

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Fizyoloji Anabilim Dalı**

**İNTRAHİPOKAMPAL L-TİROKSİN İNFÜZYONUNUN, SİNAPTİK
PLASTİSİTENİN GÖSTERGELERİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN
MOLEKÜLER VE ELEKTROFİZYOLOJİK DÜZEYDE
İNCELENMESİ**

**Hazırlayan
Soner BİTİKTAŞ**

**Danışman
Prof. Dr. Cem SÜER**

Doktora Tezi

**Kasım 2014
KAYSERİ**

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

**İNTRAHİPOKAMPAL L-TİROKSİN İNFÜZYONUNUN,
SİNAPTİK PLASTİSİTENİN GÖSTERGELERİ ÜZERİNE OLAN
ETKİSİNİN MOLEKÜLER VE ELEKTROFİZYOLOJİK
DÜZEYDE İNCELENMESİ**

**Hazırlayan
Soner BİTİKTAŞ**

**Danışman
Prof. Dr. Cem SÜER**

(Doktora Tezi)

**Kasım 2014
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi bu çalışmanın özünde olan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Soner BİTİKTAŞ



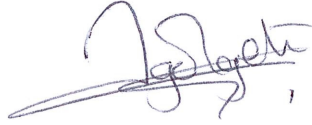
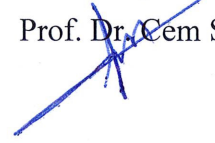
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

"İntrahipokampal L-tiroksin İnfüzyonunun, Sinaptik Plastisitenin Göstergeleri Üzerine Olan Etkisinin Moleküler ve Elektrofizyolojik Düzeyde İncelenmesi" adlı Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan
Soner BİTİKTAŞ



Danışman
Prof. Dr. Cem SÜER



Fizyoloji ABD. Başkanı
Prof. Dr. Asuman Gölge

Prof. Dr. Cem SÜER danışmanlığında **Soner BİTİKTAŞ** tarafından hazırlanan "**İntrahipokampal L-tiroksin İnfüzyonunun, Sinaptik Plastisitenin Göstergeleri Üzerine Olan Etkisinin Moleküler ve Elektrofizyolojik Düzeyde İncelenmesi**" adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü **Fizyoloji Anabilim Dalında Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

24 /11/2014

JÜRİ:

Danışman : Prof. Dr. Cem SÜER
(Fizyoloji Anabilim Dalı)
Üye : Prof. Dr. Asuman GÖLGELİ
(Fizyoloji Anabilim Dalı)
Üye : Prof. Dr. Nurcan DURSUN
(Fizyoloji Anabilim Dalı)
Üye : Prof. Dr. Narin LİMAN
(Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı)
Üye : Doç. Dr. A. Seda ARTIŞ
(İst. Medeniyet Üniv. Fizyoloji Anabilim Dalı)

.....
.....
.....
.....
.....
.....

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

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

Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince, her zaman destek olan, bilgi, deneyim ve iyi niyetini esirgemeyen, değerli zamanını ayıran, çok değerli hocam, danışmanım sayın Prof. Dr. Cem SÜER'e,

Bilimsel ve manevi desteği ile birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, sevgi, destek, hoşgörü ve sabırla emeğini esirgemeyen, sayın Doç. Dr. A. Seda ARTIŞ'a, yardımını ve desteğini esirgemeyen çalışma arkadaşım Şehrazat KAVRAAL'a, K. Erdem BAŞARAN'a, Burak TAN'a ve tüm asistan arkadaşlarıma, doktora eğitimim süresince bana gerekli bilgi ve becerileri yükleyen ve uyumlu bir çalışma ortamı sağlayarak destekte bulunan değerli hocalarım Prof.Dr. Sami AYDOĞAN, Prof. Dr. Asuman GÖLGELİ, Prof. Dr. Nurcan DURSUN, Prof. Dr. Meral AŞÇIOĞLU, Prof. Dr. Nazan DOLU ve Prof. Dr. Bekir ÇOKSEVİM'e ve bütün hayatım boyunca bana destek olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**İNTRAHİPOKAMPAL L-TİROKSİN İNFÜZYONUNUN, SİNAPTİK PLASTİSİTENİN
GÖSTERGELERİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN MOLEKÜLER VE ELEKTROFİZYOLOJİK
DÜZEYDE İNCELENMESİ**

Soner BİTİKTAŞ

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Fizyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi, Kasım 2014

Danışman: Prof.Dr. Cem SÜER

ÖZET

Tiroit hormonlarının yaşamın erken dönemlerindeki düzenleyici etkileri yetişkin dönemde de devam eder ve eksikliği birçok nörolojik bozukluklara sebep olur. Hipokampal kısa süreli plastisite uyarı çifti kolaylaşması ile uzun süreli plastisite ise uzun dönemli güçlenme ve baskılanma yanıtları ile değerlendirilmektedir. Sinaptikplastisiteden sorumlu olan genler tiroit hormonlarının hedefidir. Bu tez çalışmasında, T3 hormonun nükleer reseptörleri etkileyerek etkisini uzun bir sürede ortaya çıkaran genomik etkisinden ziyade, T4 hormonunun hipokampüstekinon-genomik etkileri incelenmiştir. Bu amaca yönelik olarak intrahipokampal L-tiroksin infüzyonu uygulanıp; UDG ve UDB yanıtları üzerine olan etkisinin araştırılması, bu aktivitelerin oluşmasında öğrenme ve bellek ile ilişkisi bilinen bazı genlerin anlatımının moleküler düzeyde incelenmesi hedeflenmiştir.

Çalışma için erkek yetişkin Wistar sıçan kullanıldı. Sıçanlar yBOS-UDG (n=12), L-tiroksin-UDG (n=12), yBOS-UDB (n=12), L-tiroksin-UDB (n=12) grubu olmak üzere rastgele 4 gruba ayrıldı. L-tiroksin grubuna L-tiroksin (100pM, 10 µl/15 dk) yBOS grubuna ise 10 µl/15 dkyBOSintrahipokampal olarak infüze edildi. Sıçanlar üreten (1,2 g/kg, ip) ile anestezi edildikten sonra stereotaksik çatıya yerleştirildi. Alan potansiyelleri dentatgirus granül hücrelerinden kaydedildi. Öğrenme ve bellek ile ilişkisi bilinen bazı genlerin anlatımının moleküler düzeyde incelenmesi için elektrofizyolojik kayıtlardan sonra sıçanların hipokampus dokusu çıkarıldı ve rt-PCR analizleri gerçekleştirildi.

L-tiroksin grubu sıçanlar yBOS grubuyla kıyaslandığında UDG'nin indüksiyon ve idamesinin bozulduğu, bozulmaya CREB, GluN2B ve cFOS anlatımında anlamlı derecedeki artışın eşlik ettiği bulundu. L-tiroksin grubu sıçanlar yBOS grubuyla kıyaslandığında UDB'nin indüksiyon ve idamesindeki baskılanmada artışın olduğu, bu baskılanmaya CREB, GluN2B ve Elk-1 anlatımında anlamlı derecedeki artışın ve GluN1, PP1, cFOS ve GluN2A anlatımındaki anlamlı derecedeki azalmanın eşlik ettiği bulundu.

UDG'nin indüksiyonundaki azalmadan CREB ve GluN2B anlatımındaki artışın, idamesindeki azalmadan Elk-1, CREB ve GluN2B anlatımlarındaki baskılanmanın ve GluN2A anlatımındaki artışın sorumlu olabileceği düşünülmüştür. UDB'nin indüksiyonun baskılanmasındaki artıştan CREB, GluN2B ve cFOS anlatımındaki artışın, idamesinin baskılanmasındaki artıştan ise PP1, cFOS ve CREB anlatımlarındaki baskılanmanın ve GluN2B anlatımındaki artışın sorumlu olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Tiroksin, Uzun dönemli güçlenme, Uzun dönemli baskılanma, Hipokampus, Sinaptik plastisite.

**INVESTIGATION OF THE EFFECT OF INTRAHIPPOCAMPAL L-THYROXINE INFUSION
ON SYNAPTIC PLASTICITY INDICATORS ON THE MOLECULAR AND
ELECTROPHYSIOLOGICAL BASES**

Soner BİTİKTAŞ

Health Sciences Institute of Erciyes University

Department of Physiology

PhD Thesis, November 2014

Supervisor: Prof. Dr. Cem SÜER

ABSTRACT

Modulatory effects of thyroid hormones in early life also continue in adulthood and cause many neurological deficit disorder. Hippocampal short-term plasticity is evaluated with paired-pulse facilitation and in long-term plasticity is evaluated to with long-term potentiation and depression. Genes which are responsible for synaptic plasticity is the target of thyroid hormones. In this thesis, rather than genomic effect revealing a rather long time by T3 hormone effect affecting nuclear receptors, non-genomic effects of T4 hormone in the hippocampus was examined. For this purpose intrahippocampal infusion of L-thyroxine was applied and its effect on the LTP and LTD responses, and expression of several genes known to be associated with learning and memory at the molecular level in the formation of these activities at the molecular level were aimed to investigate.

Adult male Wistar rats were used for the study. Rats were randomly divided into 4 groups as aCSF-LTP (n = 12), L-thyroxine-LTP (n = 12), aCSF-LTD (n = 12), L-thyroxine-LTD (n = 12) groups. L-thyroxine was infused to L-thyroxine group (100pM, 10 µl/15 min), aCSF was infused to aCSF group (10 µl/15 min) intrahippocampally. Rats were anesthetized with urethane (1.2 g / kg, ip) after anesthesia placed in a stereotaxic frame. Field potentials were recorded from the dentate gyrus granule cells. After electrophysiological recordings, hippocampus tissues of rats were removed to examine the expression of several genes known to be associated with learning and memory at the molecular level and RT-PCR analysis was performed.

When L-thyroxine group rats compared with aCSF rats induction and maintenance of LTP were impaired, a significant increment in expressions of CREB, GluN2B and cFOS accompanied. When L-thyroxine group rats compared with aCSF rats suppressing on induction and maintenance of LTD were increase, a significant increment in expressions of CREB, GluN2B and Elk-1 and a significant decrease in expressions of GluN1, PP1, cFOS and GluN2A accompanied.

Increment of CREB and GluN2B expression is thought to be responsible for impairment of LTP induction and decrease of Elk-1, CREB and GluN2B expression for impairment of LTP maintenance. Increment of CREB, GluN2B and cFOS expression is thought to be responsible for increment in suppressing of LTD induction and decrease of PP1, cFOS and CREB expression and increment of GluN2B expression for increment in suppressing of LTD maintenance.

Key Words: Thyroxine, Long-term potentiation, Long-term depression, Hippocampus, Synaptic plasticity

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	iii
ONAY :	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
TABLO LİSTESİ.....	xi
ŞEKİL LİSTESİ	xii
KISALTMALAR.....	xiii
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1.ÖĞRENME VE BELLEK	4
2.2.ÖĞRENME VE BELLEĞİN OLUŞUMUNU SAĞLAYAN NÖRONAL BAĞLANTILAR.....	5
2.3.HÜCRE DÜZEYİNDE ÖĞRENME VE BELLEK: GLUTAMATERJİK SINAPSLAR	7
2.4.ÖĞRENME ve BELLEĞİN ELEKTROFİZYOLOJİK TEMELLERİ	10
2.4.1.Kısa Süreli Sinaptik Plastisite	10
2.4.2.Uzun Süreli Sinaptik Plastisite	11
2.5.ÖĞRENME ve BELLEĞİN MOLEKÜLER TEMELLERİ.....	12

2.5.1.Uzun Dönemli Güçlenmenin Moleküler Temeli.....	15
2.5.2.Uzun Dönemli Baskılanma	17
2.6.ÖĞRENME VE BELLEĞİN DÜZENLENMESİNDE ENDOKRİN SİSTEM	18
2.6.1.Tiroit Hormonlarının Eksiklik veya Fazlalığında Görülen Klinik Belirtiler.....	19
2.6.2.Tiroit Hormonlarının Etki Mekanizmaları.....	20
2.6.2.1.Tiroit Hormonunun Genomik Etki Mekanizması	20
2.6.2.2.Tiroit Hormonunun Non-genomik Etki Mekanizması	21
2.6.3.Tiroit Hormonunun Hipokampal Sinaptik Plastisiteye Etkisi	24
2.6.4.Tiroit Hormonunun Uzun Dönemli Güçlenme ve Baskılanmadan Sorumlu Moleküler Yolaklar Üzerine Etkisi	24
3.GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1.DENEY HAYVANLARI VE GRUPLANDIRMA	26
3.2.CERRAHİ İŞLEMLER	26
3.3.ELEKTROFİZYOLOJİ	27
3.3.1.Tiroksin İnfüzyonu, Uyarı ve Kayıt	27
3.3.2.Tipik Elektriksel Yanıtın Elde Edilmesi.....	28
3.3.3.Verit Kazanımı ve Uyarım.....	29
3.3.4.Girdi-Çıktı Eğrileri “Input – Output (I/O) Curve”	29
3.3.5.Uyarı Çifti Kolaylaşması	29
3.3.6.Uzun Dönemli Güçlenme	30
3.3.7.Uzun Dönemli Baskılanma	30

3.4.REAL TIME-PCR (RT-PCR)	30
3.5.VERİ ANALİZİ VE İSTATİSTİK.....	32
4.BULGULAR	33
4.1.SİNAPTİK PLASTİSİTENİN İNDÜKLENMEDİĞİ HİPOKAMPÜS DOKUSUNDA L-TİROKSİNİN ETKİSİ.....	33
4.1.1.Elektrofizyolojik etkiler	33
4.1.1.1.Input-output eğrisi	33
4.1.1.2.Moleküler Etkiler.....	36
4.2. KISA SÜRELİ SİNAPTİK PLASTİSİTE (UYARI ÇİFTİ KOLAYLAŞMASI) İNDÜKLENEN PERFORAN YOL – DENTAT GİRUS SİNAPSLARINDA L-TİROKSİNİN ETKİSİ.....	36
4.3. UZUN DÖNEMLİ GÜÇLENME İNDÜKLENEN HİPOKAMPÜS DOKUSUNDA L-TİROKSİNİN ETKİSİ.....	38
4.4. UZUN DÖNEMLİ BASKILANMA İNDÜKLENEN HİPOKAMPÜS DOKUSUNDA L-TİROKSİNİN ETKİSİ.....	43
5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	48
6.KAYNAKLAR	55
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

TABLO LİSTESİ

Tablo 3.1. Çalışılan gen bölgesini çoğaltmak için kullanılan primer dizileri.....	31
Tablo 4.1. 0.1 mA – 1.5 mA arasında değişen uyarı şiddetleri ile oluşan PS genlikleri (mV) ve EPSP eğimlerinin (mV/ms), yBOS (n=9) ve L-tiroksi (n=9) infüzyonundan önceki ve sonraki değerleri.	34
Tablo 4.2. Sinaptik plastisitenin indüklenmediği hipokampus dokusunda L-Tiroksin'in öğrenme ve bellek ile ilgili bazı mRNA'ların anlatımı üzerine etkisi.	36
Tablo 4.3. L-tiroksin ve yBOS infüze edilen grupların uyarı çifti aralığı 20 ms -1000 ms arasında değişen 9 ayrı test uyaran çiftine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen EPSP eğimi ve PS genlikleri.	37
Tablo 4.4. L-Tiroksin infüzyonun UDG yanıtları üzerine etkisi.	39
Tablo 4.5. UDG indüksiyonundan sonra öğrenme ve bellek ile ilişkili bazı mRNA'ların Ct değerleri.	40
Tablo 4.6. UDG idamesinden sonra öğrenme ve bellek ile ilişkili bazı mRNA'ların Ct değerleri.	41
Tablo 4.7. L-Tiroksin infüzyonun UDB yanıtları üzerine etkisi.....	43
Tablo 4.8. UDB indüksiyonundan sonra öğrenme ve bellek ile ilişkili bazı mRNA'ların Ct değerleri.	45
Tablo 4.9. UDG idamesinden sonra öğrenme ve bellek ile ilişkili bazı mRNA'ların Ct değerleri.	46

ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 2.1.** Hipokampal formasyonun girdi ve çıktı yolları..... 6
- Şekil 2.2.** Bazal glutamaterjik sinaptik iletide sinaptik yarığa salınan glutamat hem AMPA hem NMDA reseptörlere bağlanır ama iyon akımı sadece açılan AMPA kanallarından gerçekleşir. 8
- Şekil 2.3.** Postsinaptik dansite üzerine yoğunlaşarak glutamaterjik bir sinaptaki PDZ-içeren ana proteinler görülmektedir. 14
- Şekil 2.4.** Tiroit hormonlarının genomik ve non-genomik etkisi..... 23
- Şekil 3.1.** Elektrofizyoloji deneylerinin şematik kurgusu. 28
- Şekil 3.2.** Tipik kaydın elde edilmesi sırasında kaydedilen elektrik aktivite. 29
- Şekil 4.1.** 0.1 mA – 1.5 mA arasında değişen uyarı şiddetleri ile oluşan PS genlikleri (mV) ve EPSP eğimlerinin (mV/ms), yBOS (n=9) ve L-tiroksin (n=9) infüzyonundan önceki ve sonraki değişimi. 35
- Şekil 4.2.** L-tiroksin ve yBOS infüze edilen grupların uyarı çifti aralığı 20 ms -1000 ms arasında değişen 9 ayrı test uyaran çiftine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen PS genlikleri. 38
- Şekil 4.3.** Yüksek frekanslı uyarım ile tetiklenen elektrofizyolojik ve gen anlatımı değişikliklerine 100 pM L-tiroksin infüzyonunun etkisi..... 42
- Şekil 4.4.** Düşük frekanslı uyarım ile tetiklenen elektrofizyolojik ve gen anlatımı değişikliklerine 100 pM L-tiroksin infüzyonunun etkisi..... 47

KISALTMALAR

AMPA	α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol-propiyonik asit
AMPAR	α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol-propiyonik asit
CA	Cornu Ammonis
CaMKII	Kalsiyum bağımlı kalmodulin kinaz II
cGMP	Siklik guanozin monofosfat
CREB	cAMP bağlayan protein yanıt elemanı
DG	Dentat girus
EK	Entorinal korteks
Elk-1	ETS domaini içeren transkripsiyon aktivatörü protein
EPSP	Eksitator postsinaptik potansiyel
ERK	Ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz
GABA	Gama aminobutirik asit
GAD67(-)	glutamik asit dekarboksilaz negatif
GAPDH	Gliceraldehid 3-fosfat dehidrojenaz
GluN1	NMDA reseptör altbirimi NR1
GluN2A	NMDA reseptör altbirimi NR2A
GluN2B	NMDA reseptör altbirimi NR2B
GPCR	G-protein eşlikli membran reseptörü
HDAC	histon deasetilaz içeren multimerik kompleks
MAPK	Mitojenle aktive edilen protein kinaz
MCIP	Düzenleyici kalsinörin-etkileşim proteini
MEK	Mitojenle aktive edilen protein kinaz kinazı
mRNA	Mesajcı ribonükleik asit
N-CoR	Nükleik reseptör ko-reseptörü
NGF	Sinirhücre büyüme faktörü
NMDA	N-metil-D-aspartat
NMDAR	N-metil-D-aspartat reseptörü
NO	Nitrik oksit
p53	Hücrel tümör antijen proteini
PKA	Protein Kinaz A
PKC	Protein Kinaz B
PLC	Fosfolipaz C
PS	Populasyon Spike
RXR	9-cis-retinoik asit reseptörleri
SMRT	Retinoid ve tiroit reseptörlerini susturan düzenleyici protein
STAT	Transkripsiyon aktivaörü ve sinyal dönüştürücü proteinler
T3	3,3',5-triiodo-L-tironin
T4	3,3',5,5'-tetraiyodo-L-tironin
TR	Tiroit hormon reseptörü
TRAP	Tiroit hormon reseptörü ilişkili protein
DRIP	D vitamin reseptörüyle etkileşen protein
TRE	Tiroit hormonu yanıt elemanı
UÇK	Uyarı çifti kolaylaşması
UDB	Uzun dönemli baskılanma
UDG	Uzun dönemli güçlenme
yBOS	Yapay Beyin omirilik sıvısı

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Tiroit hormonunun omurgalıların gelişiminde ve insan patolojisinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Hücre farklılaşması, gelişmesi ve olgunlaşması gibi insan gelişimi üzerine kritik etkilere sahiptir. Tiroit hormonları oksijen tüketimindeki değişikliklerden protein, lipid, karbonhidrat ve vitamin metabolizmasına kadar birçok fizyolojik etkiye sahiptir. Protein sentezi üzerine olan direkt etkisinin yanında diğer birçok hormon ve büyüme faktörünün sentezine ve parçalanmasına da etki etmektedir böylece dolaylı olarak endokrin sinyal iletimini de etkilemektedir. Tiroit hormonları hedef dokular üzerine olan klasik etkisini (genomik etki) nükleer reseptörlerine bağlanıp transkripsiyonel aktivasyonu sağlayarak gerçekleştirir. Bu genomik etkilerin ortaya çıkması görece uzun zaman alır. Tiroit hormonunun bazı etkileri ise çok daha hızlıdır. Örneğin dakikalar içinde miyokardiyal kontraktiletiyi değiştirerek sistemik vasküler direnci azaltır, hücresel seviyede hücre morfolojisini, hücresel solunumunu ve iyon homeostazını vb. etkiler. Bu non-genomik etkiler daha çok T4 hormonunun integrin membran reseptörlerine bağlanması ile ortaya çıkmaktadır (1).

Öğrenme süreçlerinde çok kritik role sahip olan hipokampüse insanlarda deklaratif hafızanın kodlanmasında ve konsolidasyonunda (2, 3); gereksinim duyulurken kemirgenlerde uzamsal bilginin depolanması ve işlenmesinde gereksinim duyulmaktadır (4-6). Hayvanlarda yapılan lezyon çalışmaları, uzamsal belleğin test

edildiği Morris su tankı ve radyal labirent gibi testlerde yön bulmada hipokampüsün sağlam olmasının önemini göstermektedir. Öğrenme ve hafızanın temel hücreyel mekanizması olarak kabul edilen yapısal plastisteden, hipokampal sinapslar sorumludur.

Tiroit hormonlarının kan seviyesinde intrauterin ve doğumdan sonraki erken dönemde oluşan değişikliklerin, başta beyin gelişimi olmak üzere nöronal işlevler üzerine olan olumsuz etkisi iyi bilinmektedir. Tiroit hormonlarının yaşamın ilerleyen dönemlerindeki eksikliği de nörolojik ve davranışsal bozukluklarla ilişkilendirilmektedir. Tiroit hormon düzeyindeki anormallikler, hafif ya da subklinik bile olsa, bu hastalarda bilişsel fonksiyonların elektrofizyolojik ve davranışsal göstergelerinde bozulma olduğunu bildiren çalışmalar yayınlanmıştır. Hipertiroidili hastalarda anksiyete, sinirlilik, huzursuzluk, uyku bozuklukları, özellikle yaşlı hipotiroidili hastalarda geri dönüşümsüz demansın geliştiği bildirilmektedir (7, 8). Tiroit disfonksiyonunu takiben meydana gelen yapısal, fonksiyonel ve davranışsal değişiklikler tiroit hormonlarının merkezi sinir sisteminin gelişimi ve özellikle nöronal sistemin fonksiyonlarını optimum düzeyde tutmak için çok önemli olduğunu düşündürmektedir.

Son yıllarda bu hormonun yetişkinlerde merkezi sinir sistemi üzerine olan etkileri araştırılmakta ve özellikle hipokampal işlevlerdeki rolü aydınlatılmaya çalışılmaktadır. L-tiroksin veya propiltiourasilin (PTU) kronik uygulandığı deney modellerinde yapılan çalışmalar, tiroit hormon düzeylerindeki değişikliklerin hipokampal öğrenmeyi (9) ve hipokampal elektrofizyolojik yanıtları bozduğunu (10-12) göstermektedir. Uzun süreli uygulamaya bağlı söz konusu değişikliklerin hormon-hücre içi reseptör kompleksi ile başlayan ve gen transkripsiyonunu etkileyen genomik etkilerinin sonucunda gerçekleştiğine dair yayınlar bulunmaktadır (9, 10, 13, 14). Bu uzun süreli uygulamaların etkisinin yanında hipokampüs dokusuna doğrudan uygulanan tiroit hormonunun kısa süreli ve hormon-hücre içi reseptör etkileşimi ile başlatılmayan,

non-genomik etkilerinin anlaşılması da önemlidir. Bu konuda yapılan çalışmalar kısıtlı sayıdadır.

