



T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**MK-801 İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL ŞİZOFRENİ
MODELİNDE PREFRONTAL KORTEKS ve
HİPOKAMPUSTA AQUAPORİN-4 KANALLARININ
DAĞILIMI**

Dr. Ömer Burak ERİÇEK

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Derviş Mansuri YILMAZ**

ADANA-2019



T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**MK-801 İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL ŞİZOFRENİ
MODELİNDE PREFRONTAL KORTEKS ve
HİPOKAMPUSTA AQUAPORİN-4 KANALLARININ
DAĞILIMI**

Dr. Ömer Burak ERİÇEK

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Derviş Mansuri YILMAZ**

**Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu tarafından TTU-
2018-11154 no'lu proje olarak desteklenmiştir.**

ADANA-2019

TEŞEKKÜR

Nöroşirurji asistanlık eğitimim süresince gerek mesleki gerekse hayat tecrübelerini esirgemeyen basta Nöroşirurji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Bülent BOYAR olmak üzere tüm Nöroşirurji Anabilim dalı öğretim üyelerine, tez danışmanlığımı üstlenerek sinirbilime katkı sağlayacak çalışmamızın gerçekleştirilmesinde desteğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Derviş Mansuri YILMAZ'a;

Nörofizyoloji laboratuvarını fiziksel kullanımın yanı sıra tecrübe aktarımları ile paylaşan çalışma sürecimde hep destek olan Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ayşe DOĞAN'a, temel bilim araştırma esaslarını sonsuz sabır ile tarafıma aktaran Sayın Doç. Dr. Kübra AKILLIOĞLU'na Fizyoloji Anabilim Dalı araştırma görevlileri Dr. İbrahim ÇEVİK ve Dr. Meltem DÖNMEZ KUTLU'ya;

İmmünohistokimyasal çalışmaları gerçekleştirmemize olanak sağlayan Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Sait Polat'a, örneklerin hazırlanması ve incelenmesinde gösterdikleri özen ve desteklerinden dolayı Dr. Öğr. Üyesi Leman SENCAR' a, araştırma görevlileri Dilek ŞAKER ve Samet KARA'ya;

Asistanlık eğitimim süresince birlikte çalıştığımız tüm Nöroşirurji Anabilimdalı araştırma görevlileri, yoğun bakım, poliklinik ve servis çalışanı mesai arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmamı hayatım boyunca bana hep destek olan ve bu süreci tamamlamam da büyük emeği olan aileme, nöroşirurji eğitimim sürecinde gösterdiği sabır ve özveriden dolayı minnettar olduğum biricik eşim Püren IŞIK ERİÇEK'e ithaf ediyorum.

Dr. Ömer Burak ERİÇEK
2019

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	3
İÇİNDEKİLER	4
TABLO LİSTESİ	6
ŞEKİL LİSTESİ	7
KISALTMALAR.....	8
ÖZET.....	9
ABSTRACT	10
1. GİRİŞ.....	11
2. GENEL BİLGİLER.....	13
2.1. Glimfatik Sistem.....	13
2.2. Glimfatik Fonksiyon	14
2.2.1. Glimfatik Sistem Görüntülemeleri.....	15
2.2.2. Glimfatik Sistem ve Nörodejeneratif Hastalıklar	16
2.2.3. Glimfatik Sistem ve İnme	17
2.3. Aquaporin Kanalları.....	18
2.3.1. Serebral Dokuda AQP-4 Kanalları	19
2.4. Şizofreni	20
2.4.1. NMDA Reseptörleri	21
2.4.2. Deneysel Şizofreni Modeli Olarak NMDA Reseptör Hipofonksiyonu	22
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	24
3.1. Etik	24
3.2. Deney Hayvanlarının Bakımı.....	24
3.3. Deneysel Şizofreni Modeli Oluşturulması	25
3.4. Bilişsel Davranış Testi.....	26
3.4.1. Morris Su Havuzu.....	26
3.4.2. Morris Su Havuzu Eğitim Denemeleri ve Testi.....	27
3.5. İmmünohistokimya Yöntemi.....	28
3.5.1. İmmünohistokimyasal Skorlama Yöntemi	29
3.6. Elektron Mikroskopi Yöntemi.....	29
3.7. İstatistiksel Analiz.....	31
4. BULGULAR.....	32

4.1.	Vücut Ağırlığı.....	32
4.2.	Bilişsel Davranış Testi	33
4.2.1.	Morris Su Havuzu.....	33
4.3.	İmmünohistokimyasal Bulgular.....	39
4.3.1.	Hipokampus	40
4.3.2.	Prefrontal Korteks	46
4.4.	İmmünohistokimyasal Değerlendirme	52
4.5.	Elektron Mikroskopik Bulgular	54
4.5.1.	Prefrontal Korteks	54
4.5.2.	Hipokampus	60
5.	TARTIŞMA.....	67
5.1.	Vücut Ağırlığı.....	67
5.2.	MK-801 Uygulamasının Bilişsel Davranışlar Üzerine Etkisi	67
5.3.	MK-801 Uygulanan Balb/c Farelerde Aquaporin-4 kanallarının Hipokampus ve Prefrontal Korteks'te dağılımı.....	70
6.	SONUÇ ve ÖNERİLER.....	73
	KAYNAKLAR	74
	EKLER-1.....	81
	ÖZGEÇMİŞ.....	82

TABLO LİSTESİ

Tablo no:

Sayfa no:

Tablo 1. Morris su havuzunda kullanılan ölçütler 28



ŞEKİL LİSTESİ

<u>Sekil no</u>	<u>Sayfa no</u>
Şekil 1. Yetişkin (8-10 haftalık) Balb/c fare	24
Şekil 2. Deney akış şeması.	25
Şekil 3. Morris su havuzu.	26
Şekil 4. Serum fizyolojik ve MK-801 uygulanan gruplarda enjeksiyon günlerinde vücut ağırlığı değişimi (gr).	32
Şekil 5. Morris su havuzu eğitim denemelerinde platformu bulma süresi (sn)	34
Şekil 6. Morris su havuzu eğitim denemelerinde yüzme hızı (cm/sn).	35
Şekil 7. Morris su havuzu test günü hedef kadranda geçirilen süre (sn).	36
Şekil 8. Morris su havuzu test günü yüzme hızı (cm/sn).	37
Şekil 9. Morris su havuzu testi.	38
Şekil 10. Pozitif kontrol dokusunda AQP-4 immunoreaktivitesi.	39
Şekil 11. Negatif kontrolde AQP-4 immunoreaktivitesi.	40
Şekil 12. Hipokampus kontrol grubu.	41
Şekil 13. Hipokampus kontrol grubu.	42
Şekil 14. Hipokampus kontrol grubu.	43
Şekil 15. MK-801 uygulanan gruba ait hipokampus dokusunda AQP-4 immünoreaktivitesi.	44
Şekil 16. MK-801 uygulanan gruba ait hipokampus dokusunda AQP-4 immünoreaktivitesi.	45
Şekil 17. MK-801 uygulanan gruba ait hipokampus dokusunda AQP-4 immünoreaktivitesi.	46
Şekil 18. Prefrontal korteks kontrol grubunda AQP-4 immünoreaktivitesi.	47
Şekil 19. Prefrontal korteks kontrol grubunda AQP-4 immünoreaktivitesi.	48
Şekil 20. Prefrontal korteks kontrol grubunda AQP-4 immünoreaktivitesi.	49
Şekil 21. MK-801 uygulanan gruba ait prefrontal korteks dokusunda AQP-4 immunoreaktivitesi.	50
Şekil 22. MK-801 uygulanan gruba ait prefrontal korteks dokusunda AQP-4 immunoreaktivitesi.	51
Şekil 23. MK-801 uygulanan gruba ait prefrontal korteks dokusunda AQP-4 immunoreaktivitesi.	52
Şekil 24. AQP-4 için immünohistokimyasal skorum.	53
Şekil 25. Kontrol grubundan alınan prefrontal korteks dokusunun elektron mikroskopik görünümü.	55
Şekil 26. Kontrol grubundan alınan prefrontal korteks dokusunun elektron mikroskopik görünümü.	56
Şekil 27. Kontrol grubundan alınan prefrontal korteks dokusunun elektron mikroskopik görünümü.	57
Şekil 28. MK-801 uygulanan gruptan alınan prefrontal korteks dokusunun elektron mikroskopik görünümü.	58
Şekil 29. MK-801 uygulanan gruptan alınan prefrontal korteks dokusunun elektron mikroskopik görünümü.	59
Şekil 30. MK-801 uygulanan gruptan alınan hipokampus dokusunun elektron mikroskopik görünümü.	60
Şekil 31. Kontrol grubundan alınan hipokampus dokusunun elektron mikroskopik görünümü.	61
Şekil 32. Kontrol grubundan alınan hipokampus dokusunun elektron mikroskopik görünümü.	62
Şekil 33. Kontrol grubundan alınan hipokampus dokusunun elektron mikroskopik görünümü.	63
Şekil 34. MK-801 uygulanan gruptan alınan prefrontal korteks dokusunun elektron mikroskopik görünümü.	64
Şekil 35. MK-801 uygulanan gruptan alınan prefrontal korteks dokusunun elektron mikroskopik görünümü.	65
Şekil 36. MK-801 uygulanan gruptan alınan hipokampus dokusunun elektron mikroskopik görünümü.	66

KISALTMALAR

AMPA: α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol-propionat

APP-1: Amiloid prekürsör protein-1

AQP-4: Aquaporin-4

BOS: Beyin omurilik sıvısı

GABA: Gama-amino-bütirik Asit

MK-801: (5R, 10S)-(+)-5-Methyl-10,11-dihydro-5H-dibenzo [a,d] cyclohepten-5, 10-imine hydrogen maleate

MRG: Manyetik rezonans görüntüleme

mV: Milivolt

MWM: Morris su havuzu

N. akkumbens: Nukleus akkumbens

NMDA: N-metil-D-aspartat

PBS: Fosfat tampon solüsyonu

PCP: Fensiklidin

PET-MR: Pozitron emisyon tomografisi- manyetik rezonans görüntüleme

SH: Standart hata

AEC: Amino etil karbozol

BDNF: Beyin kaynaklı nörotropik faktör

ÖZET

MK-801 ile Oluşturulan Deneysel Şizofreni Modelinde Prefrontal Korteks ve Hipokampusta Aquaporin-4 Kanallarının Dağılımı

Giriş: Glimfatik sistemin önemli bileşenlerinden biri aquaporin-4 (AQP-4) kanallarıdır. Nörodejenerasyona neden olan patolojilerde glimfatik sistem ve AQP-4 kanallarında değişiklikler olduğu bildirilmektedir. Çalışmamızda N-metil D-aspartat (NMDA) reseptör blokajı ile oluşturulan deneysel şizofreni modelinde AQP-4 kanallarının prefrontal korteks ve hipokampusta dağılımının araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Deneysel şizofreni modeli oluşturmak için yetişkin Balb/c farelere 11 gün boyunca NMDA reseptör antagonisti MK-801 periton içine uygulandı. Fareler (N=10-11) ilaç uygulamasının beşinci gününden itibaren uzaysal öğrenme-bellek performanslarının değerlendirilmesi amacıyla Morris su havuzu (MWM) testine alındı. MWM'de farelerin platformu bulma süresi, hedef kadranda geçirdikleri süre ve yüzme hızı Ethovision XT ile kayıtları. Bir grup farede (N=5) ise MWM testine alınmadan 10. günde enjeksiyondan yarım saat sonra sakrifiye edilerek hipokampus ve prefrontal korteks izolasyonu yapıldı. İmmünohistokimyasal ve elektron mikroskopik olarak AQP-4 kanalları prefrontal korteks ve hipokampusta incelendi. Davranış testlerinin istatistiksel analizinde repeated measure ANOVA, immünohistokimyasal verilerin analizinde Mann Whitney-U testi kullanıldı.

Bulgular: MWM testinde, MK-801 uygulanan farelerde kontrol grubuna göre platformu bulma süresinde anlamlı artma, hedef kadranda geçirilen sürede ise anlamlı azalma bulundu ($p<0,001$). İmmünohistokimyasal olarak hipokampusta glia hücreleri, perinöronal alan ($p<0,01$) ve kapillerde ($p<0,0001$) AQP-4 kanallarında artma, prefrontal kortekste glial hücreler ($p<0,01$) ve kapillerlerde ($p<0,001$) anlamlı artma gösterildi. Elektron mikroskopisinde, MK-801 uygulanan farelerde hipokampal ve prefrontal kortekste glia hücrelerinde ve nöronlarda çekirdekte kromatin artışı, sitoplazmada organel harabiyeti, kapiller damar etrafında ise ödemli alanların olduğu tespit edildi. Bilişsel işlevlerde bozulmaya neden olan deneysel şizofreni modelinde prefrontal korteks ve hipokampusta AQP-4 kanallarında artma ve histolojik olarak nörodejenerasyon meydana geldi.

Sonuç: NMDA reseptör blokajı ile bilişsel işlevlerde bozulmaya paralel olarak prefrontal korteks ve hipokampusta nörodejenerasyon meydana geldiği ve metabolizma son ürünlerinin ortamdaki uzaklaştırılması için AQP-4 kanallarında artma olduğu ileri sürülebilir.

Anahtar sözcükler: Aquaporin-4, N-metil D-aspartat reseptör, şizofreni, öğrenme-bellek.

ABSTRACT

Distribution of Aquaporin-4 Channels in Prefrontal Cortex and Hippocampus in MK-801-induced Experimental Schizophrenia Model

Introduction: Aquaporin-4 (AQP-4) water channels are an important component of glymphatic (glial lymphatic) system. Functional disorders of glymphatic system and AQP-4 channels takes part in the pathophysiology of neurodegenerative disease. The aim of this study describe distribution of aqp-4 channels in the prefrontal cortex and hippocampus in a mouse model of NMDA receptor blocking agent induced schizophrenia like behaviour.

Materyal and Method: NMDA receptor antagonist MK-801 used to produce experimental schizophrenia model. MK-801 injections for eleven days to Balb/c mice intraperitoneally. Beginning from the sixth day of injection, spatial learning and memory of the mice (N=10-11) were tested by Morris water maze (MWM) task. Time to find the hidden platform, time spent at the target quadrant when platform removed, swimming speed was recorded by Ethovision XT. A group of mouse (N=5) was injected MK-801 for ten days and without MWM task sacrificed. Hippocampus and prefrontal specimens collected from this group. Hippocampus and prefrontal cortex stained immunohistochemically and AQP-4 channels examined. Tissue samples also examined by electron miroscope. Statistical analysis of behaviour tests done by repeated measure ANOVA and immunohistochemical data analysis done by Mann Whitney-U test.

Results: Time to find the platform was significantly longer at MK-801 injected group than the control group at Morris water maze task. Also the time spent at the target quadrant by MK-801 group was shorter compared to control group ($p < 0,001$). Immunohistochemically AQP-4 expression increased significantly at hippocampal glial cells, perineuronal ($p < 0,01$) and pericapillary ($p < 0,0001$) spaces. At the prefrontal cortex AQP-4 expression at the glial cells ($p < 0,01$) and precapillary space ($p < 0,001$) is increased, perineuronal space there is tendency to increase. Electron microscobically glial cells and neurons at the hippocampus and prefrontal cotex of the MK-801 study group there is increased nuclear chromatin, cytoplasmic organel destruction detected. Eudema at the pericapillary space is seen. Increased AQP-4 channel expression and neurodegeneration at the prefrontal cortex and hippocampus at the MK-801 induced schizophrenia-like behaviour model.

Conclusion: MK-801 induced NMDA receptor blockade causes decline in the cognitive and memory functions. Increased AQP-4 expression at the prefrontal cortex and hippocampus in order to elicit and transport products of synaptic neurotransmitters and end metabolites is suggested.

Keywords: Aquaporin-4, N-methyl-D-aspartate, schizophrenia, learning-memory.

1. GİRİŞ

Merkezi sinir sisteminde hücre dışı sıvıdan solüt ve proteinlerin uzaklaştırılması için alternatif bir yol olarak 2012 yılında glimfatik sistem tanımlanmıştır. Beyin omurilik sıvısı (BOS) hücre dışı solütlerini uzaklaştırırken, parankimden BOS'a geçen solütlerin beyin intersitisyumundan nasıl uzaklaştırıldığı glimfatik sistem tanımlanana kadar bilinmemekteydi. Liff ve arkadaşlarının 2012'de yaptıkları çalışmada intersitisyel alandan maddelerin uzaklaştırılması ve alınmasında astrositlerin önemli işlevi olduğu gösterildi¹. Periferdeki lenfatik sisteme benzer özellikte olan glimfatik sistem ile interstisyel alandan solüt ve metabolitlerin uzaklaştırılmasında astrositlerdeki AQP-4 kanallarının önemli rol oynadığı bildirildi. Beyin intersitisyumunda arter çevresindeki yüzeyden BOS'a akımın perivasküler AQP-4 kanalları ile kolaylaştırıldığı gösterildi. AQP-4 ün genetik olarak bulunmadığı farelerde solütlerin birikmesi ile nörodejeneratif hastalıkların kliniğine benzer belirtilerin görülmesi beyinde nörotoksik maddelerin birikimi sonucu ortaya çıktığı düşünülen bazı nörodejeneratif hastalıkların fizyopatolojisinde bu kanalların rolünü düşündürmektedir.

Şizofreni toplumda yaklaşık %1 oranında görülmekle birlikte kesin tedavisi olmayan kronik nöropsikiyatrik bir hastalıktır. Kişinin günlük yaşamını olumsuz etkileyen bilişsel ve duygusal işlevlerde bozulmaya neden olan şizofreninin fizyopatolojisi henüz aydınlatılamamıştır. Şizofreni günümüzde genetik ve çevresel faktörlerden kaynaklanan nörogelişimsel bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Şizofreninin fizyopatolojisinde 1950'li yıllarda ilk olarak ortaya atılan dopaminerjik sistem hipotezinin ardından, N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör hipofonksiyon hipotezi, serotonerjik sistem hipotezi gibi bazı görüşler ileri sürülmüştür. Olney ve Farber'in 1995 yılında normal sağlıklı kişilerde ketamin ve fensiklidin gibi yarışmasız NMDA blokörlerinin psikomimetik etkilere neden olduğunu göstermeleri ile NMDA reseptör hipofonksiyonu hipotezi araştırmacıların ilgi odağı haline gelmiştir². Bu hipoteze göre, kortikal NMDA reseptörlerinin hipofonksiyonu, ventral tegmental alana projekte olan glutamaterjik nöronlarda sinaps yapan inhibitör gama-amino-bütirik asit (GABA)erjik ara nöronların işlevini azaltmaktadır. Ventral tegmental alandan limbik sisteme projekte olan mezolimbik dopaminerjik nöronlar üzerindeki disinhibisyon N. akkumbensteki dopaminerjik sistem aktivitesinde artışa neden olmaktadır. Ayrıca,

disinhibisyon ile aşırı glutamat salınımına neden olan bu yolak ventral tegmental alanda bulunan GABAerjik ara nöronlarda sinaps yapmakta ve bu ara nöronlar ise dorsolateral ve ventromediyal prefrontal kortekse projekte olan mezokortikal dopaminerjik nöronlardaki aktivitenin azalmasına neden olmaktadır³.

Çalışmamızda nörodejeneratif bir hastalık olan şizofreninin fizyopatolojisinin araştırılması ve yeni tedavi seçeneklerinin ortaya konulması amacıyla NMDA reseptör aracılı glutamat sistemi fonksiyonu ve AOP-4 kanallarının dağılımı araştırıldı. Bu amaçla yetişkin Balb/c farelerde MK-801 ile NMDA reseptör blokajı yapılarak Morris su havuzu testinde öğrenme ve bellek performansı değerlendirildi. MK-801 uygulanan farelerin bir kısmında ise prefrontal korteks ve hipokampus izolasyonu yapılarak AOP-4 kanallarının dağılımı incelendi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Glimfatik Sistem

Lenfatik sistem, vücutta kan damarlarına paralel seyreden, postkapiller venüllerden absorbe edilmeyen solüt ve proteinlerin hücre dışı sıvıdan uzaklaştırılmasını sağlayan ikinci bir dolaşım olarak bilinmektedir⁴ Lenfatik sistem vücutta hidrostatik ve homoostatik devamlılık için önemli bir sistemdir. Nöron ve glia gibi yüksek metabolik hıza sahip hücrelerin dış çevrelerinin de aynı hızda ve hassasiyette sabit sürdürülmesi için solüt ve proteinlerin uzaklaştırılması gerekmektedir. Merkezi sinir sisteminde de hücre dışı sıvıdan uzaklaştırılması gereken solüt ve proteinler için alternatif bir yol bulunması gerektiği düşünülmeyle birlikte bu yol 2012 yılına kadar tanımlanamamıştır. İlk kez 2012 yılında in vivo olarak farelerde merkezi sinir sisteminde periferdeki lenfatik sisteme benzer bir sistem olduğu 2-foton mikroskopi yöntemiyle gösterildi¹ Beyin omurilik sıvısının hücre dışı solütlerini uzaklaştırırken, parankimden BOS'a geçen solütlerin beyin intersitisyumundan nasıl uzaklaştırıldığı bilinmemekteydi. L. Liff ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada intersitisyel alandan maddelerin uzaklaştırılması ve alınmasında astrositler aracılığı ile olan su geçişinin önemi gösterildi ve bu sisteme "glimfatik sistem" adı verildi¹. Beyin intersitisyumunda arter çevresindeki yüzeyden BOS'a akımın perivasküler AQP-4 kanalları ile kolaylaştırıldığı gösterilmiştir. AQP-4 kanallarının bulunmadığı farelerde solüt ve proteinlerin % 70 oranında hücreler arası sıvıdan uzaklaştırılmalarının azaldığı Yao ve arkadaşlarının 2008 yılında yaptığı çalışmada belirtilmiştir⁵

AQP-4 ün genetik olarak bulunmadığı farelerde solütlerin birikmesi ile nörodejeneratif hastalıkların kliniğine benzer belirtilerin görülmesi beyinde nörotoksik maddelerin birikimi sonucu ortaya çıktığı düşünülen bazı nörodejeneratif hastalıkların fizyopatolojisinde bu kanalların rolünü düşündürmektedir. Parankim içine enjekte edilen çözünebilir amiloid β 'nin paravasküler yol ile temizlendiği gösterilirken paravasküler yolun yetersizliği sonucu amiloid β 'nin birikmesi ile oluşan amiloid β plaklarının Alzheimer hastalığının ilerlemesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir⁶ Glimfatik (glial lenfatik) sistem; anatomik olarak arteriyel ve venöz yapıları çevreleyen aralıklar ve içinde bulunduğu parankim alanı olmak üzere üç ana bölgeden

oluşmaktadır¹. Glimfatik sistemde dolaşım BOS akımına bağlıdır ve BOS akışı subaraknoid mesafeden periarteriyel aralığa doğrudur¹. Glimfatik dolaşım tam açıklanamamış olmakla beraber, anatomik bölgeler ile sıvı dengesi üzerinden tanımlamalar ile kavramlar oluşturulmuştur.

2.2. Glimfatik Fonksiyon

BOS perivasküler aralıktan, glial bazal membran ve astrositleri geçerek serebral vasküler yapılara doğru akmaktadır. Astrositik ayakları çıkıntılarda yoğun AQP-4 kanal ekspresyonu bildirilmektedir. AQP-4 kanalları BOS'un beyin parankimine geçişini sağlamakta ve burada BOS'un interstisyel sıvı ile karışımı gerçekleşmektedir. İnterstisyumda, sıvının net akım yönü venöz perivasküler aralığa ve perinöronal mesafeye doğrudur. BOS, spinal ve kranial sinirlerin perinöronal kılıfı, meningeal lenfatik damarlar ve araknoid granülasyon içerisinde bulunmaktadır⁷⁻¹⁰. BOS'un dolaşımı esnasında solüt atılımı için hangi mekanizmaların görev aldığı günümüzde halen açıklanamamıştır. Deneysel hayvan çalışmalarında sıvı değişimlerinin ekstraselüler mesafede difüzyon yolu ile olduğu ve madde alış-verişinin perivasküler alanda konvektif akım ile gerçekleştiği gösterilmiştir. Ancak fare ve insanlarda olfaktör sinir aracılığı ile kribriform plaklardan nazal mukozaya BOS ve solüt geçişi olduğu, takiben servikal lenfatik dolaşıma katıldığı bildirilmiştir. Serebral parankimde sıvı akımı düşük basınç gradiyenti ile gerçekleştiği için bu durum sıvı akımının görüntülenmesinde teknik zorluklara neden olmaktadır. Görüntüleme çalışmalarında, dokuz demans hastası ve sekiz sağlıklı kontrol ile dört haftalık intratekal kontrast madde uygulanmasında, kontrast maddenin difüzyon ile ulaşması kolay olmayan derin parankimal yapılara ulaştığı görülmüştür. Bu durum konvektif akımın serebral sıvı hareketlerinde önemini ortaya koymuştur^{10,11}. Çok sayıda çalışmada BOS klirensinin AQP-4 bağımlı glimfatik yolak aracılığı olduğu gösterilmesine rağmen AQP-4'ün genetik olarak bulunmadığı farelerde BOS klirensinin gösterilmesi ile glimfatik fonksiyonun sadece AQP-4 kanallarına bağlı olmadığı düşünülmektedir^{10,12-14}.

BOS'un perivasküler aralığa geçişinin farelerde kardiyak sistolik atım ile oluşan arteriyel pulsasyon ile sürdürüldüğü bilinmektedir.¹⁵⁻¹⁷ Dokuz sağlıklı katılımcı ile gerçekleştirilen ultra hızlı MR ensefalografi bulguları solunum döngüsü ve vazomotor tonus değişikliklerinin glimfatik akımı etkileme potansiyeli olduğunu düşündürmüştür¹⁸. Vücut postürünün klirensi düzenlediği uyku periyodundaki farelerde

gösterilmiştir; baş yan pozisyonda BOS klirensinin yüzüstü pozisyona göre daha aktif olduğu gösterilmiştir ve bu durum BOS akımının spinal korda doğru yönelimi ile açıklanmıştır¹⁹.

Glimfatik sistem BOS bileşenlerini tüm parankime dağıtır ve ekzojen enjekte edilen veya endojen üretilmiş metabolitlerin uzaklaştırılmasını sağlar. Glimfatik yolağın etkinliği BOS'un parankime dağılımı ve solütlerin uzaklaştırılma oranı olarak tanımlanmıştır¹⁶. Endojen maddelerin ve ekzojen enjekte edilen maddelerin BOS ile beyin parankimine geçme etkinliği, periarteriyel alana akımda azalma, intersitisyel alan ve perivenöz alana geçişte bozulmalar ile değişebilmektedir. Mekanizmalar tam anlaşılacakla birlikte yaşlılıkta arteriyel kapasitede azalmaya bağlı solütlerin parankime geçişinin azaldığı gösterilmektedir. Ayrıca uyanıklıkta ekstraselüler hacim değişikliklerinin periarteriyel akım kapasitesini düşürerek glimfatik fonksiyonu etkilediği bildirilmektedir^{17,20}. İdiyopatik hidrosefali hastalarında da glimfatik akım aracılı solüt uzaklaştırma bozuklukları saptanmıştır²¹.

2.2.1. Glimfatik Sistem Görüntülemeleri

Glimfatik sistem kemirgenlerde çeşitli görüntüleme yöntemleri ile gösterilmiştir. Ancak insanlarda BOS akımının görüntülenmesi yakın zamanda mümkün olmuştur. İnvazif olmayan görüntüleme yöntemlerinden T1 sekans MR ile BOS'un ventriküler sistem içerisinde akımı görüntülenebilmektedir. MR difüzyon tensor görüntülemelerde anizotropi ve difüzyonel haritalama ile perivasküler alanda BOS'un yönel dağılım durumu görüntülenebilmektedir²². Konvansiyonel MR dan 20 kat hızlı olan yüksek hızlı MR ensefalografi tüm beyin hacmini 100 ms'de tarayabilmektedir. Bu yöntem sayesinde yüksek çözünürlük ile pulsasyon ilişkili BOS dağılım değişiklikleri görüntülenebilmektedir¹⁸. Kontrast madde kullanımı ile glimfatik akım ve klirens arasındaki ilişki ortaya konulabilmektedir. Gadobutrolün lumbar ponksiyon ile intratekal uygulanması sonrası T1 sekans MR görüntülemesinde glimfatik akım ile ilgili bilgi sağlanabilmektedir^{11,21}. MRG'da BOS akım yolları, perivasküler akım, parankimal geçiş ve klirens oranları görülebilmektedir²¹. İdiyopatik normal basınçlı hidrosefalisi olan hasta grubu ve kontrol grubu ile yapılan görüntülemelerde, BOS akımının glimfatik sistemde kemirgenlere benzer şekilde subaraknoid mesafeden geniş serebral arterlere anterograd akım özelliği gösterdiği tespit edilmiştir. İdiyopatik normal basınçlı hidrosefali ve kontrol grubunun mevcut olduğu çalışmada kontrastın tüm serebral

bölgelere dağıldığı, sentripedal olarak korteksten derin beyin bölgelerine doğru geçiş gösterdiği tespit edilmiştir²³. Kontrast madde geçişinin en çok serebral kortekse ardından sırası ile serebral beyaz cevher, limbik sistem ve serebellar kortekse doğru olduğu saptanmıştır. Kontrast madde geçiş özelliklerinin dağılımını incelendiğinde, intratekal uygulanan maddelerinin dağılımının glimfatik sistem üzerinden değiştirilebileceği öne sürülmüştür. BOS akımı ve klirensi, kan beyin bariyerini geçen işaretli molekülün intravenöz uygulanabildiği daha az invazif olan PET-MR yöntemi ile görüntülenebilmektedir. İnsanlarda PET-MR görüntülemelerinde işaretli molekül olarak 11C-Pittsburgh compound B veya 18f-flortaben kullanılarak A β amiloid depoları ve BOS akım dinamikleri gösterilebilmektedir^{24,25}.

