan beyin bariyeri (KBB) üzerinden ya da indirek olarak kan BOS bariyerini geçerek ulaşır. Kan beyin bariyeri yoluyla olan geçişte MCT-8 taşıyıcısı primer role sahipken kan-bos bariyeri yoluyla geçişte transtretin (TTR) rol alır. KBB, parasellüler transportu önleyen tight junctionlarla bağlanmış, mikrovasküler endotelial hücrelerden oluşur. Asıl görevi beyine madde geçişini denetlemektir. Su, bazı elektrolitler, gazlar ve lipidte çözünen maddeler pasif difüzyonla geçebilirken glukoz, aminoasit ve diğer önemli substratlar selektif protein taşıyıcıları ile geçer (36).

MCT-8 hariç birçok taşıyıcı, doku konsantrasyonları tiroid hormonlarından yüksek olan aminoasit ve steroidler gibi maddeler için taşıyıcıdır. Birçok çalışma sadece MCT-8, MCT-10 ve OATP1C1' in tiroid hormon transportunda fizyolojik önemi olduğunu göstermiştir. MCT' ler piruvat, laktat, keton cismi, karnitin ve aromatik aminoasitler gibi monokarboksilatları taşıyan 12 transmembran bölgesi içeren proteinlerdir. Bu Solut Taşıyıcı Ailesinin (SLC) iki üyesi (MCT-8 (SLC16A2), MCT-10 (SLC16A10)) sodyum ve protondan bağımsız tiroid hormon taşıyıcıları olarak görev görürler. MCT-8, T4 ve T3 için yüksek spesifite gösterirken, rT3 ve T2 hormonlarını da taşır. MCT-8 fare beyinde astrosit, nöron oligodendrosit prekürsörleri ve endotelial hücrelerde ekspresedir. MCT-10 fenilalanin, tirozin,

triptofan gibi aromatik amino asitlerin yanısıra T3 ve T4 hormonunu taşır. MCT-8' e kıyasla T3 taşınımında daha etkilidir. MCT-10 baskın olarak mikrogliyalarda ekspresedir. Ancak geç post-natal ve adult fare beyninin beyaz cevher hücreleri ve nöronlarında da eksprese olur (34).

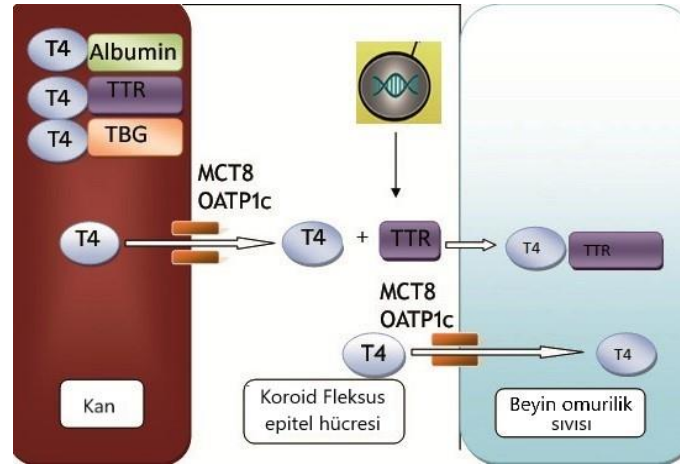
MCT-8 geni mutasyonu literatürde Allan-Herndon Dudley sendromu olarak tanımlanır. X geçişlidir ve şiddetli psikomotor retardasyonla karakterizedir. Bu hastalarda genel bir gelişme gecikmesi, zeka geriliği, konuşma azlığı, nöromotor zayıflama, santral hipotoni, spastik parapleji ve distonik hareketler görülür. Hastaların kan biyokimya testleri değerlendirildiğinde yüksek T3, düşük T4 ve rT3, normal sınırlarda TSH düzeyine sahip olduğu görülmüştür. Bu değişiklikler sorunun tiroid hormon metabolizmasında olduğunu düşündürür. Sonuç olarak T3' ün beyine girişi bloklanmıştır. T4' ün beyine geçişi etkilenmediği ve T4-T3 dönüşümünü katalizleyen DİO2 aktivitesinin arttığı görülmüştür (35).

Organik anyon taşıyıcıları, steroid, safra tuzları, ilaç ve anyonik oligopeptid gibi amfipatik organik bileşiklerin transportunda rol alır. Bunların içinde OATP1C1, T4 için en düşük Km değerine sahiptir. OATP1C1 astrosit ve endotelial hücrelerinde bulunur. L tipi aminoasit taşıyıcıları (LAT) ise heterodimerik proteinlerdir. Bu proteinler lösin, fenilalanin ve tirozin gibi nötral aminoasitleri taşır. LAT-1 (SLC7A5) ve LAT-2 (SLC7A8) aminoasit taşınmasına ek olarak T3 ve T4 taşır. LAT-1, T3 taşınımında LAT-2' den daha etkilidir. LAT-1 ve LAT-2 fare beyinde yoğun olarak eksprese edilmiştir. LAT-1, nöron, astrosit, oligodendrosit prekürsör hücreleri ve mikrogliada bulunur. Kan beyin bariyerindeki endotel hücrelerde yoğunudur. Diğer taşıyıcı proteinlerden olan Karaciğer Natrium-Taurokolat Ko-transport Polipeptidler (NTCP) safra asitlerinin enterohepatik dolaşımına katkı sağlayan yedi transmembranal bölge içeren glikoproteinlerdir. SLC10A1 tarafından kodlanan bu proteinlerin, T4 ve T3'ün sülfat türevlerinin karaciğere deiyodasyon için taşıdığı düşünülür (35).

2.1.10. Tiroid hormonlarının Kan Beyin Omurilik Sıvısından Beyine Geçişi

Koroid fleksus lateral, 3. ve 4.ventrikül duvarında yer alan villöz bir yapıdır. Koroid fleksus epitel hücreleri KBB gibi tight junctionlarla birbirine bağlanır ve beyine madde geçişini denetler. Transtretin mRNA (TTR), koroid fleksusta 1985 yılında

tespit edilmiştir. Kana işaretli T4 enjekte edilen sıçanlarda bu maddelerin koroid fleksusta biriktiği gözlenmiştir. Aynı deney T3 ile yapıldığında bu birikim görülmemiştir. Bu durum TTR' nin T4 için spesifik olduğunu göstermiştir (37). Kabul edilen görüşe göre taşıyıcı proteinlere bağlı bulunan T4 kanda bu proteinlerden ayrışır (Şekil 2.4). Tiroid hormonları koroid fleksusa transmembran proteinleri ile girer. Epitelyal hücrelerdeki T4, BOS' a ya transmembran proteinleri ile ya da T4-TTR kompleksi oluşturarak geçer. TTR gen inaktivasyonu yapılan farelerde çalışmalarda sürpriz bir şekilde normal beyin gelişimi gözlenmiştir. Bu araştırmalar TTR' nin tiroid hormon transportunda az bir rolü olduğuna ya da TTR yokluğunda bilinmeyen kompensatuar mekanizmaları devreye girdiğini ileri sürmektedir (38).



Şekil 2.4 Tiroid hormonlarının kan beyin bariyerinden geçişi

(TTR: Transtretin, TBG: Tiroid Bağlayıcı Globulin, MCT-8: Monokarboksilat transporter-8, OATP1c: Organik anyon transporter. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1993;90(6):2375-9)

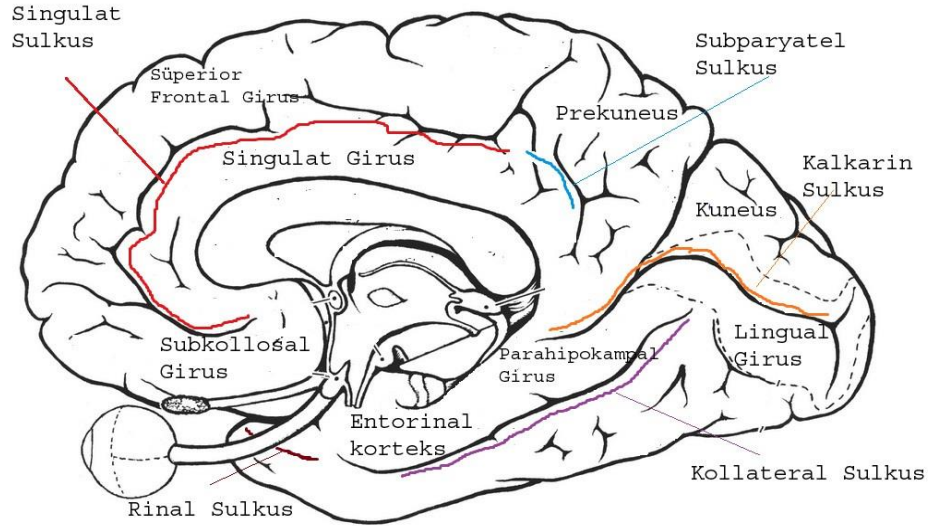
2.2. HİPOKAMPÜS

2.2.1. Hipokampusün Yerleşimi

Hipokampus, lateral ventrikülün temporal boynuzu ve temporal lobun medial yüzü arasındadır. Limbik lobun (rinensefalon) bir parçasıdır. Limbik lob etrafını saran korteksten limbik fissür ile ayrılır. Ve bu fissür limbik lobu, limbik ve intralimbik girus olarak ikiye böler (39).

Limbik fissür;

- A- **Singulat sulkus:** Singulat girusun ön ve orta parçası ile süperior frontal girus arasında bulunur.
- B- **Subparyatel sulkus:** Singulat girusun arka bölümünü prekuneustan ayırır.
- C- **Kalkarin sulkusun ön segmenti:** Singulat girusun istmusu ve lingual girus arasında bulunur.
- D- **Kollateral sulkus;** lateralinde temporo-okspital girus, medialinde parahipokampal ve lingual girus bulunur.
- E- **Rinal sulkus-** limbik lob ve temporal lob arasında bulunur.

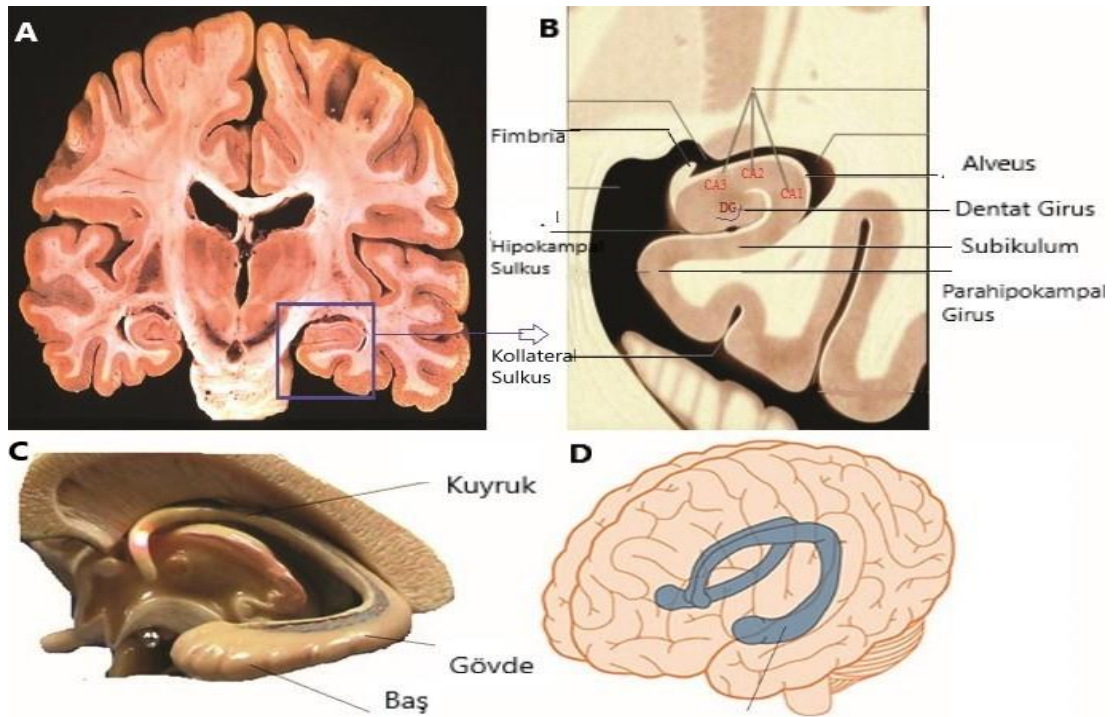


Şekil 2.5 Limbik Girusun Sınırları

Limbik girus, limbik fissürün dış sınırını oluşturduğu periferik bir çemberdir. Burası korpus kollosumun rostrum parçası altındaki subkollosal girusu, singulat girusu ve parahipokampal girusu içerir. Sonuç olarak intralimbik girus, limbik lobun iç çemberindedir. İnsan hipokampusu ve embriyolojik kalıntıları burada yer alır. Temporal lobun ventromedial yüzü oksipitotemporal ve kollateral sulkus ile sınırlanır. Rostralde kollateral sulkus sıklıkla rinal sulkusla birleşir. Bu iki sulkus parahipokampal girusun lateral sınırını oluşturur. Bu girus entorinal korteksin (EC) ön parçasını oluşturur ve peririnal ile posterior parahipokampal girusla ilişkilidir. EC kollateral sulkus medial bandında biter. EC' nin göze çarpan kısmı entorinal tabaka 2

nöronları ile uyumlu olan süperfisial siğil benzeri çıkıntılardır. EC' nin dorsomedial yüzü girus ambiens tarafından belirlenir. Hipokampal fissür, dentat girusu (DG) subikulumdan ayırır (39).

Hipokampus mezensefalonda konkav bir C harfine benzer. Sagittal ilerleyen gövde, rostromedial ilerleyen ve daha büyük olan baş kısmı ve kaudomedial, dorsal ilerleyen ince kuyruk kısmı olmak üzere 3 bölümden oluşur (Şekil 2.6). Hipokampus orta hattından alınan koronal kesitlerde birbirine geçmiş gri cevher tabakası görülür. Alveus olarak adlandırılan ince beyaz bir tabaka Cornu Ammonis (CA)' yı örter ve fimbriada sonlanır. Temporal lob dorsomedial yüzde ise DG, hipokampus ve subikular korteks bulunur. Hipokampus ve subikulumun piramidal nöronlarından kaynaklanan myeline aksonlar, beyaz cevherde ilerleyerek hipokampusün medial yüzündeki fimbria denilen alanın ortasında birleşir. Fimbria hipokampusü terk ederek fornikse ulaşır (39).

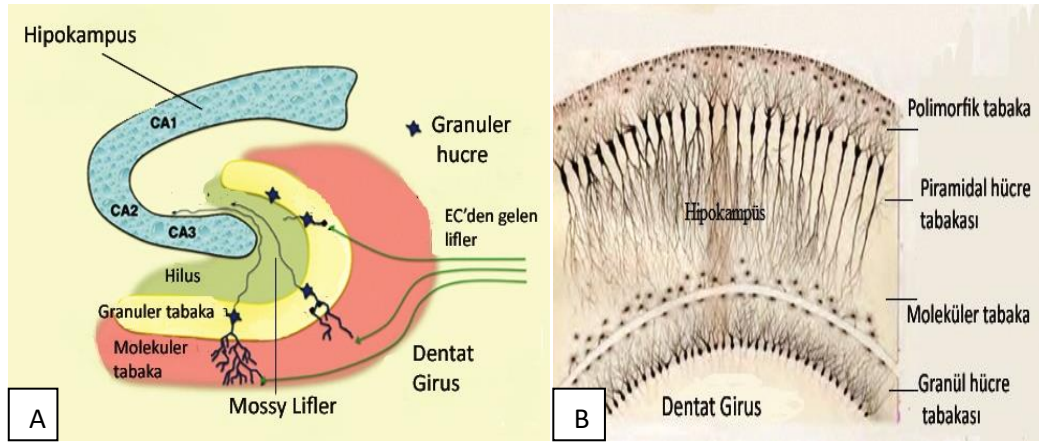


Şekil 2.6 Hipokampusün koronal kesitte (A, B) ve ön, yandan (C,D) görünümü

2.2.2. Dentat Girus

DG serebral korteksin orta bölümünün çoğunu oluşturur. Trilaminer kortikal yapıda bir bölgedir. Midrostrakaudal seviyelerde C şeklindeki tipik görüntüyü oluşturur. Hipokampal sulkus DG' yi ventraldeki CA1 ve subikulumdan ayırır. DG' nin esas

(principal) hücre tabakasında granül hücrelerinin somaları yoğun bir şekilde paketlenmiştir. Bu hücrelerin dendritleri dentat moleküler tabakaya uzanır (Şekil 2.6). DG hücreleri bazal dendritlerini alt (subjacent) polimorfik tabakaya uzatır. Granül hücre ve moleküler tabaka birlikte fascia dentata' yı oluşturur. Üçüncü ve en içteki tabaka polimorfik tabaka veya hilus diye adlandırılır. Ve bazen CA4 diye adlandırılır. Ancak hilus hücreleri sadece DG ile bağlantı kurar. Bu nedenle polimorfik tabaka genellikle DG bölümü olarak değerlendirilir. Hilus yakınlarında piramidal hücre tabakasının bir kısmı granül tabaka tarafından kapatılır. Bu nöronlarla bitişindeki CA3 piramidal nöronlar arasında fark yoktur. Insausti ve Amaral bu bölgeye CA4 demekten kaçınmak gerektiğini ifade eder (40, 41).



Şekil 2.6 Granüler hücre bağlantıları (A) ve hipokampus tabakaları (B)

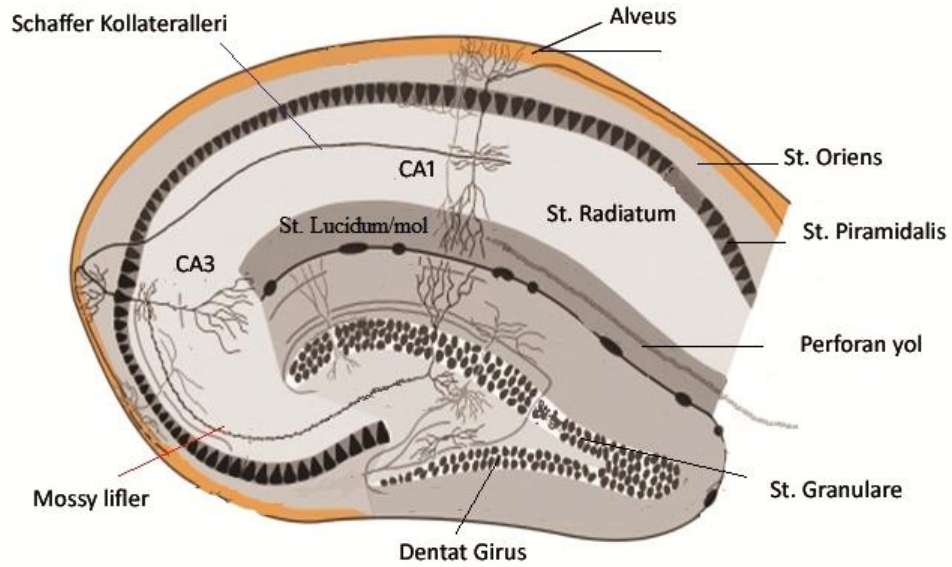
Entorinal korteksten (EC), dentat girusa doğru ilerleyen perforan yol moleküler tabakada ilerler ve piramidal hücre distal dendritlerinde sinaps oluşturur (Solda). DG hücreleri mossy lifler ile CA3 nöronlarının proksimal dendritleri ile sinaps oluşturur. www.frontiersin.org/files/Articles/152677/fphys-06-00230-HTML/image_m/fphys-06-00230-g001.jpg

2.2.3. Hipokampusün Tabakaları ve Majör Yolaklar

Hipokampus; CA1, CA2 ve CA3 olmak üzere üçe ayrılır. Ventrikül lümenini sınırlayan ve piramidal hücre aksonları tarafından oluşturulan yapıya alveus denir. Alveus ve piramidal hücre tabakası (Stratum pyramidalis) arasında bulunan stratum oriens tabakası, piramidal hücre bazal dendritlerini içerir (Şekil 2.7). Piramidal hücre aksonları en dıştaki supepandimal fiber tabakadan çıkar (alveus). Piramidal hücre tabakasından derinlere inildikçe bazal dendritlerin ve internöronların bulunduğu tabakalar karşımıza çıkar. Bu bölge 3' e ayrılır. Stratum lusidum, stratum radiatum

ve stratum molekölare (lakunozum). Prensi olarak piramidal nöronların apikal dendritleri stratum radiatumu oluşturur. Stratum lakunozum bu dendritlerin terminal dallarının uzandığı kısımdır. CA3' ün stratum lusidum tabakasında mossy ağlar (fiber) ilerler ve proksimal dendritleri ile hemen üzerindeki CA3 piramidal hücrelerle sinaps oluşturur. CA1 ve CA2' de stratum lusidum tabakası yoktur ve bu nedenle mossy lif bağlantısı almaz. CA3 nöronlarının en önemli özelliği proksimal dendritleri ile dentat granül hücre aksonlarına uyan mossy ağlarla bağlantı kurmasıdır. St. Radiatumda CA2 ve CA3 nöronlarının apikal dendritleri, septal nükleus ve supramamiller bölgeden kolinerjik ve histaminerjik assosiyatif projeksiyonlar alır. CA1'de CA2 ve CA3'ten gelen projeksiyonlar (schaffer kollateralleri) stratum radiatum ve stratum orienste sonlanır. EC' den DG' ye ilerleyen perforan yol stratum lakunozum (molekölare) içinde ilerler ve piramidal hücrelerin distal apikal dendritlerinde en passant sinapslar oluşturur. Komşu alanlarla kıyaslandığında CA3 diğer bölgelere (özellikle CA1) göre nöropatolojilere daha duyarsızdır. CA2 bölgesi daha kompakt ve dar hücre tabakasıdır. Sınırları zor seçilir. Primat CA2 bölgesi diğer bölgelerden farklı olarak hipotalamik tuberomamiller nükleustan histaminerjik input alır (41, 42).

Subikulum, CA1 ile sınırları birbirine karışan karmaşık bir geçiş bölgesidir. Üç tabakadan oluşur. Yüzeyde subikular piramidal hücre apikal dendritlerinin bulunduğu tabaka bulunur. Piramidal hücre tabakası iç ve dış tabaka olmak üzere ikiye ayrılır (43). Dış tabakada apikal dendritlerde göze çarpacak şekilde lipofusin birikir. Subikulum; septal kompleks, nükleus accumbens, anterior talamus, mamiller nükleus ve EC' ye bağlantı gönderir (41).



Şekil 2.7 Hipokampus tabakaları ve majör yolaklar

2.2.4. Hipokampal Bağlantılar

Hipokampal bilgi içsel akışı seri, genelde tek taraflı ve glutamaterjik bir yol takip eder. Bu iç bağlantı zincirinde DG ilk büyük ağ geçidini temsil eder. DG en önemli inputu perforan yolak olarak adlandırılan EC' nin layer 2 hücrelerinden alır. Perforan yol, EC' den kaudale doğru ilerler ve subikulum ile hipokampüse ulaşır (44). Spesifik olarak EC layer 2 nöronları DG' nin moleküler hücre tabakasına ve CA3' ün stratum lakunozum tabakasına bağlantı verirken EC layer 3 tabakası ise CA1 ve subikulum ile bağlantı kurar. DG hücreleri mossy ağları ile hemen altındaki dentat polimorfik tabaka ve daha önemlisi CA3 nöronlarının proksimal dendritleri ile sinaps oluşturur. CA piramidal hücre kollateralleri CA1 gibi diğer CA3 bölgelerine projekte olur ve buradan subkortikal bölgelere ilerler. Schaffer kollateralleri CA3 ve CA1 arasında bulunan bağlantıdır. CA3' ün aksine CA1 piramidal hücreleri diğer CA1 bölgelerine önemli bağlantılar kurmazlar, bunun yerine CA1 piramidal hücreleri baskın halde subikuluma bağlantı kurar. Sırasıyla presubikulum, parasubikulum ve subikular korteksin 3 bileşeni ve son olarak EC' ye ulaşır (41).

Hipokampal devrenin dış inputları çeşitli korteks bölgeleri, amigdaloid kompleks, medial septal alan, talamus, supramamiller alan ve monoaminerjik beyin sapı çekirdeklerinden alır. Hipokampusün dış bağlantıları Papez' in çalışmalarına dayanır

(45). Bu görüşe göre hipokampus duyuşal bilgiyi birçok kortikal bölgeden alır ve fimbria ile forniks yoluyla uygun duyuşal cevapların verildiğı mamiller çekirdeğı sunar. Forniksten mamiller komplekse giden bu fiber ağı subikulum ile sağlanır (41).

2.2.5. Papez Devresi

1937 yılında James Papez duyguların kontrolünde kortikal nöral devre tanımlamıştır (45). O yıllardan beri kapsamlı bir şekilde araştırılan bu devrenin bugün hafızanın kaydedilmesinde majör yolak olduğı bilinmektedir. Bu devre hipokampusle limbik sistem arasındaki nöral yolakları tarifler. Aslında bu durum mutlu veya üzgün anıları diğér sıradan olaylara göre neden daha fazla hatırladığımızı açıklar. Bu devre aynı zamanda bazı hatıraların neden otonomik etkilere yol açtığını da açıklar (Limonun ekşi tadının hatırlanmasının ağız içinde salgılanma artışına sebep olması gibi).

Hipokampus subikulum ve forniks aracılığı ile talamusun parçası olan mamiller cisimle bağlantı kurar. Mamiller cisim sinyallerini anterior talamik nükleusa gönderir. Ve oradan bilgi singulat girusa ulaşır. Singulat girus sinyalleri limbik sistem ve kortekse geri gönderir.

2.2.6. Hipokampus Fizyolojisi

20. yüzyıla kadar hipokampusün olfaktör sistemin bir parçası olduğı düşünölmüştür. Bu öngörü koku duyusu güçlü hayvanlarda olfaktör bölgeler kadar gelişmiş bir hipokampus varlığı gözlemine dayalı olabilir. 1940' larda hipokampüsten kaynaklanan epileptik nöbetler geçiren hastaların subjektif olfaktör duyular deneyimlediğı gözlenmiştir (46). Bugün hala nöbet geçiren hastaların nöbetin başlangıcında belirli bir kokunun farkında olması (gül kokusu vb) anlaşılamayan bir durumdur. 1937 yılında Papez hipokampusün birçok duyuşal bilgiyi alıp bütünleştirerek mevcut ortama uygun duyuşal yanıtı oluşturmakta görevli olduğunu öne sürmüştür (45). 1939 yılında Kluver-Bucy maymunlarda temporal lobun çıkarılmasının vizüel agnozi ve korku yokluğunu ortaya çıkardığını göstermiştir (47). O zamanlarda bu bulgular hipokampusün yokluğuna atfedilmiştir ancak bugün daha iyi bilinmektedir ki korku duyusunun yokluğu ve vizüel agnozi amigdala ve onun vizüel korteksle olan bağlantılarının çıkarılmış olmasına bağlıdır.

Hipokampüsün hafıza üzerine rolü 1957’ de Scoville ve Milner’ in epilepsiyi tedavi etmek için radikal bir girişimle medial temporal lobun bilateral olarak çıkarılması ile gün ışığına çıkmıştır (48). Cerrahi sonrası hastanın epileptik nöbetleri dramatik bir şekilde azalmıştır ancak bu durum şiddetli bir hafıza kaybıyla sonuçlanmıştır. Bu hastada verbal (işitsel) ve vizüel (görsel) olayların hatırlanmasında ve asosiyatif öğrenme performansı ile ilgili testlerde düşük puanlar almıştır. Daha sonraları aynı hastada yeni epizodik hafıza oluşumunun tam kaybı görülmüştür (anterograd amnezi). Ameliyat öncesi 19. ayda epizodik hafıza olmaması (retrograd amnezi) ve ameliyat öncesi 3 yıla kadar epizodik hafızada zayıflamaya rağmen bu duruma zıt bir şekilde kişinin çocukluğundan sıkça bahsetmesi hipokampüsün geçici hafıza oluşumunda etkili olduğunu düşündürmüştür. Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarda hipokampüsün epizodik hafızayla ilgili olduğu ve semantik hafızayı etkilemediği gösterilmiştir (48).

Hipokampüs uzun dönemli hafızanın oluşumunda kritik role sahiptir. Kabul edilen genel mekanizma; duyuşsal algıların kortekste kendileri ilgili alanlara gitmesi (görüntü-vizüel korteks, koku, audatör korteks) ve daha sonra bu bilgilerin hipokampüse sunulduğu şeklindedir. Hipokampüsün bu bilgileri işlediği ve depolanmak için geri respektif kortekse gönderdiği düşünülür. Kısa dönemli hafızanın uzun dönemli hafızaya dönüşümü hafıza konsolidasyonu olarak adlandırılır. Hipokampüsün hafıza depolama görevinde bulunmadığı sadece bilginin uzun dönemli hafıza olarak kayıt edilmesi sürecinde rol aldığı gösterilmiştir (49)

2.3. ÖĞRENME

Öğrenme üzerine yapılan çalışmalarda öğrenmenin tanımı açıkça ifade edilememiştir. Bu durum öğrenmenin tanımı üzerine genel bir fikir birliği olmamasından kaynaklanıyor olabilir. Lanchman 1997 yılında öğrenmeyi deneyimler sonucunda davranışlarda meydana gelen değişiklik olarak tanımlamıştır (50). Ancak bu tanımlama birçok araştırmacı tarafından basit ve yetersiz bir tanımlama olarak görülmüştür (50, 51). Birinci neden olarak latent öğrenmenin gözlenmesi için davranış değişikliğinin şart olmadığı gösterilmiştir. Tolman ve Hoznik sıçanların ilk deneyim anında öğrendiğini ancak bunu davranışa dönüştüremediğini, bilginin davranışla ifade edilmesinin ancak ikinci deneyim anında gerçekleştiğini bildirmiştir

(52). İkinci neden, davranıştaki değişiklikler her zaman öğrenmeye bağlı ortaya çıkmaz. Bazı bireysel deneyimler (yüksek bir patlama sesi) davranışta hızlı ve geçici değişikliklere neden olabilir. Yine yorgunluk ve motivasyon eksikliği gibi davranış değişiklikleri bu tanımlamanın dışında tutulmalıdır. Bu yüzden öğrenme, davranışın oluşturulmasında birçok mekanizmadan biri olarak kabul edilir. Öğrenmede davranış değişikliği şart değildir çünkü diğer davranış mekanizmaları öğrenmenin etkisini bloke edebilir (motivasyon eksikliği gibi) (53).

Öğrenme ve hafızanın tanımlanmasında iki perspektif tanımlanmıştır. Assosiyatif öğrenme çerçevesinde öğrenme hafızadan ayrı tanımlanamaz. Öğrenme yeni assosiyasyonların oluşturulmasını içerirken, hafıza bu assosiyasyonların davranışa dönüştürülmesinde etkilidir. Nörobilimsel düzeyde bakıldığında öğrenme, deneyimlerin nöral ağlarının yeniden yapılandırılması işlemidir. Öğrenme ve hafızanın hücresel düzeyde anlaşılması üzerine mevcut araştırmanın odak noktası, membran uyarılabilirliği ve sinaptik güç gibi nöronal özelliklerdeki değişiklikler üzerinedir. Şu an kabul edilen görüş öğrenme ve hafızada tek bir evrensel mekanizma bulunmadığı üzerinedir. Farklı hafıza sistemleri farklı mekanizmalara sahiptir. Omurgalı ve omurgasızlar üzerinde yapılan çalışmalarda bu farklı mekanizmaların belli ilkelere sahip olduğu gösterilmiştir (54).