Sinaptik plastisitenin elektrofizyolojik göstergeleri olan uzun dönemli güçlenme (UDG) ve uzun dönemli baskılanma (UDB) yanıtları deneysel olarak tekrarlayan presinaptik uyarılarla indüklenir. Nöronal ağın maksimum kapasite ve doygunluğa ulaşması sonucunda herhangi bir ek bilgi depolanamamaktadır. İnaktif bağlantıların zayıflaması, pre ve postsinaptik elemanların asenkronize aktivasyonunu takiben sinaptik güçlenmedeki azalma gibi süreçler yeni bilgilerin depolanmasına olanak sağlamaktadır. Deneysel olarak tipik 100 Hz'lik uyarı verilmesi UDG'nin indüklenmesi için en uygun protokol iken (15) yeni bilgilerin depolanabilmesi için gerekli süreçlerin başlatılması 1 Hz'lik uyarı ile indüklenen UDB ile gerçekleştirilebilir (16). Bu tez çalışmasında, kronik hipertiroidizmde özellikle T3 hormonun nükleer reseptörleri etkileyerek etkisini görece daha uzun bir sürede ortaya çıkaran genomik etkisinden ziyade, T4 hormonunun hipokampüsteki non-genomik etkileri incelenmiştir. Bu amaca yönelik olarak intrahipokampal L-tiroksin infüzyonu uygulanıp; UDG ve UDB yanıtları üzerine olan etkisinin araştırılması, bu aktivitelerin oluşmasında öğrenme ve bellek ile ilişkisi bilinen bazı genlerin anlatımının moleküler düzeyde incelenmesi hedeflenmiştir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.ÖĞRENME VE BELLEK

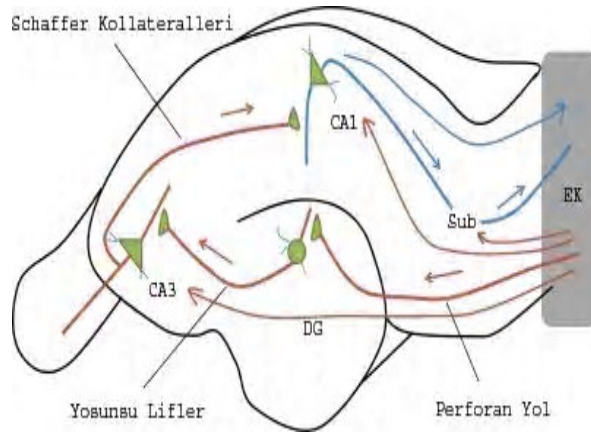
Merkezi sinir sisteminin yüksek seviyeli işlevlerinden olan bellek, deneyimlerin sonucunda organizmanın geliştirdiği / değiştirdiği davranışın (öğrenme) bir süre için (anlık, kısa veya uzun erimli) daha kolayca ve daha mükemmel bir şekilde tekrarlanabilmesi ve davranış üzerinde istikrarlı bir değişimin kazanımı olarak tanımlanabilir. Bellek bu bilginin kodlandığı, depolandığı ve geri çağrıldığı bir süreçtir. Bellek ile ilgili olan süreçlerde rol alan beyin bölgelerinin, hipokampal formasyon başta olmak üzere, mediyal temporal lobda bulunduğu, cerrahi olarak bu bölgelerin çıkarılmasıyla görülen amnezik semptomlardan anlaşılmıştır (17). Hipokampus, insanlarda deklaratif hafızanın kodlanmasından ve konsolidasyonundan (2, 3) kemirgenlerde ise uzamsal bilginin depolanması ve işlenmesinden sorumlu tutulmaktadır (4-6).

Hipokampus ve amigdala gibi temporal lob yapılarındaki lezyonlar yeni hafızanın oluşturulmasında (anterograd amnezi) ve lezyondan hemen önceki zamana ait geçici hafıza kaybına (retrograd amnezi) neden olması (18,19), yeni bilgilerin depolanmasında bu yapıların kritik role sahip olduklarını göstermektedir. Ayrıca, hipokampusün bilişsel bir harita olduğu ileri sürülmüştür çünkü hipokampus hayvanın çevresindeki spesifik lokalizasyonuna bağlı olarak ateşleme yapabilen nöronlardan (place hücreleri) oluşmaktadır (20, 21). Hayvanlardaki lezyon çalışmaları göstermiştir

ki uzamsal belleğin test edildiği Morris su tankı ve radyal labirent gibi testlerde yön bulmada sağlam bir hipokampusün bulunması önemlidir.

2.2.ÖĞRENME VE BELLEĞİN OLUŞUMUNU SAĞLAYAN NÖRONAL BAĞLANTILAR

Bilginin kazanılması yani belleğin oluşumu sırasında sinyal, merkezinde hipokampusün bulunduğu bir nöronal devrede işlenir. Hipokampus proper (CA3, CA2 ve CA1) ve dentat girus, subikulum, presubikulum, parasubikulumdan oluşan ve medyal temporal lobun içerisine yerleşmiş olan hipokampal formasyon, entorinal korteks ve ilişkili olduğu diğer korteks bölümleri arasındaki projeksiyonlar, bellek oluşumunda gerekli olan anatomik yapıyı oluşturur. Neokortikal asosiyatif alanlarda bütünleşmiş duyuşsal bilgiler, parahipokampal korteks ve entorinal korteks üzerinden, subikulum aracılığı ile dentat girusa, ve kornu ammonis (CA1, CA2, CA3 ve CA4 (Hilus)) bölgelerine iletilir ve buralardan tekrar geriye subikulum, entorinal korteks, parahipokampal alan ve sonrasında asosiyatif alana ulaşır (22). Bu yolakların sinapsları yüksek bir sinaptik plastisite gücü gösterirler; yani sinyal yolağından geçen uyarının frekansı var olan sinapsların güçlenmesine veya kaybolmasına ya da yeni sinaptik bağlantıların oluşmasına neden olur. McClelland ve arkadaşları (23), neokortikal asosiyasyon alanlarının hipokampal formasyon ile olan bu bağlantılarının, yeni hafızanın oluşturulmasını, yeni bilgilerin eski bilgilerle birlikte kullanılmasını ve tekrar kullanılmak üzere depolanmasını sağlayan anatomik yapı olduğunu ileri sürdüler.



Şekil 2.1. Hipokampal formasyonun girdi ve çıktı yolları. Entorinal korteks (EK) hipokampüse gelen girdilerin ana kaynağıdır. EK perforan yol aracılığıyla dentat girusa projekte olur ve yosunsu lifler aracılığıyla CA3'e ve sonra yosunsu lifler aracılığıyla CA1'e kritik girdiler sağlar. Ayrıca EK direkt olarak CA3'e, CA1'e ve subikuluma (Sub) projekte olabilir. Böylece hipokampüsün ana çıkışı da EK'tir. Oklar impuls akım yönünü göstermektedir. (http://openi.nlm.nih.gov/detailedresult.php?img=3131729_CN-9-388_F1&req=4 web adresinden değiştirilerek alınmıştır)

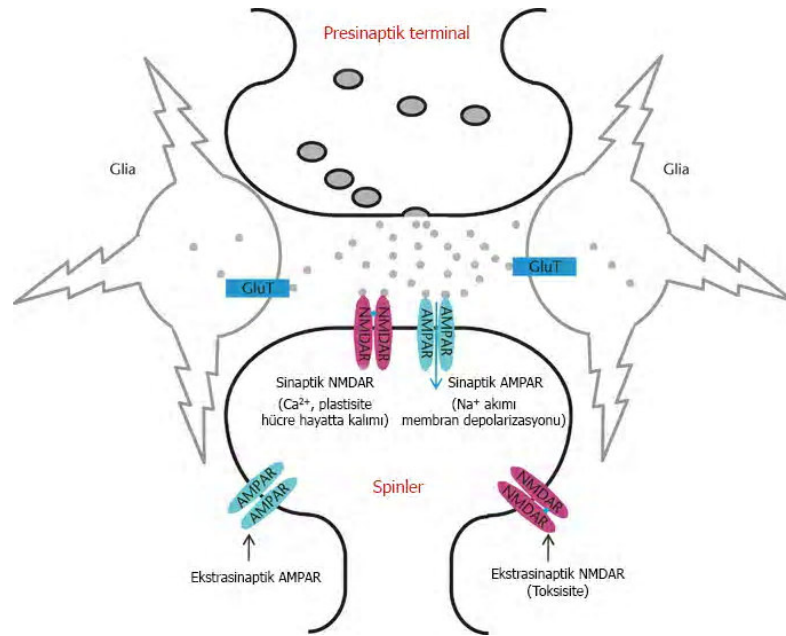
Hipokampüse gelen afferent girdilerin ana kaynağı entorinal kortektir (24). Bu kortikal alan, esas olarak polisinaptik bağlantılar ile (dentat girus ve CA3 bölgesinde sinaps yaptıktan sonra) ve ilaveten 3. tabakasından monosinaptik olarak hipokampüsün CA1 piramidal hücrelerine projekte olur (22, 25). CA1 bölgesi hipokampüsün ana çıktıların olduğu bölgedir ve aksonları, subikulum, presubikuluma ve parasubikulum üzerinden veya doğrudan entorinal kortekse projekte olur (24). Böylece entorinal kortekten başlayıp, gene orada sonlanan tri-sinaptik nöronal devre (Şekil 2.1). Glutamaterjik ve eksitator olan bu bağlantılardan; entorinal kortekten başlayıp dentat girusun granül hücrelerinde sonlanan yola perforan yol; bu hücrelerin CA3 bölgesindeki piramidal nöronlarda sonlanan aksonlarının oluşturduğu yola yosunsu lifler ve CA3 piramidal hücrelerinin CA1 piramidal hücrelerinde sonlanan aksonlarının oluşturduğu yapıya Schaffer kollateralleri denir (26). CA1 bölgesi ayrıca nükleus reuniensten, talamusun orta-hat çekirdeklerinin çoğundan da girdiler alır, böylece talamohipokampal bağlantılar CA1 aktivitesi üzerine direkt ve güçlü bir düzenleyici işlev görür (27-30). Bu sinaptik bağlantıları düzenleyen inhibitör GABAerjik internöronlar da bulunmaktadır (31-33). Bilginin öğrenilmesinde

ve saklanması burada sayılan yolların önemli olduğu bilinir ama hangi bölge ve yolların hangi öğrenme tipi ile ilişkili olduğu tam olarak anlaşılmamıştır.

2.3.HÜCRE DÜZEYİNDE ÖĞRENME VE BELLEK: GLUTAMATERJİK SINAPSLAR

Öğrenme ve belleğin kabul gören temel mekanizması, sinaptik bağlantının şekillendirilebilir olmasına yani plastik özellik göstermesine dayanır. *Öğrenme bağımlı* plastisite bir amaca veya problem çözmeye yönelik bir işin yapılması sırasında sinaptik bağlantıların reorganizasyonunu tanımlar ve çevresel bileşenler, dikkat ve uyanıklık düzeyi gibi pek çok faktörden etkilenir. *Aktivite bağımlı* sinaptik plastisite, var olan nöronal bağlantıların aktivitesindeki değişmeye bağlı olarak, güçlenmesini veya zayıflamasını ve yeni bağlantıların oluşmasını ifade eder. Deneysel olarak sinaptik yanıtın değişmesini tetikleyebilen farklı uyarım kalıpları kullanıldığında oluşur.

Glutamaterjik sinapslar, aktive ettikleri hücre içi kimyasal süreçler üzerinden sinaptik plastisitenin oluşmasında ve böylece öğrenme ve belleğin fizyolojisinde önemli rol oynarlar. Glutamatın hem iyonotropik hem de metabotropik reseptörleri, farklı sinaptik plastisite türlerinin oluşmasından sorumlu tutulmaktadır. Bazal durumdaki sinaptik iletimde presinaptik nörondan salınan glutamat, AMPA reseptörüne bağlanarak kanalı açar ve depolarizasyona neden olurken; NMDA reseptörüne bağlanması kanal porundaki Mg^{2+} blokajı nedeni ile kanalın açılmasına yeterli olmaz (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Bazal glutamaterjik sinaptik iletide sinaptik yarığa salınan glutamat hem AMPA hem NMDA reseptörlere bağlanır ama iyon akımı sadece açılan AMPA kanallarından gerçekleşir. Sinapsı çevreleyen Glia hücre membranlarında yerleşen glutamat taşıyıcıları, onun ekstrasinaptik glutamaterjik reseptörlere ulaşmasını engeller. (<http://www.els.net/WileyCDA/ElsArticle/refId-a0000235.html> web adresinden değiştirilerek alınmıştır)

AMPA reseptörleri ağırlıklı olarak GluR1/2, GluR2/3 ve homomerik GluR1 kanallarıdır. Bu reseptörler, postsinaptik membranın depolarize olarak, NMDA reseptör kanallarındaki Mg²⁺ blokajının kalkmasını sağlarlar. Bu reseptörler ~100–600 µs’de aktive olup ~5–10 ms içinde deaktive olurlar ve hücre içine yönelen eksitator akımları, böylece hızlı eksitator postsinaptik geçişi oluştururlar (34).

NMDA reseptörleri dentat girustaki tüm piramidal ve çoğu internöronda bulunur (35, 36). Bu reseptörlere glutamatın bağlanması kanal akımlarını başlatmaya yetmez; aynı zamanda membranın depolarize olması ve Mg²⁺ blokajının kalkması da gereklidir. NMDA reseptörleri, hem pre- hem de post-sinaptik olarak bulunurlar ve bunların ayrı popülasyonları farklı plastisite mekanizmalarının gelişmesinden sorumlu tutulurlar. Post-sinaptik NMDA reseptörleri, sinaptik, peri-sinaptik ve ekstra-sinaptik olarak bulunabilirler; farklı nöronal aktivite kalıpları ile uyarılabilirler ve farklı roller

oynayabilirler. Ayrıca bu reseptörlerin alt-birim bileşimleri ve sinaptik lokalizasyonları da plastisitenin farklı süreçlerinin oluşumu için önemli görünmektedir.

NMDA reseptörleri 2 yapısal GluN1 altbirimi ve buna ilave 2 GluN2 veya GluN3 altbiriminden oluşur (37, 38). Her bir alt birim dört alana sahiptir:

1. N-terminal alanı: Zn ve ifenprodil gibi allosterik modülatörlerin bağlanma yeri
2. Agonist bağlanma alanı: GluN1 üzerinde Glisin/D-serin için ve GluN2 üzerinde glutamat için bağlanma yeri
3. Kanal alanı: Fenisiklidin ve MK801 gibi delik blokerlerinin bağlanma yeri
4. C-terminal alan: Farklı intrasellüler araçların bağlanma yeri

Hipokampus dört GluN2 altbirim izoformunun hepsini içerir ama bunlardan GluN2C ve GluN2D erken gelişimsel dönemde bulunur ve erişkin çağda azalır; baskın olarak bulunan izoformlar GluN2A ve GluN2B'dir. GluN2C altbirimi erişkin hipokampüste hemen hiç görülmezken GluN2D altünitesi, CA1 ve CA3 bölgelerinde stratum radiatumda bulunan GAD67(-), parvalbumin(-) ve somatostatin(+) internöronlarda sınırlı olarak saptanmıştır (39). Bu nedenlerle hipokampal NMDA reseptörlerinin ya diheteromerik (GluN1/GluN2A ve GluN1/GluN2B) veya triheteromerik (GluN1/GluN2A/GluN2B) yapıda olduğu genel olarak kabul edilmektedir. GluN2B anlatımı doğumda yüksektir ama erişkin dönemlerde azalır; GluN2A anlatımı ise yaşla artar (36). Triheteromerik popülasyonun işlevsel rolünün anlaşılması ise selektif olarak çalışmalarının zorluğundan dolayı tam olarak bilinmez.

GluN2A ve GluN2B içeren NMDA reseptörlerinin kinetikleri farklılık göstermektedir. GluN1/GluN2A reseptörleri glutamata cevap olarak, GluN2B içerenlere göre daha yüksek açık olma olasılığına sahiplerdir (40) ve daha hızlı aktivasyon ve deaktivasyon gösterirler (41). Ayrıca bu kanalların farklı uyarı kalıplarına yanıtları da farklılık göstermektedir. Genel olarak sinaptik plastisitenin farklı formları farklı postsinaptik Ca^{2+} akım kinetiklerini gerektirir ve Ca^{2+} akımının büyüklüğü "yük transferi" ile ilişkilidir.

2.4.ÖĞRENME ve BELLEĞİN ELEKTROFİZYOLOJİK TEMELLERİ

Hipokampüste tek yönlü iletim olmasının dışında apikal ve bazal dendritlerinin, aksonlarının ve hücre gövdelerinin belli sınırlar içinde kalması sonucu oluşan tabakalı (laminer) yapısı da elektrofizyolojik çalışmalar için son derece elverişlidir. Hipokampusün bilinen laminer organizasyonundan dolayı elektrofizyologlar oldukça homojen olan akson popülasyonunu uyarabilirler ve bu popülasyonlardan yanıtlar kaydedebilirler. Bu amaçla hipokampus kesitlerinde veya anestezili ya da bilinçli hayvanda, hipokampal devrenin 3 ana yolağının (perforan lifler, yosunsu lifler ve Schaffer kollateralleri) farklı uyarı paternleri ile uyarımına cevap olarak dentat girus, CA3 veya CA1 bölgesinden alan potansiyelleri kaydedilir. Elektriksel uyarım yoluyla oluşturulan deneysel plastisite, etkinlikteki değişimin devam etme süresine göre kısa süreli ve uzun süreli plastisite olarak veya oluşan değişikliğin yönüne bağlı olarak (sinaptik plastisitenin bütün formları sinaptik güçlenmede artışa sebep olmaz) güçlenme ya da baskılanma olarak sınıflandırılır.

2.4.1.Kısa Süreli Sinaptik Plastisite

Kısa süreli artış; 1 saniye içinde gerçekleşen “sinaptik fasilasyon”, 10 saniyeden daha az süren “sinaptik birikme” ve birkaç dakika süren “post-tetanik güçlenme (PTG)” olmak üzere üç kategoride incelenir (42). Tüm kısa süreli artışlar presinaptik terminaldeki rezidüel Ca^{2+} ’un artışı, presinaptik uçtan transmitter salımının artışı gibi nedenlerle açıklanır (43). Presinaptik uçta Ca^{2+} birikimi, veziküllerin plazma membranına doğru hareket etmesini sağlayan kinazların fosforilasyonunu artırır ve böylece membranla kaynaşmasına ve transmitterin salınmasına neden olur (44). Kısa süreli sinaptik plastisitenin bazı formları uyarı çifti kullanılarak oluşturulur ve hem uyarı çifti kolaylaşması (UÇK) hem de presinaptik depresyon (PD) milisaniyelerden dakikalara kadar süren sinaptik etkinlik değişikliklerine neden olur. PD’nin presinaptik terminaldeki metabotropik reseptörlerin desensitizasyonu sonucu olduğu ileri sürülmüştür (45, 46). Bilginin işlenmesi ve belleğin depolanmasında kısa süreli plastisitenin rolü hala net bir şekilde anlaşılamamıştır, fakat salyangozlarda, meyve

sineklerinde ve kemirgenlerde gerçekleştirilen davranış deneylerinde görülen kısa süreli plastisite değişiklikleri non-asosiyatif (habituasyon ve sensitizasyon) öğrenme, uzamsal bellek ve korku şartlandırmasındaki değişikliklerle ilişkili bulunmuştur (47-49).

2.4.2.Uzun Süreli Sinaptik Plastisite

40-60 dakikadan daha uzun süren sinaptik değişiklikler uzun süreli plastisite olarak adlandırılır. Hebb'e göre öğrenme ve bellekle ilgili süreçlerin altında, eksitatör bir bağlantının uzun süreli olarak güçlenmesi yatar ve bu ancak "bir A hücrenin aksonu B hücreni uyarmaya yetecek kadar tekrar tekrar ve kalıcı olarak uyarırsa" ortaya çıkar. Bu teori ilk kez, elektrofizyolojik olarak, 1973 yılında, Bliss ve Lomo tarafından, yüksek frekans uyarıma (100 Hz) maruz bırakılmış hipokampal sinapsların etkinliğinde görülen ve saatler süren bir "güçlenme" hali ile doğrulanmıştır (50). Uzun dönemli güçlenme (UDG) olarak adlandırılan bu aktivite girdi-spesifiktir (diğer sinapslara yayılmaz) (51, 52), asosiyatiftir (zayıf uyarılar, güçlü bir uyarı ile eşlenirse güçlenme oluşturur) (53), kooperatiftir (pek çok zayıf uyarı ile oluşturulabilir) ve kalıcıdır (uzun sürer). Bu özellikler, bellek mekanizmalarının aydınlatılabilmesi için UDG'yi ideal bir hale getirmiştir ve UDG-bellek hipotezinin temelini oluşturmuştur (54). Daha sonra Bear ve Malenka, aynı sinaptik bağlantıların düşük frekansla (1 Hz) uyarımını takiben saatlerce devam eden bir "baskılanma" (UDB) gösterdiklerini keşfetmişlerdir (55). Tipik 100 Hz'lik uyarı verilmesi UDG'nin indüklenmesi için en uygun protokol iken (15) 1 Hz'lik uyarı UDB'nın indüksiyonu için en uygun protokoldür (16). Böylece bazı sinaptik bağlantılarda sinaptik plastisitenin "baskılanma"; diğer bazılarında ise "güçlenme" uçları arasındaki değişimi, bir sinaptik havuzun toplam fonksiyonunu belirlemiş olur ki bu kavram iki-uçlu sinaptik plastisite olarak bilinir. Ayrıca önceden indüklenen UDG, takip eden düşük frekanslı uyarı ile tekrar eski haline geri döner, bu duruma depotansiyelizasyon denir (56). Aktivite bağımlı sinaptik plastisite, öğrenme sırasında oluşan moleküler ve elektriksel değişimlerin anlaşılmasına yardımcı olan ve yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Uzun süreli plastik değişikliklerin, anatomik lokalizasyona (57), hücre

tipine (58), ve hayvanın yaşına (59) bağlı olarak değişik formları tanımlanmıştır. En fazla çalışılan sinapslar, esas olarak laminar organizasyonu ve kolayca indüklenebilir UDG nedeniyle CA3 bölgesinin Schaffer kollateral lifleri ile CA1 piramidal nöronları arasındaki sinapslardır.

Yukarıda tanımlanan plastisite tiplerinin aynı reseptör üzerinden oluşması ilginçtir. Aynı reseptör tipinin hem güçlenme hem de baskılanmayı içeren yanıtları nasıl oluşturduğu konusunda tam bir fikir birliği olmasa da, altta yatan nedenin NMDA altbirim özellikleri olduğu kabul edilmektedir. Örneğin, çok düşük frekanslarda (0.1–0.3 Hz), daha düşük deaktivasyon hızları nedeni ile GluN2B içeren kanallar 2 kat fazla yük transferini gerçekleştirirler (60). UDB'nin indüklenmesi için kullanılan 1 Hz uyarım kalıbında yük transferi, daha az oranda da olsa hala GluN2B içeren kanallarda GluN2A içerenlere göre fazladır; kanallar arasındaki eşitlik 2Hz uyarım kalıbında ortaya çıkmaktadır. Yüksek frekanslı uyarım kalıplarında sıklıkla kullanılan 100 Hz uyarım kalıbı için, uyarı dizisinin süresi de GluN2A ve GluN2B içeren NMDA reseptörlerinden olan yük transferini dramatik bir biçimde etkiler. 100 ms süreli dizilerin kullanıldığı kalıplarda iki kanaldan oluşan yük transferi eşit iken, tipik UDG indüklemek için kullanılan 1000 ms süreli kalıplarda GluN2B içeren NMDA reseptörlerinden oluşan yük transferi 2 kat daha fazladır (40). Ayrıca 5-100 Hz frekans aralığında GluN2A içeren NMDA reseptörlerinin daha büyük bir kısmı desensitize olurlarken; reseptörler arasındaki bu fark 1000 ms için 100 Hz uyarımda en azdır (61).

Sinaptik plastisitenin uzun süreli etkinlik değişimleri aşağıda açıklanan moleküler süreçlerle ilişkili olarak birbirini takip eden üç safhada meydana gelir. Bu safhalar; indüksiyon, ekspresyon ve idame dönemleridir.