2.2.2. Glimfatik Sistem ve Nörodejeneratif Hastalıklar

Alzheimer hastalığında A β plaklarının birikimi ve hiperfosforile tau proteinlerinden oluşan nörofibriler yumaklar bilişsel fonksiyonların azalmasından sorumludur²⁶. A β sinaptik regülasyon ve nöronal sağ kalımda fizyolojik öneme sahiptir^{27,28}. Hayvan deneylerinde elde edilen sonuçlara göre A β uzaklaştırılmasında glimfatik sistemin önemli rolünün olduğu düşünülmektedir^{16,29}. Genetik olarak AQP-4'ten yoksun farelerde, 125I-A β 1-40 radyoizotop infuzyon yöntemi ile glimfatik fonksiyonun aksadığı ve A β uzaklaştırılmasının %55 azaldığı gösterilmiştir¹⁶. Amiloid prekürsör protein APP1 ve Presenilin 1 uygulanan AQP-4 yoksun farelerde A β plak oluşumunun arttığı ve dolayısı ile AQP-4 delesyonunun A β oluşumu veya yıkımına etkisi olmadığı ortaya konulmuştur. A β uzaklaştırılmasındaki düşüşün interstisyel sıvıdan BOS'a geçişin azalmasına bağlı olduğu veya kan beyin bariyerini geçecek yeterli miktarda A β sunulamaması nedeni ile olabileceği ileri sürülmektedir. Burfeind ve arkadaşları değişken bilişsel bozuklukları olan 634 katılımcıda, AQP-4 tek nükleotid polimorfizmi, Braak evresi ve neuron plak yoğunluğunu karşılaştırdıklarında bilişsel değişiklik ve belirtilen parametrelerde anlamlı fark olmadığını ortaya koymuşlardır³⁰.

Uykuda 125I-A β klirensinin katlanarak arttığı gösterilmiştir³¹. Uykusuz dönemde BOS metabolitlerinin atılımının belirgin azaldığı bildirilmektedir.³¹⁻³³ Düşük uyku kalitesinin bilişsel fonksiyonların azalmasında ve demans gelişiminde risk faktörü olduğu ortaya konulmuştur³⁴. Bu durumun glimfatik fonksiyonda azalmaya bağlı olabileceği düşünülmektedir. Yirmi kişi ile yapılan çalışmada uykusuz geçirilen bir gece sonrasında, hipokampal, parahipokampal ve talamik bölgelerde artmış A β yükü

olduğu saptanmıştır³⁵. Yavaş dalga uykusunun bölünmesi halinde de BOS Aβ seviyelerinin arttığı gösterilmiştir³⁶. Smith ve arkadaşlarının bilişsel işlevleri normal 60 yaş ve üzeri erişkin 462 kişide yaptıkları çalışmada AQP-4 tek nükleotid polimorfizminin düşük uyku kalitesi ve yükselmiş Aβ yükü ilişkisini kontrol ettiğini destekleyen sonuçlara ulaşılmıştır. Bu çalışmanın sonuçları, uyku bozuklukları, glimfatik değişiklikler ve Aβ birikimi arasındaki ilişkiyi açıklamaktadır³⁷.

İleri yaştaki farelerde arter duvar esnekliğinde azalma olması ve AQP-4 ekspresyonunda değişiklikler nedeni ile 125I-Aβ40 klirensinde %40 azalma gösterilmiştir³⁸. İşaretli moleküllerin intraventriküler ve intrasisternal olarak uygulanması sonrasında yaşlı farelerde işaretli molekülün BOS'a dağılımı, kan akımına ve servikal lenf nodlarına geçişinde genç farelere göre belirgin gecikme olduğu saptanmıştır⁸. Bu bulguların insanlarda da geçerli olduğu kabul edilirse, Aβ birikiminin yaş ile artmasının nedeni açıklanabilir.

Post-mortem 33 yaş ve üstü 79 Alzheimer hastasında yapılan bir çalışmada immünohistokimyasal olarak AQP-4 düzeyinde yaş ile birlikte artış olduğu gösterilmiştir. Bilişsel fonksiyonları korunan yaşlı hastalarda AQP-4 polaritesinin korunduğu bildirilmiştir. Ancak perivasküler AQP-4 kaybının Alzheimer hastalığı, Aβ ve Braak evresi ile korelasyonunun gösterildiği çalışmalar da mevcuttur³⁹.

Glimfatik disfonksiyonun vasküler demans ile ilişkisini araştıran çalışmalarda internal karotid artere kolesterol kristallerinin enjeksiyonu ile oluşturulan çoklu mikroenfarkt modelinde, perivasküler alan genişlemeleri ve AQP-4 lokalizasyon değişikliklerinin bilinç düzeyi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir⁴⁰. Bu çalışmada BOS'un parankime geçişinde ve parankimden uzaklaştırılmasında bozulmaların olduğu ileri sürülmüştür⁴⁰. Ayrıca Enfarkt sonrası 3. günde glimfatik fonksiyonun belirgin azaldığı, 14. günde glimfatik fonksiyonun bazı bölgeler dışında restore edildiği saptanmıştır. Restore edilemeyen bölgelerde BOS dolaşımı ile yeterli klirens sağlanamadığı ve solüt yoğunluğunun yüksek konsantrasyonda kaldığı bildirilmiştir.

2.2.3. Glimfatik Sistem ve İnme

Hemorajik inme modelinde subaraknoid mesafede fibrin ve yıkım ürünleri birikmektedir. Bu ürünlerin periarterial BOS geçişini engellediği ve perivasküler oklüzyon ile glimfatik fonksiyonu inhibe ettiği bildirilmiştir. Fibrinolitik etkili ajanlar ile BOS akımının ve glimfatik fonksiyonun tekrar sağlandığı gösterilmiştir^{41,42}

Kollajenaz ile oluşturulan intraparakimal hematoma modelinde ise glimfatik fonksiyonda belirgin değişiklik saptanmamıştır⁴¹. Akut iskemik inme modelinde oklüzyonun üçüncü saatinde BOS geçişinin bozulduğu, akım tekrar sağlandıktan 24 saat sonra glimfatik geçişte düzelme olduğu gösterilmiştir⁴¹.

Orta serebral arterin oklüzyonuna bağlı hipoksik nekrotik enfarkt modelinde, enfarktın 7. haftasında floresan işaretli molleküllerin kor bölgesindeki perivasküler alandan glial skar bölgesine geçtiği gösterilmiştir. Enfarkt bölgesinden 7. haftada elde edilen sitokinlerin hipokampal ve kortikal nöron kültürlerine uygulanması ile toksik etki gösterdikleri saptanmıştır. Bu sonuçlar perivasküler alandan glimfatik dolaşım ile su ve solütlerin uzaklaştırılmasının hasarlı bölgenin iyileşmesindeki etkisini ortaya koymuştur⁴³. Kortikal yayılan depresyonda (inme sonrası hipoksik doku çevresinde nöron ölümüyle sonuçlanan nöronların aşırı depolarizasyonu) glimfatik akımda azalma gösterilmiştir. Farelerde kortikal yayılan depresyonda perivasküler aralıkta 10 dakika kadar süren geçici kollapsın interstisyel akımda azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Kollapsın sonlanmasının ardından ilk 30 dakikada interstisyel akımda artış görüldüğü ancak kollaps öncesi değerlere ulaşmadığı bildirilmiştir⁴⁴.

2.3. Aquaporin Kanalları

AQP kanalları aquaporinler ve aquagliseroprinler olmak üzere iki önemli alt gruba ayrılmaktadır. AQP kanallarından AQP-0, AQP-1, AQP-2, AQP-4 ve AQP-5 suya seçici geçirgen özelliğe sahiptir. Aquagliseroprinler olarak sınıflandırılan AQP-3, AQP-7, AQP-9 ve AQP-10 altgrupları, gliserol ve üre gibi küçük polar olmayan solütlere ve suya geçirgen özelliktedir. Çoęu AQP kanalı iyonlara geçirgen olmamakla beraber iyonlara geçirgen alt gruplar AQP-6 ve AQP-8 ve yapısal protein karakteristikleri farklı olan alt grup AQP-11 ve AQP-12 bulunmaktadır. Bu alt gruplar atipik AQP alt grupları olarak adlandırılmaktadır^{45,46}. Tanımlanmış 13 AQP ailesinin her birinin özgün doku dağılımı bulunmaktadır. Beyinde yaygın olarak eksprese edilen AQP alt grupları AQP-1, AQP-4 ve AQP-9'dur. AQP-4, astrosit ve ependimal hücrelerde gösterilen suya geçirgen kanallardır. AQP-1 koroid pleksus epitel hücrelerinde eksprese edilirken, AQP-9 astrositlerde, bazı nöron gruplarında ve pia altındaki damar endotel hücrelerinde eksprese olmaktadır. AQP-4 nöronal aktivite sırasında salınan K⁺ un uzaklaştırılmasında, beyin ödeminin oluşumu ve çözünmesinde görev almaktadır. AQP-9 enerji metabolizmasında, AQP-1 ise BOS oluşumunda önemli rol oynamaktadır.

Beyinde baskın olarak bulunan bu üç AQP alt grubunun, beyin tümörleri ve travma gibi durumlarda astrositlerde reaktif olarak arttığı bildirilmektedir.

AQP kanalları aracılığı ile iki yönlü su ve solüt geçişi, intraselüler ve ekstraselüler alanlar arasında ozmotik ve hidrostatik basınç farkına bağlı olarak gerçekleşmektedir. AQP kanallarının fonksiyonları kısa ve uzun süreli mekanizmalar ile düzenlenmektedir. Kısa süreli mekanizmalar, kanallarda saniye ve dakikalar içerisinde meydana gelen yapısal veya geçirgenlikte görülen değişikliklerdir. Bunlar intraselüler sinyal yollarının fosforilasyon-defosforilasyonu, pH bağımlı aminoasit değişiklikleri, metal iyon etkileşimleri, protein-protein etkileşimleri, inhibitör bağlanması olarak sıralanabilir. Uzun süreli mekanizmalar ise AQP mRNA sentezi, protein sentezi veya yıkılım oranı arasındaki değişiklikler sonucunda oluşmaktadır.

2.3.1. Serebral Dokuda AQP-4 Kanalları

AQP-4, serebral dokunun temel su kanalıdır. AQP-4 endotelial hücrelerin bazolateral membranında ve astrositlerin plazma membranında yoğun olarak eksprese edilmektedir⁴⁷. AQP-4 kanalları kan beyin bariyeri fonksiyonuna aracılık eden perivasküler astrositlerin ayaksı çıkıntılarında, nörotransmitter uzaklaştırılmasında görev alan perisinaptik astrositlerde bulunmaktadır. AQP-4 miyelinizasyonu olmayan aksonlar ve ranvier nodları ile ilişkili astrositlerde K^+ uzaklaştırılmasında görev almaktadır. İnsan ve kemirgenlerde subventriküler bölgeden elde edilen nöronal kök hücrelerde ve glial öncü hücre kültürlerinde AQP-4 ekspresyonu saptanmıştır⁴⁸. Astrositlerde eksprese edilen AQP-4 kanalları iskemi, travma, tümör, inflamasyon ve metabolik bozukluklarda önemli rol oynamaktadır. K^+ 'un uzaklaştırılmasında görev aldığı için epilepsi etyolojisinde bu kanalların önemli olduğu bildirilmektedir. Temporal lob epilepsisi olan hastalarda AQP-4 kanallarının ekspresyonunda artış olduğu, sklerotik bölgede perivasküler AQP-4 kanallarının azaldığı saptanmıştır. Astrosit kökenli beyin tümörlerinde AQP-4 kanal ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Bu artışın astositom'un evresi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. AQP-4 kanal artışının kan-beyin bariyerinde geçirgenlik artışı ve beyin ödemi ile ilişkili olduğu rapor edilmektedir. Kemoterapi ve radyoterapi perivasküler alanın restore edilmesi sırasında AQP-4 kanal ekspresyonunu azaltmaktadır. Menenjiomlarda tümör çevresindeki ödemle ilgili olduğu düşünülen AQP-4 ekspresyonunun arttığı bildirilmektedir⁴⁹. AQP-4 kanallarının merkezi sinir sistemindeki inflamatuvar hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Optik

nöromiyelitte ortaya çıkan otoantikorların ana hedeflerinden birisinin AQP-4 kanalları olduğu bildirilmiştir⁵⁰. Deneysel otoimmün ensefalomiyelitte medulla spinalis ve serebral dokuda AQP-4 ekspresyonunda artış olduğu gösterilmiştir⁵¹. Beynin önemli eksitator nörotransmitteri olan glutamat, nöronlardan sinaptik aralığa salındıktan sonra astrositler tarafından uzaklaştırılmaktadır. Glutamatın astrositlere alımı sodyumla beraber sekonder aktif transport ile gerçekleşmektedir. Aynı zamanda Eksitator aminoasit taşıyıcılar ile suyun astrosite geçmektedir. Perisinaptik alanın hacminin korunmasında ve astrosit şişmesinin engellenmesi için suyun astrositten uzaklaştırılması gerekmektedir. Glutamatın AQP-4 kanallarında su geçişini neden olmasının, perisinaptik aralıkta fonksiyon devamlılığına katkısı olduğu ileri sürülmektedir. AQP-4 kanallarında glutamatın su geçirgenliğini arttırıcı etkisinin perisinaptik bölgeden nörotransmitterlerin uzaklaştırılmasını kolaylaştırabileceği düşünülmektedir⁵². Travmatik beyin hasarı deneysel modelinde, dopaminin AQP-4 kanallarındaki su geçirgenliğini azalttığı ve beyin hasarından kısa süre sonra ödem oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir⁵³.

2.4. Şizofreni

Dünya genelinde toplumun yaklaşık %1'inde görülen şizofreni, bilişsel ve duygusal işlevlerde bozulmaya neden olan bir hastalıktır. Şizofreninin etiolojisinde genetik ve çevresel faktörlerin etkili olduğu bilinmektedir. Günümüzde şizofreni gelişimi için sadece bir beyin bölgesinde ve dopaminerjik sistemde meydana gelen bir bozulmanın tek başına sorumlu olmadığı beyinde yaygın ve birden çok nörotransmitter sisteminde meydana gelen yaygın bozulmanın olduğu ileri sürülmektedir. Şizofreninin belirtileri, pozitif, negatif ve bilişsel olmak üzere üçe ayrılmaktadır. Sanrılar, hallüsinasyonlar, algı bozuklukları gibi belirtiler pozitif belirtiler olarak adlandırılırken, sosyal ve duygusal içe kapanıklık, affektif düzleşme gibi bozulmalar negatif belirtiler olarak adlandırılmaktadır. Dikkat ve konsantrasyonda bozulma, öğrenme ve bellek performansında azalma gibi bilişsel işlevlerde bozulma da şizofreni hastalarında görülen diğer belirtilerdendir. Şizofreninin dopaminerjik hipotezi pozitif belirtilerini açıklayabilirken, glutamaterjik hipotezi ise negatif ve bilişsel belirtilerini açıklamaktadır. Şizofrenide görülen belirtilerden, bilişsel işlevlerde azalma genellikle hastalığın başlangıcında görülmekte ve kalıcı olmaktadır^{54,55}. Klinik çalışmaların genelinde şizofreninin diğer belirtilerinin başlamasından yaklaşık 3-4 yıl önce bilişsel

işlevlerde azalmanın olduğu bildirilmektedir⁵⁶. Şizofreninin diğer belirtileri ortaya çıkmadan erken evrede bilişsel işlevlerde azalmanın görülmesinin şizofreni için etiyolojik ve tanısal bir faktör olabileceği belirtilmektedir.

Şizofreni tedavisi için 1950'li yıllarda dopaminerjik sistem üzerine etkili (D2 reseptörleri) ilaçlar kullanılmaya başlanmıştır. Günümüze kadar da şizofreninin dopaminerjik hipotezi üzerine birçok çalışma yapılmıştır⁵⁷⁻⁵⁹. Dopaminerjik hipotez ile şizofrenideki pozitif belirtileri açıklanmaya çalışılmakla birlikte bu hipotezin bazı sınırlamaları bulunmaktadır. Örneğin, subkortikal bölgelerde dopaminerjik aktivitede artış olurken, kortikal bölgelerde azalma olmasının nedenleri açıklanamamıştır. Dopaminerjik sistem hipotezindeki sınırlamalar nedeniyle şizofreni için daha açıklayıcı bir hipotezin gerekliliği ortaya çıkmıştır. Bu hipoteze alternatif olarak 1990'lı yıllarda ketamin ve fensiklidin gibi N-metil-D-aspartat (NMDA) aracılı glutamat iletimini bloke eden ajanların psikomimetik etkilerinin olduğu gösterilmiştir². Dopaminerjik hipotez ile karşılaştırıldığında NMDA reseptör blokajı, şizofreninin bilişsel işlev bozukluğu belirtileri yanında negatif ve pozitif belirtilerini indüklemektedir. Günümüzde şizofreninin etiyolojisini araştırmak için yaygın olarak NMDA reseptör blokajı ile oluşturulan şizofreni davranış benzeri hayvan modelleri kullanılmaktadır⁶⁰⁻⁶².

2.4.1. NMDA Reseptörleri

Merkezi sinir sisteminde en önemli eksitatör aminoasitlerden olan glutamatın NMDA (GluN), α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol-propionat (GluA, AMPA) ve Kainat (GluK), δ reseptörleri (GluD) olmak üzere 4 farklı iyonotropik reseptörü, ayrıca G protein eşlenik metabotropik reseptörü bulunmaktadır^{63,64}.

Merkezi sinir sisteminde yaygın olarak bulunan heterotetramerik yapıdaki NMDA reseptörleri aktiviteye bağlı sinaptik plastisite önemli rol oynamaktadır. GluN1, GluN2 (A-D), GluN3 (A-B) bu reseptörün tanımlanmış alt tiplerini oluşturmaktadır. Reseptör dört farklı alt tipin bir araya gelmesiyle oluşmaktadır. Her reseptör yapısında iki GluN1 alt tipi bulunmak zorunda iken diğer iki alt tip değişkenlik göstermektedir⁶⁵. GluN1 alt tipi beyinde yaygın olarak ifade edilmekte ve tüm yaşam boyunca bulunmaktadır. GluN2 alt tiplerinin gen ifadesi ise yaşam döngüsünde oldukça karmaşıktır. Hipokampus ve kortekste embriyonik dönemde düşük düzeylerde olan GluN2B gen ifadesi doğumdan sonra artmaktadır. Diğer taraftan GluN2A gen ifadesi doğumla

birlikte artmaya başlamakta ve doğum sonrasında ise yüksek seviyelere çıkmaktadır. NMDA reseptörlerinin alt tip kompozisyon ve ifadesindeki büyük farklılık bu reseptörlere farklı fizyolojik ve farmakolojik özellikler kazandırmaktadır^{66,67}.

NMDA reseptörlerinin yapısında glutamat ve NMDA'nın bağlanması için agonist bağlanma bölgesi, Mg^{2+} bağlanma bölgesi, glisin bağlanma bölgesi, poliamin bağlanma bölgesi, çinko bağlanma bölgesi, antagonist tanıma ve bağlanma bölgesi, kation seçici kanalları (Na^+ , K^+ , Ca^{2+}) gibi özel bağlanma bölgeleri bulunmaktadır. Agonist bağlanma bölgesine glutamat, NMDA veya diğer agonistler bağlandığında iyon kanalının açılması gerçekleşir. Ancak NMDA reseptörlerinden iyon akışının sağlanabilmesi için kanalın içinde yer alan Mg^{2+} 'un bağlanma bölgesinden ayrılması gerekmektedir. Sinir hücresi için -70 mV olan istirahat membran potansiyelinde iyon kanalı Mg^{2+} blokajı ile kapalı durumdadır. Membranın kısmi depolarizasyonu ile (AMPA ve Kainat reseptörleri vs. aracılığı ile) membran potansiyelinin yaklaşık -30 mV düzeylerine gelmesiyle ortaya çıkan elektrostatik etki, Mg^{2+} 'un bağlanma bölgesinden ayrılmasına neden olmakta ve kanaldan iyon akışına izin vermektedir. Reseptörün aktivasyonu için merkezi sinir sisteminde inhibitör nörotransmitter olan glisinin bir ko-faktör olarak ekstraselüler ortamda bulunması gerekmektedir. Spermin ve spermidin poliamin bağlanma bölgesine bağlanarak glisine benzer şekilde reseptörün aracılık ettiği yanıtı artırmaktadır. Çinko bağlanma bölgesi, voltaj bağımlı inhibisyona neden olmaktadır. Hallusinerjik bir ilaç olan fensiklidin (PCP, melek tozu), dissosiyatif anestezi ajanı bağlanma bölgesine bağlanarak kanalı inhibe etmektedir. Antagonist bağlanma bölgesi kanal kompleksinin alt bölümündedir ve antagonistin (fensiklidin, MK-801 vs.) bu bölgeye bağlanabilmesi için öncelikle agonistin reseptöre bağlanmış ve aynı zamanda Mg^{2+} bloğunun ortadan kalkarak kanalı açmış olması gerekmektedir. Bu etki agonist bağımlı olmakla birlikte yarışmasızdır (non-kompetitif). Yarışmalı antagonistler ise agonist bağlanma bölgesi için glutamat ile yarışmaktadırlar⁶⁴.

2.4.2. Deneysel Şizofreni Modeli Olarak NMDA Reseptör Hipofonksiyonu

Yapılan farmakolojik, fizyolojik, genetik ve biyokimyasal çalışmalar NMDA reseptörlerinin azalmış işlevinin şizofreninin etiyolojisi ile ilişkisi olduğunu göstermektedir^{62,68-70}. Son yıllarda yapılan bir meta analizde şizofreni teşhisi konulmuş hastalarda prefrontal kortekte NMDA reseptör alt tipi GluN1 mRNA gen ifadesinin

azaldığı bildirilmektedir⁷¹. Benzer şekilde şizofreni hastalarının ölüm sonrası hipokampusun dentat girusundan elde edilen dokularda GluN1 mRNA gen ifadesinde azalma olduğu rapor edilmektedir⁷². Şizofreni hastalarında NMDA reseptörlerinin aktivasyonu için gerekli ko-aktivatör glisinin modülasyon bölgesi ile ilgili bozuklukların gösterilmesi de NMDA reseptör işlev bozukluğunu desteklemektedir. Ayrıca şizofreni hastalarında BOS ve beyin dokusunda glisin bağlanma bölgesi antagonisti triptofan metaboliti olan endojen kynurenic asitin arttığı bildirilmektedir⁷³. Şizofreni hastalarında glutamat düzeylerinde de değişikliğin olması şizofreninin NMDA reseptör hipofonksiyon hipotezini desteklemektedir. Bir meta-analizde proton manyetik rezonans spektroskopisi ile şizofreni hastalarında in vivo olarak frontal bölgede yaş ile progresif olarak glutamat düzeylerinin azaldığı rapor edilmektedir⁷⁴. Yine aynı yöntemle yapılan başka bir çalışmada şizofreni hastalarında hipokampus dentat girusta glutamat düzeyinde azalma olduğu gösterilmiştir⁷⁵. Şizofrenide glutamaterjik sinapslarda, plastisitenin düzenlenmesiyle ilişkili fonksiyonel proteinlerde de nova mutasyonlar rapor edilmektedir⁷⁶.

Bu hipoteze göre, kortikal NMDA reseptörlerinin hipofonksiyonu, ventral tegmental alana projekte olan glutamaterjik nöronlarda sinaps yapan inhibitör GABAerjik ara nöronların işlevini azaltmaktadır. Ventral tegmental alandan limbik sisteme projekte olan mezolimbik dopaminerjik nöronlar üzerindeki disinhibisyon N. akkumbensteki dopaminerjik sistem aktivitesinde artışa neden olmaktadır. Ayrıca, disinhibisyon ile aşırı glutamat salınımına neden olan bu yolak ventral tegmental alanda bulunan GABAerjik ara nöronlarda sinaps yapmakta ve bu ara nöronlar ise dorsolateral ve ventromediyal prefrontal kortekse projekte olan mezokortikal dopaminerjik nöronlardaki aktivitenin azalmasına neden olmaktadır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1.Etik

Çalışmanın, etik kurul onayı, Çukurova Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 25.07.2018 tarihli 4. oturumun 17 no'lu kararıyla alındı.

3.2. Deney Hayvanlarının Bakımı

Deneylerde Fizyoloji Anabilim Dalı'nda barındırılan 8-10 haftalık (ortalama $32,0 \pm 1,0$ gr) Balb/c fareler kullanıldı (Şekil 1). Deney hayvanları barındırıldıkları odanın sıcaklığı klima ile 22 ± 1 °C olacak şekilde sabit tutuldu. Odanın camları ışık geçirmeyecek şekilde boyanmış olup aydınlık-karanlık döngüsü otomatik olarak denetleyici bir cihaz ile 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olacak şekilde (05^{00} - 17^{00} aydınlık, 17^{00} - 05^{00} karanlık) ayarlandı. Deney hayvanlarının yemleri MBD Yem firmasından temin edildi, yemler herhangi bir kısıtlama olmadan (ad libitum) verildi. Tüm deney hayvanlarının su ihtiyaçları da herhangi bir kısıtlama olmadan çeşme suyu ile karşılandı.

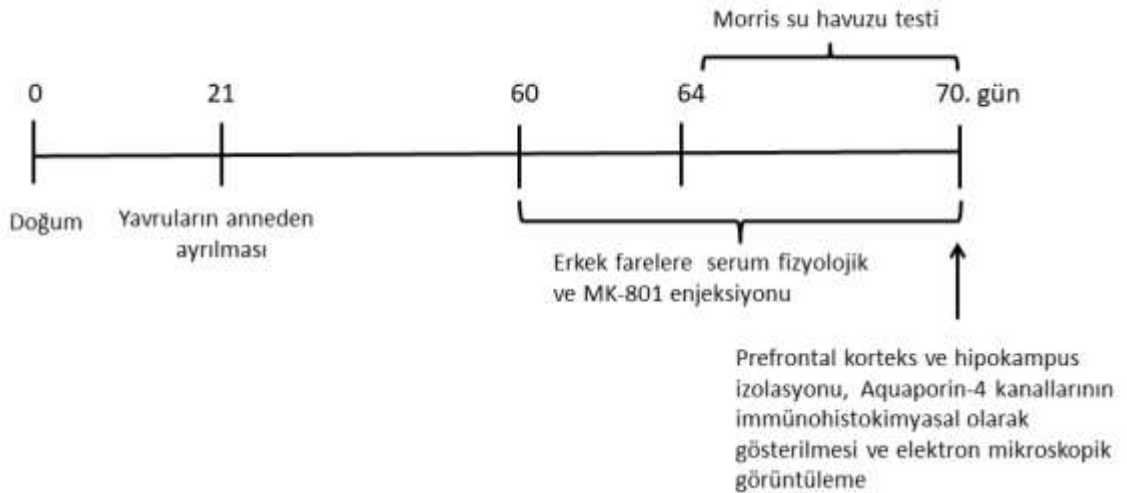


Şekil 1. Yetişkin (8-10 haftalık) Balb/c fare.

3.3. Deneysel Şizofreni Modeli Oluşturulması

Çalışmamızda, deneysel şizofreni modeli oluşturmak amacı ile NMDA reseptör blokajı yapıldı. NMDA reseptör blokajı yapmak için (+)-MK-801 hidrojen maleat (Dizocilpine hydrogen maleate, (5R, 10S)-(+)-5-Methyl-10,11-dihydro-5H-dibenzo [a,d] cyclohepten-5, 10-imine hydrogen maleate) (SİGMA-ALDRİCH M107, USA.), kontrol gruplarında ise serum fizyolojik kullanıldı. MK-801, 0,50 mg/ml olacak şekilde serum fizyolojikte sulandırılarak stok solüsyon hazırlandı. Stok solüsyon 1ml'lik ependorflara ayrılarak -20⁰C'de saklandı. Enjeksiyondan önce stok solüsyon serum fizyolojik ile sulandırılarak enjeksiyon günlerinde +4⁰C'de saklandı.