1- Beyinde birçok hafıza sistemi mevcuttur.

2- Kısa ve uzun dönemli öğrenme ve hafıza formları var olan nöronal devrede değişiklikler gerektirir.

3- Bu değişiklikler birçok farklı hücresel mekanizmalar içerir.

4- Bu hücresel değişikliklerin oluşumunda ikincil haberciler rol alır.

5- Membran kanallarındaki değişiklikler öğrenme ve hafıza ile uyumludur.

6- Uzun dönemli hafıza yeni protein sentezi gerektirirken, kısa dönemli hafıza gerektirmez.

Öğrenme assosiyatif ve non-assosiyatif olmak üzere iki genel kategoriye ayrılır. Non-asosiyatif öğrenme, tek bir uyarı ile özellikleri öğrenme gerçekleşirken, asosiyatif öğrenmede iki uyarı veya olay arasında bağlantı kurulur. Assosiyatif

öğrenme klasik ve koşullu öğrenme olarak ikiye ayrılır. Klasik yahut Pavlov tipi öğrenmede, bir uyarı, birbiri arkasından arka arkaya verilir (54).

2.3.1. Asosiyatif Öğrenme

Bu öğrenme formu uyarı ve cevaplar arasında ilişki kurulmasına dayanan ve günlük öğrenme aktivitelerini içeren geniş bir kategoriye sahiptir (54).

a- Şartlı refleks (klasik koşullanma): Asosiyatif öğrenmenin en klasik örneğidir. Tek başına cevap oluşturmeyen (şartlı) bir uyarının cevap oluşturan (şartsız) başka bir uyarı ile tekrarlayıcı bir şekilde verilmesi durumunda bir süre sonra tek başına verildiğinde cevap oluşturmaktadır. Başka bir ifade ile organizmanın bir tip uyarıyı diğeriyle eşleştirmeyi öğrenmesidir. Klasik koşullanmada şartlı ve şartsız uyarı arasındaki zaman önemlidir. Bu süre ortalama 0,5 saniye olmalıdır ve şartlı uyarı mutlaka şartsız uyarıdan önce gelmelidir (55). Bu tip öğrenme ilk olarak Rus fizyolog ve psikolog Ivan Pavlov tarafından tanımlanmıştır. Pavlov şartlı refleks deneyinde tekrarlayan uygulamalar şeklinde önce zil çalınması ardından et verilmesi ile salya salgılanmasına şartlandırılmış bir köpekte belirli sayıdaki tekrardan sonra sadece zil sesinin de salya salgılanmasını uyardığını göstermiştir. Besinin ağza alınması salyanın salgılanması için fizyolojik bir uyarıdır. Bir süre sonra sadece zil sesinin duyulmasının salya salgılanmasını uyarması koşullu bir reflekstir ve bu tip öğrenme işlevinde serebral korteks devrededir (56).

b- Operan şartlandırma (enstrümental koşullanma): Bir ödül ya da bir ceza karşılığında bazı görevlerin yerine getirilmesinin öğrenilmesidir. Klasik şartlanmada iki farklı uyarı arasındaki ilişki öğrenilirken, burada davranış ve onun karşılığı arasındaki ilişki öğrenilir. Davranış ve karşılığı arasındaki zaman önemlidir (57). Davranış karşılığında ödül verilmesi davranışın tekrarlanmasını kolaylaştırıcı pozitif pekiştirici bir unsur iken, ceza/ağrı, acı uygulanması negatif bir pekiştirici olarak o davranıştan uzaklaşmayı sağlar (58). Bu koşullanma klinikte istenmeyen durumun düzeltilmesi için kullanılır. Örneğin kronik alkoliklere, alkol alımı ile birlikte emetik verilerek alkol alımı ile birlikte bulantı ve kusma duyguları eşleştirilir. Böylece kişinin alkol alımı engellenebilir.

2.3.2. Non-asosiyatif Öğrenme

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

a.Habitüasyon (kanıksama): Önemsiz uyarılara karşı oluşan motor yanıtın giderek azalması ve hatta yok olmasıdır. Bu tip öğrenmede; canlıda iyi veya kötü bir etki oluşturmeyen hafif veya düşük frekanslı tekrarlayan bir uyarı presinaptik uçta giderek daha az Ca^{2+} kanalının açılmasına, uyarı frekansı düşük olduğu için açılanların da kapanmasına ve böylece daha az nörotransmitter salınımına yol açar. Bu da giderek motor nöron yanıtını azaltır.

b.Sensitizasyon (duyarlılaşma): Canlının normalde cevap vermeyeceği nötr bir uyarana, başka bir duysal uyarının eklenmesi halinde, cevap vermesidir. Duyarlılaşmaya, "bir annenin uykuda iken diğer sesleri duyamadığı halde, çocuğunun ağlamasını duyması" örnek olarak verilmektedir.

2.3.3. Refleksif Öğrenme

Sözel ve sembolik zeka gerektirmeyen sadece el ve fiziksel beceri kullanılarak oluşturulan öğrenme şeklidir (59).

2.4. UZUN DÖNEMLİ GÜÇLENME

Timoty Bliss ve Terje Lomo, 1973 yılında tavşan hipokampuslerinde Uzun Dönemli Güçlenme (UDG)'yi göstermişlerdir (60). Perforan yola yüksek frekanslı uyarı (YFU) verilmesini takiben DG' de uzun dönemli güçlenme (hücre dışı alan potansiyeli) görülmüştür. Başlarda UDG' nin sadece hipokampüste olduğu düşünülürken şu an beyincik, neokortikal bölgeler, amigdala gibi subkortikal ve periferik sinir sisteminde de UDG bulguları elde edilmektedir (54).

En çok çalışılan sinapslardan biri olan schaffer kollateralleri, CA3' ten CA1' e giden nöronlardan oluşur. Bu yola ulaşan elektrik uyarıları aksonlarda aksiyon potansiyeli oluşturur ve oluşan aksiyon potansiyelleri sinaptik terminale yayılır. Sonuç olarak birçok afferent sinir terminalinde salınan nörotransmitterler post-sinaptik hücrede birikmiş EPSP' lere neden olur. Oluşan bu EPSP' ler ekstrasellüler olarak kayıt edilebilir. Bazal bir uyarı protokolünün ardından verilen YFU, EPSP artışlarına neden olur. Ancak burada iki farklı durum vardır. EPSP durumunun 90 dakikaya

kadar oluşturulması durumunda erken-UDG teriminden bahsedilirken, 90 dakikadan uzun durumlarda geç UDG tanımı kullanılır (54). CA3-CA1 sinapsları kooperatif, girdi özgüllüğü ve asosiyatif özelliklere sahip UDG formları sergiler (61, 62). Kooperatif tanımı, UDG indüklenme olasılığının uyarılan afferent sayısı ile ilgili olduğunu ifade eder. Daha az sayıda afferentin uyarılmasına neden olan zayıf YFU genellikle UDG indüklenmesinde başarısızdır. Tersine güçlü YFU daha fazla aksonun uyarılmasını ve kooperatif olarak UDG' nin indüklenmesine neden olur. Asosiyatif tanımı, iki farklı aksonal girdinin aynı post-sinaptik hedefe konverjans göstermesini ifade eder ve iki uyarı yolağı arasındaki ilişkiyi değerlendirir. Eğer belirli bir sinapta UDG indüklenirse, bu uyarım yakınındaki sinapslarda zayıf aktivasyonu kolaylaştırabilir fakat zayıf uyarım kendi başına UDG' yi indüklemek için yeterli değildir. Girdi özgüllüğünün anlamı UDG oluşumunun yalnızca tetanik uyarı olan bölge ile sınırlı olmasını ifade eder. Yani belirli bir sinapta UDG oluştuğunda yakınındaki diğer sinapslarda UDG oluşmaz (54).

1949 yılında Kanadalı fizyolojist Donald Hebb, sinaptik değişikliklere neden olan koşullarla ilgili UDG' nin altında yatan mekanizmayı açıklamaya çalışmıştır (63). Hebb' e göre A nöronun aksonu B hücresinin sürekli ve kalıcı ateşlenmesinde rol alıyorsa hücrelerin birinde veya her ikisinde öyle metabolik değişiklikler meydana gelir ki, B' nin ateşlenmesinde rol alan A' nın verimliliğinde bir artış olur. Yani sinaptik olarak eşlenmiş iki nöronun rastlantısal olarak aktivitesi ikisi arasındaki sinaptik bağlantının güçlenmesine sebep olur (Cells that fire together, wire together) (54).

CA3-CA1 sinapsları Hebb kurallarına uyar. Ancak UDG' nin tüm formları Hebb kurallarına uymaz. Örneğin hipokampüsteki CA3-Mossy bağlantıları ve beyincikteki purkinje sinapsları non-hebbiean UDG formlarına sahiptir ve kooperatiflik, asosiyatiflik ve girdi özgüllüğü özellikleri evrensel değildir (54).

2.4.1. Uzun Dönemli Güçlenme İndüksiyonu

Kalıcı sinaptik güçlenme için birçok mekanizma ve ikincil haberci yolları mevcuttur. Genel olarak kabul edilen UDG indüksiyonu pre ve post sinaptik hücrelerin intrasellüler Ca^{+2} artışına bağlı olduğudur. Burada iki majör yolak rol oynar (54).

1-İyonotropik GLURs (özellikle NMDAR) ile Ca^{+2} girişi

2-Voltaj kapılı kalsiyum kanalları ile Ca^{+2} girişi.

NMDA Bağımlı Uzun Dönemli Güçlenme

Birçok farmakolojik çalışmada NMDA antagonisti D-AP5 veya NMDA kanal blokörü verilmesi ile UDG indüksiyonu engellendiği gösterilmiştir (64). NMDA' nın Ca^{+2} geçirgenliğine sahip olması Hebb tipi sinapslarda rol almasına neden olur. Çünkü post-sinaptik Ca^{+2} , UDG indüklemeye kritik rol alır. Kanalin açılması glutamat salınımına bağlıdır. Normal dinlenim potansiyelinde NMDA reseptörü, magnezyum (Mg^{+2}) iyonu ile bloke durumdadır. Ancak post-sinaptik membrana yeterli miktarda uyarı ulaşması ile bu blokaj kalkar. NMDA kanalı post-sinaptik depolarizasyon ve presinaptik glutamat salınımı kombine halde olursa Ca^{+2} girişine izin verir (54).

Post-sinaptik nöronda aynı zamanda AMPA reseptörleri bulunur. AMPA, Mg^{+2} blokajına sahip değildir ve göreceli olarak daha az Ca^{+2} geçirgenliğine sahiptir ve voltajdan bağımsızdır. Glutamat dendritik çıkıntıda AMPA ve NMDA reseptörlerinin her ikisini birden etkiler. Post-sinaptik hücre dendrit çıkıntısından içeri giren Ca^{+2} muhtemelen NMDA reseptörüne çok yakın bir yerde Ca^{+2} artışına ve UDG indüksiyonunda anahtar rol oynayan Kalmodulin Kinaz 2 (CAMK-2) gibi Ca^{+2} bağımlı enzimlerinin aktive olmasına neden olur (65).

NMDA Bağımsız Uzun Dönemli Güçlenme

Birçok sinapta NMDA gerekli olmadığı gösterilmiştir (66, 67). Örneğin Aminofosfonopentenoik asitin (APV) kompetitif antagonisti bulunduğu ortamda klasik Hebb kurallarına uyan schaffer kollaterallerinde NMDA bağımsız UDG oluşturduğu gözlenmiştir. NMDA bağımsız UDG' nin oluşumu göreceli olarak yavaştır (20-30 dakika) ve voltaj kapılı Ca^{+2} kanal blokörü ile bloke edilebilir. Erken-UDG ve geç-UDG için CA3-CA1 sinapslarında post-sinaptik nöronda Ca^{+2} artışı gereklidir. Ancak geç-UDG için ek şeyler gerekir. CA1 nöronlarında Ca^{+2} artışı adenil siklaz aktivasyonuna ve cAMP artışına ve sonuç olarak Protein Kinaz A (PKA) aktivasyonuna neden olur. Geç-UDG indüksiyonu için ayrıca MAPK aktivasyonu gereklidir. CA1 nöronlarındaki MAPK aktivasyon mekanizmaları açık

değildir. Sonuç olarak geç-UDG indüksiyonu PKA ve MAPK bağımlı cAMP sorumlu element bağlayıcı proteinin (CREB, Cyclic-AMP response element binding protein) fosforilasyonuna neden olur. CREB sorumlu genlerin artışı sinaptik değişikliklerin altında yatan protein sentezini açıklar (65).

2.5. UZUN DÖNEMLİ BASKILANMA

Hipokampüste YFU (4 kez 10 şok 100hz) ile klasik UDG oluşumu indüklenirken Düşük Frekanslı Uyarı (DFU, 1hz 10 dakika) ile UDB oluşumu indüklenir. Bazı UDB formları NMDA aracılığı ile gözlenir, bu formlar AMPA subunitlerinin defosforilasyonuna bağlıdır. Burada iletimlerin, AMPA endositozunun ve yüzeydeki sayısının azalması ile sinaptik etki azalır. NMDA bağımsız UDG beyincikteki purkinje liflerinde gözlenir ve purkinje hücrelerinde metabotropik glutamat reseptör aktivasyonu ile artan hücre iç kalsiyumu ile UDG indüklenir. Schaffer kollaterallerinde UDG ve UDB' nin Ca^{+2} şelatörü enjekte edilerek bloke edilmesi akıllara hem UDG hem UDB' nin her ikisinin de Ca^{+2} girişi ile indüklenmesinin farkını getirmiştir. John Lisman modelinde, yüksek kalsiyumun protein kinazları aktive ederek protein fosforilasyonuna ve buna bağlı UDG' ye neden olduğu, orta düzeyde kalsiyumun ise protein fosfotazları aktive ederek ve proteinlerin defosforilasyonuna neden olarak UDB' yi oluşturduğu bildirilmiştir (65).

Daha sonraki çalışmalarda UDG ve UDB' nin tersine çevrilebilir olduğu görülmüştür. Eğer YFU ile güçlendirilmiş bir sinapsa tekrar DFU uygulandığında sinaptik güç azalır, buna depotansiyasyon denir, tam tersi DFU ile deprese edilmiş bir sinapsa YFU uygulanırsa sinaptik güç artar, buna dedepresyon denir. Tüm bu protokollerin her birinin mekanizması birbirinden farklıdır (65).

2.6. HAFIZA

İnsanoğlunun en karakteristik özelliği deneyimlerine bağlı olarak davranışlarını değiştirebilme yeteneğine sahip olmasıdır. Bu, öğrenme denilen süreç ile başlar ve hafıza ile köklü bir yapıya sahip olur. Hafıza sinir sisteminin temel özelliklerinden birisidir ve bütün majör mental süreçlerin yöneticisi konumundadır. İnsan geçmişindeki olayları gözünde canlandırabilir ve geçmişteki hatıralar insan kişiliğinin temelini oluşturur. İnsanın şu anki hareketlerinin tümü geçmişteki

hafızanın ürünüdür. Ve şu anki olaylar muhtemel geleceğin belirleyicisi olacaktır (68).

Hafıza depolanma zamanına göre 3 kategoriye ayrılır.

1-Duyusal hafıza

2-Kısa süreli hafıza

3-Uzun süreli hafıza

2.6.1. Duyusal Hafıza

Dış dünyadaki uyaranlarla aktive olan duysal reseptörler, bu bilgileri beyine ulaştırır ve geçici olarak duysal hafızada depolanır. Bu süreç 100-200 milisaniye ve 1-2 saniye arasında süreye sahiptir. Duyusal hafızaya alınan bilgiler ya tamamen silinecektir ya da kısa dönemli hafızaya alınacaktır. Buradaki süreçte karar noktası; dikkat ve bilinçli algılama seviyesidir. Örneğin dağların arasında uzanan bir göl manzarasını izlerken gölün kenarındaki çiçeklerin renklerine dikkat edildiğinde kıyıdaki kayık gözden kaçabilecektir. Aslında kayığın görüntüsü retinaya ulaşmıştır. Ancak biz kayığın görüntüsünü hafızamıza kaydetmemişizdir. Yani kayık bizim bilinçli algımızı tetikleyememiştir (68).

2.6.2. Kısa Dönemli Hafıza

Kısa dönemli hafızada aynı duysal hafıza gibi ya tamamen silinecektir ya da uzun dönemli hafızaya dönüşecektir. Örneğin bir telefon numarasına baktığımızda bu numara geçici olarak hafızamızda depolanır. Ve işimiz bittiğinde bu numara hafızadan tamamen atılır (Bilinçli bir çaba ile numara ezberlenmeye çalışılırsa uzun dönemli hafızaya alınır). Kısa dönemli hafızanın süresi 10-12 saniye arasındadır. Çalışmalar bu süre içinde aklında tutabilecek sayıyı 7 ± 2 olduğunu gösterir. Kısa dönemli hafızanın geleceğini belirleyen, gözlemcinin gösterdiği dikkattir (68).

Çalışma Belleği (Working Memory)

Kişinin çoklu bir görevi yerine getirmesi gerektiği zaman biraz daha fazla hafıza alanı, zaman ve organizasyon gerekir. Örneğin bir öğrenci hem öğretmenini dinleyip hem de not alırken, öğretmeni dinleme, tahtaya bakma ve yazma işini aynı zamanda

yapması gerekir. Bu kişinin hafızası birçok duyuşal sinyali işleyip duyuşal ve motor becerilerle organize etmesi gerekir. Bu hafızaya çalışma belleği ismi verilir.

Çalışmalar kişilerin kompleks bir problemi hatırlaması istendiğinde prefrontal korteksin (PFC) aktive olduğunu göstermiştir. Bu durum hafızalar arasında bilgi akışının yönetici konumunda PFC olduğunu düşündürür. Bu yönetici bölge kısa dönemli hafıza ile çalışma belleği arasındaki ilişkiyi düzenler ve neyin unutulup neyin hatırlanacağına karar verir ancak altında yatan mekanizmalar hala açık değildir (68).

2.6.3. Uzun Dönemli Hafıza

Burada kişi kısa süreli hafızasına aldığı bilgileri unutmamak için bilinçli bir çaba göstermelidir. Uzun dönemli hafızaya alınan bilginin saklanma süresi günler, haftalar, aylar veya bir ömür boyu sürebilir. Bu yüzden uzun dönemli hafıza limitsizdir. Bilginin saklanma süresi gibi uzun dönemli hafıza deposunun da sonsuz olduğu söylenebilir.

Uzun dönemli hafızanın nerede depolandığı tam olarak bilinmemektedir. Ancak bu depolama için beyinde özel bir alanın olmadığı düşünülmektedir.

Uzun dönemli hafıza ikiye ayrılır

A-Deklaratif Hafıza (Explicit Memory)

Kişi, gün sonunda sabah kahvaltısında ne yediğı, hangi kıyafeti giydiğı, gazetede ne okuduğı gibi gün boyu yaşadığı olayları hatırlayabilir. Aynı zamanda kişi kendi ve diğer insanların doğum gününü hatırlayabilir. Tüm bu hatıralar bilinçli zihne ulaşır ve kişi bu hatıraları tanımlayabilir. Bu hafızaya deklaratif veya açık hafıza denir. Bu hafıza formunda kişi hatırladıklarının farkındadır ve hatırlamak için bilinçli bir çaba gösterir. Hatırladıklarını kelimelerle kolayca tarif edebilir. Deklaratif hafıza kendi içinde ikiye ayrılır;

Epizodik hafıza

Epizodik hafıza kişisel deneyimlerle ilişkilidir (otobiyografik olarakta adlandırılır). Sabah yapılan kahvaltı, giyilen elbise gibi. Bu hafızanın saklanma süresi verilen

dikkatle orantılıdır. Kişi yıllar önce arkadaşının evinde yediği yemeği hatırlayabilir. Hipokampus epizodik hafızanın oluşturulmasında temel yapıdır. Amnezi, epizodik hafızanın hatırlanmasında yetersizlik durumudur. Korsakoff psikozu olarak adlandırılan ve kronik alkolik (B1 eksikliği) insanlarda ortaya çıkabilen bir anterograd amnezidir. Kişi geçmiş hatıraları hatırlayabilir ancak yakın hatıralar kaydedilemez.

Semantik hafıza

Semantik hafıza kelimelerin anlamını ifade eder. Kavramsal bir bellektir ve bireyin sözcüklere anlam yüklemesini sağlar. Örneğin çocuğa tebeşir ve tahta verdiğinizde onunla yazmak yerine ilk önce onunla oynar ve bu maddelere aşına hale gelir. Tebeşirin rengi ve şekliyle ilgili bir hafıza oluşturur ki bu hafıza epizodik hafızadır. Ve ardından çocuğa bu maddelerin isminin tebeşir ve tahta olduğunu ve nasıl kullanıldığını öğrettiğinizde semantik hafıza başlamış olur. Semantik hafızanın amacı epizodik hafızaları türlerine göre işlemek ve sınıflandırmaktır. Medial temporal lob ve dorso-frontal lob semantik hafızada önemli rol alır.

Semantik hafıza insan zekasının önemli bir parçasıdır. O olmadan kelimeler hatırlanabilir ancak anlamları bilinemeyeceği için kelimeleri hatırlamanın bir anlamı olmayacaktır. Progresif nörolojik bir bozukluk olan Alzheimer hastalığında kelimelerin anlamlarını uzun dönemli hafızadan çağırmada zorluklar vardır. Örneğin hastalığın orta evrelerinde, kişi çoban köpeğinin ismini unutabilir. Hastalık ilerledikçe onun sadece köpek olduğunu bilip, köpeğin türünü unutabilir. Ve hastalık şiddetlendiğinde kişi onun sadece bir hayvan olduğunu söyleyip köpek olduğunu unutabilir. Çünkü semantik hafıza, hafızayı türlere göre sınıflandırmaya yardım eder (68).

B.Motor Hafıza (İmplicit Memory)

İmplicit hafıza, non-deklaratif hafıza, motor hafıza veya prosedürel hafıza olarak isimlendirilir. Ve bu hafıza kelimelerle tarif edilemez. Bu hafıza formunda hatıranın bilinçli bir şekilde hatırlanmasına gerek yoktur. Örneğin gömleğin düğmelerini iliklerken, ayakkabı bağını bağlarken kişi bunları otomatik olarak yapar. Bisiklet sürmek ve yüzmekte aynı şekilde daha önceki motor öğrenmelere bağlı olarak

bilinçli bir çaba gerektirmez. İmplicit hafızada beyincik, bazal gangliyonlar ve motor korteksin rol aldığı bir sistem mevcuttur.

Hipokampus deklaratif hafıza için gerekli iken motor hafıza için gerekli değildir. Ancak unutulmaması gereken motor hafıza oluşturmak için öncelikle deklaratif hafıza oluşturulmalıdır. Yani ilk kez bisiklet sürmeyi öğrenirken hipokampus önemliyken sonraki aşamalarda sadece motor hafıza yeterli olacaktır (68).

2.7. ERİŞKİN NÖROGENEZ

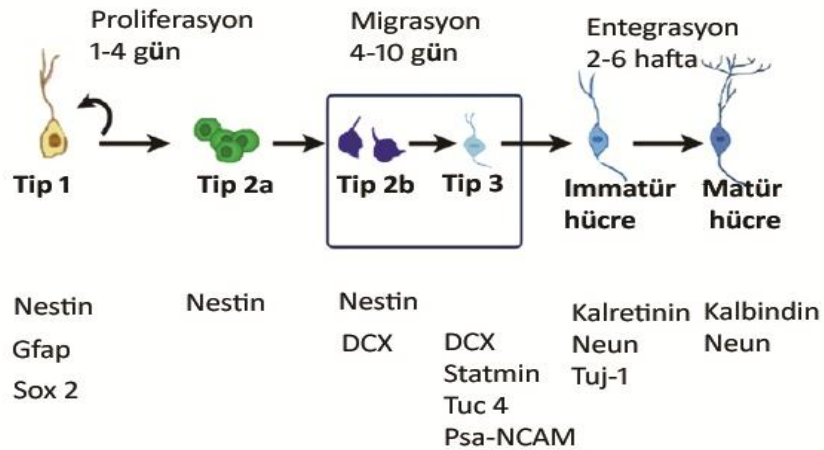
Erişkin nöroenez süreci projenitör hücrelerin proliferasyonu, hayatta kalması ve olgunlaşmasını içerir. Nöroblastların integrasyon alanlarına göçü ve nöronal döngüye katılma süreçleri her bir seviyeye özel belirteçler ile tanımlanabilir. Nöroenezin tüm seviyelerinde projenitör hücrelerin gelişimi, hücre içi ve niş aracılı faktörler ile düzenlenir. Yetişkin nöroenez dış çevrenin yanı sıra hormonal, niş çevresindeki nörotransmitter ve büyüme faktörlerine karşı oldukça hassastır. Yetişkin memeli beyinde primer nörojenik nişler hipokampus dentat girus bölgesinin subgranüler tabakasında (SGZ) ve lateral ventrikül boyunca uzanan subventriküler bölgelerde (SVZ) yer alır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda tiroid hormonunun SGZ ve SVZ bölgesinde bulunan nörojenik nişlerdeki projenitör hücre gelişimi üzerine güçlü etkisi rapor edilmiştir. Yetişkin nöroenezinde tiroid hormonlarının etkisini anlamak için tiroid hormon seviyesi bozuklukları ve TR izoformuna özgü mutasyonlar kullanılmıştır. Bu süreçte tiroid hormonun yetişkin nöroenez üzerine etkilerini anlamada ilerleme kaydedilirken tiroid hormonunun nörojenik nişteki projenitörlerin ve komşu hücrelerin hedef genleri ve moleküler mekanizmaları henüz açıkça tanımlanamamıştır (69).

2.7.1. Hipokampüste Nöroenez

DG'nin subgranüler tabakasındaki hipokampal projenitör hücreler nöroblastları oluşturur. Bu hücreler yakın mesafede bulunan granüler tabakaya göç ederken granül hücrelerine dönüşmek üzere olgunlaşır ve hipokampal nöron ağına fonksiyonel olarak entegre olurlar (70). Kemirgenlerin SGZ nörojenik nişinde günlük 9000 projenitör hücrenin doğduğu ve bunların sadece yarısının 2-3 haftalık süre boyunca hayatta kaldığı tahmin edilir. Projenitör havuzunda hayatta kalanlarında yaklaşık

%85' i granül hücreleri oluşturmak üzere granül hücre tabakasına göç eder. Geride kalan projenitör hücrelerin astrositik karakter kazandığı düşünülmektedir (69, 71).

Hipokampal projenitör hücrelerin gelişimi, aşamaya özel belirteçlerin ekspresyonu ile tanımlanabilir. Tip 1 hücre olarak ifade edilen kök hücre, radial glial benzeri hücreler gibi glial fibriler asidik protein (GFAP), ara (inter-mediate) filament olan nestin, transkripsiyon faktörleri ve kök hücre markeri SOX2 eksprese eder. Asimetrik hatlar oluşturarak bölünen kök hücreler GFAP ve SOX2 eksprese etmeyen ama hala nestin ekspresyonunu koruyan Tip 2a hücrelerine dönüşür. Nispeten daha hızlı bölünen Tip 2a hücreleri, doublecortin (DCX) ve nestin eksprese eden Tip 2b hücrelere dönüşür. Tip 2b hücrelerin sınırlı hücre bölünmesi kabiliyetini muhafaza ettiği bildirilmiştir (72). Tip 2b hücreleri granüler hücre tabakasına göç eder ve nestin ekspresyonunu kaybederek DCX pozitif Tip 3 hücrelerine dönüşür. Tip 3 hücreleri ayrıca Stathmin (STMN) ve Tuc-4 işaretleyicileri yanısıra polisialite nöral hücre adezyon molekülleri (PSA-NCAM) eksprese eder. DCX pozitif immatür nöronlar TUJ-1(beta 3 tubulin), neuronal nüklei (NEUN) ve kalbindin immün-pozitif olan matür granül hücrelerini oluştururken geçici olarak kalretinin eksprese ederler. Hipokampal projenitör hücrelerin DG nöral döngüsüne fonksiyonel olarak entegre olup matür granül hücrelerine olgunlaşma süreci 4-6 hafta sürebilir (70).



Şekil 2.8 Nörogenez aşamaları ve işaretleyicileri

Yeni nöronların oluşumunu veya bölünen hücreleri göstermek için kullanılan metotlar DNA' ya işaretlenebilir bir belirtecin entegre olması üzerinedir. İlk nörogenez çalışmaları tritiated 3H timidin enjekte edilerek ve bu molekülün

radıyografık olarak izlenmesi ile başlamıştır (73). 1990' lı yıllarda başka bir timidin analogu olan ve immüno-histolojik olarak saptanabilen 5-Bromo-2-deoxyuridine (BrdU) geliştirilmiştir (74). BrdU intra-peritoneal kaviteye bolus olarak enjekte edilerek uygulanır. Dışarıdan uygulanmış bu DNA bazı, timidinın yerine geçtiği için sadece bölünen hücrelere spesifiktir (75). Tüm dünyada yaygın bir şekilde kullanımına rağmen potansiyel toksisite, histolojik kısıtlamalar ve non-spesifik olması nedeniyle ideal bir belirteç olmadığı ve kullanımında dikkatli olunması gerektiği bildirilmiştir (76). Özellikle yaşlı hayvanlarda kan beyin bariyerinin BrdU' nun geçişini engelleyebileceği rapor edilmiştir (71).

Ki-67 proteini 1983 yılında Hodgkin's lenfoma hücre hattında nükleer bir protein olarak tespit edilmiştir (77). Ki-67 kelimesi ismini bulunduğu şehir (Kiel, Almanya) ve 96 oyuklu orijinal klondaki numarasından alır. Ki-67 hücrenin dinlenme fazı (G0) hariç hücre döngüsünün tüm aşamalarında görülebilen monoklonal bir antikordur (78). Ki-67' nin nükleer olarak ekspresyonu tümör proliferasyonunu immüno-histokimyasal olarak değerlendirmede kullanılır (77). Bir saat gibi kısa bir yarılanma ömrüne sahiptir. DNA tamir süreci ve sessiz hücrelerde saptanamaz. BrdU' nun DNA' ya entegre olması mitozun S fazında olurken Ki-67' nin tüm aşamalarda rastlanması dentat girusta Ki-67 pozitif hücrelerin BrdU pozitif hücrelerden %50 daha fazla görölmesine neden olur (78).