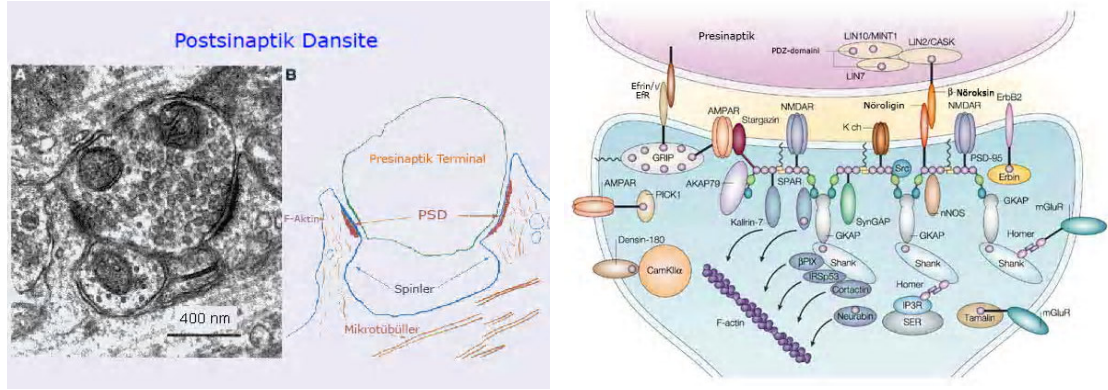
2.5.ÖĞRENME ve BELLEĞİN MOLEKÜLER TEMELLERİ

İyonotropik glutamat reseptörleri izole olarak çalışmazlar, tersine postsinaptik dansite (PSD; Şekil 2.3) denilen ve presinaptik aktif zonla yakın ilişki içinde olan, protein-yoğun özelleşmiş bir bölgedeki pek çok proteinle etkileşim halinde çalışırlar (62). Bu proteinlerden NMDA ve AMPA reseptör proteinleri, PSD95, neuroligin,

kalsiyum/kalmodulin-bağımlı protein kinaz II (CamKII) ve aktin anahtar proteinlerdir. Bu proteinlerin bazıları glutamaterjik reseptörlerin fonksiyonunu düzenlerken diğerleri bu reseptörlerin membran içine yerleşimini ve oradan ayrılmasını kontrol eder. Böylece PSD'deki protein-protein etkileşimleri, bir sinapsta bazal koşullarda sadece birkaç düzine olan bu reseptörlerin sayısını belirler. Ayrıca heteromerik GluN1/GluN2 reseptörlerinin sinaptik plastisitenin indüksiyonu sırasında membrandaki AMPA reseptör sayısını belirleyen önemli faktörlerden biri olduğu da bilinmektedir (63). GluN2A'ya sahip kanallardan gerçekleşen Ca^{2+} akımı nispeten hızlı ve büyüktür; bu durum farklı kinazların aktivasyonuna ve yeni AMPA reseptörlerinin postsinaptik membrana göçünü sağlayacak moleküler hedeflerin fosforillenerek aktive olmasına neden olur. Tersine GluN2B'ye sahip kanallardan Ca^{2+} akımı nispeten yavaş ve küçük olarak gerçekleşir; fosfataz enzimler aktive olur; AMPA reseptörleri membrandan uzaklaştırılır. Bununla beraber postsinaptik Ca^{2+} artışını AMPA reseptörlerin yeniden dağılımına hangi sinyalleme süreçlerinin bağladığı kesin değildir. Yine de güçlü deneysel bulgular, CaMKII'nin aktive olmasının UDG'nin indüklenmesi için gerekli olduğunu gösterir (64). Bu aktivasyon, AMPA reseptör proteinleri dahil olmak üzere pek çok proteinin fosforilenmesine ve membrana internalizasyonuna neden olur (65, 66). Ayrıca diğer önemli hücre içi kinazlardan cAMP-bağımlı protein kinaz (PKA), protein kinaz C (PKC), mitojen ile aktive olan kinazlar (MAPK) ve tirozin kinazlar da UDG yanıtına aracılık eden kinazlar olarak bildirilmektedir (15, 67-69). AMPA reseptörlerinin membrandan uzaklaştırılmasını sağlayacak moleküler kaskatlar ise kalsiyum/kalmodulin-bağımlı protein fosfataz (kalsinörin) ve protein fosfataz 1 (PP1) olarak görünmektedir (70-72). Bu durumu doğrulayabilecek temel bulgu ise kalsinörinin CaMKII'ye göre Ca^{2+} iyonuna karşı daha yüksek bir afiniteye sahip olmasıdır.

Her ne kadar, daha çok AMPA reseptörü içeren postsinaptik membranda, daha çok NMDA kanalı aktifleşip UDG indüklenirken; daha azını içeren postsinaptik membranda UDB indüklense de, UDG ve UDB'nin öğrenme ve belleğin hücresel

düzeydeki karşılığı oldukları konusunda geniş bir fikir birliği vardır. Reseptörlerin yeniden dağılımı için postsinaptik Ca^{2+} artışını sağlayan olaylar nelerdir?



Şekil 2.3. Postsinaptik dansite üzerine yoğunlaşarak glutamaterjik bir sinaptaki PDZ-içeren ana proteinler görülmektedir. PDZ domaini mor renkteki daire ile gösterilmiştir. Membran proteinlerinin C-terminal sitoplazmik kuyruğu siyah çizgilerle gösterilmiştir. Spesifik protein-protein etkileşimleri proteinlerin üst üste gelmesiyle temsil edilmiştir. Sadece bilinen bazı proteinlerin etkileşimleri gösterilmiştir. LIN2, LIN7 ve LIN10 postsinaptik olarak ve postsinaptik domainin birçok proteini presinaptik temrinde gösterilmiştir. PSD-95'teki yeşil ve mavi elipsler sırasıyla SH3 ve GK domainlerini göstermektedir. Kıvrılmış çizgiler PSD-95 ve GRIP'in palmitoillenmesini göstermektedir. Gri oklar aktin iskeletindeki proteinlerin bağlanmalarını ve/veya düzenleyici etkilerini göstermektedir. AKAP79, kinaz bağlanma proteini 79; (<http://synapses.clm.utexas.edu/lab/harris/lecture13/sld010.htm> ve http://www.nature.com/nrn/journal/v5/n10/fig_tab/nrn1517_F3.html web sayfalarından değiştirilerek alınmıştır)

Deneysel olarak, sırasıyla yüksek ve düşük frekanslı uyarımlar ile indüklenebilen UDG ve UDB'da indüksiyon dönemi sırasında, ekstrasellüler sinyali nükleer hedeflere bağlayabilen ve böylece transkripsiyonel süreçleri aktive veya suprese edebilen kaskatlar etkinleşir. Bu etkinleşme transkripsiyon ve gen anlatımını değiştirerek yeni protein sentezinin oluştuğu, UDG ve UDB'nin geç fazıdır ve saatlerce sürer.

Yukarıda tanımlanan plastisite formlarının hem ortak hem de farklı moleküler temelleri bulunmaktadır. Genel olarak, pre- ve postsinaptik hücrede artan Ca^{2+} iyonu,

hücre içinde çok farklı moleküler kaskatları etkileyerek sinaptik gücün değişmesine neden olmaktadır. Dahası hücre içi kalsiyum seviyesinin yükselme kinetiği uzun süreli değişimin güçlenme veya baskılanma yönünde oluşmasını belirleyen bir faktördür (67, 73-75). Basitçe intrasellüler Ca^{2+} seviyesindeki küçük ve yavaş artışlar baskılanmaya; hızlı ve güçlü artışlar ise güçlenmeye neden olmaktadır. Ayrıca birçok kinaz güçlenmenin ve fosfataz da baskılanmanın indüksiyon ve idamesine katkıda bulunur (15, 70, 76-79). Fosfatazlar Ca^{2+} için yüksek afiniteye sahiptirler bu yüzden düşük Ca^{2+} konsantrasyonunda aktive olurlar oysa kinazların Ca^{2+} 'a afiniteleri düşüktür bu yüzden yüksek Ca^{2+} konsantrasyonunda aktive olabilirler (80). Ayrıca aktif kinazlar fosfatazları inhibe edecek bir etkileşime girerler (79). Bu düşünceyi desteklemek üzere, CamKII'nin veya PKC'nin peptid inhibitörleri UDG'nin indüksiyonunu bloklarken (81) protein fosfataz inhibitörleri veya kalmodülin inhibitörleri UDB'nin indüksiyonunu bloklar (82). Düşük frekanslı tetanik uyarı sırasında fosfatazların aktivasyonu lehine ve dolayısıyla UDB'nin indüksiyonuna neden olan intrasellüler Ca^{2+} konsantrasyonunda hafif bir artış olurken yüksek frekanslı tetanik uyarı daha fazla Ca^{2+} 'un hücre içine akışına neden olarak UDG'nin indüksiyonunu başlatacak olan kinazları aktive eder (83).

Bu moleküler olaylar, aşağıda önce UDG ve sonra UDB dikkate alınarak özetlenmiştir. Elektriksel uyarımla oluşturulan sinaptik etkinlikteki değişimler, bazı sinapslarda, selektif NMDAR antagonistleri tarafından, devam eden sinaptik yanıtlar bozulmadan, inhibe olur ama non-NMDA reseptör tiplerini bulunduran sinapslarda inhibe olmaz (84, 85).

2.5.1.Uzun Dönemli Güçlenmenin Moleküler Temeli

İndüksiyon: İndüksiyon için yüksek frekanslı presinaptik uyarı gerekli ve yeterlidir. Bir nöronun afferent uyarımı, eş zamanlı olarak postsinaptik depolarizasyonla eşleştiğinde NMDA reseptör kanalından Mg^{2+} 'u uzaklaştırarak Ca^{2+} akımına izin verir. Bu, hem NMDA reseptörüne glutamatın bağlanmasını hem de aynı zamanda postsinaptik membranın depolarizasyonunu gerektirir. Ca^{2+} 'un içeri akması voltajda

değişikliğe sebep olup daha fazla NMDA reseptörünü uyararak daha fazla Ca^{2+} 'un içeri girmesine ve UDG'nin indüklenmesine neden olur (86-89). Membran depolarizasyonu ise glutamatın AMPA reseptörlerine bağlanmasının sonucudur ve bu yolla oluşan depolarizasyon, iyon akışına izin verecek olan NMDA reseptör kanalının sayısını belirler. Ca^{2+} şelatörlerinin UDG indüklenmesini inhibe etmesi bu iyonunun indüksiyon açısından kritik olduğunu gösterir (90). Bununla birlikte, UDG'nin indüksiyon mekanizmalarının tamamen NMDA ve AMPA reseptörleri aracılığıyla gerçekleşmez (91). UDG, postsinaptik voltaj kapılı Ca^{2+} kanallarının aktivasyonu üzerinden de gerçekleşebilir; bu tür UDG, NMDA-bağımlı olmayan UDG olarak bilinir (92). Bu mekanizmlara ek olarak, transmitter salınımına neden olacak presinaptik Ca^{2+} girişi de indüksiyon için önemli olabilir (93).

Ekspresyon: Postsinaptik kalsiyum konsantrasyonundaki bu artış daha sonra CaMKII, PKA (94-96) ve PKC gibi kalsiyum-duyarlı enzimleri aktive eder ve UDG'nin ekspresyonuna neden olan iletim kaskatları aktive olur. Bu biyokimyasal kaskatların, protein fosforilasyonu ve kalıcı protein kinaz aktivitesi, intraselüler Ca^{2+} salınımı, retrograd transmitterin üretimi ve transmitter salınımında artma gibi bazı etkileri UDG ekspresyon mekanizmasının altında yatan etkenler olabilir. PKC inhibitörüyle (81) UDG'nin engellendiği, PKC (96) veya PKC agonisti (97) uygulandığında ise UDG'nin ekspre edildiği gösterilmiş olsa da, son yapılan çalışmalar göstermiştir ki ekspresyon için CamKII'nin α -alt ünitesi önemlidir (98, 99). CaMKII bir kez aktive olduktan sonra uzun bir süre otofosforile olur ve Ca^{2+} 'a ihtiyaç duymaz. Bu uzun süreli otofosforilasyonun belleğin moleküler temelini altında yattığı düşünülmektedir (74).

İdame: UDG'nin idame mekanizmasının altında yatan etkenler: 1) protein fosforilasyonu ve/veya kalıcı protein kinaz aktivitesi, 2) intraselüler Ca^{2+} salınımı, 3) retrograd transmitterin üretimi, 4) transmitter salınımında artma, olabilir.

UDG'nin idamesi için intraselüler Ca^{2+} salınımı önemlidir, bunun için önce NMDAR aktivasyonuna ihtiyaç vardır fakat potansiyelizasyonun idame ettirilebilmesi aktif AMPAR'ın (α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propiyonik asit reseptörü)

sinapsa hareket etmesiyle ilişkilidir. İntraselüler Ca^{2+} 'nın etklidiği CaMKII bir kez aktive olduktan sonra uzun bir süre otofosforile olur ve Ca^{2+} 'a ihtiyaç duymaz. Bu uzun süreli otofosforilasyonun belleğin moleküler temelini altında yattığı düşünülmektedir (74). PKC aktivasyonu hipokampal (100) ve spinal (101) nöronlarda NMDA akımını artırır. CaMKII ve PKC'nin uzun süre devam eden aktiviteleri UDG'nin idamesini sağlar (102).

UDG'nin ekspresyon ve idame fazlarıyla alakalı olarak ileri sürülen görüşler tartışmalıdır. Bazıları postsinaptik mekanizmayı işaret ederken çoğu bilim adamı idame döneminin presinaptik transmitter salınımındaki artışa bağlı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Postsinaptik nöronun presinaptik nörona (103,104) bazı sinyallerin gönderilmesi gerektiğini savunmuşlardır. Nitrik oksidin (NO) transmitter salınımını arttırmak için retrograd haberci gibi hareket ettiği düşünülmektedir. NO gazı, kalsiyum\kalmodülin bağımlı NO sentaz enzimi tarafından L-arjinin kullanılarak oluşturulur. NMDA reseptör aktivasyonu NO'nun postsinaptik olarak salınmasına presinaptik nörona difüze olmasına ve transmitter salınımını başlatmasına sebep olur. NO, sırasıyla guanilil siklazın ve CREB transkripsiyon faktörünün fosforilasyonunu artıran cGMP-bağımlı protein kinazın uyarılmasını sağlayarak sinaptik yanıtların potansiyelizasyonunda rol oynamaktadır (105). Varolan bilgiler kesin olmadığı için bu görüş yorumlanmalıdır ve UDG'nin ekspresyon ve idame fazlarının mekanizması için kesin kararlar verilmemelidir.

2.5.2.Uzun Dönemli Baskılanma

Sinapslarda güçlenme halinin maksimum bir kapasiteye ve doyumluğa ulaşması, ek bir bilginin depolanmasını engelleyecektir. Bu nedenle bazı deneysel modifikasyonlar ileri sürülmüştür. UDG gelişmeden önce (73, 86, 106) UDB denilen bu durum sinaptik gücün iki yönlü modifikasyonunu sağlar ve bilginin depolanmasının etkili bir açıklamasıdır. Hipokampal UDB, presinaptik olarak ifade edilir ve postsinaptik olarak indüklenir (107-109). Ayrıca hipokampal UDB'nin indüksiyonu L-tipi Ca^{2+} kanallarının ve postsinaptik NMDA reseptör alttıplerinin aktivasyonuna gereksinim

duymaktadır (16, 107, 110) ve postsinaptik hiperpolarizasyonla indüksiyon engellenebilir (111). Hipokampal UDB'nın moleküler temeli hala belirsizliğini korumaktadır.

Nitrik oksit ve karbonmonoksit gibi retrograd sinyal molekülleri de sinaptik plastisitedeki diğer düzenleyicilerdir (112-114). Nitrik oksit, sırasıyla guanilil siklazın ve CREB transkripsiyon faktörünün fosforilasyonunu artıran cGMP-bağımlı protein kinazın uyarılmasını sağlayarak sinaptik yanıtların potansiyelizasyonunda rol oynamaktadır (105).

2.6.ÖĞRENME VE BELLEĞİN DÜZENLENMESİNDE ENDOKRİN SİSTEM

Yukarıda açıklandığı gibi, öğrenme ve belleğin hücresel temeli olan sinaptik plastisitenin ekspresyonu ve idame edilmesi, moleküler ve genetik süreçler ile sağlandığından, cinsiyet hormonları, stres hormonları ve tiroit bezi hormonlarının öğrenme ve bellek üzerine etki göstermeleri beklenir. Literatürde bu konuyu ele alan çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Aşağıda tiroit hormonlarının öğrenme ve bellek üzerine bilinen etkileri ve yapılan çalışmaların bulguları özetlenmiştir. Tiroit hormonlarının yaygın olarak bilinen klasik etkileri, oksijen tüketimindeki değişikliklerden protein, lipid, karbonhidrat ve vitamin metabolizmasına kadar uzanır. Protein sentezi üzerine olan direkt etkisinin yanında diğer birçok hormon ve büyüme faktörünün sentezine ve parçalanmasına da etki ederek, dolaylı yoldan endokrin sinyal iletimini de etkiler. Tiroit bezi, hücre farklılaşması, gelişmesi ve olgunlaşması üzerine kritik etkilere sahip aktif hormon 3,3',5-triiodo-L-tironin (T3) ile onun prekürsörü olan 3,3',5,5'-tetraiodo-L-tironin (T4, levo-tiroksin) hormonlarını salgılar. Hormonun salgılanması esas olarak TSH ve dolaşımda bulunan L-tiroksinin kontrolü altındadır (115). Çok az miktarda 3,3',5-triiodo-L-tironin (rT3) hormonu da bez tarafından üretilir. Tiroit bezi sekresyonu ölçümlerinde T4:T3 oranının insanlarda 14:1, yetişkin sıçanlarda 5:1 olduğu gösterilmiştir (116); T3'ün büyük çoğunluğu karaciğer ve böbrek gibi dokularda tip I deiyodinaz (D1), beyin, hipofiz ve kahverengi yağ dokusunda tip II deiyodinaz (D2) ile T4'den oluşturulur (117, 118). Tip 3 deiyodinaz

ise, T4'ü 5-deiyodinize eder ve rT3 oluşturur (119). Böylece deiyodinaz aktivitesi tiroit hormon metabolitlerinin doku seviyelerini hassas bir şekilde düzenler (120).

2.6.1.Tiroit Hormonlarının Eksiklik veya Fazlalığında Görülen Klinik Belirtiler

Tiroit hormonlarının merkezi sinir sisteminin farklılaşması ve olgunlaşması üzerine olan etkileri nedeni ile eksikliği veya fazlalığında ortaya çıkan merkezi sinir sistemi belirtileri, disregülasyonun oluşma dönemi ile bağlantılı olarak değişir. Klinik tablo, genel olarak hormon eksiklik veya fazlalığının intrauterin dönemde ya da perinatal dönemde oluşması halinde çok daha dramatiktir. Miyelinizasyona özgü proteinleri kodlayan genlerin ekspresyonunun normal tiroit fonksiyonuna bağlı olmasından dolayı (121, 122), bu dönemde oluşan hormon eksikliği mental retardasyon ve miyelinizasyonun gecikmesi ile karakterli bir klinik tablo ortaya koyar (123). Kretenizm olarak bilinen bu tablo serebral korteks, bazal gangliyonlar ve kohlear gelişimde meydana gelen nörolojik bozukluklarla seyrederek ve rijidite ve spastisiteye sebep olan putamenopallidal lezyonlar gibi ekstrapiramidal bozukluklar da bildirilmiştir (124, 125). Tiroit hormon düzensizliklerinin yetişkin dönemde başlaması da bazı nörolojik ve davranış bozukluklarına neden olmaktadır. Bu belirtiler, hormon dengesizliğinin subklinik olduğu durumlarda da görülmektedir, hem eksikliğinde hem de fazlalığında benzer belirtilerle seyredebildiği (126-130) ve bazı bilişsel hastalıkların semptomlarının tiroit hormonu veya TSH'nin düzeyi ile ilişkili olabileceği (123) bildirilmektedir. Örneğin hipotiroidizmin depresif psikoz ile ilişkili olduğu (8, 123, 131, 132), serebral ataksi, bellek bozukluğu ve özellikle yaşlı hastalarda geri dönüşümsüz demans (7, 8, 130), halüsinasyonlar, konfüzyon, delüzyon, psikotik davranışlar ve EEG'de alfa ritim kaybına neden olabileceği; hipertiroidizmde ise alfa ritminin frekansında artış, anksiyete, sinirlilik hali, deliryum, stupor ve koma, uyku bozuklukları, ağır hastalarda paranoya, mani ve depresyon gibi belirtilerin görülebilebileceği bildirilmiştir (133). Tiroit disfonksiyonunu takiben meydana gelen bu davranışsal değişiklikler tiroit hormonlarının davranış kalıplarının oluşmasında önemli bir rol oynayan hipokampus üzerine olan etkilerinin anlaşılması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Deney hayvanlarında yapılan çalışmalar, tiroit hormon yetersizliğinin merkezi sinir sisteminde sinaptik bağlantılarda ve nörotransmitter seviyelerinde yaygın görülen bir azalmaya ve azalmış miyelinizasyona neden olduğu bildirilmiştir (126-129). Adult dönemde gelişen tiroit hormon seviyesindeki anormalliklerde ise hipokampus ve beyin korteksi özellikle etkilenmektedir. TH eksikliğinde, hipokampüste (134, 135), işitme korteksi (136) ve görme korteksinde (137, 138) dendritik spin sayısında ve dağılımında azalma olduğu bildirilmiştir. Nöronal dendritik protein, RC3, yetişkin korteks ve striatumunda TH-bağımlı bir proteindir (139, 140) ve morfolojik değişimlerden sorumlu olduğu düşünülür. Ayrıca doğum sonrası gelişen hipertiroidide, sıçanlarda CA3 bölgesinden CA1 bölgesine projekte olan yosunsu liflerin dağılımı değişmektedir (141). TH'ları başta kolinerjik sistemle ilişkisi iyi bir şekilde belirtilmiş olan NGF (sinir büyüme faktörü) olmak üzere bazı nörotrofik faktörlerin ekspresyonunu ve reseptör popülasyonunu da etkilemektedir (126, 127, 142).

2.6.2.Tiroit Hormonlarının Etki Mekanizmaları

Esas olarak, aktif hormon T3, hedef dokularında nükleer reseptörlerine bağlanıp transkripsiyonel aktivasyona sebep olarak genomik etkileri ve/veya T4, integrin membran reseptörlerine bağlanarak hızlı bir şekilde non-genomik etkileri ortaya koyar (1). Genomik etkilerin görülmesi görece daha uzun zaman alır. Sıçan beyinde T3'e yüksek affinitenin bağlanma bölgeleri gösterilmiştir (143). Hem gelişim döneminde hem de yetişkinlikte TR'ler ve mRNA'larının dağılımı tespit edilmiştir (144-147).

2.6.2.1.Tiroit Hormonunun Genomik Etki Mekanizması

Genomik etkiler, hedef hücre içine pasif difüzyonla veya transport mekanizmasıyla giren T3'ün (148) yüksek afiniteyle bağlandığı TR α ve TR β reseptörleri aracılığı ile gerçekleşir (149-153). Bu reseptörler, östrojen, glukokortikoid ve retinoik asit reseptörlerinin de dahil olduğu geniş bir nükleer reseptör üst-ailesinin üyesidir. TR'ler, T3'ün bağlandığı bir ligand-bağlama domaini (154) ve DNA üzerindeki tiroit hormon yanıt elementine (TRE) bağlanan bir DNA-bağlama domaini olmak üzere iki bölge içerir. Ligand-bağlama domaini, ko-aktivatörler veya ko-repressörler ile etkileşime

girerek transkripsiyonda modifikasyonlara sebep olurken (155) DNA-bağlama domaini, reseptörün hedef genin promoter bölgelerine bağlanmayı sağlar (154). TH, TR üzerinden transkripsiyonu aktive edebilir veya baskılayabilir. TH tarafından gen baskılanmasının mekanizması çok iyi anlaşılamamıştır.

TH yokluğunda TR, SMRT ve N-CoR gibi histon deasetilaz içeren multimerik kompleks (HDAC) ko-repressörler tarafından sarılır. Bu durum genin baskılanmasını kolaylaştırmak için hedef gen promoter bölgesinin deasetilasyonuna neden olur. TH varlığında ise ko-repressör kompleks ayrılır ve bunun yerine ko-aktivatör kompleks bağlanır. Ko-aktivatörlerin çok büyük bir kısmı tanımlanmıştır. Bu ko-faktörler, RNA polimeraz II'nin aktivasyonu ve düzenlenmesiyle ilişkili olan ATP-bağımlı kromatin remodeling proteinler, histon asetilazlar, protein arjinin metiltransferaz ve TRAP/DRIP/ düzenleyici kompleksleri içerir (156-162). Bu kofaktörlerin hedef genlerde birikmesi histon asetilasyonuna, metilasyona ve kromatinin yeniden düzenlenmesine neden olarak transkripsiyonu aktive eder. Transkripsiyonel aktivasyon için TH'nin TR'ye bağlanarak retinoid X reseptörü (9-cis-retinoik asit reseptörleri, RXR) ile heterodimer oluşturup TH tarafından uyarılabilen genlerdeki tiroit yanıt elemanlarına (TRE) bağlanması gerekir. TR/RXR heterodimerleri TRE'lere bağlanır. Bu kompleks TH varlığında transkripsiyonu aktive ederken TH yokluğunda baskılar. TR kofaktörlerin bağlanmasıyla fonksiyon görür.

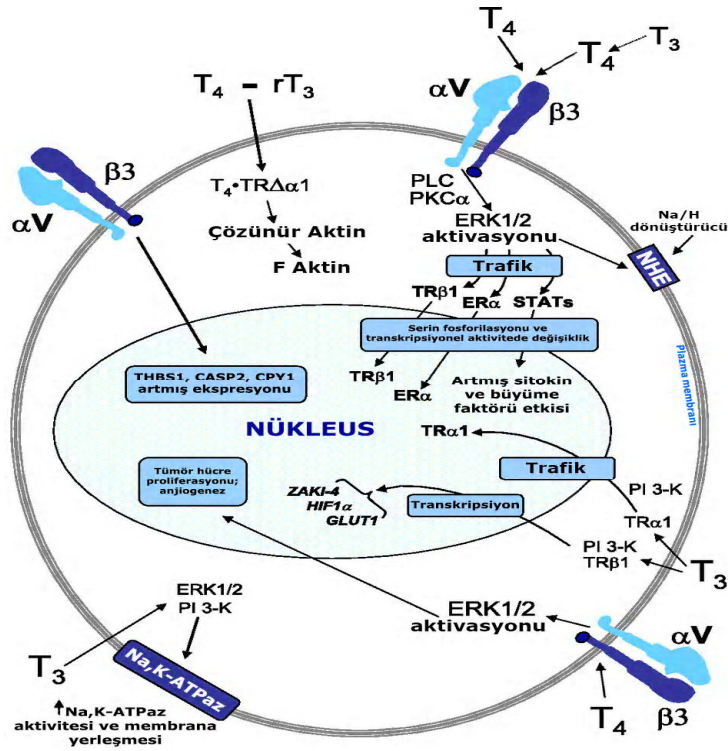
2.6.2.2.Tiroit Hormonunun Non-genomik Etki Mekanizması

TH, integrinler gibi hücre yüzey proteinlerine de bağlanır (1, 163). TH'nin bazı etkileri nükleustaki TR aracılığıyla gerçekleştirilen transkripsiyonel regülasyonun düzenlenmesinden çok daha hızlıdır. Örneğin TH, dakikalar içinde miyokardiyal kontraktiletiyi değiştirerek sistemik vasküler direnci azaltır, hücresele seviyede hücre morfolojisini, hücresele solunumu ve iyon homeostazını vb. etkiler. TH'nin integrine bağlanması hücre-ekstraselüler matriks etkileşimini etkiler ve hızlı bir şekilde hücre içi sinyal iletim süreçlerini başlatır. Ayrıca sitozolde bulunan proteinlerin TH'ye tutunması proteinlerin enzimatik fonksiyonlarını etkiler.