NMDA reseptör blokajı yapılan gruplarda, MK-801, günde bir defa (saat 10:00) periton içine, 0,50 mg/kg dozda (0,1ml/10gr vücut ağırlığı hacminde) 11 gün süre ile uygulandı. Kontrol gruplarında ise, MK-801 ile aynı hacimde günde bir defa periton içine serum fizyolojik (kontrol) enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyon günlerinde deney hayvanlarının somatik büyümelerinin takibi için vücut ağırlıkları ölçüldü (Şekil 2).



Şekil 2. Deneysel akış şeması.

3.4. Bilişsel Davranış Testi

3.4.1. Morris Su Havuzu

Morris su havuzu, 95 cm çapında, 45 cm derinliğinde, galvaniz kaplama saçtan yapılmış, iç kısmı siyah, silindirden oluşmaktadır. Havuzun içinde hareket ettirilebilen 27 cm yüksekliğinde, 10 cm çapında bir kaçış platformu bulunmaktadır (Şekil 3). Deneyler sırasında havuzun içi platform seviyesini 1cm aşacak kadar çeşme suyu ile dolduruldu. Suyun sıcaklığı 21 ± 1 °C olacak şekilde ayarlandı. Havuzda yüzen farelere uzaysal ipucu olması için, farelerin görüş alanı içinde laboratuvar duvarlarına, açık renk duvara zıt şekilde, siyah renkli geometrik şekiller asıldı. Havuzdaki ışık 150 lux olacak şekilde ayarlandı.



Şekil 3. Morris su havuzu.

3.4.2. Morris Su Havuzu Eğitim Denemeleri ve Testi

Morris su havuzu eğitim denemeleri ve testi ile farelerin uzaysal öğrenmeleri ve bellekleri değerlendirildi. Morris su havuzunda deney hayvanları 5 gün üst üste günde 4 kez eğitim denemelerine tabi tutuldu. Her denemede, hayali olarak bölünmüş dört kadranın herhangi birinden havuza bırakılan denekler kaçış platformunu bulmaları için 60 sn süresince yüzdürüldü. Deney hayvanları platforma geldiklerinde burada 15 sn bekletildikten sonra havuzdan alındı. Eğitim denemeleri sırasında denekler, platformu 60 sn süresince bulamamışlarsa el yardımı ile yönlendirilerek platformun yerini uzaysal olarak öğrenmeleri sağlandı ve 15 sn platformda bekletilerek havuzdan alındı. Platformun yeri denemelerin hepsinde aynı kadranda sabit şekilde tutuldu. Eğitim denemeleri arasında denekler, uygun ortam sıcaklığı sağlanarak kafeslerinde 30 sn bekletildi.

Test sırasında platform havuzdan uzaklaştırıldı ve deney hayvanları platformun uzaklaştırılmadan önce bulunduğu kadranın karşısındaki kadrandan havuza bırakıldı. Denekler test için 60 sn süresince havuzda yüzdürüldü ve platform uzaklaştırılmadan önce bulunduğu kadranda (hedef kadranda) geçirdikleri süre kamera ile kayıtlanarak ETHOVISION XT (NOLDUS, sürüm 4.1) ile değerlendirildi.

3.4.2.1. Morris Su Havuzu Eğitim Denemelerinde Kullanılan Ölçütler

Platformu bulma süresi: Eğitim denemelerinde 60 sn içinde kaçış platformunu bulma süresi (sn).

Yüzme mesafesi: Platform bulunana kadar kat edilen mesafe (cm).

Yüzme hızı: Platform bulunana kadar yüzme hızı (cm/sn).

3.4.2.2. Morris Su Havuzu Testlerde Kullanılan Ölçütler

Platformun bulunduğu kadranda (hedef kadranda) geçirilen süre: Platform kaldırıldıktan sonra 60 sn süresince platformun bulunduğu kadranda geçirilen süre (sn).

Yüzme mesafesi: Platform kaldırıldıktan sonra 60 sn süresince kat edilen mesafe (cm).

Yüzme hızı: Platform kaldırıldıktan sonra 60 sn süresince yüzme hızı (cm/sn) (Tablo 1).

Tablo 1. Morris su havuzunda kullanılan ölçütler

	<ul style="list-style-type: none">• Platformu bulma süresi• Yüzme mesafesi• Yüzme hızı
Testler	<ul style="list-style-type: none">• Platformun bulunduğu kadranda (hedef kadranda) geçirilen süre• Yüzme mesafesi• Yüzme hızı

3.5. İmmünohistokimya Yöntemi

AQP-4 ekspresyonunun belirlenmesi amacıyla, elde edilen histolojik kesitler, polilizin kaplı lamalar üzerine alındı. Buzdolabında bekletilen kesitler kurutulularak, tekrar buzdolabına alındı ve 15 dk. kadar bekletildi. Buzdolabından çıkarıldıktan sonra tekrar kurutulan kesitler, 60 °C’de etüvde ksilol içerisinde 15 dk. deparafinize edildi. Daha sonra doku kesitleri, derecesi giderek azalan alkol serileri içerisinde hidrate edildi ve distile su içerisine alındı. Kesitler daha sonra, sitrat solüsyonu içerisine alınıp 95 °C’lik su banyosunda, 30 dk. süreyle tutularak antiijenlerin açığa çıkarılması işlemi gerçekleştirildi. Oda ısısında 45 dk. soğutulan kesitler, distile suda çalkalandı ve %3’lük hidrojen peroksit (H₂O₂) içerisine alındı. H₂O₂’te 15 dk. bekletildikten sonra, kesitler, saf su ve fosfat tamponundan (PBS, pH: 7,2-7,4) geçirildi. Her bir kesitin etrafı dikkatlice silindikten sonra, üzerine protein bloklama solüsyonu damlatıldı ve oda

ısısında, nemli ortamda 20 dk. bekletildi. Ardından, kesitler üzerindeki solüsyon dökülerek, saf su ve fosfat tamponundan geçirildi. Dokuların etrafı kurulandı ve 1/100 oranında sulandırılan, anti-aquaporin-4 (aquaporin-4; anti-rat rabbit polyclonal antibody, ab9512, Abcam, USA) primer antikoru damlatıldı. Primer antikor damlatılan tüm kesitler +4 °C'de, nemli ortamda bir gece bekletildi. Negatif kontrol için alınan kesitlere primer antikorlar yerine, tampon solüsyonu damlatıldı. Primer antikorla muamele edilip 1 gece +4°C'de bekletilen kesitler, daha sonra distile su ve PBS'den geçirildi ve üzerlerine Biotin (D01-125, Lifespan, USA.) damlatılarak 15 dk. süreyle oda ısısında tutuldu. On beş dakika sonra distile su ve PBS'de yıkanan kesitlerin etrafı kurulanıp Avidin (D01-125, Lifespan, USA.) damlatılarak, 20 dk. süreyle oda ısısında bekletildi. Distile su ve PBS'den geçirilen kesitler üzerine, aminoetilkarbozol (AEC) solüsyonu damlatıldı ve 10 dk. bekletildi, çeşme suyu ile yıkandı ve doku kesitleri, zıt boyama için hematoksilin ile boyandı. Boyama işleminden sonra kesitler, çeşme suyunda yıkanarak kurumaya bırakıldı. Su bazlı kapama maddesi damlatılarak dokular lamel ile kapatıldı, Olympus BX53 ışık mikroskobu (Japan) ile incelendi ve fotoğrafları çekildi.

3.5.1. İmmünohistokimyasal Skorlama Yöntemi

AQP-4 ekspresyonunu araştırmak amacıyla immünohistokimyasal skorlama yöntemi uygulandı. İmmünohistokimyasal skorlama için 40'lık objektifte rastgele seçilen 5 alanda H skorlama sistemi kullanıldı. H skoru, pozitif hücre yüzdesiyle birlikte dört farklı boyama yoğunluğunun çarpımı toplanarak hesaplandı. Bu sisteme göre;

Boyanma derecesi = 0 (Hiç boyanma yok)

= 1 (Zayıf derecede boyanma)

= 2 (Orta derecede boyanma)

= 3 (Güçlü derecede boyanma) şeklinde değerlendirildi.

H Skor değerini hesaplamak için 'I x PC' formülü kullanıldı.

I: Intensity (Yoğunluk)

PC: Percentage of positive cells (Her derecede boyanan hücre yüzdesi).

3.6. Elektron Mikroskopi Yöntemi

Elektron mikroskobik değerlendirme için alınan prefrontal korteks ve hipokampus doku parçaları, Millonig fosfat tamponu ile hazırlanmış % 5'lik gluteraldehit

solüsyonunda 1 saat bekletildikten sonra dişçi mumuyla kaplı petri üzerinde jilet yardımıyla 1 mm³ lük parçalara ayrıldı. Doku parçaları tekrar gluteraldehit solüsyonuna alınarak 3 saat kadar tespit edildi. Böylece dokular gluteraldehit ile toplam 4 saat tespit edilmiş oldu. Daha sonra dokular Millonig fosfat tamponunda iki defa 10'ar dk. çalkalandı ve ardından Millonig fosfat tamponu ile hazırlanmış %1 lik osmium tetraoksit solüsyonu ile ikinci defa tespit edildi. İki saatlik osmium tetraoksit tespitinden sonra dokular yine fosfat tamponu ile iki kez 10'ar dk. yıkandı. Dokular daha sonra aşağıdaki sıraya göre dehidrate edildi;

- % 50 Etil alkolde + 4 °C'de 15 dk.
- % 70 Etil alkolde + 4 °C'de 15 dk.
- % 86 Etil alkolde + 4 °C'de 15 dk.
- % 96 Etil alkolde + 4 °C'de 15 dk.
- % 100 Etil alkolde + 4 °C'de 15 dk.
- % 100 Etil alkolde + 4 °C'de 15 dk.

Buraya kadar olan işlemler buzdolabında +4 °C'de gerçekleştirildi. Daha sonra aşağıdaki işlemler oda ısısında gerçekleştirildi:

- %100 Etil alkolde 15 dk.
- Propilen oksitte 15 dk.
- Propilen oksitte 15 dk.

Dehidrate edilen doku parçaları daha sonra aşağıdaki solüsyonlar içerisinde bekletildi:

- Propilen oksit + gömme materyali 30 dk.
- Propilen oksit + gömme materyali 30 dk.

Bu işlemlerden sonra doku parçaları içerisinde yeni hazırlanmış gömme materyali (resin) bulunan tüplere alındı ve bir gece süreyle rotatorda karıştırıldı.

Gömme Materyali:

- Araldit CY 212 20 ml

- Sertleştirici HY 964 20 ml
- Hızlandırıcı DY 064 0,6 ml
- Plastikleştirici – Dibütil Fitalat 1 ml

Ertesi gün rotatordan alınan doku parçaları taze hazırlanmış gömme materyali kullanılarak Beem kapsüllere gömüldü ve 60 °C etüvde 48 saat polimerize edildi. Daha sonra bloklar etüvden çıkarılarak soğumaya bırakıldı. Bloklardan Ultracut S ultramikrotomu ile 1 µm kalınlığında yarı ince kesitler alınarak toluidin mavisi ile boyandı ve doku bloklarında uygun alanların seçimi yapıldı. Belirlenen alanlardan ultramikrotom ile 50 nm kalınlığında ince kesitler alındı. Kesitler 200-300 gözenekli bakır gridlere alınarak %70'lik etil alkolde hazırlanan doymuş uranil asetat ile Reynolds'un kurşun sitrat solüsyonları ile boyandı. Boyanan kesitler JEOL-JEM 1400 Transmisyon Elektron Mikroskobu (Japan) ile incelendi ve mikrograflar elde edildi.

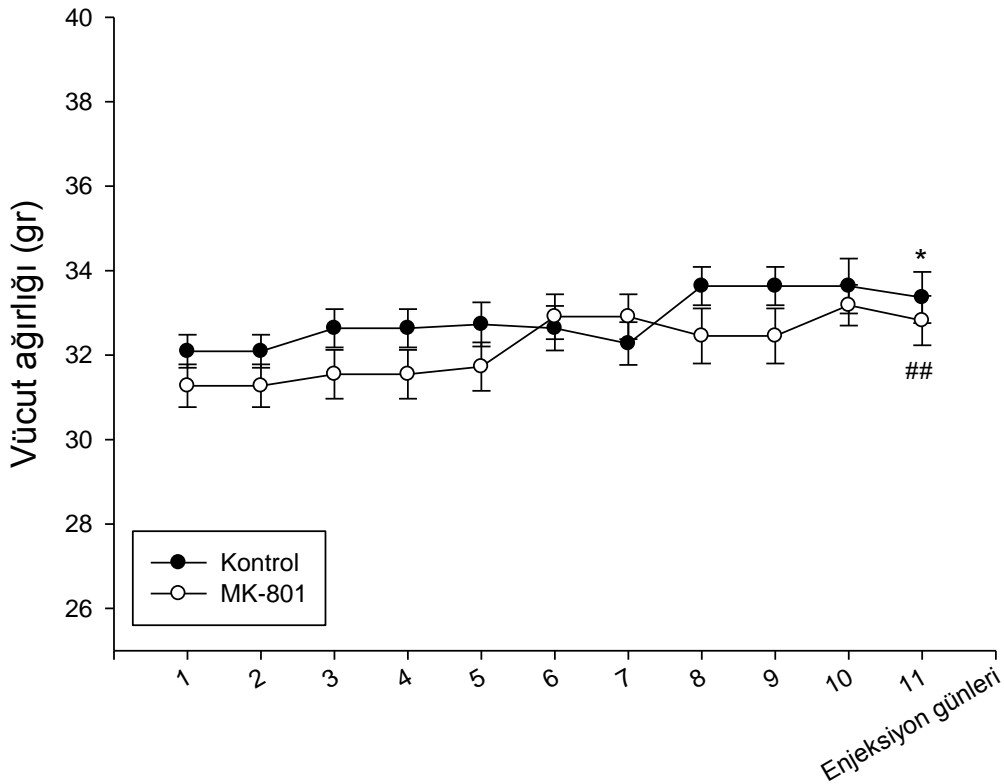
3.7. İstatistiksel Analiz

Veriler ortalama \pm S.H olarak ifade edildi. İstatistiksel analizde, SPSS 20.0 bilgisayar programı kullanıldı. Tekrarlı ölçümlerde iki yönlü ANOVA kullanıldı ve grup içi değişimde, eşleştirilmiş örneklerde t- testi, gruplar arası karşılaştırmalarda ise student t-testi kullanıldı. İmmunohistokimyassal analizde ise gruplar arasındaki ekspresyon farklılıkları Mann Whitney U testi kullanılarak değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Vücut Ağırlığı

MK-801 ve serum fizyolojik uygulanan farelerin on bir gün boyunca somatik büyümelerini değerlendirmek amacı ile vücut ağırlıkları takip edildi. Tekrarlayan ölçümlerde ANOVA ile anlamlı ilaç etkisi saptanmadı [$F(1, 19) = 1,8$ $p=0,18$]. Serum fizyolojik ve MK-801 uygulanan gruplarda enjeksiyonun on birinci gününde, enjeksiyonun birinci gününe göre vücut ağırlığı anlamlı arttı (sırası ile $p<0,05$, $p<0,01$) (Şekil 4).



Şekil 4. Serum fizyolojik ve MK-801 uygulanan gruplarda enjeksiyon günlerinde vücut ağırlığı değişimi (gr).

Veriler ortalama \pm SH olarak sunuldu. * $p<0,05$, kontrol (serum fizyolojik) grubu enjeksiyon uygulanan birinci güne göre, ## $p<0,01$ MK-801 grubu enjeksiyon uygulanan birinci güne göre. İstatistiksel analizde tekrarlayan ölçümlerde ANOVA, ikili karşılaştırmalarda eşleştirilmiş t- testi kullanıldı. Kontrol grup N=11, MK-801 grup N=10.

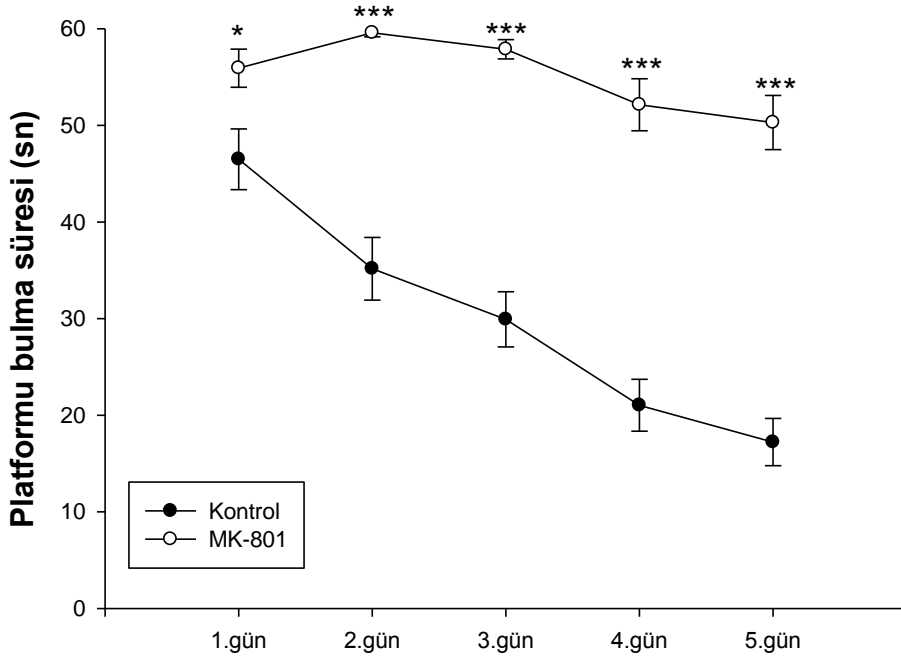
4.2. Bilişsel Davranış Testi

4.2.1. Morris Su Havuzu

4.2.1.1.Eğitim Denemeleri

Morris su havuzunda beş gün süre ile yapılan eğitim denemelerinde, platformu bulma süresinde tekrarlı ölçümlerde ANOVA ile anlamlı fark saptandı [$F(1,82) = 140,4$, $p=0,00$]. Eğitim denemelerinin birinci, ikinci, üçüncü, dördüncü, beşinci günlerinde MK-801 uygulanan grupta kontrol grubuna göre platformu bulma süresinde anlamlı artış bulundu (birinci gün; $p<0,05$, iki üç dört ve beşinci gün $p<0,001$).

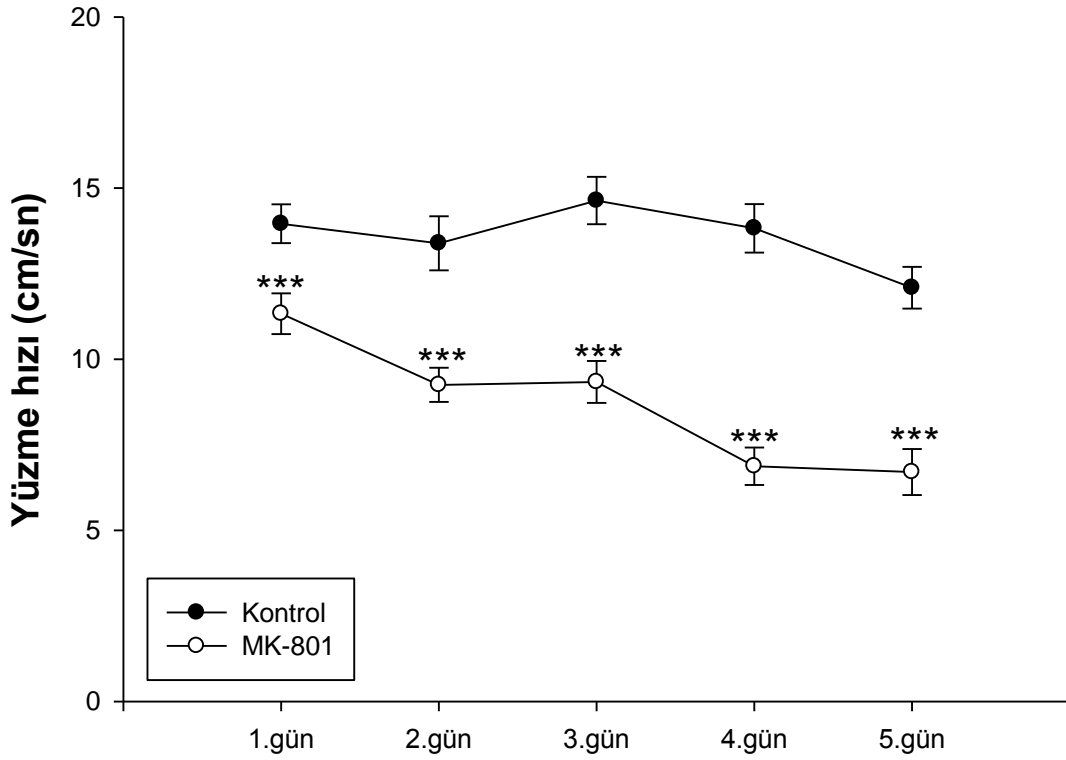
MK-801 uygulanan grupta birinci gün ile karşılaştırıldığında ikinci, üçüncü, dördüncü ve beşinci günlerde platformu bulma süresinde anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Kontrol grubunda birinci gün ile karşılaştırıldığında ikinci, üçüncü, dördüncü, beşinci günlerde platform bulma süresinde anlamlı azalma bulundu (ikinci gün $p<0,05$, üçüncü, dördüncü ve beşinci günler $p<0,001$) (Şekil 5).



Şekil 5. Morris su havuzu eğitim denemelerinde platformu bulma süresi (sn).

Veriler ortalama \pm SH olarak sunuldu. * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ kontrol (serum fizyolojik) grubuna göre. İstatistiksel analizde tekrarlayan ölçümlerde ANOVA, ikili karşılaştırmalarda Student-t testi kullanıldı. Kontrol grup N=11, MK-801 grup N=10.

Eğitim denemelerinde, tekrarlı ölçümlerde ANOVA ile yüzme hızında anlamlı fark saptandı $F[(1,82) = 58,9 p=0,00]$. MK-801 uygulanan grupta kontrol grubuna göre birinci, ikinci, üçüncü, dördüncü ve beşinci günde yüzme hızında anlamlı azalma meydana geldi ($p=0,001$). Kontrol grubunda birinci gün ile karşılaştırıldığında ikinci, üçüncü ve dördüncü günde yüzme hızında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$), beşinci günde ise yüzme hızında anlamlı azalma saptandı ($p<0,05$). MK-801 uygulanan grupta ise birinci gün ile karşılaştırıldığında ikinci, üçüncü, dördüncü, beşinci günlerde yüzme hızında anlamlı azalma saptandı ($p=0,001$) (Şekil 6).

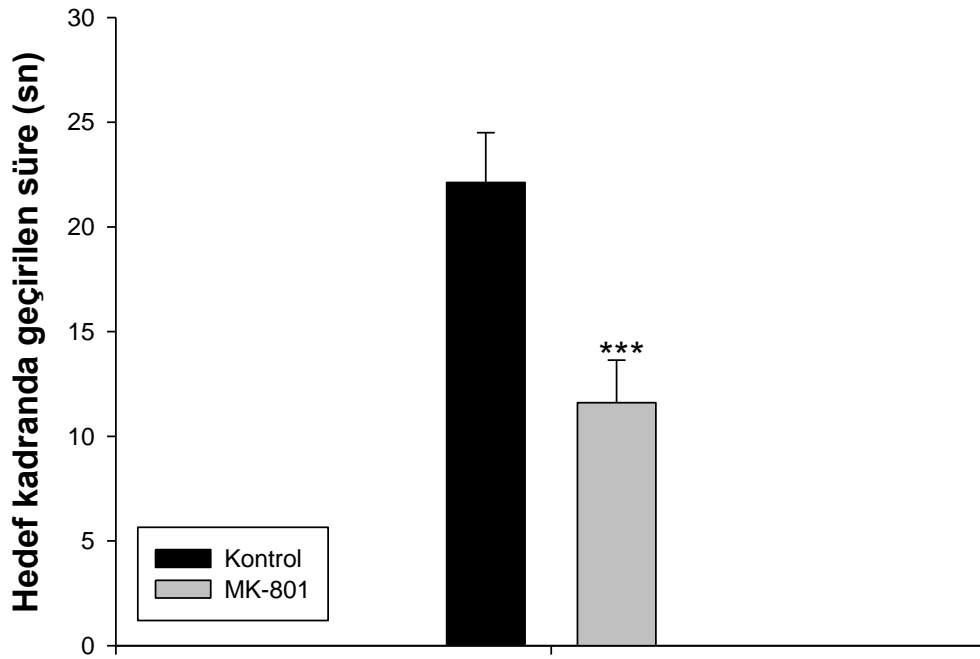


Şekil 6. Morris su havuzu eğitim denemelerinde yüzme hızı (cm/sn).

Veriler ortalama \pm SH olarak sunuldu. *** $p<0,001$ kontrol (serum fizyolojik) grubuna göre. İstatistiksel analizde tekrarlayan ölçümlerde ANOVA, ikili karşılaştırmalarda Student-t testi kullanıldı. Kontrol grup N=11, MK-801 grup N=10.

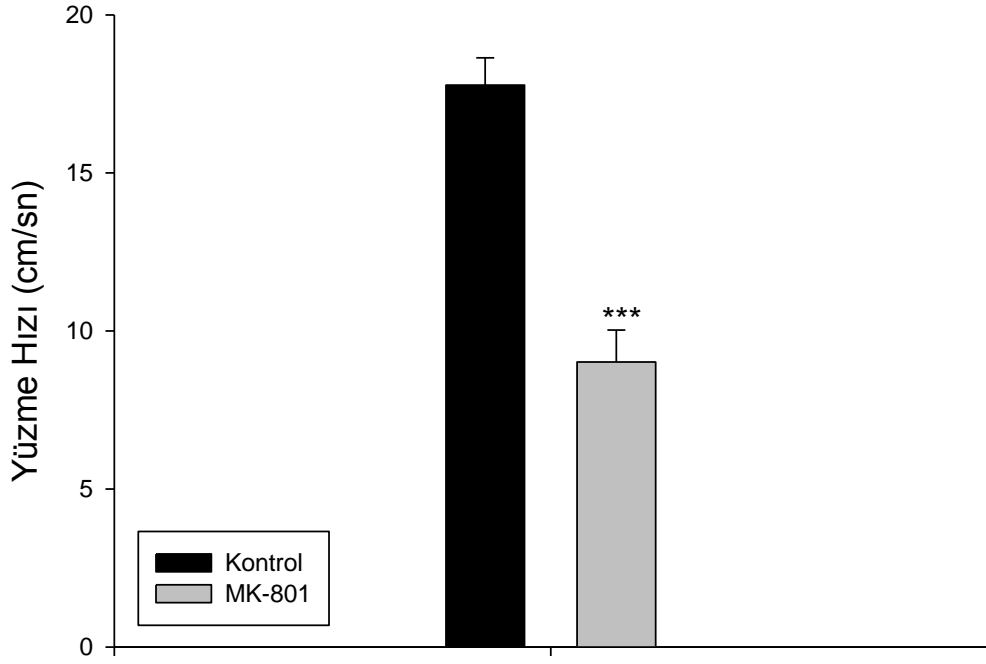
4.2.1.1. Morris Su Havuzu Test

Morris su havuzunda altıncı gün platform havuzdan uzaklaştırıldıktan sonra yapılan testte, platformun bulunduğu kadranda (hedef kadranda) geçirilen sürede MK-801 uygulanan grupta anlamlı azalma bulundu ($p < 0,01$). Morris su havuzu test beşinci günde yüzme hızında MK-801 uygulanan grupta anlamlı azalma saptandı ($p < 0,001$) (Şekil 7, 8, 9).



Şekil 7. Morris su havuzu test günü hedef kadranda geçirilen süre (sn).

Veriler ortalama \pm SH olarak sunuldu. *** $p < 0,001$ kontrol (serum fizyolojik) grubuna göre. İstatistiksel analizde Student-t testi kullanıldı. Kontrol grup N=11, MK-801 grup N=10.



Şekil 8. Morris su havuzu test günü yüzme hızı (cm/sn).

Veriler ortalama \pm SH olarak sunuldu. *** $p<0,001$ kontrol (serum fizyolojik) grubuna göre. İstatistiksel analizde Student-t testi kullanıldı. Kontrol grup N=11, MK-801 grup N=10.

