

T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANA BİLİM DALI

REM UYKU YOKSUNLUĞU SONRASI GELİŞEN
ÖĞRENME VE HAFIZA BOZUKLUĞUNDA ANG II
RESEPTÖR İNHİBİSYONUNUN GSK-3 β , CREB, BDNF
YOLAĞINA ETKİSİ

Dr. Nazan ELMA

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Hale SAYAN ÖZAÇMAK

ZONGULDAK

2023

T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANA BİLİM DALI

REM UYKU YOKSUNLUĞU SONRASI GELİŞEN
ÖĞRENME VE HAFIZA BOZUKLUĞUNDA ANG II
RESEPTÖR İNHİBİSYONUNUN GSK-3 β , CREB, BDNF
YOLAĞINA ETKİSİ

Dr. Nazan ELMA

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Hale SAYAN ÖZAÇMAK

ZONGULDAK
2023

*Bu çalışma Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. (BAP No:2022-26259946-01)*

ÖNSÖZ

“That we are not much sicker and much madder than we are is due exclusively to that most blessed and blessing of all natural graces, sleep.”

—Aldous Huxley

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı’nda uzmanlık eğitimime başladığım günden itibaren bana her konuda yardımcı olan, çalışma azmini örnek aldığım ana bilim dalı başkanımız ve tez danışmanım çok değerli hocam Prof. Dr. Hale SAYAN ÖZAÇMAK’a, eğitimim süresince güler yüzlü ve samimi tutumlarıyla desteğini her zaman hissettiğim Prof. Dr. Veysel Haktan ÖZAÇMAK’a, ilgisi ve sıcakkanlılığı ile her an yardıma açık olan Dr. Öğr. Üyesi İnci TURAN’a en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışmamın istatistiksel değerlendirmelerini yapan Dr. Öğr. Üyesi Fûruzan KÖKTÜRK’e ve deney aşamasında desteklerini aldığım Öğr. Gr. Meryem ERGENÇ, Arş. Gör. Dr. Ece DURMUŞ, Arş. Gör. Dr. Sefa ÖZDURAN, Vet. Hekim Osman CENGİL ve ana bilim dalımızda yüksek lisans eğitimini devam ettiren Fikriye ÖZÇELİK’e, uzmanlık eğitimim boyunca aynı ortamı paylaştığım tüm asistan arkadaşlarıma ve dekanlık personeline,

Hayatımın her anında sabrı ve sevgisiyle yanımda olan, desteğini her zaman hissettiğim sevgili eşim Arş. Gör. Dr. Yusuf ELMA’ya teşekkür ederim.

Zonguldak, 2023

Dr. Nazan ELMA

ÖZET

Nazan Elma, REM Uyku Yoksunluğu Sonrası Gelişen Öğrenme ve Hafıza Bozukluğunda Ang II Reseptör İnhibisyonunun GSK-3 β , CREB, BDNF Yolağına Etkisi, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, 2023

REM uyku yoksunluğunun öğrenme ve bellek üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Çalışmamızda REM uyku yoksunluğu (SD) kaynaklı gelişen öğrenme ve bellek bozulmalarında farklı dozlarda uygulanan anjiyotensin II reseptör blokörü telmisartanın etkisini araştırmayı ve olası etki mekanizmalarını hipokampus ve PFC dokularında GSK-3 β , CREB, BDNF düzeylerini belirleyerek açıklamayı amaçladık. Çalışmamızda ağırlıkları 200-300 g arasında değişen 3 aylık 32 adet yetişkin erkek Wistar-Albino cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar vücut ağırlıkları dikkate alınarak rastgele ve her grupta 8 sıçan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Bu gruplar 1) KONTROL, 2) SD, 3) SD+Tel1, 4) SD+Tel3. Kronik uyku yoksunluğu oluşturmak için kullandığımız modifiye çoklu platform tekniği grup 2, grup 3 ve grup 4'teki sıçanlarda 21 gün boyunca kullanıldı. Uyku yoksunluğunun ve telmisartanın öğrenme ve hafıza performansları üzerindeki etkilerini değerlendirmek için Morris su labirenti testi kullanıldı. Morris su labirenti testinden 1 saat önce grup 1 ve grup 2 sıçanlarına distile su; grup 3 sıçanlarına 1mg/kg/gün dozunda ve grup 4 sıçanlarına 3mg/kg/gün dozunda telmisartan 21 gün boyunca oral gavaj yoluyla uygulandı. Deney sonunda sıçanlardan alınan hipokampus ve PFC dokularında; BDNF, CREB, GSK-3 β , MCT2, LDH, plazmada CORT ve beyin dokusunda MDA, GSH, nitrat ve glikojen düzeyleri belirlendi. Öğrenme ve hafıza durumunu gösteren Morris su labirenti testi sonuçlarına bakıldığında öğrenmenin göstergesi olan platformu bulma süresinin SD ile uzadığı ve hafızanın göstergesi olan son gün hedef kadranda geçirilen sürenin SD ile kısaldığı gözlemlendi. Telmisartan tedavisinin SD'nin öğrenme ve hafıza üzerindeki olumsuz etkilerini azalttığı BDNF ve CREB seviyelerinde gözlenen artma ve GSK-3 β seviyelerinde gözlenen azalma ile saptandı. Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz bulgular, REM uyku yoksunluğu sonrası gelişen öğrenme ve bellek hasarının antioksidan etkinlik gösteren ve çalışmamızda iki farklı dozda kullanılan telmisartan ile GSK-3 β , CREB, BDNF sinyal yolları aracılığıyla tedavi edildiğini kanıtlamıştır.

Anahtar Kelimeler: REM uyku yoksunluğu, öğrenme, hafıza, GSK-3 β , CREB, BDNF.

SUMMARY

Nazan Elma, The effect of Ang II receptor inhibition on GSK-3 β , CREB, BDNF pathway in learning and memory impairment after REM sleep deprivation, Zonguldak Bülent Ecevit University Faculty of Medicine, Department of Physiology, Specialization Thesis in Medicine, 2023

Previous studies have shown that REM sleep deprivation has negative effects on learning and memory. In our study, we aimed to investigate the effect of the angiotensin II receptor blocker telmisartan, which is administered at different doses, in learning and memory impairments caused by REM sleep deprivation (SD), and to explain its possible mechanisms of action by determining the levels of GSK-3 β , CREB, BDNF in the hippocampus and PFC tissues. In our study, 3-month-old 32 adult male Wistar-Albino rats weighing between 200-300 g were used. Rats were randomly divided into 4 groups, taking into account their body weight, and 8 rats in each group. These groups are 1) CONTROL, 2) SD, 3) SD+Tel1, 4) SD+Tel3. The modified multi-platform technique we used to create chronic sleep deprivation was used in rats in group 2, group 3 and group 4 for 21 days. The Morris water maze test was used to evaluate the effects of sleep deprivation and telmisartan on learning and memory performances. 1 hour before the Morris water maze test, group 1 and group 2 rats received distilled water; Group 3 rats were administered telmisartan at a dose of 1mg/kg/day and group 4 rats at a dose of 3mg/kg/day by oral gavage for 21 days. At the end of the experiment, in the hippocampus and PFC tissues taken from rats; BDNF, CREB, GSK-3 β , MCT2, LDH, CORT in plasma and MDA, GSH, nitrate and glycogen levels in brain tissue were determined. When we look at the results of the Morris water maze test, which shows the learning and memory status, it was observed that the time to find the platform, which is an indicator of learning, was prolonged with SD, and the time spent in the target quadrant on the last day, which was an indicator of memory, was shortened with SD. It was determined that telmisartan treatment reduced the negative effects of SD on learning and memory, with an increase in BDNF and CREB levels and a decrease in GSK-3 β levels. The findings of our study proved that learning and memory damage after REM sleep deprivation was treated with telmisartan, which showed antioxidant activity and was used in two different doses in our study, through GSK-3 β , CREB, BDNF signaling pathways.

Keywords: *REM sleep deprivation, learning, memory, GSK-3 β , CREB, BDNF*

İÇİNDEKİLER	
	Sayfa
ÖNSÖZ	ii
ÖZET	iii
İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY)	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Uyku-Uyanıklık	4
2.1.1. Uykunun homeostatik düzenlenmesi	5
2.1.2. Sirkadiyen ritm	6
2.2. Uykunun Genel Özellikleri	7
2.2.1. NREM uykusu (yavaş dalga uykusu)	7
2.2.1.1. Evre N1 (NREM yüzeysel uyku)	8
2.2.1.2. Evre N2 (NREM yüzeysel uyku)	8
2.2.1.3. Evre N3 (NREM derin uyku)	9
2.2.1.4. NREM uyku döneminin oluşum mekanizması	9
2.2.2. REM uykusu	10
2.2.2.1. REM uyku döneminin oluşum mekanizması	10
2.2.3. Uykuda NREM-REM siklusu	12
2.3. Uyku Yoksunluğu ve Fizyolojik Etkileri	13
2.3.1. Nazik dokunuş (gentle handling) tekniği	15
2.3.2. Flowerpot tekniği	16
2.3.3. Çoklu platform ve modifiye çoklu platform tekniği	17
2.3.4. Dönen disk/su üstünde disk yöntemi	18
2.3.5. Sarkaç/Salıncak yöntemi	19
2.3.6. Koşu bandı ile uyarılma tekniği	20
2.3.7. Baş kaldırma tekniği	21
2.3.8. Elektriksel stimülasyon tekniği	22
2.4. Öğrenme ve Bellek	22
2.4.1. Belleğin aşamaları	24
2.4.2. Hayvan çalışmalarında uzamsal bellek değerlendirmesi	26
2.4.2.1. Morris su labirenti testi	27
2.5. Uyku Yoksunluğunun Öğrenme ve Bellek Üzerine Etkileri	28
2.6. Renin Anjiyotensin Sistemi ve Anjiyotensin II	35
2.6.1. Beyin renin anjiyotensin sistemi aracılı nörodejenerasyon	36
2.7. Anjiyotensin II Reseptör Blokörleri	37
2.7.1. AT1RB'nin beyin dokusu üzerindeki etkileri	37
2.7.2. AT1RB'nin öğrenme ve bellek üzerine etkileri	38
2.8. Telmisartan	39
3. GEREÇ VE YÖNTEM	41
3.1. Deney Hayvanları	41
3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	41

3.3. Uyku Yoksunluğu Oluşturma Tekniği	41
3.4. İlaç Uygulaması	43
3.5. Vücut Ağırlığı Ölçümü	44
3.6. Kan Şekeri Değeri Ölçümü	45
3.7. Kan Basıncı Ölçümü	45
3.8. Vücut Sıcaklığı Ölçümü ve EKG Analizi	46
3.9. Öğrenme ve Bellek Testi	47
3.10. Anestezi	48
3.11. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması	49
3.12. Değerlendirilen Parametreler	49
3.12.1. BDNF, CREB, GSK-3 β , MCT-2, LDH ve CORT düzeylerinin belirlenmesi	49
3.12.1.1. Fosfat tampon solüsyonunun (PBS) hazırlanması	50
3.12.1.2. Doku homojenatlarının hazırlanması	50
3.12.2. MDA düzeyinin belirlenmesi	51
3.12.3. GSH düzeyinin belirlenmesi	51
3.12.4. Glikojen düzeyinin belirlenmesi	52
3.12.5. Nitrat düzeyinin belirlenmesi	53
3.13. İstatistiksel Analiz	53
4. BULGULAR	54
4.1. Vücut Ağırlığı Sonuçları	54
4.2. Beyin/Vücut Ağırlığı Oranı Sonuçları	56
4.3. Kan Şekeri Sonuçları	57
4.4. Vücut Sıcaklığı Sonuçları	58
4.5. Kalp Hızı-RR İntervali Sonuçları	60
4.6. Kan Basıncı Sonuçları	62
4.7. Morris Su Labirenti Testi Sonuçları	63
4.8. <i>Probe Trail</i> Testi Sonuçları	66
4.9. ELISA Sonuçları	67
4.9.1. Hipokampus ve PFC BDNF sonuçları	67
4.9.2. Hipokampus ve PFC CREB sonuçları	69
4.9.3. Hipokampus ve PFC GSK-3 β sonuçları	73
4.9.4. Hipokampus ve PFC MCT2 sonuçları	76
4.9.5. Hipokampus ve PFC LDH sonuçları	80
4.9.6. Plazma CORT sonuçları	82
4.10. Biyokimyasal Parametre Sonuçları	84
4.10.1. Beyin ve PFC MDA sonuçları	84
4.10.2. Beyin ve PFC GSH sonuçları	86
4.10.3. Beyin nitrat sonuçları	89
4.10.4. Beyin glikojen sonuçları	90
5. TARTIŞMA	92
6. SONUÇLAR	104
7. KAYNAKLAR	105
8. EKLER	137
Ek 1: Etik Kurul Onayı	137

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simge/Kısaltma	Açıklamalar
REM	Hızlı göz hareketi
LTP	Uzun süreli güçlenme
SD	Uyku yoksunluğu
KSD	Kronik uyku yoksunluğu
BDNF	Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
cAMP	Siklik adenosin monofosfat
CREB	Siklik adenosin monofosfat yanıt elemanı bağlayıcı protein
GSK-3 β	Glikojen sentaz kinaz-3 β
LDH	Laktat dehidrogenaz
MCT	Monokarboksilat taşıyıcılar
RAS	Renin-anjiyotensin-aldosteron
Ang II	Anjiyotensin II
AT1R	Anjiyotensin II tip 1 reseptörü
ARB	Anjiyotensin reseptör blokörü
PPAR γ	Peroksizom proliferatörü ile aktive edilmiş reseptör gama
ARAS	Asendan retiküler aktive edici sistem
PPT	Pedünkülopontin tegmental
LDT	Laterodorsal tegmental
LC	Locus ceruleus
vPAG	Ventral periaquaduktal gri madde
TMN	Tuberomammiller çekirdek
MCH	Melanin konsantrasyon edici hormon
GABA	Gama aminobütirik asit
VLPO	Ventrolateral preoptik çekirdek
SCN	Suprakiazmatik çekirdek
EEG	Elektroensefalografi
EMG	Elektromiyografi
EOG	Elektrookülografi
SWS	Yavaş dalga uykusu
LGB	Lateral genikulat cisim
PGO	Pontogenikulo-oksipital
cLDT	Kaudal laterodorsal tegmental çekirdek
SLD	Sublaterodorsal çekirdek
PC	Preseruleus bölgesi
svh	Spinal ventral boynuzun
vM	Ventral mediyal medullanın
MN	Motor nöron
vPAG	Ventrolateral periaquaduktal gri madde
LPT	Lateral pons tegmentum
OX	Oreksin
HPA	Hipotalamik-hipofiz-adrenal
CRH	Kortikotropin salgılatıcı hormon

ACTH	Adrenokortikotropik hormonun
VKİ	Vücut kitle indeksi
MMPM	Modifiye çoklu platform yöntemi
AMPA	α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolepropionik asit
NMDA	N-metil-D-aspartat
CaMKII	Ca ²⁺ / kalmodulin bağımlı kinaz 2
PKA	Protein kinaz A
MAP	Mitojenle aktive olan protein
DG	Dentat girus
PDE4	Fosfodiesteraz 4
Ang I	Anjiyotensin I
ACE	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
AT2R	Anjiyotensin II tip 2 reseptörü
KBB	Kan-beyin bariyeri
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NOX	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat oksidaz
ROS	Reaktif oksijen türleri
b-RAS	Beyin RAS
GFAP	Glial fibriler asidik protein
CORT	Kortikosteron
AT1RB	Anjiyotensin II tip 1 reseptör blökörü

TABLolar DİZİNİ

Tablonun Numarası	Tablonun Başlığı	Sayfa No
1	Vücut ağırlıklarının haftalık grup içi karşılaştırmaları	54
2	Vücut ağırlıklarının haftalık yüzde değişimlerinin gruplar arası karşılaştırmaları	56
3	Beyin/vücut ağırlığı oranının gruplar arası karşılaştırmaları	57
4	Kan şekeri düzeylerinin haftalık grup içi karşılaştırmaları	58
5	Vücut sıcaklıklarının grup içi karşılaştırmaları	59
6	Vücut sıcaklıklarının gruplar arası karşılaştırmaları	59
7	Kalp hızı ve RR intervali değerlerinin gruplar arası karşılaştırmaları	60
8	Kan basınçlarının haftalık grup içi karşılaştırmaları	62
9	Kan basınçlarının haftalık gruplar arası karşılaştırmaları	63
10	Platformu bulma sürelerinin grup içi karşılaştırmaları	64
11	Platformu bulma sürelerinin gruplar arası karşılaştırmaları	65
12	Hedef kadranda geçirilen sürenin gruplar arası karşılaştırmaları	66
13	Hipokampus ve PFC BDNF düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	68
14	Hipokampus ve PFC CREB düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	70
15	Hipokampus BDNF ve CREB düzeyleri korelasyon analizi	71
16	Morris su labirenti testi 4.gün platformu bulma süresi ve PFC CREB düzeyleri korelasyon analizi	72
17	Hipokampus ve PFC GSK-3 β düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	74
18	Morris su labirenti testi 4.gün platformu bulma süresi ve PFC GSK-3 β düzeyleri korelasyon analizi	75
19	Hipokampus ve PFC MCT2 düzeyleri gruplar arası karşılaştırmaları	77
20	Morris su labirenti testi 4.gün platformu bulma süresi ve hipokampus MCT2 düzeyleri korelasyon analizi	78
21	Hipokampus ve PFC MCT2 düzeyleri korelasyon analizi	79
22	Hipokampus ve PFC LDH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	81
23	Plazma CORT düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	83
24	Beyin ve PFC MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	84

25	PFC MDA ve GSK-3 β düzeyleri korelasyon analizi	86
26	Beyin ve PFC GSH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	87
27	<i>Probe trail</i> testi ve PFC GSH düzeyleri korelasyon analizi	88
28	Beyin nitrat düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	89
29	Beyin glikojen düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	90



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil Numarası	Şeklin Başlığı	Sayfa No
1	Uyku ve sirkadiyen ritimlerin ARAS aracılı hipotalamik düzenlenmesi	5
2	Uykunun evreleri	7
3	EEG kaydı esnasında uyku evrelerinde gözlenen dalga tipleri	8
4	REM uykusunun düzenlenmesi	11
5	Uyku evreleri süresince REM-on ve REM-off nöronları aracılı salgılanan nörotransmitterler	12
6	Nazik dokunuş (gentle handling) tekniği	16
7	Flowerpot tekniği	17
8	Çoklu platform ve modifiye çoklu platform tekniği	18
9	Dönen disk/su üstünde disk yöntemi	19
10	Sarkaç/Salıncak yöntemi	20
11	Koşu bandı ile uyarılma tekniği	21
12	Baş kaldırma tekniği	21
13	Bellek tipleri	24
14	Bellek oluşum aşamaları	26
15	Hipokampus trisinaptik devresi	29
16	Uyku yoksunluğunun ardından hipokampal sinyal yollarına şematik bir genel bakış	34
17	Modifiye çoklu platform tekniğinin uygulandığı kafesler	43
18	Oral gavaj ile ilaç uygulanması	44
19	Vücut ağırlığı ölçümü	44
20	Kan şekeri değeri ölçümü	45
21	Kan basıncı ölçümü	46
22	Vücut sıcaklığı ölçümü ve EKG analizi	47
23	Morris su labirenti testi (saklı platform)	48
24	<i>Probe trail</i> testi	48
25	Haftalık grup içi vücut ağırlık değişimi	55
26	Vücut ağırlıklarının haftalık yüzde değişimlerinin gruplar arası karşılaştırmaları	56
27	Beyin/vücut ağırlığı oranının gruplar arası karşılaştırması	57
28	Kan şekeri düzeylerinin haftalık grup içi karşılaştırmaları	58
29	Vücut sıcaklıklarının grup içi karşılaştırmaları	59
30	Vücut sıcaklıklarının gruplar arası karşılaştırmaları	60
31	Kalp hızı değerlerinin gruplar arası karşılaştırması	61
32	RR intervali değerlerinin gruplar arası karşılaştırması	61
33	Kan basınçlarının haftalık grup içi karşılaştırmaları	62
34	Kan basınçlarının haftalık gruplar arası karşılaştırmaları	63
35	Platformu bulma sürelerinin grup içi karşılaştırmaları	65
36	Platformu bulma sürelerinin gruplar arası karşılaştırmaları	66
37	Hedef kadranda geçirilen sürenin gruplar arası karşılaştırmaları	67

38	Hipokampüs BDNF düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	68
39	PFC BDNF düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	69
40	Hipokampüs ve PFC için ELISA BDNF standart eğrisi	69
41	Hipokampüs CREB düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	70
42	Hipokampüs BDNF ve CREB düzeyleri korelasyon analizi	71
43	PFC CREB düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	72
44	Morris su labirenti testi 4.gün platformu bulma süresi ve PFC CREB düzeyleri korelasyon analizi	73
45	Hipokampüs ve PFC için ELISA CREB standart eğrisi	73
46	Hipokampüs GSK-3 β düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	74
47	PFC GSK-3 β düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	75
48	Morris su labirenti testi 4.gün platformu bulma süresi ve PFC GSK-3 β düzeyleri korelasyon analizi	76
49	Hipokampüs ve PFC için ELISA GSK-3 β standart eğrisi	76
50	Hipokampüs MCT2 düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	77
51	Hipokampüs MCT2 düzeyleri ve Morris su labirenti testi 4.gün platformu bulma süresi korelasyon analizi	78
52	PFC MCT2 düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları.	79
53	Hipokampüs ve PFC MCT2 düzeyleri korelasyon analizi	80
54	Hipokampüs ve PFC için ELISA MCT2 standart eğrisi	80
55	Hipokampüs LDH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	81
56	PFC LDH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	82
57	Hipokampüs ve PFC için ELISA LDH standart eğrisi	82
58	Plazma CORT düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	83
59	Plazma için ELISA CORT standart eğrisi	84
60	Beyin MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	85
61	PFC MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	85
62	PFC MDA ve GSK-3 β düzeyleri korelasyon analizi	86
63	Beyin GSH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	87
64	PFC GSH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	88
65	<i>Probe trail</i> testi ve PFC GSH düzeyleri korelasyon analizi	89
66	Beyin nitrat düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	90
67	Beyin glikojen düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları	91

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Uyku, merkezi sinir sisteminin normal işleyişinde önemli bir role sahiptir (1) ve yeni edinilen bilgilerin bellekte konsolidasyonunu sağlayan fizyolojik bir süreçtir (2). Uyku iki ana aşamadan oluşmaktadır; hızlı göz hareketi (REM) uykusu (paradoksal uyku) ve non-REM uykusu (3). Birçok davranışsal, fizyolojik, hücrel ve moleküler çalışma, uykunun hafızanın sağlamlaştırılmasında önemli bir rol oynadığını öne sürmektedir (4–6). Yapılan çalışmalar, REM uykusunun hafızanın iyileştirilmesi ve modülasyonunun yanı sıra hafıza konsolidasyonunu da etkilediğini göstermektedir (7,8). Öğrenme sonrası uyku süresinin uzaması (9) ve REM uykusu sonrası bellek performansında artış (10) uykunun öğrenme ve bellek üzerinde etkili olduğunu desteklemektedir (11,12). Öğrenme sonrası dönemde yeterli miktarda uyumanın hipokampus sinaptik plastisitesinin artmasında önemli olduğu gösterilmiştir (2). Uzun süreli güçlenme (LTP), hafızanın oluşumunda rol oynayan ve hipokampüste gerçekleşen sinaptik elektriksel bir aktivitedir (13). Birçok çalışma, uyku yoksunluğunun, sinaptik plastisitenin bir göstergesi olan LTP üzerinde olumsuz etkileri olabileceğini göstermiştir (14–16).