Tiroit bezi hormonları, başta T3 olmak üzere klasik etkilerini protein sentezi ve gen transkripsiyonu üzerinden gerçekleştirirken; bazı etkileri transkripsiyon ve protein sentez inhibitörlerinden etkilenmeden hızlı bir şekilde meydana getirmektedir (164-166). Bu non-genomik etkiler Na^+ , K^+ , Ca^{2+} 'un düzenlenmesi, glukoz transportu, ERK/MAPK, PKC ve PKA'nın aktivasyonu, PLC ve PLD'nin aktivasyonu ile fosfolipid metabolizmasının düzenlenmesidir (167).

TH'nun etkilediği non-genomik yollardan bazıları, sinaptik plastisitenin oluşumundan da sorumlu olan yollardır. Plazma membranında bulunan integrin $\alpha\text{V}\beta 3$, T4'e (daha az afinite ile T3'e) bağlanır ve bu bağlanma mitojenle aktive edilen protein kinazı (MAPK) yolağını aktive ederek hücre-ekstraselüler matriks etkileşimini ve ilgili hücre içi sinyal iletim süreçlerini aktive eder (1, 168). Ayrıca TR izoformlarından biri olan TR β , TH uygulanan hücrelerde sinyal iletiminde görev alan MAPK ile bir kompleks oluşturabilir ve bu kompleksin MAPK'nın hızlı aktivasyonu için önemli olduğu bildirilmiştir (1). Non-genomik etkisiyi oluşturan MAPK ve PI3-kinaz sinyal iletimi, 10-30 dakikalık bir zaman içinde T4'ün hücre yüzey reseptörüne bağlanmasıyla aktive olur; Ras, Raf1 ve MEK'ı aktiveleştirir ve TR'nin serin fosforilasyonunu gerçekleştirir (Şekil 2.4) (165, 168, 169).

Ligand bağlanmamış TR β , sinaptik plastisite ile ilişkili bir diğer yolağı, fosfatidilinositol 3 (PI3K) kinaz ile etkileşime girerek de aktive eder (168, 170-172). Böylece TR β , bu ve benzeri sitozolik proteinlerle etkileşime girerek TH'nin non-genomik etkilerini düzenleyici bir fonksiyon görür (170). Ayrıca enzim özelliği gösteren pek çok sitozolik proteinin TH ile bağlanması bu enzimlerin etkinliğini de değiştirebilir (153, 173-176).



Şekil 2.4. Tiroit hormonlarının genomik ve non-genomik etkisi. (<http://www.intechopen.com/books/thyroid-hormone/maternal-fetal-thyroid-interactions> web sayfalarından değiştirilerek alınmıştır)

T4'ün bir G-protein eşlikli membran reseptörü (GPCR) ile etkileşerek hızlı bir şekilde nükleer sağladığı kabul edilmektedir (165). Bu fosforilasyon TR'nin ko-repressör SMRT ve NCoR'den ayrılmasıyla, azalmış proteaz aktivitesiyle ve transkripsiyon aktivitesinde artışla sonuçlanır (177-179) ve RXR heterodimerizasyonunu düzenler (180). Nükleer MAPK/TR kompleksinin transkripsiyone aktiviteyi düzenlemek için p53'e bağlandığı ve fosforile ettiği gösterilmiştir (169). Paralel bir yolda, T4 tarafından aktive edilen MEK, nükleer translokasyona, daha sonra MAPK tarafından serin fosforilasyonuna ve gen transkripsiyon aktivasyonuna neden olan STAT1 ve STAT3'deki tirozin kalıntılarını fosforiller (168). Böylece tiroit hormonunu non-genomik olarak STAT, p53 ve TR olmak üzere en az üç farklı yolak tarafından gen transkripsiyonunu etkiler. Bu şekilde yapılmış olan çalışmalar tiroit hormonunu non-genomik etkisinin çok yaygın olduğunu ve birçok farklı hücre tipinde çok sayıda

fizyolojik süreçleri kapsadığını göstermektedir. Fakat bununla beraber herhangi bir membranla ilişkili TR izoformu veya tiroit hormonunun bağlandığı G-protein eşlikli reseptör tanımlanamamış ve klonlanamamıştır bu yüzden hala tartışmalıdır.

2.6.2.Tiroit Hormonunun Hipokampal Sinaptik Plastisiteye Etkisi

Tiroit hormonu seviyesinde intrauterin ve doğumdan sonraki erken dönemde oluşan değişikliklerin, başta beyin gelişimi olmak üzere nöronal işlevler üzerine olan etkisi iyi bilinmektedir. Hem yetişkin hipotiroidizm hem de yetişkin hipertiroidizmdeki deliller, hafif ya da subklinik olarak, bilişsel fonksiyonların elektrofizyolojik ve davranışsal göstergelerinde bozulmanın arttığını göstermektedir. Son zamanlarda ise bu hormonun yetişkinlerde merkezi sinir sistemi üzerine olan etkileri araştırılmakta ve özellikle hipokampal işlevlerdeki rolü aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Tiroksin veya PTU'nun kronik uygulandığı deney modellerinde yapılan çalışmalar, tiroit hormon düzeylerindeki değişikliklerin de hipokampal öğrenmeyi (9) ve hipokampal elektrofizyolojik yanıtları bozduğunu (10) göstermektedir. Uzun süreli uygulamaya bağlı söz konusu değişikliklerin hormon-hücre içi reseptörü kompleksi ile başlayan ve gen transkripsiyonunu etkileyen genomik etkilerinin sonucunda gerçekleştiğine dair yayınlar bulunmaktadır (9, 10, 13, 14). Bu uzun süreli uygulamaların etkisinin yanında hipokampus dokusuna doğrudan uygulanan tiroit hormonunun kısa süreli ve hormon-hücre içi reseptör etkileşimi ile başlatılmayan, non-genomik etkilerinin anlaşılması da önemlidir. Bu konuda oldukça kısıtlı sayıda çalışma vardır. Bu çalışmalar ve laboratuvarımızda yaptığımız ön çalışmalar, YFU sırasında uygulanan tiroksinin UDG yanıtlarını baskıladığını göstermektedir.

2.6.4.Tiroit Hormonunun Uzun Dönemli Güçlenme ve Baskılanmadan Sorumlu Moleküler Yolaklar Üzerine Etkisi

Hem UDG oluşumunda önemli rol oynayan MAPK/ERK yolağı hem de UDB oluşumunda rol oynayan PP1 ve kalsinörin, tiroit hormonlarının non-genomik etkilerinin de hedefidir. MAPK'lar ekstrasellüler sinyallere yanıt veren ve gen ekspresyonu, mitoz, farklılaşma, proliferasyon ve apoptoz gibi hücrel aktiviteleri

düzenleyen serin-treonin protein kinazlardır. Tiroit hormonu için plazma membran reseptör bölgesi olarak bilinen integrin $\alpha V\beta 3$ 'ün kültür ve kanser hücrelerinde MAPK'ın fosforilasyonunu ve nükleer translokasyonunu indüklediği bildirilmektedir (168, 181, 182). Kas hücrelerinde yapılan çalışmalarda tiroit hormon eksikliğinin kalsinörinin farmakolojik inhibitör etkisini nötralize ettiğini gösterilmiştir. Kalsinörinin siklosporin A (CsA) ile inhibe edilmesi tiroit hormon seviyesinde önemsiz bir azalmaya sebep olurken, hipotiroidizm kalsinörin aktivitesini bariz bir şekilde azaltmıştır (183). Bu sonuçlar göz önüne alındığında tiroit hormonlarının kalsinörin aktivitesini artırıcı yönde etki gösterdiği anlaşılmaktadır.

Düzenleyici kalsinörin-etkileşim proteininin (MCIP), MCIP-1 ve MCIP-2 olmak üzere iki izoformu vardır. İnsanlarda ve kemirgenlerde özellikle kalp ve iskelet kasında bulunan MCIP-1'i ifade eden *mcip-1* geninin transkripsiyonunun kalsinörin ile artması, MCIP-2'ün transkripsiyonunun ise tiroit hormonu ile artması (184) bize tiroit hormonu ve kalsinörin yolağı arasında bir bağlantının olabileceğini göstermektedir.

Bu tez çalışmasında, kronik hipertiroidizmde özellikle T3 hormonun nükleer reseptörleri etkileyerek etkisini görece daha uzun bir sürede ortaya çıkaran genomik etkisinden ziyade, T4 hormonunun hipokampüsteki non-genomik etkileri incelenecektir. Bu amaca yönelik olarak intrahipokampal T4 infüzyonunu uygulanacak; UDG ve UDB yanıtları kaydedilecek, bu aktivitelerin oluşmasında rolü olan moleküler yolaklardaki kimyasal değişimler belirlenecektir.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.DENEY HAYVANLARI VE GRUPLANDIRMA

Bu çalışmada, 2-3 aylık erkek Wistar Albino sıçanlar kullanıldı. Bütün sıçanlar Erciyes Üniversitesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde üretildi. Sıçanlar musluk suyu ve standart sıçan yemi ile kısıtlama yapılmaksızın beslendi. Sıçanlar yBOS (yapay Beyin Omirilik Sıvısı)-UDG grubu; yBOS -UDB grubu, T4-UDG grubu ve T4-UDB grubu olmak üzere gruplara ayrıldı. Deney sonunda uyarılmamış ve YFU veya DFU ile uyarılmış hipokampusler, real-time PCR analizlerini gerçekleştirmek çıkarıldı, ayrı bir sıçan seti kullanılmadı.

3.2.CERRAHİ İŞLEMLER

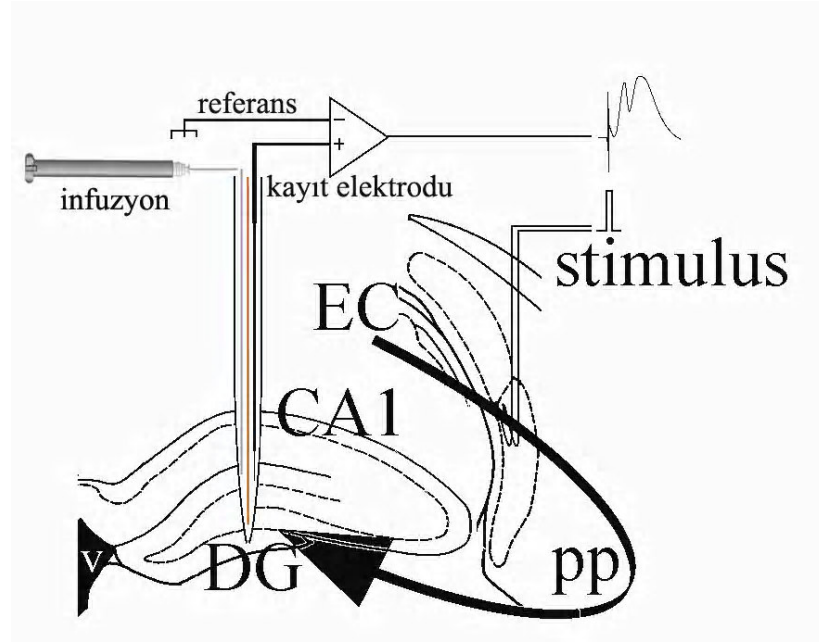
Sıçanlar ürethan (1,2 g/kg, ip) ile anestezi edildikten sonra stereotaksik çatıya (Kopf Instruments, Tujunga, CA, USA) yerleştirildi. L-tiroksinin hipokampus dokusu içerisine infüzyonunu sağlamak ve elektrofizyolojik kayıtları almak üzere çalışılacak her sıçana anestezi altında bir operasyon gerçekleştirildi. Bu işlem, stereotaksik çatı (David Kopf Instruments, Tujunga, CA) üzerinde yapıldı. Kulak ve ağız çubukları vasıtasıyla, kafatası sabitlendikten sonra sıçanın kıllı deri ve altı dokuları cerrahi prensiplere uygun olarak orta hat kesisi ile açıldı. Kıllı deri retrakte edildi, sağ hemisfer üzerindeki kemik yapı temizlendi ve kanamadan arındırıldı. Daha sonra lambda ve bregmanın aynı düzlemde olmaları “düzlem ayarlama çubuğu” vasıtasıyla sağlandı. Paxinosand ve Watson (1998) sıçan beyin atlası kullanılarak bregma

referans noktası olarak alınıp uygun koordinatlara uyarı ve kayıt-infüzyon elektrotları girildi.

3.3.ELEKTROFİZYOLOJİ

3.3.1.Tiroksin İnfüzyonu, Uyarı ve Kayıt

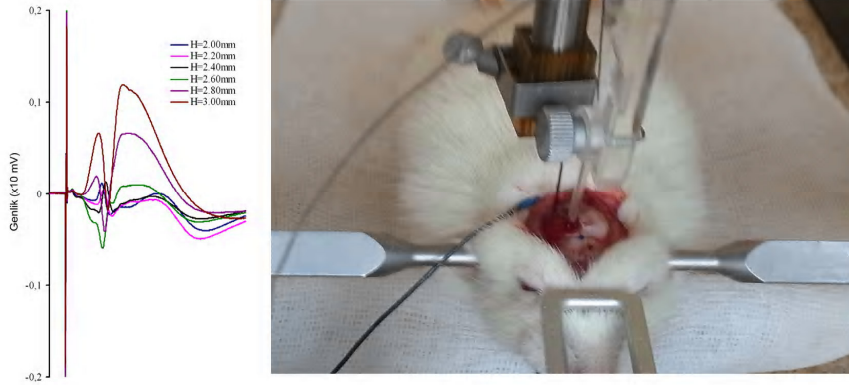
Cerrahi prensiplere uygun olarak yapılan sağ kranyotomiden sonra bir bipolar elektrot (Teflon kaplı, paslanmaz çelik, 127 µm çaplı, ucu dışında izole edilmiş) vasıtasıyla medyalperforan yol (bregmaya göre mm; AP: -8.0, ML: 4.2) uyarıldı. Uyarıcı elektrotun iki kutbu düşük dirençli kablolar ile bir uyarım izolatörüne (A385, World Precision Instruments, USA,) bağlandı. Dış çapı 1,5 mm ve uzunluğu 10 mm olan çift kanallı borosilikat kapiller tüplerden (World Precision Instruments) dikey bir mikropipet çekici (P30, SutterInstrument Co, USA) ile hazırlanan çift kanallı bir cam mikropipet (uç direnci 2–10 MΩ), ipsilateral dentat girusun granül hücre tabakasına (bregmadan mm olarak: AP: 3,5 - ML: 2,15 - DV: 2,5–3 mm duradan aşağıya) girildi. Kanallardan biri 3M NaCl ile dolduruldu ve cam elektrottan eksitator postsinaptik alan potansiyelleri kaydedildi. Diğer göze ise 100 pikomol L-tiroksin (Sigma, CAS:51-48-9) dolduruldu ve bir Hamilton enjektörü yardımıyla 10 µl T4, 15 dakikada dentat girusun granül hücre tabakasına infüze edildi. Bir Ag-AgCl disk elektrot boyun derisi altına kondu ve referans elektrot olarak kullanıldı. Kayıt elektrodunun 3M NaCl doldurulan kanalının içine yerleştirilen klorlanmış bir gümüş tel ve referans elektrodu bir head-stage kullanılarak tek kanal epitelyal voltaj/akım kısıkaç yükseltecine (VCC600, Physiological Instruments) bağlandı. Bütün sistem bir Faraday kafesi kullanılarak topraklandı. Deney sisteminin şeması Şekil 3.1’de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Elektrofizyoloji deneylerinin şematik kurgusu.

3.3.2. Tipik Elektriksel Yanıtın Elde Edilmesi

Hem uyarıcı hem de kayıt elektrodu, pozitif yönlü bir sapmayı (EPSP) takip eden negatif yönlü bir sapma (PS) elde edilene kadar derin yapılara indirildi. Granül hücre tabakasının tipik yanıtı elde edilmeye başlandığında elektrotların derinlikleri 0,1 mm artırılarak en büyük cevap elde edildi. Bütün deneyler sonucu ortalama elektrot derinlikleri uyarıcı elektrot için 2,5 mm kayıt elektodu için 3 mm idi. Tipik kaydın elde edilmesi sırasında örnek bir deneyde kaydedilen elektrik aktivite, Şekil 3.2’de görülmektedir.



Şekil 3.2. Tipik kaydın elde edilmesi sırasında kaydedilen elektrik aktivite.

3.3.3. Veri Kazanımı ve Uyarım

Veri kazanımı ve uyarım işleminin kontrolü “Scope” yazılımı (ADInstruments, Colorado Springs, CO, USA) ile yapıldı. A/D çevirici (Powerlab/8SP, ADInstruments, Colorado Springs, CO, USA) vasıtasıyla tek fazlı 10 V 0,175-ms süreli palslar oluşturuldu ve uyarı izolatörünün tetiklenmesinde kullanıldı. Kaydedilen biyolojiksinyaller 0.1-10 kHz band-genişliğinde bir yükselticide 1000x kez yükseltildi. Aktivite 20 ms için 40 kHz hızında çevirim-içi olarak rakamsallaştırıldı.

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

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

3.3.5. Uyarı Çifti Kolaylaşması

Uyarı çifti kolaylaşması, 30 sn arayla perforan yola 20, 40, 60, 80, 100, 200, 300, 500 ve 1000 ms ara ile verilen uyarı çiftlerine karşı oluşan uyarılmış cevap alınarak

ölçüldü. PS genliklerinin oranı (ikinci PS genliği/birinci PS genliği x 100, uyarı çifti indeksi) hesaplandı.

3.3.6.Uzun Dönemli Güçlenme

Test uyararı ile 30 sn'de bir uyarı verilerek 15 dakika süren bazal kayıt alındı. Bazal kaydın ardından 5'er dakika arayla 100 Hz frekansında 1 sn süren yüksek frekanslı uyarım (YFU) ile UDG indüklendi. YFU verildiği sırada 10 µl, 100 pikomol L-tiroksin bir Hamilton enjektörü yardımıyla 15 dakikada dentat girusun granül hücre tabakasına infüze edildi. YFU uyarımını takiben toplam 60 dakika olacak şekilde 30 sn'de bir test uyararı ile uyarıma devam edildi.

3.3.7.Uzun Dönemli Baskılanma

Test uyararı ile 30 sn'de bir uyarı verilerek 15 dakika süren bazal kayıt alındı. Bazal kaydın ardından 1 Hz frekansında düşük frekanslı uyarım (DFU) ile UDB indüklendi. DFU verildiği sırada 10 µl, 100 pikomol L-tiroksin bir Hamilton enjektörü yardımıyla 15 dakikada dentat girusun granül hücre tabakasına infüze edildi. DFU uyarımını takiben toplam 60 dakika olacak şekilde 30 sn'de bir test uyararı ile uyarıma devam edildi.

3.4.REAL TIME-PCR (RT-PCR)

Öğrenme ile ilgili bazı genlerin anlatımını çalışmak için, deneylerde kullanılan sıçanların bazılarında hipokampus dokusu çıkartılarak elde edildi. Bunun için derin anestezi altındaki sıçanın beyni dikkatlice kafatasından çıkartıldı, soğuk fosfat tamponlu salin içine konuldu, bir cerrahi bıçak ile lungitüdinale fissür boyunca ikiye ayrıldı. Daha sonra beyin hemisferlerinin mediyal yüzü yukarı gelecek şekilde yerleştirildi ve diensafalon (talamus ve hipotalamus) diseksiyon mikroskobu altında dikkatlice ayrıldı. Böylece hipokampus görünür hale getirildi. Bir uygun forseps kullanılarak hipokampus etrafındaki alandan ayrıldı ve ağırlığı tartıldı. Daha sonra bu hipokampuslerden, imalatçının belirttiği protokolü kullanarak, bir otomatize nükleik asit ekstraksiyon cihazı (ExiPrep™ 16 Plus, Bioneer, South Korea) ve ExiPrep™

Plus Tissue Total RNA Kiti kullanılarak total RNA izole edildi. İzole edilen total RNA'nın miktarı ve kalitesi DS-11 spectrophotometer (Denovix, USA) kullanılarak belirlendi. Son hacmi 20 µl olacak şekilde, AccuPower RT PreMix (Bioneer, South Korea) kullanılarak 2 µg total RNA izole edildi. Kullanılan primer seti Bioneer (Bioneer, South Korea)'den alındı ve Tablo 3.1'de verilen primer dizileri kullanıldı:

Tablo 3.1. Çalışılan gen bölgesini çoğaltmak için kullanılan primer dizileri

Primer Setleri	Sekanslar
c-FOS	GGCTGAACCCTTTGATGACT-F TGCCTTCTCTGACTGCTCAC-R
p38MAPK	ATCGTGTGGCAGTGAAGAAG-F AGGTTGCTGGGCTTTAGGT-R
GluN1	TAAGTATGCGGACGGAGTGA-F CTCATTGTTGATGGTCAGTGG-R
GluN2A	CTGTCTCCCCCTTCTGCTTTC-F CAGGTTGGCTGTGTAAGTGG-R
GluN2B	TGAACGAAACTGACCCAAAG-F TAGGTGGTGACGATGGAAAA-R
GAPDH	AATGTATCCGTTGTGGATCT-F CAAGAAGGTGGTGAAGCAGG-R
Elk-1	TTCTAAGGGGTTTGGACTGG -F ACGGGATGGTGGTGAGTT -R
CREB 1	GGAGTTGTTATGGCGTCCTC -F TCTGACTTGTGGCAGTAAAGGT -R
Protein fosfotaz 1	CTGTGCAGCAAACAGTCCAC -F AGAGAGGGGTGCTACAGGAG -R

Gen anlatımını hesaplamak için, iki kez çalışılan örneklerden elde edilen ortalama dönü eşiği (cycle threshold; C_T) kullanıldı ve internal kontrol olarak kullanılan GAPDH'a normalize edildi. Bağlı değişim katsayısı (DK) aşağıda verilen formüle göre hesaplandı:

$$DK = (E_{\text{hedef}} \Delta C_T \text{ hedef (c- s)} / (E_{\text{GAPDH}} \Delta C_T \text{ GAPDH (c- s)})$$

Bu formülde, E hedef veya GAPDH genlerin etkinliğini; ΔC_T (c-s) ise bir kontrol koşuluna göre hedef veya GAPDH geninin C_t değerlerinin değişimini ifade etmektedir.

3.5. VERİ ANALİZİ VE İSTATİSTİK

EPSP dalgasının eğimi, dalganın başlangıcı ve PS dalgasının başlangıcı arasındaki voltaj farkının %20–80 arasında hesaplandı. PS genliği ilk pozitif yükseltiden sonraki negatif yönlü dalga arasındaki farktan hesaplandı. Başlangıçtaki 15 dakikalık sürede tetiklenen 30 alan potansiyelinin EPSP ve PS'lerinden oluşan ortalama eğim ve genlik değerleri 100 kabul edildi; YFU ve DFU sonrasındaki her EPSP ve PS bunun yüzdesi cinsinden hesaplandı. UDG'nin indüksiyonu için YFU'dan sonraki 10 dk süresince oluşan eğim ve genliklerin; idame dönemi için ise son 10 dakikalık bölümde oluşan eğim ve genlik değerlerinin ortalamaları alındı. UDB'nin indüksiyonu için DFU'dan sonraki 10 dakikada oluşan eğim ve genliklerin; idame dönemi için ise son 10 dakikalık bölümde oluşan eğim ve genlik değerlerinin ortalamaları alındı. İstatistik karşılaştırmalar için, uygun olduklarında Mann-Whitney U testi, unpairedStudent t-testi ve Tek Yönlü ANOVA testi kullanıldı.

Çoklu grupların tek ölçümlü verilerinin karşılaştırılmasında tek-yönlü ANOVA, çok ölçümlü verilerin karşılaştırılmasında tekrarlayan ölçümlerle ANOVA testleri, iki grubun karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren veriler için t testi, normal olmayan dağılım gösteren veriler için Mann Withney U testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak seçildi.

4.BULGULAR

4.1.SİNAPTİK PLASTİSİTENİN İNDÜKLENMEDİĞİ HİPOKAMPÜS DOKUSUNDA L-TİROKSİNİN ETKİSİ.