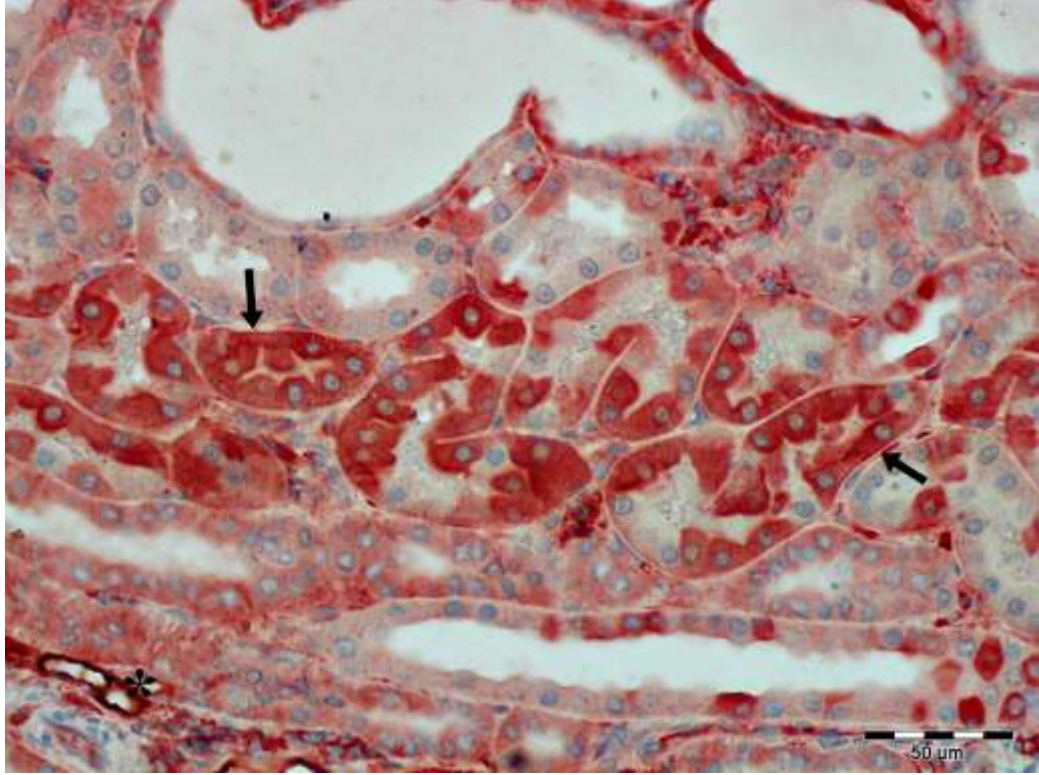


Şekil 9. Morris su havuzu testi.

a) Kontrol, b) MK-801 uygulanan Balb/c fare.

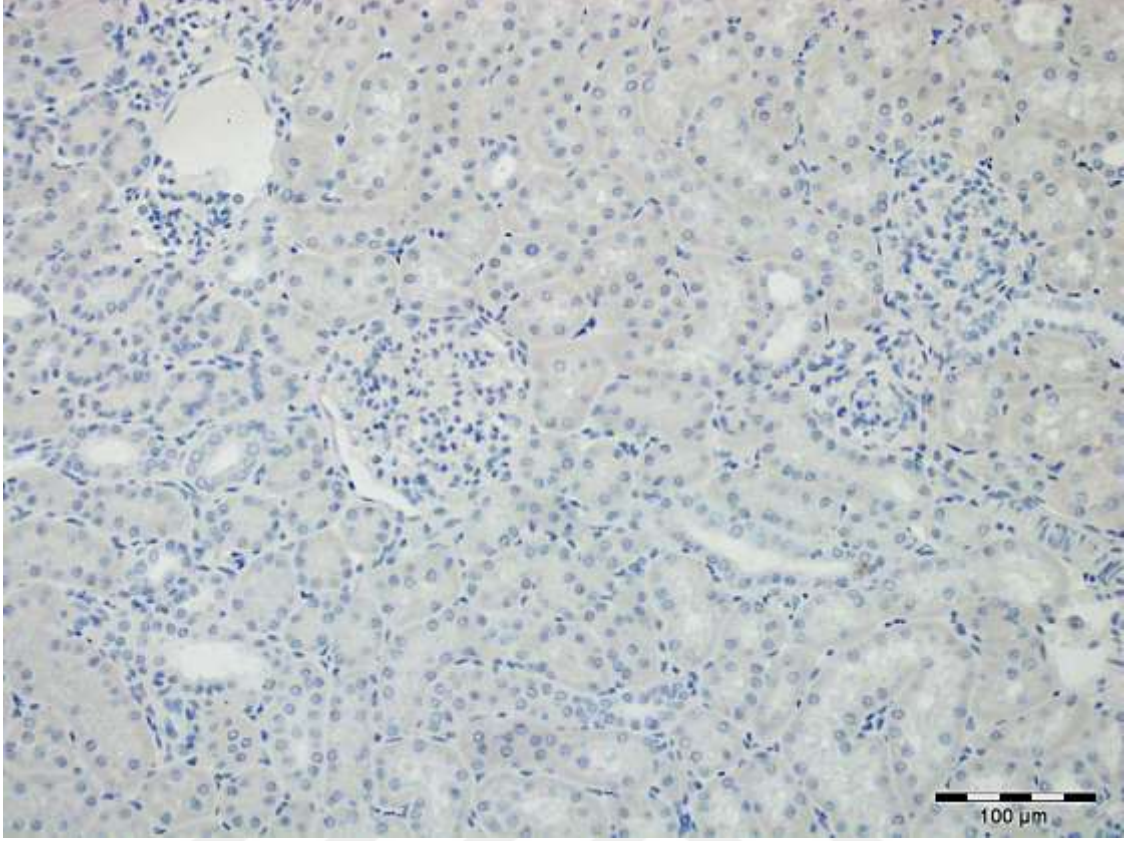
4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

AQP-4 immünoreaktivitesinin gösterilmesi amacıyla pozitif kontrol olarak böbrek dokusu kullanılmıştır ve böbrek tübül hücrelerinde AQP-4 işaretlenmiştir. Ayrıca primer antikor damlatılmayan böbrek doku kesiti negatif kontrol amacıyla boyanmıştır (Şekil 10, 11).



Şekil 10. Pozitif kontrol dokusunda AQP-4 immünoreaktivitesi.

Böbrek tübül hücrelerinde (ok) ve kapiller damar duvarında (*) AQP-4 immünoreaktivitesi görülmektedir. Bar = 50 µm.



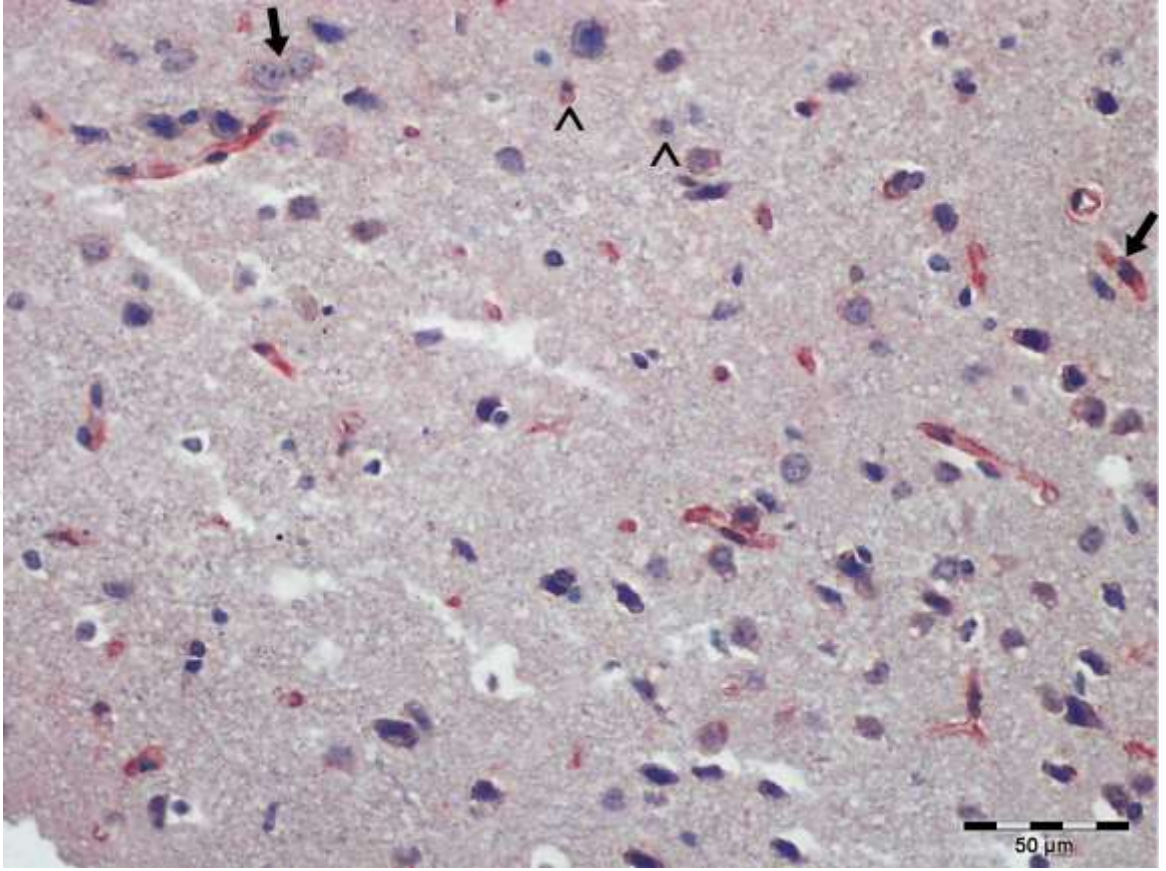
Şekil 11. Negatif kontrolde AQP-4 immunoreaktivitesi.

Primer antikor damlatılmamış böbrek doku kesitinde herhangi bir işaretlemenin olmadığı görülmektedir. Bar = 100 µm.

4.3.1. Hipokampus

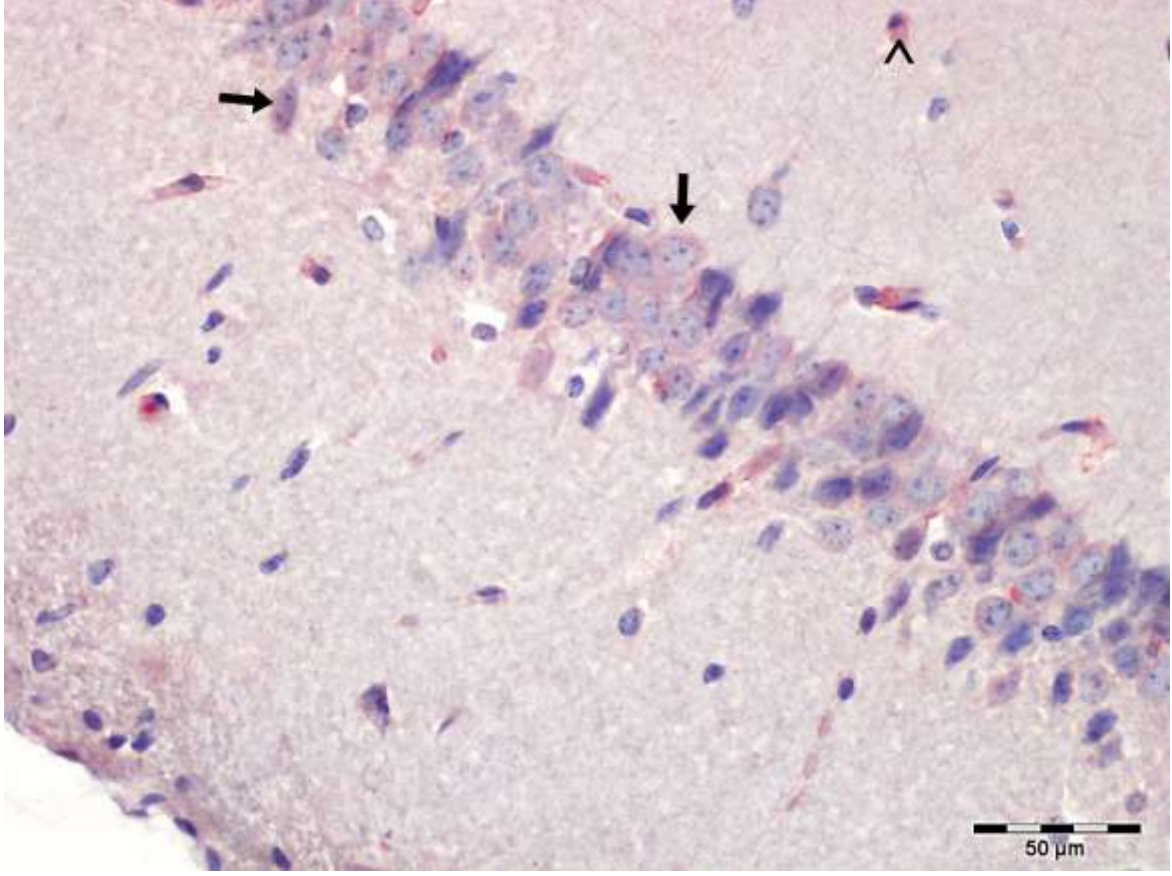
4.3.1.1. Kontrol Grubu

Herhangi bir işlem uygulanmayan sağlam farelerden elde edilen hipokampus doku örneklerinde AQP-4 ekspresyonunu araştırmak amacıyla immunohistokimyasal yöntemler uygulandı. Hipokampus kesitlerinde, glia hücre sitoplazmalarında, sinir liflerinde ve perinöronal alanda AQP-4'ün zayıf miktarlarda eksprese olduğu görüldü. Kan damarlarının duvarlarını döşeyen endotel hücrelerinde ise AQP-4 ekspresyonunun orta düzeyde olduğu izlendi (Şekil 12, 13 ve 14).



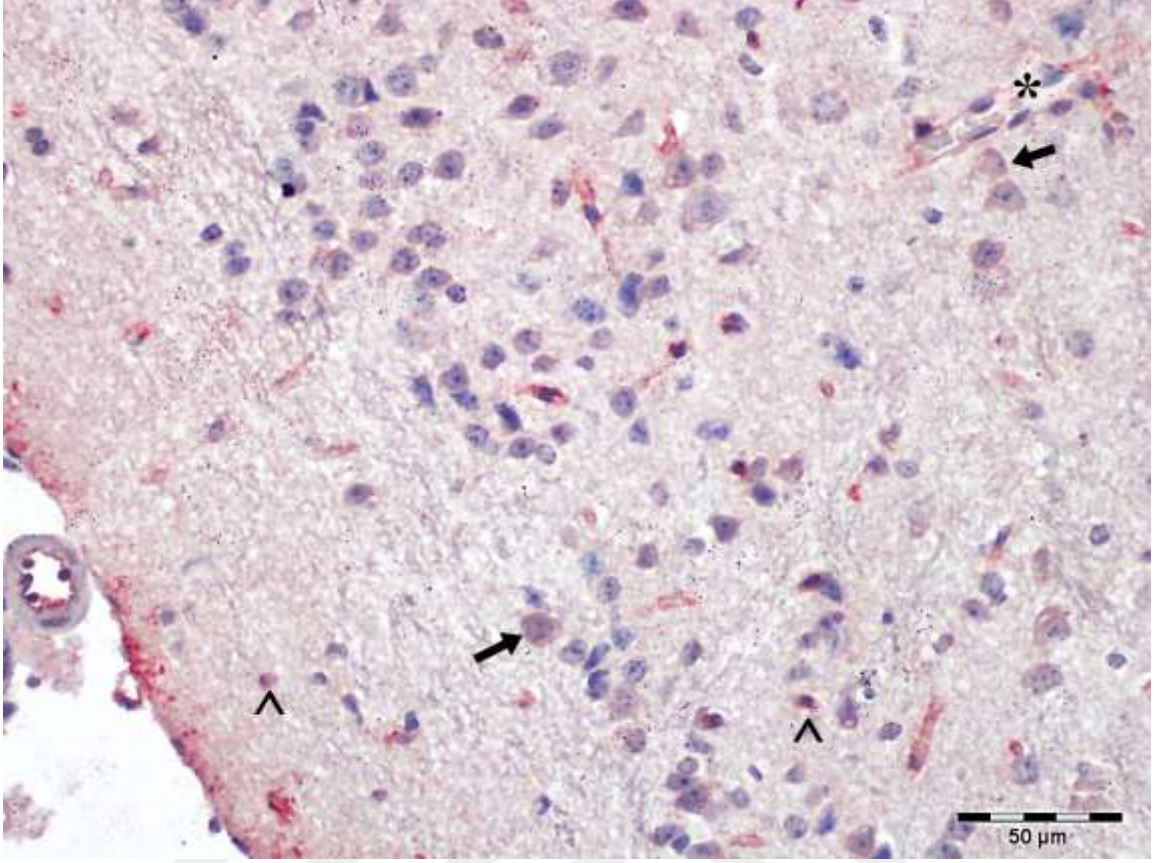
Şekil 12. Hipokampus kontrol grubu.

Aquaporin 4 immunoreaktivitesi. Hipokampus dokusunda Aquaporin 4 immunoreaktivitesinin glia hücrelerinin sitoplazmalarında (ok başı) ve perinöronal alanda (ok) az düzeyde olduğu görülmektedir. Bar= 50 µm



Şekil 13. Hipokampus kontrol grubu.

AQP-4 immunoreaktivitesi. Hipokampus dokusunda AQP-4 immunoreaktivitesinin glia hücrelerinin sitoplazmalarında (ok başı) ve perinöronal alanda (ok) az düzeyde olduğu görülmektedir. Bar= 50 µm.

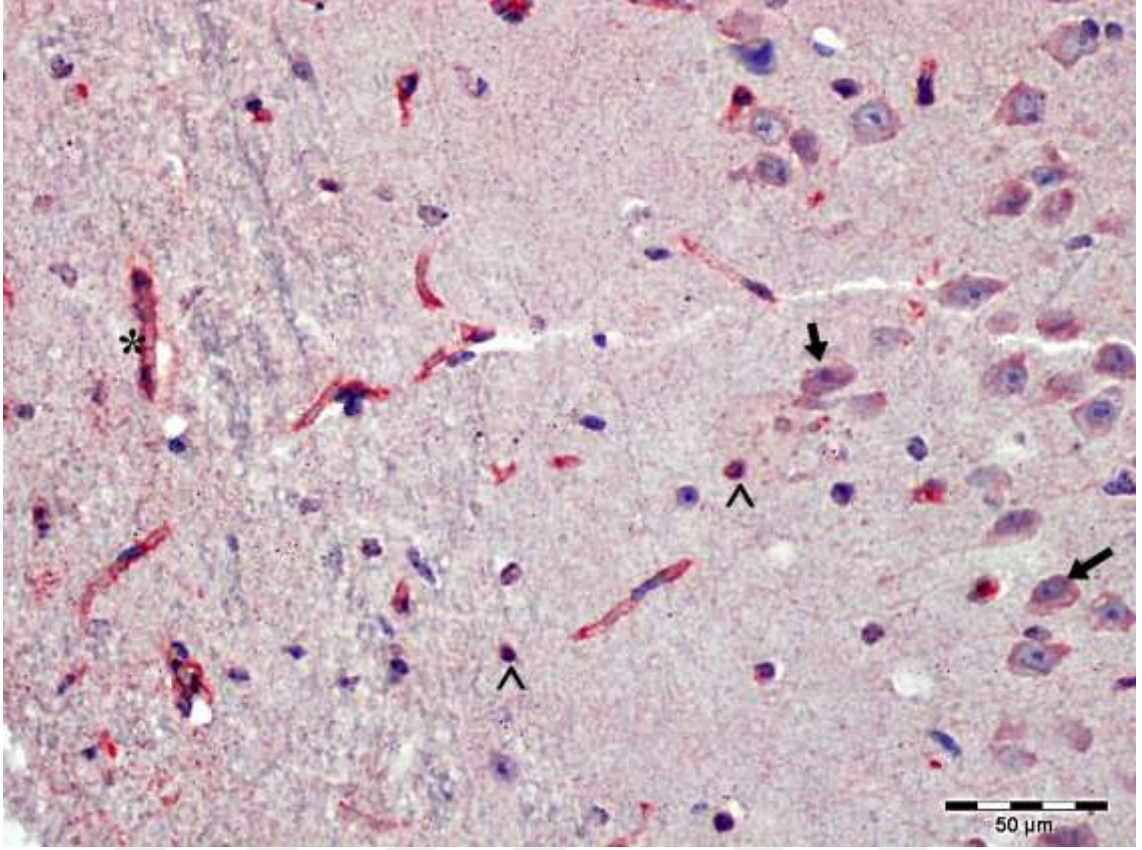


Şekil 14. Hipokampus kontrol grubu.

AQP-4 immunoreaktivitesi. Hipokampus dokusunda AQP-4 immunoreaktivitesinin glia hücrelerinin sitoplazmalarında (ok başı) ve perinöronal alanda (ok) az düzeyde olduğu görülmektedir. Kapiller damar endotel hücrelerinde (*) orta düzeyde AQP-4 ekspresyonu olduğu görülmektedir. Bar= 50 µm.

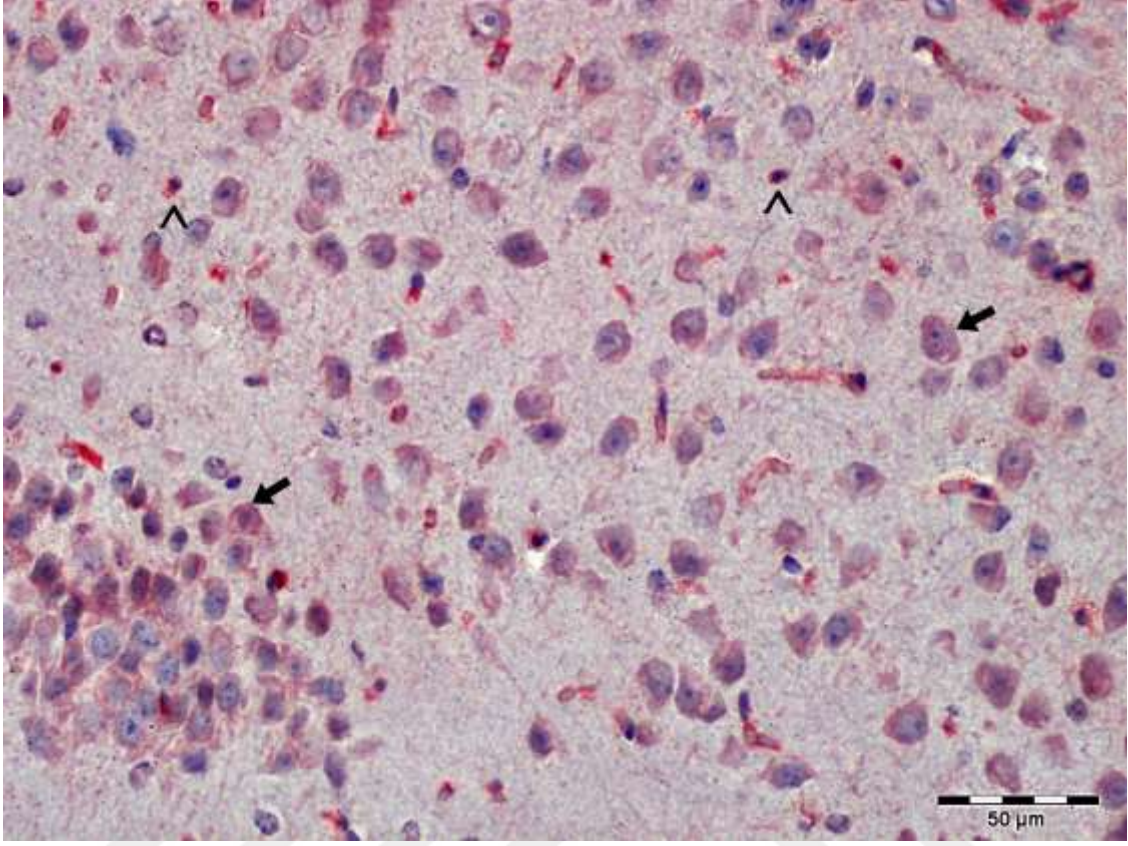
4.3.1.2. MK-801 Uygulanan Grup

MK-801 uygulanan farelerden alınan hipokampus doku örneklerinde, AQP-4 ekspresyonu değerlendirildi. MK-801 uygulanan gruba ait hipokampus dokularında AQP-4 ekspresyonunun özellikle perinöronal alanda yoğun olduğu gözlemlendi. Glia hücrelerinin sitoplazmalarında ve sinir liflerinde AQP-4 ekspresyonunun kontrol grubuna göre belirgin bir artış gösterdiği dikkati çekti. Kapiller damar endotel hücrelerinde de işaretlenmenin kuvvetli olduğu dikkati çekti (Şekil 15, 16 ve 17).

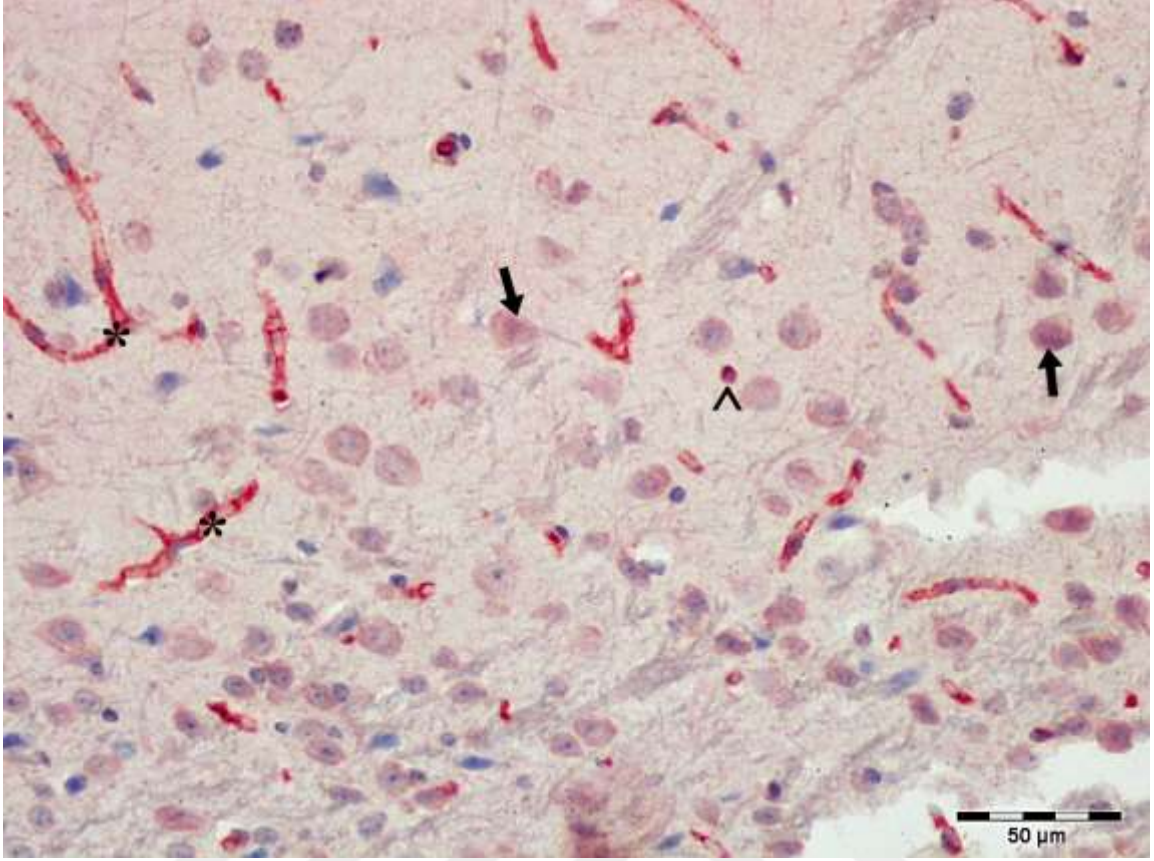


Şekil 15. MK-801 uygulanan gruba ait hipokampus dokusunda AQP-4 immünoreaktivitesi.

AQP-4 immunoreaktivitesinin perinöronal alanda (ok) ve bazı glia hücrelerinde (ok başı) artmış olduğu izlenmektedir. Kapiller damar endotel hücrelerinde (*) oldukça yoğun AQP-4 immünoreaktivitesi izlenmektedir. Bar= 50 µm.



Şekil 16. MK-801 uygulanan gruba ait hipokampus dokusunda AQP-4 immünoreaktivitesi. AQP-4 immunoreaktivitesinin perinöronal alanda (ok) ve bazı glia hücrelerinde (ok başı) artmış olduğu izlenmektedir. Bar= 50 µm.