2.7.2. Tiroid Hormonlarının Nöroenez Üzerine Etkisi

Tiroid hormonlarının hipokampal nörojenik nişe etkisi ilk olarak sıçanlarda tiroidektomi veya guatrojen tedavi ile oluşturulan tiroid hormon seviyesinde bozulma modeli çalışmalarına dayanır (69). Sıçanlarda guatrojenle indüklenmiş adult başlangıçlı hipotiroidide, projenitör hücrelerin hayatta kalma süresi ve nöronal diferansiyasyonun azaldığı gösterilmiştir. Adult hipotiroid sıçanların hipokampal nörojenik nişlerindeki apoptotik hücrelerin sayısındaki artış projenitör hücrelerin hayatta kalma süresini kısalma ile birlikte gözlenmiştir. Projenitör hücrelerdeki hayatta kalma süresinin kısalması, DCX, PSA-NCAM ve Nöronal differansiyon 1 (Neuro D) gibi immün pozitif hücre sayısındaki azalmayı da beraberinde göstermiştir. Aksine, yetişkin sıçanlarda hipertiroidizm hipokampal hayatta kalma süresi, proliferasyon ve diferansiyasyonda herhangi bir değişikliğe yol açmamıştır

(79). Başka bir çalışmada adult sıçanlarda, tiroidektomi sonrası DCX+ immatür nöron sayısı ve dendritik kompleksitede azalmayla birlikte hipokampal projenitör proliferasyonunda azalma gözlenmiştir. Bu sonuçlar zorunlu yüzme testinde hareketsizliğin artmasıyla kanıtlanan depresif fenotiple uyumludur. Ancak bu sıçanlarda yeni obje tanıma testinde kognitif performans etkilenmemiştir (80).

Çalışmaların tümünde adult hipotiroidiyi takiben hipokampal nörogenezde azalma olduğu sonucuna varılmasına rağmen tiroid hormon bozukluğundan etkilenmenin hangi aşamada olduğu hakkında fikir ayrılıkları vardır. Transjenik fare modelleri tiroid hormonlarının adult hipokampal projenitör gelişime etkisini çalışmayı mümkün kılmıştır. Transjenik nestin-yeşil floresan protein (GFP-green fluorescent protein) farelerde tiroid hormon bozuklukların Tip 1, Tip 2a ve Tip 2b hipokampal projenitör hücrelere etkisi üçlü immün-floresan yaklaşımlarla ayırt edilebilir. Adult başlangıçlı hipotiroidizm hipokampal projenitör hücre gelişiminin proliferatif evrelerine (Tip1, Tip 2a, Tip 2b) denk gelen nestin-GFP pozitif hücre havuzunda herhangi bir değişikliğe yol açmamıştır (81). Bununla birlikte hipotiroid fareler hipokampal projenitörlerin post mitotik yaşam süresini ifade eden DCX ve Neuro D pozitif projenitörlerde belirgin bir düşüş görülmüştür. Bu bulgular adult hipotiroidinin Tip 2b ve Tip 3 hipokampal projenitör hücreleri hedeflediğini ve hipokampal projenitör gelişiminin post-mitotik evrede tiroid hormon seviyesine duyarlı olabileceğini öne sürmüştür (69).

2.8. SELENYUM

Bir eser element olan selenyum (Se) 1817 yılında İsveçli kimyager Berzelius tarafından keşfedilmiş ve yunan ay tanrıçası olan Selene' nin ismi verilmiştir. İki yüz yılın ardından bugün selenyumun insan sağlığı için önemi geniş bir şekilde tanımlanmıştır. Se özellikle antioksidan aktivitesi ve terapötik açıdan kemo-protetik, anti-inflamatuar ve anti-viral özellikleri ile bilinir. Ko-faktör formunda proteinlerle etkileşimde bulunan diğer metal elementlerden farklı olarak Se, polipeptid zincire selenosistein (Sec) aminoasidin bir parçası olarak katılır. Se araştırma alanında Sec genetik olarak kodlanan 21. aminoasit olarak belirlenmesine rağmen eğitim kitaplarına henüz girmemiştir. Sec' in en dikkat çekici özelliği çoğu durumda sonlandırma kodonu olarak bilinen UGA kodonuna sahip olmasıdır (82).

Poliipeptid zincirlerinde Sec içeren proteinlere selenoproteinler adı verilir. İnsan selenoproteinleri benzer fonksiyonlara sahip birçok gene sahip 17 selenoprotein ailesi içerir. Bunlar glutatyon peroksidaz (GPx, 5 gen), tiyoredoksin redüktaz (TRx, 3 gen), iyodotironin deiyodinaz (DİO, 3 gen) ve selenofosfat sentetaz 2 (SPS2)' dir. Geriye kalan selenoproteinler alfabetik olarak adlandırılırlar (Sep15, SeIH, SeIL, SeIK, SeIM, SeIN, SeIO, SeIP/SepP, SeIR, SeIS, SeIT, SeIV ve SeIW). Bu proteinlerden yalnızca GPx, TRx, DİO ve SPS2 ayrıntılı bir şekilde tanımlanmıştır (82).

2.8.1. Selenyum Metabolizması

Selenyumun hayvanlara giriş noktası, inorganik formunu topraktan absorbe eden bitkilerdir. Global olarak bakıldığında topraktaki Se varlığı bölgesel farklılıklar gösterir. Birleşik Devletlerin güneybatısındaki volkanik ve asit toprakları bulunan bölgede düşük Se içeriği gözlenmiştir (83). Yiyecek üretimini lokal olarak yapan ve bu tür bölgelerde yaşayan insan ve hayvanlarda Se eksikliğine bağlı hastalıklar bildirilmiştir. Bitkilerde Se metillenmiş düşük moleküler ağırlıklı selenyum formlarına ve selenometiyonin (SeM) ile selenosistein (Sec) aminoasitlerine dönüşür. SeM tahıl ürünlerinde, baklagillerde ve soya fasulyesindeki majör bileşiktir ve hayvanlarda Sec sentezi için prekürsör görevi görür. Biyolojik sistemlerde Sec, sistein analogu olarak görülür ve selenyumun en aktif formudur. Sec ve sistein arasındaki temel fark; fizyolojik pH koşullarında, selenosisteinin selenol grubu iyonize formda ve daha aktif durumdayken sisteinin thiol grubu ise kararlı durumda ve daha az aktiftir (84). Se bileşikleri redoks tepkimelerine girme ve daha indirgenmiş duruma metabolize olma özelliğine sahiptir. Selenyumun organizma üzerine etkisi konsantrasyon bağımlıdır. Nanomolar, mikromolar aralıklarda antioksidan aktivite için esansiyelken yüksek konsantrasyonlarda pro-oksidan hale gelir. Yüksek konsantrasyonlarda Se bileşikleri birikir ve hücre içi thiol redoks tepkimeleri ile oksidatif strese, hücre hasarına ve toksik etkiye sebep olur (82).

2.8.2. Selenyum ve Sağlık

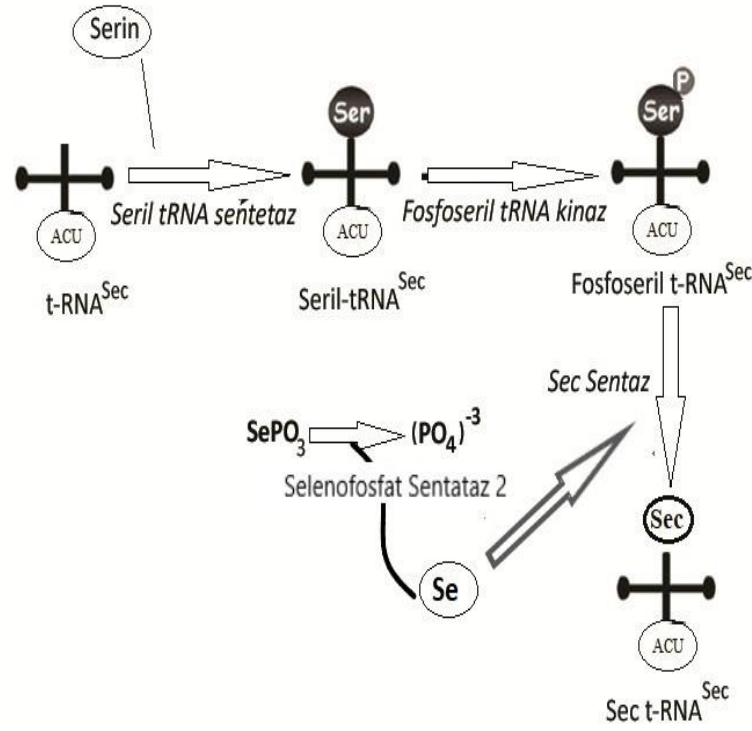
Selenyumun fizyolojik rolü, selenoproteinlerdeki varlığı ile ilişkilidir. Örneğin en önemli hücresel süreçlerden biri olan DNA sentezinde rol alan TRx' in katalitik bölgesinde Se bulunur (82). Orta seviye Se eksikliğinde kanser ve infeksiyon

riskinde artış, erkek infertilitesi, immün ve tiroid fonksiyonlarında azalma, Alzheimer ve Parkinson hastalıklarını içeren birçok nörolojik bozukluk görülür (85). Çocuklarda ve toprak Se seviyesi düşük olan Çin'in bazı endemik bölgelerinde yaygın olarak görülen Keshan hastalığı kardiyomiyopatilerin ölümcül bir formudur. Coxsackie B virüsünün bu hastalığı tetiklediğine inanılır (86). Dikkat çekici bir şekilde bu hastalık Se takviyesi ile tamamen geri çevrilebilir veya koruyucudur. Buna rağmen bu koruyucu etkiyi nasıl sağladığı bilinmemektedir. Miksödematöz kretinizm, Se ve iyodin eksikliği, mental ve büyüme geriliği ile karakterize bir hastalıktır. Se eksikliğinin GPx ve DİO enzim aktivitesinde azalmaya neden olduğuna, hidrojen peroksit (H₂O₂) birikiminin tiroid bezine hasar verdiğine ve tiroid hormon metabolizmasında bozulmaya neden olduğuna inanılır (82, 87).

Son yapılan çalışmalar Avrupa ve dünyanın diğer bölgelerinde diyetle alınan Se miktarının tavsiye edilenin altında olduğunu göstermiştir (88). Diğer ülkelere göre diyetle alımı yüksek olan Birleşik Devletlerde tavsiye edilen miktar 55 µg/gündür. Selenyumun diyetle alımı daha az olan İngiltere' de tavsiye edilen miktar ise erkekler için 75 µg kadınlar için 60 µg' dır (89). Bu miktarların belirlenmesinde GPx' in optimal enzim aktivitesi için gerekli miktar değerlendirilir. Ancak son çalışmalarda selenoprotein P (SepP)' nin selenyumun nutrisyonel olarak değerlendirilmesinde daha iyi bir indikatör olacağı tavsiye edilmiştir (82, 90).

2.8.3. Selenosistein Biyosentezi

UGA, UAA ve UAG kodonları protein sentezini sonlandıran kodonlardır. Ancak mitokondri de UGA kodonu triptofanı kodlarken, nükleer genomda UGA selenosisteini kodlar. Böylece UGA kodonu okunması ile oluşan Sec genetik olarak kodlanmış 21. aminoasit olarak kabul edilir. Genetik koddaki diğer 20 aminoasitin tersine Sec ara madde olarak serin aminoasidi kullanarak kendi tRNA' sından sentezlenir (82).



Şekil 2.9 Sec tRNA sentezi

(Memeli hücrelerinde Sec sentezi Serinin Sec-tRNA'ya bağlanması ile başlar.Oluşan seril-tRNA fosfoseril tRNA kinaz enzimi ile fosforillenir ve fosfoseril t-RNA oluşur.Selenid monoselenofosfata dönüşür, bu reaksiyonda açığa çıkan Se, Sec sentaz enzimi ile Sec t-RNA'yı oluşturur. Oluşan bu son ürün selenoproteinlerin yapısına katılmak için protein sentezinde büyüyen polipeptid zincirine ilerler. *Antioxidants & Redox Signaling*, Volume 9, Number 7, 2007© Mary Ann Liebert, Inc.p.778,DOI: 10.1089/ars.2007.1528)

Sec biyosentezi Sec tRNA' ya serinin bağlanması ve seril-tRNA sentetaz enzimi ile başlar (Şekil 2.9). Fosfoseril tRNA kinaz ile fosforillenen kompleks fosfoseril tRNA'yı oluşturur. Selenofosfat sentetaz 2 tarafından sentezlenen selenofosfat daha sonra fosfoseril-tRNA'nın fosfatı ile yer değiştirir ve Sec sentaz ile selenosistein oluşur (82). Memeli genomu sec-tRNA geninin tek kopyasını içerir (Trsp). Bu genden unmetile form ve metile form olmak üzere iki sec-tRNA izoformu üretilir. Bu iki izoformun dokularda miktar ve dağılımı farklılık gösterir. Hatfield ve arkadaşları Trsp geninin komple kaybı ölümcül olduğu için şartlı ve transjenik fare modelleri oluşturmuşlardır (91). Memeli epitelinde şartlı Trsp gen kaybında GPx1, GPx4, Sep 15 selenoproteinlerinde önemli bir düşüş görülürken TRx1 seviyeleri fazla etkilenmemiştir (82, 92). Karaciğerde Trsp geninin kaybı hepatosellüler dejenerasyon ve nekroza neden olması selenoproteinlerin karaciğer fonksiyonlarında önemli bir rol oynadığını düşündürmüştür (93). Aynı genin eksikliğinde nöron hücrelerinde serebellar hipoplazi gibi şiddetli nörolojik bozukluklara, purkinje inter-

nöron hücrelerinde kayıplara, granül hücre sayısında azalmaya, glial hücre ağında zayıflamaya ve serebellar inter-nöron kaybına neden olduğu görülmüştür (82, 94).

SECİS Element

Sec-tRNA, selenosisteinin sentezi için gerekli ancak yeterli değildir. Sec kodonu okunması için sekonder olarak SECİS element ismi verilen RNA halka yapısı gereklidir. Ökaryotlarda SECİS elementi mRNA' nın 3' UTR (untranslated region) bölgesinde yer alır. Bazen UGA kodonundan birkaç kilobazlık uzaklıkta bulunur. SECİS elementi düşük sekans benzerliklerine sahip olmasına rağmen ikincil yapıları yüksek derecede korunmuş ve Sec' in birleşmesi için gerekli konsensus sekansları içerir (82).

2.8.4. Selenoproteinler

Tanımlanan 25 selenoproteine rağmen bunlarda yalnızca bir kaç işlevsel olarak karakterize edilmiştir. Bu selenoproteinlerin çoğu Sec aracılığı ile enzimatik redoks reaksiyonlarında rol alır. Peroksit hasarının azaltılması, redoks sinyal yollarının düzenlenmesi, tiroid hormon metabolizması, Se transport ve depolanması ve protein katlanması gibi fonksiyonlarda rol alır. Selenoproteinler, Sec rezidülerinin yerleşim yerine göre iki gruba ayrılır; birinci grup tüm tiyoredoksin redüktazları, Sel S, Sel R, Sel O ve Sel I içerir ve Sec C-terminal bölgesinde lokalizedir. İkinci grup ise geriye kalan diğer selenoproteinlerden oluşur ve N-terminal bölgesinde yer alır (82).

Tablo 2.1 Selenoproteinler

Tiyoredoksin redüktaz grubu	Oksidatif strese karşı kritik bir enzimdir. DNA sentezinde nükleotid redüksiyonu, redoks sinyali, Se metabolizması ve apoptozun düzenlenmesinde rol alır. Sitozolde, mitokondride ve testiste olmak üzere 3 izoformu bulunur.
Selenoprotein S (Sel S)	Endoplazmik retikulum stresinde ekspresyonu artar. Makrofajlardaki sitokin üretimini düzenlediği ve inflamatuvar cevapta rol aldığı düşünülmektedir (95, 96).
Selenoprotein R (Sel R)	Metiyonin R-sülfoksit redüktaz olarak bilinmektedir. Oksidize metiyonin rezidülerinin azaltılmasında rol alır. Aynı zamanda dört sistein molekülü aracılığı ile çinko bağlar. Lens hücrelerini oksidatif strese bağlı hücre hasarından koruduğu gösterilmiş ve katarakt oluşumunda rol alabileceği düşünülmektedir (97). Sel R aktivitesindeki azalmanın yaşam süresini kısalttığı, beyindeki yüksek seviye ekspresyonu nörolojik durumun devamını sağlamada görev aldığını düşündürmektedir.

Glutasyon peroksidaz	Hidrojen peroksit ve organik hidroperoksitleri azaltarak hücreleri oksidatif hasardan korurlar.
GPx1	Sitozolik enzimdir. Hidrojen peroksiti metabolize edebilir ancak fosfolipidlerdeki yağ asidi hidroperoksitleri metabolize edemez. Virüs infeksiyonlarına karşı koruma sağlar.
GPx2	Gastrointestinal kanal epitelinde identifiye edilmiştir. Meme kanseri hücre hatlarında (98), Barrett özafagus hastalığı premalignan fazında (99), kolorektal adenomada (100) GPx2 ekspresyonu arttığı görülmüştür.
GPx3	Hücre dışına salınan glikozile bir proteindir. H_2O_2 , yağ asidi ve fosfolipid peroksitlerine etkili bir antioksidandır. Se seviyesi belirteci olarak sıklıkla kullanılmaktadır.
GPx4	Diğer GPx'lerden farklı olarak fosfolipid ve kolesterol hidroperoksitleri redükte edebilir. Sitozol, mitokondri ve nükleer izoformları bulunur. Sperm maturasyonu ve erkek fertilitesinde rol alır.

İyodotironin deiyodinaz(DİO)	DİO' lar selenyumu, tiroid hormon metabolizmasına bağlayan enzimlerdir.
DİO1	Tiroid bezinde T3 üretiminde rol alır ve dolaşan T3 seviyesini kontrol eder. Karaciğer, böbrek, tiroid ve hipofizde bulunur.
DİO2	Lokal olarak bulunduğu dokuda T4' ün T3' e dönüşümü sağlar. Tiroid, SSS, hipofiz, iskelet kasında bulunur.
DİO3	DİO3, T3 ve T4 hormonlarını T2 ve rT3' e çevirerek inaktive eden deiyodinazdır. Gebe uterusu, plasenta, embriyonik karaciğer, embriyonik ve neonatal beyin, ,neonatal deride bulunur.

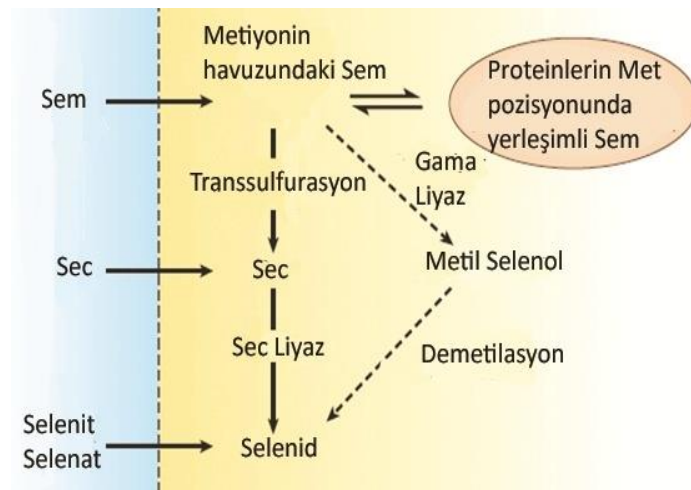
Selenoprotein P (SepP)	GPx3' ten sonra plazmada en çok bulunan selenoproteindir. Ana rolü plazmada selenyumun taşınması ve uzak dokulara iletilmesidir. Aynı zamanda ağır metal şelatörüdür. Endotel hücreleri ve astrositleri oksidatif hasardan korur, LDL oksidasyonunu inhibe eder.
Selenoprotein 15	Beyin, akciğer, testis, karaciğer, tiroid ve böbrekte yüksek seviyelerde bulunur. Fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir.
Selenoprotein N (Sel N)	Direk olarak bir hastalıkla ilişkisi kanıtlanmış tek selenoproteindir. Hipotoni, güçsüzlük, kas zayıflığı ile seyreden muskuler distrofiler Sel N gen bölgesi (SEPN1) ile ilişkilidir (101).
Selenoprotein W (Sel W)	Antioksidan savunmada rol alır. Selenyum eksikliğinde Sel W seviyesi iskelet kası, kalp, barsaklar, prostat, özafagus ve deride düşerken beyindeki seviyesi korunur (102).
Selenoprotein M (Sel M)	Erken başlangıçlı Alzheimer hastalığında sorumlu tutulan presenilin 2 overekspresyonunun Sel M' in supresyonuna neden olduğu Sel P' yi ise etkilemediği gösterilmiştir (103). Beyindeki rolü ve hastalıklarla ilişkisi detaylı çalışmalar gerektirmektedir.
Selenofosfat sentetaz (SPS)	Selenosisteinin prekürsörü olan selenofosfat sentezi için gereklidir.

2.8.5. Diyeter Selenyum Formları

Seleno-L-metiyonin (SeM)

Selenometiyonin, insan ve hayvanlardaki selenyumun ana kimyasal formudur. Bitkilerdeki selenyumun %90' ı SeM formunda bulunur (104). SeM diyetle alımdan sonra intestinal metiyonin taşıyıcıları ile absorbe edilir ve vücuttaki metiyonin havuzuna girer. Bu havuzdaki selenometiyoninlerin bir kısmı proteinlere metiyonin pozisyonundan katılır. Yüksek miktarda SeM alımı dokularda Se birikmesine neden olur. Bu birikim SeM içeren proteinler vasıtası ile olur ve selenoproteinlerdeki Se miktarının kat kat üstündedir (105).

SeM' in diğer kısmı metiyonin siklusu ve trans-sülfürasyon yolu ile Sec elde edilmesidir. Bu metabolik olaylar çoğunlukla karaciğerde gerçekleşir. Sec, Se metabolik yolağının giriş noktasında bulunur. Selenosistein liyaz , sisteinden sülfür analoglarını ayırır, selenit ve alanine katabolize eder. Doku homojenatlarında serbest Sec çok düşük konsantrasyonlarda bulunur. Karaciğerdeki gama-liyaz aktivitesi ile SeM, metil-selenola dönüştürülür. Bu aktivitenin biyolojik önemi bir sonraki aşamada metil selenolün demetilasyon ile selenide dönüşmesidir. SeM' in biyolojik önemi unregüle selenyum havuzunu oluşturmasıdır. Düşük Se durumunda proteinlerin içindeki SeM spesifik Se havuzuna geçer (105).



Şekil 2.10 Selenometiyoninin metabolik yolları

(Diyeter selenyum formlarının gastrointestinal sistemden alınımı ve uğradığı metabolik yollar. Sem: Seleno-L-metiyonin, Sec: Selenosistein. *Regulation of Selenium Metabolism and Transport, Annual review of nutrition*. 2015;35:109-34,p.17.4)

Selenosistein

Sec bitkilerde ters trans-sülfürasyon yolu ile SeM oluşumunda rol alır (106). Bitkilerde SeM' den daha az yoğun bulunur.

İnorganik Selenyum formları

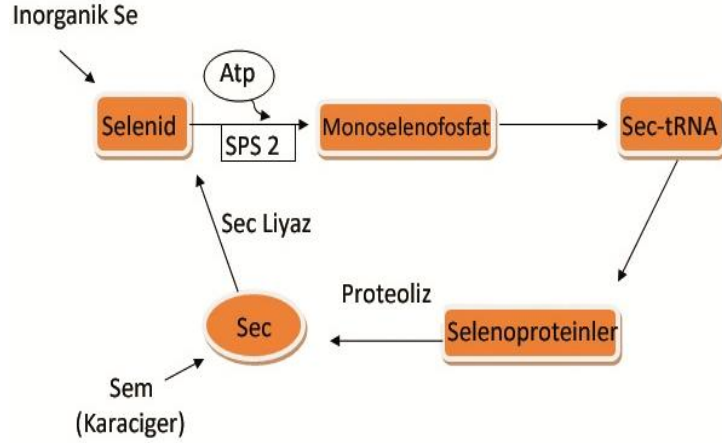
İnorganik Se çoğunlukla Se desteğinde kullanılır. Selenit ve Selenat isimli iki formu bulunmaktadır. Bu iki form metabolik özellikleri bakımından birbirinden bazı farklılıklar gösterir. Her iki formda etkili bir şekilde absorpsiyona uğramasına rağmen, selenatın neredeyse tümü barsaktan emilirken, selenit absorpsiyonu diyetten etkilenir ve barsaklardan emilim oranı %50-90 arasındadır. Buna rağmen selenat absorbe edildikten sonra selenite indirgenir ve önemli bir miktarı idrarla kaybedilir. Böylece her iki form kıyasladığında biyoyararlanımlarının birbirine eşit olduğu görülür (105).

Selenit TRx veya glutatyonla reaksiyona girerek selenide redükte olur. Fizyolojik miktarlarda absorbe olan selenit intestinal mukoza hücrelerinde indirgenir ve vücutta selenit halinde bulunmaz.

2.8.6. Hücre İçinde Selenyum Siklusu

Se, selenoprotein sentezinin devamlılığını sağlamak için hücre içinde geri dönüştürülür. Selenoproteinlerin proteolitik bozunmaları sonucu açığa çıkan Sec tekrar kullanılır. Selenosistein liyaz serbest selenosisteini selenid ve alanine metabolize eder (107). Prokaryotlarda selenosistein liyaz gibi sisteini metabolize eden enzimlerin varlığı kanıtlanmışken hayvanlarda bu enzimlerin varlığı bilinmemektedir (108). İn vivo çalışmalar Se eksikliği durumunda selenoprotein sentezinin devamlılığı için selenosistein liyazın önemli olduğunu göstermektedir. Şiddetli Se eksikliği içeren diyet uygulanmadıkça selenosistein liyaz-KO fareler yaşamlarına devam edebilir (109). Ancak selenyum taşıyıcı protein (SepP1)-KO farelerde beyinde görülen Se eksikliği beraberinde selenosistein liyaz-KO durumu oluşturulduğunda şiddetli nörolojik hasar ve ölüm görülmüştür (110). Bu yüzden Se eksikliği durumunda selenosistein liyazın, selenyumun yeniden üretimini kolaylaştırarak beyin nöron hücrelerini koruduğu düşünülür (105, 110).

Selenosistein liyaz ile açığa çıkan selenid, selenofosfat sentetaz 2 enzimi ile monoselenofosfat üretimine yönlendirilir. Monoselenofosfat, fosfoseril t-RNA' nın sec-tRNA' ya dönüşümünde kullanılan Se kaynağıdır. Oluşan sec-tRNA, translasyon aşamasında selenoproteinlerin yapısına katılır (105).



Şekil 2.11 Selenoproteinlerin metabolizması

(Hücre içinde Se siklusu. Atp: Adenozin trifosfat, Sec: Selenosistein, Sem: Seleno-L-metiyonin, SPS 2: Selenofosfat Sentetaz 2, *Regulation of Selenium Metabolism and Transport, Annual review of nutrition. 2015;35:109-34,p.17.5*)

2.8.7. Selenoprotein Hiyerarşisi

Birçok selenoprotein seviyelerinin aynı anda ölçülmesinin mümkün olması ile kısıtlı Se içeren diyet verilen hayvanlarda bazı selenoprotein ekspresyonlarının diğerlerinden daha fazla azalması selenoprotein hiyerarşisi teriminin geliştirilmesine neden olmuştur. Bu konseptte göre Se eksikliği durumunda bazı selenoproteinlerin ekspresyonu oldukça azalırken bazılarının hiç etkilenmez. Örneğin Se eksikliğinde GPx1 aktivitesi şiddetli bir şekilde azalırken GPx4 aktivitesi daha iyi korunur (111). GPx4 selenoprotein hiyerarşisinde üstlerde yer alırken GPx1' in altlarda bulunduğu kabul edilir ancak tüm selenoproteinlerin bu sıralamadaki yeri henüz tanımlanmamıştır (105). Selenoproteinlerin mRNA' larında diğer mRNA' lardan farklı olarak 3' ucunda stem loop yapısı ve açık okuma çerçevesinde (open read frame) UGA kodonu içerir. SECİS olarak bilinen stem loop yapısı birçok ortak özellik içermesine rağmen selenoproteinler arasında farklılıklara sahiptir. Bu farklılıklar aktive edici faktörlerin SECİS' e bağlanmasını ve translasyon etkinliğini

değiştirir. Selenoprotein sentezinde sec-tRNA, uzama faktörü (EF) ve SECİS bağlayan protein 2 (SBP2) olmak üzere 3 tane esansiyel aktive edici faktör bulunur (105). Sec-tRNA' nın iki izoformu bulunur. İki izoform arasındaki fark, 34. pozisyonundaki üridin bazının metilasyonundaki farklılıktan kaynaklanır. Se eksikliğinde unmetile form baskın hale geçerken, Se seviyeleri normal iken metile form baskın hale geçer. Her iki izoformda selenoproteinlerin yapısına katılarak selenoprotein hiyerarşisine katkıda bulunur (112). Sec-tRNA diğer aktive edici faktör olan spesifik uzama faktörüne (EF^{sec}) bağlanır. EF^{sec}, üçüncü aktive edici faktör olan SBP2'ye bağlanır. SBP2, SECİS element ve ribozomlar içinde bağlanma bölgeleri içerir. Böylece aktive edici faktörler, SECİS elementi ile ilişki kurar. Translasyon aşamasında ribozom, UGA kodonuna yaklaşırken 3' ucunda SECİS elementi SBP2 aracılığı ile ribozom ile ilişki kurar. Bu olay protein sentezinin sonlandırılmasını engeller ve sec-tRNA'nın translasyon makinesine ilerlemesine neden olur (113, 114). Se eksikliğinde bazı selenoproteinleri mRNA'sının UGA kodonu okunmasını engellediği ve proteinlere Sec girişinin etkilediği gösterilmiştir (115). Böylece Se hiyerarşisi selenoproteinlerin mRNA seviyesinin regülasyonu ve Sec'in proteinlere girişini düzenlemesi ile oluşturulur (105).

2.8.8. Selenyumun Vücuttan Atılımı

Vücuttaki iki Se havuzundan biri olan seleno-L-metiyonin havuzu kontrol edilemeyen kısmı oluştururken selenoproteinlerin içerisindeki Se kontrol edilebilen kısmı oluşturur. Farelere sadece inorganik Se diyeti verilirse tüm vücut selenyumunu keskin bir şekilde yükselir. Selenoproteinlerin ekspresyonu maksimuma ulaştığında ise bu hızlı yükseliş durur. Selenoproteinleri optimize edecek derecede yüksek miktarda diyetle Se alımı vücuttan atılım ile tamamen dengelenir ve çok az miktarda Se artışına izin verir. Selenyumun vücuttan atılımı çoğunlukla idrar ve feçes yolu ile gerçekleşir (116). İdrarda saptanan Se formu, trimetilselenyum iyonu ve seleno şekerken feçeste yalnızca seleno şeker formu saptanabilir. Eğer Se artışı devam ederse dimetil selenid metile edilerek üretilen trimetil selenyum sature hale gelir ve nefeste saptanmaya başlar (105).