4.1.1.Elektrofizyolojik etkiler

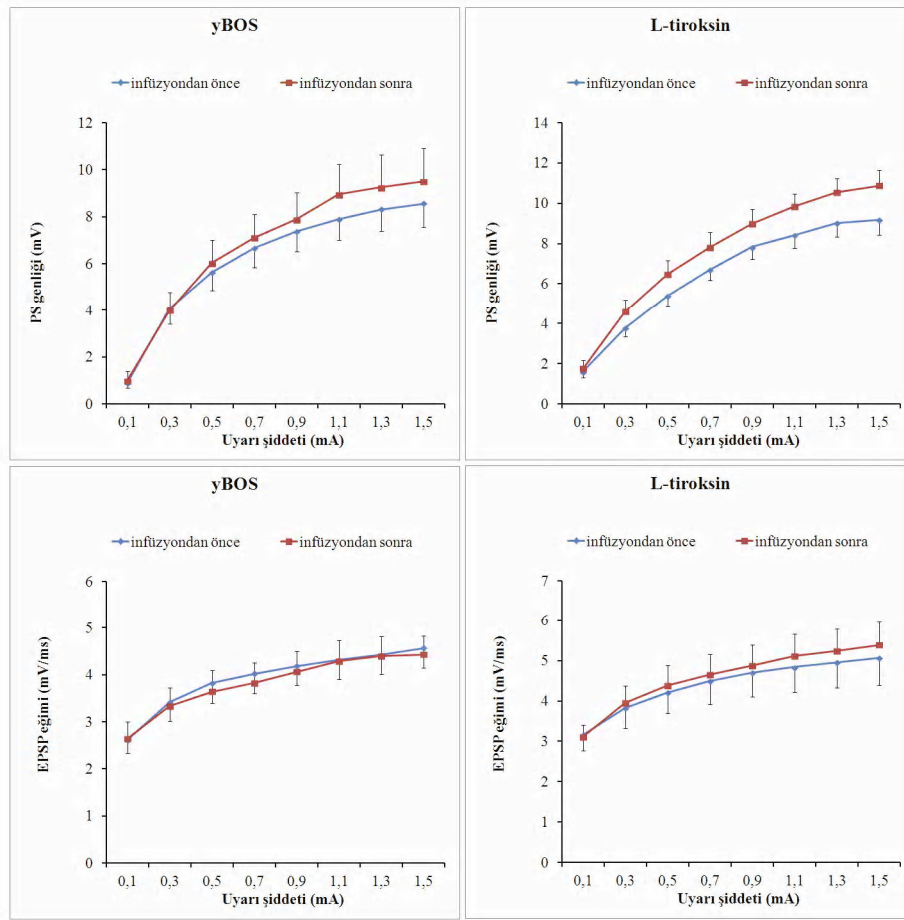
L-tiroksinin perforan yol – dentat girus sinapslarında bazal elektriksel etkinliği etkileyip etkilemediğini araştırmak için, input-output eğrisi üzerine olan etkisi ve infüzyon süresince kayıt edilen alan potansiyelleri üzerine olan etkisi incelendi.

4.1.1.1.Input-output eğrisi

Elektriksel uyararla aktive edilen sinaptik plastisite gücünü etkileyen faktörlerden birisi, sinapsın bazal etkinliğidir. Çalışmamızda bu bazal etkinlik, yüksek frekanslı uyarımdan önce, 0.1 mA- 1.5 mA arasında değişen şiddete sahip kare palslar uygulanarak elde edilen I/O eğrileri ile incelendi ve bu eğriler, 15 dakika süreli yBOS ve L-tiroksin infüzyonundan önce ve sonra 2 kez elde edildi. Her uyarı şiddeti için ölçülen PS genliği ve EPSP eğimlerinin infüzyondan önceki ve sonraki değişimleri rakamsal olarak Tablo 4.1’de grafik olarak Şekil 4.1’de verildi.

Tablo 4.1. 0.1 mA – 1.5 mA arasında değişen uyarı şiddetleri ile oluşan PS genlikleri (mV) ve EPSP eğimlerinin (mV/ms), yBOS (n=9) ve L-tiroksin (n=9) infüzyonundan önceki ve sonraki değerleri.

		yBOS inf.		T4 inf.	
Uyarı şiddeti		EPSP eğimi	PS genliği	EPSP eğimi	PS genliği
0.1 mA	Önce	2,61±0,28	0,88±0,21	3,16±0,40	1,60±0,29
	Sonra	2,64±0,36	0,98±0,41	3,10±0,29	1,74±0,41
0.3 mA	Önce	3,42±0,40	4,06±0,66	3,82±0,49	3,77±0,42
	Sonra	3,33±0,40	4,00±0,77	3,95±0,43	4,58±0,61
0.5 mA	Önce	3,82±0,42	5,63±0,77	4,21±0,52	5,40±0,50
	Sonra	3,64±0,45	6,03±0,98	4,38±0,50	6,47±0,68
0.7 mA	Önce	4,02±0,42	6,66±0,81	4,50±0,58	6,71±0,55
	Sonra	3,82±0,42	7,11±1,00	4,65±0,50	7,80±0,76
0.9 mA	Önce	4,19±0,40	7,38±0,86	4,70±0,59	7,83±0,59
	Sonra	4,06±0,44	7,89±1,14	4,87±0,52	8,98±0,71
1.1 mA	Önce	4,32±0,41	7,88±0,88	4,84±0,61	8,43±0,67
	Sonra	4,29±0,44	8,95±1,28	5,11±0,55	9,83±0,64
1.3 mA	Önce	4,43±0,41	8,31±0,92	4,95±0,63	9,02±0,69
	Sonra	4,40±0,42	9,25±1,38	5,25±0,55	10,55±0,69
1.5 mA	Önce	4,56±0,42	8,55±0,99	5,06±0,67	9,18±0,73
	Sonra	4,43±0,40	9,50±1,41	5,39±0,57	10,87±0,77



Şekil 4.1. 0.1 mA – 1.5 mA arasında değişen uyarı şiddetleri ile oluşan PS genlikleri (mV) ve EPSP eğimlerinin (mV/ms), yBOS (n=9) ve L-tiroksin (n=9) infüzyonundan önceki ve sonraki değişimi.

Uyarı şiddeti grup içi faktör, zamanlama ve infüzyon gruplar arası faktör olarak kullanılan tekrarlayan ölçümler ile ANOVA testi, uyarı şiddeti arttıkça PS genliğinin ($F_{7,224}= 154,77$; $p<0,001$) ve EPSP eğiminin ($F_{7,224}= 147,09$; $p<0,001$) arttığını ortaya koydu. Ancak bu artış, input output eğrilerinin infüzyondan önce veya sonra elde edilmesinden ($P > 0,05$) veya yBOS veya L-tiroksin infüze edilmesinden ($P > 0,05$) anlamlı bir şekilde etkilenmedi. Bu sonuçlar, sinaptik plastisite indüklenmeyen perforan yol dentat girus sinapslarında, etkinlik gücü bakımından bir fark bulunmadığını ve tiroksin infüzyonunun bu koşullardaki sinaptik etkinliği anlamlı bir şekilde değiştirmedikçe göstermektedir.

4.1.1.2.Moleküler Etkiler

On beş dakika süreyle 100 pM L-tiroksin infüzyonu (n=10) ve yBOS (n=10) infüze edilen gruplardan elde edilen hipokampuslerde, çalışılan genlerin mRNA düzeylerine ait Ct değerlerinin istatistiksel karşılaştırması, L-tiroksin'in CREB-mRNA ve GluN2B-mRNA anlatımlarını artırdığını; Elk1-mRNA ve GluN1-mRNA anlatımını ise azalttığını gösterdi. P38MAK-mRNA, PP1-mRNA, cFOS-mRNA ve GluN2A mRNA anlatımlarında ise istatistiksel bir farklılık bulunmadı (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Sinaptik plastisitenin indüklenmediği hipokampus dokusunda L-tiroksin'in öğrenme ve bellek ile ilgili bazı mRNA'ların anlatımı üzerine etkisi.

		Elk-1	p38MAPK	PP1	cFOS	CREB	GluN1	GluN2A	GluN2B
yBOS	Ct	25,18	26,38	27,64	28,75	28,48	18,44	24,14	29,88
L-TX	Ct	25,66	25,10	29,42	27,88	23,85	22,90	22,16	25,49
	P	0,016*	0,335	0,076	0,246	0,000*	0,000*	0,089	0,000*
	DK	-0,82	0,75	-2,00	0,39	3,76	-4,40	1,39	3,55

DK: Ct değerlerinin Log2 taban skalasında yBOS infüze edilen hipokampus Ct değerlerine göre değişim katsayısı. Ct değerlerindeki azalma anlatımda artışı; artma ise azalmayı gösterir ve negatif değerler azalan anlatımları gösterir. * p <0.05

4.2. KISA SÜRELİ SİNAPTİK PLASTİSİTE (UYARI ÇİFTİ

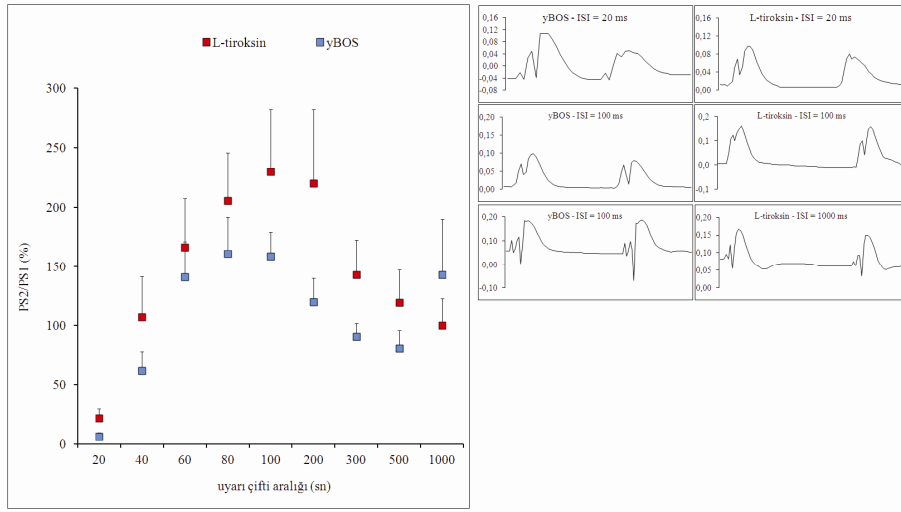
KOLAYLAŞMASI) İNDÜKLENEN PERFORAN YOL – DENTAT GİRUS SİNAPSLARINDA L-TİROKSİNİN ETKİSİ

L-tiroksin ve yBOS grubu sıçanların uyarı çifti aralığı 20 msn -1000 msn arasında değişen 9 ayrı test uyaranına karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen PS genliklerindeki değişimler Şekil 4.2'de; verilerin istatistiksel değerlendirmesi ise Tablo 4.3'de verilmiştir. Farklı uyarı aralığı değerlerinde, uyarı çiftinin ikincisine karşı oluşan PS genliklerinde her iki grupta da artış görülmüştür. Dolayısıyla PS genliğinde

kolaylaşma görülmüştür. Kolaylaşma indeksleri iki grup arasında karşılaştırıldığında L-tiroksin grubunda artışın biraz daha fazla olduğu fakat bu artışın yBOS grubundan istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Bu bulgular, L-tiroksin infüzyonu yapılan grubu ile yBOS infüzyonu yapılan grupta aferent uyarımla innerve edilen dentat girus nöronlarının kısa, orta ve uzun intervaller ile uygulanan uyarı çiftlerinden ikincisine benzer yanıtlar oluşturduğunu ortaya koymuştur.

Tablo 4.3. L-tiroksin (n=6) ve yBOS (n=6) infüze edilen grupların uyarı çifti aralığı 20 ms -1000 ms arasında değişen 9 ayrı test uyaran çiftine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen EPSP eğimi ve PS genlikleri.

Uyarı çifti aralığı	yBOS inf.	T4 inf.	P
20 ms	6,4 ± 2,8	21,9 ± 7,8	0,060
40 ms	62,0 ± 15,7	107,6 ± 34,0	0,146
60 ms	141,5 ± 30,0	167,0 ± 40,8	0,327
80 ms	161,4 ± 30,9	206,0 ± 39,9	0,219
100 ms	159,1 ± 20,4	230,3 ± 52,0	0,136
200 ms	120,1 ± 20,1	220,6 ± 61,8	0,094
300 ms	90,6 ± 11,4	143,4 ± 29,2	0,078
500 ms	80,9 ± 15,0	119,7 ± 27,4	0,142
1000 ms	143,2 ± 46,9	100,3 ± 22,1	0,234



Şekil 4.2. L-tiroksin ve yBOS infüze edilen grupların uyarı çifti aralığı 20 ms -1000 ms arasında değişen 9 ayrı test uyarın çiftine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen PS genlikleri.

4.3. UZUN DÖNEMLİ GÜÇLENME İNDÜKLENEN HİPOKAMPÜS DOKUSUNDA L-TİROKSİNİN ETKİSİ

Perforan yol – dentat girus sinapslarında UDG, 15 dakika süren bazal kaydı takiben, 5'er dakika aralarla 4 kez uygulanan 100 Hz frekanslı 1 sn süreli tetanik uyarımlarla indüklendi ve bu sırada bazı deneylerde yBOS (n=17) diğerlerinde ise 100 pM L-tiroksin (n=11) intrahipokampal olarak infüze edildi. UDG büyüklüğü, indüksiyon dönemi için, YFU'dan sonraki 10 dakikalık dönemdeki potansiyellerin; idame dönemi için ise YFU'dan sonraki 50-60ncı dakikalar arasındaki potansiyellerin genlik ve eğim ortalamalarından hesaplandı. Bu değerler ve standart hataları ile istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.4'de verildi.

Tablo 4.4. L-Tiroksin infüzyonunun UDG yanıtları üzerine etkisi.

		yBOS	T4 inf.	P
n		17	11	
EPSP eğimi	İndüksiyon (0-10 ncı dk)	148,3 ± 3,0	138,2 ± 9,8	0,325
	İdame (50-60 ncı dk)	126,7 ± 4,3	129,0 ± 18,1	0,901
PS genliği	İndüksiyon (0-10 ncı dk)	306,0 ± 15,1	229,1 ± 21,0	0,007*
	İdame (50-60 ncı dk)	258,0 ± 13,4	204,9 ± 17,7	0,022*

Değerler ortalama ± standart hatadır ve 15 dakikalık bazal kayıt sırasında elde edilen potansiyellerin ortalamasına göre % değişimi ifade eder. P değerleri yBOS infüzyonu yapılan gruba göre anlamlı farklılık.

İstatistiksel analiz sonuçları, UDG'nin indüklenmesi sırasında 100 pM L-tiroksin infüzyonunun EPSP eğiminde görülen artışı anlamlı bir şekilde etkilemediğini; ancak PS genliğinde yBOS infüze edilen grupta görülen güçlenmeyi azalttığını gösterdi.

UDG'nin indüksiyon ve idame döneminde PS genliğinde görülen azalmayı açıklayabilmek için, ayrı deney hayvanı seti kullanarak çalışılan genlerin indüksiyon ve idame döneminden sonra, YFU öncesine göre değişim katsayıları incelendi. Bu inceleme için, uyarılmamış (n= 10) ve 4x100 Hz tetanik uyarımla uyarıldıktan 10 dk (yBOS ve L-tiroksin infüzyon deneyleri için sırasıyla n= 7 ve 6) ve 60 dakika (n= 9 ve 8) sonra çıkartılan hipokampus dokuları kullanıldı.

Bu dokuların rt-PCR ile analiz sonuçları indüksiyon döneminde yBOS ve L-tiroksin infüze edilen gruplarda Elk-1, p38-MAPK, PP1 ve GluN2A anlatımının, uyarım öncesine göre anlamlı seviyede değişmediğini; cFOS anlatımının ise anlamlı düzeyde arttığını gösterdi. Bu paralel sonuçlara rağmen CREB anlatımı, uyarım öncesine göre yBOS infüze edilen grupta değişmez iken, L-tiroksin infüze edilen grupta anlamlı artış gösterdi. NMDA alt birimlerinin anlatımındaki değişimler de farklı bulundu: yBOS infüze edilen grupta GluN1 ve GluN2B anlatımında azalma; L-tiroksin infüze edilen

grupta ise GluN2B anlatımında artma saptandı. Çalışılan mRNA'lar için elde edilen Ct değerleri Tablo 4.5'da verildi.

Tablo 4.5. UDG indüksiyonundan sonra öğrenme ve bellek ile ilişkili bazı mRNA'ların Ct değerleri

		Elk-1	p38MAPK	PP1	cFOS	CREB	GluN1	GluN2A	GluN2B
Uyarılmamış hipokampüs	Ct	25,18	26,38	27,64	28,75	28,48	18,44	24,14	29,88
yBOS infüzyonu sırasında uyarılmış hipokampüs	Ct	25,37	24,28	28,17	27,37*	29,39	21,87*	23,31	31,77*
	DK	-0,17	1,89	-0,48	1,24	-0,82	-3,08	0,75	-1,70
L-Tiroksin infüzyonu sırasında uyarılmış hipokampüs	Ct	25,40	24,02	27,53	26,06*	25,58*	19,81	26,18	26,99*
	DK	-0,60	1,72	-0,30	2,03	2,21	-1,62	-2,23	2,20

DK: Ct değerlerinin Log2 taban skalasında uyarılmamış hipokampüs Ct değerlerine göre değişim katsayısı. Ct değerlerindeki azalma anlatımda artışı; artma ise azalmayı gösterir ve negatif değerler azalan anlatımları gösterir. * p <0.05

Yukarıda verilen rt-PCR sonuçlarının elektrofizyolojik verilerle beraber yorumlandığında, L-tiroksin infüzyonu ile indüklenen CREB ve GluN2B anlatımındaki artışın, UDG'nin indüksiyonundaki azalmadan sorumlu olabileceği düşünülmüştür.

İdame dönemi sonunda gözlemlenen UDG'deki azalmanın açıklanması için, deney sonunda çıkartılan hipokampüslerdeki gen anlatımları, indüksiyon dönemindeki anlatımlara göre kıyaslanarak çalışıldı. Bu karşılaştırmalara göre yBOS ve L-tiroksin infüze edilen gruplarda p38-MAPK, PP1, cFOS ve GluN1 anlatımı indüksiyon dönemine göre anlamlı seviyede değişmedi. Bu paralel sonuçlara rağmen Elk-1, CREB ve GluN2B anlatımı yBOS infüze edilen grupta anlamlı derecede artar iken, L-tiroksin

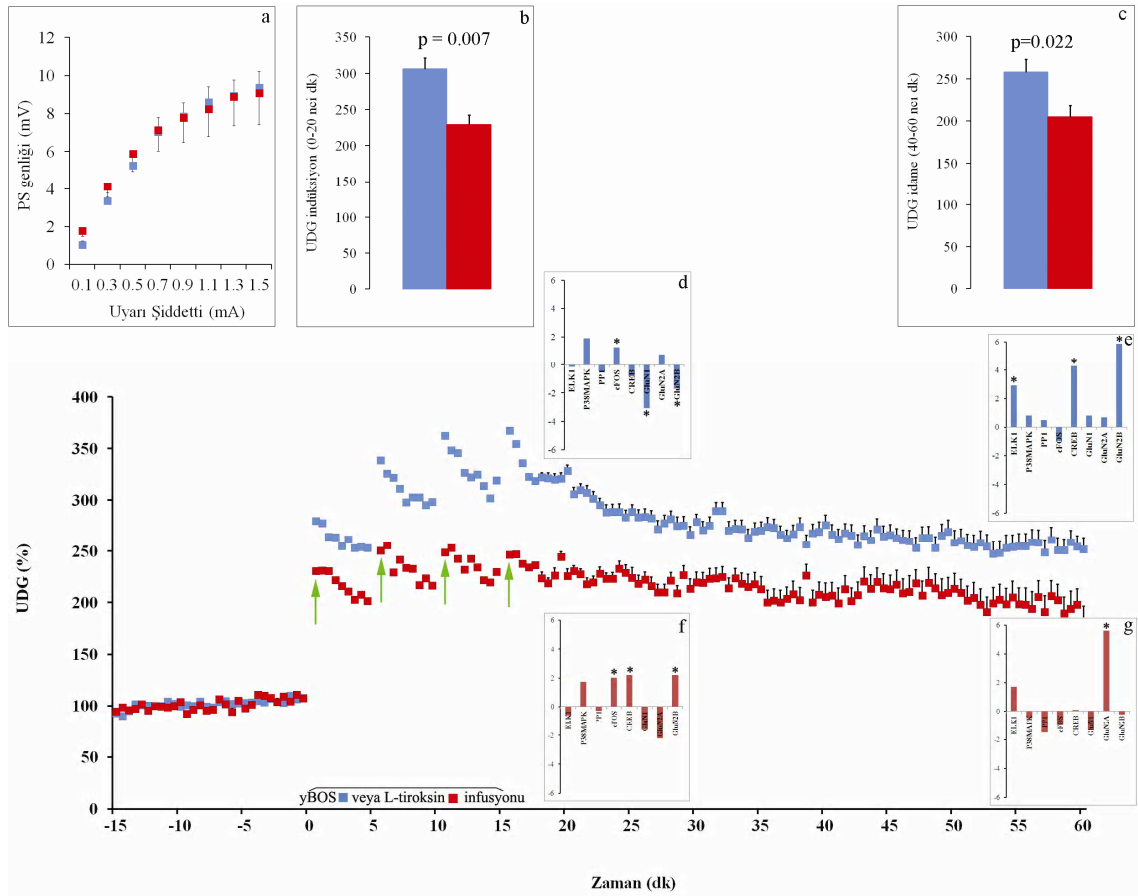
infüze edilen grupta anlamlı artış GluN2A anlatımında gözlemlendi. Çalışılan mRNA'lar için elde edilen Ct değerleri tablo 4.6'de verildi.

Tablo 4.6. UDG idamesinden sonra öğrenme ve bellek ile ilişkili bazı mRNA'ların Ct değerleri

		Elk-1	p38MAPK	PP1	cFOS	CREB	GluN1	GluN2A	GluN2B
yBOS	Ct	22,11*	23,35	27,62	28,44	24,61*	20,96	22,55	25,23*
infüzyonu									
sırasında	DK	2,93	0,83	0,49	-0,96	4,29	0,82	0,68	5,88
uyarılmış									
hipokampus									
L-Tiroksin	Ct	23,51	24,58	29,20	27,15	25,47	21,29	19,93*	27,25
infüzyonu									
sırasında	DK	1,70	-0,50	-1,49	-0,98	0,10	-1,34	5,62	-0,24
uyarılmış									
hipokampus									

DK: Ct değerlerinin Log2 taban skalasında Yukarıdaki tabloda indüksiyon dönemi sonu için verilmiş Ct değerlerine göre değişim katsayısı. Ct değerlerindeki azalma anlatımda artışı; artma ise azalmayı gösterir ve negatif değerler azalan anlatımları gösterir. * p <0.05

Yukarıda verilen rt-PCR sonuçlarının elektrofizyolojik verilerle beraber yorumlandığında, L-tiroksin infüzyonunun UDG'nin indüksiyonundan sonra yBOS grubunda gözlenen Elk-1, CREB ve NR2B anlatımlarındaki artışı baskıladığı ama NR2A anlatımında bir artışı indüklediği ve bu değişimlerin, UDG'nin idamesindeki azalmadan sorumlu olabileceği düşünülmüştür (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Yüksek frekanslı uyarım ile tetiklenen elektrofizyolojik ve gen anlatımı değişikliklerine 100 pM L-tiroksin infüzyonunun etkisi. **(a).** Dentat girus alan potansiyeli PS genliğinin, perforan yolun şiddeti 0,1 mA ile 1,5 mA arasında değişen tek uyarımlarına bağımlı değişimi. Grafik, elektrofizyoloji deneylerinde kullanılan yBOS ve L-tiroksin infüze edilen grupların bazal sinaptik özelliklerinin farklı olmadığını göstermektedir. Bir başka ifadeyle, YFU (yeşil oklar) ile tetiklenen UDG yanıtlarındaki farklılıklardan, sinapsların bazal etkinlik düzeyi sorumlu değildir. **(b, d ve f).** Yüksek frekanslı uyarım uygulaması, L-tiroksin infüze edilen grupta UDG'nin indüksiyonunu azaltmıştır **(b)** ve bu azalma, yBOS infüze edilen grupta görülen cFOS, GluN1 ve GluN2B anlatımlarındaki değişimin aksine **(d)**, cFOS, CREB ve GluN2B anlatımlarında artma **(f)** ile birliktedir. **(c, e ve g).** Yüksek frekanslı uyarım uygulaması, L-tiroksin infüze edilen grupta UDG'nin idamesini azaltmıştır **(c)** ve bu azalma, yBOS infüze edilen grupta görülen Elk-1, CREB ve GluN2B anlatımlarındaki artmanın aksine **(e)**, GluN2A anlatımlarında azalma **(f)** ile birliktedir. Bulgular, L-tiroksin infüzyonu ile

indüklenen CREB ve GluN2B anlatımındaki artışın, UDG'nin indüksiyonundaki azalmadan sorumlu olabileceğini; L-tiroksin infüzyonunun UDG'nin indüksiyonundan sonra yBOS grubunda gözlenen Elk-1, CREB ve NR2B anlatımlarındaki artışı baskıladığını ama NR2A anlatımında bir artışı indüklediğini ve bu değişmelerin, UDG'nin idamesindeki azalmadan sorumlu olabileceğini göstermektedir.

4.4. UZUN DÖNEMLİ BASKILANMA İNDÜKLENEN HİPOKAMPÜS DOKUSUNDA L-TİROKSİNİN ETKİSİ

Perforan yol – dentat girus sinapslarında UDB, 15 dakika süren bazal kaydı takiben, 15 dakika boyunca devam eden 1Hz uyarımla indüklendi ve bu sırada bazı deneylerde yBOS (n=9) diğerlerinde ise 100 pM L-tiroksin (n=9) intrahipokampal olarak infüze edildi. UDB büyüklüğü, indüksiyon dönemi için, DFU'dan sonraki 10 dakikalık dönemdeki potansiyellerin; idame dönemi için ise 50-60ncı dakikalar arasındaki potansiyellerin genlik ve eğim ortalamalarından hesaplandı. Bu değerler ve standart hataları ile istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.7'de verildi.