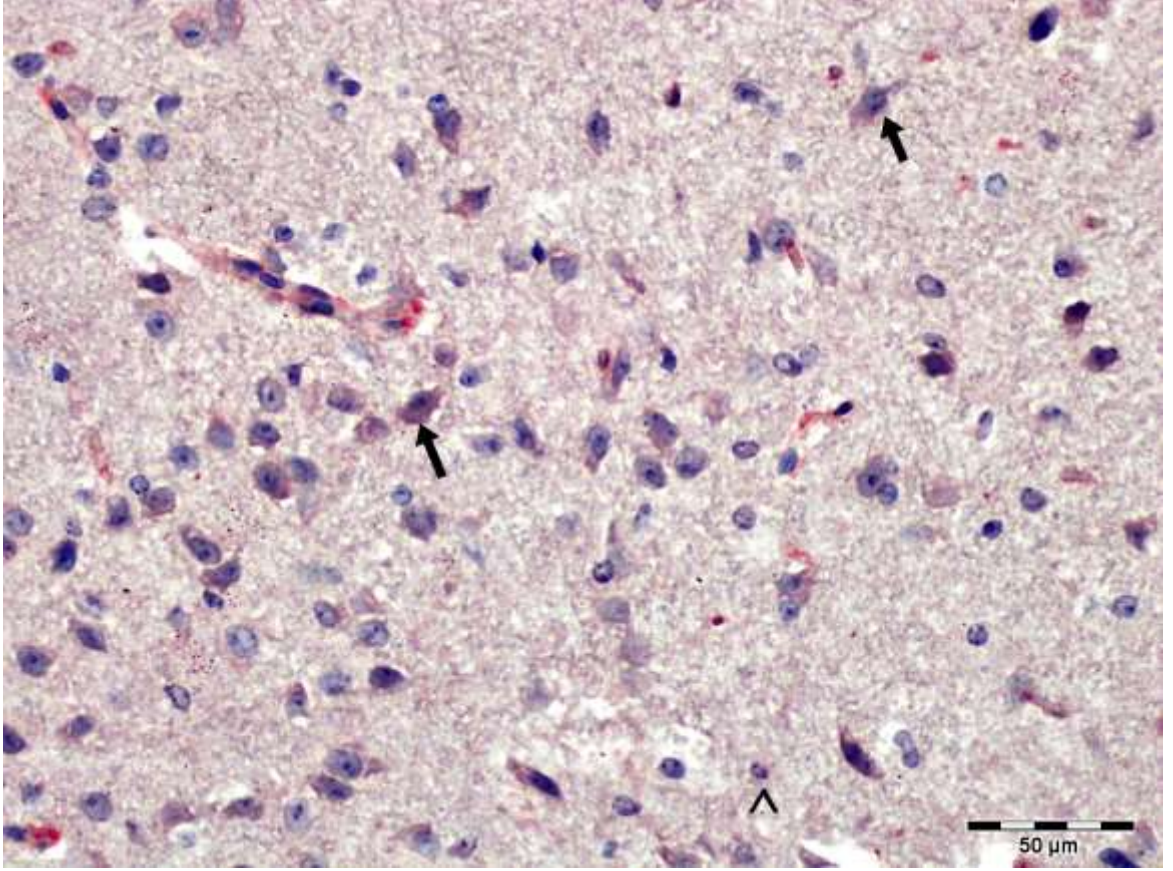
Şekil 17. MK-801 uygulanan gruba ait hipokampus dokusunda AQP-4 immünoreaktivitesi.

AQP-4 immunoreaktivitesinin perinöronal alanda (ok) ve bazı glia hücrelerinde (ok başı artmış olduğu izlenmektedir. Kapiller damar endotel hücrelerinde (*) oldukça yoğun AQP-4 immünoreaktivitesi izlenmektedir. Bar= 50 µm.

4.3.2. Prefrontal Korteks

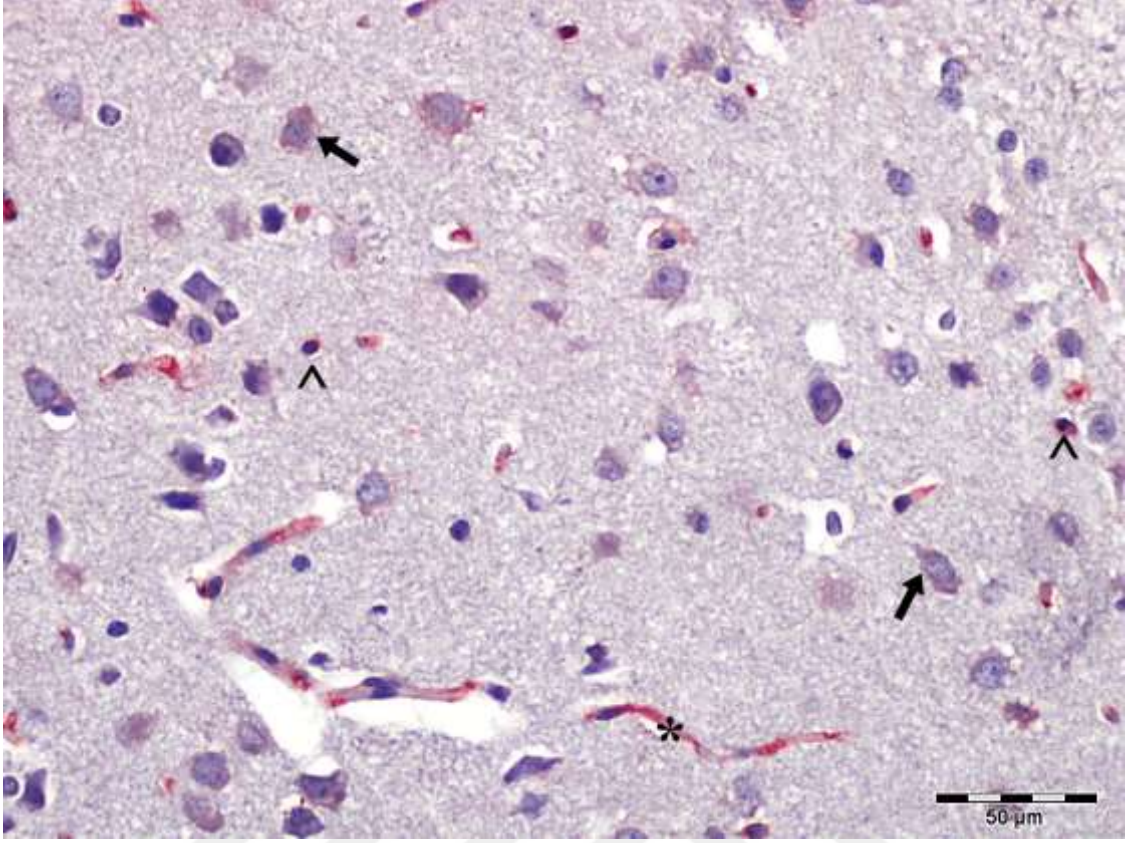
4.3.2.1. Kontrol Grubu

Serum fizyolojik uygulanan kontrol grubundan izole edilen prefrontal korteks doku örneklerinden kesitler alındı ve AQP-4 ekspresyonu immunohistokimyasal yöntemlerle incelendi. Prefrontal kortekste AQP-4 immünoreaktivitesinin zayıf olduğu gözlemlendi. Glia hücreleri, sinir liflerinde ve perinöronal alanda AQP-4 ekspresyonunun düşük düzeyde olduğu belirlendi. Kan damarlarının duvarlarını döşeyen endotel hücrelerinin sitoplazmalarında AQP-4 ekspresyonunun orta düzeyde olduğu tespit edildi (Şekil 18, 19 ve 20).



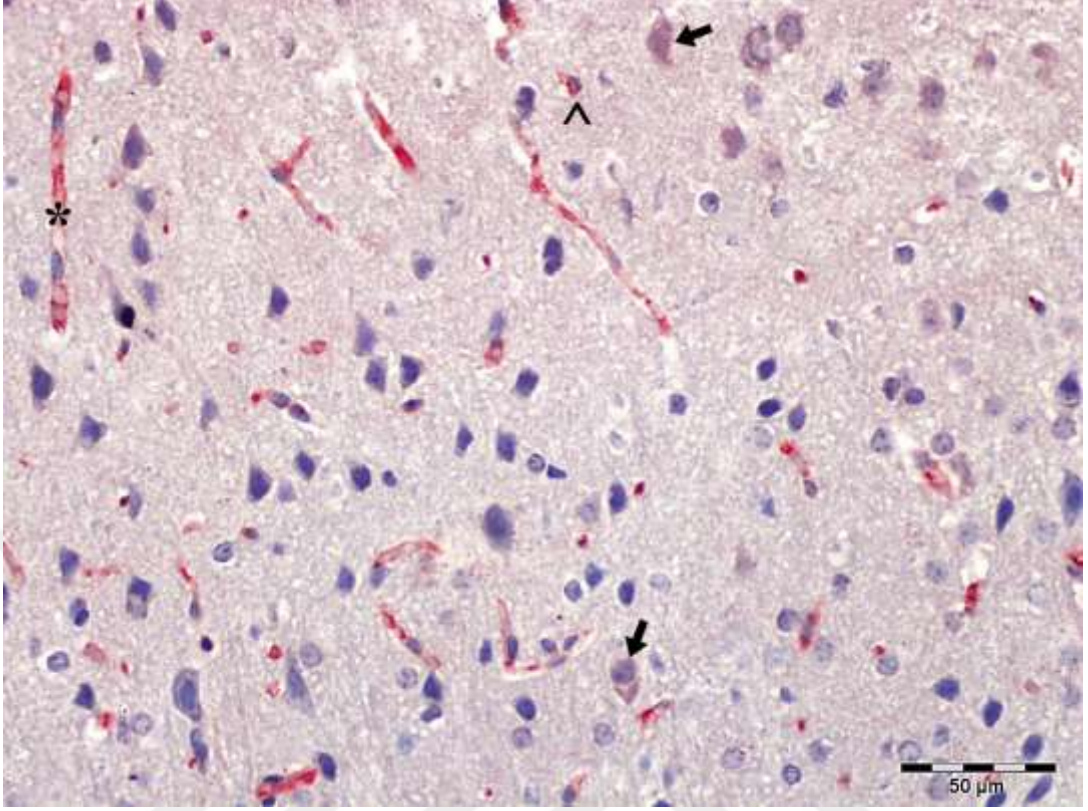
Şekil 18. Prefrontal korteks kontrol grubunda AQP-4 immünoreaktivitesi.

AQP-4 immunoreaktivitesinin perinöronal alanda (ok) ve bazı glia hücrelerinde (ok başı) az düzeyde olduğu görülmektedir. Bar= 50 µm.



Şekil 19. Prefrontal korteks kontrol grubunda AQP-4 immünoreaktivitesi.

AQP-4 immünoreaktivitesinin perinöronal alanda (ok) ve bazı glia hücrelerinde (ok başı) az düzeyde olduğu görülmektedir. Kapiller damar endotel hücrelerinde (*) orta düzeyde AQP-4 ekspresyonu olduğu görülmektedir. Bar= 50 µm.

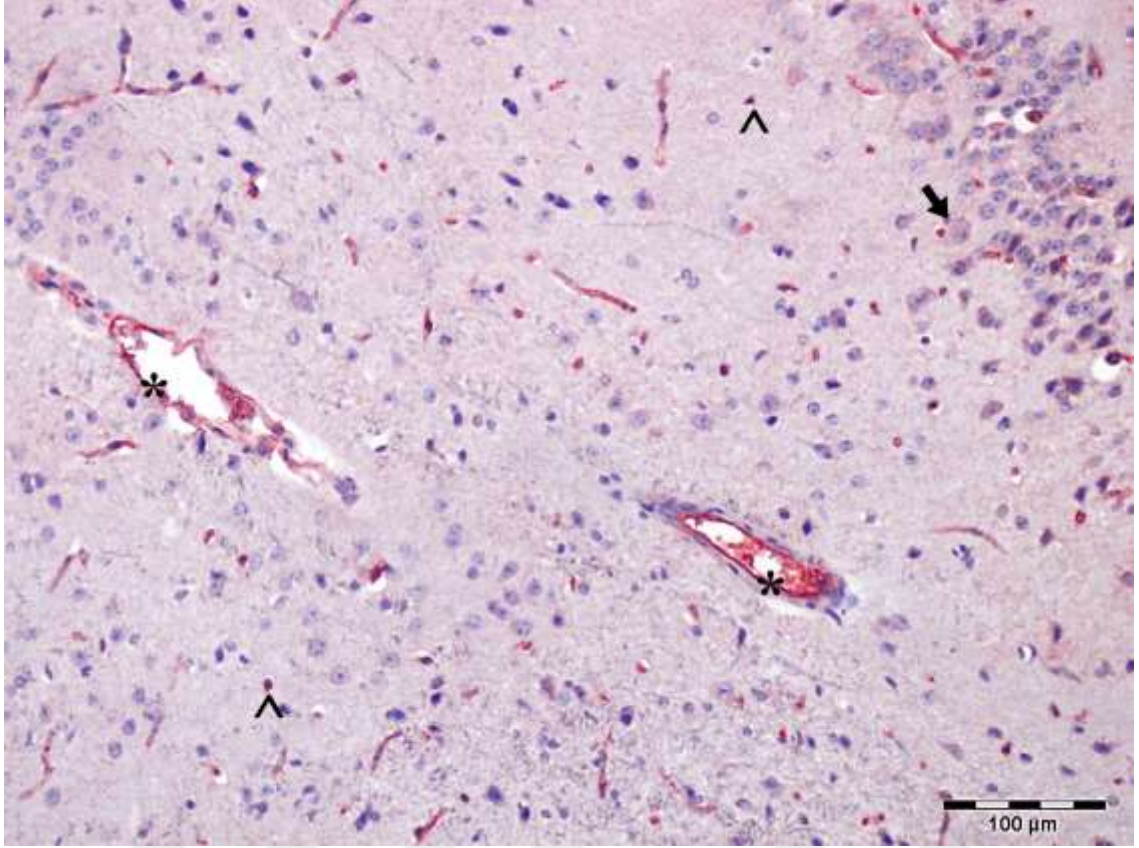


Şekil 20. Prefrontal korteks kontrol grubunda AQP-4 immünoreaktivitesi.

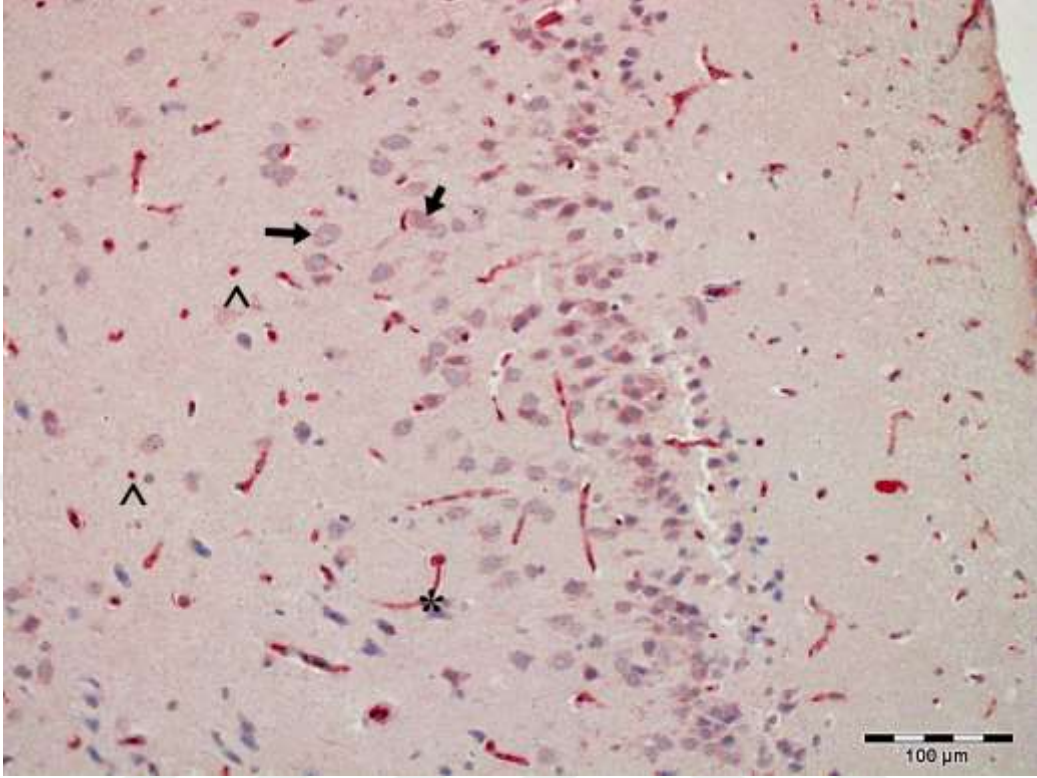
AQP-4 immunoreaktivitesinin perinöronal alanda (ok) ve bazı glia hücrelerinde (ok başı) az düzeyde olduğu görülmektedir. Kapiller damar endotel hücrelerinde (*) orta düzeyde AQP-4 ekspresyonu olduğu görülmektedir. Bar= 50 µm.

4.3.2.2. MK-801 Uygulanan Grup

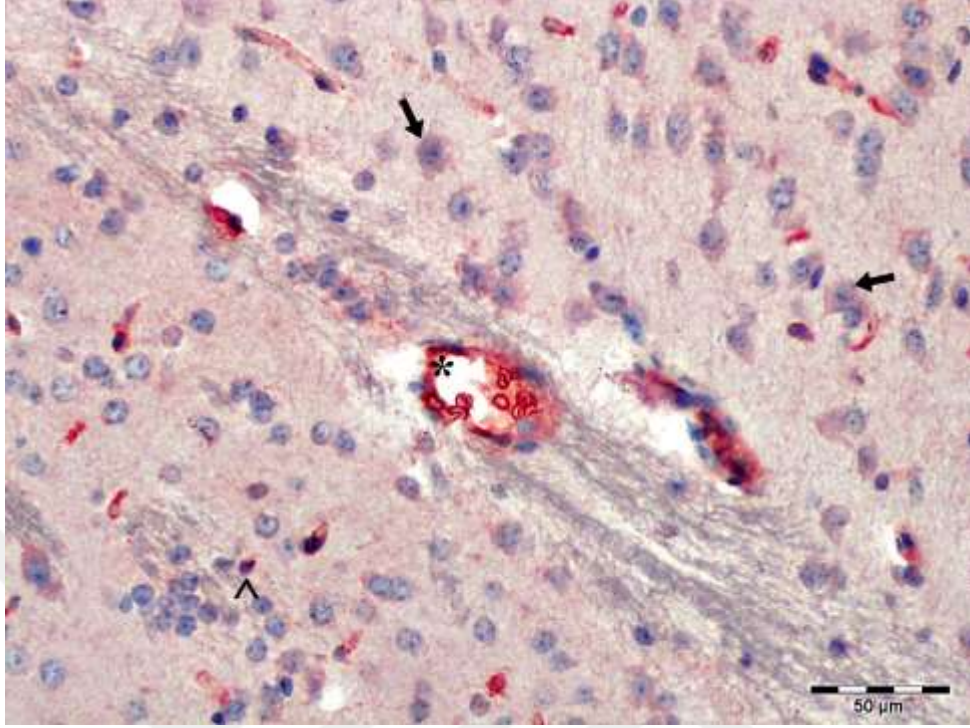
MK-801 uygulanan gruba ait prefrontal korteks dokularında AQP-4 immünoreaktivitesinin perinöronal alanda ve glia hücrelerinde belirgin olarak artış gösterdiği dikkati çekti. Diğer taraftan prefrontal korteks dokularında perinöronal alanda AQP-4 ekspresyonunun hipokampus grubuna kıyasla azalmış olduğu dikkati çekti. Kan damarlarını döşeyen endotel hücrelerinde işaretlenmenin kuvvetli olduğu dikkati çekti (Şekil 21, 22 ve 23).



Şekil 21. MK-801 uygulanan gruba ait prefrontal korteks dokusunda AQP-4 immunoreaktivitesi. AQP-4 immunoreaktivitesi perinöronal alanda (ok) ve glia hücrelerinde (ok başı) ve kapiller damar endotel hücrelerinde (*) yoğun olduğu izlenmektedir. Bar= 100 μm.



Şekil 22. MK-801 uygulanan gruba ait prefrontal korteks dokusunda AQP-4 immunoreaktivitesi. Aquaporin 4 immunoreaktivitesi perinöronal alanda (ok) ve glia hücrelerinde (ok başı) ve kapiller damar endotel hücrelerinde (*) yoğun olduğu izlenmektedir. Bar= 100 µm.

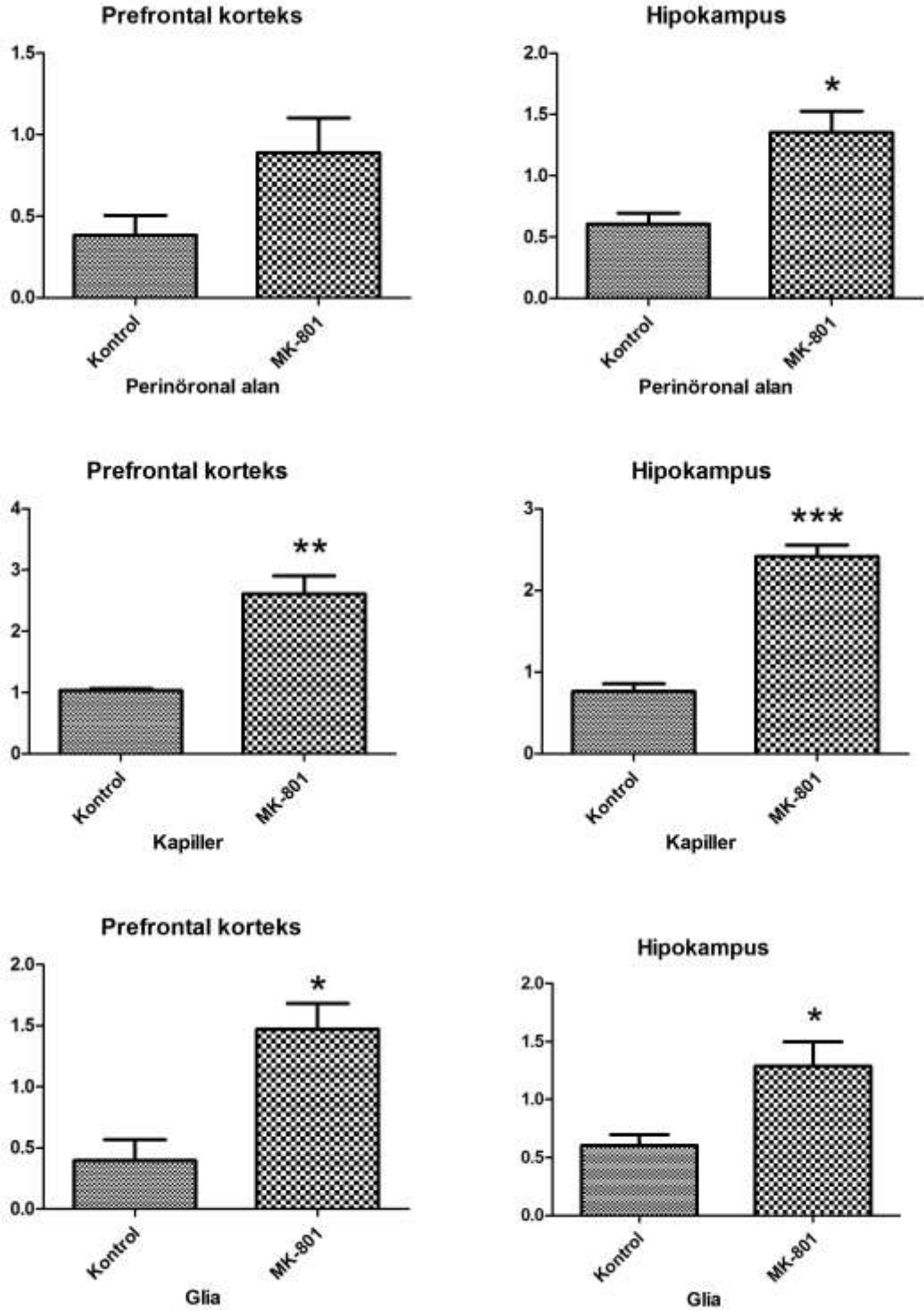


Şekil 23. MK-801 uygulanan gruba ait prefrontal korteks dokusunda AQP-4 immunoreaktivitesi. AQP-4 immunoreaktivitesi perinöronal alanda (ok) ve glia hücrelerinde (ok başı) ve kapiller damar endotel hücrelerinde (*) yoğun olduğu izlenmektedir. Bar= 50 µm.

4.4. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

AQP-4 ekspresyonunun immünohistokimyasal skorlaması sonucunda, hipokampusta MK-801 uygulanan gruba ait AQP-4 ekspresyonunun perinöronal alanda, glia hücreleri ve kan damarları endotel hücrelerinde kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı görüldü. Bu artışın en fazla kan damarlarının endotel hücrelerinde olduğu tespit edildi.

Prefrontal kortekste MK-801 uygulanan grupta ise AQP-4 ekspresyonunun kontrol grubuna göre, perinöronal alanda, glia hücreleri ve kan damarları endotel hücrelerinde belirgin bir artış olduğu, ancak bu artışın perinöronal alanda anlamlı olmadığı görüldü. (Şekil 24).



Şekil 24. AQP-4 için immünohistokimyasal skoreleme.

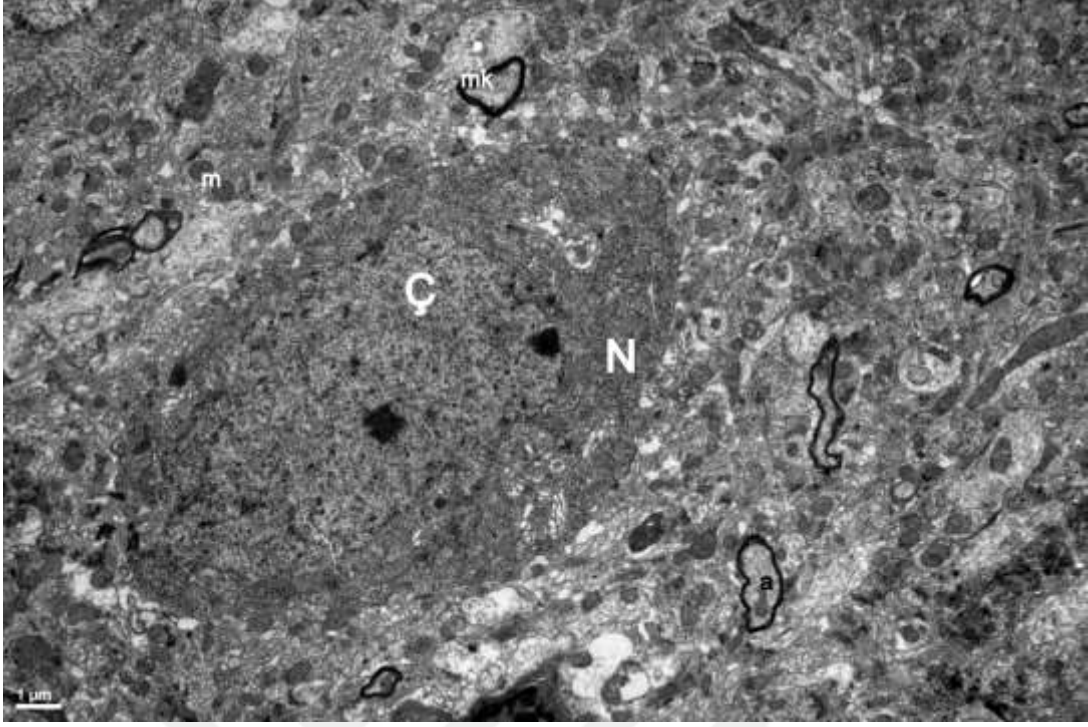
***P < 0,0001, **P < 0,001, *P < 0,01.