Uyku yoksunluğu, yetersiz miktarda veya kalitede uyku durumu olarak tanımlanmaktadır (17). Yoğun ve modern yaşam tarzı nedeniyle yetişkinlerin büyük çoğunluğunun yeterli uyku uyumadığı ve uyku yoksunluğunun (SD) fizyolojik düzeni olumsuz yönde etkileyen ciddi sonuçlara yol açtığı belirtilmektedir (18,19). Kronik uyku yoksunluğu (KSD) ise, artan oksidatif stres, inflamatuvar yanıtlar, hafıza bozukluğu (20) ve otonom sinir sistemindeki değişiklikler (21) gibi çeşitli biyolojik etkilere neden olabilmektedir. Ayrıca, uyku yoksunluğuna bağlı otonom sinir disfonksiyonunun da kardiyovasküler hastalık için bir risk faktörü olduğu bulunmuştur (22).

Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), nöronların ve sinapsların büyümesini ve farklılaşmasını artıran bir nörotrofindir (23). Torabi-Nami ve ark. (24), total uyku yoksunluğunun ve kronik kısmi uyku kısıtlamasının, serum BDNF seviyelerinde düşmeye neden olduğunu göstermiştir. Ayrıca hipokampus BDNF yapımının da SD ile azaldığı gösterilmiştir (25,26). Siklik adenozin monofosfat (cAMP) yanıt elemanı bağlayıcı protein (CREB) de sinaptik plastisitede önemli rolü olan transkripsiyon faktörlerindendir.

Uyku yoksunluğu sonrası hipokampus CREB yapımında da azalma olduğu kanıtlanmıştır (27). Bir serin/treonin kinaz olan glikojen sentaz kinaz-3 β (GSK-3 β), merkezi sinir sisteminde bol miktarda bulunur ve çok sayıda hücresel fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynar (28). GSK-3 β 'nin inhibisyonu nöroprotektiftir ve yapılan bir çalışmada anjiyotensin II reseptör blokörü olan telmisartanın, inaktif GSK-3 β seviyesini arttırdığı gösterilmiştir (28). Laktat dehidrogenaz (LDH), laktatın piruvata geri dönüşümlü dönüşümünü katalize eden bir enzimdir. LDH-1 ise, büyük ölçüde beyinde bulunan bir LDH izoformudur (29). Serumdaki LDH düzeylerinin sinir hasarının şiddeti ile orantılı olduğu yapılan bir çalışma ile kanıtlanmıştır (30). Monokarboksilat taşıyıcılar (MCT'ler), beyin monokarboksilatlarının (laktat gibi) nöronlara taşınmasını sağlayan sistemlerdir (31). Şimdiye kadar açıklanan 14 farklı tipten MCT1, MCT2 ve MCT4, merkezi sinir sisteminde bulunmaktadır ve önceki çalışmalar, nöronlarda ve astrositlerde yapılan MCT2'nin nöronlara laktat alımında rol oynadığını göstermiştir (32).

Renin-anjiyotensin-aldosteron (RAS) sistemi, kardiyovasküler fizyoloji ve patofizyolojide çok önemli roller oynamaktadır (33). Anjiyotensin II (Ang II) tip 1 reseptörünün (AT1R), organizmada pek çok Ang II fonksiyonuna aracılık ettiği bildirilmektedir (33). Beyinde AT1R'nin aşırı uyarılması nöroinflamasyon, mikrogial aktivasyon, oksidatif stres ve nöronal kayıp ile ilişkilidir (34,35). Yapılan çalışmalar inme sonrası anjiyotensin reseptör blokör (ARB) lerinin nöroprotektif etkilerini göstermiştir. Örneğin, yapılan hayvan çalışmalarında ARB'ler, atım hacminde azalma, serebrovasküler inflamasyonun sınırlandırılması ve serebrovasküler yeniden şekillenmenin tersine çevrilmesi gibi yararlı etkiler göstermiştir (36). ARB'lerden biri olan telmisartan, hem AT1R'yi bloke ederken hem de karbonhidrat ve lipid metabolizmasının yanı sıra enflamatuar yolu düzenleyen peroksizom proliferatörü ile aktive edilmiş reseptör gamma (PPAR γ) yı kısmen aktive edebilmektedir (37). Bu çeşitli mekanizmalar sayesinde, telmisartanın nöroinflamasyonu ve oksidatif stresi inhibe ederek nöroprotektif etkiler gösterdiği bildirilmektedir (38,39).

Bu tez çalışmasında kronik uyku yoksunluğu modeli oluşturulan sıçanlarda anjiyotensin II reseptör blokörü olan telmisartanın öğrenme ve hafıza üzerinde bir etkisinin olup olmadığını ve varsa hangi sinyal yolları aracılığıyla bu etkiyi gösterdiğini incelemeyi planladık. Literatürde kronik uyku yoksunluğu sonrası öğrenme ve hafıza üzerinde

telmisartanın etkilerini inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmamız Ang II reseptör blokörü telmisartanın kronik REM uyku yoksunluğu sonrası gelişen öğrenme ve hafıza bozukluğu üzerindeki etkilerini gösteren ilk çalışmadır. Daha önceki çalışmalarda REM uyku yoksunluğunun öğrenme ve hafıza üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu gösterilmiştir (40). Morris su labirenti testi de öğrenme ve belleğin değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılan testlerden biridir.

Biz de bu tez çalışmamızda;

- Çoklu modifiye platform metodu (41) ile REM uyku yoksunluğu modeli oluşturduk.
- Morris su labirenti testi ile öğrenme ve belleği değerlendirdik.
- Prefrontal korteks ve hipokampus dokularında öğrenme ve bellek üzerinde olumlu etkileri olduğu bilinen 2 sinyal molekülü olan BDNF ve CREB düzeylerini,
- Prefrontal korteks ve hipokampus dokularında öğrenme ve bellek üzerinde ne şekilde etkinliğini olduğunu merak ettiğimiz GSK-3 β düzeylerini,
- Kronik uyku yoksunluğu ve beyin enerji metabolizmasını gösterebilmek için prefrontal korteks ve hipokampus dokularında MCT2 ve LDH düzeylerini,
- Kronik uyku yoksunluğu ve stres ilişkisini gösterebilmek için plazma CORT düzeylerini ELISA yöntemi ile tespit ettik.
- Kronik uyku yoksunluğu ve oksidatif stres ilişkisini gösterebilmek için prefrontal korteks dokusunda MDA ve GSH düzeylerini ve beyin dokusunda MDA, GSH ve nitrat düzeylerinin ölçümünü biyokimyasal yöntemler kullanarak gerçekleştirdik.
- Kronik uyku yoksunluğu ve beyin enerji metabolizmasını gösterebilmek için beyin dokusunda glikojen düzeylerini biyokimyasal yöntemler kullanarak belirledik.
- İki farklı dozda (1mg/kg ve 3mg/kg) kullanılan Ang II reseptör blokörü '*telmisartan*'ın tüm bu parametreler üzerindeki etkinliğini araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Uyku-Uyanıklık

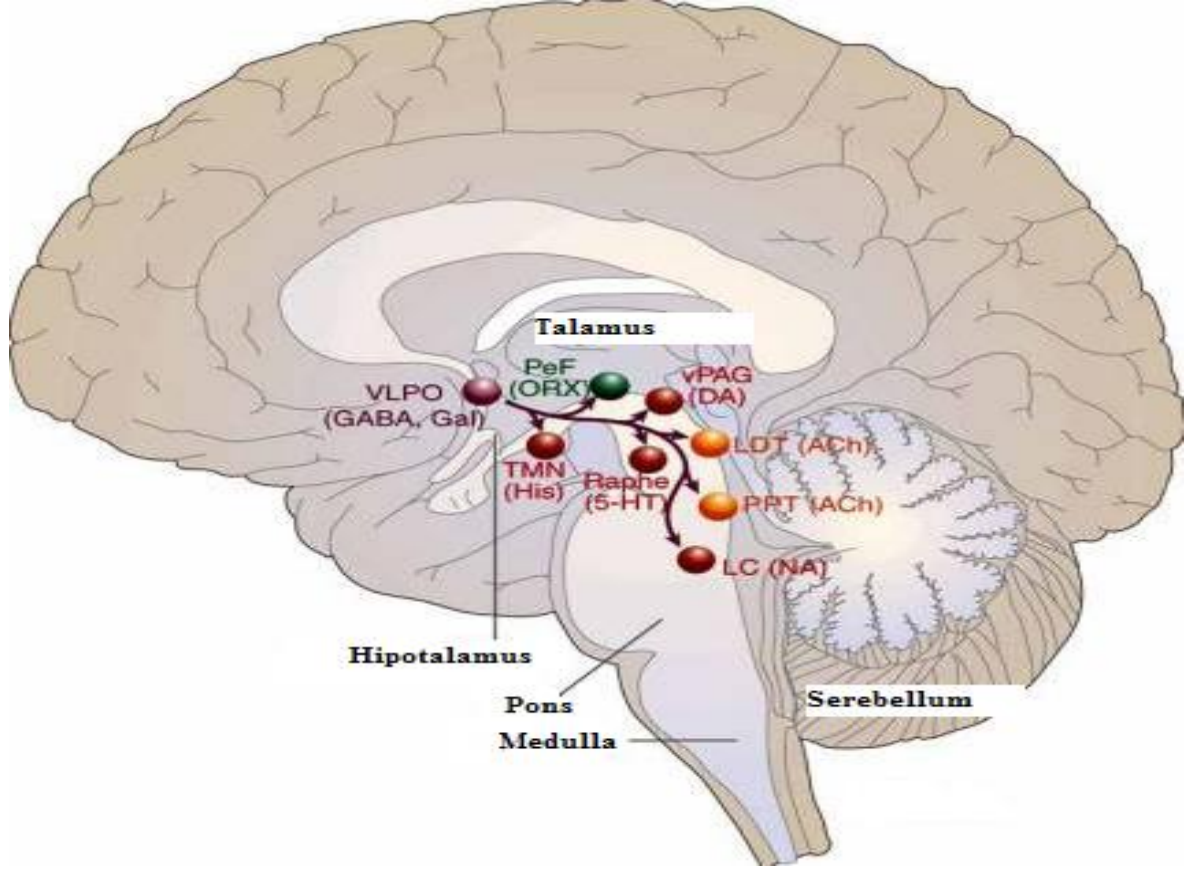
Uyanma davranışı, pons ve orta beyin birleşim yerine bitişik üst beyin sapından kaynaklanan ve iki dala ayrıldığı diensefalondan devam eden bir "Assendan Retiküler Aktive edici Sistem" (ARAS) tarafından gerçekleştirilir (42,43). Ayrıldığı iki daldan biri talamusu innerve ederken ikincisi lateral hipotalamus, bazal ön beyin ve serebral kortekse uzanır (44–46). ARAS üzerindeki her bir hücre grubu farklı nörotransmitterler içermektedir (46).

Talamusu innerve eden ilk dal, talamokortikal iletim için gerekli olan nöronları ve retiküler çekirdekleri aktive eder (47). Beyin sapındaki ve bazal ön beyindeki iki kolinerjik yapı, talamokortikal iletimi sağlamak amacıyla ana talamik çekirdekler olan pedünkülopontin tegmental (PPT) ve laterodorsal tegmental (LDT) çekirdeklerini aktive eder (48). PPT ve LDT nöronları en çok uyanıklık ve REM uykusu sırasında aktiftir (49).

Lateral hipotalamus, bazal ön beyin ve serebral korteksi innerve eden ikinci dal, Locus seruleus (LC)'un noradrenerjik nöronları, serotonerjik dorsal ve medyan raphe çekirdekleri, ventral periaquaduktal gri maddenin (vPAG) dopaminerjik nöronları ve histaminerjik tuberomammiller çekirdek (TMN) dahil olmak üzere bir dizi monoaminerjik hücre popülasyonunu içerir (47).

Bu ARAS sistemi dışında, melanin konsantre edici hormon (MCH) veya oreksin/hipokretin içeren lateral hipotalamik peptiderjik nöronlar ve asetilkolin veya GABA içeren bazal ön beyin çekirdekleri gibi birkaç ek serebrokortikal afferent yol da uyanıklık için gerekli olan tanımlanmış yollardandır (49). Bu monoaminerjik sistemlerdeki nöronlar geniş aksiyon potansiyellerine sahiptir ve uyanıklık sırasında en hızlı şekilde deşarj olurlar. Bu durum NREM uykusu sırasında yavaşlar ve REM uykusu sırasında çok azalır (50,51). Lateral hipotalamusun oreksin/hipokretin nöronlarında da benzer durum görülmektedir (52). Buna karşılık, REM homeostazında önemli bir rol oynayan melanin konsantre edici nöronlar, REM uykusu sırasında güçlü bir şekilde aktiftir. Ayrıca bazal ön beyindeki

kolinerjik nöronlar, hem REM uykusu hem de aktif uyanma sırasında maksimum hızlarda deşarj oluştururlar (53).



Şekil 1: Uyku ve sirkadiyen ritimlerin ARAS aracılı hipotalamik düzenlenmesi (49).

2.1.1. Uykunun homeostatik düzenlenmesi

Homeostatik bir süreç olarak uyku, vücudun rahatsız olduğunda dengeye dönmesini sağlayan onarıcı bir süreçtir. Vücutta uyku yoksunluğu sonrası kaybı telafi etmek için ekstra telafi edici uyku eğilimi bulunmaktadır. Uzun süreli uyanıklık dönemlerinde uyku ihtiyacını kaydeden bir substrat veya protein tüketildiğine inanılmaktadır (54). Altta yatan mekanizmalar belirsizliğini koruyor olsa da bazal ön beyinde artan adenozeinin, homeostatik kontrolün kilit bir aracı olduğu yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (55). Artan adenozeinin salınımı, uyku ihtiyacının artmasına eşlik eder, bu da nükleozit olan adenozeinin, uykunun

homeostatik kontrolünde rol oynayabileceğini düşündürmektedir (56). Uyanıklık dönemlerinde, vücudun ana enerji deposu olan glikojen tükenir (57). Glikojen adenozine parçalanırken, hücre dışı adenozin seviyeleri bazal ön beyinde birikmeye başlar (58). Uyku yoksunluğu sonrası telafi edilen uyku ile de beyin glikojen depoları yenilenir (57,59). Ayrıca adenozin, GABAerjik girdileri engelleyerek ventrolateral preoptik çekirdek (VLPO) nöronlarını uyarabilmekte (60) ve bazal ön beyin uyarılma sistemini inhibisyonunu sağlayıp VLPO çekirdeğini aktive ederek uyku ihtiyacının homeostatik düzenleyicisi olarak işlev görmektedir (47).

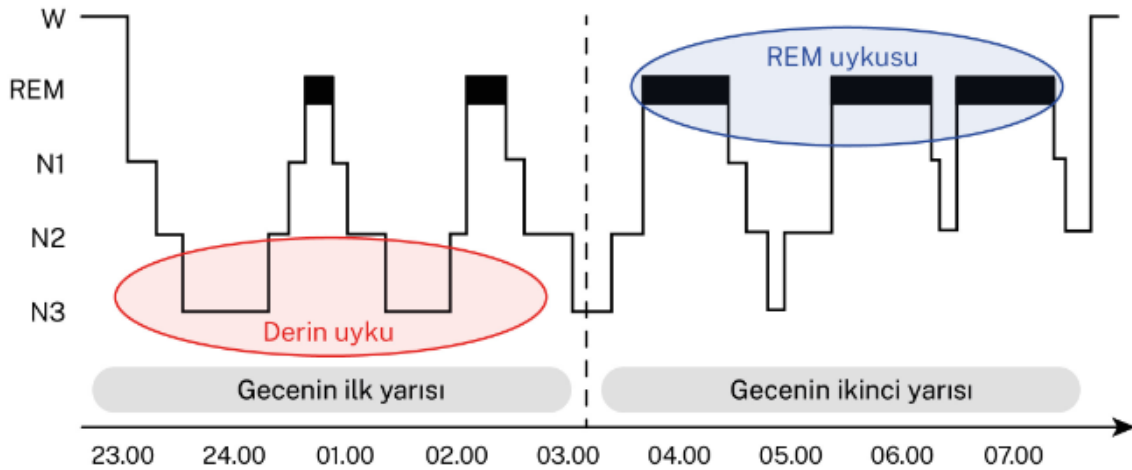
2.1.2. Sirkadiyen ritm

Uyku-uyanıklık siklusunun düzenlenme mekanizması sirkadiyen etkileri de içerir (54). Dijk ve Czeisler yaptıkları bir çalışmada insanlarda uykunun düzenlenmesinde endojen sirkadiyen pace maker'ın önemli rolü olduğunu ve uyku eğilimi ile uyku yapısının sirkadiyen ritm ve uyku-uyanıklığa bağlı olarak salınım gösteren endojen sistemlerin etkileşimlerinden kaynaklandığını göstermişlerdir (61). Bu endojen sirkadiyen ritmi kontrol eden yer ise, hipotalamusun suprakiazmatik çekirdeğidir (SCN). Sirkadiyen programı yöneten SCN, beyin "ana saati" olarak adlandırılmaktadır. Bu alanın harabiyetinin insanlarda uyku-uyanıklık döngüsünün bozulmasına neden olduğu gösterilmiştir (62).

Nöronların 24 saatlik bir döngüde uyarıldığı sirkadiyen zamanlama, vücutta yer alan dokuya özgü yapıların bir hiyerarşisinde düzenlenir. Bu dokuya özgü ritimler; gündüz, dış dünyadan gelen ışık girişine dayalı olarak SCN tarafından ve gece, melatonin salgılanmasıyla koordine edilir (63). Yapılan bir çalışmada primat SCN lezyonlarının hem sirkadiyen ritm kaybına hem de toplam uyku süresinde artışa neden olduğu bulunmuştur (64). Bu durum SCN ile yönetilen sirkadiyen ritm ve uyku-uyanıklık döngüsünü ayarlayan homeostatik süreç arasında bir etkileşim ve denge olduğunu kanıtlamıştır.

2.2. Uykunun Genel Özellikleri

Uyku sadece uyanık olmama durumu değildir, motor aktivite ve dış çevre ile etkileşimin azaldığı, kolaylıkla tekrar uyanıklılık durumuna geri dönüşümün olabilmesi ile karakterize aktif bir nörofizyolojik süreçtir (65,66). Uyku, ana işlevi belirsizliğini korumakla birlikte hayatta kalmak için gereklidir ve farklı ancak birbiriyle örtüşen iki sistem olan sirkadiyen sistem ve uyku/uyanıklık homeostazı tarafından düzenlenir (67). Uyku süresi boyunca döngüsel olarak değişen NREM ve REM adı verilen iki dönemden oluşur. Uyku-uyanıklık döngüsü; kafa derisi üzerinden kaydedilen elektriksel aktivite (elektroensefalografi, EEG), kas aktivitesi (elektromiyografi, EMG), göz hareketleri (elektrookülografi, EOG), kalp hızı, solunum, ekstremitte hareketleri ve vücut-cilt sıcaklığı ölçümlerini içeren polisomnografik kayıtlar kullanılarak tanımlanabilir (68).

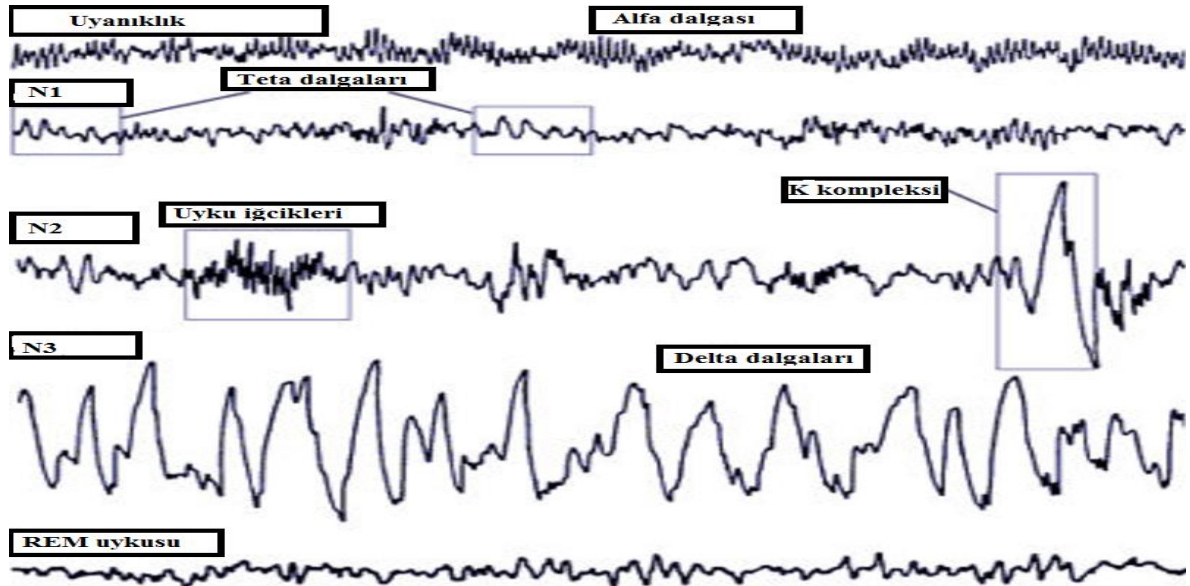


Şekil 2: Uykunun evreleri. (69)

2.2.1. NREM uykusu (yavaş dalga uykusu)

Sağlıklı bir erişkinde uyku NREM ile başlar ve normal bir gece uykusunun %75-80'ini oluşturur. NREM uykusu sırasında EEG'de, düşük genlikli karışık frekanslı aktivite,

teta ritmi, K kompleksleri, uyku iğcikleri ve yavaş delta dalgaları gözlenmektedir (70). NREM, EEG ile ayırt edilebilen 3 farklı evreye ayrılır:



Şekil 3: EEG kaydı esnasında uyku evrelerinde gözlenen dalga tipleri (71).

2.2.1.1. Evre N1 (NREM yüzeyel uyku)

Hafif uyku ya da somnolans olarak isimlendirilen ve yetişkinlerde toplam uykunun % 5-10'unu oluşturan dönemdir. Bu, genellikle uyku ile uyanıklık arasında ve bazen daha derin uyku dönemleri ile REM dönemleri arasında ortaya çıkan bir uyku dönemidir. Kaslar aktiftir ve gözler yavaşça yuvarlanır, orta derecede açılıp kapanır. Beyin, 8-13 Hz frekansındaki (uyanık durumda yaygın olan) alfa dalgalarından, 4-7 Hz frekansındaki teta dalgalarına geçiş yapar. Miyoklonus olarak da bilinen ani seğirmeler ve hipnik kasılmalar, N1 evresinde uykunun başlamasıyla ilişkilendirilebilir (70,72). Uyanıklık dönemine kıyasla daha az EMG aktivitesi gözlenir.

2.2.1.2. Evre N2 (NREM yüzeyel uyku)

Yetişkinlerde toplam uykunun % 45-55'ini oluşturur. Bu aşamada teta aktivitesi gözlenir ve uyuyan kişiyi uyandırmak giderek zorlaşır; önceki aşamada gözlenen alfa

dalgaları azalır veya kaybolur. Uyku iğcikleri (veya talamokortikal iğcikler) ve K-kompleksleri adı verilen ani aktiviteler ortaya çıkar. Uyku iğciklerinin frekansı 11 ila 16 Hz (en yaygın olarak 12–14 Hz) arasındadır. Evre N1'e göre daha düşük EMG aktivitesi kaydedilir (70,72).

2.2.1.3. Evre N3 (NREM derin uyku)

Evre N3, derin uyku veya yavaş dalga uykusu (SWS) olarak isimlendirilen yetişkinlerde toplam uykunun yüzde 15-25'ini oluşturan dönemdir. SWS, preoptik alanda başlatılır ve 0-4 Hz'de yüksek genlikli yavaş dalgalar olan delta dalgaları bu dönemde gözlenir. Uyuyan kişi çevreye daha az duyarlıdır; birçok çevresel uyaran artık herhangi bir reaksiyon üretmez. Yavaş dalga uykusunun en dinlendirici uyku şekli olduğu düşünülmektedir. Diğer NREM evrelerine kıyasla daha düşük EMG aktivitesi gözlenir (70,72).