Tablo 4.7. L-Tiroksin infüzyonunun UDB yanıtları üzerine etkisi.

		yBOS	T4 inf.	P
n		9	9	
EPSP eğimi	İndüksiyon (0-10 nci dk)	84,0±5,8	65,1± 6,6	0,053
	İdame (50-60 ncı dk)	86,7±5,86	64,0±7,9	0,037
PS genliği	İndüksiyon (0-10 nci dk)	91,6±10,6	54,5±6,3	0,012*
	İdame (50-60 ncı dk)	128,2±17,1	58,1±12,2	0,006*

Değerler ortalama ± standart hatadır ve 15 dakikalık bazal kayıt sırasında elde edilen potansiyellerin ortalamasına göre % değişimi ifade eder. P değerleri yBOS infüzyonu yapılan gruba göre anlamlı farklılık.

yBOS grubu sıçanlarda DFU kalıbı uygulandıktan hemen sonra PS genliği yBOS infüze edilen grupta bazal değerinin $55,6 \pm 6,9$ 'una; L-tiroksin infüze edilmesi halinde ise $50,4 \pm 8,5$ 'ine düşerek bir baskılanma olduğu görüldü. Ancak daha sonra test uyaran şiddeti 30 sn de bir uygulandığında alan potansiyeli yBOS infüze edilen grupta giderek büyüdü ve deney sonunda bazal değer $110,2 \pm 15,3$ 'üne ulaştı. L-tiroksin infüze edilen grupta ise baskılanmanın devam ettiği görüldü. Böylece 1 Hz uyarı kalıbının perforan yol – dentat girus sinapslarında UDB yanıtlarını indklemeye yetersiz kaldığı ama indüksiyon sırasında L-tiroksin infüze edildiğinde UDB yanıtlarının stabil bir şekilde olduğu gözlemlendi.

UDB'nin indüksiyon ve idame döneminde, L-tiroksin infüzyonunun neden olduğu PS genliğinde görülen artışı açıklayabilmek için, ayrı deney hayvanı seti kullanarak, çalışılan genlerin indüksiyon ve idame döneminden sonra, DFU öncesine göre değişim katsayıları incelendi. Bu inceleme için, uyarılmamış ($n= 10$) ve DFU kalıbı ile uyarıldıktan (yBOS ve L-tiroksin infüzyon deneyleri için sırasıyla $n= 6$ ve 4) ve 60 dakika ($n= 8$ ve 7) sonra çıkartılan hipokampus dokuları kullanıldı.

Bu dokuların rt-PCR ile analiz sonuçları indüksiyon döneminde yBOS infüze edilen grupta incelenen mRNA'lardan hiç birinin anlatımında anlamlı bir değişme olmadığını; L-tiroksin infüze edilen grupta ise cFOS, CREB ve GluN2B anlatımının, uyarım öncesine göre anlamlı seviyede arttığını gösterdi. Çalışılan mRNA'lar için elde edilen Ct değerleri aşağıdaki tablo 4.8'da verildi.

Tablo 4.8. UDB indüksiyonundan sonra öğrenme ve bellek ile ilişkili bazı mRNA'ların Ct değerleri.

		Elk-1	p38MAPK	PP1	cFOS	CREB	GluN1	GluN2A	GluN2B
Uyarılmamış hipokampus	Ct	25,18	26,38	27,64	28,75	28,48	18,44	24,14	29,88
yBOS infüzyonu sırasında uyarılmış hipokampus	Ct	25,43	27,42	29,10	28,63	27,97	19,37	21,50	31,36
	DK	-0,22	-0,94	-1,31	0,11	0,46	-0,83	2,37	-1,33
L-Tiroksin infüzyonu sırasında uyarılmış hipokampus	Ct	25,40	24,02	27,53	26,06	25,58	19,81	26,18	26,99
	DK	-0,60	1,72	-0,30	2,03*	2,21*	-1,62	-2,23	2,20*

DK: Ct değerlerinin Log2 taban skalasında uyarılmamış hipokampus Ct değerlerine göre değişim katsayısı. Ct değerlerindeki azalma anlatımda artışı; artma ise azalmayı gösterir ve negatif değerler azalan anlatımları gösterir. * p <0.05.

Yukarıda verilen rt-PCR sonuçlarının elektrofizyolojik verilerle beraber yorumlandığında, L-tiroksin infüzyonu ile indüklenen cFOS, CREB ve GluN2B anlatımındaki artışın, UDB'nin indüksiyonundaki artıştan sorumlu olabileceği düşünülmüştür.

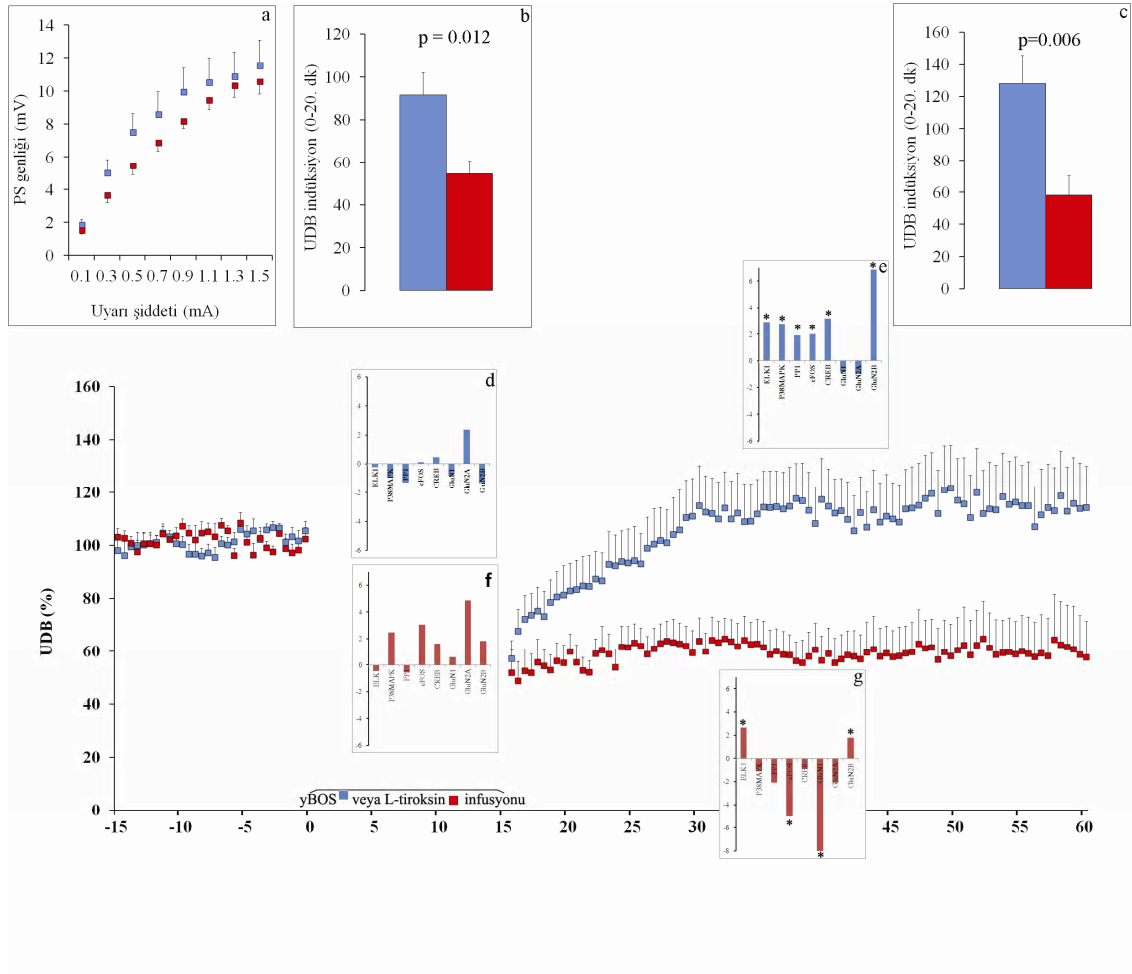
İdame dönemi sonunda gözlemlenen UDB'daki artışın açıklanması için, deney sonunda çıkartılan hipokampuslerdeki gen anlatımları, indüksiyon dönemindeki anlatımlara göre kıyaslanarak çalışıldı. Bu karşılaştırmalara göre yBOS infüze edilen grupta GluN1 ve GluN2A hariçi, çalışılan bütün mRNA'ların anlatımı arttı. L-tiroksin infüze edildiğinde ise Elk-1 ve GluN2B anlatımı artarken, PP1, cFOS, GluN1 ve GluN2 anlatımı indüksiyon dönemine göre anlamlı seviyede azaldı. Çalışılan mRNA'lar için elde edilen Ct değerleri aşağıdaki tablo 4.9'da verildi.

Tablo 4.9. UDG idamesinden sonra öğrenme ve bellek ile ilişkili bazı mRNA'ların Ct değerleri

		Elk-1	p38MAPK	PP1	cFOS	CREB	GluN1	GluN2A	GluN2B
yBOS	Ct	22,15*	24,30*	26,99*	26,42*	24,41*	20,33	22,62	23,72*
infüzyonu									
sırasında	DK	2,94	2,80	1,89	1,99	3,20	-0,87	-1,00	6,86
uyarılmış									
hipokampus									
L-Tiroksin	Ct	22,24*	24,35	30,17*	30,52*	27,25	26,27*	20,60*	25,40*
infüzyonu									
sırasında	DK	2,67	-1,06	-2,10	-5,03	-0,90	-8,02	-2,08	1,78
uyarılmış									
hipokampus									

DK: Ct değerlerinin Log2 taban skalasında Yukarıdaki tabloda indüksiyon dönemi sonu için verilmiş Ct değerlerine göre değişim katsayısı. Ct değerlerindeki azalma anlatımda artışı; artma ise azalmayı gösterir ve negatif değerler azalan anlatımları gösterir. * p <0.05

Yukarıda verilen rt-PCR sonuçlarının elektrofizyolojik verilerle beraber yorumlandığında, L-tiroksin infüzyonuun UDG'nin indüksiyonundan sonra yBOS grubunda gözlenen PP1, cFOS ve CREB anlatımlarındaki artışı baskılayıp GluN1 ve GluN2A'yı azaltıp GluN2B'yi artırarak, UDB'nin idamesindeki artışa neden olabileceği düşünülmüştür (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Düşük frekanslı uyarım ile tetiklenen elektrofizyolojik ve gen anlatımı değişikliklerine 100 pM L-tiroksin infüzyonunun etkisi. (a). Dentat girus alan potansiyeli PS genliğinin, perforan yolun şiddeti 0,1 mA ile 1,5 mA arasında değişen tek uyarımlarına bağımlı değişimi. Grafik, elektrofizyoloji deneylerinde kullanılan yBOS ve L-tiroksin infüze edilen grupların bazal sinaptik özelliklerinin farklı olmadığını göstermektedir. Bir başka ifade ile, DFU (0-15 dk arası) ile tetiklenen UDB yanıtlarındaki farklılıklardan, sinapsların bazal etkinlik düzeyi sorumlu değildir. (b, d ve f). Düşük frekanslı uyarım ile tetiklenen UDB indüksiyon dönemi için, L-tiroksin infüze edilen grupta UDB'nin indüksiyonunu artmıştır (b), yBOS infüze edilen gruba göre cFOS, CREB ve GluN2B anlatımlarında artış görülmektedir (d), cFOS, ve GluN2B anlatımlarında artma (f) ile birliktedir. (c, e ve g). Düşük frekanslı uyarım uygulaması, L-tiroksin infüze edilen grupta UDB'nin idamesini azaltmıştır (c) ve bu azalma, yBOS infüze edilen grupta görülen CREB, Glu2B, Elk-1, p38MAPK, PP1 ve cFOS anlatımlarındaki artmanın aksine (e), GluN1, PP1, cFOS ve GluN2A anlatımlarında azalma (f) ile birliktedir.

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Tiroid hormonlarının sistemik etkilerine ek olarak merkezi sinir sistemi üzerine olan etkileri de birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir. Tiroit disfonksiyonunu takiben meydana gelen yapısal, fonksiyonel ve davranışsal değişiklikler tiroit hormonlarının merkezi sinir sisteminin gelişimi ve özellikle nöronal sistemin fonksiyonlarını optimum düzeyde tutulması için çok önemli olduğunu göstermiştir.

Tiroit hormonları ile nörotransmitterler, yapısal proteinler, büyüme faktörleri ve diğer proteinler arasındaki ilişkiler incelenmiş ve tiroit hormonlarının nöronal gelişimi önemli ölçüde etkilediği gösterilmiştir (185-189). Tiroit seviyesine göre meydana gelen moleküler değişiklikler detaylı şekilde çalışılmıştır. Hipokampal CA1 bölgesindeki piramidal hücrelerde Tiroit hormonlarına yanıt olarak dendritik spin dansitesinde değişikliklerin olduğu gösterilmiştir (135). Tiroit hormonlarının çeşitli nörotrofik faktörlerin ekspresyonunu ve reseptör popülasyonunun düzenlenmesini etkilediği gösterilmiştir (142). Hem gelişim döneminde hem de yetişkinlikte tiroit hormon reseptörleri ve mRNA'larının dağılımı tespit edilmiştir (144-147). Fakat bu reseptörlerin ve ilgili proteinlerin öğrenmenin elektrofizyolojik göstergeleriyle olan ilişkileri üzerine çok fazla yoğunlaşılmamıştır.

TH birçok farklı biyolojik süreçleri etkilemektedir. TH'nin non-genomik etkileri nükleustaki TR aracılığıyla gerçekleştirilen transkripsiyonel regülasyonun düzenlenmesinden çok daha hızlıdır (163, 173). TH birçok non-genomik etkisini ortaya çıkarmak için çok sayıda yolağı etkiler (1, 153, 163, 173, 174). Birincisi, uzun

zamandır bilinen, TH'nin hücre yüzey proteinlerine bağlanabilmesidir (1). TH'ler İntegrin $\alpha V\beta 3$ dışında tam olarak tanımlanmayan proteinlere tutunurlar. İntegrin $\alpha V\beta 3$ 'ün T4'e güçlü bir şekilde bağlandığı, T3'e ise daha az oranda bağlandığı bilinmektedir (1). TH'nin integrine bağlanması hücre-ekstraselüler matriks etkileşimini etkilediği ve hızlı bir şekilde hücre içi sinyal iletim süreçlerini başlattığı düşünülmektedir. İkincisi, hücre içerisindeki birçok sitozolik proteinler tiroit hormonuna bağlanır (153, 173-176). Bu sitozolik proteinlerin çoğu enzim özelliği gibi birçok ek fonksiyonlara sahiptir. Böylece TH'nin bu proteinlere bağlanması proteinlerin enzimatik fonksiyonlarını etkileyebilir veya enzimatik özelliklerinin düzenlenmesi tiroit hormonuna bağlanmayı etkileyebilmektedir.

Tiroit hormonunun non-genomik etkisi plazma membranında, sitoplazmada ve hücre organellerinde tanımlanmıştır. Bu etkiler; Na^+ , K^+ , Ca^{2+} 'un düzenlenmesi, glukoz transportu, ERK/MAPK, PKC ve PKA'nın aktivasyonu, PLC ve PLD'nin aktivasyonu ile fosfolipid metabolizmasının düzenlenmesi (167). İn vitro olarak yapılan çalışmalar protein sentezinden bağımsız olarak T4'ün IP3 ve kalsiyum sinyal iletimini indüklediği, PKC ve PKA aracılığıyla IFN γ 'nin etkisini büyüttüğünü göstermiştir (164, 190, 191). Ayrıca plazma membranını geçemeyen agaroza bağlı T4'ün G proteini eşlikli tiroit hormon membran reseptörünün etkisiyle MAPK'yı aktive ettiği gösterilmiştir (168). Hücre kültürü çalışmaları tiroid hormonlarının hızlı ve non-genomik olarak Ca^{2+} ATPaz enzimini, PKC aracılığıyla Na^+ kanalını (I_{Na}), PI3-kinaz aracılığıyla K^+ kanalını (I_K), PKC ve MAPK aracılığıyla Na^+/H^+ anti-port sistemini ve içeri doğrultucu potasyum kanalını (I_{K1}) düzenlediğini göstermektedir (174).

Davis ve diğerlerinin önerdikleri bir modelde, tiroit hormonlarının hücre yüzeyiyle düzenlenen non-genomik etkisini G-proteini aracılığıyla MAPK ve PI3-kinaz sinyal iletim kaskadı ile gerçekleştirdiğini ileri sürmektedir (168, 172). Bu modele göre, 10-30 dakikalık bir zaman zarfında T4 hücre yüzey GPCR'sine bağlanır (168), tirozin fosforilasyonu, MAPK'nın aktivasyonu ve nükleusa translokasyonu ile sonuçlanan PKC, Ras, Raf1 ve MEK'ı aktifleştirir ve sırayla TR'nin uzantısındaki bir serin kalıntısını fosforiller (165, 169). Bu fosforilasyon TR'nin ko-repressör SMRT ve

NCoR'den ayrılmasıyla, azalmış proteaz aktivitesiyle ve transkripsiyon aktivitesinde artışla sonuçlanır (177-179) ve RXR heterodimerizasyonunu düzenler (180). Nükleer MAPK/TR kompleksinin transkripsiyonel aktiviteyi düzenlemek için p53'e bağlandığı ve fosforile ettiği gösterilmiştir (169). Paralel bir yolda, T4 tarafından aktive edilen MEK, nükleer translokasyona, daha sonra MAPK tarafından serin fosforilasyonuna ve gen transkripsiyon aktivasyonuna neden olan STAT1 ve STAT3'deki tirozin kalıntılarını fosforiller (168). Böylece tiroit hormonunu non-genomik olarak STAT, p53 ve TR olmak üzere en az üç farklı yoldan gen transkripsiyonunu etkiler. Bu şekilde yapılmış olan çalışmalar tiroit hormonunu non-genomik etkisinin çok yaygın olduğunu ve birçok farklı hücre tipinde çok sayıda fizyolojik süreçleri kapsadığını göstermektedir.

Sinaptik plastisite sinaptik etkinlikteki değişiklikleri ifade eder. Sinaptik plastisite presinaptik liflerin tekrar tekrar uyarılmasıyla oluşur. Sinaptik plastisitedeki kısa süreli artış; 1 saniye içinde gerçekleşen "sinaptik fasilitasyon", 10 saniyeden daha az süren "sinaptik birikme" ve birkaç dakika süren "post-tetanik güçlenme (PTG)" olmak üzere üç kategoride incelenir (42). Sinaptik plastisitedeki uzun süreli ise artış ise UDG ve UDB gibi modellerle incelenir. Bu modelde UDG, yüksek frekanslı uyarıyı takiben en az 60 dakika süren (15) sinaptik etkinlikteki artış olarak tanımlanmaktadır. Sinaptik plastisitenin bütün formları sinaptik güçlenmede artışa sebep olmaz. Örneğin düşük frekanslı uyarı uzun dönemli baskılanma denilen sinaptik etkinlikte azalmaya sebep olur (52). Ayrıca önceden indüklenen UDG, takip eden düşük frekanslı uyarı ile tekrar eski haline geri döner, bu duruma depotansiyelizasyon denir (56). Böylece aralarında UDG'nin de bulunduğu birçok sinaptik plastisite formu vardır.

EPSP hepsi aynı anda ve aynı yönde uyarılar alan bütün postsinaptik nöronların geçici depolarizasyonunun birbirine eklenen bir yanıtıdır. Eğer membrandaki depolarizasyon bir aksiyon potansiyeli doğurursa, bu aksiyon potansiyellerinin birikmiş hali PS olarak kaydedilir. Ne kadar fazla nöron aksiyon potansiyeli oluşturursa o kadar büyük PS kaydedilmiş olur. Çalışmamızda yBOS ve L-tiroksin grubu sıçanların 0,1 mA -1,5 mA arasında değişen 8 ayrı uyarı şiddetine karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen

EPSP eğimi ve PS genliklerinin, 1,5 mA şiddeti dışında gruplar arasında istatistiksel bir farklılık göstermedikleri bulunmuştur. Bu bulgular, her iki grupta da dentat girusta aferent uyarımla innerve edilen nöronların ve bunlardan eşik değere ulaşarak aksiyon potansiyeli oluşturan nöronların benzer elektrofizyolojik özelliklerde olduğunu göstermektedir.

Sinaptik plastisitenin kısa süreli formlarından biri olarak bilinen uyarı çifti kolaylaşması, genellikle presinaptik bileşenin değerlendirilmesi için bir model olarak kabul edilir (192). UÇK birinci uyarıdan sonra uyarım arası intervali çok kısa olan ikinci uyarı tarafından uyarılan eksitator post-sinaptik potansiyellerin (EPSP) genliklerinde meydana gelen bir artıştır. Kolaylaşma esas olarak ilk uyarıdan sonra sinir terminallerinde kalan Ca^{2+} rezidüsü sayesinde olası nörotransmitter salınımındaki bir artışın sonucudur. UÇK'nın hafıza ve öğrenmenin bazı formları ile ilgili mekanizmalarla yakın ilişkili olduğu düşünülmektedir (15).

L-tiroksin ve yBOS grubu sıçanların uyarı çifti aralığı 20 -1000 ms arasında değişen 9 ayrı test uyarımına karşı dentat girus nöronlarından kaydedilen PS genliklerindeki kolaylaşma indeksinin (UÇK) gruplar arasında istatistiksel bir farklılık göstermedikleri bulunmuştur. Bu bulgular, her iki grupta da dentat girusta aferent uyarımla innerve edilen nöronların, kısa, orta ve uzun intervaller ile uygulanan uyarı çiftlerinden ikincisine daha düşük genlikli yanıtlar oluşturduğunu ortaya koymuştur.

On beş dakika süreyle 100 pM L-tiroksin infüzyonu ve yBOS infüze edilen gruplardan elde edilen hipokampuslerde, çalışılan genlerin mRNA düzeylerine karşılaştırması, L-tiroksin'in CREB-mRNA ve GluN2B-mRNA anlatımlarını artırdığını; Elk1-mRNA ve GluN1-mRNA anlatımını ise azalttığını gösterdi. P38MAK-mRNA, PP1-mRNA, cFOS-mRNA ve GluN2A-mRNA anlatımlarında ise anlamlı bir farklılığın bulunmadığı gözlemlendi.

Dentat girus granüler hücre somalarından kayıtlanan alan potansiyellerinden EPSP bileşeni aferent yolla uyarılan nöron grubunun PS bileşeni ise membran potansiyeli bir eşik değere yükselerek aksiyon potansiyeli oluşturabilen hücre grubunun elektriksel

özelliklerini yansıtır (193). UDG'nin indüklenmesi sırasında L-tiroksin infüzyonunun EPSP eğiminde görülen artışı anlamlı bir şekilde etkilemediğini; ancak PS genliğinde yBOS infüze edilen gruba kıyasla güçlenmeyi azalttığını göstermiştir. PS genliği açısından indüksiyon döneminde güçlenmede görülen azalmanın idame döneminde de devam ettiği görülmektedir. Bu nedenle her iki grupta da YFU protokolünden sonra aferent yolla uyarılan hücre popülasyonunun ve bunlardan eşik değere kadar depolarize olarak aksiyon potansiyeli oluşturan nöron popülasyonunun arttığı ancak bu artışın L-tiroksin grubunda anlamlı olarak daha düşük olduğunu görmekteyiz.

UDG'nin indüksiyon ve idame döneminde PS genliğinde görülen azalmayı açıklayabilmek için, ayrı deney hayvanı seti kullanarak çalışılan genlerin indüksiyon ve idame döneminden sonra, YFU öncesine göre değişim katsayıları incelendi. Uyarılmamış ve tetanik uyarımla uyarıldıktan 10 ve 60 dakika sonra çıkartılan hipokampus dokularında yararlanarak gerçekleştirilen incelemede, dokuların rt-PCR ile analiz sonuçları indüksiyon döneminde yBOS ve L-tiroksin infüze edilen gruplarda Elk-1, p38-MAPK, PP1 ve GluN2A anlatımının, uyarım öncesine göre anlamlı seviyede değişmediğini; cFOS anlatımının ise anlamlı düzeyde arttığını gösterdi. Bu paralel sonuçlara rağmen CREB anlatımı, uyarım öncesine göre yBOS infüze edilen grupta değişmez iken, L-tiroksin infüze edilen grupta anlamlı artış gösterdi. NMDA alt birimlerinin anlatımındaki değişimler de farklı bulundu: yBOS infüze edilen grupta GluN1 ve GluN2B anlatımında azalma; L-tiroksin infüze edilen grupta ise GluN2B anlatımında artma saptandı. Elektrofizyolojik verilerle beraber rt-PCR sonuçları yorumlandığında, L-tiroksin infüzyonu ile indüklenen CREB ve GluN2B anlatımındaki artışın, UDG'nin indüksiyonundaki azalmadan sorumlu olabileceği düşünülmüştür.