2.8.9. Karaciğerin Selenyum Düzenlenmesindeki Rolü

Karaciğer, barsaklardan emilip gelen selenyumu ilk karşılayan organ olması nedeni ile Se açısından zengindir. Özellikle trans-sülfürasyon yolağı diğer dokulara göre karaciğerde daha aktiftir ve metiyonin havuzundan gelen selenyumun, Se havuzuna girmesinde başlıca organdır. Karaciğerdeki selenidin iki kadere vardır. Birincisi selenoprotein sentezine katılması diğeri ise vücuttan atılacak küçük moleküllere metabolize olmasıdır. Buradaki belirleyici faktör vücuttaki total Se miktarıdır. Ancak buradaki mekanizmalar henüz bilinmemektedir (105). Karaciğer vücutta kalmasına karar verilen selenyumu sistemik dolaşıma SepP1 proteini sekrete ederek diğer dokulara Se desteğı sağlar. Fare plazmasındaki SepP1' in %90'dan fazlası karaciğer kaynaklıdır (117). SepP1 plazma yarı ömrü 3-4 saat kadardır ve SepP1 proteini içerisindeki Se miktarı total vücut selenyumunun %17' sine denk gelir. Total vücut selenyumunun %29'ı karaciğerdedir ve karaciğer selenyumunun %50'si ise GPx1 selenoproteininde bulunur (117). Diyetle Se alımı azaldığında diğer karaciğer selenoprotein sentezine selenyum sağlamak için hepatik GPx1 keskin bir şekilde azalır. Bu selenoproteinlerden biri SepP1'dir. Böylece Se depoları sınırlı hale geldiğinde karaciğer SepP1 aracılığı ile diğer dokulara Se desteğı sağlamada önemli rol alır. SepP1, N-terminal bölgesinde heparin bağlanma bölgesi ve peroksidaz aktivitesi gösteren selenosistein bölgesi içerir. N-terminal bölgesi vasküler endotelial hücreleri üzerine antioksidan etki gösterir ve selenyumun böbreklere taşınmasında görevlidir. C-terminal bölgesi ise selenyumun diğer dokulara taşınmasında görevlidir. Tüm dokular selenoprotein sentezleyebilmesine rağmen farklı miktarlarda Se içerirler ve rollerini yerine getirirken daha fazla Se ihtiyacı duyduklarında sahip oldukları Se yeterli olmayabilir. Birçok doku selenoprotein eksportu gerçekleştirir ve fonksiyonlarını yerine getirmek için yüksek miktarlarda Se ihtiyacı duyar. Selenoprotein eksportu yapmayan beyin nöron hücrelerine canlılığın devam için güvenilir Se kaynakları gerekir (105).

SepP1 ekstra-hepatik dokulara Se sağlamadaki ana proteindir. Düşük moleküler ağırlıklı lipoprotein (LDL) reseptör ailesinden olan ApoER2 ve Megalin SepP1'e bağlanır ve endositozunu kolaylaştırır. Bu iki reseptörün vücuttaki dağılımı ve SepP1'e bağlanma özellikleri farklıdır. Birçok doku selenyum eksikliğini tolere edebilir ancak testis ve beyin fonksiyonlarını devam ettirmek için önemli miktarda

selenyuma ihtiyaç duyar. ApoER2 ekspresyonu testis ve beyin dokusunda yüksek miktarda iken kas dokusunda orta seviyede, böbrek ve karaciğerde ise minimal düzeydedir. ApoER2 aracılı endositoz sonucunda SepP1 lizozomlara alınır burada metabolize olur ve selenoproteinlerin sentezi için gerekli selenyumu serbestler. Megalin renal proksimal tübül hücrelerinin apikal yüzeyinde bulunur. Ancak beyin dahil birçok dokuda eksprese edildiği gösterilmiştir. Proksimal tübül epitel hücreleri, glomerular filtrasyona uğraşmış SepP1'in idrarla kaybedilmesini önler ve aynı zamanda plazmadaki Glutatyon peroksidaz 3' n en büyük kaynağını oluşturur.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma

Bu çalışma için, 128 adet erkek yetişkin (2-3 aylık) Wistar Albino sıçan kullanıldı. Sıçanların temini ve teknik desteği Erciyes Üniversitesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinden (DEKAM) sağlandı. Sıçanlar musluk suyu ve standart sıçan yemi ile kısıtlama yapılmaksızın beslendi. Çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma projeleri (BAP) Birimi tarafından desteklenen TTU-2016-6732 no'lu proje kapsamında ve Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulunun 13.04.2016 tarih ve 16/072 sayılı onayı ile gerçekleştirildi.

1-Kontrol grubu (Kontrol): Sıçanlara gastrik gavaj tekniği ile Serum fizyolojik (SF) 21 gün süre ile verilerek oluşturuldu.

2- Hipotiroidi oluşturulan grup (Ptu): Sıçanlara 21 gün boyunca gastrik gavaj tekniği ile 1mg/kg/gün dozunda 6-*n*-propyl thiouracil (Ptu, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) verilerek oluşturuldu.

3-Hipotiroidi oluşturulan ve sodyum selenit takviyesi yapılan grup (Sena): Sıçanlara gastrik gavaj tekniği ile 1mg/kg/gün dozunda Ptü ve 0.5mg/kg/gün dozunda sodyum selenit 21 gün süre ile verilerek oluşturuldu.

4-Hipotiroidi oluşturulan ve seleno-L-metiyonin takviyesi yapılan grup (Semet): Sıçanlara gastrik gavaj tekniği ile 1mg/kg/gün dozunda Ptü ve 0.7mg/kg/gün dozunda seleno-L-metiyonin 21 gün süre ile verilerek oluşturuldu.

Ptu 0,1N NAOH çözeltisi içinde çözdürüldü. Seleno-L-metiyonin ve sodyum selenit SF içerisinde çözdürüldü. Tüm maddeler SF içine katılarak en fazla 1 ml verilecek şekilde gastrik gavaj tekniği ile sıçanlara uygulandı.

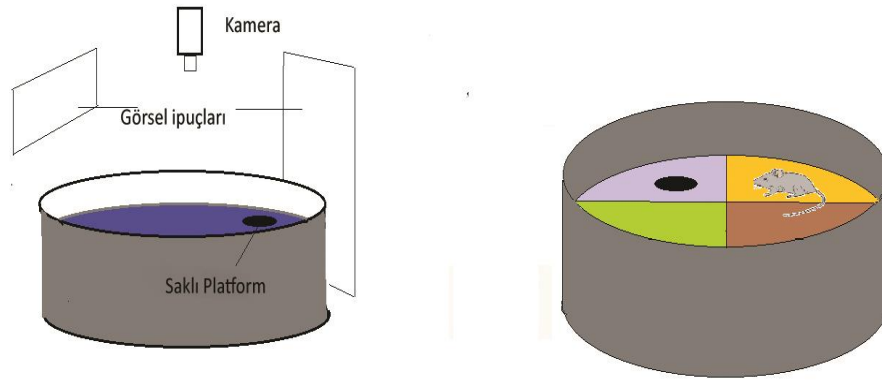
3.2. Morris Su Tankı Testi Uygulaması

Morris su tankı testi ile sıçanlarda uzamsal öğrenme ve bellek performansının değerlendirilmesi için Erciyes Üniversitesi DEKAM davranış fizyoloji laboratuvarında bulunan 180 cm çapında, 45 cm derinliğinde paslanmaz çelikten yapılmış bir su tankı kullanıldı. Tank; toksik olmayan siyah renkli bir boya ile opaklaştırılan ve sıcaklığı 22 ± 2 °C olacak şekilde ayarlanan su ile dolduruldu. Deneyler sırasında suyun kirli olmamasına özen gösterildi. Bunun için tankın suyu her gün değiştirildi. Tanktaki suyun yüzey alanı sanal olarak dört eşit kadrana bölündü. Kadranlardan gelişigüzel birine (hedef kadrana) ve tank duvarından 15 cm uzaklıkta su yüzeyinin 1-2 cm altında kalacak şekilde 10 cm çapında 22 cm yüksekliğinde ağır bir kaçma platformu yerleştirildi (Şekil 3.1). Platform, sıçan üzerine çıktığında pençelerini yerleştirebileceği ve kendini emin hissedeceği lifli yapıda bir kumaşla kaplandı. Sıçanın platformun yerini bulmayı öğrenmesinde görsel ipucu olarak kullanması için havuzun çevresine paravanlar, zıt renkli geometrik şekil içeren panolar yerleştirildi ve çalışma süresince ipuçları ve platformun yerleri sabit tutuldu. Deney süresince, sıçanın tank içindeki hareketlerini izlemek ve kaydetmek için bir video kamera, tankın merkezi üzerine gelecek şekilde tavana monte edilip kayıtlar NOLDUS izleme ve kayıt sistemine aktarıldı. Bu sistem ve uygun yazılım kullanılarak sıçanın platformu bulma süresi, yüzme sırasında kat ettiği yol uzunluğu, yüzme hızı ve her kadranda geçirdiği süre kayıt altına alındı. Bu veriler karşılaştırmalar ve istatistiksel analizler için kullanıldı.

Morris Su Tankı ile uzamsal başlangıç (initial) öğrenmenin değerlendirilmesi 5 günlük bir sürede gerçekleştirildi. İlk 4 gün öğrenme periyodu ve 5. gün test periyodu olarak çalışıldı. Her sıçan, ardışık 4 gün ve her gün 20 dakika aralıklarla 4 kez öğrenme denemelerine tabi tutuldu. Öğrenme denemelerinde, sıçanlar her gün farklı bir kadrandan başlamak koşuluyla ve her denemede farklı bir kadranda suya bırakılıp bir dakika içinde platformu bulması beklendi. Bu süre içerisinde platformu bulamaması durumunda, sıçan platforma yönlendirilip, tedirgin etmemeye özen gösterilerek platformun üzerine bırakıldı. Platformu bulup üzerine çıkan ya da

platform üzerine yardımla çıkarılan sıçanın 20 sn süreyle platform üzerinde kalması ve görsel ipuçlarını tanınması sağlandı. Daha sonra platform üzerinden alınan sıçanlar kurularak kafeslerine yerleştirildi. Son öğrenme denemesinden 24 saat sonra platform kaldırılarak referans hafızanın değerlendirilmesi için test periyodu çalışıldı. Test periyodunda sıçanın iki dakika süresince serbest yüzmesine izin verildi. Bu periyotta sıçanın hedef kadranda geçirdiği sürenin diğer kadrarlarda geçirdiği toplam süreye oranı belirlendi ve elde edilen değer referans hafızanın değerlendirilmesinde veri olarak kullanıldı.

Ters (reverse) öğrenme; sıçanların başlangıç (initial) öğrenmesinde öğrenilen platformun yerini unutması ve platformun yerinin değiştirilerek yeni pozisyonun öğrenilmesi esasına dayanır. Bunun için platform daha önceki bulunduğu yerden kaldırılıp tam karşısındaki kadrana yerleştirildi. 6, 7 ve 8. günlerde sıçanlar her gün farklı bir kadrandan başlamak koşuluyla ve her denemede farklı bir kadrandan suya bırakılıp bir dakika içinde platformu bulması beklendi. Sıçanların platformu bulamaması durumunda başlangıç öğrenilmesinde olduğu gibi platformun yeri öğretildi ve üzerinde 20 sn kalmasına izin verildi.



Şekil 3.1 Morris Su Tankı Testi Protokolü

3.3. Uzun Dönemli Güçlenme Kayıtlarının Alınması

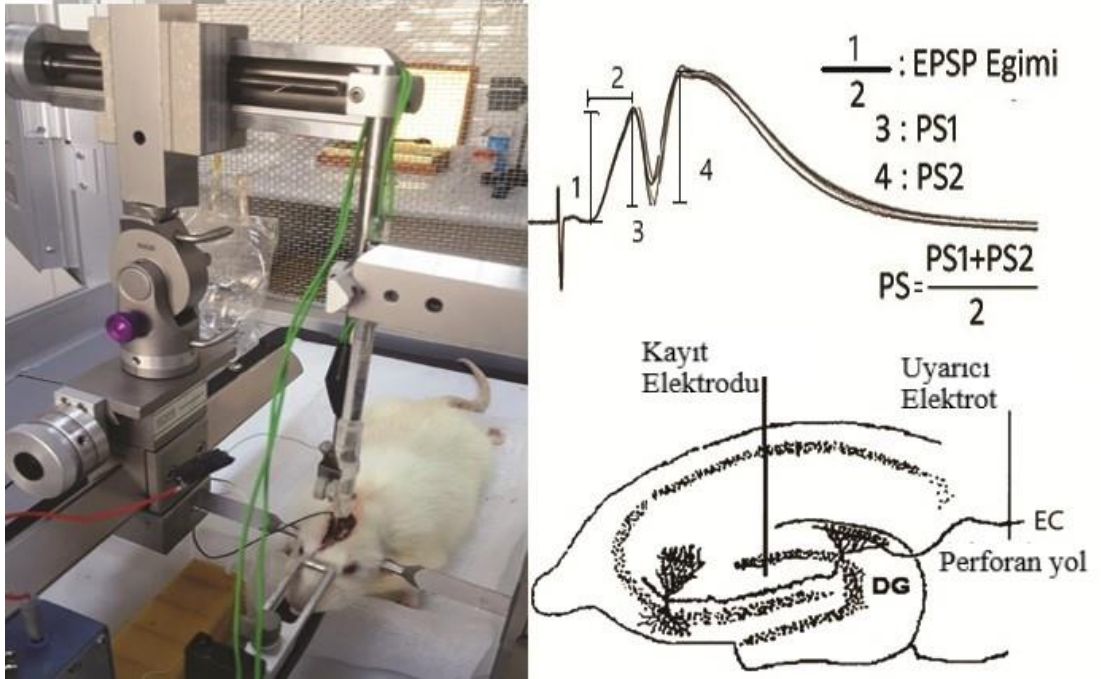
Uyarı ve kayıt

Sıçanlar 1,2 g/kg dozda i.p üretan uygulaması ile anestezi edildikten sonra kulak ve ağız çubukları vasıtasıyla sabitlenerek stereotaksik sisteme (Kopf Instruments, Tujunga, CA, USA) yerleştirildi. Daha sonra cerrahi prensiplere uyularak kafa derisi üzerinde yapılan orta hat kesisi ile kafatasına ulaşıldı. Kafatasına ulaştıktan sonra

bregma işaretlendi ve sağ hemisferin kraniyumunda hipokampus üzerine denk gelen kafatası parçası oval şekilde kesilerek çıkarıldı. Bregma referans alınarak 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 (118).

Tipik elektriksel yanıtın elde edilmesi

Hem uyarıcı hem de kayıt elektrodu, eksitator post-sinaptik potansiyel (EPSP) olarak tanımlanan pozitif yönlü bir sapmayı takip eden ve populasyon spike (PS) olarak tanımlanan maksimum negatif yönlü sapma elde edilene kadar derin yapılara indirildi (118). Granül hücre tabakasının tipik yanıtı elde edilmeye başlandığında elektrotların derinlikleri 0,1 mm artırılarak en büyük cevap elde edildi (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 Tipik bir elektriksel aktivite kaydında PS ve EPSP değerleri hesaplanması

Veri Kazanımı ve Uyarım

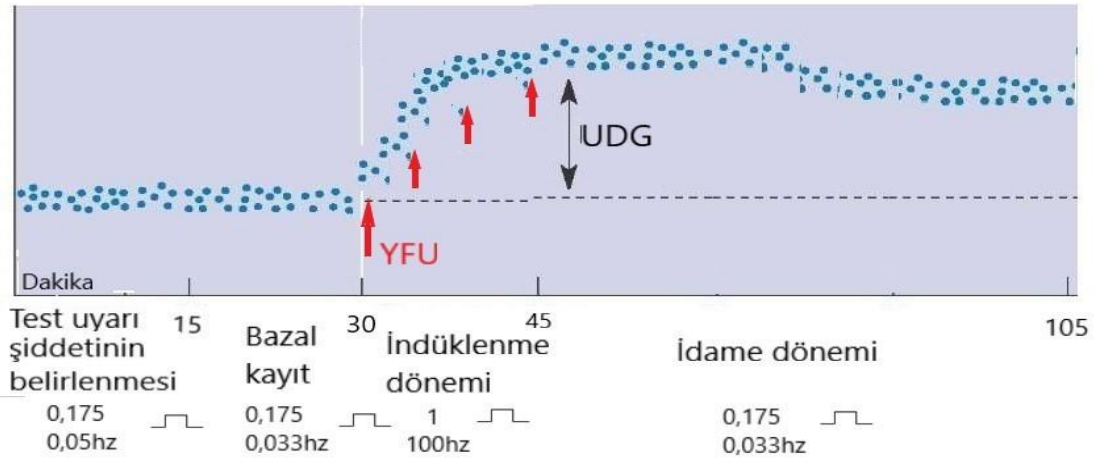
Veri kazanımı ve uyarım işleminin kontrolü “Scope” yazılımı (ADInstruments, Colorado Springs, CO, USA) ile yapıldı. A/D çevirici (Powerlab/8SP, ADInstruments, Colorado Springs, CO, USA) vasıtasıyla tek fazlı 10 V 0,175-ms süreli palslar oluşturuldu ve uyarı izolatörünün tetiklenmesinde kullanıldı. Kaydedilen biyolojik sinyaller 0,1-10 kHz band-genişliğinde bir yükselticide 1000x kez yükseltildi. Aktivite 20 ms için 40 kHz hızında çevirim içi olarak rakamsallaştırıldı.

Girdi-Çıktı Eğrileri “Input – Output (I/O) Curve

Elektrotların yerleştirilmesinden 15 dakika sonra 175 µs süreli tek-fazlı sabit akım palsları her 20 saniyede bir verilerek I/O eğrileri elde edildi. Bu sırada akım şiddeti 0,1 mA’ den 1,5 mA’ e kadar 0,2 mA adımlarla artırıldı. Her akım şiddeti için kaydedilen 3 ardıl yanıtın ortalaması akım şiddetine karşı grafiklendi. En yüksek PS genliğinin yarısını oluşturan akım şiddeti test uyarı şiddeti olarak belirlendi ve deneyin sonraki aşamalarında bu akım şiddeti kullanıldı.

Uzun Dönemli Güçlenme

Test uyarı şiddetinde bir uyarı 30 sn' de bir verilerek 15 dakika süreyle bazal kayıt alındı. Bazal kaydın ardından indüksiyon dönemi olarak tanımlanan süre için 5'er dakika ara ile 100 Hz frekansında 1 sn süren dört yüksek frekanslı uyarı (YFU) ile UDG indüklendi. Son YFU' yu takiben toplam idame dönemi olarak tanımlanan 60 dakikalık sürede 30 sn' de bir test uyarı şiddetinde uyarı ile uyarıma devam edildi. YFU dönemindeki UDG yanıtlarının ortalaması indüksiyon dönemi, son YFU verilmesini takiben deneyin sonuna kadar elde edilen UDG yanıtlarının ortalaması ise idame dönemi yanıtı olarak belirlendi (119).



Şekil 3.3 UDG kaydı deney protokolü şeması

3.4. Selenyum Seviyeleri Ölçümü

Plazma Se ölçümü için sıçanlar anestezi altında sakrifiye edildikten sonra heparinli tüp içine alınan kan örnekleri 4000 rpm' de 5 dakika süre ile santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Sıçanların hipokampusleri çıkarıldı. Alınan kan ve doku örnekleri ölçüm yapılacak güne kadar -80°C'de saklandı. Ölçümler İstanbul Adli Tıp Enstitüsünde ICP-MS (inductively coupled plasma mass spectrometry yöntemi) hizmet alımı şeklinde yapıldı.

3.5. Plazma T3 ve T4 ölçümü

Plazma T3 ve T4 düzeylerinin ölçümü için -80°C'de saklanan plazma örnekleri kullanıldı. Ölçümler ticari ELISA kiti (GenWay Biothech Inc, San Diego, CA) kullanılarak Multiskan™ FC Microplate Photometer ile ölçüldü.

3.6. Western Blot ile Enzim Seviyelerinin Belirlenmesi

Western blot çalışmaları için, deney sonrası sıçanların beyinleri dekapite edilerek çıkartıldı. Beyin dokusu sağ ve sol hemisferler ayrıldıktan sonra her iki hipokampus beyin dokusundan ayrıldı. Daha sonra hipokampus doku örnekleri ependorf tüplere alınıp çalışmanın yapılacağı zamana kadar -80 °C' de saklandı. Örnekler çalışılacağı zaman hipokampal dokulardan RIPA lizis tamponu ile protein izolasyonu yapıldı. Biçinkonik asit (BCA) belirteci ile 520nm' de protein konsantrasyon tayini yapıldı. 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. Daha sonra elde edilen SDS jeller, maksimum voltaj, 240 mA' da 90 dakika boyunca PVDF membrana aktarılma işlemi uygulandı. İşlem sonunda membranlar, %3 süt tozu (TBS-T içinde hazırlanmış) içine alınarak, bir saat bloklama yapıldı. Bloklama sonrası membranlar TBS-T solüsyonu ile her seferinde 5 dakika olmak üzere 5 kez yıkandı. Yıkama sonrası membranlar primer antikorlar ile (DİO2, 1:1000, DİO3, 1:1000) 12-16 saat, +4 °C'de gece inkübasyonuna bırakıldı. İnkübasyondan sonra TBS-T ile her seferinde 5 dakika olmak üzere 5 kez yıkandı. Daha sonra HRP ile konjuge edilmiş sekonder antikor (%5 süt tozu içinde hazırlanan, anti-mouse ve anti-rabbit, 1:5000) ile 1 saat muamele edildi. ECL solüsyonu ile sinyal almak için Chemidoc cihazında görüntüleme işlemi yapıldı. Elde edilen membran görüntüleri Image-J programı kullanılarak değerler hesaplandı.

3.7. İmmünohistokimyasal Boyama

Sıçanlar anestezi altında iken göğüs boşluğuna girildi. Kalbin sağ atriumu kesildi ve öncelikle serum fizyolojik ile tüm vücut perfüze edildi. Ardından %10'luk formaldehit solüsyonu ile kardiyak perfüzyon yapıldı. Daha sonra sıçanların beyinleri disseke edildi ve % 10'luk formaldehit solüsyonu içerisine alındı. Dört günlük bekleme süresinin ardından parafine gömüldü. 17 adet formalin fikse parafine gömülü beyin dokusundan ventral hipokampüse gelecek şekilde 4 mikronluk üç ardışık kesit yapıldı ve dokuların dökülmemesi için poli-L-lizinle kaplı lamlara alındı. Kesitler 60 °C' lik etüvde bir saat inkübe edildi. Ki-67 için uygun protokol oluşturularak boyama işlemine geçildi. Primer antikor olarak klonu Ki-67 uygulandı

ve 37 °C’de 30 dakika bekletildi. Ventana Bench Mark XT marka cihaz ile boyama işlemi gerçekleştirildi. Otomatik boyama cihazında boyanan preparatlar derecesi gittikçe artan alkollerden (%96 ve %99,5) sırasıyla beşer dakika geçirildikten sonra 15 dakika ksilolde bekletildi. Kapatma solüsyonu ile kapatıldı. Hazırlanan kesitler Nikon model Eclipse Ni-U marka mikroskop eşliğinde incelendi. İmmünohistokimyasal değerlendirmede nükleer boyanma pozitif kabul edildi.

3.8. Veri Analizi ve İstatistik

Eksitator Post Sinaptik Potansiyel dalgasının eğimi; dalganın 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’ lerin 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 Tek Yönlü ANOVA testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak seçildi.

Morris Su Tankı testi sonuçlarının istatistiksel analizi için SPSS Version 16 paket programı ile Windows 7 Bilgisayar programında günler arası karşılaştırmalarda tekrarlı ölçümlerde ANOVA testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık için olasılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edildi.

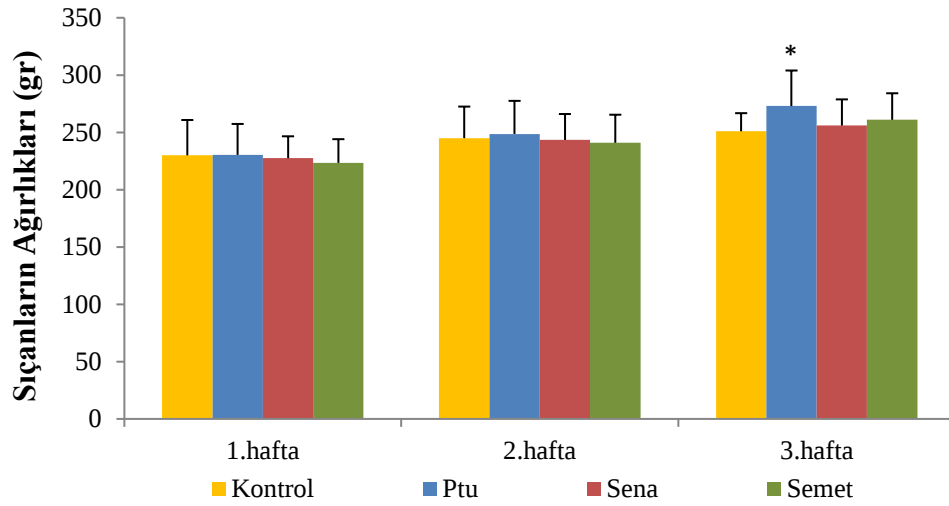
Western Blot ile elde değerler için kontrol grubu 100 kabul edildi ve diğer grupların kontrol grubuna göre değişimleri hesaplandı. Elde edilen veriler Shapiro-Wilk normallik testine göre normal dağılım gösterdiğinden gruplar arası karşılaştırma parametrik testlerden tek örneklem T-testi ile yapıldı.

Hücre sayımı gerçekleştirilirken yalnızca subgranüler tabakadaki Ki-67 pozitif hücreler sayıldı. Her beyin dokusundan alınan ardışık üç kesit tek tek sayıldı ve ortalamaları alındı. Gruplar arası karşılaştırmada Tek Yönlü ANOVA testi kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Sıçanların Ağırlıkları

Sıçanların sahip oldukları ağırlıkların ortalama değerlerinin haftalar boyunca değişim grafiği Şekil 4.1’ de sunulmuştur.



Şekil 4. 1 Sıçanların sahip oldukları ağırlıkların haftalık değişim grafiği

Tekrarlı ölçümlerle ANOVA analizinde sıçan ağırlıkları ve hafta etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($F_{2,254}=69,27$, $p<0,001$). Sıçanlar ilerleyen haftalar boyunca kilo almıştır. Hafta*Grup etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı değildir ($F_{6,254}=0,92$, $p>0,05$). İlerleyen haftalar boyunca gruplar arasında kilo alımı açısından bir fark oluşmamıştır. Tek yönlü ANOVA analizinde 3.haftada Ptu grubu, Kontrol ($p=0,020$), Sena ($p=0,006$) ve Semet grubundan ($p=0,048$) istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla kilo almıştır. Sıçanların sahip oldukları ağırlıkların haftalık değişimine ait rakamsal değerler Tablo 4.1’ de verilmiştir.

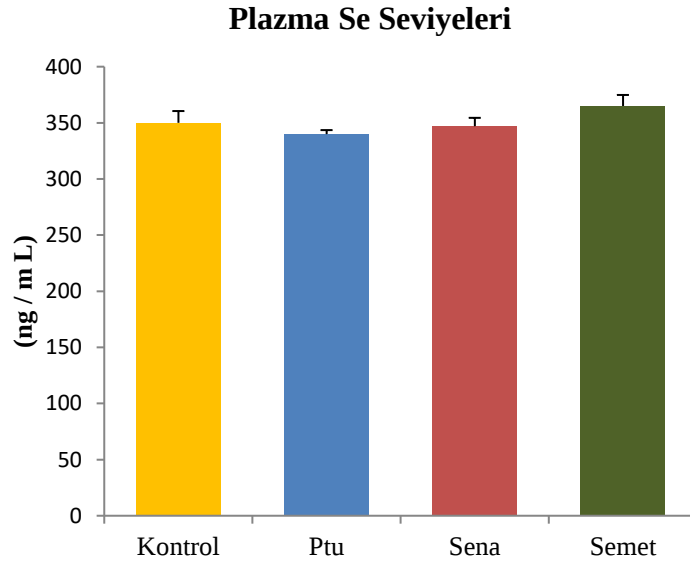
Tablo 4. 1 Sıçanların sahip oldukları ağırlıkların haftalık değişim tablosu

	Kontrol	Ptu	Sena	Semet
1. Hafta	230±30	230±26	227±19	223±20
2. Hafta	245±27	249±28	243±22	241±24
3. Hafta	251±15	273±30 *	256±22	261±23

(Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Kontrol: SF verilen grup, Ptu: Sadece Ptu verilen grup, Sena: Sodyum selenit ve Ptu verilen grup, Semet: Seleno-L-metiyonin ve Ptu verilen grup,* Kontrole göre $p<0,05$)

4.2. Beyin ve Plazma Selenyum Seviyeleri

Grupların plazma Se değerlerine ait grafik Şekil 4.2’de, verilerin rakamsal değerleri Tablo 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4. 2 Grupların plazma selenyum değerleri

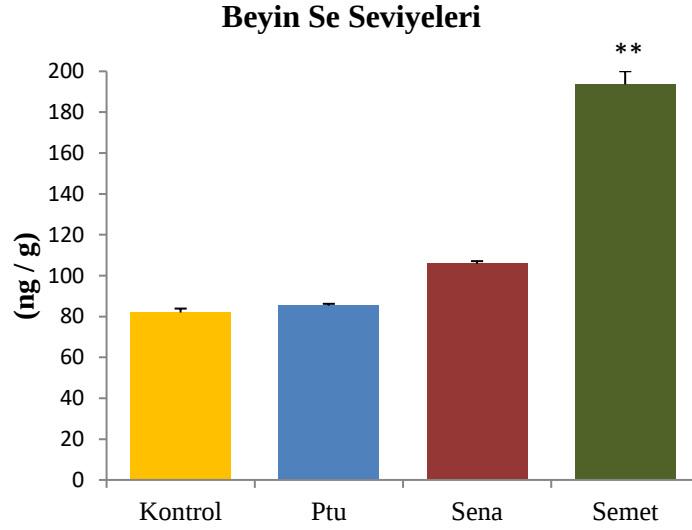
Tek yönlü ANOVA testi ile yapılan istatistiksel karşılaştırma sonucu kontrol ve deney grubu sıçanların plazma selenyum değerleri, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemiştir ($F_{(3,23)}=0,27$, $p=0,846$).

Tablo 4. 2 Grupların plazma Se değerleri

	Ortalama	Standart hata
Kontrol (n=6)	350,80	10,49
Ptu (n=6)	340,75	21,15
Sena (n=6)	347,21	7,42
Semet (n=6)	365,61	9,80

(Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.)

Grupların beyin selenyum değerlerine ait grafik Şekil 4.3'te, rakamsal değerler Tablo 4.3'te gösterilmiştir.



Şekil 4. 3 Grupların beyin selenyum değerleri

Tek yönlü ANOVA testi ile yapılan istatistiksel analiz sonucu kontrol ve deney grubu sıçanların beyin selenyum değerleri, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($F_{3,22}=37,260$, $p<0.001$). Kontrol grubuna göre Semet grubu beyin selenyum seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,005$). Sena grubu, kontrol grubu ile kıyaslandığında Sena grubunda beyin selenyum seviyeleri artmış ancak istatistiksel olarak anlamlılık oluşturmamıştır ($p=0,06$).