2.2.1.4. NREM uyku döneminin oluşum mekanizması

NREM uyku döneminin kontrolü, bazal önbeyin alanı, talamusun retiküler çekirdeği, hipotalamusun preoptik alanı, beyin sapının dorsal rafe nükleusu ve medulla oblongatanın traktus solitarius bölgesi tarafından sağlanır (73). Bazal ön beyin, NREM uykusunun 3. döneminin oluşumunu sağlayan bölgedir ve preoptik alan ile Broca'nın diagonal bölgesini kapsamaktadır (73). Bazal ön beyin VLPO çekirdeğinde GABAerjik nöronlar bulunur. Uykuda aktif olan bu GABAerjik nöronlar, histaminerjik ve diğer uyanıklık oluşturan hücre gruplarını inhibe ederek uykunun başlatılmasında ve sürdürülmesinde aktif rol almaktadır. GABAerjik nöronlar aracılığıyla salınan Gama-Aminobutirik Asit (GABA), yavaş dalga uykusu (NREM) süresince posterior hipotalamustan salgılanır (74). Adenozin ise yine yavaş dalga uykusunda rol oynadığı düşünülen ve uykuyu takiben miktarı azalan bir nükleozittir (47,75) . Bu nedenle uykunun humoral düzenlenmesinde aranan “uyku faktörü” olarak düşünülmektedir (76). Ayrıca yavaş

dalga uykusunun başlatılmasında genellikle rafe nükleusunun serotonerjik nöronlarının kortikal aktivasyonu azaltması etkili olurken, NREM Evre N2 EEG'sinde gözlenen talamokortikal uyku iğciklerinin oluşumundan ise talamusun retiküler çekirdekleri sorumludur (77).

2.2.2. REM uykusu

REM uykusu, rüyanın olduğu uyku dönemidir. Kas felci, hızlı göz hareketleri, aktive edilmiş bir serebral korteks gibi çeşitli bireysel bileşenlere yol açan karmaşık ve anatomik olarak dağıtılmış nöral devreler tarafından üretilir (78).

REM uykusunun davranışsal durumu başlangıçta okülomotor kasların patlayıcı tarzda çalışması sonucu gözlenen hızlı göz hareketlerine dayanarak ayırt edilirken yapılan çalışmalar sonucunda REM uykusunu tanımlayan birçok değişken olduğu anlaşılmıştır. Bu tanımlayıcı parametreler; uyanıklık dönemindeki benzer düşük amplitüdlü ve hızlı frekanslı kortikal EEG kaydı, yüksek amplitüdlü teta dalgalarını içeren hipokampal EEG kaydı, pons, lateral genikulat cisim (LGB) ve görsel korteksten kayıt alarak pontogenikulo-okspital (PGO) dikenleri gösteren elektrookülografi (EOG) kaydı, iskelet kası aktivitesinin baskılanması, aralıklı kas seğirmelerinin varlığı, beyin/vücut sıcaklığındaki dalgalanmalar ve yüksek bir uyarılma eşiğinin oluşudur (79,80).

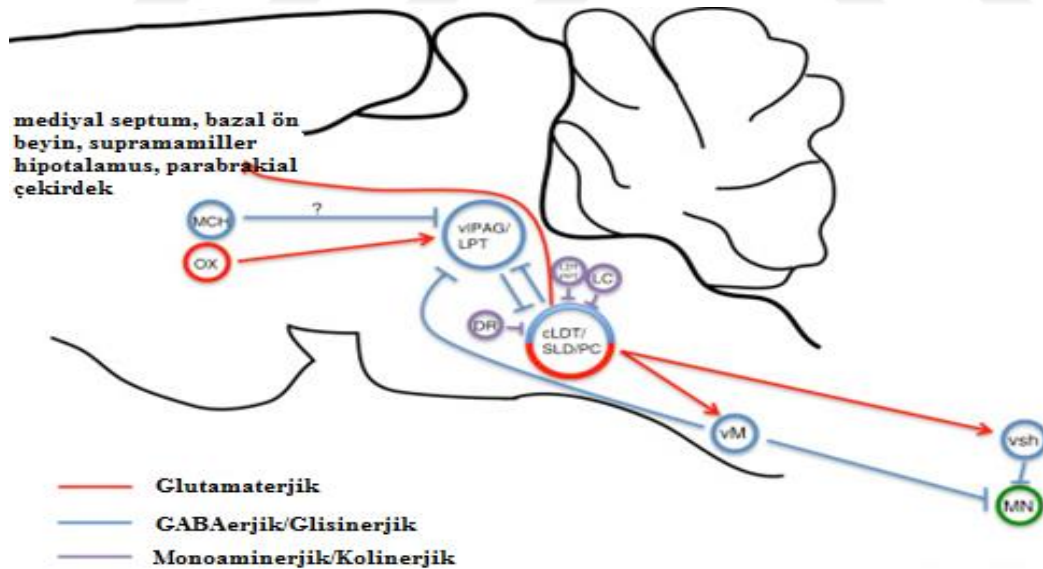
Toplam uyku süresinin % 20-25'ini kapsayan REM uykusu dönemi, insanlarda 90-120 dakikalık REM uyku periyotları şeklinde gözlenir (81,82).

2.2.2.1. REM uyku döneminin oluşum mekanizması

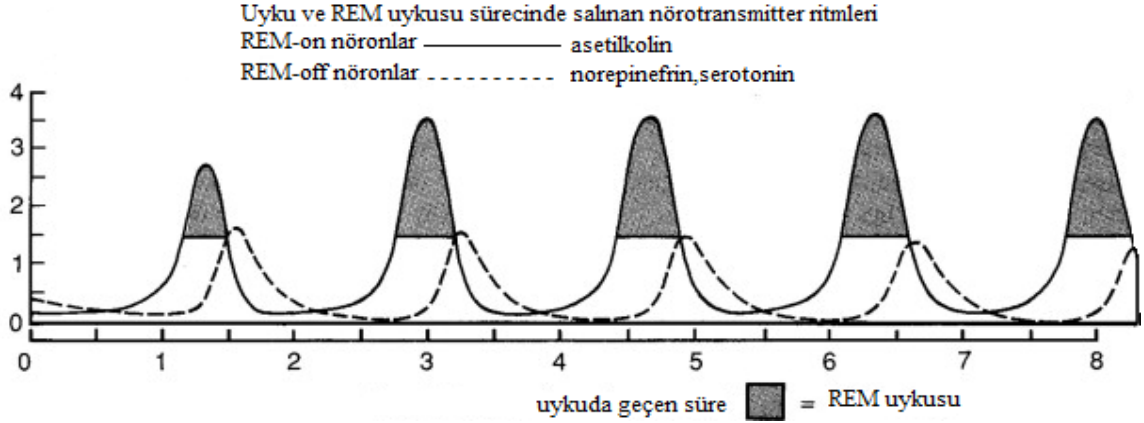
Kaudal laterodorsal tegmental çekirdek (cLDT), sublaterodorsal çekirdek (SLD) ve preserulus bölgesi (PC) birlikte, REM uykusu için yürütücü bir pontin devre elemanı içerir. Ventral SLD'nin REM-on glutamaterjik nöronları, spinal ventral boynuzun (svh) glisinergic internöronlarının doğrudan sinaptik aktivasyonu ve ayrıca ventral mediyal medullanın (vM)

GABAerjik/glisinerjik nöronları aracılığıyla REM uykusunda gözlenen motor atoniye aracılık eder. Ventral mediyal medulla nöronları, spinal ventral boynuzun motor nöronlarını (MN) inhibe eder. Ayrıca SLD'nin REM-on GABAerjik nöronları, ventrolateral periaquaduktal gri madde ve lateral pons tegmentumun (vlPAG/LPT) REM-off GABAerjik nöronları ile karşılıklı olarak bağlantılıdır. vM'nin GABAerjik nöronları ayrıca REM uykusunu sürdürebilir ve bunu REM-off vlPAG/LPT nöronlarını inhibe ederek yapar.

Oreksin (OX) içeren lateral hipotalamik nöronlar, REM-off vlPAG/LPT nöronları üzerinde uyarıcı ve dengeleyici sinaptik kontrol sağlar. REM-off noradrenerjik lokus seruleus ve serotoninergik dorsal rafe nöronları, SLD aktivitesi üzerinde ek sinaptik kontrol sağlar. Kolinerjik LDT/PPT nöronlar, REM-on SLD nöronlarının aktivasyonu yoluyla REM uykusu üretebilir. MCH içeren lateral hipotalamik nöronlar, muhtemelen REM-off vlPAG/LPT nöronlarının doğrudan inhibisyonu yoluyla REM uykusunu da düzenler. SLD/PC'nin glutamaterjik nöronları; medial septum, parabrakial çekirdek, bazal ön beyin ve supramamiller hipotalamusa yapılan projeksiyonlar yoluyla REM uykusunun kortikohipokampal özelliklerini düzenler (79).



Şekil 4: REM uykusunun düzenlenmesi (79).



Şekil 5: Uyku evreleri süresince REM-on ve REM-off nöronları aracılı salgılanan nörotransmitterler (55).

2.2.3. Uykuda NREM-REM siklusu

Bir insan uykusu gece boyunca REM ve NREM N1-N3 olmak üzere toplam dört uyku aşamasından oluşur. Uykunun bu şekilde aşamalara bölünmesine uyku mimarisi adı verilir. Uykunun her fazı ve aşaması, kas tonusu, beyin dalgası paternleri ve göz hareketlerindeki varyasyonları içerir. Tüm bu aşamalar her gece yaklaşık dört ila altı kez gerçekleşir ve her döngü ortalama 90-120 dakikadır (83). Uykunun yaklaşık %75'i NREM evrelerinde, bu sürenin çoğunluğu ise N2 evresinde geçirilir (84). İlk REM dönemi kısadır ve gece ilerledikçe daha uzun REM dönemleri gözlenirken derin uykuda kalma süresi (NREM) azalır. Uyku mimarisine göre uyku NREM ile başlar. NREM N1 evresi toplam uyku süresinin %5'ini oluşturur ve yaklaşık 1 ila 5 dakika sürer. NREM N2 evresi, ilk döngüde yaklaşık 25 dakika sürer ve birbirini izleyen her döngüde uzar ve sonunda toplam uykunun yaklaşık %45'ini oluşturur. Bu evreden sonra NREM N3 evresi başlar ve uyku derinleşir. NREM döngüsünün bitiminden sonra REM dönemi başlar. REM için ilk periyot tipik olarak 10 dakika sürer ve son periyot bir saate kadar uzar. REM, rüya görme ile ilişkilidir ve dinlendirici bir uyku aşaması olarak kabul edilmez. REM uykusu EEG'si uyanık bir bireydeki beyin aktivitesine benzerken, göz kasları ve diyafragmatik solunum kasları dışında iskelet kasları atoniktir ve kişi hareketsizdir. Bununla birlikte, solunum hızı da düzensizdir (85).

2.3. Uyku Yoksunluğu ve Fizyolojik Etkileri

Uyku bilimcileri uykuyu, elektroensefalografik, fizyolojik ve davranışsal olarak uyanıklık durumundan farklı, davranışsal bir sükunet ve çevreye tepki vermeme dönemi olarak tanımlamaktadır. Uyku yoksunluğu ise, bir organizmada uykunun kısmen veya tamamen ortadan kaldırılmasıdır. Teknolojik olarak tüm uykuyu ortadan kaldıracabilecek "mükemmel" bir uyku yoksunluğu yöntemi geliştirilemediğinden, hiçbir zaman tam bir uyku yokluğu durumu gerçekleşemez. Uyku yoksunluğuna maruz kalan canlılarda, uyanıklığı sürdürmek için gerekli çaba artar ve giderek artan bir uyku borcu oluşur. Bu uyku borcu giderilmediği sürece kişinin homeostatik dengesinde bozulma yaşanır ve bu durum kişide strese yol açar. Kişinin öğrenme ve bellek aktivitesinde de kötü yönde bir değişim olur. Ayrıca uykusuzluk; enerji harcamasında ilerleyici bir artış, zayıflamış bir görünüm, belirgin cilt lezyonlarının gelişimi, termoregülasyonda bozulmalar ve nihai olarak ölümle sonuçlanabilen birçok duruma neden olabilmektedir (86). Yapılan prekliniik çalışmaları

Yapılan çalışmaları göstermiştir ki fizyolojik fonksiyonlardaki uyku yoksunluğuna bağıli gelişen bozukluklar kişiden kişiye farklılık gösterebilmekte ve çeşitli sayıda ve çeşitli seviyelerde olabilmektedir.

Uyku yoksunluğu sonrası gelişen stres tepkisinde yer alan ana nöroendokrin sistemler, otonomik sempoato-adrenal sistem ve hipotalamik-hipofiz-adrenal (HPA) eksenidir (87). Homeostatik tehdiide karşı temel hormonal yanıttan sorumlu sistem ise HPA eksenidir. Stresli bir durum sırasında, hipotalamustan kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH) salgısı ile HPA eksenii aktive edilerek yanıt verilir. CRH ön hipofizden adrenokortikotropik hormonun (ACTH) salgılanmasını sağlar ve bu da adrenal korteks tarafından steroid hormon glukokortikoidlerin kan dolaşımına salgılanmasını tetikler.

Glukokortikoidler, strese adaptif yanıt için gereklidir ve sonuçta negatif feedback sinyali aracılığıyla HPA eksenii aktivitesinin inhibisyonunu sağlayarak glukokortikoid salınımının normalleşmesine katkıda bulunur (88). HPA ekseninin bazal aktivitesi ve dolayısıyla glukokortikoid salınımı, büyük ölçüde hipotalamusun suprakiazmatik çekirdeğinde bulunan sirkadiyen saat tarafından düzenlenir ve hem insanlarda hem de kemirgenlerde günlük bir diurnal ritim sergiler (89,90). Buna göre glukokortikoid salgısı,

uykudan uyanmadan hemen önce artar ve gün boyunca giderek azalır (90). Yapılan insan çalışmaları, uykunun kendisinin kortizol salınımını hafifçe azalttığını, uyanıklığın ise kortizol patlamasıyla ilişkili olduğunu göstermiştir (91,92).

Uyku yoksunluğu çalışmalarında kullanılan modellerden biri olan modifiye çoklu platform tekniğinde (MMPM) sosyal olarak aynı ortamda kalan deney hayvanlarında uyku yoksunluğu yapılmakta ve dolaşımdaki kortikosteron (plazma CORT) seviyelerinin farklı ortamda uyku yoksunluğu yapılan hayvanlara kıyasla daha düşük olduğu gösterilmektedir. MMPM yöntemi bu açıdan bakıldığında hareketsizlik ve sosyal izolasyon olmak üzere iki ana stres kaynağının kontrol edilmesine ve bu sayede plazma kortikosteron seviyelerinde herhangi bir değişim olmamasına aracılık etmektedir (93).

Uyku yoksunluğunun birçok akut ve kronik hastalıkla ilişkili olduğu ve kardiyovasküler hastalıklar için artan mortalite ve morbidite ile sonuçlandığı yaygın olarak kabul edilmektedir. Yapılan çalışmalar, uyku yoksunluğunun obezite, tip 2 diyabet ve hipertansiyonda önemli bir risk faktörü olabileceğini ve inme, koroner arter hastalığı ve kardiyovasküler hastalıklar için bağımsız bir belirleyici olduğunu göstermektedir (94). Ayrıca kesitsel ve prospektif epidemiyolojik çalışmalar, yaş, vücut kitle indeksi (VKİ) ve diğer çeşitli faktörleri değerlendirdikten sonra kısa uyku süresi ile kardiyovasküler hastalıklar arasında bir ilişki olduğuna dair kanıt sağlamaktadır (95). Kötü uyku kalitesi ve kısa uyku süresi kan basıncında dalgalanmalara neden olur. Kesitsel ve boylamsal epidemiyolojik çalışmalar, kısa uyku süresinin daha yüksek kan basıncı ve hipertansiyonla ilişkili olduğunu ortaya çıkarmıştır (96). Hipertansiyonda uyku yoksunluğu esas olarak değişmiş otonom sinir aktivitelerinden ve hümorale faktör değişikliklerinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca, uykusuz bırakılmış hayvan modellerinde artmış bir ventriküler taşikardi ve ventriküler fibrilasyon meydana gelme olasılığı gözlenmiş ve bu da uyku yoksunluğu ile kardiyak aritmi arasında bir bağlantı olabileceğini göstermektedir. Uyku yoksunluğunun neden olduğu otonom sinir aktivite bozukluğu, kardiyak aritmide de çok önemli bir unsurdur (97).

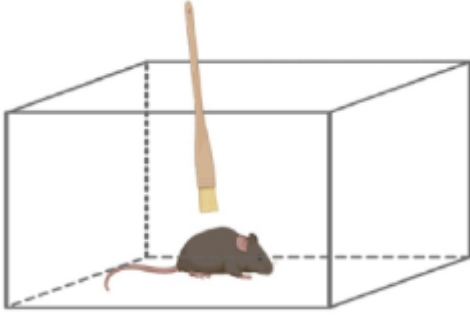
Bu bağlamda bakacak olursak otonom sinir sistemi, fizyolojik parametrelerin uyku esnasında değişiminin kontrolünde çok önemli bir rol oynamaktadır. Kalp hızı ve arteriyel kan basıncı, REM uykusu sırasında belirgin artışlarla, NREM uykusu sırasında düşüşlerle karakterizedir. Bu hemodinamik dalgalanmalar, kalp hızı ve arteriyel kan basıncının

otonomik kardiyovasküler modülasyonunun ifadesidir. NREM uykusu sırasında baskın bir vagal aktivite ve REM uykusu sırasında belirgin bir sempatik kontrol gözlenir (98,99). Uyku yoksunluğu da artan sempatik tonusla ilişkilidir. Bu da gece katekolamin düzeylerini yükselterek kalp hızı (100) ve sistolik kan basıncında artışla (101) birlikte kardiyovasküler hastalıkların gelişimine katkıda bulunur.

Uyku yoksunluğu sonrası gelişen bu fizyolojik fonksiyonlar üzerindeki değişimleri gösterebilmek ve sonrasında bu değişimlerde etkili yolları anlayabilmek için birçok deneysel model kullanılmaktadır. Bu modeller aşağıda açıklanmıştır:

2.3.1. Nazik dokunuş (gentle handling) tekniği

REM uyku yoksunluğuna ilişkin ilk çalışma 1960 yılında insan gönüllüler üzerinde yürütülmüş ve gönüllülerin REM uykusuna her geçişte elektrofizyolojik parametrelerle izlenmesi esasına dayandırılmıştır. Deney hayvanları söz konusu olduğunda ise, hayvanlar her REM döneminin başlangıcında dışardan bir uyarıcı (kafese dokunma yumuşak bir fırça veya el ile nazikçe dürtme) ile uyandırılmakta ve kontrol hayvanları da NREM uykusuna eşdeğer sayıda uyandırılmaktadır (102). Bu teknik sıçanlar, fareler, tavşanlar, kediler vb. için kullanılmıştır. Bu teknik, kontrol edilmesi en az zorluk seviyesinde olan teknik olsa da, yaygın olarak kullanılmamaktadır. Bu tekniğin uygulanmasının zor yönleri arasında, elektrofizyolojik kaydın sürekli olarak izlenmesini gerektirmesi, hayvanlarda iki ila üç gün içinde uyarılma sayısının oldukça fazla artması sayılabilmektedir (103). Ayrıca bu yöntemde en önemli dezavantaj strestir. Kemirgenlerde, hafif okşama veya kafes sallamanın stres etkeni olarak algılanması nedeniyle doğuştan savunmacı bir yapıya sahiptir. Yapılan bir çalışmada tekrar tekrar rahatsız edilen hayvanlarda, rahatsız edilmeyen kontrol hayvanlarına kıyasla hareket aktivitelerinde değişiklikler ve daha yüksek dolaşım kortikosteron seviyeleri gözlenmiştir (104). Bu nedenle, uyku yoksunluğu sırasında stres sistemlerinin aktivasyonunun uyku kaybının kendi başına mı yoksa çalışmada kullanılan uyku yoksunluğu tekniğinin stresli doğasının bir sonucu mu olduğuna karar vermek zor olacaktır (105).

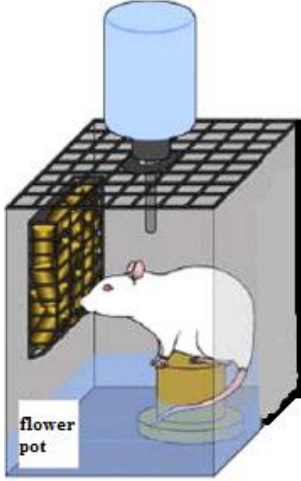


Şekil 6: Nazik dokunuş (gentle handling) tekniği (106).

2.3.2. Flowerpot tekniği

En sık kullanılan yöntemlerden biridir. İlk defa Jouvet tarafından 1964'te kediler için geliştirilmiştir (107). Cohen ve Dement ise bu tekniği sıçanlara uyarlamıştır (108). Bu yöntem, hayvanları küçük bir platforma, örneğin ters çevrilmiş bir saksıya, etrafı bir kova içinde su ile çevrili olarak yerleştirmeyi içermektedir. Teorik olarak, platformun küçük boyutu uyanıklığa ve NREM uykusuna izin verir ancak REM uykusuna izin vermez çünkü REM uykusuna eşlik eden kas atonisi, hayvanın suya düşmesine ve bir REM dönemi başlatıldığında uyanmasına neden olur. Kullanılan kontroller ise, kafes boyutunun küçük platforma benzer olduğu, hayvanın hareketini kısıtladığı ancak REM uykusuna izin verdiği şekilde barındırılmaktadır. Deneyi yapan kişinin gün boyunca hayvanın EEG'sini izlemesini gerektirmemesi, hayvanların taşınmasından kaynaklanan strese kaçınılması ve birkaç hayvan aynı anda birkaç gün süreyle REM uykusu yoksunluğuna maruz kalacak şekilde deneyin planlanabiliyor olması ile nazik dokunuş tekniğinden üstündür (103,105). Bu teknikte ise tek başına uyku yoksunluğu düzeninde tutulma, hayvanın sosyal ortamından uzaklaşması nedeniyle gelişen stres, su dolu bir kafeste tutulması nedeniyle yaşadığı hapsedilme duygusu ve rutubet gibi birçok olumsuz durum söz konusudur (41). Bu teknik kullanılarak yapılan bir çalışmada hayvanların strese tepkilerinde beyindeki histamin döngüsünün etkilendiği ve beyin histamin düzeylerinde artış yaşandığı kanıtlanmıştır ve bu durumun histamin salınımının stres kaynaklı bozulmasından kaynaklanıyor olabileceği vurgulanmıştır (109). Ayrıca hayvanların adrenal hipertrofi ve timus atrofisinin olduğu ve

uykusuzluk sonrası kafeslerine geri döndüklerinde hemen uykuya dalmayıp bunun yerine, yüksek aktivite, sinirlilik, hiperseksüalite, saldırganlık vb. davranış sergiledikleri gözlenmiştir. Bunun nedeni olarak ise REM uyku yoksunluğu da dahil olmak üzere birçok olumsuz faktörün hayvan üzerindeki stres yükünü artırması gösterilmiştir (110–112).

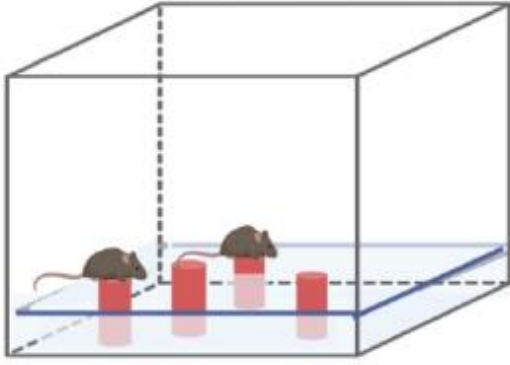


Şekil 7: Flowerpot tekniği (113).