İndüksiyon dönemindeki anlatımlara göre kıyaslanarak değerlendirilen UDG'nin idame dönemindeki azalmanın açıklanması için, deney sonunda çıkartılan hipokampuslerdeki gen anlatımları, çalışıldığında, yBOS ve L-tiroksin infüze edilen gruplarda p38-MAPK, PP1, cFOS ve GluN1 anlatımı indüksiyon dönemine göre anlamlı seviyede değişmezken yBOS infüze edilen grupta Elk-1, CREB ve GluN2B anlatımlarının anlamlı derecede arttığı, L-tiroksin infüze edilen grupta ise GluN2A anlatımının anlamlı

derecede arttığı gözlemlendi. elektrofizyolojik verilerle beraber rt-PCR sonuçlarını yorumlandığında, L-tiroksin infüzyonunun UDG'nin indüksiyonundan sonra yBOS grubunda gözlenen Elk-1, CREB ve GluN2B anlatımlarındaki artışı baskıladığı fakat GluN2A anlatımında bir artışı indüklediği ve bu değişmelerin, UDG'nin idamesindeki azalmadan sorumlu olabileceği düşünülmüştür.

UDG sırasında oluşan sinaptik değişmelerin öğrenme tecrübesinin kazanılması sırasında (194, 195) ve UDB sırasındakilerin, bilginin yeni kazanılan ile güncellenmesi sırasında oluşan değişikliklere paralel olduğu bildirilmektedir (196, 197). Perforan yol – dentat girus sinapslarında 15 dakika boyunca devam eden 1 Hz uyarımla indüklenen UDB'nin büyüklüğü, indüksiyon dönemi için, DFU'dan sonraki 10 dakikalık dönemdeki potansiyellerin; idame dönemi için ise 50-60ncı dakikalar arasındaki potansiyellerin genlik ve eğim ortalamalarından hesaplandı. UDB'nin indüklenmesi sırasında L-tiroksin infüzyonunun EPSP eğiminde görülen artışı anlamlı bir şekilde etkilemediğini; ancak PS genliğinde yBOS infüze edilen gruba kıyasla baskılanmayı arttırdığını göstermiştir. PS genliği açısından yBOS infüze edilen grupta idame döneminde baskılanmanın ortadan kalktığı fakat L-tiroksin infüze edilen grupta indüksiyon dönemindeki baskılanmada görülen artmanın idame döneminde de devam ettiği görülmektedir. Böylece 1 Hz uyarı kalıbının perforan yol – dentat girus sinapslarında UDB yanıtlarını idame ettirilmesinde yetersiz kaldığı ama indüksiyon sırasında L-tiroksin infüze edildiğinde UDB yanıtlarının stabil bir şekilde oluştuğu gözlemlendi.

UDB'nin indüksiyon ve idame döneminde PS genliğinde görülen baskılanmayı açıklayabilmek için, ayrı deney hayvanı seti kullanılarak çalışılan genlerin indüksiyon ve idame döneminden sonra, DFU öncesine göre değişim katsayıları incelendi. Uyarılmamış ve tetanik uyarımla uyarıldıktan 10 ve 60 dakika sonra çıkartılan hipokampus dokularında yararlanarak gerçekleştirilen incelemede, dokuların rt-PCR ile analiz sonuçları indüksiyon döneminde yBOS infüze edilen grupta uyarım öncesine göre hiçbir parametrede anlamlı bir farklılık bulunmazken L-tiroksin infüze edilen gruplarda Elk-1, GluN1, p38-MAPK, PP1 ve GluN2A anlatımının, uyarım öncesine göre anlamlı seviyede değişmediğini; CREB, GluN2B ve cFOS anlatımının ise anlamlı

düzeyde arttığını gösterdi. Elektrofizyolojik verilerle beraber rt-PCR sonuçları yorumlandığında, L-tiroksin infüzyonu ile indüklenen CREB, GluN2B ve cFOS anlatımındaki artışın, UDB'nin indüksiyonundaki baskılanmadaki artıştan sorumlu olabileceği düşünülmüştür.

İndüksiyon dönemindeki anlatımlarla kıyaslanarak değerlendirilen UDB'nin idame dönemindeki baskılanmanın artışının açıklanması için, deney sonunda çıkartılan hipokampuslerdeki gen anlatımları değerlendirildiğinde, yBOS infüze edilen grupta GluN1 ve GluN2A, L-tiroksin infüze edilen grupta CREB ve p38-MAPK anlatımı indüksiyon dönemine göre anlamlı seviyede değişmezken yBOS infüze edilen grupta CREB, GluN2B, Elk-1, p38-MAPK, PP1 ve cFOS anlatımlarının anlamlı derecede arttığı, L-tiroksin infüze edilen grupta ise GluN2B ve Elk-1 anlatımının anlamlı derecede arttığı, GluN1, PP1, cFOS ve GluN2A anlatımının anlamlı derecede azaldığı gözlemlendi. Elektrofizyolojik verilerle beraber rt-PCR sonuçlarını yorumlandığında, L-tiroksin infüzyonunun UDB'nin indüksiyonundan sonra yBOS grubunda gözlenen PP1, cFOS ve CREB anlatımlarındaki artışı baskılayıp GluN1 ve GluN2A'yı azaltıp GluN2B'yi artırarak, UDB'nin idamesindeki artışa neden olabileceği düşünülmüştür.

6.KAYNAKLAR

1. Davis PJ, Davis FB, Cody V. Membrane receptors mediating thyroid hormone action. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 2005; 16: 429-435.
2. Eichenbaum H. Hippocampus: cognitive processes and neural representations that underlie declarative memory. *Neuron* 2004; 44: 109-120.
3. Squire LR, Zola SM. Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1996; 93: 13515-13522.
4. Kesner RP, Hopkins RO. Mnemonic functions of the hippocampus: a comparison between animals and humans. *Biological psychology* 2006; 73: 3-18.
5. Nathe AR, Frank LM. Making space for rats: From synapse to place code. *Neuron* 2003; 39: 730-731.
6. Olton DS, Paras BC. Spatial memory and hippocampal function. *Neuropsychologia* 1979; 17: 669-682.
7. Cummings JL. Neuropsychiatric aspects of Alzheimer's disease and other dementing illnesses. In: Yudovski SC, Hales RE (eds), *Textbook of neuropsychiatry*, 2nd ed. Washington, American Psichiatic Press, 1992: pp 605-620.

8. Horvath TB, Siever LJ, Mohs RC, et al. Organic mental syndromes and disorders. In: Kaplan HI, Sadock BJ (eds), *Comprehensive textbook of psychiatry*, 5th ed. Philadelphia, Lippincott, 1989: pp 599-641.
9. Soderling TR, Derkach VA. Postsynaptic protein phosphorylation and LTP. *Trends in neurosciences* 2000; 23: 75-80.
10. Arnsten AF, Ramos BP, Birnbaum SG, et al. Protein kinase A as a therapeutic target for memory disorders: rationale and challenges. *Trends in molecular medicine* 2005; 11: 121-128.
11. Artis A, Bitiktas S, Taşkın E, et al. Experimental Hypothyroidism Delays Field Excitatory Post Synaptic Potentials and Disrupts Hippocampal Long-term Potentiation in the Dentate Gyrus of Hippocampal Formation and Y-Maze Performance in Adult Rats. *Journal of neuroendocrinology* 2012; 24: 422-433.
12. Taşkın E, Artis AS, Bitiktas S, et al. Experimentally induced hyperthyroidism disrupts hippocampal long-term potentiation in adult rats. *Neuroendocrinology* 2011; 94: 218-227.
13. Perkinton MS, Ip J, Wood GL, et al. Phosphatidylinositol 3 kinase is a central mediator of NMDA receptor signalling to MAP kinase (Erk1/2), Akt/PKB and CREB in striatal neurones. *Journal of neurochemistry* 2002; 80: 239-254.
14. Golski S, Olds JL, Mishkin M, et al. Protein kinase C in the hippocampus is altered by spatial but not cued discriminations: a component task analysis. *Brain research* 1995; 676: 53-62.
15. Bliss TV, Collingridge GL. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 1993; 361: 31-39.
16. Mulkey RM, Malenka RC. Mechanisms underlying induction of homosynaptic long-term depression in area CA1 of the hippocampus. *Neuron* 1992; 9: 967-975.
17. Scoville WB, Milner B. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 1957; 20: 11.

18. Zola-Morgan SM, Squire LR. The primate hippocampal formation: evidence for a time-limited role in memory storage. *Science* 1990; 250: 288-290.
19. Kim JJ, Fanselow MS. Modality-specific retrograde amnesia of fear. *Science* 1992; 256: 675-677.
20. O'keefe J, Dostrovski J. The hippocampus as a spatial map: preliminary evidence from unit activity in the freely moving rat. *Brain Res* 1971; 34: 171-175.
21. Shapiro M. Plasticity, hippocampal place cells, and cognitive maps. *Archives of Neurology* 2001; 58: 874-881.
22. Behr J, Gloveli T, Heinemann U. The perforant path projection from the medial entorhinal cortex layer III to the subiculum in the rat combined hippocampal–entorhinal cortex slice. *European Journal of Neuroscience* 1998; 10: 1011-1018.
23. McClelland JL, McNaughton BL, O'Reilly RC. Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory. *Psychological review* 1995; 102: 419.
24. Ino T, Kaneko T, Mizuno N. Direct projections from the entorhinal cortical layers to the dentate gyrus, hippocampus, and subicular complex in the cat. *Neurosci Res* 1998; 32: 241-265.
25. Yeckel MF, Berger TW. Monosynaptic excitation of hippocampal CA1 pyramidal cells by afferents from the entorhinal cortex. *Hippocampus* 1995; 5: 108-114.
26. Duvernoy HM, Bourgouin P. The human hippocampus: functional anatomy, vascularization and serial sections with MRI. Berlin, Springer, 1998: p viii.
27. Dolleman-Van der Weel M, Da Silva FL, Witter M. Nucleus reuniens thalami modulates activity in hippocampal field CA1 through excitatory and inhibitory mechanisms. *The Journal of neuroscience* 1997; 17: 5640-5650.
28. Bertram E, Zhang D. Thalamic excitation of hippocampal CA1 neurons: a comparison with the effects of CA3 stimulation. *Neuroscience* 1999; 92: 15-26.

29. Wouterlood FG, Saldana E, Witter MP. Projection from the nucleus reuniens thalami to the hippocampal region: Light and electron microscopic tracing study in the rat with the anterograde tracer Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin. *Journal of Comparative Neurology* 1990; 296: 179-203.
30. Dolleman-van Der Weel M, Witter M. Projections from the nucleus reuniens thalami to the entorhinal cortex, hippocampal field CA1, and the subiculum in the rat arise from different populations of neurons. *Journal of Comparative Neurology* 1996; 364: 637-650.
31. Maccaferri G, Lacaille J-C. Interneuron Diversity series: Hippocampal interneuron classifications—making things as simple as possible, not simpler. *Trends in neurosciences* 2003; 26: 564-571.
32. Buzsáki G. Hippocampal GABAergic interneurons: a physiological perspective. *Neurochemical research* 2001; 26: 899-905.
33. McBain CJ, Fisahn A. Interneurons unbound. *Nature Reviews Neuroscience* 2001; 2: 11-23.
34. Nicoll RA, Tomita S, Brecht DS. Auxiliary subunits assist AMPA-type glutamate receptors. *Science* 2006; 311: 1253-1256.
35. Laurie DJ, Seeburg PH. Regional and developmental heterogeneity in splicing of the rat brain NMDAR1 mRNA. *J Neurosci* 1994; 14: 3180-3194.
36. Monyer H, Burnashev N, Laurie DJ, et al. Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors. *Neuron* 1994; 12: 529-540.
37. Collingridge GL, Olsen RW, Peters J, et al. A nomenclature for ligand-gated ion channels. *Neuropharmacology* 2009; 56: 2-5.
38. Furukawa H, Singh SK, Mancusso R, et al. Subunit arrangement and function in NMDA receptors. *Nature* 2005; 438: 185-192.
39. Standaert DG, Landwehrmeyer GB, Kerner JA, et al. Expression of NMDAR2D glutamate receptor subunit mRNA in neurochemically identified interneurons in

- the rat neostriatum, neocortex and hippocampus. *Brain Res Mol Brain Res* 1996; 42: 89-102.
40. Erreger K, Dravid SM, Banke TG, et al. Subunit-specific gating controls rat NR1/NR2A and NR1/NR2B NMDA channel kinetics and synaptic signalling profiles. *J Physiol* 2005; 563: 345-358.
 41. Vicini S, Wang JF, Li JH, et al. Functional and pharmacological differences between recombinant N-methyl-D-aspartate receptors. *Journal of Neurophysiology* 1998; 79: 555-566.
 42. Magleby K. Facilitation, augmentation, and potentiation of transmitter release. *Prog. Brain Res* 1979; 49: 175-182.
 43. Griffith LC, Wang J, Zhong Y, et al. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II and potassium channel subunit eag similarly affect plasticity in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1994; 91: 10044-10048.
 44. Kamiya H, Zucker RS. Residual Ca²⁺ and short-term synaptic plasticity. *Nature* 1994; 371: 603-605.
 45. Isaac JT, Lüthi A, Palmer MJ, et al. An investigation of the expression mechanism of LTP of AMPA receptor-mediated synaptic transmission at hippocampal CA1 synapses using failures analysis and dendritic recordings. *Neuropharmacology* 1998; 37: 1399-1410.
 46. Zucker RS, Regehr WG. Short-term synaptic plasticity. *Annual Review of Physiology* 2002; 64: 355-405.
 47. Johnston MV, Alemi L, Harum KH. Learning, memory, and transcription factors. *Pediatric research* 2003; 53: 369-374.
 48. Powell CM. Gene targeting of presynaptic proteins in synaptic plasticity and memory: across the great divide. *Neurobiology of learning and memory* 2006; 85: 2-15.

49. Tan NC, Heron SE, Scheffer IE, et al. Is variation in the GABA (B) receptor 1 gene associated with temporal lobe epilepsy? *Epilepsia* 2005; 46: 778-780.
50. Bliss TV, Lomo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 1973; 232: 331-56.
51. Andersen P, Sundberg S H, Sveen O, Wigstrom H. Specific long-lasting potentiation of synaptic transmission in hippocampal slices. *Nature* 1977; 265: 336.
52. Lynch GS, Dunwiddie T, Gribkoff V. Heterosynaptic depression: a postsynaptic correlate of long-term potentiation. *Nature* 1977; 266: 737.
53. McNaughton BL, Douglas R, Goddard GV. Synaptic enhancement in fascia dentata: cooperativity among coactive afferents. *Brain research* 1978; 157: 277-293.
54. Martin S, Grimwood P, Morris R. Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annual review of neuroscience* 2000; 23: 649-711.
55. Bear MF, Malenka RC. Synaptic plasticity: LTP and LTD. *Curr Opin Neurobiol* 1994; 4: 389-399.
56. Barrionuevo G, Schottler F, Lynch G. The effects of repetitive low frequency stimulation on control and "potentiated" synaptic responses in the hippocampus. *Life sciences* 1980; 27: 2385-2391.
57. Nicoll RA, Malenka RC. Contrasting properties of two forms of long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 1995; 377: 115.
58. Malenka RC, Bear MF. LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 2004; 44: 5-21.
59. Yasuda H, Barth AL, Stellwagen D, et al. A developmental switch in the signaling cascades for LTP induction. *Nature neuroscience* 2002; 6: 15-16.

60. Dravid SM, Erreger K, Yuan H, et al. Subunit-specific mechanisms and proton sensitivity of NMDA receptor channel block. *J Physiol* 2007; 581: 107-128.
61. Singh P, Hockenberry AJ, Tiruvadi VR, et al. Computational investigation of the changing patterns of subtype specific NMDA receptor activation during physiological glutamatergic neurotransmission. *PLoS Comput Biol* 2011; 7: 100-106.
62. Elias GM, Nicoll RA. Synaptic trafficking of glutamate receptors by MAGUK scaffolding proteins. *Trends in Cell Biology* 2007; 17: 343-352.
63. Adesnik H, Nicoll RA. Conservation of glutamate receptor 2-containing AMPA receptors during long-term potentiation. *J Neurosci* 2007; 27: 4598-4602.
64. Lisman J, Schulman H, Cline H. The molecular basis of CaMKII function in synaptic and behavioural memory. *Nat Rev Neurosci* 2002; 3: 175-190.
65. Derkach V, Barria A, Soderling TR. Ca²⁺/calmodulin-kinase II enhances channel conductance of alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate type glutamate receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 3269-3274.
66. Ehlers MD. Reinsertion or degradation of AMPA receptors determined by activity-dependent endocytic sorting. *Neuron* 2000; 28: 511-525.
67. Malenka RC, Nicoll RA. Long-term potentiation--a decade of progress? *Science* 1999; 285: 1870-1874.
68. Salter MW, Kalia LV. Src kinases: a hub for NMDA receptor regulation. *Nat Rev Neurosci* 2004; 5: 317-328.
69. Sweatt JD. Mitogen-activated protein kinases in synaptic plasticity and memory. *Curr Opin Neurobiol* 2004; 14: 311-317.
70. Lisman J. A mechanism for the Hebb and the anti-Hebb processes underlying learning and memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1989; 86: 9574-9578.

71. Mulkey RM, Herron CE, Malenka RC. An essential role for protein phosphatases in hippocampal long-term depression. *Science* 1993; 261: 1051-1055.
72. Carroll RC, Beattie EC, von Zastrow M, et al. Role of AMPA receptor endocytosis in synaptic plasticity. *Nature Reviews Neuroscience* 2001; 2: 315-324.
73. Artola A, Singer W. Long-term depression of excitatory synaptic transmission and its relationship to long-term potentiation. *Trends in neurosciences* 1993; 16: 480-487.
74. Lisman JE, Goldring MA. Feasibility of long-term storage of graded information by the Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase molecules of the postsynaptic density. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1988; 85: 5320-5324.
75. Cummings JA, Mulkey RM, Nicoll RA, et al. Ca^{2+} Signaling Requirements for Long-Term Depression in the Hippocampus. *Neuron* 1996; 16: 825-833.
76. Malenka RC, Nicoll RA. NMDA-receptor-dependent synaptic plasticity: multiple forms and mechanisms. *Trends in neurosciences* 1993; 16: 521-527.
77. Lisman J, Malenka RC, Nicoll RA, et al. Learning mechanisms: the case for CaM-KII. *Science New York then Washington* 1997: 2001-2001.
78. Liu J, Fukunaga K, Yamamoto H, et al. Differential roles of Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II and mitogen-activated protein kinase activation in hippocampal long-term potentiation. *The Journal of neuroscience* 1999; 19: 8292-8299.
79. Soderling TR, Derkach VA. Postsynaptic protein phosphorylation and LTP. *Trends Neurosci* 2000; 23: 75-80.
80. Kasai H. Cytosolic Ca^{2+} gradients, Ca^{2+} binding proteins and synaptic plasticity. *Neurosci Res* 1993; 16: 1-7.
81. Malinow R, Schulman H, Tsien RW. Inhibition of postsynaptic PKC or CaMKII blocks induction but not expression of LTP. *Science* 1989; 245: 862-866.

82. Mulkey RM, Herron CE, Malenka RC. An essential role for protein phosphatases in hippocampal long-term depression. *Science* 1993; 261: 1051-1055.
83. Coussens CM, Teyler TJ. Protein kinase and phosphatase activity regulate the form of synaptic plasticity expressed. *Synapse* 1996; 24: 97-103.
84. McNaughton SJ. Compensatory plant growth as a response to herbivory. *Oikos* 1983: 329-336.
85. Harris EW, Ganong AH, Cotman CW. Long-term potentiation in the hippocampus involves activation of N-methyl-D-aspartate receptors. *Brain research* 1984; 323: 132-137.
86. Dunwiddie T, Madison D, Lynch G. Synaptic transmission is required for initiation of long-term potentiation. *Brain research* 1978; 150: 413-417.
87. Wigström H, Swann J, Andersen P. Calcium dependency of synaptic long-lasting potentiation in the hippocampal slice. *Acta physiologica Scandinavica* 1979; 105: 126-128.
88. Collingridge G, Herron C, Lester R. Synaptic activation of N-methyl-D-aspartate receptors in the Schaffer collateral-commissural pathway of rat hippocampus. *The Journal of physiology* 1988; 399: 283-300.
89. Collingridge G, Kehl S, McLennan Ht. Excitatory amino acids in synaptic transmission in the Schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus. *The Journal of physiology* 1983; 334: 33-46.
90. Lynch G, Larson J, Kelso S, et al. Intracellular injections of EGTA block induction of hippocampal long-term potentiation. *Nature* 1983; 305: 719-721.
91. Teyler T, DiScenna P. Long-term potentiation. *Annual review of neuroscience* 1987; 10: 131-161.
92. Harris EW, Cotman CW. Long-term potentiation of guinea pig mossy fiber responses is not blocked by N-methyl D-aspartate antagonists. *Neuroscience letters* 1986; 70: 132-137.

93. Katsuki H, Kaneko S, Tajima A, et al. Separate mechanisms of long-term potentiation in two input systems to CA3 pyramidal neurons of rat hippocampal slices as revealed by the whole-cell patch-clamp technique. *Neuroscience research* 1991; 12: 393-402.
94. Salin PA, Malenka RC, Nicoll RA. Cyclic AMP mediates a presynaptic form of LTP at cerebellar parallel fiber synapses. *Neuron* 1996; 16: 797-803.
95. Weisskopf MG, Castillo PE, Zalutsky RA, et al. Mediation of hippocampal mossy fiber long-term potentiation by cyclic AMP. *Science* 1994; 265: 1878-1882.
96. Hu GY, Hvalby O, Walaas S, et al. Protein kinase C injection into hippocampal pyramidal cells elicits features of long term potentiation. *Nature* 1987; 328: 426.
97. Malenka RC, Madison DV, Nicoll RA. Potentiation of synaptic transmission in the hippocampus by phorbol esters. *Nature* 1986; 321: 175.
98. Silva AJ, Stevens CF, Tonegawa S, et al. Deficient hippocampal long-term potentiation in alpha-calcium-calmodulin kinase II mutant mice. *Science* 1992; 257: 201-206.
99. Silva AJ, Paylor R, Wehner JM, et al. Impaired spatial learning in alpha-calcium-calmodulin kinase II mutant mice. *Science* 1992; 257: 206-211.
100. Ben-Ari Y, Aniksztejn L, Bregestovski P. Protein kinase C modulation of NMDA currents: an important link for LTP induction. *Trends in neurosciences* 1992; 15: 333-339.
101. Gerber G, Kangrga I, Ryu P, et al. Multiple effects of phorbol esters in the rat spinal dorsal horn. *The Journal of neuroscience* 1989; 9: 3606-3617.
102. Malinow R, Madison DV, Tsien RW. Persistent protein kinase activity underlying long-term potentiation. *Nature* 1988; 335: 820.
103. Dolphin A, Errington M, Bliss T. Long-term potentiation of the perforant path in vivo is associated with increased glutamate release. *Nature* 1982; 297: 496.

104. Skrede K, Maltre-Sørensen D. Increased resting and evoked release of transmitter following repetitive electrical tetanization in hippocampus: a biochemical correlate to long-lasting synaptic potentiation. *Brain research* 1981; 208: 436-441.
105. Lu W, Xiong Z, Lei S, et al. G-protein-coupled receptors act via protein kinase C and Src to regulate NMDA receptors. *Nature neuroscience* 1999; 2: 331-338.
106. Dunwiddie T, Lynch G. Long-term potentiation and depression of synaptic responses in the rat hippocampus: localization and frequency dependency. *The Journal of physiology* 1978; 276: 353-367.
107. Bolshakov VY, Siegelbaum SA. Postsynaptic induction and presynaptic expression of hippocampal long-term depression. *Science* 1994; 264: 1148-1152.
108. Stevens CF, Wang Y. Changes in reliability of synaptic function as a mechanism for plasticity. *Nature* 1994; 371: 704.
109. Xiao MY, Wigström H, Gustafsson B. Long-term Depression in the Hippocampal CA1 Region is Associated with Equal Changes in AMPA and NMDA Receptor-mediated Synaptic Potentials. *European Journal of Neuroscience* 1994; 6: 1055-1057.
110. Dudek SM, Bear MF. Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1992; 89: 4363-4367.
111. Goda Y, Stevens CF. Long-term depression properties in a simple system. *Neuron* 1996; 16: 103-111.
112. Hawkins R, Zhuo M, Arancio O. Nitric oxide and carbon monoxide as possible retrograde messengers in hippocampal long-term potentiation. *Journal of neurobiology* 1994; 25: 652-665.
113. Haley J. Gases as neurotransmitters. *Essays Biochem* 1998; 33: 79-91.