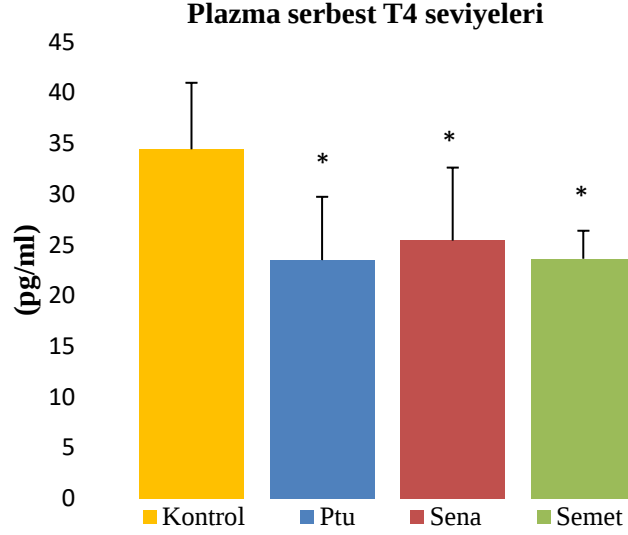
Tablo 4. 3 Grupların beyin Se değerleri

	Ortalama	Standart Hata
Kontrol (n=6)	82,00	1,88
Ptu (n=6)	85,33	0,87
Sena (n=6)	105,83	1,27
Semet (n=6)	193,66 **	6,38

(Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir. ** Kontrole göre $p<0,001$)

4.3. Grupların Plazma Serbest T3 ve T4 Seviyeleri

Grupların serbest T4 seviyelerine ait grafik Şekil 4.4'te, verilerin rakamsal değerleri Tablo 4.4'te gösterilmiştir.



Şekil 4. 4 Grupların plazma serbest T4 değerleri

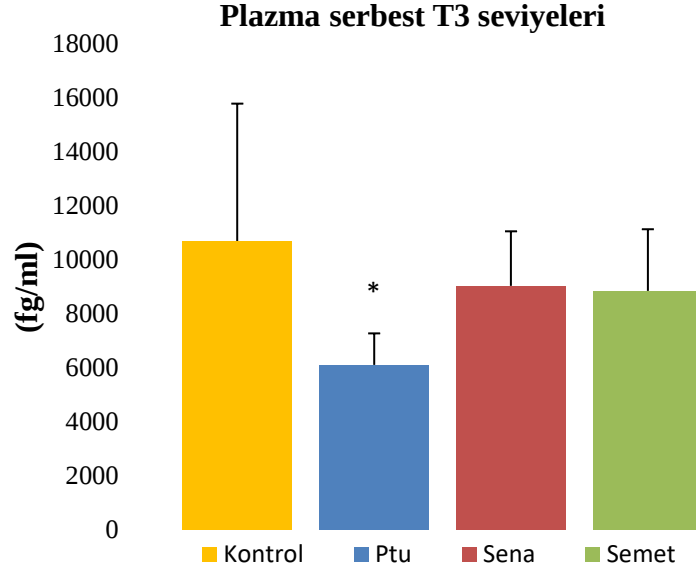
Tek yönlü ANOVA testi ile yapılan istatistiksel karşılaştırma sonucu kontrol ve deney grubu sıçanların plazma serbest T4 seviyeleri, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($F_{3,30}=4,713$, $p=0,009$). Post-hoc Tukey testine göre Ptü ($p=0,009$), Sena ($p=0,037$) ve Semet ($p=0,045$) grupları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir.

Tablo 4. 4 Grupların plazma serbest T4 değerleri

	Ortalama	Standart sapma
Kontrol (n=7)	34,44	6,55
Ptü (n=8)	23,51 *	6,24
Sena (n=8)	25,43 *	7,20
Semet (n=5)	23,64 *	2,76

(Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * Kontrole göre $p<0,05$)

Grupların serbest T3 seviyelerine ait grafik Şekil 4.5'te, verilerin rakamsal değerleri Tablo 4.5'te gösterilmiştir.



Şekil 4. 5 Grupların plazma serbest T3 değerleri

Tek yönlü ANOVA testi ile yapılan istatistiksel karşılaştırma sonucu kontrol ve deney grubu sıçanların plazma serbest T3 seviyeleri, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($F_{3,27}=3,074$, $p=0,047$). Post-hoc Tukey testine göre Ptu grubu plazma serbest T3 değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulunmuştur ($p=0,032$).

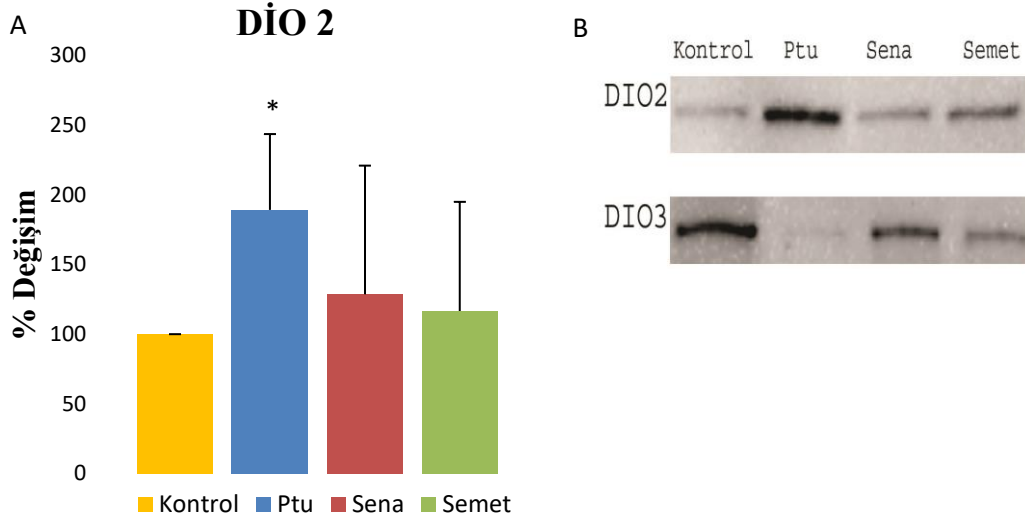
Tablo 4. 5 Grupların plazma serbest T3 değerleri

	Ortalama	Standart sapma
Kontrol (n=7)	10697,72	5087
Ptu (n=8)	6107,08 *	1167
Sena (n=8)	9035,13	2020
Semet (n=5)	8849,17	2283

(Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * Kontrole göre $p<0,05$)

4.4. Hipokampus DİO2 ve DİO3 Seviyeleri

Tüm grupların western blot membran görüntüleri ve hipokampus DİO2 protein seviyelerinin kontrol grubuna göre yüzdesel değişim grafiği Şekil 4.6'da sunulmuştur.



Şekil 4. 6 Grupların DİO2 protein seviyeleri yüzdesel değişim grafiği (A) ve western blot membran görüntüsü (B)

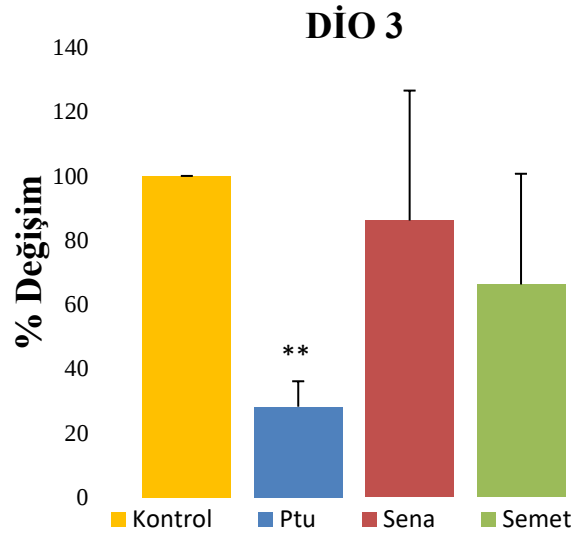
Gruplar Shapiro-Wilk normallik testine göre normal dağılım gösterdiğinden gruplar arası karşılaştırma parametrik testlerden tek örneklem T-testi ile yapılmıştır. Ptü grubu ve kontrol grubu DİO2 protein seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($df=3$, $t=3,279$, $p=0,046$). Ptü grubu DİO2 protein seviyeleri kontrol grubuna göre artmıştır. Sena, Semet ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. (Sena: $df=3$, $t=0,626$, $p=0,579$, Semet: $df=3$, $t=0,425$, $p=0,700$). Grupların DİO2 protein seviyeleri yüzdesel değişimin rakamsal değerleri Tablo 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4. 6 Grupların DİO2 protein seviyeleri yüzdesel değişim tablosu

	Ortalama	Standart Sapma
Kontrol (n=4)	100	0
Ptü (n=4)	189,2 *	54,42
Sena (n=4)	128,65	92,63
Semet (n=4)	116,64	78,35

(Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * Kontrole göre $p<0,05$)

Tüm grupların hipokampus DİO3 protein seviyelerinin kontrol grubuna göre yüzdesel değişim grafiği Şekil 4.7’de sunulmuştur.



Şekil 4. 7 Grupların DİO3 protein seviyeleri yüzdesel değişim grafiği

Grupların kontrol grubuna göre yüzdesel değişimleri tek örneklem T-testi ile karşılaştırılmıştır. DİO3 seviyeleri, Ptu grubu ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($df=3$, $t=-18,306$, $p<0,001$). Ptu grubu DİO3 seviyeleri azalmıştır. Sena ve Semet grupları kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturmamıştır (Sena: $df=3$, $t=-0,686$, $p=0,542$, Semet: $df=3$, $t=-1,961$, $p=0,145$). Grupların DİO3 protein seviyeleri yüzdesel değişimin rakamsal değerleri Tablo 4.7’de sunulmuştur.

Tablo 4. 7 Grupların DİO3 protein seviyeleri yüzdesel değişim tablosu

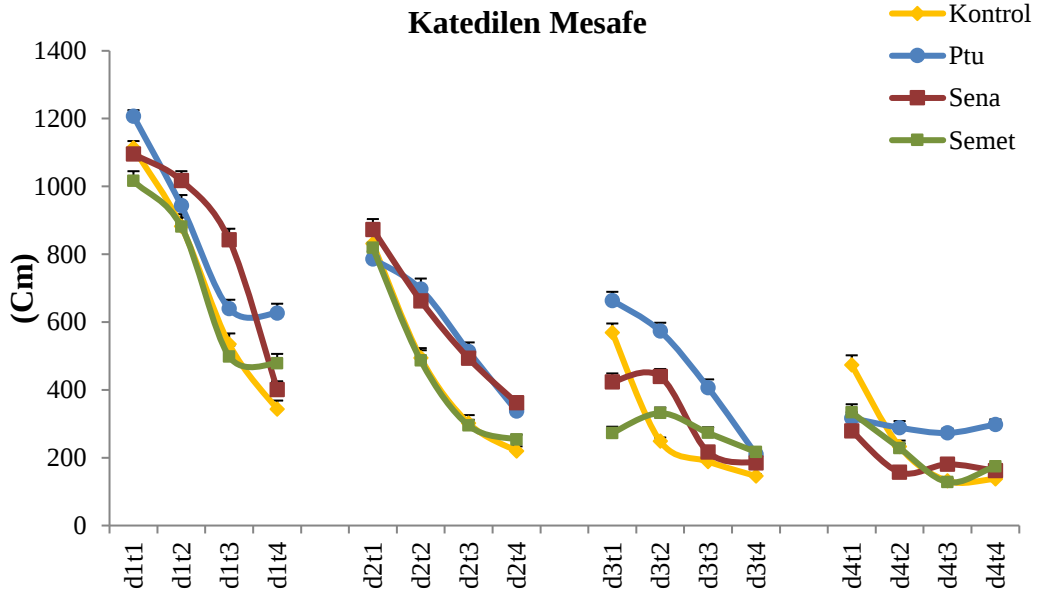
	Ortalama	Standart Sapma
Kontrol (n=4)	100	0
Ptu (n=4)	28,20 **	7,91
Sena (n=4)	86,14	40,4
Semet (n=4)	66,24	34,42

(Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. ** Kontrole göre $p<0,001$)

4.5. Morris Su Tankı Testi Bulguları

4.5.1. Sıçanların Yüzme Mesafesi Değerlendirmesi

Kontrol ve deney grubu sıçanların öğrenme periyodunda platformu bulmak için Morris su tankında kat ettiği toplam mesafenin ortalama değerlerinin 1. günden 4. güne doğru değişimi Şekil 4.8'de sunulmuştur



Şekil 4. 8 Morris Su Tankında sıçanların platformu bulmak için kat ettiği mesafe grafiği

Grupların Morris Su Tankında kat ettiği toplam mesafe, Gün ($F_{3,180}=96,462$, $p=0,001$), Trial ($F_{3,180}=90,840$, $p=0,001$) ve Gün**Trial* ($F_{9,540}=6,121$, $p=0,001$) etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Şekil 4.8’de görüldüğü üzere grupların platformu bulmak için kat ettiği mesafenin 1.günden 4.güne doğru istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalması öğrenmenin gerçekleştiğini göstermiştir.

Gruplar arası karşılaştırmaların, Gün ve Trial değişkenleri ile etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı değildir (Gün*Grup: $F_{9,180}=0,811$, $p=0,607$, Trial*Grup: $F_{9,180}=1,69$, $p=0,093$, Gün**Trial**Grup: $F_{27,540}=0,792$, $p=0,764$). Kontrol ve deney gruplarının platformu bulmak için kat ettiği mesafenin ortalama değer ve standart hataları Tablo 4.8’de verilmiştir.

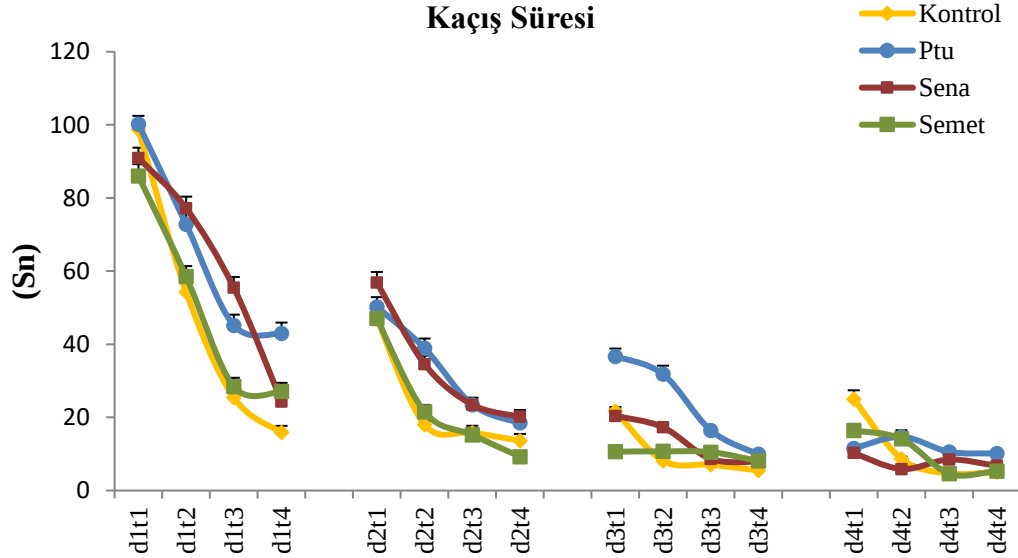
Tablo 4. 8 Morris Su Tankında sıçanların platformu bulmak için katettiği mesafenin ortalama değerleri

		Kontrol	SH	Ptu	SH	Sena	SH	Semet	SH
1.GÜN	d1t1	1114	20	1207	18	1096	20	1016	29
	d1t2	882	36	943	31	1017	28	881	27
	d1t3	535	32	639	27	842	33	498	32
	d1t4	344	25	626	28	401	24	479	28
2.GÜN	d2t1	832	39	786	23	873	31	819	36
	d2t2	494	29	697	31	663	32	486	31
	d2t3	301	24	513	27	493	28	295	17
	d2t4	220	14	338	17	362	16	254	14
3.GÜN	d3t1	569	27	664	26	424	25	273	19
	d3t2	249	11	573	25	439	22	332	16
	d3t3	189	6	406	25	216	10	273	17
	d3t4	146	5	210	8	185	8	217	7
4.GÜN	d4t1	474	28	317	17	279	11	334	24
	d4t2	233	18	289	20	157	6	228	13
	d4t3	132	7	273	13	180	7	128	6
	d4t4	137	4	298	15	162	5	174	7

(Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir. * Kontrole göre $p<0,05$)

4.5.2. Sıçanların Kaçış Süresi Değerlendirmesi

Grupların Morris Su Tankında platformu bulmak için geçirdiği sürenin değerlendirildiği kaçış süresi grafiği Şekil 4.9’da sunulmuştur.



Şekil 4. 9 Morris Su Tankında sıçanların kaçış süresi grafiği

Grupların kaçış süresi, Gün ($F_{3,180}=93,987$, $p=0,001$), Trial ($F_{3,180}=76,062$, $p=0,001$) ve Gün*Trial ($F_{9,540}=11,265$, $p=0,001$) etkileşimi istatistiksel olarak

anlamli bulunmuştur. Grupların kaçış süresi 1.günden 4.güne doğru azalarak öğrenmenin gerçekleştiği gösterilmiştir.

Gruplar arası karşılaştırmaların, Gün ve Trial değişkenleri ile etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Gün*Grup: $F_{9,180}=0,911$, $p=0,517$, Trial*Grup: $F_{9,180}=1,164$, $p=0,32$, Gün*Trial*Grup: $F_{27,540}=0,601$, $p=0,946$). Grupların kaçış süresi ortalama değerleri ve standart hataları Tablo 4.10’da verilmiştir.

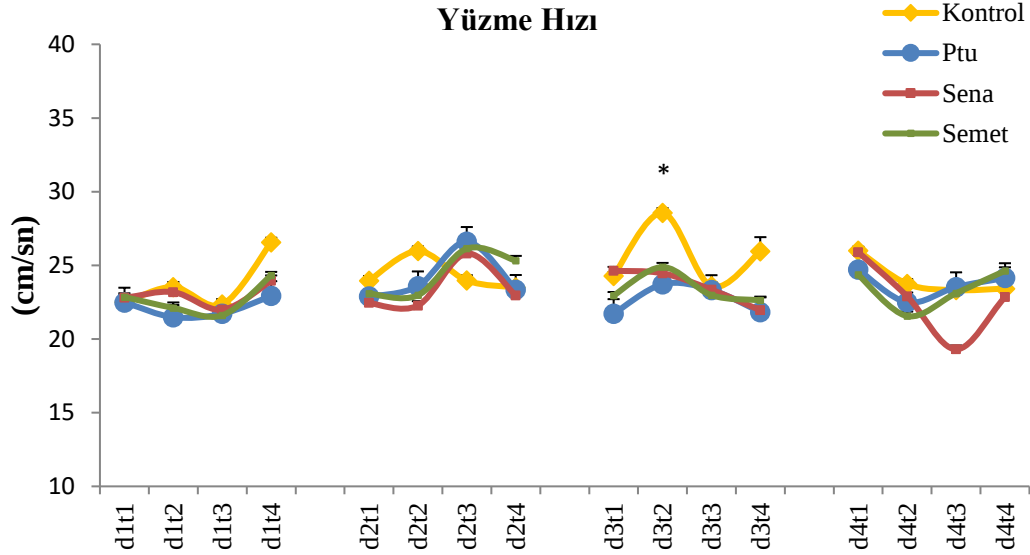
Tablo 4. 9 Morris Su Tankında sıçanların kaçış sürelerinin ortalama değerleri

		Kontrol		Ptü		Sena		Semet	
1.GÜN	D1T1	98,72	2,45	100,19	2,27	90,98	2,79	86,00	3,26
	D1T2	54,36	2,92	72,81	3,16	77,19	3,19	58,56	2,83
	D1T3	25,44	1,88	45,19	2,92	55,46	2,93	28,41	2,43
	D1T4	15,90	1,79	42,98	2,96	24,31	2,37	27,08	2,38
2.GÜN	D2T1	46,93	2,88	50,21	2,68	56,91	2,87	47,06	2,91
	D2T2	17,99	1,10	38,92	2,65	34,59	2,32	21,49	1,92
	D2T3	15,86	1,86	23,47	1,83	23,48	1,92	15,20	1,78
	D2T4	13,66	1,80	18,49	1,78	20,23	1,78	9,28	0,54
3.GÜN	D3T1	21,82	1,04	36,63	2,20	20,41	1,84	10,63	0,72
	D3T2	8,14	0,43	31,84	2,31	17,30	0,97	10,72	0,59
	D3T3	7,08	0,24	16,46	0,99	8,64	0,46	10,53	0,62
	D3T4	5,49	0,22	9,92	0,64	7,93	0,45	8,08	0,31
4.GÜN	D4T1	25,06	2,36	11,49	0,82	10,28	0,50	16,41	1,81
	D4T2	8,66	0,66	14,71	1,77	5,88	0,35	14,13	1,78
	D4T3	4,68	0,26	10,59	0,51	8,48	0,30	4,61	0,25
	D4T4	5,05	0,20	10,12	0,52	6,79	0,27	5,29	0,23

(Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.* Kontrole göre $p<0,05$)

4.5.3. Sıçanların Yüzme Hızı Değerlendirmesi

Grupların Morris Su Tankında yüzme hızlarının değerlendirildiği grafik Şekil 4.10'da verilmiştir.



Şekil 4. 10 Morris Su Tankında sıçanların yüzme hızı grafiği

Şekil 4.10'da görüldüğü üzere yüzme hızı, Gün ($F_{3,180}=3,323$, $p=0,021$) ve Gün*Triall ($F_{9,540}=7,827$, $p=0,001$) etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir. Yüzme hızı ve Trial değişkeni etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Trial: $F_{3,180}=1,729$, $p=0,942$)

Gruplar arası karşılaştırmaların, Trial değişkeni ile etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Trial*Grup: $F_{9,180}=2,458$, $p=0,012$). Gruplar arası karşılaştırmaların, Gün ve Gün*Triall değişkenleri ile etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Gün*Grup: $F_{9,180}=1,417$, $p=0,184$, Gün*Triall*Grup: $F_{27,540}=1,051$, $p=0,396$).

Gruplar arası karşılaştırmalar Tek Yönlü ANOVA, Post hoc Tukey testi ile yapıldı. 3.günün 2.trialinde Kontrol grubu, Ptü ($p=0,012$), Sena ($p=0,043$) ve Semet ($p=0,012$) grubundan istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir. Kontrol ve deney gruplarının yüzme hızlarının ortalama değer ve standart hataları Tablo 4.10'da verilmiştir.

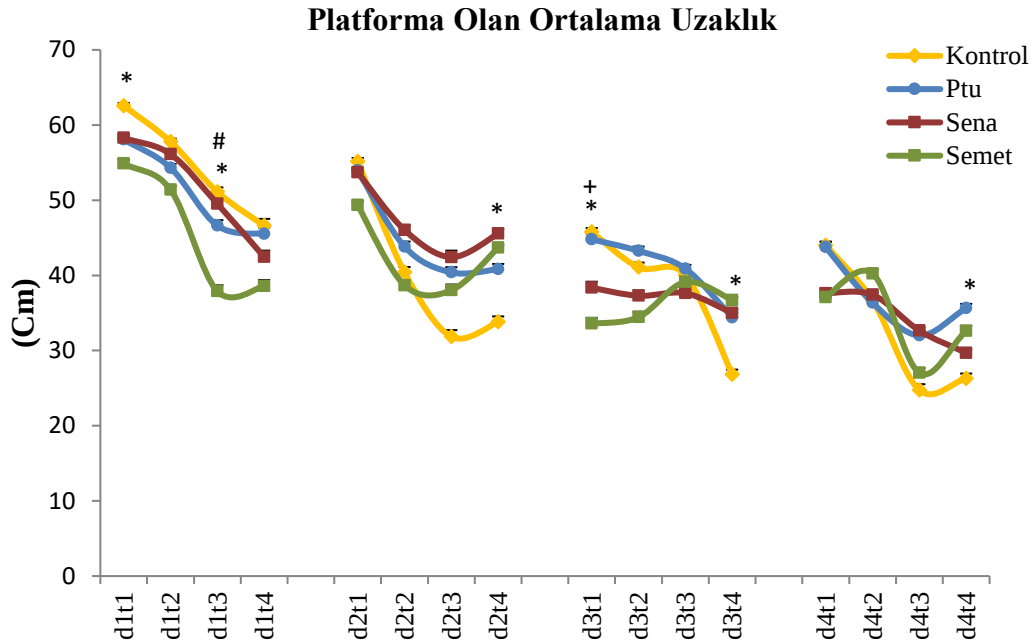
Tablo 4. 10 Morris Su Tankında sıçanların yüzme hızlarının ortalama değerleri

		Kontrol		Ptu		Sena		Semet	
1. GÜN	D1T1	22,50	0,19	22,48	0,22	22,79	0,20	22,85	0,25
	D1T2	23,53	0,34	21,48	0,14	23,18	0,26	22,11	0,19
	D1T3	22,34	0,24	21,71	0,16	21,99	0,22	21,61	0,27
	D1T4	26,56	0,32	22,93	0,19	23,96	0,36	24,32	0,24
2. GÜN	D2T1	23,96	0,32	22,88	0,24	22,44	0,24	23,09	0,23
	D2T2	25,97	0,31	23,59	0,28	22,27	0,30	22,97	0,33
	D2T3	23,97	0,36	26,60	0,29	25,81	0,33	26,14	0,33
	D2T4	23,51	0,23	23,34	0,20	22,94	0,31	25,32	0,32
3. GÜN	D3T1	24,29	0,26	21,71	0,16	24,63	0,27	22,95	0,24
	D3T2	28,56	0,33	23,72 *	0,24	24,46 *	0,24	24,88 *	0,28
	D3T3	23,58	0,28	23,33	0,26	23,35	0,20	22,98	0,22
	D3T4	25,95	0,96	21,83	0,33	21,94	0,28	22,64	0,24
4. GÜN	D4T1	26,00	0,26	24,72	0,34	25,89	0,32	24,36	0,26
	D4T2	23,74	0,32	22,49	0,22	22,89	0,26	21,56	0,30
	D4T3	23,32	0,39	23,53	0,25	19,30	0,26	23,11	0,18
	D4T4	23,42	0,20	24,14	0,26	22,84	0,39	24,63	0,24

(Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir. * Kontrole göre $p<0,05$)

4.5.4. Sıçanların Platforma Olan Ortalama Uzaklık Değerleri

Grupların Morris Su Tankında platforma olan ortalama uzaklıklarının grafiği Şekil 4.11’de sunulmuştur.



Şekil 4. 11 Morris Su Tankında sıçanların platforma olan ortalama uzaklık grafiği

Platforma olan ortalama uzaklık değerleri kaçış süresi ve katedilen mesafe parametrelerinin aksine yüzme hızından etkilenmez. Platforma olan ortalama uzaklığın, Gün ($F_{3,180}=113,702$, $p=0,001$), Trial ($F_{3,180}=92,890$, $p=0,001$) ve Gün**Trial* ($F_{9,540}=7,371$, $p=0,001$) değişkenleri ile etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Grupların platforma olan ortalama uzaklıkları 1.günden 4.güne doğru azalarak öğrenmenin gerçekleştiğini göstermiştir. Grup faktörünün, Gün ve Trial değişkenleri ile ikili etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Gün*Grup: $F_{9,180}=3,496$, $p=0,001$, Trial*Grup: $F_{9,180}=5,039$, $p=0,001$). Grup faktörü, Gün ve Trial değişkenlerinin üçlü etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı değildir (Gün*Trial*Grup: $F_{27,540}=1,329$, $p=0,126$). Kontrol ve deney gruplarının platforma olan ortalama uzaklığın ortalama değer ve standart hataları Tablo 4.11’de verilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmalar Tek Yönlü ANOVA, Post hoc Tukey testi ile yapıldı. 1.günün 1.trialinde kontrol grubu, Semet ($p=0,013$) grubundan, 1.günün 3.trialinde Semet grubu, Kontrol ($p=0,007$) ve Sena ($p=0,021$) grubundan, 2.günün 4.trialinde Kontrol grubu, Sena ($p=0,007$) ve Semet ($p=0,031$) grubundan, 3.günün

1.trialinde Semet grubu, Kontrol (p=0,019) ve Ptu (p=0,036) grubundan, 3.günün 4.trialinde Kontrol grubu, Semet (p=0,012) ve Sena (p=0,05) grubundan, 4.günün 4.trialinde Kontrol grubu, Ptu (p=0,043) grubundan istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir.

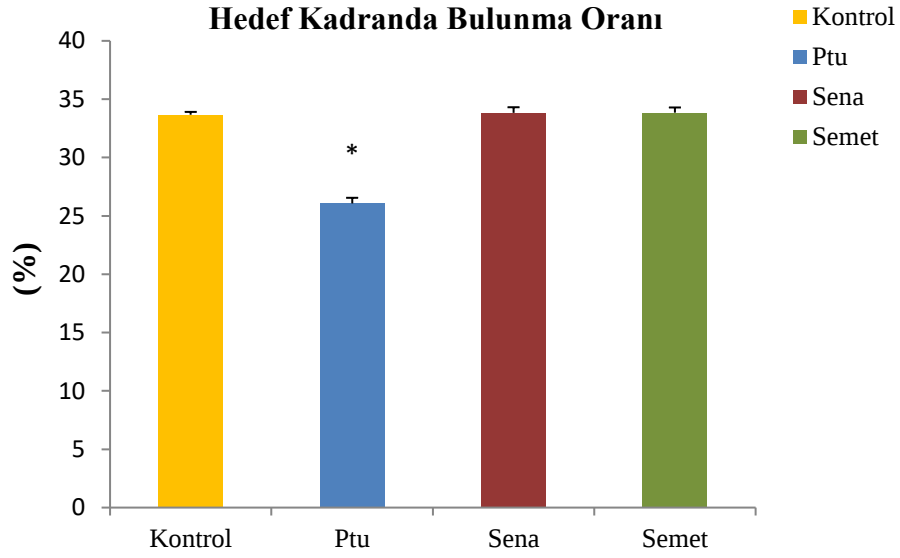
Tablo 4. 11 Morris Su Tankında sıçanların platforma olan ortalama uzaklıklarının ortalama değerleri

		Kontrol		Ptu		Sena		Semet	
1. GÜN	D1T1	62,56	0,38	58,08	0,39	58,28	0,47	54,88 *	0,48
	D1T2	57,78	0,40	54,31	0,51	56,12	0,50	51,39	0,49
	D1T3	51,09	0,60	46,61	0,74	49,52 #	0,60	37,89 *	0,79
	D1T4	46,61	0,90	45,52	0,85	42,44	0,85	38,59	0,80
2. GÜN	D2T1	55,13	0,48	53,96	0,28	53,70	0,55	49,33	0,56
	D2T2	40,39	0,72	43,82	0,68	46,03	0,61	38,68	0,71
	D2T3	31,84	0,88	40,39	0,71	42,42	0,87	38,01	0,77
	D2T4	33,80	0,74	40,84	0,68	45,56 *	0,62	43,68 *	0,36
3. GÜN	D3T1	45,76	0,54	44,79 +	0,72	38,35	0,81	33,59 *	0,76
	D3T2	41,07	0,63	43,25	0,58	37,28	0,70	34,43	0,73
	D3T3	40,03	0,51	40,89	0,51	37,63	0,35	39,12	0,51
	D3T4	26,81	0,65	34,40	0,62	35,00 *	0,47	36,71 *	0,42
4.GÜN	D4T1	44,00	0,44	43,75	0,75	37,61	0,69	37,08	0,70
	D4T2	36,67	0,53	36,34	0,41	37,43	0,36	40,24	0,57
	D4T3	24,74	0,78	32,00	0,73	32,64	0,42	27,03	0,64
	D4T4	26,27	0,66	35,64 *	0,57	29,69	0,54	32,61	0,66

(Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. (*) Kontrole göre p<0,05, (#) Semet ve Sena grupları arasında p<0,05, (+) Semet ve Ptu grupları arasında p<0,05)

4.5.5. Sıçanların Hedef Kadranda Bulunma Oranı Değerlendirmesi

Kontrol ve deney grubu sıçanların hedef kadranda geçirdiği sürenin, Morris Su Tankında geçirilen toplam süreye oranının yüzde olarak grafiği Şekil 4.12’de verilmiştir.