4.5. Elektron Mikroskopik Bulgular

4.5.1. Prefrontal Korteks

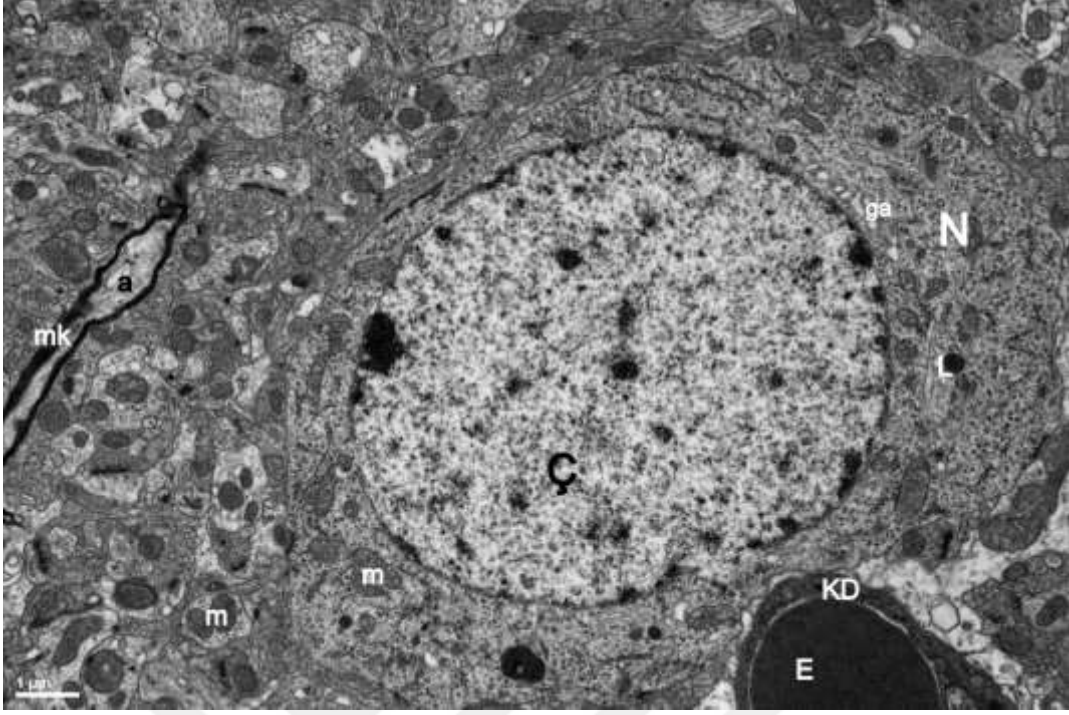
4.5.1.1. Kontrol Grubu

Serum fizyolojik uygulanan kontrol grubunda prefrontal kortekse ait doku örneklerinin elektron mikroskopik incelenmesinde gri cevherdeki sinir hücre gövdeleri, miyelinsiz sinir lifleri ve glia hücreleri ile birlikte, beyaz cevherdeki miyelinli aksonlar ve glia hücrelerinin ince yapıları değerlendirildi. Gri cevherde yer alan sinir hücre perikaryonunun merkezi yerleşimli bir çekirdek ve bunun etrafını çevreleyen perinükleer sitoplazmadan oluştuğu görüldü. Sferikal olan hücre çekirdeği hücrenin merkezinde yerleşmişti. Veziküler tipteki çekirdek içerisinde iyi ayırt edilebilen çekirdekçiğin varlığı izlenmekteydi. Nöron sitoplazmasında bulunan mitokondriyonların ovoid veya yuvarlak şekilli oldukları, hem transvers hem de longitudinal tipte kristalara sahip oldukları ayırt edildi. Perinükleer yerleşim gösteren golgi kompleksi fazla sayıda, bütün perikaryona dağılmış halde izlendi (Şekil 25). Prefrontal kortekste yerleşen nöroglia hücrelerinin genellikle sferikal veya ovoid bir çekirdeğe ve çekirdeği çevreleyen perinükleer ince bir sitoplazmik halkaya sahip oldukları görüldü. Miyelinli sinir liflerinde miyelin kılıfın düzenli bir lamellar yapıya sahip olduğu izlendi. Akson sitoplazmalarında, mitokondriyonlar, birkaç nörotübül ve nörofilamanlar dikkati çekti (Şekil 26, 27).



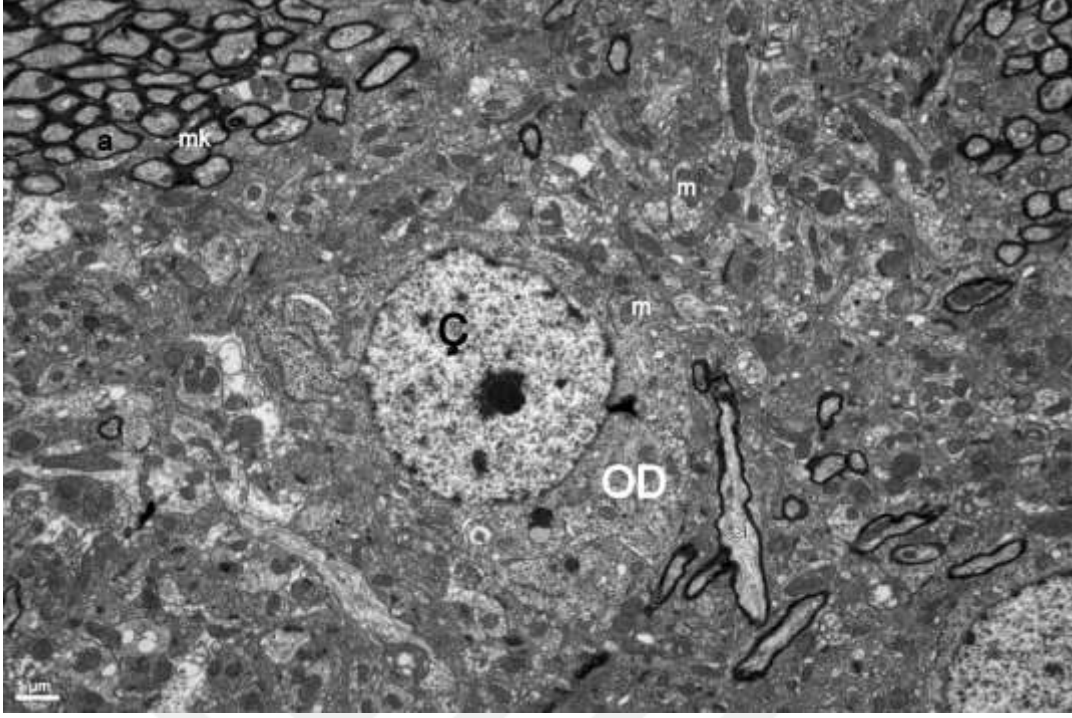
Şekil 25. Kontrol grubundan alınan prefrontal korteks dokusunun elektron mikroskopik görünümü.

Nöron perikaryonunun çekirdek (C) ve sitoplazmasıyla (N) tamamen normal histolojik yapıda olduğu görülmektedir. Miyelinli sinir liflerinde akson (a) ve miyelin kılıfın (mk) normal yapıda olduğu görülmektedir. Bar= 1 µm.



Şekil 26. Kontrol grubundan alınan prefrontal korteks dokusunun elektron mikroskopik görünümü.

Nöron perikaryonunun çekirdek (Ç) ve sitoplazmasıyla (N) normal histolojik yapıda olduğu görülmektedir. Sitoplazmada normal yapıda endoplazmik retikülüm, golgi apparatus (ga), mitokondriyonlar (m) ve lizozomlar (L) izlenmektedir. Kapiller damar (KD) ve içerisinde eritrosit (E) izlenmektedir Bar= 1 µm.

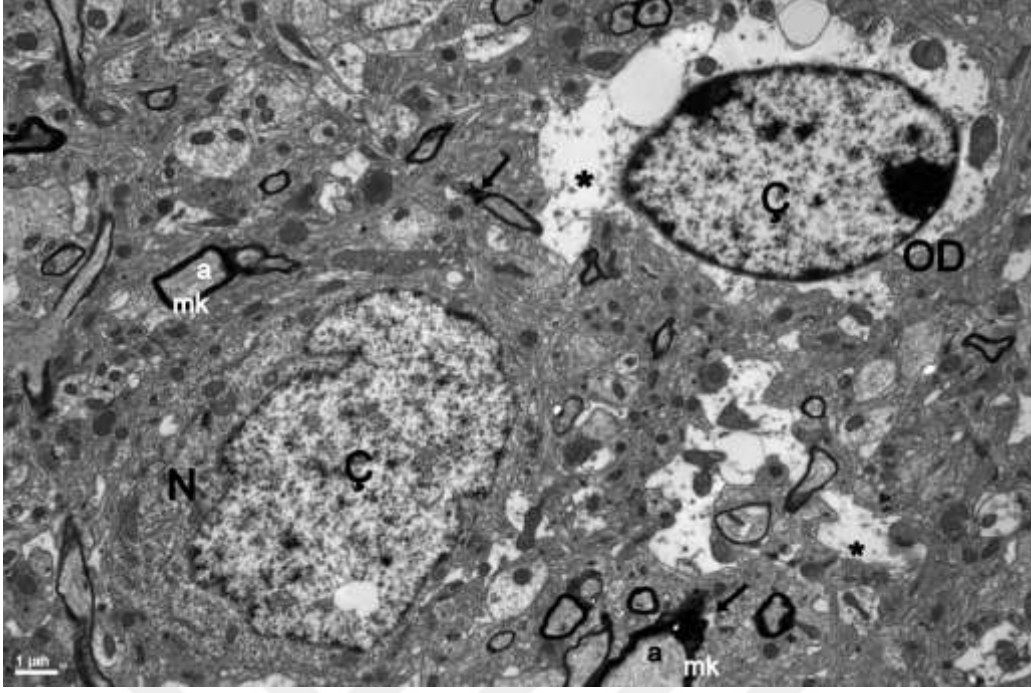


Şekil 27. Kontrol grubundan alınan prefrontal korteks dokusunun elektron mikroskopik görünümü.

Oligodendrositte (OD), çekirdek (Ç) ve sitoplazmanın normal olduğu, miyelinli sinir liflerinde akson (a) ve miyelin kılıfın (mk) normal histolojik yapıda olduğu izlenmektedir. Bar= 1 µm.

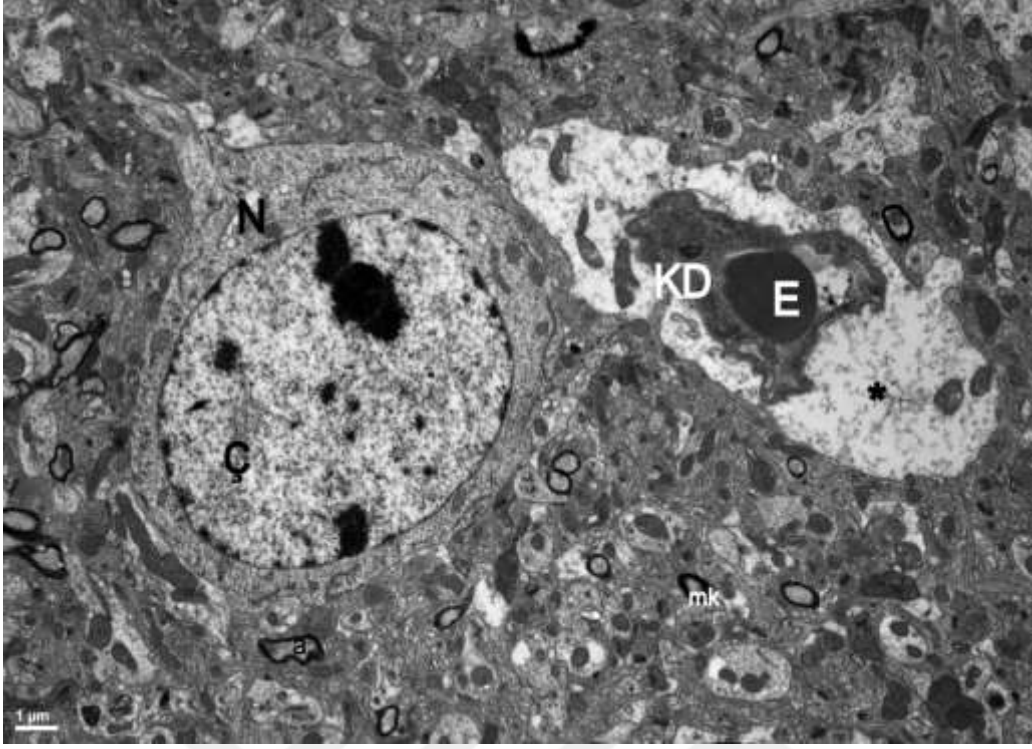
4.5.1.2. MK-801 Uygulanan Grup

MK-801 uygulanan gruptan alınan prefrontal korteks doku örnekleri elektron mikroskopik olarak değerlendirildi. Elektron mikroskopik incelenmede prefrontal kortekste hafif dejeneratif değişiklikler izlendi. Nöron perikaryonlarında çekirdekte heterokromatin artışı, sitoplazmada granüler endoplazmik retikülüm sisternalarında vakuolizasyon, mitokondriyonlarda genişleme, kristalarında bozulma ve düzensizlikler tespit edildi. Bunların yanında glia hücrelerinde de çekirdek ve sitoplazmik organellerde ince yapı değişikliklerine rastlandı. Miyelinli sinir liflerinde miyelin lamellerinin normal organizasyonunda bozulma, miyelin kılıf lamellerinin aksonal zon içerisine invagine olduğu, bazı sinir liflerinde ise sinir lifi dışına doğru evagine olduğu, bazı alanlarda aksoplazmada mitokondriyonlarda belirgin olmak üzere organel harabiyetinin olduğu belirlendi. Glia hücrelerinde çekirdekte kromatin kümelenmesi, sitoplazmada vakuolizasyon ve organel harabiyetlerinin olduğu dikkati çekti. (Şekil 28, 29 ve 30).



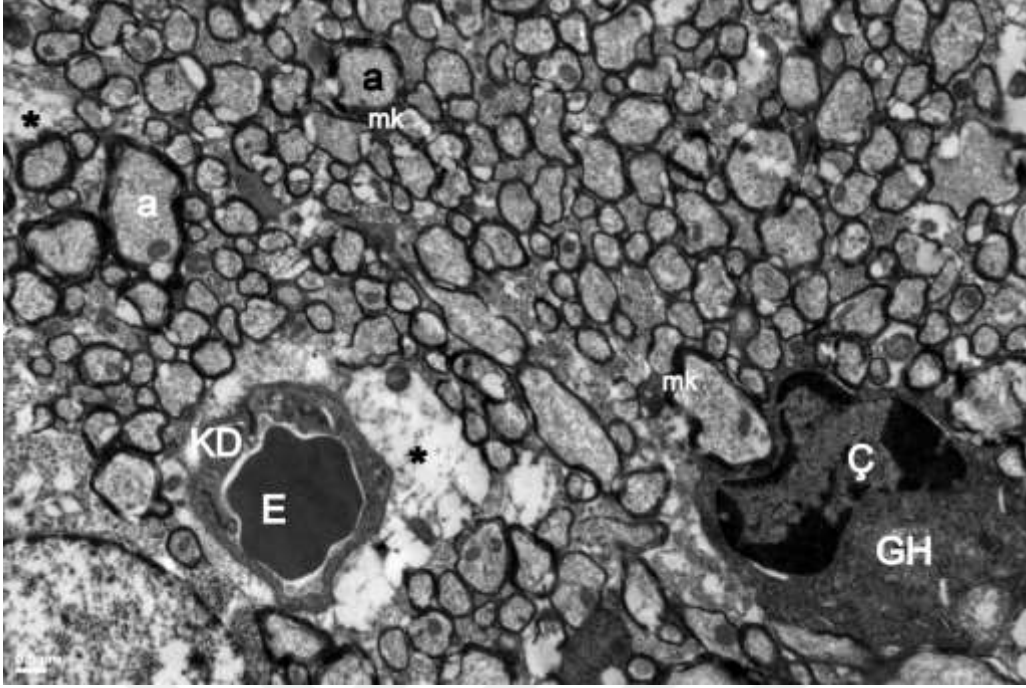
Şekil 28. MK-801 uygulanan gruptan alınan prefrontal korteks dokusunun elektron mikroskopik görünümü.

Oligodendrosit (OD) çekirdeğinde kromatin artışı ve sitoplazmada organel harabiyetlerinin varlığı dikkati çekmektedir. Nöron perikaryonunda organel harabiyeti görülmektedir. Miyelinli sinir liflerinde şiddetli akson (a) ve miyelin kılıf (mk) harabiyetlerinin (oklar) varlığı görülmektedir. Ödem alanları (*) gösterilmiştir. Bar= 1µm



Şekil 29. MK-801 uygulanan gruptan alınan prefrontal korteks dokusunun elektron mikroskobik görünümü.

Nöron perikaryonunda organel harabiyetlerinin varlığı dikkati çekmektedir. Kapiller damar (KD) etrafında ödem alanları (*) gösterilmiştir. Bar= 1µm



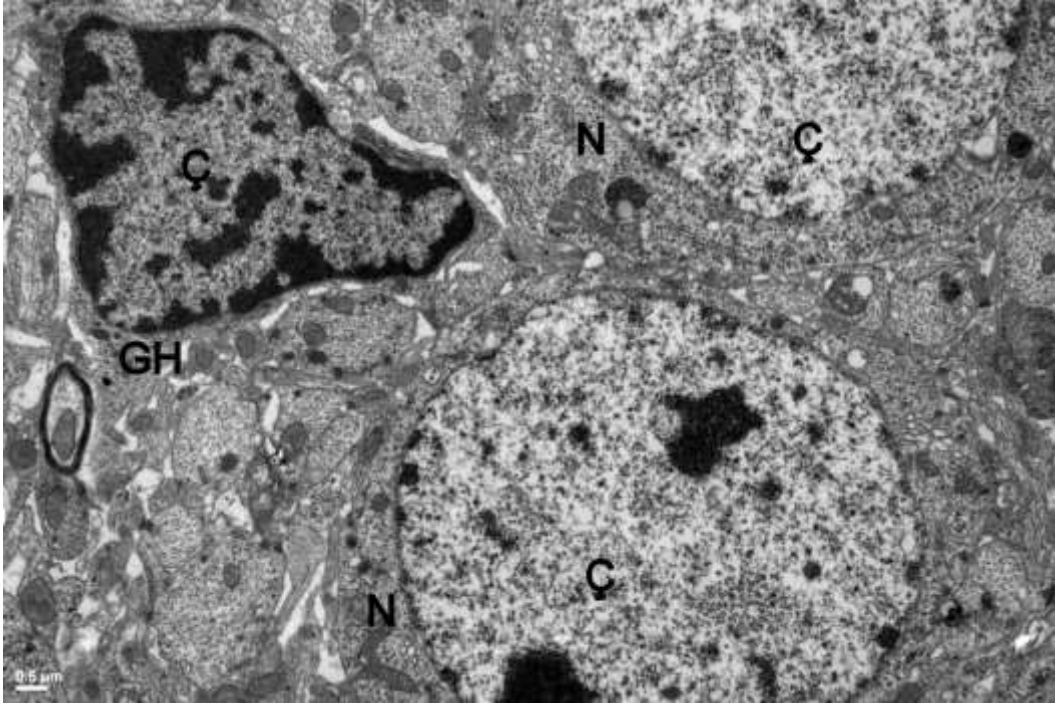
Şekil 30. MK-801 uygulanan gruptan alınan hipokampus dokusunun elektron mikroskopik görünümü.

Glia hücreninin (GH) çekirdeğinde (Ç) kromatin artışı, sitoplazmada organel harabiyeti izlenmektedir. Miyelinli sinir liflerinde hafiften orta dereceye kadar değişen akson (a) ve miyelin kılıf (mk) değişiklikleri görülmektedir. Kapiller damar (KD) etrafında ödem alanları (*) gösterilmiştir. Bar= 0,5 µm.

4.5.2. Hipokampus

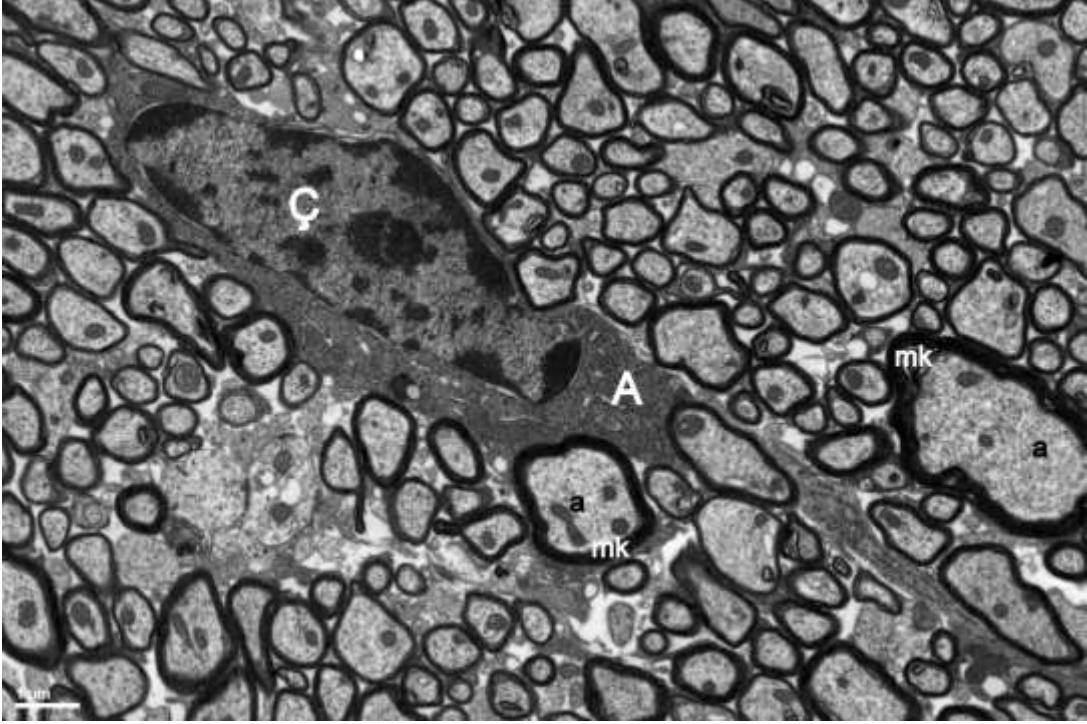
4.5.2.1. Kontrol grubu

Hipokampus kontrol grubuna ait doku örneklerinin elektron mikroskopik incelenmesinde nöron perikaryonlarının sferikal, merkezi yerleşimli veziküler bir çekirdek ve çekirdeğin ortasında çekirdekçiğe sahip olduğu görüldü. Çekirdek etrafında bulunan sitoplazmada iyi gelişmiş GER, transvers ve longitudinal tipte kristallara sahip mitokondriyonların bulunduğu görüldü. Bunların yanında, sitoplazmada ayrıca yaygın olarak nörotübül ve nörofilamanlar bulunmaktaydı (Şekil 31). Nöroglia hücrelerinin de ovoid veya sferikal bir çekirdeğe ve çekirdek etrafında ince bir sitoplazmaya sahip oldukları izlendi. Sitoplazmada mitokondriyonlar, GER ve mikrotübüllerin varlığına rastlandı. Miyelinli akson sitoplazması ve miyelin kılıf, lameller yapısı ve konsantrik düzenlenmesi normal görünümdeydi (Şekil 32 ve 33) .



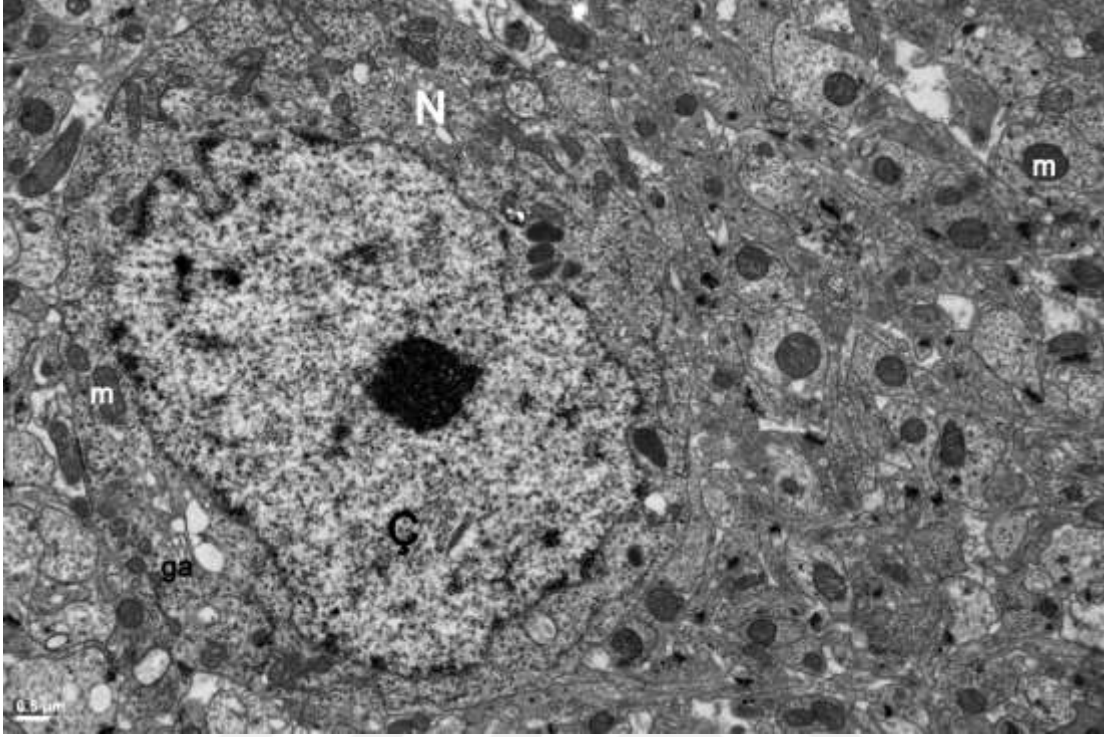
Şekil 31. Kontrol grubundan alınan hipokampus dokusunun elektron mikroskopik görünümü.

Sinir hücresi perikaryonunun çekirdek (Ç) ve sitoplazmada (N) yer alan organellerin ve glia hücrelerinin (GH) normal histolojik yapıda olduğu görülmektedir. Bar= 0,5 µm.



Şekil 32. Kontrol grubundan alınan hipokampus dokusunun elektron mikroskopik görünümü.

Astrorositte (A), çekirdek (C) ve sitoplazmanın normal olduğu miyelinli sinir liflerinde akson (a) ve miyelin kılıfın (mk) normal yapıda olduğu görülmektedir. Kapiller damar (KD) ve içerisinde eritrosit (E) izlenmektedir Bar= 0,5 μ m.

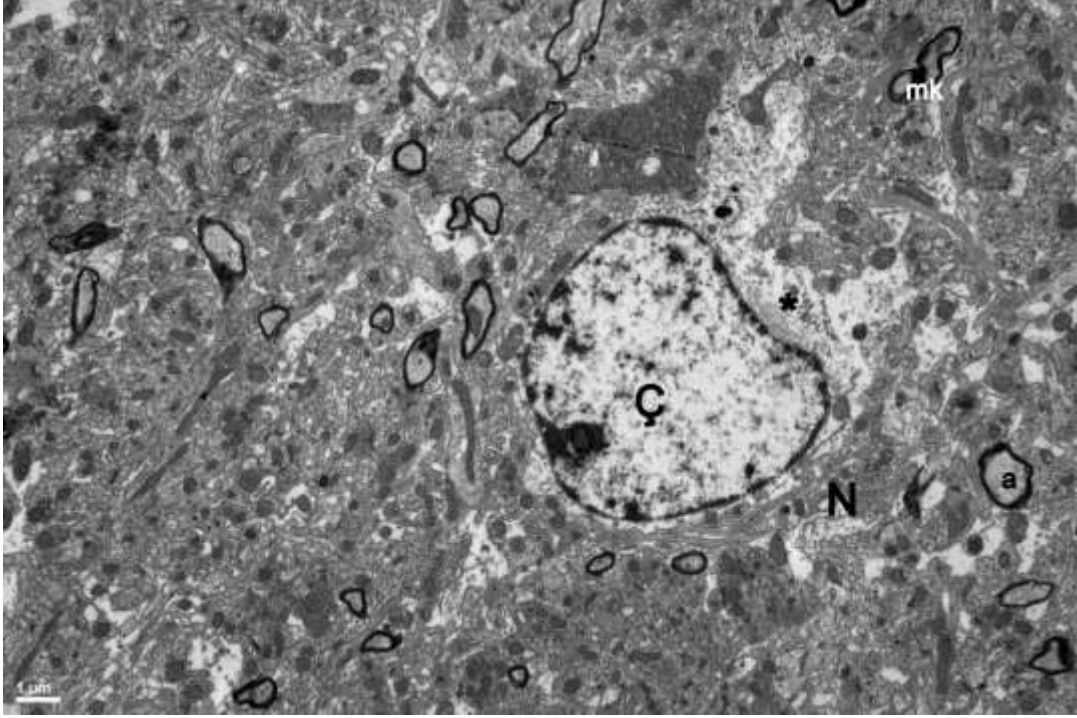


Şekil 33. Kontrol grubundan alınan hipokampus dokusunun elektron mikroskopik görünümü.