114. Zhuo M, Laitinen JT, Li X-C, et al. On the respective roles of nitric oxide and carbon monoxide in long-term potentiation in the hippocampus. *Learning & Memory* 1998; 5: 467-480.
115. Scott DA, Wang R, Kreman TM, et al. The Pendred syndrome gene encodes a chloride-iodide transport protein. *Nature genetics* 1999; 21: 440-443.
116. Schroeder-Van Der Elst J, Van der Heide D. Thyroxine, 3, 5, 3'-triiodothyronine, and 3, 3', 5'-triiodothyronine concentrations in several tissues of the rat: effects of amiodarone and desethylamiodarone on thyroid hormone metabolism. *Endocrinology* 1990; 127: 1656-1664.
117. Braverman LE, Ingbar SH, Sterling K. Conversion of thyroxine (T4) to triiodothyronine (T3) in athyreotic human subjects. *Journal of Clinical Investigation* 1970; 49: 855.
118. Ko J. The selenoenzyme family of deiodinase isozymes controls local thyroid hormone availability. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* 2000; 1: 49-58.
119. Engler D, Burger AG. The deiodination of the iodothyronines and of their derivatives in man. *Endocrine Reviews* 1984; 5: 151-184.
120. Dentice M, Salvatore D. Deiodinases: The balance of thyroid hormone: Local impact of thyroidhormone inactivation. *J. Endocrinol* 2011; 209: 273–282.
121. Farsetti A, Mitsuhashi T, Desvergne B, et al. Molecular basis of thyroid hormone regulation of myelin basic protein gene expression in rodent brain. *Journal of Biological Chemistry* 1991; 266: 23226-23232.
122. Rodriguez-Pena A, Ibarrola N, Iñiguez MA, et al. Neonatal hypothyroidism affects the timely expression of myelin-associated glycoprotein in the rat brain. *Journal of Clinical Investigation* 1993; 91: 812.
123. Dussault JH, Ruel J. Thyroid hormones and brain development. *Annual review of physiology* 1987; 49: 321-332.

124. Sinha A, Pickard M, Kim K, et al. Perturbation of thyroid hormone homeostasis in the adult and brain function. *Acta medica Austriaca* 1993; 21: 35-43.
125. Tomei E, Francone A, Salabe G, et al. Magnetic resonance imaging (MRI) studies of brain atrophy in hypothyroidism. *Rays* 1988; 13: 43.
126. Figueiredo B, Almazan G, Ma Y, et al. Gene expression in the developing cerebellum during perinatal hypo-and hyperthyroidism. *Molecular brain research* 1993; 17: 258-268.
127. Figueiredo B, Otten U, Strauss S, et al. Effects of perinatal hypo-and hyperthyroidism on the levels of nerve growth factor and its low-affinity receptor in cerebellum. *Developmental Brain Research* 1993; 72: 237-244.
128. Geel SE, Valcana T, Timiras PS. Effect of neonatal hypothyroidism and of thyroxine on leucine incorporation in protein in vivo and the relationship to ionic levels in the developing brain of the rat. *Brain research* 1967; 4: 143-150.
129. Patel AJ, Hayashi M, Hunt A. Selective persistent reduction in choline acetyltransferase activity in basal forebrain of the rat after thyroid deficiency during early life. *Brain research* 1987; 422: 182-185.
130. Loosen PT. Effects of thyroid hormones on central nervous system in aging. *Psychoneuroendocrinology* 1992; 17: 355-374.
131. Hennessey JV, Jackson IM. The interface between thyroid hormones and psychiatry. *The endocrinologist* 1996; 6: 214-223.
132. Oomen H, Schipperijn A, Drexhage H. The prevalence of affective disorder and in particular of a rapid cycling of bipolar disorder in patients with abnormal thyroid function tests. *Clinical endocrinology* 1996; 45: 215-223.
133. Adams R, Rosman N. Neuromuscular system. The thyroid; a fundamental and clinical text. 3rd ed. New York: Harper & Row 1971: 771-780.
134. Martínez-Galán JR, Pedraza P, Santacana M, et al. Early effects of iodine deficiency on radial glial cells of the hippocampus of the rat fetus. A model of neurological cretinism. *Journal of Clinical Investigation* 1997; 99: 2701.

135. Gould E, Allan MD, McEwen BS. Dendritic spine density of adult hippocampal pyramidal cells is sensitive to thyroid hormone. *Brain research* 1990; 525: 327-329.
136. Ruiz-Marcos A, Salas J, Sanchez-Toscano F, et al. Effect of neonatal and adult-onset hypothyroidism on pyramidal cells of the rat auditory cortex. *Developmental Brain Research* 1983; 9: 205-213.
137. Ruiz-Marcos A, Sánchez-Toscano F, Escobar F, et al. Reversible morphological alterations of cortical neurons in juvenile and adult hypothyroidism in the rat. *Brain research* 1980; 185: 91-102.
138. Ruiz-Marcos A, Sanchez-Toscano F, Obregon MJ, et al. Thyroxine treatment and recovery of hypothyroidism-induced pyramidal cell damage. *Brain research* 1982; 239: 559-574.
139. Iñiguez MA, Rodríguez-Pena A, Ibarrola N, et al. Adult rat brain is sensitive to thyroid hormone. Regulation of RC3/neurogranin mRNA. *Journal of Clinical Investigation* 1992; 90: 554.
140. Iñiguez MA, Rodríguez-Pena A, Ibarrola N, et al. Thyroid hormone regulation of RC3, a brain-specific gene encoding a protein kinase-C substrate. *Endocrinology* 1993; 133: 467-473.
141. Lauder JM, Mugnaini E. Early hyperthyroidism alters the distribution of mossy fibres in the rat hippocampus. *Nature* 1977; 268: 335-337.
142. Alvarez-Dolado M, Iglesias T, Rodríguez-Peña A, et al. Expression of neurotrophins and the trk family of neurotrophin receptors in normal and hypothyroid rat brain. *Molecular brain research* 1994; 27: 249-257.
143. Schwartz HL, Oppenheimer JH. Ontogenesis of 3, 5, 3'-Triiodothyronine Receptors in Neonatal Rat Brain: Dissociation between Receptor Concentration and Stimulation of Oxygen Consumption by 3, 5, 3'-Triiodothyronine*. *Endocrinology* 1978; 103: 943-948.

144. Bradley DJ, Young WS, Weinberger C. Differential expression of alpha and beta thyroid hormone receptor genes in rat brain and pituitary. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1989; 86: 7250-7254.
145. Cook CB, Kakucska I, Lechan R, et al. Expression of thyroid hormone receptor beta 2 in rat hypothalamus. *Endocrinology* 1992; 130: 1077-1079.
146. Gullo D, Sinha AK, Woods R, et al. Triiodothyronine binding in adult rat brain: compartmentation of receptor populations in purified neuronal and glial nuclei. *Endocrinology* 1987; 120: 325-331.
147. Mellstrom B, Naranjo JR, Santos A, et al. Independent expression of the alpha and beta c-erbA genes in developing rat brain. *Mol Endocrinol* 1991; 5: 1339-1350.
148. Lazar MA. Thyroid Hormone Receptors: Multiple Forms, Multiple Possibilities*. *Endocrine Reviews* 1993; 14: 184-193.
149. Davey JC, Schneider MJ, Galton VA. Cloning of a thyroid hormone-responsive *Rana catesbeiana* c-erbA- β gene. *Developmental genetics* 1994; 15: 339-346.
150. Puzianowska-Kuznicka M, Damjanovski S, Shi Y-B. Both thyroid hormone and 9-cis retinoic acid receptors are required to efficiently mediate the effects of thyroid hormone on embryonic development and specific gene regulation in *Xenopus laevis*. *Molecular and cellular biology* 1997; 17: 4738-4749.
151. Sap J, Munoz A, Damm K, et al. The c-erb-A protein is a high-affinity receptor for thyroid hormone. *Nature* 1986; 324: 635-640.
152. Weinberger C, Thompson CC, Ong ES, et al. The c-erb-A gene encodes a thyroid hormone receptor. *Nature* 1986; 324: 641-646.
153. Shi YB, Wong J, Puzianowska-Kuznicka M, et al. Tadpole competence and tissue-specific temporal regulation of amphibian metamorphosis: Roles of thyroid hormone and its receptors. *Bioessays* 1996; 18: 391-399.
154. Glass CK. Differential Recognition of Target Genes by Nuclear Receptor Monomers, Dimers, and Heterodimers*. *Endocrine Reviews* 1994; 15: 391-407.

155. Horlein AJ, Naar AM, Heinzl T, et al. Ligand-independent repression by the thyroid hormone receptor mediated by a nuclear receptor co-repressor. *Nature* 1995; 377: 397-403.
156. Chen D, Ma H, Hong H, et al. Regulation of transcription by a protein methyltransferase. *Science* 1999; 284: 2174-2177.
157. Demarest SJ, Martinez-Yamout M, Chung J, et al. Mutual synergistic folding in recruitment of CBP/p300 by p160 nuclear receptor coactivators. *Nature* 2002; 415: 549-553.
158. Huang ZQ, Li J, Sachs LM, et al. A role for cofactor–cofactor and cofactor–histone interactions in targeting p300, SWI/SNF and Mediator for transcription. *The EMBO journal* 2003; 22: 2146-2155.
159. Ito M, Roeder RG. The TRAP/SMCC/Mediator complex and thyroid hormone receptor function. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 2001; 12: 127-134.
160. Li J, O'Malley BW, Wong J. p300 requires its histone acetyltransferase activity and SRC-1 interaction domain to facilitate thyroid hormone receptor activation in chromatin. *Molecular and cellular biology* 2000; 20: 2031-2042.
161. Matsuda H, Paul BD, Choi CY, et al. Novel functions of protein arginine methyltransferase 1 in thyroid hormone receptor-mediated transcription and in the regulation of metamorphic rate in *Xenopus laevis*. *Molecular and cellular biology* 2009; 29: 745-757.
162. Matsuda H, Paul BD, Choi CY, et al. Contrasting effects of two alternative splicing forms of coactivator-associated arginine methyltransferase 1 on thyroid hormone receptor-mediated transcription in *Xenopus laevis*. *Molecular Endocrinology* 2007; 21: 1082-1094.
163. Bassett J, Harvey CB, Williams GR. Mechanisms of thyroid hormone receptor-specific nuclear and extra nuclear actions. *Molecular and cellular endocrinology* 2003; 213: 1-11.

164. Davis PJ, Davis FB, Lawrence WD. Thyroid hormone regulation of membrane Ca^{2+} -ATPase activity. *Endocrine research* 1989; 15: 651-682.
165. Davis PJ, Shih A, Lin H-Y, et al. Thyroxine promotes association of mitogen-activated protein kinase and nuclear thyroid hormone receptor (TR) and causes serine phosphorylation of TR. *Journal of Biological Chemistry* 2000; 275: 38032-38039.
166. Wrutniak-Cabello C, Casas F, Cabello G. Thyroid hormone action in mitochondria. *Journal of Molecular Endocrinology* 2001; 26: 67-77.
167. Kavok NS, Krasilnikova OA, Babenko NA. Thyroxine signal transduction in liver cells involves phospholipase C and phospholipase D activation. Genomic independent action of thyroid hormone. *BMC cell biology* 2001; 2: 5.
168. Lin H-Y, Davis FB, Gordinier JK, et al. Thyroid hormone induces activation of mitogen-activated protein kinase in cultured cells. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 1999; 276: 1014-1024.
169. Shih A, Lin H-Y, Davis FB, et al. Thyroid hormone promotes serine phosphorylation of p53 by mitogen-activated protein kinase. *Biochemistry* 2001; 40: 2870-2878.
170. Guigon CJ, Cheng S-y. Novel non-genomic signaling of thyroid hormone receptors in thyroid carcinogenesis. *Molecular and cellular endocrinology* 2009; 308: 63-69.
171. Storey NM, Gentile S, Ullah H, et al. Rapid signaling at the plasma membrane by a nuclear receptor for thyroid hormone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2006; 103: 5197-5201.
172. Storey NM, O'Bryan JP, Armstrong DL. Rac and Rho mediate opposing hormonal regulation of the ether-a-go-go-related potassium channel. *Current Biology* 2002; 12: 27-33.
173. Davis PJ, Davis FB. Nongenomic actions of thyroid hormone. *Thyroid* 1996; 6: 497-504.

174. Davis PJ, Davis FB. Nongenomic actions of thyroid hormone on the heart. *Thyroid* 2002; 12: 459-466.
175. Parkison C, Ashizawa K, McPhie P, et al. The monomer of pyruvate kinase, subtype M1, is both a kinase and a cytosolic thyroid hormone binding protein. *Biochemical and biophysical research communications* 1991; 179: 668-674.
176. Shi Y-B, Liang VC, Parkison C, et al. Tissue-dependent developmental expression of a cytosolic thyroid hormone protein gene in *Xenopus*: Its role in the regulation of amphibian metamorphosis. *FEBS letters* 1994; 355: 61-64.
177. Jones K, Brubaker J, Chin W. Evidence that phosphorylation events participate in thyroid hormone action. *Endocrinology* 1994; 134: 543-548.
178. Leitman DC, Costa CH, Graf H, et al. Thyroid hormone activation of transcription is potentiated by activators of cAMP-dependent protein kinase. *Journal of Biological Chemistry* 1996; 271: 21950-21955.
179. Ting Y-T, Bhat MK, Wong R, et al. Tissue-specific stabilization of the thyroid hormone $\beta 1$ nuclear receptor by phosphorylation. *Journal of Biological Chemistry* 1997; 272: 4129-4134.
180. Katz D, Reginato MJ, Lazar MA. Functional regulation of thyroid hormone receptor variant TR alpha 2 by phosphorylation. *Molecular and cellular biology* 1995; 15: 2341-2348.
181. Cheng S-Y, Leonard JL, Davis PJ. Molecular aspects of thyroid hormone actions. *Endocrine Reviews* 2010; 31: 139-170.
182. Cohen K, Ellis M, Khoury S, et al. Thyroid hormone is a MAPK-dependent growth factor for human myeloma cells acting via $\alpha v \beta 3$ integrin. *Molecular Cancer Research* 2011; 9: 1385-1394.
183. Koulmann N, Bahi L, Ribera F, et al. Thyroid hormone is required for the phenotype transitions induced by the pharmacological inhibition of calcineurin in adult soleus muscle of rats. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2008; 294: 69-77.

184. Yang J, Rothermel B, Vega RB, et al. Independent signals control expression of the calcineurin inhibitory proteins MCIP1 and MCIP2 in striated muscles. *Circulation research* 2000; 87: 61-68.
185. Dutar P, Bassant M-H, Senut M-C, et al. The septohippocampal pathway: structure and function of a central cholinergic system. *Physiological reviews* 1995; 75: 393.
186. Garza R, Puymirat J, Dussault J. Influence of soluble environmental factors on the development of fetal brain acetylcholinesterase-positive neurons cultured in a chemically defined medium: comparison with the effects of l-triiodothyronine (l-T3). *Developmental Brain Research* 1990; 56: 160-168.
187. Hayashi M, Patel AJ. An interaction between thyroid hormone and nerve growth factor in the regulation of choline acetyltransferase activity in neuronal cultures, derived from the septal-diagonal band region of the embryonic rat brain. *Developmental Brain Research* 1987; 36: 109-120.
188. Hefti F, Hartikka J, Bolger M. Effect of thyroid hormone analogs on the activity of choline acetyltransferase in cultures of dissociated septal cells. *Brain research* 1986; 375: 413-416.
189. Honegger P, Lenoir D. Triiodothyronine enhancement of neuronal differentiation in aggregating fetal rat brain cells cultured in a chemically defined medium. *Brain research* 1980; 199: 425-434.
190. Lakatos P, Stern PH. Evidence for direct non-genomic effects of triiodothyronine on bone rudiments in rats: stimulation of the inositol phosphate second messenger system. *Acta endocrinologica* 1991; 125: 603-608.
191. Lin H-Y, Yen PM, Davis FB, et al. Protein synthesis-dependent potentiation by thyroxine of antiviral activity of interferon- γ . *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 1997; 273: 1225-1232.
192. Gottschalk W, Pozzo-Miller LD, Figuero A, et al. Presynaptic modulation of synaptic transmission and plasticity by brain-derived neurotrophic factor in the developing hippocampus. *The Journal of neuroscience* 1998; 18: 6830-6839.

193. Chaudhury D, Wang LM, Colwell CS. Circadian regulation of hippocampal long-term potentiation. *Journal of biological rhythms* 2005; 20: 225-236.
194. Tang YP, Shimizu E, Dube GR, et al. Genetic enhancement of learning and memory in mice. *Nature* 1999; 401: 63-69.
195. Richter-Levin G, Thomas KL, Hunt SP, et al. Dissociation between genes activated in long-term potentiation and in spatial learning in the rat. *Neuroscience Letters* 1998; 251: 41-44.
196. Duffy S, Labrie V, Roder JC. D-Serine augments NMDA-NR2B receptor-dependent hippocampal long-term depression and spatial reversal learning. *Neuropsychopharmacology* 2008; 33: 1004-1018.
197. Dong Z, Bai Y, Wu X, et al. Hippocampal long-term depression mediates spatial reversal learning in the Morris water maze. *Neuropharmacology* 2013; 64: 65-73.

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL KURUL BAŞKANLIĞI
KAYSERİ-TÜRKİYE

ETİK KURULUN ADI: Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

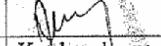
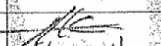
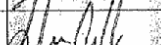
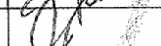
ETİK KURULUN ADRESİ: Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi (DEKAM)

Tarih: 11.09.2013

Toplantı Sayısı: 08

Karar No:13/113

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 11.09.2013 tarihinde Prof. Dr. Harun ÜLGER'in başkanlığında toplanmıştır.

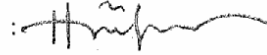
Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü	İmza
Harun ÜLGER	Prof. Dr.	Tıp Fak.	
Abdullah İNCİ	Prof. Dr.	Veteriner Fak.	
Özlem CANÖZ	Prof. Dr.	Tıp Fak.	Katılmadı
Fusun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fak.	
Prof. Dr. Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fak.	Katılmadı
Betül AYCAN	Doç. Dr.	Eczacılık Fak.	Katılmadı
Ahmet ÖZTÜRK	Doç. Dr.	Tıp Fak.	
Gökçen Yuvalı ÇELİK	Doç. Dr.	Eczacılık Fak.	
Servet KESİM	Yrd. Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fak.	
Gökçen DİNÇ	Yrd. Doç. Dr.	DEKAM	
Serap ALTUNDAŞ EROĞLU	Av.	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	
Asiye GÖKBELEN	Yardım Sevenler Der. Başk.	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi	Katılmadı

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesinden Prof. Dr. Cem SÜER tarafından sunulan "İntrahipokampal L-tiroksin İnfüzyonunun, Sinaptik Plastisitesinin Göstergeleri Üzerine Olan etkisinin Moleküler ve Elektrofizyolojik Düzeyde İncelenmesi" adlı araştırma projesi incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi

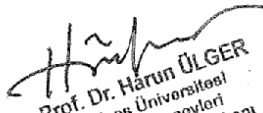
Tarih : 11.09.2013

Etik kurul Başkanı : Prof. Dr. Harun ÜLGER

İmzası :



ASLININ AYNIYIDIR


Prof. Dr. Harun ÜLGER
Erciyes Üniversitesi
Hayvan Deneyleri
Yerel Etik Kurul Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı- Soyadı: Soner Bitiktaş
Doğum Tarihi: 04.12.1987
Doğum Yeri: Akyaka (Kars)
Telefon: 0 543 886 5329
E-mail: soner_bitiktas@hotmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

İlk öğretim: İstanbul Milli Eğitim Vakfı İlköğretim Okulu - İsa Yusuf Alptekin İlköğretim Okulu (1993-2001)
Orta öğretim: İstanbul Pendik Gülizar ve Zeki Obdan (Y.D.A.) Lisesi (2001-2005)
Yüksek öğretim: İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü (2005- 2009)
Doktora (Bütünleşik): Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı (2009 -)
Yabancı Dil: İngilizce

MESLEKİ DENEYİM

Arş.Gör. Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, (2014 -)

AKADEMİK BİLGİLER

Yayınlar

A. Araştırma makaleleri (SCI veya SCI-E kapsamında taranan dergiler)

1. Taskin, E Artis, AS, **Bitiktas, S**, Dolu, N, Liman, N, Suer, C. Experimentally Induced Hyperthyroidism Disrupts Hippocampal Long-Term Potentiation in Adult Rats. *Neuroendocrinol* 2011; 94(3): 218-227 DOI: 10.1159/000328513 .
2. Dolu N, Artis S, Suer C, Aydogan S, Sahin L, **Bitiktas S**. Sodium Nitroprusside Does Not Prevent an Inhibitory Effect of Carnosine on Long-Term Potentiation in the Dentate Gyrus of Rats. *Neurophysiology* 2012;44(3): 221-228 DOI: 10.1007/s11062-012-9290-0 [Epub ahead of print]
3. Artis, AS, **Bitiktas, S** , Taskin, E., Dolu, N., Liman, N, Suer, C. Experimental Hypothyroidism Delays Field Excitatory Post-Synaptic Potentials and Disrupts Hippocampal Long-term Potentiation in the Dentate Gyrus of Hippocampal Formation and Y-Maze Performance in Adult Rats. *J Neuroendocrinol* 2012; 24(3): 422-433. DOI: 10.1111/j.1365-2826.2011.02253.
4. Kavraal S, Oncu SK, **Bitiktas S**, Artis AS, Dolu N, Gunes T, Suer C. Maternal intake of Omega-3 essential fatty acids improves long term potentiation in the dentate gyrus and Morris water maze performance in rats. *Brain Res.* 2012 Sep 8. pii: S0006-8993(12)01463-1. doi: 10.1016/j.brainres. 2012.09.002.
5. Dolu N, Keloglan S, **Bitiktas S**, Cug S. The effects of the enriched environment on sympathetic skin response in pentylenetetrazol-kindled rats. *Biomed Environ Sci.* 2013 May;26(5):394-7. doi: 10.3967/0895-3988.2013.05.009.
6. Elmarzouki H, Aboussaleh Y, **Bitiktas S**, Suer C, Artis AS, Dolu N, Ahami A. Effects of cold exposure on behavioral and electrophysiological parameters related with hippocampal function in rats. *Front Cell Neurosci.* 2014 Sep 1;8:253. doi: 10.3389/fncel.2014.00253.

B. Uluslararası Kongrelerde Sunulan ve Kongre Kitapçığında Yayımlanan Makaleler (SCI veya SCI-E kapsamında taranan dergiler)

1. Dolu N, Artis S, Suer C, Aydogan S, Sahin L, **Bitiktas S**. Nitric oxide donor sodium nitroprusside facilitates induction of long-term potentiation in the dentate gyrus. *European Neuropsychopharmacology* 2010; 20 (Suppl 3): S317.
2. Suer C, Dolu N, Artis AS, **Bitiktas S**. Effects of intermittent cold exposure on long-term potentiation and water maze performance in female rats. *European Neuropsychopharmacology* 2011; 21 (Suppl 3): S341.
3. Kavraal S, Oncu S.K, **Bitiktas S**, Artis A.S, Dolu N, Gunes T, Suer C. Maternal intake of omega-3 improves long-term potentiation in the dentate gyrus and performance in the Morris water maze in rats. *European Neuropsychopharmacology* 2012; 22 (Suppl 2): S183.
4. Artis A.S, Kavraal S, **Bitiktas S**, Dolu N, Suer C. Gender differences in rats: behavioural and electrophysiological aspects. *European Neuropsychopharmacology* 2012; 22 (Suppl 2): S214.
5. Suer C, Kavraal S, Yousef M, **Bitiktas S**, Artis A.S, Dolu N. Effects of chronic lithium treatment on long-term potentiation and some behavioral tests in adult rats. . *European Neuropsychopharmacology* 2012; 22 (Suppl 2): S292.
6. Tan B, **Bitiktas S**, Kavraal S, Kandemir B, Kurnaz I.A, Suer C. Sex-dependent effects of chronic L-thyroxine treatment in the water maze. *European Neuropsychopharmacology* 2013; 23 (Suppl 2): S182.
7. **Bitiktas S**, Kavraal S, Tan B, Ornek H, Ozdogan K, Dursun N, Suer C. Evidence for nongenomic modulation of synaptic plasticity by L-thyroxine in the hippocampus. *European Neuropsychopharmacology* 2013; 23 (Suppl 2): S183.
8. **Bitiktas S**, Timur D, Oncu S.K, Kavraal S, Gunes T, Golgeli A, Suer C. Low dose maternal nicotine and alcohol exposure disrupt hippocampal long-term potentiation and Morris water maze performance in the offsprings. *European Neuropsychopharmacology* 2013; 23 (Suppl 2): S556.
9. Tan B, Deneme F, **Bitiktas S**, Kavraal S, Ascioğlu M, Suer C. Adulthood isolation stress enhances both long- and short-term potentiation in rats. *European Neuropsychopharmacology* 2013; 23 (Suppl 2): S290.

- 10.** Tan B, Karaca B, **Bitiktas S**, Kavraal S, Ulusoy H.B, Suer C. Aluminium exposure to adult rats impairs long-term potentiation in the dentate gyrus. *European Neuropsychopharmacology* 2013; 23 (Suppl 2): S537.
- 11.** Tan B, Bitiktas S, Kavraal S, Kandemir B, Donmez-Altuntas H, Dursun N, Liman N, Aksan-Kurnaz I, Süer C. Possible involvement of p38MAPK and PP1 in impaired hippocampal function induced by 21-day propylthiouracil treatment. *European Neuropsychopharmacology* 2014; 24 (Suppl 2): S192-193.
- 12.** **Bitiktas S**, Tan B, Kandemir B, Kavraal S, Liman N, Donmez-Altuntas H, Dursun N, Aksan-Kurnaz I, Süer C. Possible involvement of shifting NR2B subunit in impaired hippocampal function induced by 21-day thyroxine treatment. *European Neuropsychopharmacology* 2014; 24 (Suppl 2): S193.
- 13.** Süer C, Dursun N, Kavraal S, **Bitiktas S**, Tan B. Selenium supplementation may reduce impaired long-term potentiation and long-term depression induced by propylthiouracil treatment. *European Neuropsychopharmacology* 2014; 24 (Suppl 2): S285.