2.3.3. Çoklu platform ve modifiye çoklu platform tekniği

Klasik tek platformlu olan flower pot yönteminin önemli bir dezavantajı, hayvanların hareketsiz hale getirilmesidir. Hareketsizleştirmenin hayvanlarda strese neden olduğu ve bunların dolaşımdaki kortikosteron düzeylerini yükselttiği ise bilinmektedir (114). Tek platform yönteminin hareketsizleştirici etkisini azaltmak için Van Hulzon ve Coenen 1980 yılında çoklu platform yöntemini geliştirmiştir (115). Bu yöntemde birkaç küçük platforma sahip büyük bir tank kullanılır. Bu, sıçanın hareket etmesine izin verir, böylece küçük bir platformda hapsolmayı ve bundan kaynaklanan stresi önler. Sonraki yıllarda Nunes ve Tufik hem sosyal izolasyonu hem de hapsedilmeyi önlemek için büyük bir tank içinde birden fazla platformda birden fazla hayvanın kullanılmasını önermiştir (116). Bu teknikte, birden çok hayvan, aynı tank içindeki birden çok platformda uykusuz bırakılmıştır ancak, farklı sosyal gruplardan gelen hayvanların aynı platforma uyum sağlamak zorlanabilecekleri düşünülerek sosyal olarak aynı gruptaki hayvanları tek bir tank içine yerleştiren modifiye çoklu platform yöntemi (MMPM) geliştirilmiştir (93). Uyku

yoksunluğunun ardından, sosyal olarak aynı ortamdan gelen grupların dolaşımdaki kortikosteron seviyeleri, farklı ortamdan gelen hayvanlara kıyasla daha düşüktür. Böylece, MMPM yöntemi hareketsizlik ve sosyal izolasyon olmak üzere iki ana stres kaynağının kontrol edilmesine yardımcı olmaktadır (93).

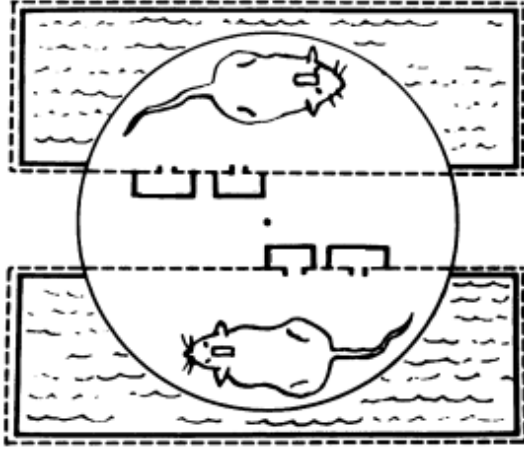


Şekil 8: Çoklu platform ve modifiye çoklu platform tekniği (106).

2.3.4. Dönen disk/su üstünde disk yöntemi

Bu yöntemde sığ bir su havuzuna yerleştirilmiş yatay bir disk kullanılır (117,118). Hem deney hayvanı hem de kontrol hayvanı, bir su havuzunda asılı duran bölünmüş yatay bir disk üzerine yerleştirilir. Deney hayvanının beyin aktivitesi kaydedilir. Hayvan uykuya dalmaya başladığında veya hedeflenen bir uyku aşaması başlatıldığında, disk 5 saniye içinde otomatik olarak dakikada 3,33 devir hızında dönmeye başlar. Hayvan bu sırada, diskin hareket yönünün tersine hareket etmelidir, aksi takdirde düşer. Yöntemde kontrol hayvanı da aynı diske yerleştirildiğinden, deney hayvanıyla aynı hafif stimülasyonu alır. Bu düzenekte, deney hayvanı kendiliğinden veya uykunun belirli bir aşamasında uykusunu kaybetme eğilimindedir. Öte yandan kontrol hayvanı, deney hayvanı uyanırken veya disk hareketsizken doğaçlama uyuyabilir. Böylece kontrol hayvanları, deney hayvanlarıyla aynı yönde fizyolojik etkiler yaşarlar ancak etkilerin yoğunluğu çok daha azdır. Böylece, hem deneysel grup hem de kontrol grubu aynı düzeyde aktiviteye tabi tutulmakta, ancak kontroller daha fazla dinlenebilmektedir. Bu yöntemde de zorunlu bir hareket

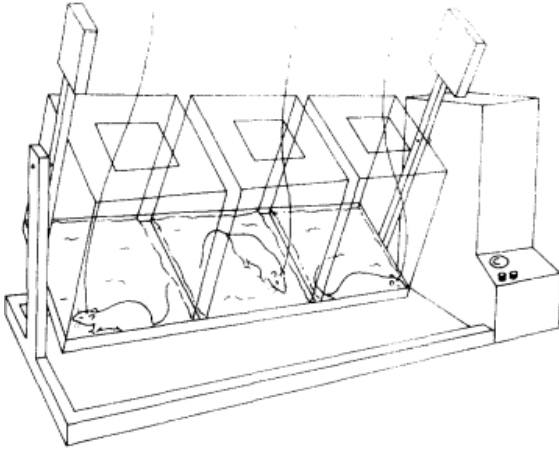
gerçekleştiriyor olmak uyku yoksunluğu geliştirmek dışında yorgunluğa ve strese yol açmaktadır (119).



şekil 9: Dönen disk/su üstünde disk yöntemi (117).

2.3.5. Sarkaç/Salıncak yöntemi

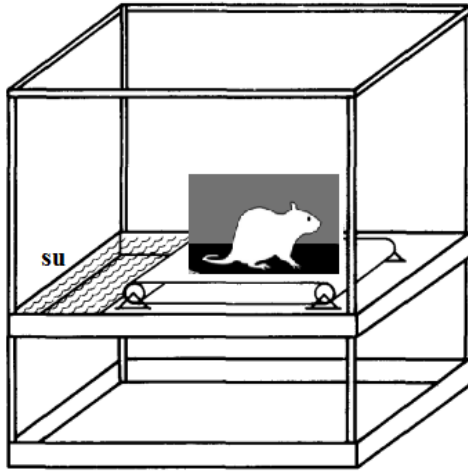
Van Hulzen ve Coenen'in 1980 yılında, REM uykusu yoksunluğu yaratmak için geliştirdiği bir yöntemdir (115). Bu yöntemde her bir kafeste 3 hayvan bulunur ve kafesler bir sarkaç gibi ileri ve geri hareket ettirilir. Her iki tarafta da hayvan, en uçta (yatay düzleme 42 derecelik açısı) postüral dengesizlik nedeniyle kafesin diğer tarafına doğru aşağı yönde hareket etmeye zorlanır. Postüral dengesizliğe neden olmayan hareketli bir sarkaç ise kontrol görevi görür. Uyarılmayı artırmak için sarkacın hızı değiştirilebilir. Yapılan bir çalışmada kullanılan bu yöntem sonrasında klasik tek platform ve çoklu platform yöntemlerine göre REM uykusu yoksunluğu miktarında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (120).



Şekil 10: Sarkaç/Salincak yöntemi (115).

2.3.6. Koşu bandı ile uyarılma tekniği

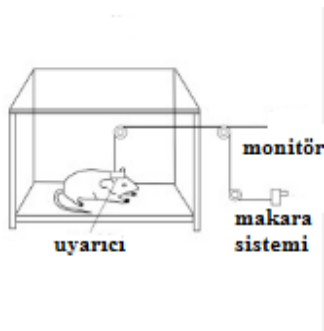
Bu yöntemi ilk defa 1967 yılında Ferguson ve Dement kullanmıştır. Koşu bantlarının, sürekli hareket etmeleri nedeniyle REM uykusu yoksunluğu için kullanılabileceğini söylemişlerdir (121). Bu yöntemde, deney hayvanı sonunda su dolu bir kap bulunan, yavaş hareket eden (kediler için 2m/dk) bir koşu bandına 16-22 saat boyunca oturtulur. Koşu bandı diğer uca geldiğinde, hayvanlar suya düşmemek için uyanmalıdır. Geri kalan 2-8 saat boyunca hayvanlar kafeslere konulur, elektro fizyolojik olarak izlenir ve REM uykusu başlangıcında hafifçe uyandırılır. Kontrol hayvanları, deney hayvanlarıyla aynı anda koşu bandına yerleştirilir ve bu nedenle benzer fiziksel aktivite ve stres yaşatılmış olunur. 2007 yılında Guzmán-Marín ve ark. koşu bandı ile uyarılma yönteminin bir varyasyonunu kullanmış ve koşu bandı hızı 10 cm/saniye olacak şekilde her REM uykusu döneminin başlangıcında çalıştırılmıştır (119). Araştırmacılar, koşu bantlarının sadece REM uykusu yoksunluğu değil, aynı zamanda toplam uyku yoksunluğuna da neden olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca bu modelde hayvanlar sürekli olarak bir aktivite içinde olduklarından uyku yoksunluğu dışında birçok strese de maruz kalabilmektedir (122).



Şekil 11: Koşu bandı ile uyarılma tekniği (121).

2.3.7. Baş kaldırma tekniği

Bu yöntemde de nazik dokunuş yönteminde olduğu gibi, deney hayvanının poligrafik kaydı başka bir odada oturan gözlemci tarafından izlenir. Hayvan her REM uykusu epizodunun başlangıcına geldiğinde gözlemci, yay tabanlı mekanik bir ayağa basar ve bu sayede deney hayvanının kafasının hafifçe iki inç kadar yukarı kalkmasına neden olur (123). Bu çalışma sırasında yapılan 6 saatlik yoksunlukta REM uykusu süresi %90-95 oranında azalırken, NREM uykusunda anlamlı bir azalma olmadığı gözlenmiştir. Bununla birlikte, bu yöntemle 48 saat gibi uzun süreli REM uykusu yoksunluğu çalışmaları yapılamamıştır.



Şekil 12: Baş kaldırma tekniği (124).

2.3.8. Elektriksel stimölasyon tekniği

Kovalzon ve Tsibulski 1984 yılında uyarılma için her REM uykusu epizodunun başlangıcında orta beyin retiküler formasyon bölgesine elektrik vermişlerdir (123). Elektriksel uyarı, EEG’de kortikal senkronizasyon bozukluğu, hipokampal teta ritmi gözlemlendiğinde ve EMG’de azalan aktivite durumunda etkinleştirilmiştir. Hayvanlar uykudan uyandırılmazsa uyarının yoğunluğu artırılmıştır. Bu aradaki uyandırma için geçen süreçte 3-8 saniye REM uykusu elde etmiş olduklarından tam bir REM uykusu yoksunluğu geliştirilememiş olmaktadır.

2.4. Öğrenme ve Bellek

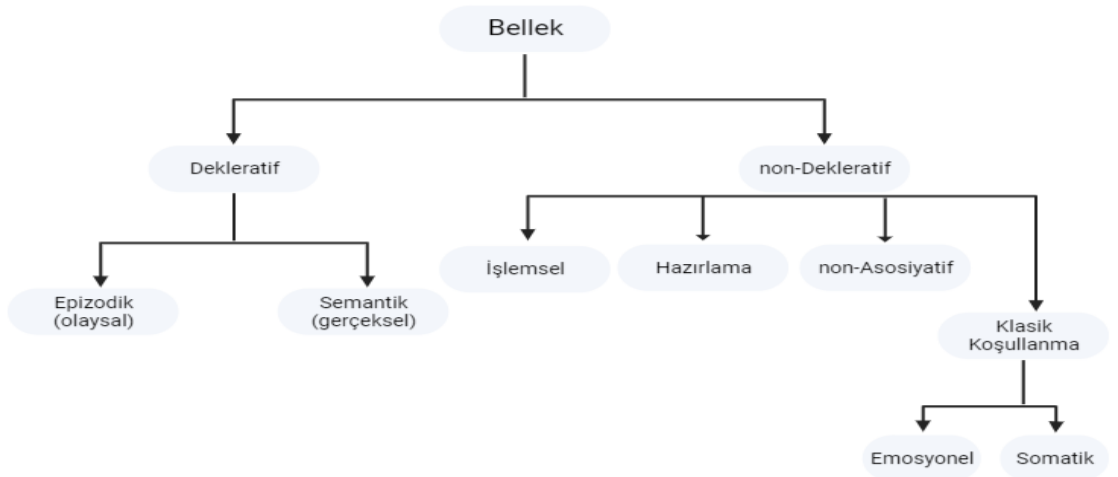
Beyin, zihin dediğimiz şeyden sorumlu olan organdır. Düşünmenin, hissetmenin, istemenin, algılamanın, öğrenmenin ve hafızanın, merakın ve davranışın temelidir. Bellek temel bir zihinsel süreç olup bellek olmadan basit refleksler ve basmakalıp davranışlardan başka bir şey yapamayız. Belleği, bir deneyimin neden olduğu davranış değişikliği, öğrenmeyi ise belleği edinme süreci olarak tanımlayabiliriz. Bellek zamana göre kısa süreli ve uzun süreli olarak ikiye ayrılır. Bilginin depolanma yeteneği işletim belleği olarak da adlandırılan kısa süreli belleğe bağlıdır. Kısa süreli bellek, sözel (verbal) bilgi ve viziospasyal (görsel-spasyal) bilgi olmak üzere iki alt sistemden oluşmaktadır ve bu iki sistem başka bir sistemle kontrol edilmektedir. Kısa süreli bellek, uyarı (örneğin başkasından duyulan bir telefon numarasının tekrarı) tarafından tetiklenen bir nöral aktiviteye bağlı olarak gelişir ve fonolojik temelli bilgilerin bellekte tutulması esasına dayanır. Birkaç dakika ile birkaç saat arasında değişen süreye denk gelen kısa süreli bellek için sözel bilginin depolanması posterior pariyetal kortekste, tekrar süreci ise Broca alanında gerçekleşmektedir. Viziospasyal bilgi için ise zihinsel tekrar, frontal lob ve premotor kortekste sağlanmaktadır (125).

En fazla birkaç saat süren kısa süreli belleğin saatler, günler ve ömür boyu saklanması sağlayan uzun süreli belleğe dönüşümü sinaptik değişimler ile mümkün olmaktadır. Uzun süreli bellekte anıların ömür boyu saklanabilmesi için protein sentezi ve

gen ekspresyonları gerekmektedir (126). Bu sentez edilen proteinler sinapslardaki değişim sürecine katılır ve sinaptik aktivitede artışla birlikte uzun süreli bellek gelişir. Bu şekilde depolanması sağlanan bilgiler istenildiğinde geri çağrılabilir. Uzun süreli bellek 1992 yılında bir çalışmada 2 ana sınıfa ayrılmıştır. Bunlar; deklaratif (açık, ilişkisel) ve non-deklaratif (örtük) bellek şeklinde tanımlanmıştır (127) (Şekil 13).

Deklaratif bellek, yüz hafızası sağlama, uzamsal düzenlemeler yapma ve hatırlanan bir görüntüyü akla getirme gibi işlevlere sahiptir (127). Yapılan çalışmalar sonucunda deklaratif bellek genel anlamda medial temporal lob ile ilişkilendirilmiştir (128,129). Epizodik (olaysal) ve semantik (gerçeksel) bellek olarak ikiye ayrılır (Şekil 13). Bu tip bellek yaşanmış olayları epizodik bellek vasıtasıyla ve kanıtlanmış bilimsel gerçekleri de semantik bellek vasıtasıyla hatırlar (128).

Non-deklaratif bellek ise, algısal ve motor yeteneklerin yanında emosyonel öğrenmenin ve alışkanlıkların yedeklenmesini sağlar. Bu bellek tipinde bilgi, davranış değişikliğine yol açan önceki karşılaşmalar için bellekten bağımsız olarak, belirli algısal veya tepki sistemlerindeki değişiklikler olarak edinilir. Non-deklaratif bellek, öğrenilmiş yeteneklerin depo edildiği striatum, neokorteks, refleks yolları, amigdala ve serebellum gibi beyin bölgeleriyle ilişkilendirilmiştir. Non-deklaratif bellek dört farklı alt sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar sırasıyla işlemsel bellek, hazırlama, non-asosiyatif bellek ve klasik koşullanma (emosyonel ve somatik) dır (Şekil 13). İşlemsel bellek, beceri öğrenimi sırasında edinilen bilgiyi uygun bir şekilde tanımlar ve sonrasında bilinçsiz bir şekilde o becerinin gerçekleştirilmesini sağlar ve striatum bölgesi bu bellekten sorumludur. Hazırlama, önceden görülen bir nesnenin tanımlanmasını ve isminin hatırlanmasını sağlar ve neokorteksin sorumlu olduğu bir bellek türüdür. Non-asosiyatif bellek ise refleks yolları ile bağlantılıdır ve tek bir uyaran sonrası kazanılmaktadır. Klasik koşullanma emosyonel ve somatik olarak iki alt tipe ayrılmaktadır (Şekil 13). Emosyonel bellek, korku tepkilerinin klasik koşullanmasını ve caydırıcı uyarının hedonik değerini kalıcı olarak kodlayan ve depolayan yapı olduğu düşünülen amigdalaya bağlıdır. Somatik bellek ise iskelet kaslarının koşullanmasını gerektirir ve serebellumla ilişkilidir (127,130).



Created in BioRender.com bio

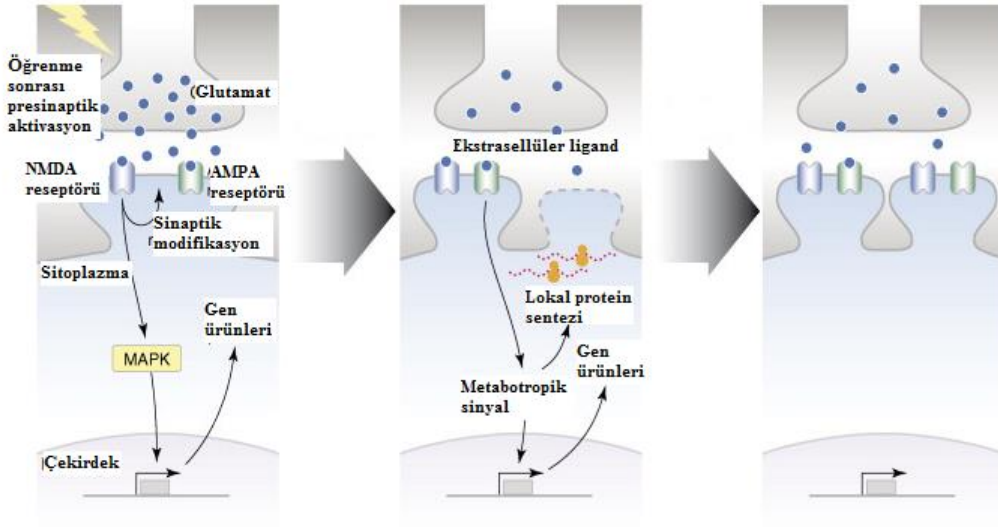
Şekil 13. Bellek tipleri.

2.4.1. Belleğin aşamaları

Belleğin oluşum süreci tek ve üniter bir şekilde gerçekleşmez. Beyin, gereksinimlerle uyumlu olacak şekilde bilgiyi farklı şekillerde işler, depolar ve gerektiğinde bulup çıkartır. Bellekte genellemeler ve kavramlar depolanır, bilginin detayları ise hatırlama esnasında tamamlanır (125). Uzun süreli belleğin alt sınıflarından olan deklaratif bellek birbiri ile bağlantılı ancak farklı işleme süreçleri ile oluşturulan 4 farklı aşamadan meydana gelir. Kodlama (encoding), depolama (storage), sağlamlaştırma (consolidation) ve geri çağırma (retrieval). Kodlama, seçici bir dikkatle yeni bilgilerin girişinin sağlandığı ve geçmişteki bilgilerle ilişkilendirildiği bir süreçtir. Kişi hatırlamak için çaba sarf ettiğinde kodlama aşaması da güçlenir. Depolama, geçen süreç boyunca belleğin korunduğu bölgeleri ve mekanizmaları tanımlar. Sağlamlaştırma, bir bilginin geçici olduğu aşamadan daha kalıcı olduğu aşamaya gelmesi sürecidir. Bu süreç sinapslarda değişikliğe neden olan protein sentezi ve gen ekspresyonlarını gerektirir. Geri çağırma, daha önce kaydedilip depolanmış olan bilginin hatırlanmasıdır.

Kodlama aşamasında, öğrenilen yeni bir bilgi elektriksel ve kimyasal sinyallerin nöronlar arasında yayılması yoluyla iletilir ve bu durum sinapslarda aktivasyonu sağlar. Bu

sayede öğrenilen yeni bilgi beyinde temsil edilir (131). Nörotransmitter sistemler bu kodlama aşamasında rol almaktadır. Örneğin uzun süreli belleğin oluşumunda önemli ve gerekli olan LTP'nin oluşumunda α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolepropionik asit (AMPA) ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri vasıtasıyla bir eksitatör nörotransmitter olan glutamat'ın aracı olduğu bilinmektedir (132). Bu süreçte AMPA reseptörleri aracılığıyla postsinaptik depolarizasyon gelişir ve NMDA tipi glutamat reseptörlerine glutamatın bağlanması sonucu, Ca^{2+} 'nin postsinaptik nörona girişi gerçekleşir. Ancak bu süreçte NMDA reseptörlerine bağlanan glutamat, kanalın açılması için tek başına yeterli olmamaktadır. Bunun nedeni dinlenim zar potansiyelinde NMDA reseptörü bağlantılı kanal, Mg^{2+} ile kapalı durumdadır. Bu durum postsinaptik AMPA reseptörünün tekrarlayıcı aktivasyonu sonucu gelişen ve zarda depolarizasyon oluşturmasıyla sonuçlanan bu süreç sonrasında tersine döner ve postsinaptik hücreye NMDA reseptör aracılı Ca^{2+} akışı olur. Bu durum sonrasında Ca^{2+} 'nin ani etkileri ortaya çıkar ve Ca^{2+} / kalmodulin bağımlı kinaz 2 (CaMKII), protein kinaz C ve kalsinörin aktivasyonu gerçekleşir. Aktivasyon sonrası AMPA reseptör yapımında artış gerçekleşir ve dentritik dikenlerde uzama gözlenir (133). Bu, daha sonra cAMP yanıt elemanı bağlayıcı protein (CREB) i fosforile ettiği çekirdeğe gönderen protein kinaz A (PKA) yı aktive eden 3'-5'-siklik adenosin monofosfat (cAMP) seviyelerinde artışlara yol açar (132). Ayrıca CaMKII, CaMKIV ve mitojenle aktive olan protein (MAP) kinaz gibi diğer protein kinazlar da gen ekspresyonunu düzenler (134). LTP'nin geç fazı olan L-LTP (Late-LTP), adenilat siklaz Ca^{2+} tarafından aktive edildiğinde veya G protein bağlı reseptörler yoluyla adenilat siklazı uyaran modülatör girdiler ile oluşur. Belleğin moleküler temelini inceleyen çalışmalar, bu sinyal moleküllerinin birçoğunun kodlama ve sağlamlaştırma aşamaları için önemli olduğunu kanıtlamaktadır. Beynin bazı kısımlarındaki PKA aktivitesinin ise geri çağırma aşaması ile ilgili olduğu düşünülmektedir (135).



Şekil 14: Bellek oluşum aşamaları (136).