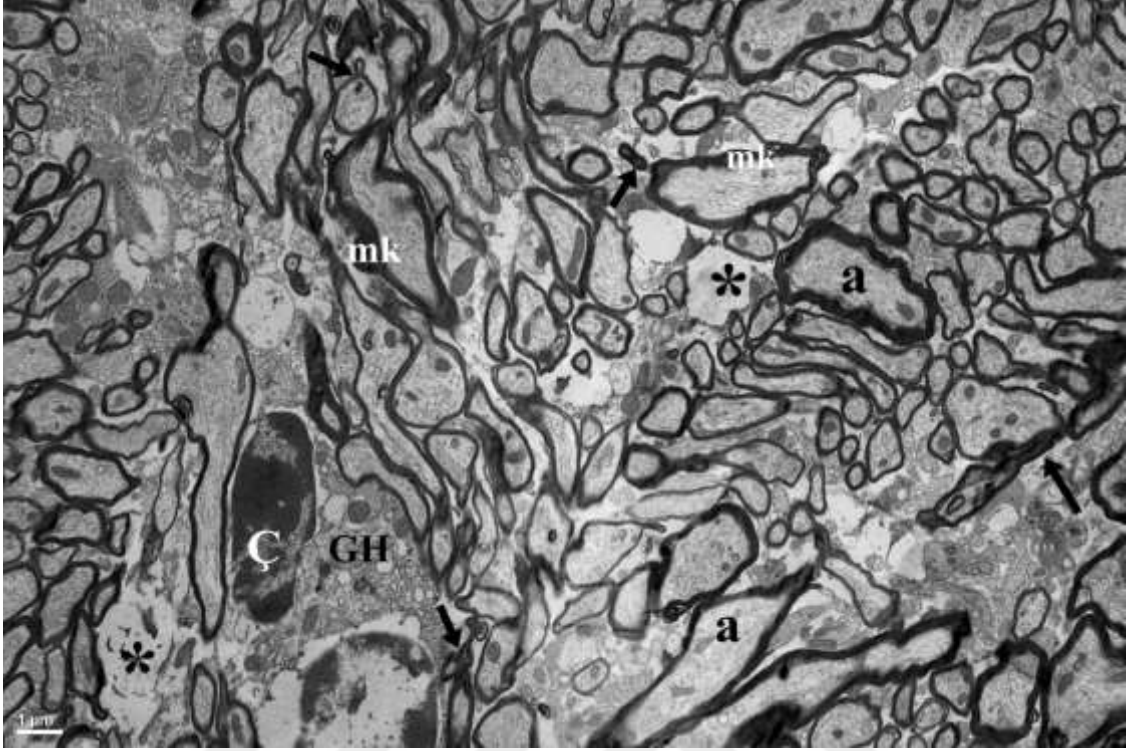
Sinir hücresi perikaryonunun çekirdek (Ç) ve sitoplazmada (N) yer alan organellerin normal histolojik yapıda olduğu görülmektedir. Bar= 0,5 µm.

4.5.2.2. MK-801 Uygulanan Grup

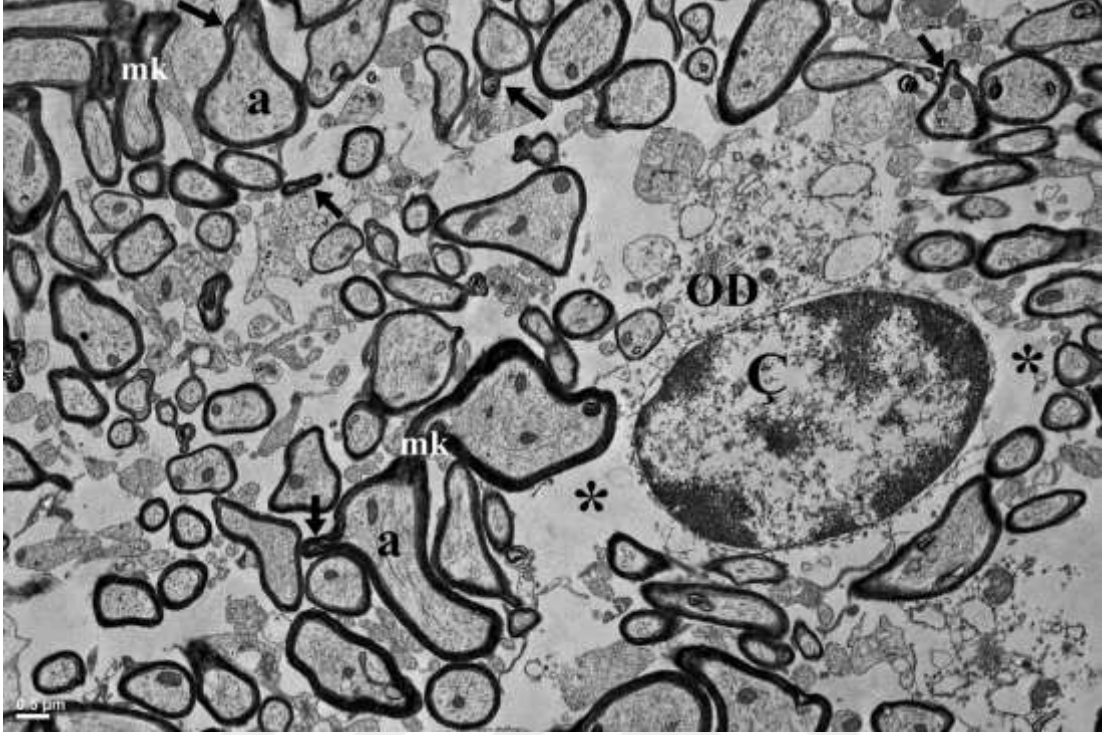
MK-801 uygulanan gruptan alınan hipokampus doku örnekleri elektron mikroskopik olarak incelenmeleri amacıyla elde edilmiştir. Hipokampus dokusunda gri cevherde bulunan nöron perikaryonları ve glia hücrelerinde çekirdekte kromatin artışı, sitoplazmada organel harabiyeti gözlemlendi. Nöron sitoplazmalarında mitokondriyonlarda genişleme ve krista harabiyeti izlendi. Sitoplazmik vakuolizasyonların olduğu görüldü (Şekil 34). Bunların yanında glia hücrelerinde de çekirdek ve sitoplazmik organellerde ultrastrüktürel değişiklikler görüldü. Miyelinli sinir liflerinde akson ve miyelin kılıfı içeren yapısal değişiklikler izlendi. Fokal miyelin kılıf dejenerasyonları ile miyelin kılıfın aksonal zon içerisine doğru invajinasyonlar gözlemlendi. Aksonlarda büzüşme, organel harabiyeti ile miyelin kılıf lamellerinde ayrılmalar görüldü (Şekil 35 ve 36).



Şekil 34. MK-801 uygulanan gruptan alınan prefrontal korteks dokusunun elektron mikroskopik görünümü.
Nöron perikaryonunda (N) dejenerasyon, organel harabiyeti ve ödem alanlarının (*) olduğu görülmektedir. Bar= 1 µm.



Şekil 35. MK-801 uygulanan gruptan alınan prefrontal korteks dokusunun elektron mikroskopik görünümü. Glia hücrelerinin çekirdeklerinde (C) kromatin artışı, sitoplazmada harabiyet izlenmektedir. Miyelinli sinir liflerinde aksonlarda büzüşme, miyelin lamellerinde ayrışmaların (oklar) olduğu görülmektedir. Ödem alanları (*) gösterilmiştir. Bar= 1 µm.



Şekil 36. MK-801 uygulanan gruptan alınan hipokampus dokusunun elektron mikroskobik görünümü.

Oligodendrosit (OD) çekirdeğinde (Ç) kromatin artışı, sitoplazmada organel harabiyeti ve ödem alanları izlenmektedir. Sinir liflerinde harabiyet (oklar) olduğu dikkati çekmektedir. Ödem alanları (*) gösterilmiştir. Bar= 0,5 μm.

5. TARTIŞMA

5.1. Vücut Ağırlığı

MK-801 ile NMDA reseptör blokajı oluşturulan deneysel şizofreni modelinde somatik büyümenin değerlendirilmesi amacı ile on bir gün boyunca vücut ağırlığı takibi yapıldı. MK-801 uygulanan grupta ve kontrol grubunda enjeksiyonun ilk gününe göre on birinci günde vücut ağırlığında artış olduğu saptandı. NMDA reseptör blokajının vücut ağırlığı üzerine anlamlı etkisinin olmadığı bulundu. Çalışmamızdaki bulgularla uyumlu olarak Balb/c farelerde yetişkin dönemde üç hafta süre ile MK-801 uygulaması sonrasında vücut ağırlığında anlamlı değişiklik olmadığı saptanmıştır⁷⁷.

Literatürde MK-801 uygulamasının vücut ağırlığı üzerine etkisi hakkında çeşitli veriler bulunmaktadır. Örneğin Ninan ve arkadaşları yaptıkları çalışmada MK-801'i farklı dozlarda intraventriküler olarak uyguladıklarında doza bağlı olarak yeme davranışının akut dönemde arttığını göstermişlerdir⁷⁸. Sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada doğum sonrası 6. günden 21. güne kadar MK-801 uygulanmasından sonra yetişkin dönemde vücut ağırlığı takibinde yaşa bağlı dalgalanma saptanmıştır⁷⁹. Stefani ve arkadaşları ise doğum sonrası 7. günden itibaren dört gün süre ile MK-801 uygulaması sonucunda yetişkin dönemde vücut ağırlığında değişiklik olmadığını göstermişlerdir⁸⁰. Bu bulgulara göre MK-801 uygulaması ile vücut ağırlığında meydana gelen değişim, uygulamanın süresine, uygulama yaşına, uygulama yapılan türe ve cinsiyete bağlı olabilmektedir.

5.2. MK-801 Uygulamasının Bilişsel Davranışlar Üzerine Etkisi

Çalışmamızda uzaysal öğrenme ve belleği değerlendirmek amacı ile Morris su havuzu testi kullanıldı. Balb/c fareler beş gün boyunca gizli platform bulmaları için günde dört defa yüzdürüldü. Altıncı günde ise havuzdan platform uzaklaştırılarak bir dakika süresince platformun bulunduğu kadranda geçirdikleri süre değerlendirildi. NMDA reseptör blokajı amacı ile MK-801 uygulanan grupta beş gün boyunca platform bulma süresinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha uzun olduğu saptandı. Altıncı günde de MK-801 uygulanan grupta hedef kadranda geçirilen sürenin anlamlı olarak daha az olduğu bulundu. Morris su havuzu testi bulgularına göre MK-801 uygulanan grupta uzaysal öğrenme ve bellek performansının azaldığı saptandı.

Bilişsel davranışların değerlendirildiği çalışmalarda NMDA reseptör blokajının davranış üzerindeki etkisi deney hayvanının yaşına, blokajın uygulanma süresine, dozuna ve kullanılan davranış test düzeneğine göre değişmektedir^{81,82}. Fakat uzaysal öğrenme ve belleğin değerlendirildiği Morris su havuzu testinde MK-801 uygulamasının öğrenme ve bellek performansını azalttığı birçok çalışmada gösterilmiştir^{83,84}. Günümüzde erken gelişim döneminde uygulanan NMDA reseptör blokajı şizofreninin nörogelişimsel deneysel modeli olarak kabul edilmektedir⁸⁵. Deney hayvanlarında erken gelişim döneminde özellikle doğum sonrası 7-14. üncü günler arasında NMDA reseptör blokajı uygulamasının yetişkin dönemde bilişsel davranışları olumsuz etkilediği bildirilmektedir⁸⁶. Yetişkin dönemde de NMDA reseptör blokajı uygulanan deney hayvanlarında şizofreninin pozitif ve negatif semptomlarına benzer davranışların sergilenmesi nedeni ile MK-801 literatürde sıklıkla deneysel şizofreni modeli olarak kullanılmaktadır.

Şizofreninin fizyopatolojisinde prefrontal korteks kadar hipokampusun da önemli rol oynadığı bilinmektedir. Bilişsel işlevlerde hipokampustan medial prefrontal kortekse projekte olan yolakların etkili olduğu gösterilmiştir. Yenidoğan döneminde ventral hipokampal lezyon yapılan hayvanlarda prefrontal korteks plastisite ve gelişiminde bozukluklara bağlı şizofreni benzeri davranışsal değişikliklerin olduğu ortaya konulmuştur⁸⁷. Şizofreni hastalarında da glutamaterjik sinaps plastisitesinin bozulması ve buna bağlı davranışsal değişiklikler olduğu gösterilmiştir⁸⁸. MK-801 uygulanması ile hipokampo-prefrontal korteks sinaptik cevapları ve uzaysal öğrenme bellek performansına bozulmalar 24 saat içerisinde gerçekleşmektedir. Glutamatın metabotropik reseptörlerinde mGluR2/3 agonisti LY379268'in MK-801'den önce uygulanması ile uzaysal öğrenme bellek performansındaki bozulmanın kısmen düzeltildiği gösterilmiştir⁸⁹.

Prefrontal korteksten yapılan primer nöron kültüründe MK-801 uygulamasının nörodejenerasyona neden olduğu gösterilmiştir⁹⁰. MK-801 uygulaması ile serebral dokularda, prefrontal kortikal nöronlarda vakuolizasyon, dendritik yapılarda ve nöron gövdesinde atrofi görüldüğü bildirilmiştir⁹¹. Ikonomidou ve arkadaşları kemirgenlerde erken gelişim döneminde NMDA reseptör antagonisti uygulaması ile hipokampus,

serebral korteks, kaudat nükleus ve nükleus akkübens gibi birçok serebral dokuda milyonlarca nöronun apoptotik nörodejenerasyona uğradığını göstermişlerdir⁹².

NMDA reseptör antagonistlerinin prefrontal korteks nöronal aktivasyonu üzerine etkisini araştıran çalışmalarda MK-801 uygulamasının medial prefrontal korteksteki eksitasyonu piramidal nöronlardaki disinhibisyon ile gerçekleştirildiği bildirilmiştir⁹³. Ventral hipokampusten medial prefrontal kortekse yansıyan monosinaptik glutamaterjik nöronların MK-801 ile inhibisyonu prefrontal korteks piramidal nöronlarında eksitasyona neden olduğu ileri sürülmektedir. Ayrıca NMDA reseptör antagonistlerinin prefrontal kortekste dopamin salınımı üzerine direkt etkisi olduğu bildirilmektedir⁹⁴.

Şizofrenide serebral osilasyonlarda fonksiyonel bozukluklar olduğu bildirilmektedir⁹⁵. NMDA reseptör blokajı ile prefrontal kortekste spontan yüksek frekanslı beta/gamma osilasyonları gösterilmiştir. Prefrontal kortekste görülen bu osilasyonların, şizofrenide görülen bilişsel fonksiyonlarda bozulma ve algı farklılıkları ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür⁹⁶.

Çalışmamızda MK-801 uygulanan Balb/c farelerde eğitim denemeleri sırasında ve test gününde yüzme hızında azalma bulundu. MK-801'in açık alan testinde stereotipik hareketleri arttırdığı gösterilmiştir⁹⁷. Deneyimizde farelerin kendi etraflarında kuyruklarını yakalamak istercesine dönme davranışı olan stereotipik hareket sergiledikleri saptandı. Farelerin su havuzunda stereotipik hareket nedeni ile yer değiştirmeden buldukları yerde kendi etraflarında dönmeleri toplam katedilen mesafeyi azaltarak yüzme hızında düşüşe neden olabilir. Yüzme hızının bu stereotipik hareketlere bağlı olarak azalmış olabileceği ileri sürülebilir. Striatal bölgedeki dopaminerjik aktivitedeki artışın stereotipik hareketler ile ilişkili olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. NMDA reseptör sistemi ve dopaminerjik sistem arasındaki ilişki bilinmektedir. Birçok çalışmada NMDA reseptör blokajının disinhibisyon ile striatal dopaminerjik aktiviteyi arttırdığı gösterilmiştir⁹⁸.

5.3. MK-801 Uygulanan Balb/c Farelerde Aquaporin-4 kanallarının Hipokampus ve Prefrontal Korteks'te dağılımı

MK-801 uygulanan ve Morris su havuzu testine alınmayan bir grup farede prefrontal korteks ve hipokampus izolasyonu yapıldı. Elde edilen dokularda immünohistokimyasal olarak Aquaporin-4 kanallarının dağılımı incelendi. Prefrontal korteks ve hipokampusta kapillerlerde fazla olmak üzere glia hücrelerinde AQP-4 ekspresyonunda artış görüldü. Ayrıca hipokampusta perinöronal alanda AQP-4 ekspresyonunda artış olduğu saptandı.

Merkezi sinir sistemi glial hücrelerinden astrositlerde çift yönlü su taşınmasında önemli rol oynayan AQP-4 kanallarının öğrenme ve bellekte rol aldığı ileri sürülmektedir⁹⁹. Hipokampusta AQP-4 kanalları bulunmayan farelerde öğrenme ve bellek performansının azaldığı bildirilmiştir. Bu kanalların sinaptik plastisiteyi etkileyerek öğrenme ve bellek performansını değiştirdiği ileri sürülmektedir¹⁰⁰. Astrositlerin yapısal organizasyonlarının sinaptik plastisitenin düzenlenmesinde önemli olabileceği düşünülmektedir. Astrositik ayaklı çıkıntılar, presinaptik ve postsinaptik nöronal membranlar ile yapısal olarak yakından ilişkilidir. Merkezi sinir sisteminde sinaptik plastisitenin düzenlenmesinde beyin kaynaklı nörotropik faktörün (BDNF)-TrkB önemli rol oynamaktadır. AQP-4'ün aktiviteye bağlı BDNF aracılı sinaptik plastisiteyi etkilediği ileri sürülmektedir. AQP-4 kanalları bulunmayan farelerde BDNF bağlı uzun süreli potansiyasyonun bozulduğu gösterilmiştir¹⁰¹. NMDA reseptörü aracılı glutamat iletiminin sinaptik plastisitede rol oynadığı bilinmektedir. NMDA reseptörleri ve BDNF sinaptik plastisitenin düzenlenmesinde karşılıklı etkileşim ile birlikte görev almaktadırlar. NMDA reseptörleri BDNF gen ekspresyonunu artırırken, BDNF, NMDA reseptör alt grup GluN1 ve GluN2B fosforilasyonuna neden olmaktadır¹⁰².

Travmatik beyin hasarı ve nörodejeneratif hastalıklarda reaktif olarak astrosit migrasyon ve proliferasyonu görülmektedir. Bu migrasyon ve proliferasyonda AQP-4 kanallarının rolü olduğu bildirilmektedir¹⁰³. Nörolojik hastalıklarda direkt nöron koruyucu yaklaşımlar yerine astrosit fonksiyonları koruyucu yaklaşımın daha efektif olabileceği ileri sürülmektedir¹⁰⁴. AQP-4'ün astrosit fonksiyonları üzerine düzenleyici etkilerinin ortaya konulması bu kanalları nöropsikiyatrik ve nörolojik hastalıklarda tedavi için hedef moleküller haline getirmektedir. AQP-4 gen delesyonu olan farelerde

dopaminerjik nöron kaybı olduğu gösterilmiştir¹⁰⁵. Dopaminerjik sistemde bozulma ile seyreden Parkinson hastalığında plazma AQP-4 mRNA düzeylerinde azalma olduğu bildirilmiştir¹⁰⁶.

Nöropsikiyatrik hastalıklardan depresyon patogeneğinde hipokampal nörodejenerasyonun rol oynadığı ileri sürülmektedir. Fluoksetin hipokampal nörojenezi uyararak depresyonda teröpatik etki göstermektedir. AQP-4 gen delesyonu olan depresyon modeli farelerde fluoksetinin bu teröpatik etkisinin baskılandığı bildirilmektedir¹⁰⁷

Glutamat taşıyıcılarının AQP-4 kanalları ile birlikte lokalize olduğu gösterilmiştir¹⁰⁸. Astrositlerin en önemli fonksiyonlarından birisi glutamat taşınmasıdır. Sinaptik aralığa yayılan glutamat hızlıca astrositlerdeki glutamat taşıyıcıları ile astrositlere alınmaktadır¹⁰⁹. Nöronal aktivite sırasında sinaptik aralığa yayılan glutamat astrositlerde bulunan sodyuma bağlı glutamat taşıyıcıları ile hücre içine alınmaktadır. Bu süreçte intraselüler aralıktaki su da pasif olarak astrositlere geçmektedir. NMDA reseptör aracılı glutamat iletiminin bloke edilmesi ile sinaptik aralıktaki biriken glutamatın glial hücrelere alınmasında AQP-4 kanallarının rolü olduğu ve fazla miktardaki glutamatın sinaptik aralıktan uzaklaştırılması amacı ile AQP-4 kanallarının up-regüle olduğu ileri sürülebilir.

Sonuçta NMDA reseptör blokajı ile uzaysal öğrenme bellek performansı bozulmaktadır. Prefrontal korteks ve hipokampusta NMDA reseptör blokajı ile glial hücrelerde, kapiller damar endotelinde ve perinöronal alanda AQP-4 kanal ekspresyonunda artış meydana gelmektedir. Çalışmamızda elde edilen veriler NMDA reseptör blokajına bağlı olarak sinaptik aralıktaki artan glutamatın ortamdan uzaklaştırılması amacı ile AQP-4 kanal ekspresyonunun arttığını desteklemektedir. Deneysel şizofreni benzeri davranış modelinde NMDA reseptörleri ve AQP-4 kanalları arasındaki fonksiyonel ilişkinin tam olarak gösterilebilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Örneğin AQP-4 kanallarının etkisi bu kanalların bulunmadığı hayvan modelleri ya da AQP-4 kanal inhibitörleri kullanılarak değerlendirilebilir. Sinaptik düzeyde NMDA reseptörleri ve AQP-4 kanalları arasındaki ilişkinin ileri moleküler ve görüntüleme teknikleri (optogenetik, immünfloresan, elektrofizyolojik vs.)

ile aydınlatılması nöropsikiyatrik, nörolojik, nörodejeneratif hastalıklar, travmatik sinir sistemi hasarlarının tedavisinde yeni hedefler ortaya koyabilecektir.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Merkezi sinir sisteminde NMDA reseptör blokajı ile uzaysal öğrenme ve bellek performansını bozulmaktadır.
2. Şizofrenide görülen bilişsel işlevlerde bozulma, stereotipik hareketler, NMDA reseptör blokörü MK-801 uygulaması ile deneysel şizofreni benzeri davranış modelinde görülmektedir.
3. MK-801 ile NMDA reseptör blokajı prefrontal korteks ve hipokampusta AQP-4 kanal ekspresyonunda artışa neden olmaktadır.
4. Deneysel şizofreni modelinde prefrontal kortekste glial hücreler ve kapiller endotelinde AQP-4 kanal ekspresyonunda anlamlı artış saptandı. Perinöronal alanda ise artma eğilimi olduğu bulundu.
5. Deneysel şizofreni modelinde hipokampusta glial hücreler, kapiller endoteli ve perinöronal alanda AQP-4 kanal ekspresyonunda anlamlı artış saptandı.
6. NMDA reseptör aracılı glutamat iletiminin MK-801 uygulanarak bloke edilmesi ile sinaptik aralıkta biriken glutamatın glial hücrelere alınmasında AQP-4 kanallarının rolü olduğu ve fazla miktardaki glutamatın sinaptik aralıktan uzaklaştırılması amacı ile AQP-4 kanallarının up-regüle olduğu ileri sürülebilir.
7. AQP-4 kanal aktivatör ve inhibitörlerinin uygulanması ile sinaptik plastisite değişikliklerinin araştırılması nöropsikiyatrik hastalıkların fizyopatolojilerinin açıklanmasına ve yeni tedavi hedeflerinin tanımlanmasına katkıda bulunacaktır.
8. Sinaptik düzeyde NMDA reseptörleri ve AQP-4 kanalları arasındaki fonksiyonel ilişkinin ileri moleküler ve görüntüleme yöntemleri ile gösterilmesi yeni tedavi yaklaşımlarının ortaya çıkarılmasına yardımcı olabilecektir.

KAYNAKLAR

1. **Iloff JJ, Wang M, Liao Y, Plogg BA, Peng W, Gundersen GA, Benveniste H, Vates GE, Deane R, Goldman SA, Nagelhus EA ve Nedergaard M.** A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid beta. *Sci Transl Med*, **2012**; 4(147):147ra111.
2. **Olney JW, Farber NB.** Glutamate Receptor Dysfunction and Schizophrenia. *Arch Gen Psychiatr*, **1995**; 52(12):998-1007.
3. **Schwartz TL, Sachdeva S ve Stahl SM.** Glutamate neurocircuitry: theoretical underpinnings in schizophrenia. *Front Pharmacol*, **2012**; 3(
4. **Aukland K, Reed RK.** Interstitial-Lymphatic Mechanisms in the Control of Extracellular Fluid Volume. *Physiol Rev*, **1993**; 73(1):1-78.
5. **Yao X, Hrabetova S, Nicholson C ve Manley GT.** Aquaporin-4-deficient mice have increased extracellular space without tortuosity change. *J Neurosci*, **2008**; 28(21):5460-5464.
6. **Weller RO, Subash M, Preston SD, Mazanti I ve Carare RO.** Perivascular drainage of amyloid-beta peptides from the brain and its failure in cerebral amyloid angiopathy and Alzheimer's disease. *Brain Pathol*, **2008**; 18(2):253-266.
7. **Aspelund A, Antila S, Proulx ST, Karlson TV, Karaman S, Detmar M, Wiig H ve Alitalo K.** A dural lymphatic vascular system that drains brain interstitial fluid and macromolecules. *J Exp Med*, **2015**; 212(7):991-999.
8. **Ma QL, Ineichen BV, Detmar M ve Proulx ST.** Outflow of cerebrospinal fluid is predominantly through lymphatic vessels and is reduced in aged mice. *Nat Commun*, **2017**; 8(
9. **Johnston M, Zakharov A, Papaiconomou C, Salmasi G ve Armstrong D.** Evidence of connections between cerebrospinal fluid and nasal lymphatic vessels in humans, non-human primates and other mammalian species. *Cerebrospinal Fluid Res*, **2004**; 1(1):2.
10. **Absinta M, Ha SK, Nair G, Sati P, Luciano NJ, Palisoc M, Louveau A, Zaghoul KA, Pittaluga S, Kipnis J ve Reich DS.** Human and nonhuman primate meninges harbor lymphatic vessels that can be visualized noninvasively by MRI. *Elife*, **2017**; 6(
11. **Ringstad G, Valnes LM, Dale AM, Pripp AH, Vatnehol SAS, Emblem KE, Mardal KA ve Eide PK.** Brain-wide glymphatic enhancement and clearance in humans assessed with MRI. *Jci Insight*, **2018**; 3(13).
12. **Murlidharan G, Crowther A, Reardon RA, Song J ve Asokan A.** Glymphatic fluid transport controls paravascular clearance of AAV vectors from the brain. *Jci Insight*, **2016**; 1(14).
13. **Mestre H, Kostrikov S, Mehta RI ve Nedergaard M.** Perivascular spaces, glymphatic dysfunction, and small vessel disease. *Clin Sci*, **2017**; 131(17):2257-2274.
14. **Acharyar TM, Li BM, Peng WG, Vergheze PB, Shi Y, McConnell E, Benraiss A, Kasper T, Song W, Takano T, Holtzman DM, Nedergaard M ve Deane R.** Glymphatic distribution of CSF-derived apoE into brain is isoform specific and suppressed during sleep deprivation. *Mol Neurodegener*, **2016**; 11(
15. **Iloff JJ, Wang MH, Zeppenfeld DM, Venkataraman A, Plog BA, Liao YH, Deane R ve Nedergaard M.** Cerebral Arterial Pulsation Drives Paravascular CSF-Interstitial Fluid Exchange in the Murine Brain. *Journal of Neuroscience*, **2013**; 33(46):18190-18199.
16. **Iloff JJ, Wang MH, Liao YH, Plogg BA, Peng WG, Gundersen GA, Benveniste H, Vates GE, Deane R, Goldman SA, Nagelhus EA ve Nedergaard M.** A Paravascular Pathway Facilitates CSF Flow Through the Brain Parenchyma and the Clearance of Interstitial Solutes, Including Amyloid beta. *Science Translational Medicine*, **2012**; 4(147).
17. **Bedussi B, Almasian M, de Vos J, VanBavel E ve Bakker ENTP.** Paravascular spaces at the brain surface: Low resistance pathways for cerebrospinal fluid flow. *J Cerebr Blood F Met*, **2018**; 38(4):719-726.
18. **Kiviniemi V, Wang XD, Korhonen V, Keinanen T, Tuovinen T, Autio J, LeVan P, Keilholz S, Zang YF, Hennig J ve Nedergaard M.** A Ultra-fast magnetic resonance encephalography of