Şekil 4. 12 Morris Su Tankında sıçanların hedef kadranda bulunma oranı grafiği

Tek yönlü ANOVA testi ile yapılan gruplar arası karşılaştırmalarda Ptü grubu sıçanların, kontrol grubu sıçanlara göre hedef kadranda bulunma oranı istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturmuştur ($p=0,013$). Semet ve Sena grubu sıçanlar, kontrol grubu sıçanlardan istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir ($p>0,05$). Kontrol ve deney gruplarının hedef kadranda bulunma oranı ortalama değer ve standart hataları Tablo 4.12’de verilmiştir.

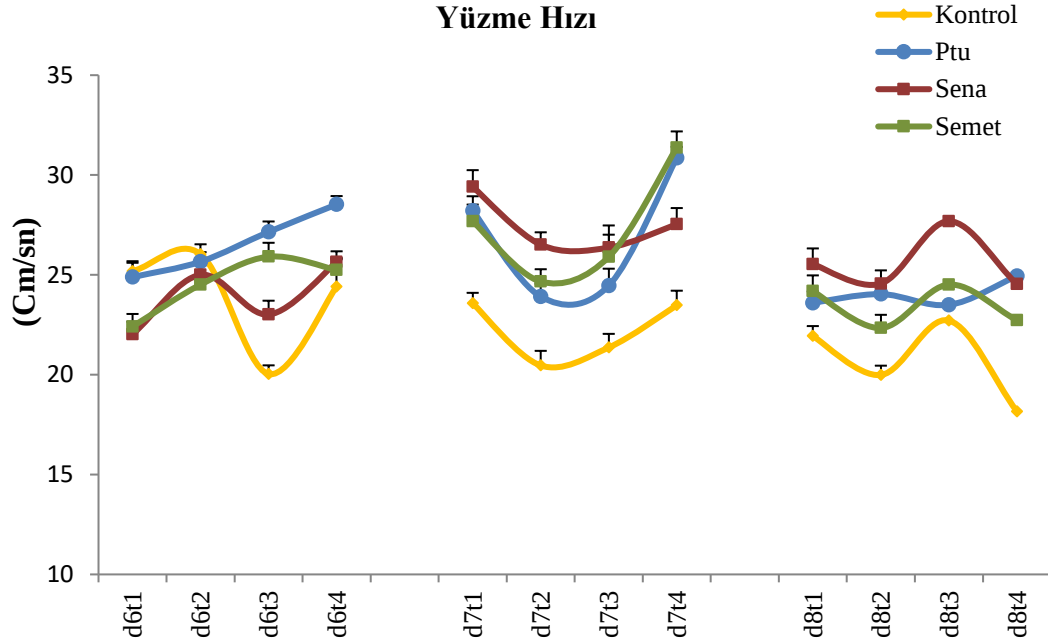
Tablo 4. 12 Morris Su Tankında sıçanların hedef kadranda bulunma oranı ortalama değerleri

	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	33,67	0,24
Ptü	26,07 *	0,48
Sena	33,83	0,48
Semet	33,85	0,44

(Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir. * Kontrole göre $p<0,05$)

4.5.6. Sıçanların Reverse Öğrenmede Yüzme Hızı Değerlendirmesi

Grupların Morris Su Tankında 6, 7 ve 8. günlerdeki yüzme hızlarının değerlendirildiği grafik Şekil 4.13'te verilmiştir.



Şekil 4. 13 Morris Su Tankında sıçanların 6, 7 ve 8.günlerdeki yüzme hızı grafiği

Sıçanların yüzme hızı, Gün ve Gün*Trial değişkenleri ile etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Gün: $F_{2,54}=4,995$, $p=0,01$, Gün*Trial: $F_{6,162}=5,582$, $p=0,001$). Yüzme hızı ve Trial değişkeni etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Trial: $F_{3,81}=2,071$, $p=0,11$).

Grup faktörünün, Gün, Trial ve Gün*Trial ile etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı değildir (Gün*Grup: $F_{6,54}=1,512$, $p=0,192$, Trial*Grup: $F_{9,81}=0,952$, $p=0,486$, Gün*Trial*Grup: $F_{18,162}=1,009$, $p=0,453$). Kontrol ve deney gruplarının yüzme hızlarının ortalama değer ve standart hataları Tablo 4.13'te verilmiştir.

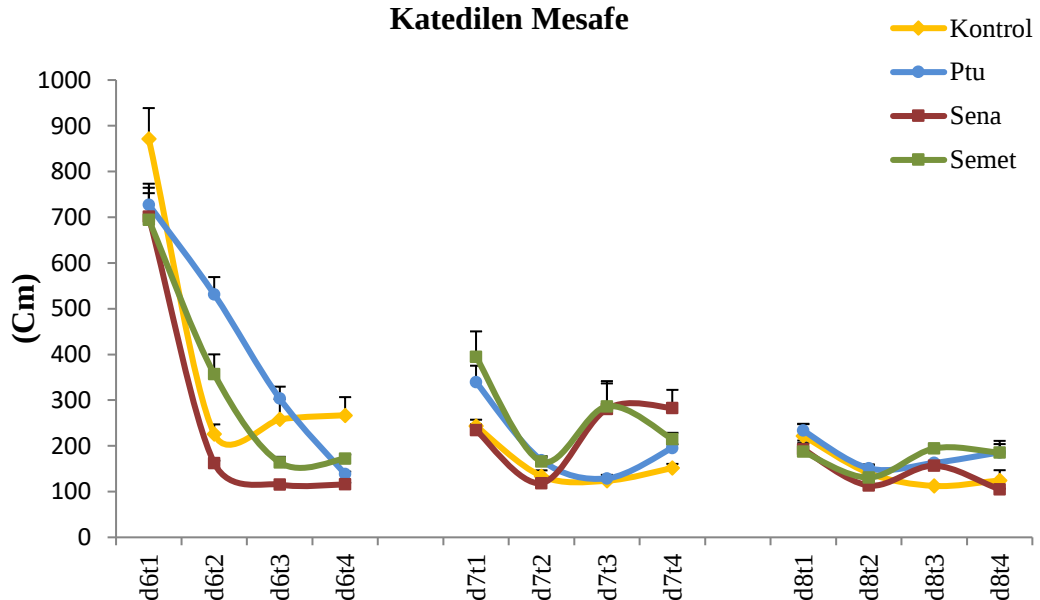
Tablo 4. 13 Morris Su Tankında sıçanların 6, 7 ve 8.günlerdeki yüzme hızı ortalama değerleri

		Kontrol		Ptu		Sena		Semet	
6.GÜN	D5T1	25,19	0,50	24,89	0,72	22,03	0,63	22,41	0,53
	D5T2	26,04	0,49	25,66	0,48	25,00	0,48	24,51	0,38
	D5T3	20,04	0,43	27,15	0,52	23,01	0,69	25,91	0,40
	D5T4	24,41	1,43	28,53	0,42	25,64	0,54	25,24	0,60
7.GÜN	D6T1	23,58	0,54	28,21	0,81	29,41	0,39	27,69	0,52
	D6T2	20,46	0,53	23,91	0,72	26,51	0,83	24,66	0,37
	D6T3	21,36	0,73	24,46	0,64	26,36	0,62	25,90	0,76
	D6T4	23,48	0,68	30,86	0,85	27,54	1,11	31,38	0,97
8.GÜN	D7T1	21,94	0,73	23,60	0,54	25,54	0,81	24,19	0,53
	D7T2	19,99	0,64	24,04	0,76	24,56	0,54	22,34	0,66
	D7T3	22,71	0,50	23,50	0,57	27,69	0,79	24,51	0,65
	D7T4	18,16	0,47	24,94	0,47	24,54	0,66	22,73	0,61

(Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir. * Kontrole göre $p<0,05$)

4.5.7. Sıçanların Reverse Öğrenmede Yüzme Mesafesi Değerleri

Kontrol ve deney grubu sıçanların öğrenme periyodunda platformu bulmak için Morris su tankında kat ettiği toplam mesafenin ortalama değerlerinin 6. günden 8. güne doğru değişimi Şekil 4.14'te sunulmuştur.



Şekil 4. 14 Morris Su Tankında sıçanların 6,7 ve 8.günlerdeki kat ettiği mesafe grafiği

Grupların Morris Su Tankında kat ettiği toplam mesafe, Gün ($F_{2,54}=36,387$, $p=0,001$), Trial ($F_{3,81}=25,314$, $p=0,001$) ve Gün*Triall ($F_{6,162}=12,462$, $p=0,001$)

etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Şekil 4.14'te görüldüğü üzere grupların platformu bulmak için kat ettiği mesafenin 6.günden 8.güne doğru istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalması, sıçanların platformun eski yerini unutup yeni yerini öğrendiğini göstermiştir.

Grup faktörünün, Gün, Trial ve Gün*Trial ile etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı değildir (Gün*Grup: $F_{6,54}=2,170$, $p=0,06$, Trial*Grup: $F_{9,81}=0,409$, $p=0,927$, Gün*Trial*Grup: $F_{18,162}=0,708$, $p=0,800$). Kontrol ve deney gruplarının su tankında kat ettiği mesafenin ortalama değer ve standart hataları Tablo 4.14'te verilmiştir.

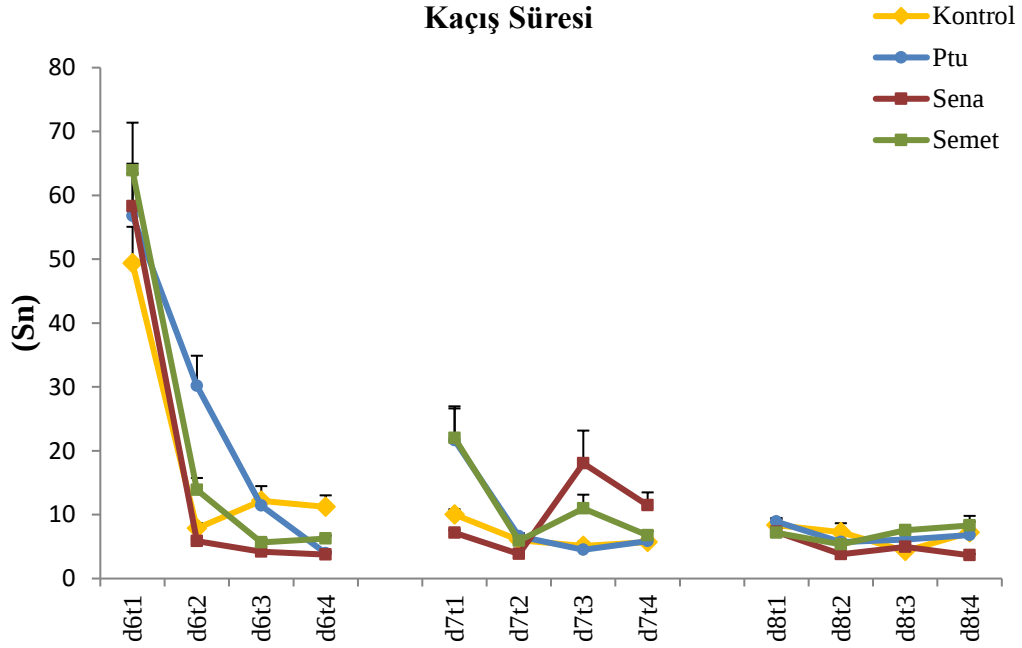
Tablo 4. 14 Morris Su Tankında sıçanların 6, 7 ve 8.günlerdeki kat ettiği mesafenin ortalama değerleri

		Kontrol		Ptu		Sena		Semet	
6.GÜN	D5T1	871,63	67,07	727,53	45,78	701,28	51,43	694,56	69,95
	D5T2	226,09	20,91	531,48	37,68	162,60	4,90	357,00	43,15
	D5T3	258,01	44,10	303,75	25,76	115,39	4,82	163,91	12,16
	D5T4	267,00	39,63	138,66	5,03	115,84	3,30	172,23	8,55
7.GÜN	D6T1	243,56	13,68	339,48	35,88	234,41	13,04	395,08	55,28
	D6T2	133,95	12,57	168,63	9,27	118,61	2,68	165,66	9,01
	D6T3	123,78	12,89	128,81	4,90	280,84	60,82	286,54	50,12
	D6T4	151,69	8,96	195,61	7,63	282,99	39,50	214,70	13,88
8.GÜN	D7T1	222,11	25,46	233,49	14,81	192,44	19,21	187,53	18,49
	D7T2	140,66	18,83	150,94	6,77	113,41	2,82	130,80	7,66
	D7T3	112,46	4,01	162,75	2,68	156,68	2,13	194,26	6,82
	D7T4	124,41	22,43	185,75	18,23	105,06	1,35	185,66	25,32

(Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir. * Kontrole göre $p<0,05$)

4.5.8. Sıçanların Reverse Öğrenmede Kaçış Süresi Değerleri

Grupların Morris Su Tankında platformu bulmak için geçirdiği sürenin değerlendirildiği kaçış süresi grafiği Şekil 4.15'te sunulmuştur.



Şekil 4. 15 Morris Su Tankında sıçanların 6, 7 ve 8.günlerdeki kaçış süresi grafiği

Grupların kaçış süresi, Gün ($F_{2,54}=26,001$, $p=0,001$), Trial ($F_{3,81}=21,126$, $p=0,001$) ve Gün*Trial ($F_{6,162}=13,843$, $p=0,001$) etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Şekilde görüldüğü üzere grupların 6. günden itibaren 8. güne doğru kaçış süresinde azalma göstermesi öğrenmenin gerçekleştiğini göstermiştir.

Grup faktörünün, Gün, Trial ve Gün*Trial ile etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı değildir (Gün*Grup: $F_{6,54}=0,542$, $p=0,774$, Trial*Grup: $F_{9,81}=0,493$, $p=0,876$, Gün*Trial*Grup: $F_{18,162}=0,525$, $p=0,943$). Kontrol ve deney gruplarının kaçış süresi ortalama değer ve standart hataları Tablo 4.15'te verilmiştir.

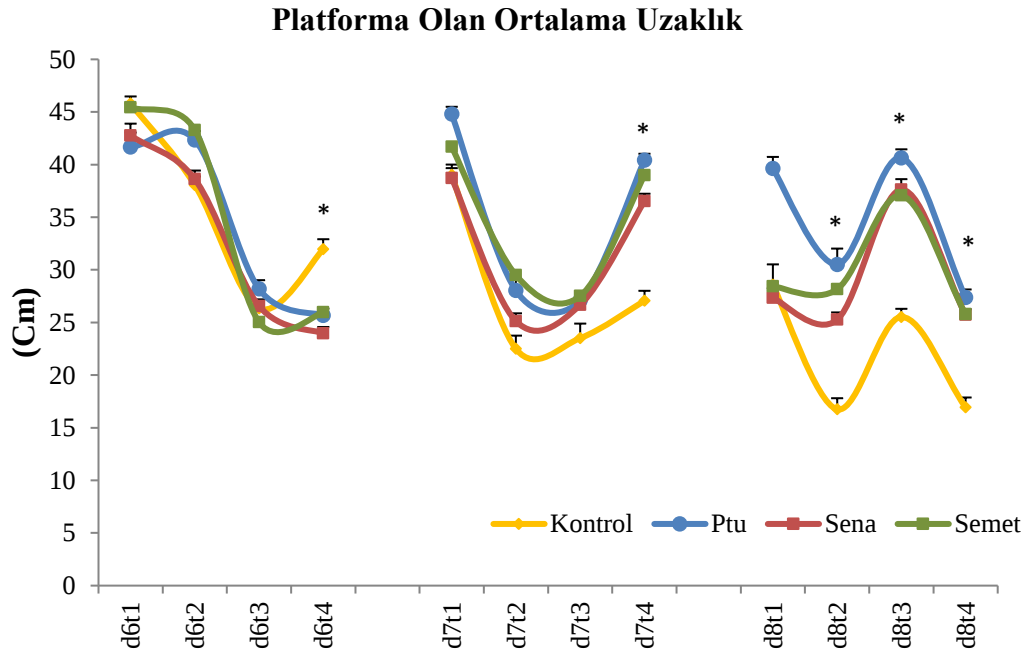
Tablo 4. 15 Morris Su Tankında sıçanların 6, 7 ve 8.günlerdeki kaçış süresi ortalama değerleri

		Kontrol		Ptu		Sena		Semet	
6.GÜN	D5T1	49,35	5,72	56,80	6,63	58,30	6,66	63,88	7,51
	D5T2	7,85	0,82	30,19	4,70	5,85	0,32	13,90	1,85
	D5T3	12,18	2,30	11,40	1,23	4,23	0,20	5,65	0,57
	D5T4	11,24	1,79	3,98	0,20	3,75	0,20	6,28	0,42
7.GÜN	D6T1	10,04	0,82	21,65	4,98	7,15	0,47	21,99	4,97
	D6T2	5,99	0,67	6,59	0,49	3,88	0,25	5,89	0,40
	D6T3	5,11	0,63	4,49	0,22	18,01	5,15	10,98	2,16
	D6T4	5,70	0,38	5,86	0,41	11,46	2,03	6,74	0,68
8.GÜN	D7T1	8,36	0,93	8,93	0,56	7,31	0,88	7,14	0,86
	D7T2	7,25	1,41	5,70	0,35	3,81	0,17	5,35	0,37
	D7T3	4,29	0,28	6,11	0,12	4,95	0,19	7,55	0,44
	D7T4	7,19	1,72	6,79	0,83	3,64	0,20	8,31	1,50

(Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir. * Kontrole göre $p < 0,05$)

4.8.9. Sıçanların Reverse Öğrenmede Platforma Olan Ortalama Uzaklık Değerleri

Grupların Morris Su Tankında platforma olan ortalama uzaklığının değerlendirildiği grafik Şekil 4.16' da sunulmuştur.



Şekil 4. 16 Morris Su Tankında sıçanların 6, 7 ve 8.günlerdeki platforma olan ortalama uzaklık grafiği

Grupların platforma olan ortalama uzaklığı Gün ($F_{2,54}=17,281$, $p=0,001$), Trial ($F_{3,81}=34,490$, $p=0,001$) ve Gün*Trial ($F_{6,162}=33,955$, $p=0,001$) etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Şekil 4.16’ da görüldüğü üzere grupların 6. günden itibaren 8. güne doğru platforma olan ortalama uzaklıktaki azalma öğrenmenin gerçekleştiğini göstermiştir.

Grup faktörü ve Gün etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Gün*Grup: $F_{6,54}=5,050$, $p=0,001$). Grup faktörü, Trial ve Gün*Trial etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı değildir (Trial*Grup: $F_{9,81}=0,973$, $p=0,468$, Gün*Trial*Grup: $F_{18,162}=1,230$, $p=0,243$). Kontrol ve deney gruplarının platforma olan ortalama uzaklığın ortalama değer ve standart hataları Tablo 4.16’ da verilmiştir.

6.günün 4.trialinde Kontrol grubu Sena grubundan ($p=0,042$), 7.günün 4.trialinde Kontrol grubu, Ptu ($p=0,005$), Sena ($p=0,018$) ve Semet ($p=0,001$), grubundan, 8.günün 2.trialinde Kontrol grubu, Ptu ($p=0,013$) ve Semet ($p=0,038$) grubundan ($p<0,012$), 8.günün 3.trialinde Kontrol grubu, Ptu ($p=0,001$), Sena ($p=0,004$) ve Semet grubundan ($p=0,003$), 8.günün 4.trialinde Kontrol grubu, Ptu ($p=0,008$), Sena ($p=0,03$) ve Semet grubundan ($p=0,03$) anlamlı bir şekilde farklı öğrenme performansları gerçekleştirmiştir.

Tablo 4. 16 Morris Su Tankında sıçanların 6,7 ve 8. günlerdeki platforma olan ortalama uzaklık ortalama değerleri

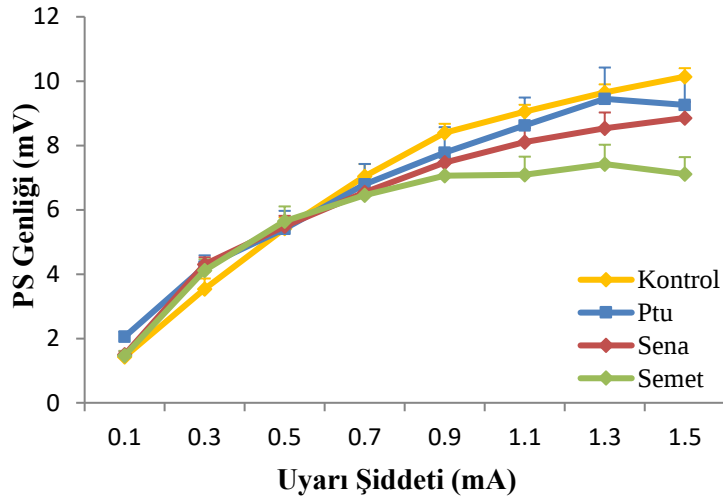
		Kontrol		Ptu		Sena		Semet	
6.GÜN	D5T1	45,80	0,68	41,66	1,38	42,76	1,06	45,44	1,13
	D5T2	38,05	0,82	42,34	0,86	38,61	0,90	43,29	0,82
	D5T3	26,35	0,85	28,19	0,83	26,56	0,82	25,03	0,56
	D5T4	31,96	0,95	25,68	0,64	23,98 *	0,53	25,96	0,60
7.GÜN	D6T1	39,01	0,99	44,80	0,69	38,73	0,73	41,69	0,94
	D6T2	22,49	1,27	28,03	1,21	25,13	0,76	29,49	0,75
	D6T3	23,51	1,38	27,09	0,46	26,68	0,78	27,51	0,67
	D6T4	27,06	0,95	40,43 *	0,60	36,54 *	0,65	38,99 *	0,70
8.GÜN	D7T1	28,58	1,95	39,61	1,12	27,34	1,39	28,44	0,93
	D7T2	16,75	1,06	30,51 *	1,51	25,26	0,59	28,16 *	0,69
	D7T3	25,53	0,77	40,64 *	0,82	37,61 *	0,52	37,06 *	1,01
	D7T4	16,94	0,94	27,38 *	0,77	25,73 *	0,64	25,78 *	0,53

(Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir. * Kontrole göre $p<0,05$)

4. 6. Uzun Dönemli Güçlenme Kaydı Bulguları

4.6.1. Farklı Uyaran Şiddetlerine Karşı Oluşan Populasyon Spike Genlik Değerleri ve EPSP Değişimi İçin Eğim Değerleri

Deney gruplarının dentat girus nöronlarından bazal kayıt döneminde 0,1 mA-1,5 mA arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı alınan UDG kayıtlarında PS genliklerinin değişimleri Şekil 4.17' de gösterilmiştir.



Şekil 4. 17 Grupların dentat girus nöronlarından 0,1 mA-1,5 mA arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı alınan UDG kayıtlarında Populasyon Spike (PS) genliklerinin değişimleri

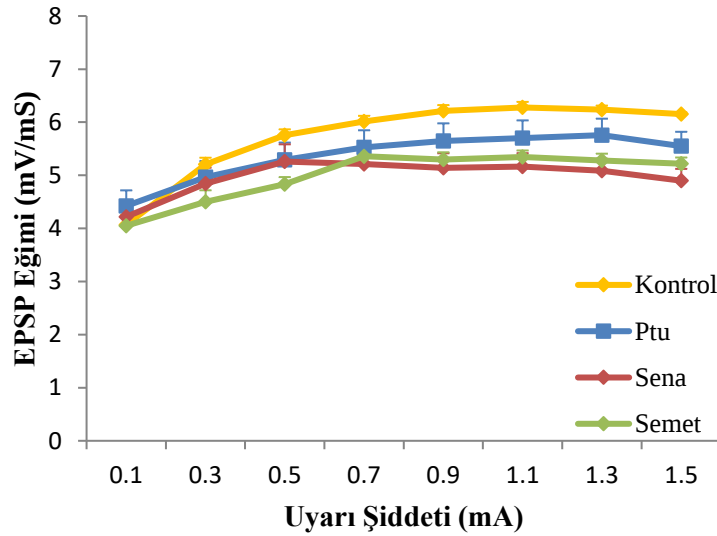
Verilerin tekrarlayan ölçümlerde ANOVA testi ile değerlendirilmesi uyarı şiddeti arttıkça PS genliğindeki artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu ortaya koydu ($F_{7,147}=71,77$; $p<0,001$). Uyarı şiddeti ve Grup etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Grup*Uyarı şiddeti: $F_{21,147}=0,958$, $p=0,518$). PS genliklerinin değerleri rakamsal olarak Tablo 4.17 'de verilmiştir.

Tablo 4. 17 Grupların 0,1 mA – 1,5 mA arasında değişen uyarı şiddetleri ile oluşan PS genliklerinin değerleri

Populasyon Spike Genliği (mV)				
Uyaran Şiddeti (mA)	Kontrol (n=6)	Ptu (n=6)	Sena (n=6)	Semet (n=6)
0,1 mA	1,43±0,1	2,05±0,16	1,50±0,1	1,47±0,14
0,3 mA	3,54±0,32	4,24±0,34	4,30±0,21	4,11±0,34
0,5 mA	5,42±0,34	5,41±0,55	5,49±0,3	5,64±0,46
0,7 mA	7,04±0,38	6,79±0,63	6,55±0,35	6,45±0,53
0,9 mA	8,39±0,28	7,78±0,78	7,47±0,38	7,06±0,56
1,1 mA	9,05±0,21	8,62±0,86	8,11±0,43	7,09±0,55
1,3 mA	9,65±0,25	9,45±0,97	8,54±0,48	7,42±0,60
1,5 mA	10,14±0,26	9,26±0,9	8,86±0,49	7,11±0,52

(Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. * Kontrole göre p<0,05)

Deney gruplarının dentat girus nöronlarından bazal kayıt döneminde 0,1 mA-1,5 mA arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı alınan UDG kayıtlarında EPSP eğimi değişimleri Şekil 4.18' de gösterilmiştir.



Şekil 4. 18 Grupların dentat girus nöronlarından 0,1 mA-1,5 mA arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı alınan UDG kayıtlarında Eksitatör Post-sinaptik Potansiyel (EPSP) eğimi değerlerinin değişimleri

Verilerin tekrarlayan ölçümlerde ANOVA testi ile değerlendirilmesi uyarı şiddeti arttıkça EPSP eğim artışının istatistiksel olarak anlamlı olduğunu ortaya koydu ($F_{7,140}=20,328$; $p<0,001$). Uyarı şiddeti ve Grup etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Grup*Uyarı şiddeti: $F_{21,140}=0,792$, $p=0,726$). EPSP eğim değerleri rakamsal olarak Tablo 4.18' de verilmiştir.

Tablo 4. 18 Grupların 0,1 mA – 1,5 mA arasında değişen uyarı şiddetleri ile oluşan EPSP eğimi değerleri (mV)

EPSP Değişimi Eğim Değerleri (mV/ms)				
Uyaran Şiddeti (mA)	Kontrol (n=6)	Ptu (n=6)	Sena (n=6)	Semet (n=6)
0,1 mA	4,07±0,18	4,42±0,29	4,22±0,2	4,05±0,27
0,3 mA	5,21±0,12	4,97±0,3	4,85±0,29	4,50±0,21
0,5 mA	5,76±0,11	5,29±0,32	5,26±0,32	4,83±0,13
0,7 mA	6,01±0,1	5,53±0,32	5,21±0,3	5,36±0,13
0,9 mA	6,21±0,1	5,65±0,33	5,14±0,27	5,30±0,13
1,1 mA	6,28±0,1	5,70±0,33	5,16±0,25	5,34±0,12
1,3 mA	6,24±0,07	5,76±0,31	5,08±0,22	5,28±0,12
1,5 mA	6,15±0,03	5,55±0,27	4,90±0,22	5,22±0,11

(Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. * Kontrole göre p<0,05)

4.6.2. Uzun Dönemli Güçlenmenin İndüksiyon ve İdame Dönemlerine ait Populasyon Spike Genlik Değerleri

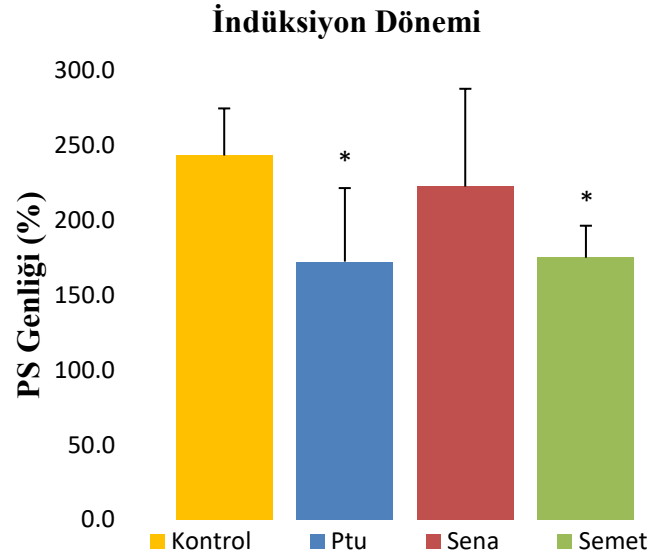
İndüksiyon ve idame dönemlerine ait ortalama PS genliği değerleri Tablo 4.19’da sunulmuştur.

Tablo 4. 19 Grupların indüksiyon ve idame dönemlerine ait PS genliği ortalama değerleri

		Kontrol (n=9)	Ptu (n=9)	Sena (n=7)	Semet (n=7)
Ortalama PS genliği (mV)	İndüksiyon Dönemi	243,4±31,5	172,5±49,1*	222,6±65,4	175,1±21,4*
	İdame Dönemi	227,5±44,5	111,4±39,7*	224,6±73,6	198,8±57,9

(Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. * Kontrole göre p<0,05)

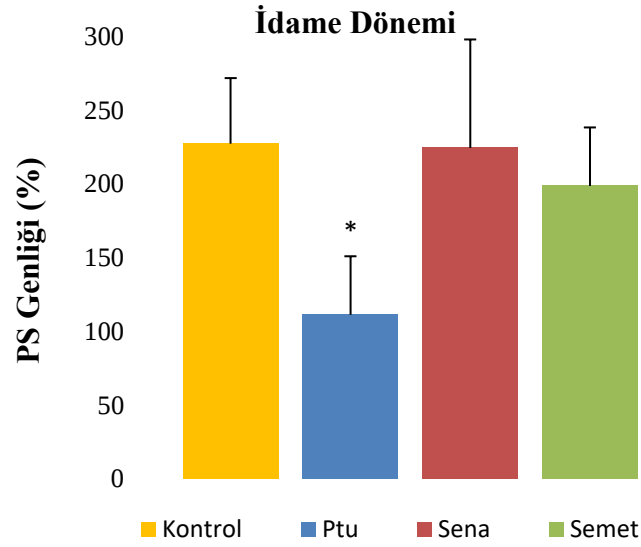
İndüksiyon dönemi PS genliği % değerleri Şekil 4.19' da sunulmuştur.