2.4.2. Hayvan çalışmalarında uzamsal bellek değerlendirilmesi

Hem omurgalı hem de omurgasız türlerde bulunan uzamsal öğrenme, bir organizmanın çevresinin zihinsel bir temsili edindiği süreci ifade eder. Uzamsal bellek aracılığıyla çevremizdeki her bir nesnenin yerini ve bu nesnelerin birbirleriyle ilişkilerini öğrenebiliriz. Yer-yön bulma işlevini yerine getirmemizi sağlayan beyin bölgesi hipokampüstür. Hipokampus, sıçanlarda uzamsal belleğin kodlanması, birleştirilmesi ve geri alınmasında görev yapmaktadır. Bu durumla ilgili ilk kanıtlar 1971 yılında yapılan bir çalışma ile bulunmuştur. Yapılan bu çalışmada ilk defa hipokampal ‘yer hücreleri’nden bahsedilmiş ve hipokampus’un bir nevi uzamsal harita olduğu açıklanmıştır (137). Sonraki yıllarda yapılan çalışmalardan birinde ise medial entorhinal kortekste ana hücrelerin içerisinde düzenli, üçgen, ızgara (grid) benzeri bir hücrenin hayvan tarafından keşfedilen herhangi bir iki boyutlu ortamı mozaikleştirdiği ve hayvanın konumunu işaret ettiği kanıtlanmıştır (138). Hipokampus’un uzamsal bellek üzerindeki etkisini göstermek için birçok deneysel çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar, hipokampal CA1, CA3 ve dentat girus (DG) alt alanlarının uzamsal bellekte rol üstlendiğini kanıtlamıştır. Örneğin, CA3’teki tekrarlayan ağı, çağrışımsal belleğin depolanması ve ‘kalıp tamamlama’ ile geri çağırılması için çok önemli olduğu, oysa DG’nin benzer hatıraların ayrılmasında (‘kalıp ayırma’) yer

aldığı düşünülmüştür. CA1 ağının bir nesnenin veya bağlamın yeniliğini veya aşinalığını tanımada etkili olabileceği öne sürülmüştür (139–141).

Hayvanlarda bu uzamsal yetenekleri ölçmek ve değerlendirmek için çeşitli labirentler kullanılmıştır. Bu labirentlerin her biri hipokampus bağımlı bellek fonksiyonunu değerlendirirken görsel ve uzamsal uyaranları aracı olarak kullanır. Hayvanlar bu araçlar yardımıyla emniyet, yemek, su gibi ödülleri elde ederler. Bahsedilen bu labirent testleri arasında T ve Y labirent, radyal labirent, Barnes dairesel labirent ve Morris su labirenti testleri bulunmaktadır. Tüm bu testler arasında hipokampus bağımlı uzamsal bellek çalışmaları için Morris su labirenti testi altın standart olarak kabul görmektedir (142).

2.4.2.1. Morris su labirenti testi

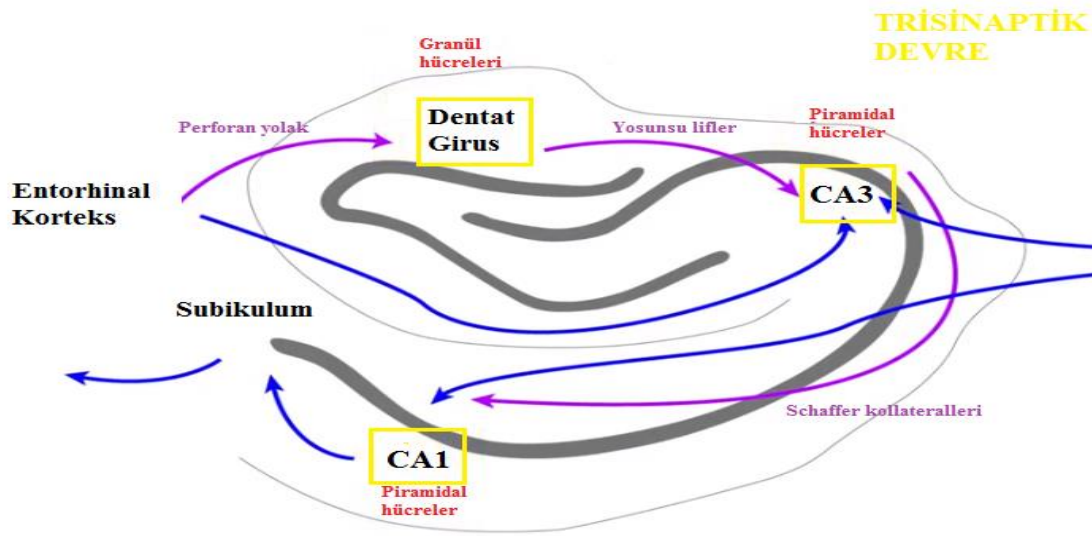
1981 yılında Richard Morris tarafından geliştirilmiş olan (143) morris su labirenti testi, radyal labirent testi ve Barnes dairesel labirent testinin sınırlamaları nedeniyle deneysel hayvan çalışmalarında daha sık kullanılmaktadır (144). Kemirgenlerde uzamsal öğrenme ve belleği değerlendirmek için kullanılır. Ayrıca bu test yardımıyla araştırmacılar, lezyon oluşturma, farmakolojik ve genetik deneysel çalışmalar yapma ve geliştirilen bu durumlara ek verilen tedavilerin öğrenme ve bellek üzerindeki etkilerini araştırma gibi birçok farklı durumu açığa çıkarmayı amaçlamaktadırlar. Test, basit bir yöntemle tanımlanmıştır. Bu testte 150 cm çapında ve 60 cm derinliğinde dairesel bir tank kullanılmakta ve bu tank 40 cm derinliğe kadar $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de su ile doldurulmaktadır. Hayvanlar sıfırıncı gün görünür platformda ortama alıştırma amaçlı test edilir. Sonraki günlerde (1, 2, 3 ve 4. günler) saklı platformun yerini bulmaları ve her gün dört farklı kadrandan bırakılarak saklı platformu bulma süreleri kaydedilir. 4 günün ardından testin son günü olan 5.günde bellek değerlendirmesi yapabilmek her bir hayvan karşıt kadranda olan güneydoğu kadrانından yüzleri tank duvarına gelecek şekilde suya bırakılır. *Probe trail* olarak adlandırılan bu testte deney hayvanının, önceki günlerde suyun içinde bulunan platformun olduğu kadranda kaç saniye vakit geçirdiği 60 saniye boyunca gözlenir. Bu test gününde suyun içine bırakılan sağlıklı hayvanların platformun daha önce bulunduğu yeri hatırlaması ve orada daha uzun süre vakit geçirmesi beklenir (145,146).

2.5. Uyku Yoksunluğunun Öğrenme ve Bellek Üzerine Etkileri

Uykunun öğrenme ve hafıza oluşumunda kritik bir rol oynadığı yaklaşık bir asır önce (147) gözlemlenmiş olmakla birlikte son 30 yıl içerisinde yapılan nörogörüntüleme çalışmalarıyla daha fazla netlik kazanmıştır. Yapılan sayısız çalışma, hayvanlarda uyku yoksunluğunun pasif kaçınma, (148–150) Morris su labirenti (151,152) ve radyal labirent (153) gibi çeşitli davranış testi modellerinde hafıza bozukluklarına yol açtığını göstermiştir. Uyku ve bellek arasındaki ilişkiyi incelemek için kullanılan en yaygın yöntem, uyku yoksunluğunun sonraki bilişsel veya motor performansın yanı sıra öğrenilen materyalin hatırlanması üzerindeki etkilerini ölçmek olmuştur ve uykunun uzun süreli belleğin tüm aşamalarında kritik olabileceğini gösteren deneysel araştırmalar yapılmıştır. Günümüzde yapılan bir çok çalışma hangi uyku yoksunluğunun hafıza bozukluklarına yol açtığı ve laboratuvar temelli bulguların ne ölçüde genelleştirilebileceği de dahil olmak üzere, sağlık ve eğitime ilişkin kamu politikasına rehberlik etmek için planlanmaktadır.

Pek çok bilişsel işlevde önemli ölçüde yer alan beyin bölgelerinden biri olan hipokampal oluşum; hipokampus, dentat girus ve entorhinal korteks dahil birçok yapıyı içinde barındırır (154). Hipokampal oluşum, çeşitli kortikal kaynaklardan duyuşsal bilgi alır sonrasında öğrenme-hafıza süreçlerini, uzamsal kodlamayı ve duyuşsal davranışların ve kaygının düzenlenmesini içerir (155,156). Hipokampus kemirgenlerde dorsal (septal)-ventral (temporal) eksen boyunca uzanırken, insanlarda ise posteriordan anteriora uzanır. Hipokampusun bu farklı bölgelerinin kesin işlevsel rolü, çok tartışılan bir konu olmaya devam etse de baskın görüş, dorsal (veya posterior) hipokampusun hafıza ve uzamsal navigasyonla ilişkili olduğu ve ventral (veya anterior) hipokampusun anksiyete ile ilgili davranışlara aracılık ettiği yönündedir (157). Hipokampüste katmanlar halinde dizilmiş olan farklı tipte nöronal hücreler bulunur ve bu durum hipokampusun nörofizyolojik çalışmalarda sıklıkla kullanılmasının nedenidir (158). Dentat girus, hipokampal trisinaptik devrenin (CA1, CA3 nöronları ve dentat girus) bir parçasıdır ve yeni epizodik anıların oluşumuna (159,160), yeni ortamların kendiliğinden keşfedilmesine (160) katkıda bulunur. Dentat girusdaki ana hücreler, yoğun şekilde düzenlenmiş granüler nöronlardır. Bu granüler nöronlar, entorhinal korteksin yüzeysel katmanlarından perforan yoldan girdi alırlar. Granüler nöronlar esas olarak yosunsu lifler yoluyla hipokampus CA3 piramidal

hücreleriyle bağlantı kurarlar (161). Entorhinal korteks, medial temporal lobta yer alan ve işlevleri arasında bellek, navigasyon ve zaman algısı olan bir beyin bölgesidir. Entorhinal korteks, hipokampus ve neokorteks arasında bulunur. Entorhinal korteks-hipokampus sistemi bellek oluşumu, bellek birleştirme ve uykuda bellek optimizasyonu dahil olmak üzere uzamsal belleklerde önemli bir rol oynar (162). Tüm bu bölgeler arasında gerçekleşen bilgi aktarımı, dentat giristan hipokampus CA3 bölgesine oradan da hipokampus CA1 bölgesine sağlanır. En son olarak ise entorhinal kortekse aktarım sağlanır.



Şekil 15: Hipokampus trisinaptik devresi (163).

Uyku yoksunluğu sonrası en çok etkilenen beyin bölgelerinden biri hipokampüstür (164). Yapılan birçok uyku yoksunluğu çalışması sonucunda hipokampus bağımlı belleğin uykusuzluktan etkilendiği ancak hipokampus bağımsız belleğin herhangi bir hasar almadığı sonucuna ulaşılmıştır. Bu durum uyku yoksunluğunun hipokampus üzerinde ne kadar etkili olduğunu kanıtlamıştır (165). Yapılan hayvan çalışmaları uyku yoksunluğunun uzamsal belleği bozduğunu göstermiştir (166). İnsanlar üzerinde yapılan araştırmalarda ise uyku yoksunluğunun hipokampal aktiviteyi azalttığı (167) ve bunun sonucu olarak epizodik bellek kodlanmasında bozulma olduğu gözlenmiştir (168).

1885'te, deneysel bellek araştırmalarının babası Ebbinghaus, unutmanın öğrenmeden sonraki ilk saatlerde hızla gerçekleştiğini ve birkaç gün sonra düzeldiğini gösteren iyi bilinen "unutma eğrisi"ni oluşturan saçma kelime çiftlerinin listelerinin

unutulması hakkında kendi üzerinde bir dizi çalışma yayınlamıştır (169). Bu çalışmasında, unutma eğrisini inceleyen Ebbinghaus, takip çalışmalarında benzer şekilde gözlemlenen bir fenomen olan, akılda tutma aralığında uyku meydana geldiğinde unutmanın azaldığını fark etmiştir (170). Başka bir çalışmacı bir katılımcıyı bir gece uykusundan mahrum bırakmanın, hatırlama yeteneğini bozduğunu bildirmiştir (171). Rosa Hein, daha sistematik bir çalışma yaparak, akşam uyumadan önce öğrenmenin, 24 saat sonra, gündüz uyanık kalma aralığından önce öğrenmeye göre daha az unutmayla sonuçlandığını gösteren ilk kişi olmuştur (172,173). Bu çalışma, uykunun hafıza için önemine dair ilk ipuçlarını sağlamıştır. Daha sonra birçok çalışma, uykunun hafıza üzerindeki olumlu etkisini doğrulamış ve ayrıca 24 saatten 6 güne kadar daha uzun tutma aralıklarını incelemiştir (174–176). Bu çalışmalarda altta yatan kavram, uykunun hafıza izlerini pasif bir şekilde koruyan "geçici bir sığınak" görevi görmesiydi. Uykunun hafıza oluşumu üzerindeki etkilerinin zamana bağlı olduğu, uykunun öğrenmeden kısa bir süre sonra ortaya çıkan etkilerinin uzun bir zaman sonra ortaya çıkan uykudan daha güçlü olduğunu gösteren çalışmalarla belirtilmiştir (175,177–180). Örneğin, kelime öğrendikten sonraki 3 saat içinde oluşan uyku, 10 saatten fazla ertelenen uykudan daha faydalıydı (178). Ayrıca, 24 saat sonra kelime çiftlerinin hatırlanması, uyku öğrenmeden hemen sonra gerçekleştiğinde, bir gün uyanık kaldıktan sonra gerçekleşen uykuya göre daha iyiydi (179). Öğrendikten sonra uyumanın aslında anıların pekiştirilmesine fayda sağladığı ve bellek izlerini gelecekteki müdahalelere karşı güçlendirdiğini kanıtlayan çalışmalar da bulunmaktadır (181,182). Daha ileri çalışmalar, non-REM içeren 90 dakikalık bir uyku periyodunun yanı sıra 60 dakikalık şekerlemelerin benzer şekilde belleği gelecekteki müdahalelere karşı koruduğunu doğrulamıştır (183–185).

NREM ve REM uykusunun öğrenmeye nasıl etki ettiği ise halen araştırılmaya devam etmektedir. Yapılan araştırmalar, NREM ve REM uykusunun insanlarda öğrenme sürecinde farklı roller oynadığını öne sürmektedir. Önceki çalışmalar, NREM uykusunun deklaratif bellek (hipokampüse bağlı epizodik bellek) için faydalı olduğu; REM uykusunun ise, non-deklaratif bellek (işlemsel bellek) için yararlı olduğunu göstermiştir (186,187). Ayrıca yapılan artan sayıda çalışma, NREM-REM uyku döngüleri dizisinin insanlarda (188,189) ve hayvanlarda (190,191) öğrenme ve hafıza için çok önemli olduğunu göstermiştir. Tamaki ve ark. yaptıkları çalışmada, görsel algısal öğrenme performansının, yalnızca NREM uykusunu içeren bir uyku döneminden sonra önemli ölçüde arttığını, REM uykusunun ise uyku öncesi öğrenmenin dengelenmesinde rol oynadığını göstermişlerdir

(189). Yine aynı çalışmada NREM uykusunun sinaptik plastisiteyi artırarak performans kazanımlarına yol açtığı, oysa REM uykusunun öğrenmeyi stabilize etmek için plastisiteyi azalttığı kanıtlanmıştır (189). Bu kanıtlar, kemirgenlerde öğrenme ve gelişme ile ilgili dendritik dikenlerin sayısında REM uykusu esnasında azalma olduğuna dair yakın tarihli bir bulguyla da tutarlıdır (11). Toplu olarak, bu çalışmalar, NREM ve REM uykusunun, zıt yönlerde sinaptik plastisitenin düzenlenmesini içeren, öğrenmeyi kolaylaştırmada tamamlayıcı roller oynadığını göstermiştir (192).

Sinaptik plastisiteyi doğrudan insanlarda ölçmek zor olsa da, NREM ve REM uykusunda meydana gelen farklı nöronal aktivitelerin, plastisiteyi artırma ve azaltmada rol oynadığı öne sürülmektedir. Özellikle NREM uykusundaki uyku iğcikleri (K kompleksi) ve yavaş dalgalar ile REM uykusundaki teta dalgaları, öğrenme ve hafıza alanında yapılan çalışmalarda kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır.

NREM uykusu sırasında meydana gelen baskın nöral salınımlar arasında olan uyku iğcikleri, öğrenme ve hafıza süreciyle ilgili ana bileşenlerden biri olmuştur ve muhtemelen en yaygın olarak araştırılan olmuştur. Uyku iğcikleri, 0,5 ila 3 saniye süren geçici aktivite patlamalarıdır ve non-REM evre N2'de bol miktarda meydana gelirler ancak N3 sırasında da gözlemlenebilirler (193,194). İğcikler, talamus, talamik retiküler çekirdek ve neokorteksten oluşan talamo-kortikal döngü tarafından üretilir (195,196). Uyku iğcikleri hızlı (12,5–16 Hz) ve yavaş (9–12,5 Hz) uyku iğcikleri olarak iki alt gruba ayrılmaktadır. Hızlı iğcikler non-REM evre N2'de N3'e göre daha sık meydana gelme eğilimindedir ve bunlar daha baskın olarak sentro-parietal bölgelerde meydana gelirken, yavaş iğcikler non-REM evre N3'te N2'ye göre daha sık meydana gelme eğilimindedir ve daha baskın olarak ön frontal bölgelerde meydana gelirler. Yapılan bir çalışmada hızlı iğcik yoğunluğu, motor sıralı öğrenmenin performans kazanımlarının miktarı ile pozitif olarak ilişkiliyken, yavaş iğler, öğrenme ile herhangi bir ilişki göstermemiştir (197). Sonraki yıllarda yapılan diğer çalışmalar da insanlarda hızlı iğciklerin, öğrenme süreçleri için NREM sırasında sinaptik plastisiteyi teşvik etmede ana rol oynayabileceğini desteklemektedir (11,189,192).

Bir dizi çalışma, SWS veya non-REM evre N3 sırasındaki yavaş dalgaların (<4 Hz) hipokampus bağımlı anıların yeniden etkinleştirilmesini kolaylaştırdığını göstermiştir (198,199). Yavaş dalgalar yavaş salınımlardan (<1 Hz) ve delta dalgalarından (0,5–4 Hz) oluşur ve her biri bellekte farklı roller oynamaktadır. Motor öğrenme görevlerinin

kullanıldığı çalışmalarda, öğrenmeden sonra NREM uykusu sırasında motor alandaki yavaş dalga gücü artmıştır ve bu artış motor performans gelişimi ile pozitif korelasyon göstermiştir (200). Kim ve ark. tarafından yakın zamanda yapılan bir hayvan çalışması da delta dalgalarının hafızanın zayıflamasıyla, yavaş nöronal aktivite ise hafızanın güçlendirilmesiyle ilişkili olduğunu göstermiştir (201).

REM uykusu sırasında gözlemlenen bir tür nöral salınım ise teta dalgalarıdır (4-8 Hz). İğcikler ve yavaş dalgalarla karşılaştırıldığında, teta dalgalarının REM uykusu sırasındaki işlevsel rolünü araştıran çalışmalar çok daha az sayıdadır. Yapılan bir çalışmada REM uykusu sırasında kişinin kafa derisi EEG'sinde gözlenen teta dalgaları, hipokampüse ek olarak dorsolateral prefrontal korteks ve anterior singulat korteks dahil olmak üzere birçok kortikal bölgede üretilmiştir (202). Nishida ve ark. (203), duygusal bellek puanlarının, şekerlemeler sırasındaki REM uykusu miktarı ve REM uykusu sırasındaki prefrontal teta gücü ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu göstermiştir, ancak REM uykusunun duygusal belleğe nasıl dahil olduğu hala tartışmalıdır (204).

Gerçekleştirilen uyku yoksunluğu modellerinde uyku yoksunluğunun hipokampüse zarar vermesinin nedenlerinden biri buradaki sinaptik plastisitenin bozulmasıdır. Bir sinaptik plastisite biçimi olan LTP, çeşitli moleküler sinyalleme kaskadlarının ve protein sentezinin de gerçekleştiği sinaptik bağlantıların gücünde uzun süreli artışın olduğu sinaptik bir olaydır (205). Campbell ve ark. yaptıkları bir çalışmada 12 saatlik total uyku yoksunluğundan sonra in vitro olarak CA1 alanındaki LTP'yi incelemiş ve uyku yoksunluğunun sıçanların hipokampusünde LTP oluşumunu inhibe ettiğini bulmuştur (206). Sonraki yıllarda yapılan çalışmalar, davranışsal araştırmalara benzer şekilde, LTP'nin toplam uyku yoksunluğuna, ayrıca REM'e özgü uyku yoksunluğuna ve bölünmüş uykuya karşı savunmasız olduğunu göstermiştir (165,207–209). Uyku kaybıyla değişen ek hücrel sinyal mekanizmaları da bulunmaktadır. NMDA reseptör aktivitesi, belleğin her üç aşamasında da önemli rol oynamaktadır; en önemlisi, belleğin değişken bir biçimden daha kararlı bir biçime ilerlediği konsolidasyon aşamasıdır. Bu reseptörler, artan Ca^{2+} akışı yoluyla LTP'nin ekspresyonuna izin verir. Uyku yoksunluğunun, Ca^{2+} akışını değiştirerek NMDA glutamat reseptör aktivasyonunu bozduğu ve reseptör alt birim bileşiminin sinaptik zarda yapımını engellediği gösterilmiştir (210).

Uzun süreli uyku yoksunluğunun (72 saat) uygulandığı bir çalışmada, Schaffer kollateral stimülasyonuna yanıt olarak CA1 piramidal hücrelerinde NMDA/AMPA reseptör oranının azalttığı bulunmuştur. Ayrıca CA1 hücrelerinin uzak dendritlerinden gelen NMDA reseptörü aracılı uyarıların genliğinin, uyku yoksunluğu sonrasında azaldığı bulunmuştur (211). Yine aynı grup tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise, uyku yoksunluğundan sonra NMDA reseptörünün hücre içinde yer alan NR1 ve NR2A alt birimlerinin yüzey seviyesine kıyasla daha yüksek oranda olduğunu gözlemlenmiştir (211). Uyku yoksunluğundan sonra hipokampüste NR1 protein ekspresyonunda düşüşlerin gözlemlenmesi NMDA reseptörünün uyku yoksunluğu için önemli bir moleküler hedef olduğu hipotezini desteklemektedir.

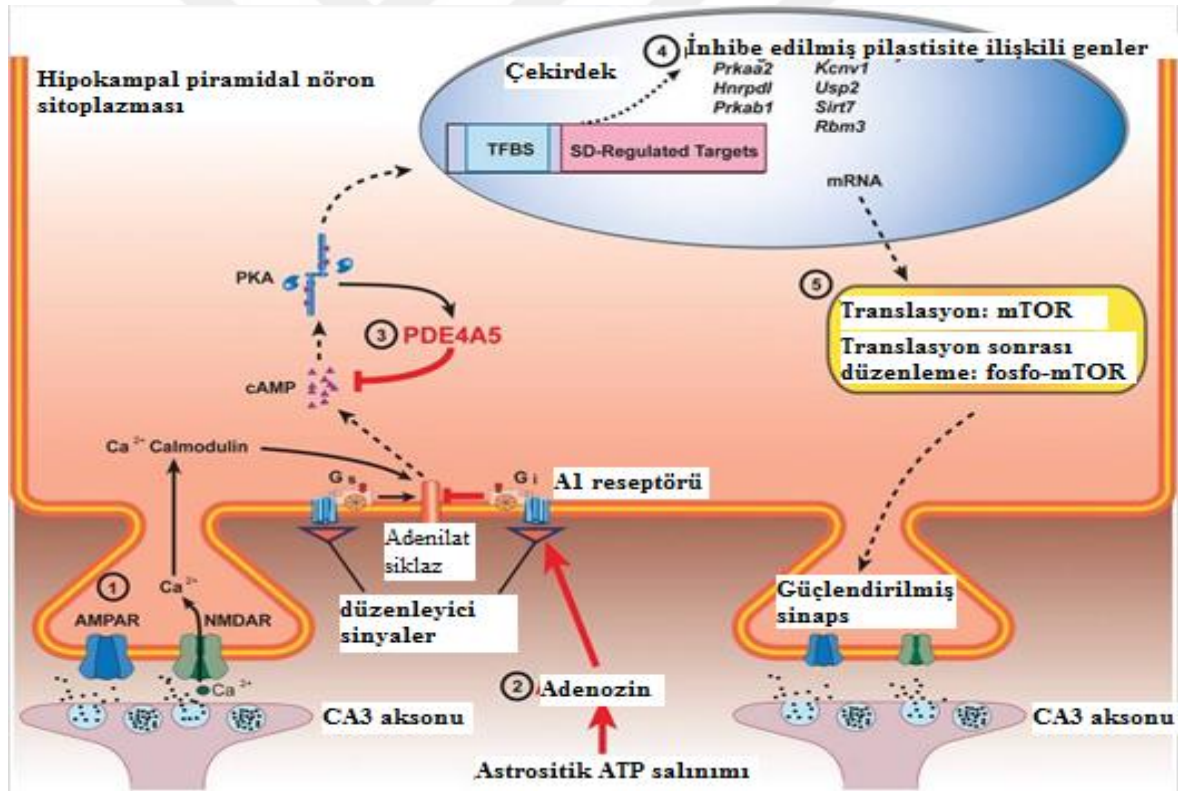
Öğrenme ve hafızada yer alan başka bir glutamat reseptörü sınıfı olan AMPA reseptörlerinin uyku homeostazında da rol oynadığı bilinmektedir (212). Kortikal ve hipokampal AMPA reseptör seviyeleri uyanma saatlerinde artmakta ve uyku periyodu boyunca azalmaktadır (213). Birden fazla günlük REM uykusu yoksunluğunun hipokampüste AMPA reseptör fonksiyonunu azalttığı bir başka çalışmada gözlenmiş ve spesifik olarak, uyku yoksunluğunun bir sonucu olarak AMPA reseptörü GluA1 alt biriminin protein yapımının azaldığı kanıtlanmıştır (208). Bu alt birim özellikle uzamsal bellekle ilişkilendirilmiş (214), bu da uyku yoksunluğu nedeniyle azalan GluA1 ekspresyonunun bozulmuş uzamsal belleğin nedeni olabileceğini göstermiştir.