- physiological brain activity - Glymphatic pulsation mechanisms? *J Cerebr Blood F Met*, **2016**; 36(6):1033-1045.
19. **Lee HD, Xie LL, Yu M, Kang HY, Feng T, Deane R, Logan J, Nedergaard M ve Benveniste H.** The Effect of Body Posture on Brain Glymphatic Transport. *Journal of Neuroscience*, **2015**; 35(31):11034-11044.
 20. **Xie LL, Kang HY, Xu QW, Chen MJ, Liao YH, Thiyagarajan M, O'Donnell J, Christensen DJ, Nicholson C, Iliff JJ, Takano T, Deane R ve Nedergaard M.** Sleep Drives Metabolite Clearance from the Adult Brain. *Science*, **2013**; 342(6156):373-377.
 21. **Ringstad G, Vatnehol SAS ve Eide PK.** Glymphatic MRI in idiopathic normal pressure hydrocephalus. *Brain*, **2017**; 140(2691-2705).
 22. **Taoka T, Masutani Y, Kawai H, Nakane T, Matsuoka K, Yasuno F, Kishimoto T ve Naganawa S.** Evaluation of glymphatic system activity with the diffusion MR technique: diffusion tensor image analysis along the perivascular space (DTI-ALPS) in Alzheimer's disease cases. *Jpn J Radiol*, **2017**; 35(4):172-178.
 23. **Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, Eccles JD, Rouhani SJ, Peske JD, Derecki NC, Castle D, Mandell JW, Lee KS, Harris TH ve Kipnis J.** Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels (vol 523, pg 337, 2015). *Nature*, **2016**; 533(7602).
 24. **de Leon MJ, Li Y, Okamura N, Tsui WH, Saint-Louis LA, Glodzik L, Osorio RS, Fortea J, Butler T, Pirraglia E, Fossati S, Kim HJ, Carare RO, Nedergaard M, Benveniste H ve Rusinek H.** Cerebrospinal Fluid Clearance in Alzheimer Disease Measured with Dynamic PET. *J Nucl Med*, **2017**; 58(9):1471-1476.
 25. **Shokri-Kojori E, Wang GJ, Wiers CE, Demiral SB, Guo M, Kim SW, Lindgren E, Ramirez V, Zehra A, Freeman C, Miller G, Manza P, Srivastava T, De Santi S, Tomasi D, Benveniste H ve Volkow ND.** beta-Amyloid accumulation in the human brain after one night of sleep deprivation. *P Natl Acad Sci USA*, **2018**; 115(17):4483-4488.
 26. **Wang J, Gu BJ, Masters CL ve Wang YJ.** A systemic view of Alzheimer disease - insights from amyloid-beta metabolism beyond the brain (vol 13, pg 612, 2017). *Nat Rev Neurol*, **2017**; 13(11):704-704.
 27. **Brothers HM, Gosztyla ML ve Robinson SR.** The Physiological Roles of Amyloid-beta Peptide Hint at New Ways to Treat Alzheimer's Disease. *Front Aging Neurosci*, **2018**; 10(
 28. **Kumar DKV, Choi SH, Washicosky KJ, Eimer WA, Tucker S, Ghofrani J, Lefkowitz A, McColl G, Goldstein LE, Tanzi RE ve Moir RD.** Amyloid-beta peptide protects against microbial infection in mouse and worm models of Alzheimer's disease. *Science Translational Medicine*, **2016**; 8(340).
 29. **Luo C, Yao X, Li J, He B, Liu Q, Ren H, Liang F, Li M, Lin H, Peng J, Yuan TF, Pei Z ve Su H.** Paravascular pathways contribute to vasculitis and neuroinflammation after subarachnoid hemorrhage independently of glymphatic control. *Cell Death Dis*, **2016**; 7(
 30. **Burfeind KG, Murchison CF, Westaway SK, Simon MJ, Erten-Lyons D, Kaye JA, Quinn JF ve Iliff JJ.** The effects of noncoding aquaporin-4 single-nucleotide polymorphisms on cognition and functional progression of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement (N Y)*, **2017**; 3(3):348-359.
 31. **Xie L, Kang H, Xu Q, Chen MJ, Liao Y, Thiyagarajan M, O'Donnell J, Christensen DJ, Nicholson C, Iliff JJ, Takano T, Deane R ve Nedergaard M.** Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. *Science*, **2013**; 342(6156):373-377.
 32. **Lundgaard I, Lu ML, Yang E, Peng W, Mestre H, Hitomi E, Deane R ve Nedergaard M.** Glymphatic clearance controls state-dependent changes in brain lactate concentration. *J Cerebr Blood Flow Metab*, **2017**; 37(6):2112-2124.
 33. **Plog BA, Dashnaw ML, Hitomi E, Peng W, Liao Y, Lou N, Deane R ve Nedergaard M.** Biomarkers of traumatic injury are transported from brain to blood via the glymphatic system. *J Neurosci*, **2015**; 35(2):518-526.
 34. **Ju YE, Lucey BP ve Holtzman DM.** Sleep and Alzheimer disease pathology--a bidirectional relationship. *Nat Rev Neurol*, **2014**; 10(2):115-119.
 35. **Shokri-Kojori E, Wang GJ, Wiers CE, Demiral SB, Guo M, Kim SW, Lindgren E, Ramirez V, Zehra A, Freeman C, Miller G, Manza P, Srivastava T, De Santi S, Tomasi D,**

- Benveniste H ve Volkow ND.** beta-Amyloid accumulation in the human brain after one night of sleep deprivation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2018**; 115(17):4483-4488.
36. **Ju YS, Ooms SJ, Sutphen C, Macauley SL, Zangrilli MA, Jerome G, Fagan AM, Mignot E, Zempel JM, Claassen J ve Holtzman DM.** Slow wave sleep disruption increases cerebrospinal fluid amyloid-beta levels. *Brain*, **2017**; 140(8):2104-2111.
37. **Rainey-Smith SR, Mazzucchelli GN, Villemagne VL, Brown BM, Porter T, Weinborn M, Bucks RS, Milicic L, Sohrabi HR, Taddei K, Ames D, Maruff P, Masters CL, Rowe CC, Salvado O, Martins RN, Laws SM ve Grp AR.** Genetic variation in Aquaporin-4 moderates the relationship between sleep and brain A beta-amyloid burden. *Transl Psychiat*, **2018**; 8(
38. **Kress BT, Iliff JJ, Xia MS, Wang MH, Wei HLS, Zeppenfeld D, Xie LL, Kang HY, Xu QW, Liew JA, Plog BA, Ding FF, Deane R ve Nedergaard M.** Impairment of Paravascular Clearance Pathways in the Aging Brain. *Ann Neurol*, **2014**; 76(6):845-861.
39. **Zeppenfeld DM, Simon M, Haswell D, D'Abreo D, Murchison C, Quinn JF, Grafe MR, Woltjer RL, Kaye J ve Iliff JJ.** Association of Perivascular Localization of Aquaporin-4 With Cognition and Alzheimer Disease in Aging Brains. *Jama Neurol*, **2017**; 74(1):91-99.
40. **Venkat P, Chopp M, Zacharek A, Cui CC, Zhang L, Li QJ, Lu M, Zhang TL, Liu A ve Chen JL.** White matter damage and glymphatic dysfunction in a model of vascular dementia in rats with no prior vascular pathologies. *Neurobiol Aging*, **2017**; 50(96-106).
41. **Gaberel T, Gakuba C, Goulay R, de Lizarrondo SM, Hanouz E, Emery E, Touze E, Vivien D ve Gauberti M.** Impaired glymphatic perfusion after strokes revealed by contrast-enhanced MRI: A new target for fibrinolysis ? *Int J Stroke*, **2015**; 10(36-36).
42. **Goulay R, Flament J, Gauberti M, Naveau M, Pasquet N, Gakuba C, Emery E, Hantraye P, Aron-Badin R, Vivien D ve Gaberel T.** Subarachnoid hemorrhage severely impairs brain parenchymal cerebrospinal fluid circulation in the non-human primate. *J Cerebr Blood F Met*, **2017**; 37(437-437).
43. **Goulay R, Flament J, Gauberti M, Naveau M, Pasquet N, Gakuba C, Emery E, Hantraye P, Vivien D, Aron-Badin R ve Gaberel T.** Subarachnoid Hemorrhage Severely Impairs Brain Parenchymal Cerebrospinal Fluid Circulation in Nonhuman Primate. *Stroke*, **2017**; 48(8):2301-+.
44. **Schain AJ, Melo-Carrillo A, Strassman AM ve Burstein R.** Cortical Spreading Depression Closes Paravascular Space and Impairs Glymphatic Flow: Implications for Migraine Headache. *Journal of Neuroscience*, **2017**; 37(11):2904-2915.
45. **Zelenina M.** Regulation of brain aquaporins. *Neurochem Int*, **2010**; 57(4):468-488.
46. **Rojek A, Praetorius J, Frokiaer J, Nielsen S ve Fenton RA.** A current view of the mammalian aquaglyceroporins. *Annu Rev Physiol*, **2008**; 70(301-327).
47. **Nielsen S, Nagelhus EA, AmiryMoghaddam M, Bourque C, Agre P ve Ottersen OP.** Specialized membrane domains for water transport in glial cells: High-resolution immunogold cytochemistry of aquaporin-4 in rat brain. *Journal of Neuroscience*, **1997**; 17(1):171-180.
48. **Cavazzin C, Ferrari D, Facchetti F, Russignan A, Vescovi AL, La Porta CAM ve Gritti A.** Unique expression and localization of aquaporin-4 and aquaporin-9 in murine and human neural stem cells and in their glial progeny. *Glia*, **2006**; 53(2):167-181.
49. **Ng WH, Hy JW, Tan WL, Liew D, Lim T, Ang BT ve Ng I.** Aquaporin-4 expression is increased in edematous meningiomas. *J Clin Neurosci*, **2009**; 16(3):441-443.
50. **Lennon VA, Kryzer TJ, Pittock SJ, Verkman AS ve Hinson SR.** IgG marker of optic-spinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel. *J Exp Med*, **2005**; 202(4):473-477.
51. **Miyamoto K, Nagaosa N, Motoyama M, Kataoka K ve Kusunoki S.** Upregulation of water channel aquaporin-4 in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neurol Sci*, **2009**; 276(1-2):103-107.
52. **Gunnarson E, Zelenina M, Axehult G, Song Y, Bondar A, Krieger P, Brismar H, Zelenin S ve Aperia A.** Identification of a molecular target for glutamate regulation of astrocyte water permeability. *Glia*, **2008**; 56(6):587-596.
53. **Zador Z, Stiver S, Wang V ve Manley GT.** Role of aquaporin-4 in cerebral edema and stroke. *Handb Exp Pharmacol*, **2009**; 190):159-170.

54. **Woodberry KA, Giuliano AJ ve Seidman LJ.** Premorbid IQ in schizophrenia: A meta-analytic review. *Am J Psychiat*, **2008**; 165(5):579-587.
55. **Fuller R, Nopoulos P, Arndt S, O'Leary D, Ho BC ve Andreasen NC.** Longitudinal assessment of premorbid cognitive functioning in patients with schizophrenia through examination of standardized scholastic test performance. *Am J Psychiat*, **2002**; 159(7):1183-1189.
56. **Jones P, Rodgers B, Murray R ve Marmot M.** Child Developmental Risk-Factors for Adult Schizophrenia in the British 1946 Birth Cohort. *Lancet*, **1994**; 344(8934):1398-1402.
57. **Willner P.** The dopamine hypothesis of schizophrenia: current status, future prospects. *Int Clin Psychopharm*, **1997**; 12(6):297-308.
58. **Friedhoff AJ.** Dopamine as a Mediator of a Central Stabilizing System - Comments on the Current Status of the Dopamine Hypothesis of Schizophrenia. *Neuropsychopharmacol*, **1988**; 1(3):189-191.
59. **Nour M, Dahoun T, Schwartenbeck P, Adams R, FitzGerald T, Coello C, Wall M, Dolan R ve Howes O.** The Role of Dopamine in Processing the Meaningful Information of Observations, and Implications for the Aberrant Salience Hypothesis of Schizophrenia. *Schizophrenia Bull*, **2018**; 44(S385-S385).
60. **Avissar M, Javitt D.** Mismatch negativity: A simple and useful biomarker of N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR)-type glutamate dysfunction in schizophrenia. *Schizophr Res*, **2018**; 191(1-4).
61. **Moghaddam B.** Bringing order to the glutamate chaos in schizophrenia. *Neuron*, **2003**; 40(5):881-884.
62. **Blot K, Bai J ve Otani S.** The effect of non-competitive NMDA receptor antagonist MK-801 on neuronal activity in rodent prefrontal cortex: an animal model for cognitive symptoms of schizophrenia. *J Physiol Paris*, **2013**; 107(6):448-451.
63. **Hatt H.** Modification of glutamate receptor channels: Molecular mechanisms and functional consequences. *Naturwissenschaften*, **1999**; 86(4):177-186.
64. **Vyklicky V, Korinek M, Smejkalova T, Balik A, Krausova B, Kaniakova M, Lichnerova K, Cerny J, Krusek J, Dittert I, Horak M ve Vyklicky L.** Structure, Function, and Pharmacology of NMDA Receptor Channels. *Physiol Res*, **2014**; 63(S191-S203).
65. **Henson MA, Roberts AC, Salimi K, Vadlamudi S, Hamer RM, Gilmore JH, Jarskog LF ve Philpot BD.** Developmental Regulation of the NMDA Receptor Subunits, NR3A and NR1, in Human Prefrontal Cortex. *Cereb Cortex*, **2008**; 18(11):2560-2573.
66. **Hansen KB, Ogden KK, Yuan HJ ve Traynelis SF.** Distinct Functional and Pharmacological Properties of Triheteromeric GluN1/GluN2A/GluN2B NMDA Receptors. *Neuron*, **2014**; 81(5):1084-1096.
67. **Traynelis SF, Wollmuth LP, McBain CJ, Menniti FS, Vance KM, Ogden KK, Hansen KB, Yuan HJ, Myers SJ ve Dingledine R.** Glutamate Receptor Ion Channels: Structure, Regulation, and Function. *Pharmacol Rev*, **2010**; 62(3):405-496.
68. **Balu DT.** The NMDA Receptor and Schizophrenia: From Pathophysiology to Treatment. *Adv Pharmacol*, **2016**; 76(351-382).
69. **Labrie V, Roder JC.** The involvement of the NMDA receptor D-serine/glycine site in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *Neurosci Biobehav Rev*, **2010**; 34(3):351-372.
70. **Hernandez-Frausto M, Lopez-Rubalcava C ve Galvan EJ.** Progressive Alterations in Synaptic Transmission and Plasticity of Area CA1 Precede the Cognitive Impairment Associated with Neonatal Administration of MK-801. *Neuroscience*, **2019**.
71. **Catts VS, Lai YL, Weickert CS, Weickert TW ve Catts SV.** A quantitative review of the postmortem evidence for decreased cortical N-methyl-D-aspartate receptor expression levels in schizophrenia: How can we link molecular abnormalities to mismatch negativity deficits? *Biol Psychol*, **2016**; 116(57-67).
72. **Gao XM, Sakai K, Roberts RC, Conley RR, Dean B ve Tamminga CA.** Ionotropic glutamate receptors and expression of N-methyl-D-aspartate receptor subunits in subregions of human hippocampus: effects of schizophrenia. *Am J Psychiatry*, **2000**; 157(7):1141-1149.

73. Nilsson LK, Linderholm KR, Engberg G, Paulson L, Blennow K, Lindstrom LH, Nordin C, Karanti A, Persson P ve Erhardt S. Elevated levels of kynurenic acid in the cerebrospinal fluid of male patients with schizophrenia. *Schizophr Res*, **2005**; 80(2-3):315-322.
74. Marsman A, van den Heuvel MP, Klomp DW, Kahn RS, Luijten PR ve Hulshoff Pol HE. Glutamate in schizophrenia: a focused review and meta-analysis of (1)H-MRS studies. *Schizophr Bull*, **2013**; 39(1):120-129.
75. Stan AD, Ghose S, Zhao C, Hulse K, Mihalakos P, Yanagi M, Morris SU, Bartko JJ, Choi C ve Tamminga CA. Magnetic resonance spectroscopy and tissue protein concentrations together suggest lower glutamate signaling in dentate gyrus in schizophrenia. *Mol Psychiatry*, **2015**; 20(4):433-439.
76. Fromer M, Pocklington AJ, Kavanagh DH, Williams HJ, Dwyer S, Gormley P, Georgieva L, Rees E, Palta P, Ruderfer DM, Carrera N, Humphreys I, Johnson JS, Roussos P, Barker DD, Banks E, Milanova V, Grant SG, Hannon E, Rose SA, Chambert K, Mahajan M, Scolnick EM, Moran JL, Kirov G, Palotie A, McCarroll SA, Holmans P, Sklar P, Owen MJ, Purcell SM ve O'Donovan MC. De novo mutations in schizophrenia implicate synaptic networks. *Nature*, **2014**; 506(7487):179-184.
77. Farley S, Dumas S, El Mestikawy S ve Giros B. Increased expression of the Vesicular Glutamate Transporter-1 (VGLUT1) in the prefrontal cortex correlates with differential vulnerability to chronic stress in various mouse strains: Effects of fluoxetine and MK-801. *Neuropharmacology*, **2012**; 62(1):503-517.
78. Ninan I, Kulkarni SK. Dopamine receptor sensitive effect of dizocilpine on feeding behaviour. *Brain Res*, **1998**; 812(1-2):157-163.
79. Schiffelholz T, Hinze-Selch D ve Aldenhoff JB. Perinatal MK-801 treatment affects age-related changes in locomotor activity from childhood to later adulthood in rats. *Neurosci Lett*, **2004**; 360(3):157-160.
80. Stefani MR, Moghaddam B. Transient N-methyl-D-aspartate receptor blockade in early development causes lasting cognitive deficits relevant to schizophrenia. *Biol Psychiat*, **2005**; 57(4):433-436.
81. Rogoz Z, Wasik A ve Lorenc-Koci E. Combined treatment with aripiprazole and antidepressants reversed some MK-801-induced schizophrenia-like symptoms in mice. *Pharmacol Rep*, **2018**; 70(4):623-630.
82. Wang XJ, Ding S, Lu YL, Jiao ZQ, Zhang L, Zhang Y, Yang YF, Zhang YJ, Li WQ ve Lv LX. Effects of sodium nitroprusside in the acute dizocilpine (MK-801) animal model of schizophrenia. *Brain Res Bull*, **2019**; 147(140-147).
83. Enomoto T, Ishibashi T, Tokuda K, Ishiyama T, Toma S ve Ito A. Lurasidone reverses MK-801-induced impairment of learning and memory in the Morris water maze and radial-arm maze tests in rats. *Behav Brain Res*, **2008**; 186(2):197-207.
84. Tanyeri P, Buyukokuroglu ME, Mutlu O, Ulak G, Akar FY, Celikyurt IK ve Erden BF. Effects of ziprasidone, SCH23390 and SB277011 on spatial memory in the Morris water maze test in naive and MK-801 treated mice. *Pharmacol Biochem Be*, **2015**; 138(142-147).
85. Melik E, Babar E, Kocahan S, Guven M ve Akillioglu K. Enriched environment has limited capacity for the correction of hippocampal memory-dependent schizoid behaviors in rats with early postnatal NMDAR dysfunction. *Int J Dev Neurosci*, **2014**; 33(22-28).
86. Akillioglu K, Melik EB, Melik E ve Kocahan S. The investigation of neonatal MK-801 administration and physical environmental enrichment on emotional and cognitive functions in adult Balb/c mice. *Pharmacol Biochem Be*, **2012**; 102(3):407-414.
87. Wang GW, Cai JX. Reversible disconnection of the hippocampal-prelimbic cortical circuit impairs spatial learning but not passive avoidance learning in rats. *Neurobiol Learn Mem*, **2008**; 90(2):365-373.
88. Hasan A, Nitsche MA, Rein B, Schneider-Axmann T, Guse B, Gruber O, Falkai P ve Wobrock T. Dysfunctional long-term potentiation-like plasticity in schizophrenia revealed by transcranial direct current stimulation. *Behav Brain Res*, **2011**; 224(1):15-22.

89. **Blot K, Bai J ve Otani S.** The effect of non-competitive NMDA receptor antagonist MK-801 on neuronal activity in rodent prefrontal cortex: an animal model for cognitive symptoms of schizophrenia. *J Physiol-Paris*, **2013**; 107(6):448-451.
90. **Peng L, Zhu DX, Feng XW, Dong HM, Yue QW, Zhang J, Gao Q, Hao J, Zhang XZ, Liu ZX ve Sun JH.** Paliperidone protects prefrontal cortical neurons from damages caused by MK-801 via Akt1/GSK3 beta signaling pathway. *Schizophr Res*, **2013**; 147(1):14-23.
91. **de Olmos S, Bender C, de Olmos JS ve Lorenzo A.** Neurodegeneration and Prolonged Immediate Early Gene Expression Throughout Cortical Areas of the Rat Brain Following Acute Administration of Dizocilpine. *Neuroscience*, **2009**; 164(3):1347-1359.
92. **Ikonomidou C, Bosch F, Miksa M, Bittigau P, Vockler J, Dikranian K, Tenkova TI, Stefovskaja V, Turski L ve Olney JW.** Blockade of NMDA receptors and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. *Science*, **1999**; 283(5398):70-74.
93. **Homayoun H, Moghaddam B.** NMDA receptor hypofunction produces opposite effects on prefrontal cortex Interneurons and pyramidal neurons. *Journal of Neuroscience*, **2007**; 27(43):11496-11500.
94. **Roenker NL, Gudelsky GA, Ahlbrand R, Horn PS ve Richtand NM.** Evidence for involvement of nitric oxide and GABA(B) receptors in MK-801-stimulated release of glutamate in rat prefrontal cortex. *Neuropharmacology*, **2012**; 63(4):575-581.
95. **Uhlhaas PJ, Haenschel C, Nikolic D ve Singer W.** The role of oscillations and synchrony in cortical networks and their putative relevance for the pathophysiology of schizophrenia. *Schizophrenia Bull*, **2008**; 34(5):927-943.
96. **Rebollo B, Perez-Zabalza M, Ruiz-Mejias M, Perez-Mendez L ve Sanchez-Vives MV.** Beta and Gamma Oscillations in Prefrontal Cortex During NMDA Hypofunction: An In Vitro Model of Schizophrenia Features. *Neuroscience*, **2018**; 383(138-149).
97. **Suryavanshi PS, Ugale RR, Yilmazer-Hanke D, Stairs DJ ve Dravid SM.** GluN2C/GluN2D subunit-selective NMDA receptor potentiator CIQ reverses MK-801-induced impairment in prepulse inhibition and working memory in Y-maze test in mice. *Brit J Pharmacol*, **2014**; 171(3):799-809.
98. **Kapur S, Seeman P.** NMDA receptor antagonists ketamine and PCP have direct effects on the dopamine D-2 and serotonin 5-HT2 receptors - implications for models of schizophrenia. *Mol Psychiatr*, **2002**; 7(8):837-844.
99. **Scharfman HE, Binder DK.** Aquaporin-4 water channels and synaptic plasticity in the hippocampus. *Neurochem Int*, **2013**; 63(7):702-711.
100. **Szu JI, Binder DK.** The Role of Astrocytic Aquaporin-4 in Synaptic Plasticity and Learning and Memory. *Front Integr Neurosc*, **2016**; 10(
101. **Skucas VA, Mathews IB, Yang JM, Cheng Q, Treister A, Duffy AM, Verkman AS, Hempstead BL, Wood MA, Binder DK ve Scharfman HE.** Impairment of Select Forms of Spatial Memory and Neurotrophin-Dependent Synaptic Plasticity by Deletion of Glial Aquaporin-4. *Journal of Neuroscience*, **2011**; 31(17):6392-6397.
102. **Park H, Poo MM.** Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Nat Rev Neurosci*, **2013**; 14(1):7-23.
103. **Wu Q, Zhang YJ, Gao JY, Li XM, Kong H, Zhang YP, Xiao M, Shields CB ve Hu G.** Aquaporin-4 Mitigates Retrograde Degeneration of Rubrospinal Neurons by Facilitating Edema Clearance and Glial Scar Formation After Spinal Cord Injury in Mice. *Mol Neurobiol*, **2014**; 49(3):1327-1337.
104. **Barres BA.** The Mystery and Magic of Glia: A Perspective on Their Roles in Health and Disease. *Neuron*, **2008**; 60(3):430-440.
105. **Fan Y, Kong H, Shi XR, Sun XL, Ding JH, Wu J ve Hu G.** Hypersensitivity of aquaporin 4-deficient mice to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine and astrocytic modulation. *Neurobiol Aging*, **2008**; 29(8):1226-1236.
106. **Thenral ST, Vanisree AJ.** Peripheral Assessment of the Genes AQP4, PBP and TH in Patients with Parkinson's Disease. *Neurochem Res*, **2012**; 37(3):512-515.

107. **Kong H, Sha LL, Fan Y, Xiao M, Ding JH, Wu J ve Hu G.** Requirement of AQP4 for Antidepressive Efficiency of Fluoxetine: Implication in Adult Hippocampal Neurogenesis. *Neuropsychopharmacol*, **2009**; 34(5):1263-1276.
108. **Zeng XN, Sun XL, Gao L, Fan Y, Ding JH ve Hu G.** Aquaporin-4 deficiency down-regulates glutamate uptake and GLT-1 expression in astrocytes. *Mol Cell Neurosci*, **2007**; 34(1):34-39.
109. **Clements JD.** Transmitter timecourse in the synaptic cleft: Its role in central synaptic function. *Trends Neurosci*, **1996**; 19(5):163-171.



EKLER-1

T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

Toplantı Sayısı	Toplantı Tarihi	Toplantı Yeri	Oturum Başkanı
4	25.07.2018	Ç.Ü- SABİDAM	Doç.Dr.M.Bertan YILMAZ

KARAR NO 17- Çukurova Üniversitesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalında görevli Öğretim Üyesi Prof. Dr. Derviş MANSURİ YILMAZ'ın sorumlu araştırmacı olarak yürütmesi öngörülen 60 adet fare Balb/C'de yapılması planlanan **"MK-801 ile Oluşturulan Deneysel Şizofreni Modelinde; Prefrontal Korteks ve Hipokampusta Aquaporin-4 Kanallarının Dağılımı"** başlıklı proje, araştırma etiği yönünden değerlendirildi; toplantıya katılan üyelerin oybirliğiyle uygun olduğuna karar verildi.

Doç. Dr. M. Bertan YILMAZ
Başkan
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

KATILIMLI

Doç. Dr. Y. Kenan DAĞLIOĞLU
Sorumlu Veteriner Hekim
Ç.Ü- SABİDAM Müdürü

Prof. Dr. Gökhan GÖKÇE
Araştırmacı Uzman Üye
Su Ürünleri Fakültesi Öğretim Üyesi

KATILIMLI

Doç. Dr. Selim KADIOĞLU
Tıp Etiği Uzman Üye
Deontoloji ve Tıp Tarihi A.B.D. Öğretim Üyesi

KATILIMLI

Doç. Dr. Uğur SERBESTER
Araştırmacı Uzman Üye
Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Zooteknik Bölümü Öğretim Üyesi

KATILIMLI

Dr. Öğr. Üyesi Bilge Kaan TEKELİOĞLU
Araştırmacı Uzman Üye
Ç.Ü. Ceyhan Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi

Öğr. Gör. Dr. Fariz SALİMOV
Araştırmacı Uzman Üye
Dış Hekimliği Fakültesi Öğretim Görevlisi

Av. Hasan SOYLU
Sivil Toplum Kuruluşu Üyesi
[Meslek Dışı ve Kurum Dışı Üye]

Sezgin KERTMEN
Sivil Üye
[Meslek Dışı ve Kurum Dışı Üye]

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı :ÖMER BURAK ERİÇEK

Doğum Tarih ve Yeri :17 EYLÜL 1986

Medeni Durumu :EVLİ

Adres :Çukurova Üniversitesi Çamlıtepe
Lojmanları/SARIÇAM/ADANA

Telefon :+90 532 3009077

Faks :

E.posta :drburakericek@gmail.com

Mezun Olduğu Tıp Fakültesi :HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ (İNG)

Varsa Mezuniyet Derecesi :

Görev Yerleri :2010 SAKARYA KARASU DEVLET
HASTANESİ
2012 MUŞ İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ
2013 İSTANBUL KARTAL YAVUZ SELİM
DEVLET HASTANESİ
2014 ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI

Dernek Üyelikleri :TÜRK NÖROŞİRURJİ DERNEĞİ

Alınan Burslar :TARSUS AMERİKAN KOLEJİ 1.LİK
BURSU 1997
TÜRK NÖROŞİRURJİ DERNEĞİ IBNC
BURSU

Yabancı Dil(ler) :İNGİLİZCE (İLERİ)
ALMANCA (BAŞLANGIÇ)