Şekil 4. 19 Tüm grupların UDG yanıtlarının indüksiyon dönemlerindeki ortalama PS genliği değerleri

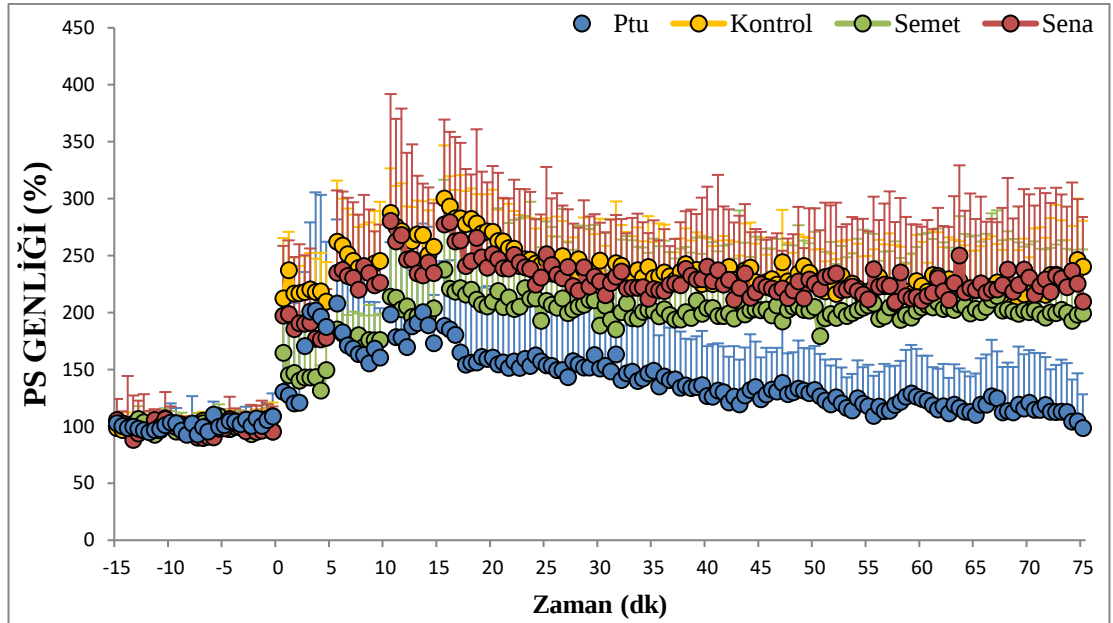
Şekil 4.19'da sunulan indüksiyon dönemi PS genliği değerleri, Tek yönlü ANOVA testi ile gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu ortaya koydu ($F_{3,31}=5,226$, $p=0,005$). Post hoc Tukey testi ile gruplar kıyaslandığında Kontrol grubu, Ptu ($p=0.011$) ve Semet ($p=0,025$) grubundan istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturdu.

PS genliği idame dönemi değerleri Şekil 4.20' de sunulmuştur.



Şekil 4. 20 Tüm grupların UDG yanıtlarının idame dönemlerindeki ortalama PS genliği değerleri

Şekil 4.20' de sunulan idame dönemi PS genliği değerleri, Tek yönlü ANOVA testi ile gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu ortaya koydu ($F_{3,31}=8,863$, $p=0,001$). Post hoc Tukey testi ile gruplar kıyaslandığında Ptü grubu, Kontrol ($p=0,001$), Sena ($p=0,001$), ve Semet ($p=0,016$), grubundan istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturdu. Uzun Dönemli Güçlenme kayıtlarında kontrol ve deney grubu sıçanlara ait PS genliklerinin deney süresince olan değişimi Şekil 4.21' de verilmiştir.



Şekil 4. 21 Populasyon Spike genlik değerleri: Uzun Dönemli Güçlenme deneylerinde elde edilen kontrol ve deney gruplarına ait PS genliklerinin ortalama ve standart sapmaları

4.6.3 Uzun Dönemli Güçlenmenin İndüksiyon ve İdame Dönemlerine ait EPSP Değişimi İçin Eğim Değerleri

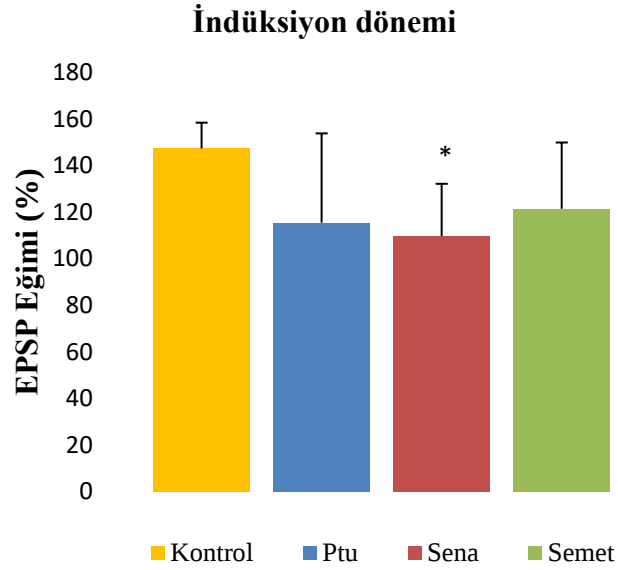
İndüksiyon ve idame dönemlerine ait ortalama EPSP eğimi değerleri Tablo 4.20’de sunulmuştur.

Tablo 4. 20 Grupların indüksiyon ve idame dönemlerine ait EPSP eğimi ortalama değerleri ve standart sapmaları

		Kontrol (n=9)	Ptu (n=9)	Sena (n=7)	Semet (n=7)
Ortalama EPSP eğimi (mV/ms)	İndüksiyon Dönemi	147.35±11.04	115.47±38.3	109.75±22.3*	121.43±28.45
	İdame Dönemi	120.29±15.08	83.33±28.84	85.34±32.05	109.98±48.96

(Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. * Kontrole göre p<0,05)

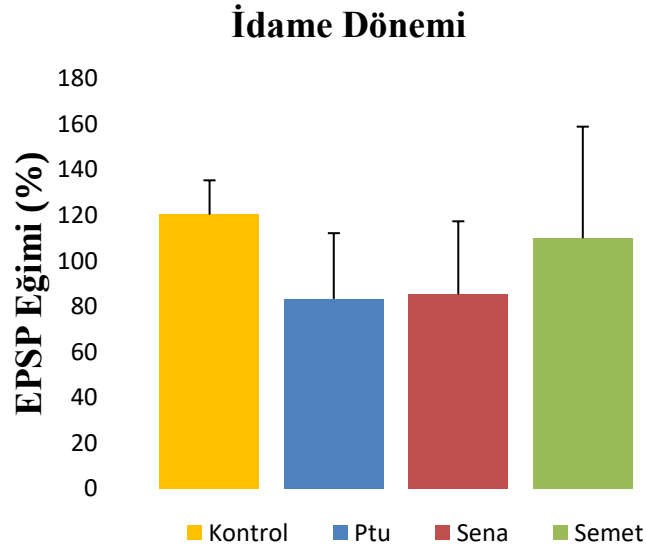
İndüksiyon dönemi EPSP eğimi % değerleri Şekil 4.22' de sunulmuştur.



Şekil 4. 22 Tüm grupların UDG yanıtlarının indüksiyon dönemlerindeki ortalama EPSP eğimi değerleri

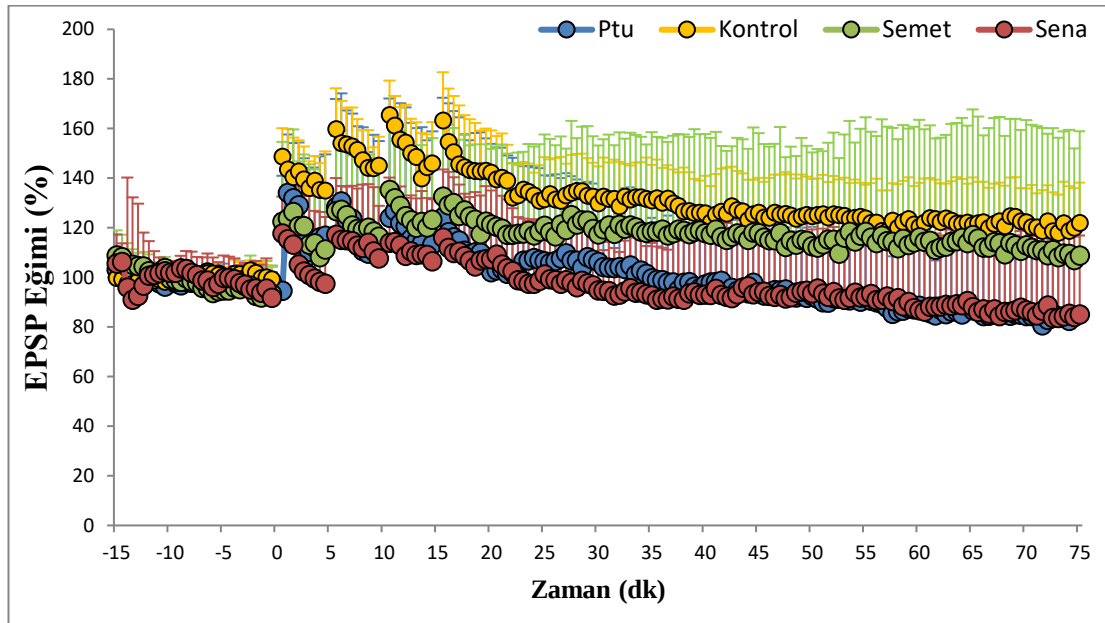
Şekil 4.25’de sunulan indüksiyon dönemi EPSP eğimi değerleri, Tek yönlü ANOVA testi ile değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel anlamlılık bulunmuştur ($F_{3,31}=3.183$, $p=0,039$). Post hoc Tukey testi ile gruplar kıyaslandığında Kontrol grubu ile Sena grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşmuştur ($p=0.048$).

İdame dönemi EPSP eğimi % değerleri Şekil 4.23' te sunulmuştur.



Şekil 4. 23 Tüm grupların UDG yanıtlarının idame dönemlerindeki ortalama EPSP eğimi

Şekil 4.23'te sunulan idame dönemi EPSP eğimi değerleri, Tek yönlü ANOVA testi ile değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır ($F_{3,31}=2,704$, $p=0,064$). Uzun Dönemli Güçlenme deneylerinde elde edilen kontrol ve deney grubu sıçanlara ait EPSP eğimlerinin deney süresince olan değişimi Şekil 4.24' te verilmiştir.



Şekil 4. 24 Eksitator Post-sinaptik Potansiyel eğimi değerleri: Kontrol ve deney gruplarına ait Uzun Dönemli Güçlenme kayıtlarında EPSP eğimlerinin ortalama ve standart sapmaları

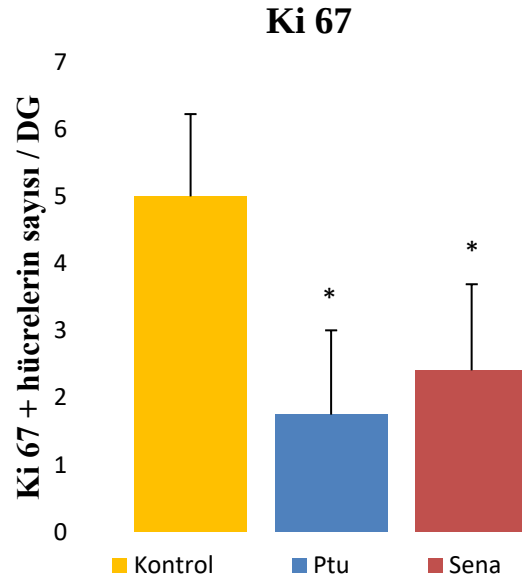
4.7. Nörojenez

Grupların Ki-67 immünohistokimyasal boyama yöntemi ile elde edilen hipokampus kesitlerinin görüntüleri Şekil 4.25’ te sunulmuştur.



Şekil 4. 25 Grupların hipokampus dentat girus subgranüler tabakasında Ki-67 pozitif hücrelerin immünohistokimyasal boyama metodu ile elde edilen görüntüleri

Tek yönlü ANOVA testi ile yapılan istatistiksel analiz sonucu kontrol ve deney grubu sıçanların hipokampus kesitlerinde Ki-67 pozitif hücre sayısı, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($F_{2,16}=9,940$, $p=0,002$). Post hoc Tukey testine göre Ptu ($p=0,002$) ve Sena ($p=0,011$) grubu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir. Ptu ve Sena gruplarına ait hipokampus kesitlerinde Ki-67 pozitif hücre sayısı azalmıştır. Grupların Ki-67 pozitif hücre sayısına ait grafik Şekil 4.26, rakamsal değerleri Tablo 4.21’ de sunulmuştur.



Şekil 4. 26 Grupların dentat girus subgranüler tabakasındaki Ki-67 pozitif hücre sayısı grafiği

Tablo 4. 21 Grupların dentat girus subgranüler tabakasındaki Ki-67 pozitif hücre sayısı ortalama değerleri ve standart sapmaları

	Ortalama	Standart Sapma
Kontrol	5	1,22
Ptu	1,75*	1,25
Sena	2,41*	1,28

(Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. * Kontrole göre $p < 0,05$)

5.TARTIŞMA

Hipotiroidizm, tiroid hormon eksikliği veya daha nadir olarak doku seviyesindeki aktive azalmasına bağlı ortaya çıkan yaygın bir endokrin bozukluktur. Sıklıkla fiziksel ve mental aktivite ön planda olmak üzere metabolik fonksiyonlarda azalma ile karakterizedir (120). Gelişmiş ülkelerde hipotiroidi prevalansı % 4-5 arasında iken subklinik hipotiroidi prevalansı % 4-15 arasındadır (121). Hipotiroidinin nörolojik bulguları baş ağrısı, vertigo, kulak çınlaması, derin tendon reflekslerinde azalma, psikiyatrik bozukluklar ve görme bozukluklarını içerir (120). Tedavi edilmeyen yetişkin hipotiroidi hastalarında konsantrasyon yetersizliği, mental aktivitede yavaşlama, son yaşanan olayları hatırlamada güçlük ve karmaşık soruları anlama ve çözümleme yetersizliği gibi semptomlar görülür (122).

Hipotiroid hastalarının yaygın şikayetlerinden biri kilo alımıdır. Tiroid hormonları Na^+/K^+ ATP az aktivitesini arttırarak bazal metabolik hızı arttırır. Aynı zamanda soğuğa maruziyeti takiben ısı üretimine neden olan adrenerjik sistem ile etkileşim halindedir. Kahverengi yağ dokusunda meydana gelen ve tiroid hormon reseptörlerine ihtiyaç duyan bu süreç adaptif termogeneze olarak adlandırılır. Ek olarak tiroid hormonları yağ dokusunda lipolizi ve karaciğerde yağ asidi oksidasyonunu arttırır. Aşırı tiroid hormonu seviyesi hepatik glukoneogenezi, glukoz üretimini, iskelet kasındaki GLUT4 seviyesini arttırır ve plazma insülin seviyesini düşürür (123). Tüm bu etkiler tiroid hormonlarının glukoz ve yağ metabolizması üzerine katabolik etkileridir. Tiroid hormonlarının yokluğunda bu mekanizmalar zayıflayacağı için hipotiroidi durumunda değişik derecelerde kilo alımı görülür. Bu çalışmada Ptu grubu deneyin 3.haftasında diğer gruplardan ayrılarak istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,02$) kilo artışı göstermiştir. Sena ve Semet grupları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır (Şekil 4.1, $p>0,05$).

Bu çalışmada hipotiroidizmin indüklenmesinde kullanılan Ptu klinikte hipertiroidizm tedavisinde kullanılan tiyoüre türevi bir ilaçtır. Etkisini tiroid peroksidaz inhibisyonu,

DIT ve MIT' in birbirine bağlanmasının engellenmesi ve dolaşımdaki T4'ün T3'e dönüşmesinde rol alan 5-deiyodinaz enzim inhibisyonu ile gösterir. Çalışmamızda serbest T4 seviyeleri gruplar arası karşılaştırıldığında Ptu verilen grupta (Ptu grubu), kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,009$) bir düşüş görülmüştür. Ptu ile birlikte Se verilen Sena ve Semet gruplarında düzeltici bir etki görülmemiştir (Şekil 4.4, $p<0,05$) Ancak serbest T3 düzeyleri karşılaştırıldığında serbest T3 seviyeleri Ptu grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede ($p=0,032$) azalmış, Sena ve Semet gruplarında ise normal seviyelere dönmüştür (Şekil 4.5, $p>0,05$). Se takviyesi hipotiroidizm oluşturulmuş grupta görülen serbest T3 düşüklüğünü ortadan kaldırmış ve düzeltici etki göstermiştir. Bu sonuçlar Esposito ve arkadaşlarının Hashimoto hastalarına uygulanan Se takviyesinin serbest T3 düzeyini artırırken serbest T4 düzeylerini azalttığı bulgusu ile uyumludur. Se takviyesinin serbest T4 üzerine etki göstermezken serbest T3 düzeyini artırması selenyumun tiroid hormon sentezi üzerine etkisinden çok T4, T3 dönüşümünü katalizleyen DİO1 enzim aktivitesini arttırmasına bağlı görünmektedir.

Tip 2 deiyodinaz enzimi santral sinir sistemindeki tiroid hormon seviyesi değişikliklerine adapte olmada önemli bir faktördür. Hipotiroidi gibi beyin tiroid hormon seviyesinin azaldığı durumlarda T4'ün T3'e dönüşümünde rol alan DİO2 enzimi aktivitesi artarak beyin hücrelerini hipotiroidi durumundan korumaya çalışır. Dışarıdan T3 ve T4 uygulaması ile DİO2 mRNA seviyelerinin hızlı bir şekilde azalması, bu etkilerin gen transkripsiyonu ve post-translasyonel mekanizmalar ile gerçekleştiğini düşündürmektedir (124). Bu çalışmada Ptu grubu DİO2 enzimi seviyesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,04$) bir artış göstermiştir (Şekil 4.6). Hipotiroidi durumundaki bu artış DİO2 enzimi üretiminin tiroid hormonunun baskılayıcı etkisinden kurtulmasına bağlı görünmektedir. Sena ve Semet gruplarının DİO2 seviyeleri ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tip 3 deiyodinaz fizyolojik olarak tiroid hormonlarının inaktivatörü konumundadır. T3 ve T4 hormonlarını iç halka deiyodinasyonu ile daha az aktif olan T2 ve rT3' e çevirir. DİO3'ün bu rolü, hücreleri aşırı tiroid hormonu etkisinden korumak üzerinedir. Bu çalışmada Ptu grubu DİO3 enzim seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı

($p=0,001$) derecede düşük bulunmuştur (Şekil 4.7). Bu durum beyin dokusunda T3 hormonunun direk etkiyle DİO3 gen transkripsiyonunu arttırması ile açıklanabilir. Ancak plasentada bu düzenlenmenin olmaması farklı dokularda farklı mekanizmaların rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Retinoik asit, serum büyüme faktörleri, östrojen, progesteron, TGF- β , Wnt- β katenin ve Shh/Gli gibi farklı faktörlerin DİO3 ekspresyonunu arttırırken glukokortikoidlerin ve büyüme hormonunun DİO3 ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (125).

Selenyum deiyodinaz gibi selenoproteinlerin yapısında yer alan eser bir elementtir ve tiroid hormonları metabolizmasında önemli rol alır. Selenyum doğada organik ve inorganik formda bulunur. Bu çalışmada hipotiroidi oluşturulan sıçanlara selenyumun iki farklı formu iki farklı gruba verilmiştir (Sena: Sodyum selenit, inorganik form ve Semet: Seleno-L-metiyonin, organik form). Beyin Se seviyeleri gruplar arasında kıyaslandığında Semet grubu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,005$) artış göstermiştir (Şekil 4.3). Sodyum selenit verilen Sena grubu aynı artışı göstermemiştir ($p=0,06$). Daha önceki çalışmalarımızda her iki formun karaciğer, böbrek, testis ve kalpte birikimi kıyaslandığında seleno-L-metiyonin sodyum selenitten daha fazla birikim gösterdiği bulunmuştur. Çeşitli insan ve hayvan çalışmalarında seleno-L-metiyonin ve selenatın barsaktan emilme oranının selenit ve selenosisteine göre yüksek bulunduğu bildirilmiştir (126). Burada öne sürülen mekanizma seleno-L-metiyonin ve selenatın barsaklardan emiliminde aktif transportu kullandığı selenit ve selenosisteinin ise pasif transportu kullandığı üzerinedir. Ayrıca seleno-L-metiyonin, proteinlere metiyonin pozisyonundan eklenerek unregüle selenyum havuzuna girerken selenit barsaklardan absorpsiyon sırasında selenide indirgenir ve metabolize olmak için karaciğere gelir. Seleno-L-metiyoninin vücutta daha iyi dağılım göstermesi proteinlerin yapısına katılarak karaciğerde metabolize olmaktan kaçınması ile açıklanabilir.

Çalışmamızda beyin Se seviyeleri haricinde plazma Se seviyeleri de değerlendirilmiştir. Grupların plazma Se seviyeleri kıyaslandığında dört grup arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p>0,05$) bir farklılık bulunmamıştır (Şekil 4.2). Literatürde çeşitli Se formlarının plazma Se seviyesi üzerine etkilerine bakıldığında 16 haftalık selenit uygulanmasının plazma Se seviyelerini arttırmadığı gösterilmiştir (127). Ancak aynı çalışma 16 haftalık seleno-L-metiyonin takviyesinin plazma Se

seviyelerini arttırdığını göstermiştir. Grupların plazma Se seviyeleri arasında farklılık bulunmamasının sebebi plazma Se seviyelerinin optimum düzeyde tutulması için karaciğerin selenyum glutatyon peroksidaz 1 enzimi yapısında depolamasına yahut uygulanan selenyum takviye süresinin kısa olmasına bağlı olabilir. Karaciğer glutatyon peroksidaz 1 enzim seviyesi ölçümü ve idrarla atılan Se miktarlarının tespiti gibi daha detaylı araştırmalar bu konunun aydınlatılmasında faydalı olacaktır.

Morris Su Tankı (MST) testi kemirgenler için uzamsal öğrenmenin test edildiği davranış testidir. Su tankının belli bölgelerine bırakılan kemirgenlerin etraftaki ipuçları ile gizlenmiş olan platformun yerini tekrarlayan trialer ile öğretilerek bulması sağlanır (128). Başlangıç öğrenmesinin gerçekleştiği ilk 4 günde grupların yüzme hızları karşılaştırıldığında Trial*Grup etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,012$) bulunmuştur (Şekil 4.10). Kontrol grubu 3.günün 2.trialinde diğer üç gruba göre daha hızlı yüzmüştür. Hipotiroidi gruplarının yüzme hızındaki azalma iskelet kasları için tiroid hormonunun gerekliliğini göstermektedir. Bazı çalışmalarda hipotiroidiye bağlı olarak kırmızı (tip 1) iskelet kası liflerinde enerji üretimini düzenleyen enzimlerin aktivitesinde azalma ve glikojen birikimi gibi etkiler gösterilmiştir (129).

Öğrenmenin değerlendirilmesinde kullanılan platformu bulmak için katedilen mesafe ve platformu bulma süresi yüzme hızlarından etkilenen parametrelerdir. Grupların yüzme hızlarındaki farklılıktan dolayı bu çalışmada yüzme hızından etkilenmeyen platforma olan ortalama uzaklık değerlendirilmiştir. Platforma olan ortalama uzaklık değerleri istatistiksel olarak anlamlı Gün*Grup ($p=0,001$) ve Trial*Grup ($p=0,001$) etkileşimi göstermiştir (Şekil 4.11). Başlangıç öğrenmesinin gerçekleştiği 2.günün 4.trialinde, 3.günün 4.trialinde ve 4.günün 4.trialinde Kontrol grubunun platforma olan ortalama uzaklığı diğer gruplara göre daha az bulunmuştur. Bu farklılık platformun yerini değiştirilerek gerçekleştirilen reverse öğrenme deneylerinin 7.günün 4.trialinde, 8.günün 2.trialinde, 8.günün 3.trialinde ve 8.günün 4.trialinde daha belirginleşmektedir (Şekil 4.16). Ptu, Sena ve Semet gruplarının platforma olan ortalama uzaklıkları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmaktadır ($p<0,05$). Bu bulgular hipotiroidi durumunda uzamsal öğrenme performansında bozulma olduğunu ortaya koymaktadır. Literatürde hipotiroidi oluşturulmuş sıçanlarda farklı davranış testleri (Y maze, Radial arm

Water Maze) ile uzamsal öğrenmenin bozulduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur (130, 131). Hipotiroidi durumu hipokampüste fosforile MAPK ve Ca^{+2} /kalmodulin bağımlı protein kinaz 2 seviyelerinde azalma ile ilişkilendirilmektedir. Aynı zamanda tedavi edilmemiş hipotiroidi durumunda p-MAPK p44/p42 ve pCREB protein seviyelerinde azalma bildirilmiştir (131). Bu sonuçlar hipotiroidi durumunda hipokampüste fosforilasyon ve defosforilasyon dengesinin bozulmasına bağlı öğrenmenin etkilendiğini düşündürmektedir. Morris Su Tankı testinde Ptu grubunda görülen öğrenme performansı bozukluğu Sena ve Semet grubunda da görülmüştür. Bu sonuçlar selenyumun hipotiroidi ile bozulan öğrenme performansına etki göstermediğini düşündürmektedir. Literatürde difenil diselenidin metimazol ile indüklenmiş hipotiroidili sıçanlarda bozulan öğrenme performansını düzelttiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (132). Ancak farklı Se formlarının kullanılması, hipotiroidinin metimazol ile indüklenmesi ve uygulama süresinin daha uzun olması bu tür farklı sonuçların alınmasına neden olabilir. Çalışmamızda öğrenme denemeleri haricinde 5.günde grupların bellek performansının değerlendirildiği prob deneyleri gerçekleştirilmiştir. Platformun yerinden kaldırılarak sıçanların platformun daha önce bulunduğu hedef kadranda geçirdiği sürenin değerlendirildiği bu testte Ptu grubu, Kontrol grubuna göre hedef kadranda daha az süre geçirmiştir (Şekil 4.12, $p=0,013$). Hipotiroidiye bağlı hafıza fonksiyonlarının bozulması öğrenme deneyleri ile uyumludur ancak burada dikkat çekici olan Ptu grubunda görülen hafıza performansı bozulması Sena ve Semet gruplarında görülmemiştir. Bu sonuçlar selenyumun her iki formunun da hipotiroidi ile bozulan hafıza fonksiyonuna olumlu katkıda bulunduğunu göstermektedir. Selenyumun bu etkisi antioksidan özelliklerine bağlı görünmektedir. Hipotiroidizm beynin bazı bölgelerinde lipid peroksidasyonu ve aşırı reaktif oksijen radikali üretimini indükleyebilir. Ayrıca Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), GPx gibi enzimlerin gen ekspresyonu ve aktivitesini değiştirebilir (133). Selenyumun hipokampal granül hücrelerindeki bu enzimler üzerine etkisinin daha detaylı bir şekilde araştırılması muhtemel etki mekanizmalarının açıklanmasına ışık tutucu yönde katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Öğrenme ve bellek mekanizmalarını açıklamak için kullanılan bir diğer deney yöntemi hipokampüsün dentat girus bölgesinde Uzun Dönemli Güçlenme

yanıtlarının incelenmesidir. Bu çalışmada entorinal korteksten dentat girusa uzanan perforan yol giderek artan şiddetlerde uyarılmış ve input/output eğrileri elde edilmiştir. PS genliği ve EPSP eğiminin artan şiddette uyarılarla arttığı görülmüştür. Tekrarlı ölçümlerle ANOVA testi ile gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır (Şekil 4.17 ve 4.18). Bu sonuçlar hipotiroidi gruplarının Se takviyeli veya Se takviyesi olmaksızın kontrol grubu sıçanlarla aynı sinaptik bağlantı ve aksiyon potansiyeli oluşturma gücüne sahip olduğunu göstermiştir. Bazal kayıdın ardından perforan yola yüksek frekanslı uyarı protokolü uygulandığında tüm grupların PS genliği değerlerinde kuvvetli bir potansiyasyon görülmüştür (Şekil 4.19, Kontrol: $243,4 \pm 31,5$, Ptu: $172,5 \pm 49,1$, Sena: $222,6 \pm 65,4$, Semet: $175,1 \pm 21,4$). Tek yönlü ANOVA testi ile gruplardaki potansiyasyon oranları karşılaştırıldığında Ptu grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0,001$). Ptu tedavisi ile indüksiyon ve idame döneminde PS genliğindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır. Bununla birlikte hipotiroidi oluşturulup Se takviyesi yapılan gruplarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık ortadan kalkmıştır. Bu sonuçlar hipotiroid sıçanlarda görülen Uzun Dönemli Güçlenmedeki bozulmanın Se takviyesi ile düzeldiğini göstermektedir. İndüksiyon aşamasında EPSP eğim değerlerinde tüm gruplarda potansiyasyon görülmüştür (Şekil 4.22, Kontrol: 147.35 ± 11.04 , Ptu: 115.47 ± 38.3 , Sena: 109.75 ± 22.3 , Semet: 121.43 ± 28.45). Tek yönlü ANOVA testi ile gruplar arasındaki potansiyasyon oranları karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$). Bilindiği gibi ekstrasellüler olarak alınan UDG' nin EPSP eğimi ile ölçülen sinaptik ve PS genliğindeki değişiklikler ile ölçülen somatik olmak üzere iki komponenti bulunur. PS genliğinin potansiyasyonu genellikle aksiyon potansiyellerinin senkronizasyonu ile korelidir (134). Bu çalışmada PS genliği değerlerinin özellikle etkilenmesi hipotiroidinin sinaptik bağlantılar üzerine etkisinden daha çok post-sinaptik mekanizmalar ile UDG' yi bozduğunu düşündürmektedir. Literatürde hipotiroidinin UDG' de zayıflamaya neden olduğu ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Bir çalışmada hipotiroidi durumunda CA3-CA1 sinapslarında UDG' nin zayıfladığını ancak DG' den alınan UDG kayıtlarında bir etki görülmediği rapor edilmiştir (135). Süer ve arkadaşları dentat girus perforan yoldan elde edilen UDG kayıtlarında zayıflama gözlemlendiğini belirtmiştir (134). Buradaki farklılıklar deneysel hipotiroidinin indüklenmesinde kullanılan farklı metotlar ile ilgili görünmektedir. Tiroid

hormonları non-genomik olarak G protein bağı reseptörleri aktive ederek MAPK aktivasyonuna ve UDG oluşumunda rol alan proteinlerin transkripsiyonuna neden olur. Bazı çalışmalarda hipotiroidi durumunda CA1 bölgesinde MAPK ailesine ait fosforile Erk 1 ve Erk 2 seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir (135). Başka bir çalışmada CA1 bölgesinde UDG indüklenmesi sonrasında Ca^{+2} /kalmodulin bağımlı protein kinaz 2 aktivitesinde artış görüldüğü ve hipotiroidi durumunda bu artışın gerçekleşmediği belirtilmiştir (136). Tiroid hormonlarının hipokampal fonksiyonlar üzerine hangi mekanizmalar ile etki gösterdiği halen detaylı araştırmalar gerektirmektedir.