NMDA/AMPA reseptörleri için ligand olan glutamat da uyku-uyanıklık homeostazında yer almaktadır (215). Uyku yoksunluğunun hipokampustaki glutamat üzerindeki etkilerini inceleyen bir çalışma, uyku yoksunluğundan sonra glutamat düzeylerinin arttığını bulmuştur (216).

cAMP-PKA yolundaki aşağı akış hedeflerinden biri olan CREB, hafıza ve plastisite için önemli olduğu tanımlanmış olan ve aynı zamanda uyku yoksunluğundan etkilenen transkripsiyon faktörüdür. CREB'in serin 133'te PKA tarafından fosforilasyonu, uyku yoksunluğunun bir sonucu olarak hipokampüste azaldığı yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır (217–219). Yapılan bir başka çalışmada ise uyku yoksunluğunun, hipokampüsten bağlamsal girdiler alan ve duygusal olarak bağlanmış anılar için önemli olan bir beyin bölgesi olan amigdala'daki CREB fosforilasyonunu da azalttığı gösterilmiştir (220).

Fosfodiesteraz 4 (PDE4) ise, hipokampal cAMP'nin parçalanmasından sorumlu olan ve böylece PKA aktivitesini azaltan enzimdir. Bir çalışma grubu, uyku yoksunluğu sonrası PDE4 aktivitesinde ve spesifik PDE4 izoformu PDE4A5'in protein yapımında artış olduğunu ve uyku yoksunluğu sırasında PDE4 sinyalinin bloke edilmesinin, yalnızca uyku yoksunluğundan kaynaklanan LTP bozukluklarını değil, aynı zamanda hipokampus bağımlı bellek konsolidasyonunu iyileştirdiğini de bulmuşlardır (217).

Adenozin de uyku-uyanıklık döngüsünde yüksek oranda yer alan anahtar bir nöromodulatördür. ATP'nin adenozine defosforile olması nöronal aktivitenin artışıyla doğru orantılı olarak gerçekleşmektedir (221). Uyku döneminde azalan uyanıklıkta ise artan adenozin, uyku-uyanıklık döngüsünün homeostazisinde önemlidir (222). Adenozin reseptör antagonistlerinden biri olan kafeinin ise uyku yoksunluğu nedeni gelişen bellek bozukluklarında etkili olduğu açıklanmıştır (223).



Şekil 16: Uyku yoksunluğunun ardından hipokampal sinyal yollarına şematik bir genel bakış (224). (Kırmızı oklar, sinyal yolundaki artışı, kırmızı yazı tipi aktivitenin arttığını ve kesikli siyah oklar, sinyal yolunun zayıfladığını göstermektedir)

GSK-3 β , PI3K/Akt'nin aktivasyonu ile inhibe olmaktadır. 7 günlük kronik uyku yoksunluğu yapılmış ve PI3K/AKT/GSK-3 β sinyal moleküllerinin düzeyleri western blot ile belirlenmiş olan prelinik bir çalışmada kronik uyku yoksunluğunun hipokampüste Akt ekspresyonunda azalmaya ve GSK-3 β ekspresyonunda artışa neden olduğu gösterilmiştir (225). Yapılan bir diğer çalışmada ise lityum ile GSK-3 β inhibisyonunun CREB'nin BDNF kaynaklı aktivasyonunu artırdığı kanıtlanmıştır (226).

2.6. Renin Anjiyotensin Sistemi ve Anjiyotensin II

Renin-anjiyotensin sistemi (RAS) ilk önce su ve elektrolit dengesini, sistemik vasküler direnci, aldosteron salınımını ve kardiyovasküler homeostazı düzenleyen endokrin sistemin bir parçası olarak tanımlanmıştır. Klasik RAS, renal afferent arteriyollerin jukstaglomerüler hücrelerinden dolaşıma renin salınmasıyla aktive olur. İlk ve hız sınırlayıcı adım olarak renin, esas olarak karaciğer tarafından sentezlenip salgılanan ve plazmanın α -globulin fraksiyonunda bulunan öncü molekül anjiyotensinojeni anjiyotensin I'e (Ang I) dönüştürür. Anjiyotensin I fizyolojik olarak inaktiftir ancak anjiyotensin II için bir öncül bir peptit görevi görmektedir (227). Anjiyotensin I daha sonra çoğunlukla akciğerlerin endotel hücrelerinde lokalize olan anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) tarafından anjiyotensin II'ye (Ang II) dönüştürülür. Bu sistem içinde Ang II, anjiyotensin II tip 1 reseptörüne (AT1R) ve anjiyotensin II tip 2 reseptörüne (AT2R) bağlanarak etki eden birincil biyoaktif bir üründür. AT1Rler vazokonstrüksiyon, hücresel proliferasyon, hücre büyümesi ve süperoksit üretimine aracılık ederken, AT2Rler vazodilatasyona aracılık eder. Aynı zamanda AT2Rler hem antioksidan hem de antiinflamatuvar özelliklere sahiptir. Bu durum göz önüne alındığında AT1R ve AT2R'nin antagonistik etkilere yol açtığı görülmektedir (228–230). Ang II, AT1R ve AT2R üzerinden böbrek, adrenal korteks, arterioller ve beyin üzerinde etki gösterir (231). AT1R'leri kemirgenlerde AT1A ve AT1B olarak iki alt tipe ayrılırken insanlarda tek tiptir (232).

Lokal olarak sentezlenebilen RAS'lar da bulunmaktadır. Lokal RAS'lar arasında Ganten ve ark. tarafından keşfedilen beyin RAS'ı (b-RAS) (233) özel bir öneme sahiptir, çünkü sistemik RAS bileşenleri kan-beyin bariyeri (KBB) nedeniyle çoğu beyin bölgesine

erişememektedir (234). Yapılan birçok araştırma, b-RAS'ın merkezi sinir sistemi üzerinde sodyum tutma, kan basıncı kontrolü ve vasküler etkiler dahil olmak üzere iyi bilinen rollerinin ötesinde karmaşık etkilerinin de olduğunu göstermiştir. Yapılan çalışmalar b-RAS'ın oksidatif stres, endotel disfonksiyonu, mikrogial polarizasyon, nöroinflamasyon, beyin homeostazı, nörotransmitter sekresyonunda değişiklikler, kognitif fonksiyonlar ve yaşlanma süreci üzerinde etkilerinin olduğunu göstermiştir (234–237). Ayrıca birçok çalışma, beyin anjiyotensin II AT1R'sinin serebral damar sisteminin ve dolayısıyla beyne kan akışının, merkezi ve periferik sempatik sistemin, hormon üretimi ve salınımının ve davranışının düzenlenmesinde fizyolojik bir rol oynadığını ortaya koymaktadır (238–240).

2.6.1. Beyin renin anjiyotensin sistemi aracılı nörodejenerasyon

Oksidatif stresin aşırı seviyelerinin, nörodejeneratif hastalıklarda önemli olduğu bilinmektedir. Beyin RAS'ı da nöronal işlev bozukluğuna aracılık eden oksidatif stres artışında rol oynar (241). Yapılan birçok çalışmada ang II'nin AT1R aracılığıyla beyin çeşitli bölgelerinde bulunan bir enzim olan nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz (NOX) aracılı reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini aktive etmede aracı olduğu gösterilmiştir (242–244). Anjiyotensin II ile NOX kompleksinin aktivasyonu, inflamatuvar hücrelerde süperoksit oluşumunun uyarılmasına ve dopaminerjik nöronların ölümüne neden olmaktadır (245). Ayrıca ang II, nöronal NMDA reseptörlerinde iyon akımlarını etkileyerek NOX-2'ye bağlı ROS üretiminin artmasına yol açmaktadır (246).

Hem dolaşımdaki hem de b-RAS bileşenlerinin, nöroinflamasyon-nörodejenerasyon yolunda anahtar rol oynadığı ve ang II'nin nöroinflamasyonu tetikleyici olduğu bildirilmektedir. Ayrıca yapılan araştırmalar, b-RAS'ın, glial hücrelerin aktivasyonu sonrası gelişen ROS ve inflamatuvar mediatörlerin salınması aracılığıyla kronik inflamasyonu tetiklediğini göstermiştir (247,248). Bu etkilerle bilişsel işlev bozukluğu ve nörodejenerasyon gerçekleşmektedir. Bu durumda ang II/AT1R ekseninin bloke edilmesinin ve peroksizom proliferatörü ile aktive edilen reseptör gama (PPAR γ) yapımının artışının nörotrofik faktörlerin yapımını etkileyerek inflamasyonu azaltabileceği kanıtlanmıştır (249,250).

2.7. Anjiyotensin II Reseptör Blokörleri

Anjiyotensin II reseptör blokörleri (ARB'ler), bir antihipertansif ajan sınıfını temsil eder. Etki mekanizmaları, renin-anjiyotensin sistemini de etkileyen anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörlerinden farklıdır. ARB'ler, reseptör bölgesi ile seçici olarak etkileşime girerek daha iyi anjiyotensin II inhibisyonu sağlamaktadır (251). ARB'ler AT1R için yüksek afiniteye sahiptirler ve AT2R için neredeyse hiç afiniteleri yoktur. Tüm antagonistler çok yüksek protein bağlanması sergilerler ve in vitro koşullarda çoğu AT1R antagonistleri, dönüşümsüz bir blokaj oluştururlar (252).

2.7.1. AT1RB'nin beyin dokusu üzerindeki etkileri

Beyin AT1R'leri, beyin inflamasyonu, serebrovasküler fonksiyon ve stresin fizyolojik kontrolünde görev almaktadır. Ayrıca, AT1R blokajının sonuçları, AT1R aşırı aktivitesinin, kontrolsüz ve aşırı inflamasyonun, serebrovasküler fonksiyondaki değişikliklerin ve strese patolojik tepkilerin önemli bir belirleyicisi olduğunu göstermektedir (36,253). Sistemik ARB uygulaması, vasküler endotelial hücrelerde, makrofajlarda ve adrenal bezde bulunan periferik AT1R'leri antagonize eder ve proinflamatuvar sitokinlerin ve aldosteronun üretiminde ve genel dolaşıma salınmasında bir azalmaya neden olur. ARB'ler periferik inflamasyonu azaltır böylece dolaşımdaki proinflamatuvar mediyatörlerin serebrovasküler endotelial hücreler ve sirkümventriküler organlar üzerindeki etkilerini önemli ölçüde azaltır. Aynı zamanda, ARB'ler, anti-inflamatuvar glukokortikoidlerin enflamasyon kaynaklı artışını engelleyerek dolaşımdaki dengeyi anti-inflamatuvar faktörler lehine kaydırır. Sonuç olarak, ARB'ler beyin parankiminde aşırı mikrogliya ve astrosit aktivasyonunu etkileyen daha fazla enflamatuvar kaskadların üretimini önleyerek dolaylı olarak nöronal hasarı azaltır (254–257). ARB'ler, dolaşımdaki aldosteronu azaltarak sadece serebrovasküler endotelial hücrelerde mineralokortikoid reseptör stimülasyonunu dolaylı olarak azaltmakla kalmaz, aynı zamanda aldosteronun beyin parankimindeki inflamatuvar etkilerini de azaltır (258). Buna karşılık, azaltılmış mineralokortikoid reseptör stimülasyonu beyin RAS aktivitesini ve aşırı NADPH oksidaz bağımlı ROS üretimini azaltır (258).

ARB'ler aynı zamanda serebrovasküler endotel hücreleri üzerindeki AT1R'lerin blokajının bir sonucu olarak beyinde sirkumventriküler organlarda ve paraventriküler çekirdekte anti-inflamatuar etkiler sergileyebilirler (259,260). Ayrıca ARB'ler inflamasyon sırasında kan-beyin bariyerinin işlevselliğini koruyarak yıkımını önler ve adezyon moleküllerinin üretimindeki artışları sınırlandırır, bu şekilde beyin parankimine makrofaj ve T-hücresi infiltrasyonunu azaltır (259). Vagusun dorsal motor çekirdeği ve nükleus traktus solitarius'ta çok sayıda AT1R'nin yapıldığı gözlemlenmiştir (261). Bu yerleşim, başka bir doğrudan nörokoruma mekanizması olarak, ARB'lerin vagus siniri yoluyla beyne ulaşan inflamatuvar sinyallerin geçişini önleme mekanizması olabileceğini düşündürmektedir (262).

2.7.2. AT1RB'nin öğrenme ve bellek üzerine etkileri

Beyin hasarının gelişmesine ve ilerlemesine yol açan ilk hasar mekanizmasının, nörovasküler ünite ve serebrovasküler endotelyumun işlev bozukluğu olduğu hipotezini destekleyen kanıtlar bulunmaktadır. Kardiyovasküler bozukluklardaki anahtar patojenik mekanizmanın endotel disfonksiyonu olduğu gibi birçok beyin bozukluğunun gelişiminde ve ilerlemesinde de çok benzer mekanizmalar söz konusudur (263). Serebrovasküler endotel hücreleri, yaşa bağlı hasar mekanizmalarına karşı özellikle savunmasızdır ve endotel hücre hasarı, erken patojenik bir mekanizmadır. Endotelyal hücre hasarına neden olan faktörler arasında artmış inflamasyon ve oksidatif stres, apoptozun düzenlenmesindeki değişiklikler, eksitotoksik glutamat hasarı ve mitokondriyal disfonksiyon yer alır (264). Serebrovasküler endotel hasarı, kan-beyin bariyerinin bozulmasına, beyin parankiminin lökosit infiltrasyonuna ve artmış inflamasyon ve oksidatif hasardan oluşan bir kısır döngüye yol açar (265). Bu süreçler, beyin parankimi için ilerleyici oksijen ve besin kaynağı eksikliği, hücresel hasar ve beyin fonksiyonu kaybı ile sonuçlanır. Beyin hasarında erken ve temel bir hasar faktörü olarak artan AT1R aktivasyonunun kilit rolü, AT1R blokajının oksidatif strese ve diğer erken hasar mekanizmalarına maruz kalan serebrovasküler endotelyal hücrelerde mitokondriyal fonksiyonu koruduğunun keşfedilmesiyle fazlasıyla doğrulanmıştır (264,266). ARB'lerin nöroprotektif etkileri, sistemik olarak - intraperitoneal, subkutan veya oral olarak - uygulandığında çeşitli kemirgen beyin hastalığı modellerinde de gözlenmiştir. ARB'ler bu etkiyi, nöronal hasarı azaltıp nörit büyümesini uyararak ve nörogenezi artırarak

sağlarlar (267,268). Ayrıca astrositler önemli sayıda AT1R içermektedir (269,270) ve bu hücreler beyindeki ana anjiyotensinojen kaynağıdır (271). Mikroglial kültür koşullarında da AT1R tespit edilmiştir (272,273) ve ARB'lerin nöroprotektif etkili olduğu saptanmıştır (255,272).

Santral olarak uygulanan Ang II'nin, muhtemelen asetilkolin salınımının inhibisyonu yoluyla kemirgenlerde öğrenme ve hafızayı olumsuz etkilediği ve sinaptik aralıkta asetilkolin azalmasına yol açtığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (274,275). Bu durum, merkezi Ang II'yi antagonize etmenin, kısmen kolinerjik sistemin modülasyonu yoluyla bilişsel fonksiyonları geliştirebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca AT1RB kullanımının öğrenme ve hafızayı güçlendirici etkisinin asetilkolinesteraz aktivitesinde gözlenen azalma sonucu artış gösteren asetilkolin düzeyleri aracılığıyla sağlandığı yapılan bir çalışmada kanıtlanmıştır (276). Yine bir başka çalışma AT1RB kullanımının yaşlı farelerde uzamsal öğrenmeyi ve hafıza kapasitesini normalleştirdiğini göstermiştir (277). Sıçanlarda status epileptikusun neden olduğu kognitif bozukluğun AT1RB kullanılması ile iyileştiği (278) ve iyileşme mekanizmasının, mikroglial aracılı enflamasyonun baskılanmasını ve hipokampal nöronal kaybın zayıflamasını içerdiği bildirilmektedir (279).

2.8. Telmisartan

Telmisartan, anjiyotensin II reseptör blokajı yoluyla etki gösteren popüler bir renin-anjiyotensin sistemi inhibitörüdür ve aynı zamanda PPAR γ agonistidir (280). Yapılan çalışmalarda, uygulanan telmisartanın PPAR γ aktivasyonu ile sağlanan anti-inflamatuar ve anti-oksidan etkilerinin, serebral iskemide bilişsel gerilemeye karşı koruyucu rollere sahip olduğu ve nöronlardaki anti-enflamatuar etkiler yoluyla beyin hasarını önlediği bildirilmiştir (281,282). Telmisartan, kan-beyin bariyeri geçirgenliği ve uzun yarı ömrü açısından da diğer ARB'lerden ayrılır.

Anjiyotensin II, hipokampüste LTP'yi bloke eder ve BDNF'nin süperoksit bağımlı yapımının azalmasına neden olur (283,284). Bir çalışmada kullanılan düşük doz telmisartanın (1 mg/kg/gün), sıçan hipokampuslerinde BDNF yapımını artırarak kognitif fonksiyonlardaki gerilemeye karşı koruyucu etki sağladığı da gösterilmiştir (285).

Telmisartan, özellikle hipokampus CA1 ve CA3 bölgelerinde sağlam nöron sayısındaki artışla nörokoruyucu etki gösterir. Ek olarak, astrogliosis için bir belirteç olarak kullanılan glial fibriler asidik protein (GFAP) immünohistokimyasal olarak yapımını belirgin şekilde inhibe eder (286). Tüm bunlara ek olarak telmisartan, PPAR γ aktivasyonu sağlayarak çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda önemli rol oynayan PI3K/Akt yolu aracılığıyla GSK-3 β aktivitesini inhibe etmektedir (287). Bir serin/treonin kinaz olan GSK-3 β , merkezi sinir sisteminde bol miktarda bulunmakta ve çok sayıda hücre fonksiyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır (28). Ayrıca GSK-3 β 'nin inhibisyonunun nöroprotektif olduğu ve anjiotensin II reseptör blokörü olan telmisartanın, inaktif GSK-3 β düzeylerini arttırdığı yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (28). Yapılan bir başka çalışmada ise GSK-3'ün glikojen sentaz enzimini inhibe ederek glikojen üretimini engellediği gösterilmiştir (288). Bu iki farklı çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde telmisartanın GSK-3 β düzeylerini azalttığı ve bu etki sonucu glikojen sentezinde bir artış meydana getirdiği desteklenmektedir.

MCT'lerin beyin laktatının nöronlara taşınmasını sağlayan sistemler olduğu bildirilmektedir (31). Daha önce yapılmış bir çalışmada orta serebral arter oklüzyonu gerçekleştirilmiş sıçan beyinlerindeki MCT-2 düzeylerinin kontrol gruplarına kıyasla azaldığı tespit edilmiştir (289). Ayrıca 1 mg/kg dozda telmisartanın tedavi ajanı olarak uygulandığı bir diğer çalışmada da sıçanlarda travmatik beyin hasarı geliştirilmiş ve sonrasında tedavi verilen ve verilmeyen grupların hipokampus ve PFC dokularında MCT-2 düzeyleri incelenmiştir. Sonuçlarda telmisartan verilen gruptaki MCT-2 düzeylerinin tedavi verilmeyen gruba kıyasla artış eğiliminde olduğu gösterilmiştir (290).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Eylül 2022-Aralık 2022 tarihinde Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalında gerçekleştirildi. Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulunun 03/02/2022 tarihli ve 2022-06-03/02 protokol numaralı oturumunda çalışmayı yapabilmek için onay alındı (Ek-1). Bu çalışma 2022-26259946-01 nolu proje olarak Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda ağırlıkları 200-300 gr. arasında değişen 3 aylık 32 adet yetişkin erkek Wistar-Albino cinsi sıçan Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Deneyde kullanılacak sıçanlar deneyden bir hafta önce ortama alışmaları için deneyde kullanılacak Fizyoloji Ana Bilim Dalı laboratuvarında barındırıldılar. Tüm sıçanlar her gün değiştirilen taze musluk suyu ve standart pelet yemler ile beslendi. Herbir hayvan ortam sıcaklığının 22-25°C olduğu bir odada üstü kapalı tel kafeslerde ve 12 saat gündüz 12 saat gece döngüsünde olacak şekilde tutuldu.

3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Deney hayvanları, vücut ağırlıkları dikkate alınarak rastgele ve her grupta 8 sıçan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı:

Grup 1: Kontrol grubu (KONTROL) (n:8) normal kafeslerde barındırılan ve oral gavaj ile distile su uygulanan grup

Grup 2: Uyku yoksunluğu grubu (SD) (n:8) uyku yoksunluğu oluşturulup oral gavaj ile distile su uygulanan grup

Grup 3: Uyku yoksunluğu oluşturulup oral gavaj ile 1 mg/kg telmisartan uygulanan grup (SD+Tel1) (n:8)

Grup 4: Uyku yoksunluğu oluşturulup oral gavaj ile 3 mg/kg telmisartan uygulanan grup (SD+Tel3) (n:8)

3.3. Uyku Yoksunluğu Oluşturma Tekniği

Yaptığımız bu çalışmada REM uyku yoksunluğu oluşturmak için modifiye çoklu platform tekniği kullanılmıştır. Uyku yoksunluğu oluşturulan tüm gruplar deney başlangıcından bir hafta önce her gün yarım saat olmak üzere uyku yoksunluğu oluşturulacak platformlarda tutularak ortama alışmaları sağlandı. Hayvanlarda uyku yoksunluğu geliştirmek için kabın 38 cm genişliğinde, 60 cm uzunluğunda ve 33 cm derinliğinde plastik, şeffaf bir kutu kullanıldı. Kutu içerisine toplamda 12 adet olacak şekilde ve her biri 14 cm yükseklik, 6,5 cm çapa sahip platformlar yerleştirildi ve her bir düzenek bu platformların 2 cm aşağısında kalacak şekilde $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ su ile dolduruldu (146). Her bir platform arasında 10 cm mesafe bırakıldı ve bu sayede sıçanlar platformlar arasında serbestçe hareket edebildi (Şekil 17). Bu düzenek hayvanların NREM uykusu uyumasına izin verirken her REM uyku periyodunun başında kas tonuslarını kaybettiklerinde suya düşerek uyanmaları prensibine dayanmaktadır. Böylelikle hayvanlarda REM uyku yoksunluğu oluşturulur. Hayvanlarda bu yöntemle oluşturulan uyku yoksunluğu 21 gün boyunca devam etti. Deney hayvanları 16:00-10:00 saatleri arasında günde 18 saat olmak üzere düzenekte tutuldular. Düzenekte bulundukları süre boyunca su ve yem alımları serbest bırakıldı. Ertesi gün hayvanlar 6 saatlik dönemde (10:00 - 16:00) kendi kafeslerine geri konularak uyumalarına izin verildi. Bu sırada uyku yoksunluğu düzeneği dikkatlice temizlendi ve saat 16:00'dan önce $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta taze musluk suyuyla dolduruldu.



Şekil 17: Modifiye çoklu platform tekniğinin uygulandığı kafesler

3.4. İlaç Uygulaması

Çalışmamızda deney hayvanlarının herbirine 21 gün boyunca aynı saatlerde olmak üzere (öğlen 12.00-13.00) distile su veya 1 mg/kg, 3 mg/kg olmak üzere 2 farklı dozda Telmisartan distile su içinde çözündürülerek oral gavaj yoluyla verilmiştir (Şekil 18).



Şekil 18: Oral gavaj ile ilaç uygulanması

3.5. Vücut Ağırlığı Ölçümü

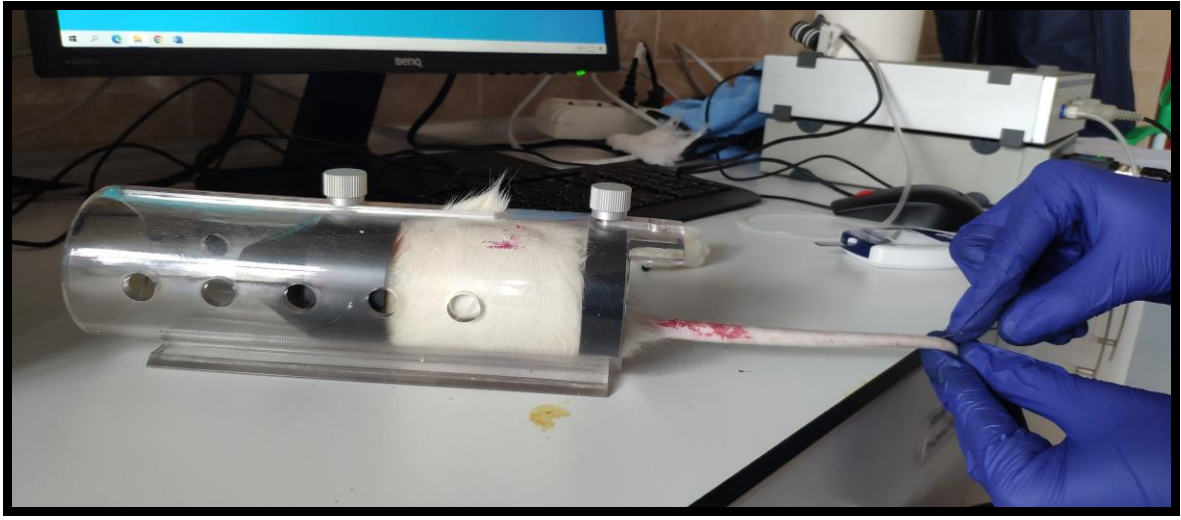
Çalışmamızda ilk gün, birinci hafta, ikinci hafta ve üçüncü hafta olmak üzere toplamda 4 kez ağırlık ölçümü yapıldı (Şekil 19).



Şekil 19: Vücut ağırlığı ölçümü

3.6. Kan Şekeri Değeri Ölçümü

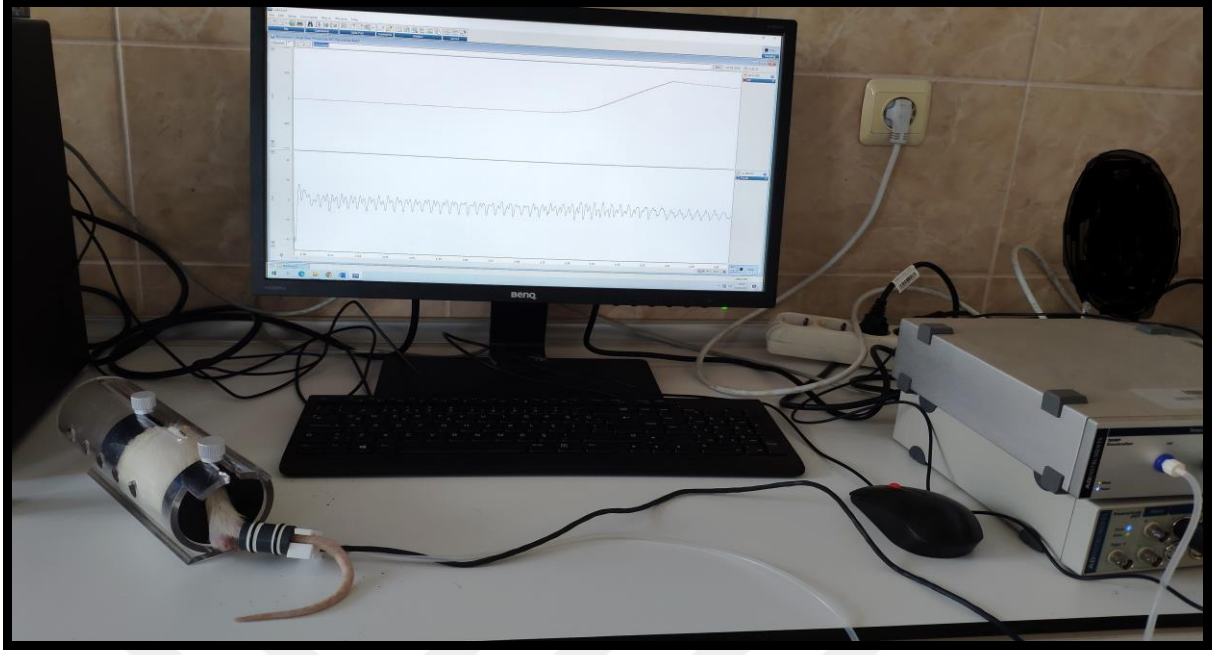
Kan şekeri değeri ölçümleri için hayvanların lateral kuyruk veninden alınan kan kullanıldı. Öncelikle hayvanların kuyrukları %70'lik etil alkolle temizlendi ve kan alınacak bölge üst kısmından kuyruğa bası yapılarak kanın aşağıda göllenmesi sağlandı ve 18G enjektör ucu ile damar hattına girilerek alınan bir damla kan kalibrasyonu yapılmış eBsensor marka cihazın strubine yerleştirildi ve ölçüm sağlandı (Şekil 20). Ölçümler ilk gün, birinci hafta, ikinci hafta ve üçüncü hafta olmak üzere toplamda 4 kez yapıldı.



Şekil 20: Kan şekeri değeri ölçümü

3.7. Kan Basıncı Ölçümü

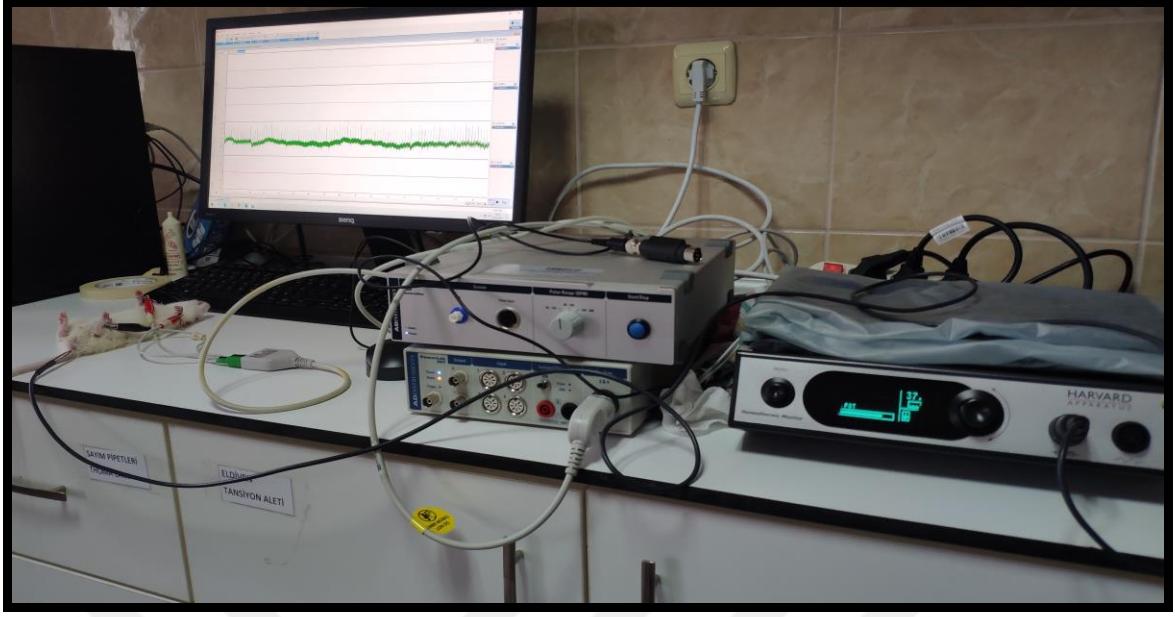
Çalışmamızda kan basıncı ölçümü yapılacak hayvanların ölçüm metoduna alışması için deney öncesindeki bir hafta içerisinde deneme ölçümleri yapıldı. Kan basıncı ölçümleri kuyruktan PowerLab ve LabChart7 Pro sistemi kullanılarak yapıldı (Şekil 21). 10.00-12.00 saatleri arasında olacak şekilde deneyin ilk günü, birinci haftası, ikinci haftası ve üçüncü haftası olmak üzere toplamda 4 kez ölçüm yapıldı. Ölçüm 5 dakika boyunca ve 1 dakika aralıklarla yapıldı. Analizlerde ölçülen bu 5 değerın ortalaması alındı.



Şekil 21: Kan basıncı ölçümü

3.8. Vücut Sıcaklığı Ölçümü ve EKG Analizi

Çalışmamızda vücut sıcaklığı ölçümü ve EKG analizi yapabilmek için 21.günde anestezi altındaki sıçan supin pozisyona alındı. İletkenliği artırmak için elektrodların yerleştirildiği sağ kol, sol kol ve sol bacak bölgeleri %70 etil alkol ile silindi. PowerLab ve LabChart7 Pro sistemi kullanılarak EKG ölçümü ve analizi 17.00-20.00 saatleri arasında yapıldı. Harvard Apparatus Homeothermic Monitor cihazı ile rektumdan vücut sıcaklığı 17.00-20.00 saatleri arasında ölçüldü (Şekil 22).



Şekil 22: Vücut sıcaklığı ölçümü ve EKG analizi

3.9. Öğrenme ve Bellek Testi

Uzamsal öğrenme ve bellek performanslarını değerlendirmek için tüm hayvanlar Morris su labirenti testi ile eğitildi (140). Dairesel tank (150 cm çapında, 60 cm derinliğinde ve $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de opak suyla dolduruldu) görünmez bir kaçış platformu içermektedir. Eğitim aşamasında platform (10 cm çapında) su yüzeyinin yaklaşık 2 cm altına ve kuzeybatı yönüne yerleştirildi. Su tankının yakınındaki duvarlara deney hayvanı tarafından görülebilecek şekilde farklı görsel ipuçları yerleştirilerek hayvanların uzayda konumlarını belirlemelerine ve tankın hangi bölümünde olduklarını anlamalarına yardımcı olundu. Deney süresince bu resimlerin yerleri değiştirilmedi. Tank dört eşit kadrana bölündü (kuzey (K), batı (B), güney (G) ve doğu (D)). Sıçanlar ilk gün görünür platform ile eğitildi. Bu eğitim sırasında 60 sn süresince görünür platformun yerini bulmaları beklendi. Daha sonraki günlerde platform su altına yerleştirilerek deneklerin platformun yerini bulma süreleri kaydedildi. Art arda 4 gün eğitim aşamasında her sıçan farklı kadrarlardan kaçış platformunu bulması için suya bırakıldı (Şekil 23) ve her bir eğitim arasında 15-20 dakika olmasına özen gösterildi. Sıçanların 60 saniye boyunca gizli kaçış platformunu bulması beklendi. 60 sn. sürede platformu bulamayan hayvanlar platforma yerleştirildi ve 15 sn. bekletilerek etraflarını

tanımları sağlandı. Sonrasında hayvan platform üzerinden alınıp kurulandı ve standart kafesine yerleştirildi. En son gizli platform eğitimi aşamasından 24 saat sonra testin 5.gününde “*Probe trail*” testi yapıldı. Bu testte kuzeybatı yönünde bulunan platform kaldırıldı ve deney hayvanları platformun karşı kadranı olan güneydoğu yönünden yüzleri tank duvarına dönük olacak şekilde suya bırakıldı ve 60 sn süresince hedef kadranda geçirdikleri süre kaydedildi (şekil 24).



şekil 23: Morris su labirenti testi (saklı platform)



şekil 24: *Probe trail* testi

3.10. Anestezi

Deney gruplarındaki herbir hayvan deneyin son günü vücut sıcaklığı ölçümü ve EKG analizi yapabilmek için anesteziye alındı. Anestezi öncesi dönemde tüm hayvanlar yemekten yoksun bırakıldı ancak su içmelerine izin verildi. Anestezi işlemi 90mg/kg

ketamin ve 8mg/kg ksilazin dozuyla intraperitoneal yoldan yapıldı. Kan ve dokuların alınması işlemleri de hayvanlar anestezi altındayken yapıldı.

3.11. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması

Feda edilmeden önce 17.00-20.00 saatleri arasında gruptaki her hayvandan intrakardiyak olacak şekilde 5 ml. kan alındı. Alınan kanlar santrifüj cihazında 3500 rpm’de 10 dakika olacak şekilde döndürülerek plazmalarının ayrılması sağlandı. Daha sonra plazmalar ependorf tüplere aktarıldı ve plazma kortikosteron düzeylerinin bakılacağı güne kadar -80°C dondurucuda saklandı. Hipokampus, PFC ve beyin dokuları ise hızlı bir şekilde kafatası açılıp beyin dokusu buz üstünde parçalara ayrıldıktan sonra çalışmanın yapılacağı güne kadar -80°C dondurucuda saklandı.

3.12. Değerlendirilen Parametreler

3.12.1. BDNF, CREB, GSK-3 β , MCT-2, LDH ve CORT düzeylerinin belirlenmesi

Hipokampus ve PFC; BDNF düzeyleri, Rat BDNF ELISA kiti (SunRed Biotechnology, Çin, katalog no:201-11-0477), CREB düzeyleri, Rat CREB ELISA kiti (SunRed Biotechnology, Çin, katalog no:201-11-0040), GSK-3 β düzeyleri, Rat GSK-3 β ELISA kiti (SunRed Biotechnology, Çin, katalog no:201-11-2686), MCT-2 düzeyleri, Rat MCT-2 ELISA kiti (SunRed Biotechnology, Çin, katalog no:201-11-6119), LDH düzeyleri, Rat LDH ELISA kiti (SunRed Biotechnology, Çin, katalog no:201-11-0531), CORT düzeyleri, Rat CORT ELISA kiti (SunRed Biotechnology, Çin, katalog no:201-11-0497) kullanılarak ölçüldü. Ölçüm basamakları kitin kullanım klavuzuna uygun olacak şekilde sırasıyla yapıldı. Bu basamaklar şu şekildedir:

- 1) Fosfat tampon solüsyonunun (PBS) hazırlanması
- 2) Doku homojenatlarının hazırlanması
- 3) Kullanılan kite uygun olacak şekilde standartların hazırlanması

- 4) Örneklerin ve standartların plate'e eklenmesi
- 5) Sadece örneklerin eklendiği kuyucuklara olacak şekilde 10 µl antikor ve 50 µl HRP eklenmesinin ardından 37°C'de 1 saat inkübasyon
- 6) Kitin içerisinden çıkan yıkama solüsyonunun 30 kat sulandırılması ve plate'in 5 kez yıkanması
- 7) Kitin içerisinden çıkan kromojen A ve B solüsyonlarının 50 µl olacak şekilde tüm kuyucuklara eklenmesinin ardından 37°C'de 10 dakika inkübasyon
- 8) Kitin içerisinden çıkan stop solüsyonunun 50 µl olacak şekilde tüm kuyucuklara eklenmesi
- 9) Plate'in 450 nm dalga boyunda ELISA cihazında (Awareness, Chromate 4300, USA) okutulması

3.12.1.1. Fosfat tampon solüsyonunun (PBS) hazırlanması

0,8 g NaCl (Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany), 0,02 g KCl (Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA), 0,144 g Na₂HPO₄ (Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany) ve 0,024 g KH₂PO₄ (Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany) tartıldı ve tartılan kimyasalların hepsi bir balon jojeye alındı. Son olarak hacmi distile su ile 100ml'ye tamamlanarak manyetik karıştırıcı ile çözünmeleri sağlandı. Bu sayede 0,01 M PBS elde edildi.

3.12.1.2. Doku homojenizatlarının hazırlanması

Deney günü -80°C dondurucuda saklanan doku örnekleri dondurucudan çıkarıldı. Daha sonra buz üstünde çözünmesi sağlanan dokulardan gerekli miktarda tartım sağlanarak plastik tüplere aktarıldı. Bu plastik tüplere doku (hipokampus ve PFC) ağırlığının 19 katı olacak şekilde PBS eklendi ve mekanik homojenizatörde parçalanarak homojenize edilmesi

sağlandı. Elde edilen homojenatlar 3000 rpm’de 20 dakika olacak şekilde santrifüje edildi. Santrifüj sonrası ayrılan süpernatantlardan BDNF, CREB, GSK-3 β , MCT-2, LDH düzeylerini belirlemek için enzyme-linked immün sorbent assay (ELISA) yöntemi kullanıldı. Önceden santrifüje edilen kanlardan elde edilen plazmalardan ise plazma CORT düzeylerini belirlemek için enzyme-linked immün sorbent assay (ELISA) yöntemi kullanıldı.

3.12.2. MDA düzeyinin belirlenmesi

Oksidatif stresi doku düzeyinde değerlendiren parametrelerden biri olan MDA, lipid peroksidasyonunun bir göstergesidir. Doku düzeyinde yapılan bu araştırmada Casini ve ark. nın metodu esas alındı (291). -80°C dondurucuda saklanan doku örnekleri dondurucudan çıkarıldı. Daha sonra buz üstünde çözünmesi sağlanan dokulardan gerekli miktarda tartım sağlanarak plastik tüplere aktarıldı. Bu plastik tüplere doku (beyin ve PFC) ağırlığının 9 katı olacak şekilde soğuk %10’luk triklorasetik asit (TCA, Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) eklendi ve mekanik homojenizatörde parçalanarak homojenize edilmesi sağlandı. Elde edilen homojenatlar 18-20°C’de 4000 rpm’de 15 dakika olacak şekilde santrifüje edildi. Santrifüj sonrası ayrılan 1,5 ml süpernatant ependorf tüplerine alındı ve 3000 rpm’de 10 dakika daha santrifüje edildi. Santrifüj sonrası ayrılan 750 μ l süpernatantın üzerine 750 μ l %0,67’lik tiyobarbitürik asit (TBA, Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) eklendi. Bu karışımın üzerine en son olarak %1’lik 10 μ l butilhidroksi tolueen (BHT, Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) eklendi. Oluşan bu karışım 15 dakika kaynatıldı. Elde edilen örnekler 535 nm’de spektrofotometrik (UVmini-1240 spectrophotometer, Shimadzu Co., Kyoto, Japan) olarak okunarak ölçüm sağlandı.

3.12.3. GSH düzeyinin belirlenmesi

Antioksidan parametrelerden biri olan GSH düzeyini belirlemek için Aykac ve ark. nın metodu kullanıldı (292). -80°C dondurucuda saklanan doku örnekleri dondurucudan

ıkarıldı. Daha sonra buz üstünde znmesi sağlanan dokulardan gerekli miktarda tartım sağlanarak plastik tüplere aktarıldı. Bu plastik tüplere doku (beyin ve PFC) ağırlığının 9 katı olacak şekilde soğuk %10'luk triklorasetik asit (TCA, Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) eklendi ve mekanik homojenizatörde parçalanarak homojenize edilmesi sağlandı. Elde edilen homojenatlar 18-20°C'de 4000 rpm'de 15 dakika olacak şekilde santrifüje edildi. Santrifüj sonrası ayrılan 1,5 ml süpernatant ependorf tüplerine alındı ve 3000 rpm'de 10 dakika daha santrifüje edildi. Santrifüj sonrası ayrılan 250 l süpernatantın üzerine 1 ml 0,3M Na₂HPO₄ (Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) eklendi. Bu karışımın üzerine en son olarak 125 l ditiobisnitrobenzoat (DTNB) (Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) eklendi. Vorteksleme sonrası elde edilen örnekler 412 nm'de spektrofotometrik (UVmini-1240 spectrophotometer, Shimadzu Co., Kyoto, Japan) olarak okunarak ölçüm sağlandı.

3.12.4. Glikojen düzeyinin belirlenmesi

Beyin dokusunun glikojen düzeyi, Lo ve ark. nın tarif ettiği metoda göre çalışıldı (293). -80°C dondurucuda saklanan doku örnekleri dondurucudan çıkarıldı. Daha sonra buz üstünde znmesi sağlanan dokulardan gerekli miktarda tartım sağlanarak cam tüplere aktarıldı. Bu cam tüplere 1,5 ml Na₂SO₄ ile doyurulmuş %30'luk KOH zltisi eklendi ve kaynar su banyosunda 30 dakika bekletildi. 30 dakika sonra kaynayan sudan çıkarılan cam tüpler buz üstünde soğutuldu. Daha sonra soğuyan tüplerdeki karışımın üzerine %95'lik etanol eklendi ve tekrar 30 dakika buzda bekletildi. Daha sonra 2400 rpm'de 30 dakika santrifüje edilen karışımdan elde edilen süpernatantlar atıldı ve tüpte kalan eltinin üzerine 3 ml distile su eklenerek cam baget yardımıyla eşit srelerde karıştırılması sağlandı. Cam bagetlerle eşit srelerde karıştırılarak hazırlanan yeni örneklerin üzerine %5'lik fenol ve %98'lik H₂SO₄ solüsyonları (1:1:5) eklendi. Bu karışım 20 dakika 30°C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda elde edilen örnekler 490 nm'de spektrofotometrik (UVmini-1240 spectrophotometer, Shimadzu Co., Kyoto, Japan) olarak okunarak ölçüm sağlandı.

3.12.5. Nitrat düzeyinin belirlenmesi

Oksidasyon göstergelerinden biri olan nitrat düzeyini belirlemek için Miranda ve ark. nın metodu kullanıldı (294). -80°C dondurucuda saklanan doku örnekleri dondurucudan çıkarıldı. Daha sonra buz üstünde çözünmesi sağlanan dokulardan gerekli miktarda tartım sağlanarak plastik tüplere aktarıldı. Bu plastik tüplere doku (beyin) ağırlığının 9 katı olacak şekilde PBS eklendi ve mekanik homojenizatörde parçalanarak homojenize edilmesi sağlandı. Elde edilen homojenatlar 4°C’de 2000 g’de 5 dakika santrifüje edildi. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatanttan 500 µl alındı ve üzerine 250 µl 0,3 N NaOH çözeltisi eklendi. Bu karışım 5 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra üzerine 250 µl %10’luk ZnSO₄ eklendi. Tüm karışım vortekslendikten sonra 4°C’de 3000 g’de 20 dakika santrifüje edildi ve elde edilen karışımdan 500 µl alınarak 14000 rpm’de 5 dakika tekrar santrifüje edildi. En son nitrat miktarını ölçmek için 1 birim süpernatant, 1 birim VaCl₃, 0,5 birim Sülfanamid, 0,5 birim N-(1-Naftil)etilendiamin dihidroklorid (NEDD) karışımı hazırlanarak 37°C’de 30 dakika inkübe edildi. Ardından elde edilen örnekler boş plate’e aktarıldı ve ELISA cihazında (Awareness, Chromate 4300, USA) 540 nm dalga boyunda okutularak ölçüm sağlandı.