Yeni nöron oluşumu ve gelişimini ifade eden nörogenez yetişkin memeli beyinde subgranüler ve subventriküler bölgelerde görülmüştür. Bu çalışmada nörogenez ile oluşan yeni hücreleri göstermek için nükleer bir protein olan ve hücre döngüsünün G0 fazı hariç tüm aşamalarında görülebilen Ki-67 belirteci kullanılmıştır. Tiroid hormonlarının nörogenezdeki rolünü anlamak için oluşturulan tüm hipotiroidi grubu (Ptu, Sena) sıçanlara ait hipokampus kesitlerinde Ki-67 pozitif hücrelerin sayısında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlenmiştir (Şekil 4.26, $p<0,05$). Desouza ve arkadaşları 2005 yılında guatrojen ile indüklenen adult başlangıçlı hipotiroidizmde hipokampal projenitör hücrelerin yaşam süresi ve nöronal diferansiyasyonunda azalmayı göstermişlerdir (79). 2006 yılında yapılan başka bir çalışmada tiroidektomi sonrası hipokampal projenitör proliferasyonunda azalma gösterilmiştir (137). Yapılan bu çalışmalar hipotiroidi durumunun nörogenezde azalmaya neden olduğu konusunda hemfikirdir. Ancak bazı araştırmacılar nörogenezdeki azalmanın nedeninin hipokampal projenitör hücre sayısında azalma olduğunu (137) savunurken bazıları post-mitotik düzeyde etkilediğini (79) belirtmektedir. Bu çalışmada projenitör hücrelerden matür granül hücrelerine kadar tüm aşamaları işaretleyen Ki-67 proteini kullanıldığı için hipotiroidinin hangi safhaları etkilediği hakkında fikir sahibi olunamamıştır. Bu çalışmanın asıl amacı olan; hipotiroidi gruplarına Se takviyesinin etkisi incelendiğinde, selenyumun hipotiroidi ile azalan nörogenezi düzeltmediği görülmüştür. Literatürde selenyumun nörogenez üzerine etkisi hakkında yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Zheng ve arkadaşları transjenik Alzheimer Hastalığına sahip sıçan hipokampuslarından hazırlanmış hücre kültürüne seleno-L-

metiyonin uygulandığında düşük dozlarda nörogenezin arttığını yüksek dozlarda ise azaldığını rapor etmişlerdir (138). Başka bir çalışmada travmatik beyin hasarı oluşturulan sıçanların subventriküler bölgesinden hazırlanmış hücre kültürüne sodyum selenit uygulanmış ve nöral prekürsör hücrelerde apoptozis oranında azalma görüldüğü bildirilmiştir (139). Hücre kültüründe yapılan çalışmaların aksine bu çalışma in vivo şartlarda gerçekleştirilmiş ilk çalışma özelliğini taşımaktadır. Hipotiroidi oluşturulmuş sıçanlarda nörogenez gösteren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüş selenyum takviyesi ile Ki-67 pozitif hücre sayısında artış görülmüş ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu durum Se takviyesinin süresine ve nörogenezi göstermede kullanılan boyama yöntemlerinin farklılığından kaynaklanabilir.

6.SONUÇ

Sonuç olarak bu çalışma da erişkin başlangıçlı hipotiroidizmin davranış testleri ve hücresel düzeydeki deneyler ile öğrenme ve bellek performansını bozduğu görülmüştür. Selenyumun hipotiroidi ile bozulan öğrenme üzerine etkisi başlangıç ve ters öğrenmenin gerçekleştiği günlerde görülmezken hafızanın test edildiği prob denemesinde düzeltici etki görülmüştür. Selenyum, UDG' de hipotiroidizme bağlı zayıflamayı ortadan kaldırmıştır. Bu çalışma hipotiroidi durumunda görülen öğrenme ve performans bozukluğunun altında yatan sebebin hipotiroidili gruplarda nöroenez gösteren hücre sayısındaki anlamlı azalma olabileceğine ışık tutmuştur. Selenyumun nöroenez üzerine etkisi gösterilemezken tiroid hormon seviyelerini etkileyerek hipotiroidi hastalarında selenyum takviyesinin öğrenme ve bellek bozukluklarını düzeltebileceğini düşündürmektedir. Organik ve inorganik Se formlarının vücuttaki biyoyararlanımları farklı bulunmuş olsalar bile bu çalışmada her iki formunda öğrenme ve bellek üzerine etkisi benzer bulunmuştur.

7.KAYNAKLAR

1. Kirsten D. The thyroid gland: physiology and pathophysiology. Neonatal Network. 2000;19(8):11-26.
2. Mihai R. Physiology of the pituitary, thyroid, parathyroid and adrenal glands. Surgery (Oxford). 2014;32(10):504-12.
3. Arthur C.Guyton JEH. Textbook of Medical Physiology. eleventh edition ed2016. 934-9 p.
4. Ortiga-Carvalho TM, Sidhaye AR, Wondisford FE. Thyroid hormone receptors and resistance to thyroid hormone disorders. Nature Reviews Endocrinology. 2014;10(10):582-91.
5. Olson DP, Sun B, Koenig RJ. Thyroid hormone response element architecture affects corepressor release from thyroid hormone receptor dimers. Journal of Biological Chemistry. 1998;273(6):3375-80.
6. Brent GA. The molecular basis of thyroid hormone action. New England Journal of Medicine. 1994;331(13):847-53.
7. Brent GA. Mechanisms of thyroid hormone action. The Journal of clinical investigation. 2012;122(9):3035-43.
8. Dillmann W. Cardiac hypertrophy and thyroid hormone signaling. Heart failure reviews. 2010;15(2):125-32.
9. Davis PJ, Lin H-Y, Mousa SA, Luidens MK, Hercbergs AA, Wehling M, et al. Overlapping nongenomic and genomic actions of thyroid hormone and steroids. Steroids. 2011;76(9):829-33.
10. Davis PJ, Shih A, Lin H-Y, Martino LJ, Davis FB. Thyroxine promotes association of mitogen-activated protein kinase and nuclear thyroid hormone

- receptor (TR) and causes serine phosphorylation of TR. *Journal of Biological Chemistry*. 2000;275(48):38032-9.
11. Shih A, Lin H-Y, Davis FB, Davis PJ. Thyroid hormone promotes serine phosphorylation of p53 by mitogen-activated protein kinase. *Biochemistry*. 2001;40(9):2870-8.
 12. Davis PJ, Davis FB. 2 Nongenomic Actions of Thyroid. *Diseases of the Thyroid*. 2002:19.
 13. Huang C-J, Geller HM, Green WL, Craelius W. Acute effects of thyroid hormone analogs on sodium currents in neonatal rat myocytes. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 1999;31(4):881-93.
 14. Incerpi S, Luly P, De Vito P, Farias RN. Short-Term Effects of Thyroid Hormones on the Na/H Antiport in L-6 Myoblasts: High Molecular Specificity for 3, 3', 5-Triiodo-L-Thyronine 1. *Endocrinology*. 1999;140(2):683-9.
 15. Lawrence W, Schoenl M, Davis P. Stimulation in vitro of rabbit erythrocyte cytosol phospholipid-dependent protein kinase activity. A novel action of thyroid hormone. *Journal of Biological Chemistry*. 1989;264(9):4766-8.
 16. Smallwood JI, Gügi B, Rasmussen H. Regulation of erythrocyte Ca²⁺ pump activity by protein kinase C. *Journal of Biological Chemistry*. 1988;263(5):2195-202.
 17. Giguère A, Lehoux J-G, Gallo-Payet N, Bellabarba D. 3, 5, 3'-Triiodothyronine binding sites in synaptosomes from brain of chick embryo. Properties and ontogeny. *Developmental brain research*. 1992;66(2):221-7.
 18. Giguere A, Fortier S, Beaudry C, Gallo-Payet N, Bellabarba D. Effect of thyroid hormones on G proteins in synaptosomes of chick embryo. *Endocrinology*. 1996;137(6):2558-64.
 19. Siegrist-Kaiser CA, Juge-Aubry C, Tranter MP, Ekenbarger DM, Leonard JL. Thyroxine-dependent modulation of actin polymerization in cultured astrocytes. A novel, extranuclear action of thyroid hormone. *Journal of Biological Chemistry*. 1990;265(9):5296-302.
 20. Farwell AP, DiBenedetto DJ, Leonard JL. Thyroxine targets different pathways of internalization of type II iodothyronine 5'-deiodinase in astrocytes. *Journal of Biological Chemistry*. 1993;268(7):5055-62.

21. Farwell AP, Tranter MP, Leonard JL. Thyroxine-dependent regulation of integrin-laminin interactions in astrocytes. *Endocrinology*. 1995;136(9):3909-15.
22. Davis PJ, Davis FB. Nongenomic actions of thyroid hormone. *Diseases of the Thyroid*: Springer; 2003. p. 19-37.
23. Wassen FW. Iodothyronine Deiodinases: structure-function analysis and their role in the regulation of thyroid hormone levels: Erasmus MC: University Medical Center Rotterdam; 2005.
24. Dentice M, Salvatore D. Local impact of thyroid hormone inactivation Deiodinases: the balance of thyroid hormone. *Journal of Endocrinology*. 2011;209(3):273-82.
25. Oppenheimer JH, Schwartz HL, Surks MI. Propylthiouracil inhibits the conversion of L-thyroxine to L-triiodothyronine: an explanation of the antithyroxine effect of propylthiouracil and evidence supporting the concept that triiodothyronine is the active thyroid hormone. *Journal of Clinical Investigation*. 1972;51(9):2493.
26. Berry MJ, Banu L, Chen Y, Mandel SJ, Kieffer JD, Harney JW, et al. Recognition of UGA as a selenocysteine codon in type I deiodinase requires sequences in the 3' untranslated region. *Nature*. 1991;353(6341):273-6.
27. Bianco AC, Salvatore D, Gereben B, Berry MJ, Larsen PR. Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. *Endocrine reviews*. 2002;23(1):38-89.
28. Maia AL, Goemann IM, Meyer ELS, Wajner SM. THEMATIC REVIEW Deiodinases: the balance of thyroid hormone Type 1 iodothyronine deiodinase in human physiology and disease. *Journal of Endocrinology*. 2011;209:283-97.
29. Salvatore D, Bartha T, Harney JW, Larsen PR. Molecular biological and biochemical characterization of the human type 2 selenodeiodinase. *Endocrinology*. 1996;137(8):3308-15.
30. Itagaki Y, Yoshida K, Ireda H, Kaise K, Kaise N, Yamamoto M, et al. Thyroxine 5'-deiodinase in human anterior pituitary tumors. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1990;71(2):340-4.

31. Diano S, Leonard JL, Meli R, Esposito E, Schiavo L. Hypothalamic type II iodothyronine deiodinase: a light and electron microscopic study. *Brain research*. 2003;976(1):130-4.
32. Guadaño-Ferraz A, Escámez MJ, Rausell E, Bernal J. Expression of type 2 iodothyronine deiodinase in hypothyroid rat brain indicates an important role of thyroid hormone in the development of specific primary sensory systems. *Journal of Neuroscience*. 1999;19(9):3430-9.
33. Báñez-López S, Bosch-García D, Gómez-Andrés D, Pulido-Valdeolivas I, Montero-Pedrazuela A, Obregon MJ, et al. Abnormal motor phenotype at adult stages in mice lacking type 2 deiodinase. *PloS one*. 2014;9(8):e103857.
34. Bernal J. Thyroid hormones in brain development and function. 2015.
35. Bernal J, Guadaño-Ferraz A, Morte B. Thyroid hormone transporters [mdash] functions and clinical implications. *Nature Reviews Endocrinology*. 2015;11(7):406-17.
36. Hampl R, Bičíková M, Sosvorová L. Hormones and the blood-brain barrier. *Hormone molecular biology and clinical investigation*. 2015;21(3):159-64.
37. Dickson PW, Aldred AR, Marley PD, Guo-Fen T, Howlett GJ, Schreiber G. High prealbumin and transferrin mRNA levels in the choroid plexus of rat brain. *Biochemical and biophysical research communications*. 1985;127(3):890-5.
38. Episkopou V, Maeda S, Nishiguchi S, Shimada K, Gaitanaris GA, Gottesman ME, et al. Disruption of the transthyretin gene results in mice with depressed levels of plasma retinol and thyroid hormone. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1993;90(6):2375-9.
39. Destrieux C, Bourry D, Velut S. Surgical anatomy of the hippocampus. *Neurochirurgie*. 2013;59(4):149-58.
40. Insausti AM AD. Hippocampal formation. *The Human Nervous System*, edition 3. 2012 (Academic Press):896–942.
41. Schultz C, Engelhardt M. Anatomy of the hippocampal formation. *The Hippocampus in Clinical Neuroscience*. 34: Karger Publishers; 2014. p. 6-17.

42. Sloviter RS. The functional organization of the hippocampal dentate gyrus and its relevance to the pathogenesis of temporal lobe epilepsy. *Annals of neurology*. 1994;35(6):640-54.
43. Braak H. Pigmentarchitecture of the human cortex cerebri. II. Subiculum. *Zeitschrift fur Zellforschung und mikroskopische Anatomie* (Vienna, Austria: 1948). 1971;131(2):235-54.
44. Witter MP, Amaral DG. Entorhinal cortex of the monkey: V. Projections to the dentate gyrus, hippocampus, and subicular complex. *Journal of Comparative Neurology*. 1991;307(3):437-59.
45. Papez JW. A proposed mechanism of emotion. *Archives of Neurology & Psychiatry*. 1937;38(4):725-43.
46. Penfield W, Jasper H. *Epilepsy and the functional anatomy of the human brain*. 1954.
47. Klüver H, Bucy PC. Preliminary analysis of functions of the temporal lobes in monkeys. *Archives of Neurology & Psychiatry*. 1939;42(6):979-1000.
48. Scoville WB, Milner B. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. 1957;20(1):11.
49. Arthur C. Guyton JEH. *Textbook of Medical Physiology*. 2005;Eleventh edition:726-7.
50. Lachman SJ. Learning is a process: Toward an improved definition of learning. *The Journal of psychology*. 1997;131(5):477-80.
51. Domjan M. *The principles of learning and behavior*: Nelson Education; 2014.
52. Tolman EC, Honzik CH. Introduction and removal of reward, and maze performance in rats. *University of California publications in psychology*. 1930.
53. De Houwer J, Barnes-Holmes D, Moors A. What is learning? On the nature and merits of a functional definition of learning. *Psychonomic Bulletin & Review*. 2013;20(4):631-42.
54. Byrne JH. Cellular analysis of associative learning. *Physiological reviews*. 1987;67(2):329-439.
55. Carew TJ, Hawkins RD, Kandel ER. Differential classical conditioning of a defensive withdrawal reflex in *Aplysia californica*. *Science*. 1983 Jan 28;219(4583):397-400. PubMed PMID: 6681571. Epub 1983/01/28. eng.

56. Yiğit R. Kontrol Sistemleri, Sindirim ve Boşaltım Fizyolojisi. 2001:293-98.
57. Kandel ER. Cellular mechanisms of learning and the biological basis of individuality. Principles of neural science. 1991;3:1009-31.
58. Agras W, editor. Comprehensive Textbook of Physiology. 7 ed2000.
59. Ganong W, editor. Review of Medical Physiology1995.
60. Bliss TV, Lømo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. The Journal of physiology. 1973;232(2):331-56.
61. Bliss T, Collingridge G. Andersen P, Morris R, Amaral D, Bliss T & O'Keefe J, editors, The Hippocampus Book. Oxford University Press, Oxford; 2007.
62. Brown TH, Kairiss EW, Keenan CL. Hebbian synapses: biophysical mechanisms and algorithms. Annual review of neuroscience. 1990;13(1):475-511.
63. Hebb DO. The organization of behavior: A neuropsychological approach: John Wiley & Sons; 1949.
64. Bliss TV, Collingridge GL. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. Nature. 1993;361(6407):31-9.
65. Byrne JH. Fundamental Neuroscience: Fourth Edition: Elsevier Inc.; 2012. 19 p.
66. Johnston D, Williams S, Jaffe D, Gray R. NMDA-receptor-independent long-term potentiation. Annual Review of Physiology. 1992;54(1):489-505.
67. Teyler TJ, Cavus I, Coussens C, DiScenna P, Grover L, Lee Y, et al. Multideterminant role of calcium in hippocampal synaptic plasticity. Hippocampus. 1994;4(6):623-34.
68. Dharani K. A Neuronal Mechanism in the Generation of Thought—A New Molecular Model: Academic Press; 2015. 53-74 p.
69. Kapoor R, Fanibunda SE, Desouza LA, Guha SK, Vaidya VA. Perspectives on thyroid hormone action in adult neurogenesis. Journal of neurochemistry. 2015;133(5):599-616.
70. Ming G-l, Song H. Adult neurogenesis in the mammalian brain: significant answers and significant questions. Neuron. 2011;70(4):687-702.

71. Cameron HA, McKay RD. Adult neurogenesis produces a large pool of new granule cells in the dentate gyrus. *Journal of Comparative Neurology*. 2001;435(4):406-17.
72. Kempermann G, Jessberger S, Steiner B, Kronenberg G. Milestones of neuronal development in the adult hippocampus. *Trends in neurosciences*. 2004;27(8):447-52.
73. Altman J. Are new neurons formed in the brains of adult mammals. *Science*. 1962;135(3509):1127-8.
74. Aimone JB, Li Y, Lee SW, Clemenson GD, Deng W, Gage FH. Regulation and function of adult neurogenesis: from genes to cognition. *Physiological reviews*. 2014;94(4):991-1026.
75. Kee N, Sivalingam S, Boonstra R, Wojtowicz J. The utility of Ki-67 and BrdU as proliferative markers of adult neurogenesis. *Journal of neuroscience methods*. 2002;115(1):97-105.
76. Kuhn HG, Cooper-Kuhn CM. Bromodeoxyuridine and the detection of neurogenesis. *Current pharmaceutical biotechnology*. 2007;8(3):127-31.
77. Denkert C, Budczies J, von Minckwitz G, Wienert S, Loibl S, Klauschen F. Strategies for developing Ki67 as a useful biomarker in breast cancer. *The Breast*. 2015;24:S67-S72.
78. von Bohlen und Halbach O. Immunohistological markers for proliferative events, gliogenesis, and neurogenesis within the adult hippocampus. *Cell and tissue research*. 2011;345(1):1-19.
79. Desouza LA, Ladiwala U, Daniel SM, Agashe S, Vaidya RA, Vaidya VA. Thyroid hormone regulates hippocampal neurogenesis in the adult rat brain. *Molecular and Cellular Neuroscience*. 2005;29(3):414-26.
80. Montero-Pedrazuela A, Venero C, Lavado-Autric R, Fernandez-Lamo I, Garcia-Verdugo J, Bernal J, et al. Modulation of adult hippocampal neurogenesis by thyroid hormones: implications in depressive-like behavior. *Molecular psychiatry*. 2006;11(4):361-71.
81. Kapoor R, Desouza L, Nanavaty I, Kernie S, Vaidya V. Thyroid hormone accelerates the differentiation of adult hippocampal progenitors. *Journal of neuroendocrinology*. 2012;24(9):1259-71.

82. Papp LV, Lu J, Holmgren A, Khanna KK. From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. *Antioxidants & redox signaling*. 2007;9(7):775-806.
83. Mushak P. Potential impact of acid precipitation on arsenic and selenium. *Environmental health perspectives*. 1985;63:105.
84. Stadtman TC. Selenocysteine. *Annual review of biochemistry*. 1996;65(1):83-100.
85. Rayman MP. The importance of selenium to human health. *The lancet*. 2000;356(9225):233-41.
86. Levander OA, Beck MA. Interacting nutritional and infectious etiologies of Keshan disease. *Biological trace element research*. 1997;56(1):5-21.
87. Contempre B, Dumont JE, Denel J-F, Many M-C. Effects of selenium deficiency on thyroid necrosis, fibrosis and proliferation: a possible role in myxoedematous cretinism. *European journal of endocrinology*. 1995;133(1):99-109.
88. Combs GF. Selenium in global food systems. *British Journal of Nutrition*. 2001;85(5):517-47.
89. Surai PF. *Selenium in nutrition and health*: Nottingham university press; 2006.
90. Xia Y, Hill KE, Byrne DW, Xu J, Burk RF. Effectiveness of selenium supplements in a low-selenium area of China. *The American journal of clinical nutrition*. 2005;81(4):829-34.
91. Bösl MR, Takaku K, Oshima M, Nishimura S, Taketo MM. Early embryonic lethality caused by targeted disruption of the mouse selenocysteine tRNA gene (Trsp). *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1997;94(11):5531-4.
92. Kumaraswamy E, Carlson BA, Morgan F, Miyoshi K, Robinson GW, Su D, et al. Selective removal of the selenocysteine tRNA [Ser] Sec gene (Trsp) in mouse mammary epithelium. *Molecular and cellular biology*. 2003;23(5):1477-88.
93. Carlson BA, Novoselov SV, Kumaraswamy E, Lee BJ, Anver MR, Gladyshev VN, et al. Specific excision of the selenocysteine tRNA [Ser] Sec

- (Trsp) gene in mouse liver demonstrates an essential role of selenoproteins in liver function. *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279(9):8011-7.
94. Hatfield DL, Berry MJ, Gladyshev VN. Selenium: its molecular biology and role in human health: Springer Science & Business Media; 2011.
 95. Curran JE, Jowett JB, Elliott KS, Gao Y, Gluschenko K, Wang J, et al. Genetic variation in selenoprotein S influences inflammatory response. *Nature genetics*. 2005;37(11):1234-41.
 96. Gao Y, Hannan NR, Wanyonyi S, Konstantopolous N, Pagnon J, Feng HC, et al. Activation of the selenoprotein SEPS1 gene expression by pro-inflammatory cytokines in HepG2 cells. *Cytokine*. 2006;33(5):246-51.
 97. Stadtman ER. Protein oxidation and aging. *Free radical research*. 2006;40(12):1250-8.
 98. Esworthy RS, Baker MA, Chu F-F. Expression of selenium-dependent glutathione peroxidase in human breast tumor cell lines. *Cancer research*. 1995;55(4):957-62.
 99. Mörk H, Scheurlen M, Al-Taie O, Zierer A, Kraus M, Schöttker K, et al. Glutathione peroxidase isoforms as part of the local antioxidative defense system in normal and Barrett's esophagus. *International journal of cancer*. 2003;105(3):300-4.
 100. Al-Taie OH, Uceyler N, Eubner U, Jakob F, Mork H, Scheurlen M, et al. Expression profiling and genetic alterations of the selenoproteins GI-GPx and SePP in colorectal carcinogenesis. *Nutrition and cancer*. 2004;48(1):6-14.
 101. Rederstorff M, Krol A, Lescure A. Understanding the importance of selenium and selenoproteins in muscle function. *Cellular and molecular life sciences*. 2006;63(1):52-9.
 102. Whanger P. Selenoprotein W: a review. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2000;57(13):1846-52.
 103. Hwang DY, Cho JS, Oh JH, Shim SB, Jee SW, Lee SH, et al. Differentially expressed genes in transgenic mice carrying human mutant presenilin-2 (N141I): correlation of selenoprotein M with Alzheimer's disease. *Neurochemical research*. 2005;30(8):1009-19.
 104. Cubadda F, Aureli F, Ciardullo S, D'Amato M, Raggi A, Acharya R, et al. Changes in selenium speciation associated with increasing tissue

- concentrations of selenium in wheat grain. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2010;58(4):2295-301.
105. Burk RF, Hill KE. Regulation of selenium metabolism and transport. *Annual review of nutrition*. 2015;35:109-34.
 106. Sors TG, Ellis DR, Salt DE. Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. *Photosynthesis research*. 2005;86(3):373-89.
 107. Esaki N, Nakamura T, Tanaka H, Soda K. Selenocysteine lyase, a novel enzyme that specifically acts on selenocysteine. Mammalian distribution and purification and properties of pig liver enzyme. *Journal of Biological Chemistry*. 1982;257(8):4386-91.
 108. Soda K, Oikawa T, Esaki N. Vitamin B6 enzymes participating in selenium amino acid metabolism. *BioFactors*. 1999;10(2-3):257-62.
 109. Seale LA, Hashimoto AC, Kurokawa S, Gilman CL, Seyedali A, Bellinger FP, et al. Disruption of the selenocysteine lyase-mediated selenium recycling pathway leads to metabolic syndrome in mice. *Molecular and cellular biology*. 2012;32(20):4141-54.
 110. Byrns CN, Pitts MW, Gilman CA, Hashimoto AC, Berry MJ. Mice lacking selenoprotein P and selenocysteine lyase exhibit severe neurological dysfunction, neurodegeneration, and audiogenic seizures. *Journal of Biological Chemistry*. 2014;289(14):9662-74.
 111. Lei XG, Evenson JK, Thompson KM, Sunde RA. Glutathione peroxidase and phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase are differentially regulated in rats by dietary selenium. *The Journal of nutrition*. 1995;125(6):1438.
 112. Diamond AM, Choi IS, Crain PF, Hashizume T, Pomerantz SC, Cruz R, et al. Dietary selenium affects methylation of the wobble nucleoside in the anticodon of selenocysteine tRNA ([Ser] Sec). *Journal of Biological Chemistry*. 1993;268(19):14215-23.
 113. Copeland PR, Stepanik VA, Driscoll DM. Insight into mammalian selenocysteine insertion: domain structure and ribosome binding properties of Sec insertion sequence binding protein 2. *Molecular and cellular biology*. 2001;21(5):1491-8.

114. Fletcher JE, Copeland PR, Driscoll DM. Polysome distribution of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase mRNA: evidence for a block in elongation at the UGA/selenocysteine codon. *Rna*. 2000;6(11):1573-84.
115. Howard MT, Carlson BA, Anderson CB, Hatfield DL. Translational redefinition of UGA codons is regulated by selenium availability. *Journal of Biological Chemistry*. 2013;288(27):19401-13.
116. Burk RF, Brown DG, Seely RJ, Scaief CC. Influence of dietary and injected selenium on whole-body retention, route of excretion, and tissue retention of ⁷⁵SeO₃²⁻ in the rat. *The Journal of nutrition*. 1972;102(8):1049-55.
117. Hill KE, Wu S, Motley AK, Stevenson TD, Winfrey VP, Capecchi MR, et al. Production of selenoprotein P (Sepp1) by hepatocytes is central to selenium homeostasis. *Journal of Biological Chemistry*. 2012;287(48):40414-24.
118. Soderling TR, Derkach VA. Postsynaptic protein phosphorylation and LTP. *Trends in neurosciences*. 2000;23(2):75-80.
119. Castro-Alamancos MA, Calcagno ME. Presynaptic long-term potentiation in corticothalamic synapses. *The Journal of neuroscience*. 1999;19(20):9090-7.
120. Bello F, Bakari A. Hypothyroidism in adults: A review and recent advances in management. *Journal of Diabetes and Endocrinology*. 2012;3(5):57-69.
121. Unnikrishnan AG, Kalra S, Sahay RK, Bantwal G, John M, Tewari N. Prevalence of hypothyroidism in adults: An epidemiological study in eight cities of India. *Indian journal of endocrinology and metabolism*. 2013;17(4):647.
122. Alzoubi K, Alkadhi K. Levothyroxin replacement therapy restores hypothyroidism induced impairment of L-LTP induction: Critical role of CREB. *Brain research bulletin*. 2014;100:29-37.
123. Park H-K, Ahima RS. *Endocrine Disorders Associated with Obesity*. 2015.
124. Burmeister LA, Pachucki J, St. Germain DL. Thyroid hormones inhibit type 2 iodothyronine deiodinase in the rat cerebral cortex by both pre-and posttranslational mechanisms. *Endocrinology*. 1997;138(12):5231-7.

125. Luongo C, Trivisano L, Alfano F, Salvatore D. Type 3 deiodinase and consumptive hypothyroidism: a common mechanism for a rare disease. *Frontiers in endocrinology*. 2013;4.
126. Shen L, Van Dyck K, Luten J, Deelstra H. Diffusibility of selenate, selenite, seleno-methionine, and seleno-cystine during simulated gastrointestinal digestion. *Biological trace element research*. 1997;58(1):55-63.
127. Burk RF, Norsworthy BK, Hill KE, Motley AK, Byrne DW. Effects of chemical form of selenium on plasma biomarkers in a high-dose human supplementation trial. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2006;15(4):804-10.
128. Vorhees CV, Williams MT. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nature protocols*. 2006;1(2):848-58.
129. Monzani F, Caraccio N, Siciliano G, Manca L, Murri L, Ferrannini E. Clinical and biochemical features of muscle dysfunction in subclinical hypothyroidism. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1997;82(10):3315-8.
130. Artis A, Bitiktas S, Taşkın E, Dolu N, Liman N, Suer C. Experimental Hypothyroidism Delays Field Excitatory Post-Synaptic Potentials and Disrupts Hippocampal Long-term Potentiation in the Dentate Gyrus of Hippocampal Formation and Y-Maze Performance in Adult Rats. *Journal of neuroendocrinology*. 2012;24(3):422-33.
131. Alzoubi KH, Gerges NZ, Aleisa AM, Alkadhi KA. Levothyroxin restores hypothyroidism-induced impairment of hippocampus-dependent learning and memory: Behavioral, electrophysiological, and molecular studies. *Hippocampus*. 2009;19(1):66-78.
132. Dias GRM, Vieira FA, Dobrachinski F, Bridi JC, de Souza Balk R, Soares FA, et al. Diphenyl diselenide diet intake improves spatial learning and memory deficits in hypothyroid female rats. *International Journal of Developmental Neuroscience*. 2012;30(2):83-9.
133. Dias GRM, Golombieski RM, de Lima Portella R, Do Amaral GP, Soares FA, Da Rocha JBT, et al. Diphenyl diselenide modulates gene expression of

- antioxidant enzymes in the cerebral cortex, hippocampus and striatum of female hypothyroid rats. *Neuroendocrinology*. 2014;100(1):45-59.
134. Bitiktaş S, Tan B, Batakçı M, Kavraal Ş, Dursun N, Süer C. Effects of selenium treatment on 6-n-propyl-2-thiouracil-induced impairment of long-term potentiation. *Neuroscience research*. 2016;109:70-6.
 135. Gerges NZ, Alkadhi KA. Hypothyroidism impairs late LTP in CA1 region but not in dentate gyrus of the intact rat hippocampus: MAPK involvement. *Hippocampus*. 2004;14(1):40-5.
 136. Alzoubi K, Gerges N, Alkadhi K. Levothyroxin restores hypothyroidism-induced impairment of LTP of hippocampal CA1: electrophysiological and molecular studies. *Experimental neurology*. 2005;195(2):330-41.
 137. Montero-Pedrazuela A, Venero C, Lavado-Autric R, Fernandez-Lamo I, Garcia-Verdugo J, Bernal J, et al. Modulation of adult hippocampal neurogenesis by thyroid hormones: implications in depressive-like behavior. *Molecular psychiatry*. 2006;11(4):361.
 138. Zheng R, Zhang Z-H, Chen C, Chen Y, Jia S-Z, Liu Q, et al. Selenomethionine promoted hippocampal neurogenesis via the PI3K-Akt-GSK3 β -Wnt pathway in a mouse model of Alzheimer's disease. *Biochemical and biophysical research communications*. 2017;485(1):6-15.
 139. Yeo JE, Kang SK. Selenium effectively inhibits ROS-mediated apoptotic neural precursor cell death in vitro and in vivo in traumatic brain injury. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2007;1772(11):1199-210.