3.13. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS 19.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenler için tanımlayıcı istatistikler ortanca (min-max) olarak gösterildi. Dört grubun sayısal değişkenler bakımından karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Kruskal-Wallis testi anlamlı bulunduğunda alt grupların ikişerli karşılaştırılması ise Dunn testi ile yapıldı. Tekrarlı ölçümlerin değerlendirilmesinde Wilcoxon ve Friedman testlerinden faydalanıldı. Friedman testi anlamlı bulunduğunda ise alt grupların ikişerli karşılaştırılması yine Dunn testine göre yapıldı. İki sayısal değişken arasındaki ilişki Spearman korelasyon analizi ile incelendi ve tüm değerlendirmeler için p<0.05 değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Vücut Ağırlığı Sonuçları

Deneyden önce rastgele 4 gruba ayrılmış olan hayvanların ilk gün ve deney süresi boyunca haftalık olacak şekilde vücut ağırlıkları takibi yapıldığında;

KONTROL grubundaki hayvanların haftalık vücut ağırlıklarında anlamlı bir farklılık olduğu görüldü ($p<0.001$). Buna göre yapılan haftalık ikili karşılaştırmalarda 2.hafta ağırlıklarının ilk gün ağırlıklarına göre anlamlı bir şekilde arttığı ($p=0.022$) ve 3.hafta ağırlıklarının ilk gün ($p<0.001$) ve 1.hafta ($p=0.006$) ağırlıklarına göre anlamlı bir şekilde arttığı görüldü.

SD grubundaki hayvanların haftalık vücut ağırlıklarında anlamlı bir farklılık olduğu görüldü ($p=0.001$). Buna göre yapılan haftalık ikili karşılaştırmalarda 1.hafta ($p=0.030$), 2.hafta ($p=0.022$) ve 3.hafta ($p=0.002$) ağırlıklarının ilk gün ağırlıklarına göre anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü.

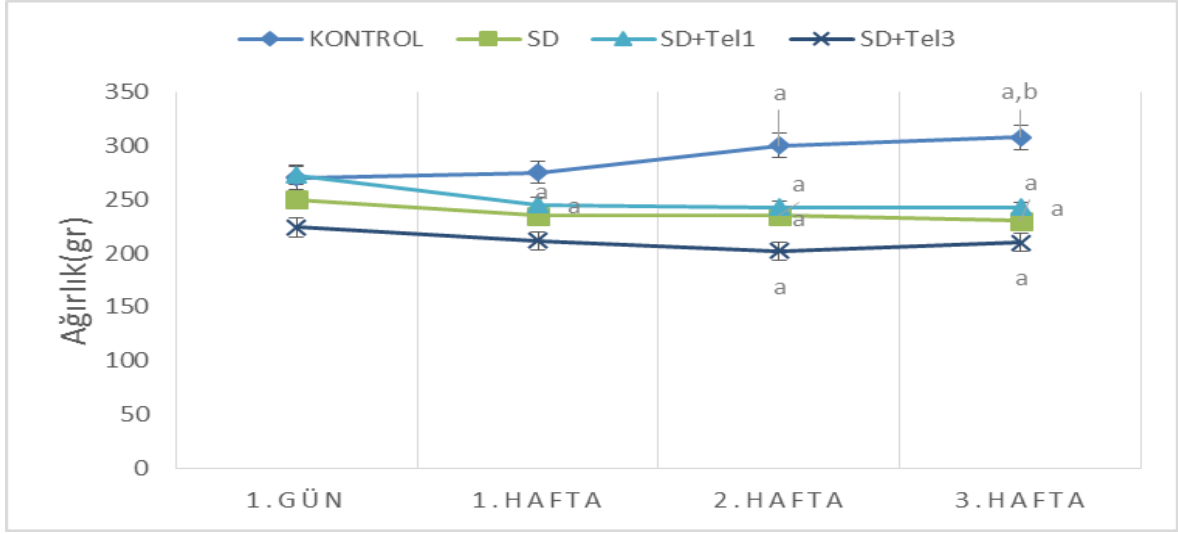
SD+Tel1 grubundaki hayvanların haftalık vücut ağırlıklarında anlamlı bir farklılık olduğu görüldü ($p=0.002$). Buna göre yapılan haftalık ikili karşılaştırmalarda 2.hafta ağırlıklarının ilk gün ağırlıklarına göre anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü ($p=0.004$).

SD+Tel3 grubundaki hayvanların haftalık vücut ağırlıklarında anlamlı bir farklılık olduğu görüldü ($p<0.001$). Buna göre yapılan haftalık ikili karşılaştırmalarda 2.hafta ($p<0.001$) ve 3.hafta ($p=0.016$) ağırlıklarının ilk gün ağırlıklarına göre anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü (Tablo 1) (Şekil 25).

Tablo 1. Vücut ağırlıklarının haftalık grup içi karşılaştırmaları

Ağırlık (gr)	1.GÜN	1.HAFTA	2.HAFTA	3.HAFTA	p
KONTROL	270 (207-305)	275 (220-310)	300 (235-330) ^a	308 (250-345) ^{a,b}	<0.001
SD	250 (230-265)	235 (225-255) ^a	235 (225-250) ^a	230 (225-245) ^a	0.001
SD+Tel1	273 (225-300)	245 (220-270)	243 (220-270) ^a	243 (230-270)	0.002
SD+Tel3	224 (190-270)	212 (170-250)	202 (160-235) ^a	210 (170-250) ^a	<0.001

Değerler ortanca (min-max) olarak verilmiştir. a, 1.GÜN'e, b, 1.HAFTA'ya göre anlamlı farkı göstermektedir. $p<0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.



Şekil 25. Haftalık grup içi vücut ağırlık değişimi. a, 1.GÜN'e göre; b, 1.HAFTA'ya göre farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

Gruplar arasındaki haftalık vücut ağırlığı değişiminin yüzdelik değerleri (yd) hesaplandı. yd_1 ($p<0.001$), yd_2 ($p<0.001$) ve yd_3 ($p=0.001$) değerleri gruplar arasında anlamlı bir şekilde değişim gösterdi (Tablo 2) (Şekil 26).

Gruplar arasında ikili karşılaştırmalar yapıldığında yd_1 değerleri SD ($p=0.022$), SD+Tel1 ($p=0.001$) ve SD+Tel3 ($p=0.003$) gruplarında KONTROL grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde azaldı.

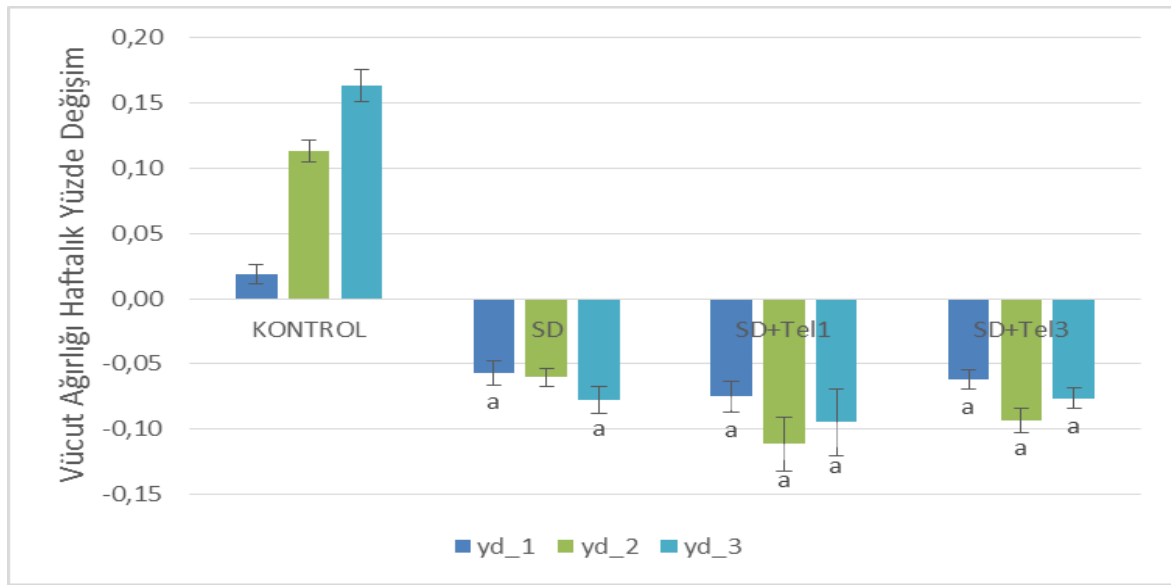
Gruplar arasında ikili karşılaştırmalar yapıldığında yd_2 değerleri SD+Tel1 ($p=0.001$) ve SD+Tel3 ($p<0.001$) gruplarında KONTROL grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde azaldı.

Gruplar arasında ikili karşılaştırmalar yapıldığında yd_3 değerleri SD ($p=0.009$), SD+Tel1 ($p=0.001$) ve SD+Tel3 ($p=0.004$) gruplarında KONTROL grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde azaldı.

Tablo 2. Vücut ağırlıklarının haftalık yüzde değişimlerinin gruplar arası karşılaştırmaları

Ağırlık haftalık yd	KONTROL	SD	SD+Tel1	SD+Tel3	p
yd_1	0.02 (0.00-0.06)	-0.06 (-0.10/-0.02) ^a	-0.08 (-0.13/-0.02) ^a	-0.06 (-0.11/ -0.05) ^a	<0.001
yd_2	0.11 (0.07-0.14)	-0.06 (-0.08/-0.02)	-0.11 (-0.17/-0.02) ^a	-0.09 (-0.16/ -0.08) ^a	<0.001
yd_3	0.16 (0.09-0.21)	-0.08 (-0.12/-0.02) ^a	-0.09 (-0.20/ -0.02) ^a	-0.08 (-0.11/ -0.05) ^a	0.001

Değerler ortanca (min-max) olarak verilmiştir. a, KONTROL grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir. $p<0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.



Şekil 26. Vücut ağırlıklarının haftalık yüzde değişimlerinin gruplar arası karşılaştırmaları. a, KONTROL grubuna göre farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

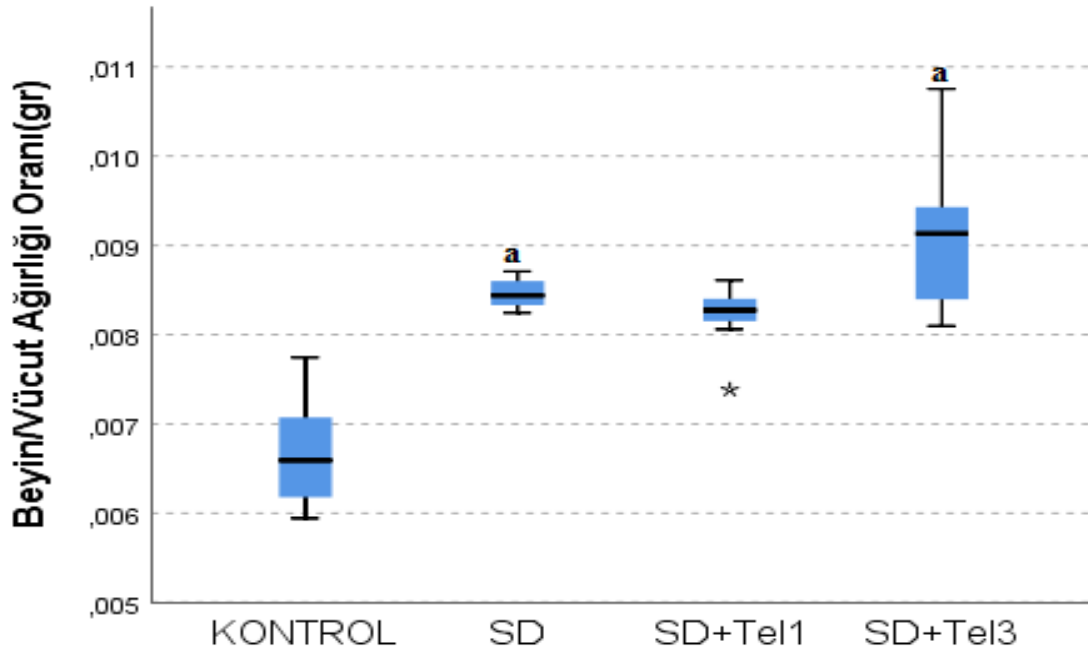
4.2. Beyin/Vücut Ağırlığı Oranı Sonuçları

Tablo 3 ve Şekil 27’de gösterilen gruplardaki hayvanların beyin/vücut ağırlığı oranı gruplar arası karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görüldü ($p<0.001$). Gruplar arasında ikili karşılaştırmalar yapıldı ve beyin/vücut ağırlığı oranı SD ($p=0.004$) ve SD+Tel3 ($p<0.001$) grubunda KONTROL grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde arttı.

Tablo 3. Beyin/vücut ağırlığı oranının gruplar arası karşılaştırması

	KONTROL	SD	SD+Tel1	SD+Tel3	p
Beyin/Vücut Ağırlığı Oranı	0.0066 (0.0059-0.0077)	0.0084 (0.0082-0.0087) ^a	0.0083 (0.0074-0.0086)	0.0091 (0.0081-0.0108) ^a	<0.001

Değerler ortanca (min-max) olarak verilmiştir. a, KONTROL grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir. $p<0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.



Şekil 27. Beyin/vücut ağırlığı oranının gruplar arası karşılaştırması. a, KONTROL grubuna göre farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

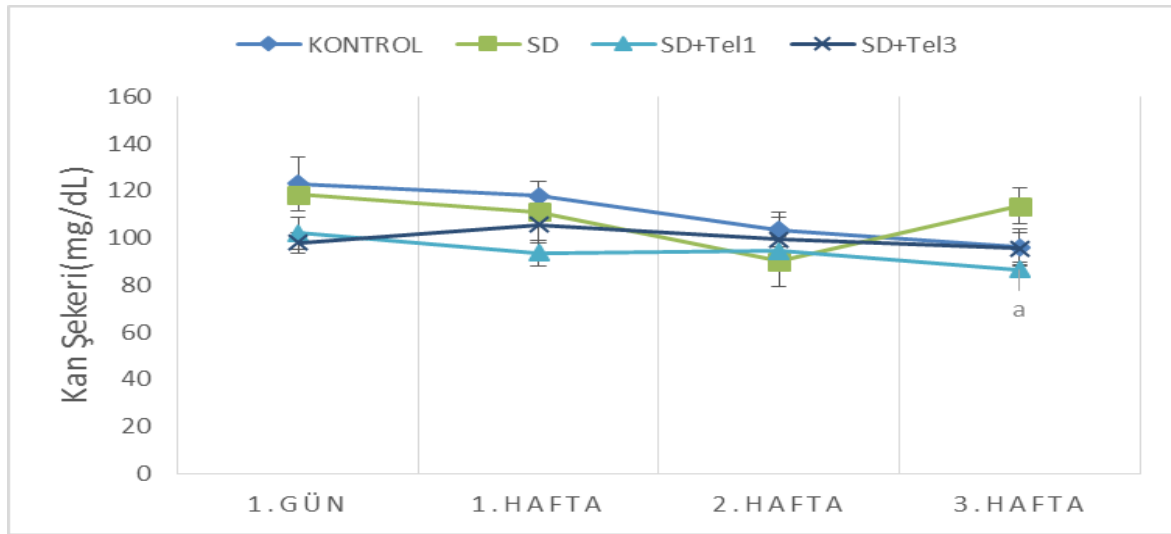
4.3. Kan Şekeri Sonuçları

Gruplardaki hayvanların kan şekeri düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi ($p>0.05$). Grup içi karşılaştırmalarda ise SD+Tel1 grubundaki hayvanların 3.hafta kan şekeri düzeyleri 1.gün kan şekeri düzeylerine kıyasla azaldı ($p=0.003$) (Tablo 4) (Şekil 28).

Tablo 4. Kan şekeri düzeylerinin haftalık grup içi karşılaştırmaları

Kan Şekeri(mg/dL)	1.GÜN	1.HAFTA	2.HAFTA	3.HAFTA	p
KONTROL	123 (89-172)	118 (81-129)	104 (64-122)	96 (73-136)	0.226
SD	119 (99-123)	111 (92-138)	90 (61-134)	114 (83-147)	0.583
SD+Tel1	102 (95-148)	94 (72-112)	95 (84-143)	87 (67-96) ^a	0.003
SD+Tel3	98 (83-124)	106 (70-133)	99 (69-148)	96 (70-127)	0.652

Değerler ortanca (min-max) olarak verilmiştir. a, 1.GÜN'e göre anlamlı farkı göstermektedir. $p<0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.



Şekil 28. Kan şekeri düzeylerinin haftalık grup içi karşılaştırmaları. a, 1.GÜN'e göre farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

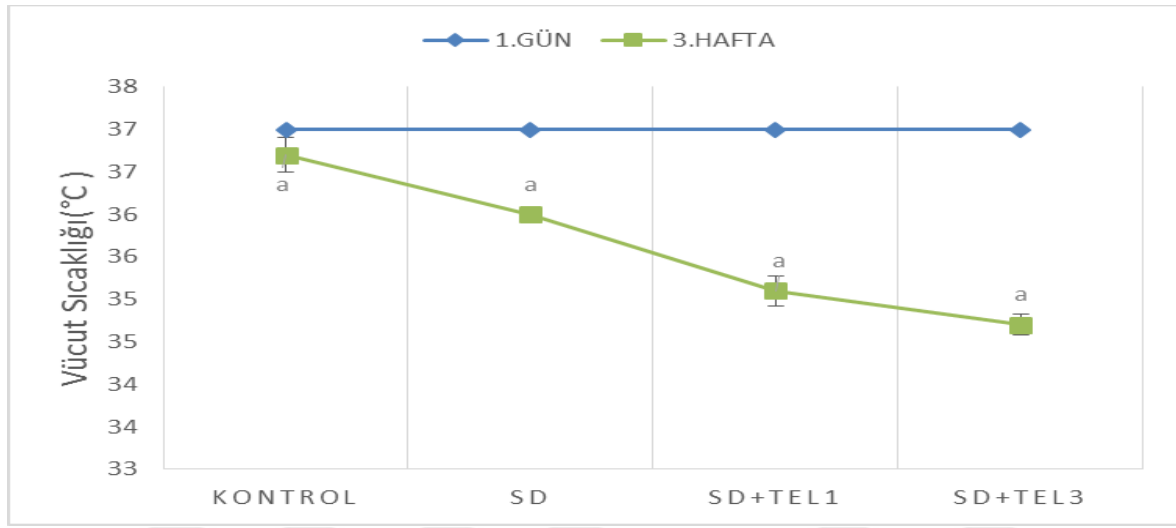
4.4. Vücut Sıcaklığı Sonuçları

Gruplardaki hayvanların vücut sıcaklığı düzeyleri grup içi karşılaştırmalarda KONTROL ($p=0.011$), SD ($p=0.011$), SD+Tel1 ($p=0.012$) ve SD+Tel3 ($p=0.012$) gruplarındaki hayvanların 3.hafta vücut sıcaklığı düzeyleri 1.gün vücut sıcaklığı düzeylerine kıyasla anlamlı bir şekilde azaldı (Tablo 5) (Şekil 29).

Tablo 5. Vücut sıcaklıklarının grup içi karşılaştırması

Vücut Sıcaklığı(°C)	1.GÜN	3.HAFTA	p
KONTROL	37.0 (37.0-37.0)	36.7 (35.1-36.9) ^a	0.011
SD	37.0 (37.0-37.0)	36.0 (35.7-36.1) ^a	0.011
SD+Tel1	37.0 (37.0-37.0)	35.1 (34.5-36.3) ^a	0.012
SD+Tel3	37.0 (37.0-37.0)	34.7 (34.0-35.0) ^a	0.012

Değerler ortanca (min-max) olarak verilmiştir. a, 1.GÜN'e göre anlamlı farkı göstermektedir. $p<0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.



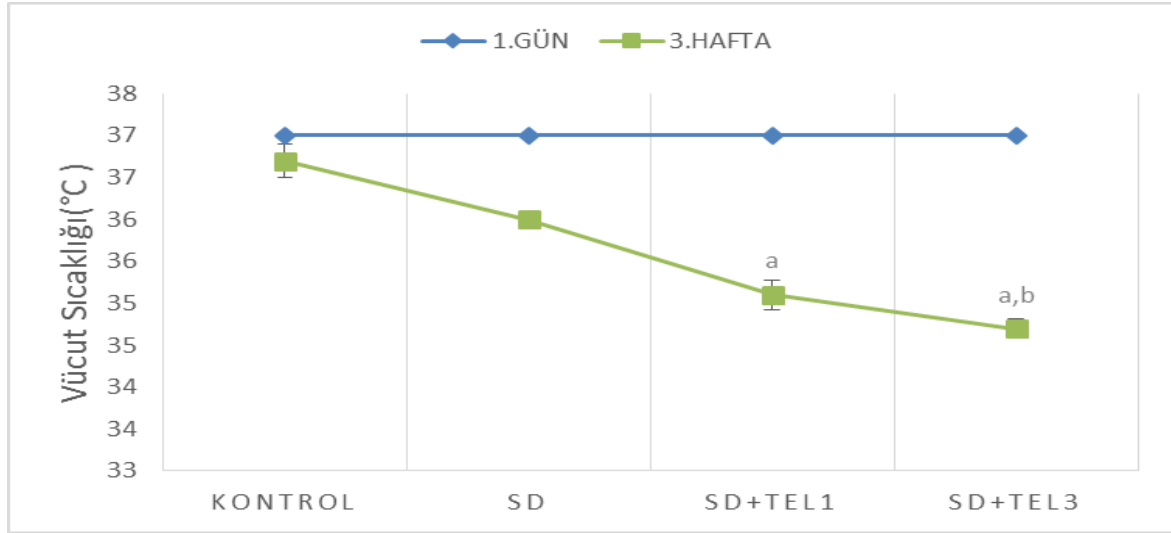
Şekil 29. Vücut sıcaklıklarının grup içi karşılaştırmaları. a, 1.GÜN'e göre farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

Gruplardaki hayvanların vücut sıcaklığı düzeyleri gruplar arası karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olduğu görüldü ($p<0.001$). Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında ise 3.haftada SD+Tel1 grubunda, KONTROL grubuna kıyasla anlamlı düzeyde bir azalma ($p=0.016$) ve SD+Tel3 grubunda, KONTROL ($p<0.001$) ve SD ($p=0.008$) grubuna kıyasla anlamlı düzeyde bir azalma gözlemlendi (Tablo 6) (Şekil 30).

Tablo 6. Vücut sıcaklıklarının gruplar arası karşılaştırması

Vücut Sıcaklığı(°C)	KONTROL	SD	SD+Tel1	SD+Tel3	p
1.GÜN	37.0 (37.0-37.0)	37.0 (37.0-37.0)	37.0 (37.0-37.0)	37.0 (37.0-37.0)	1.000
3.HAFTA	36.7 (35.1-36.9)	36.0 (35.7-36.1)	35.1 (34.5-36.3) ^a	34.7 (34.0-35.0) ^{a,b}	<0.001

Değerler ortanca (min-max) olarak verilmiştir. a, KONTROL grubuna, b, SD grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir. $p<0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.



Şekil 30. Vücut sıcaklıklarının gruplar arası karşılaştırmaları. a, KONTROL grubuna, b, SD grubuna göre farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).

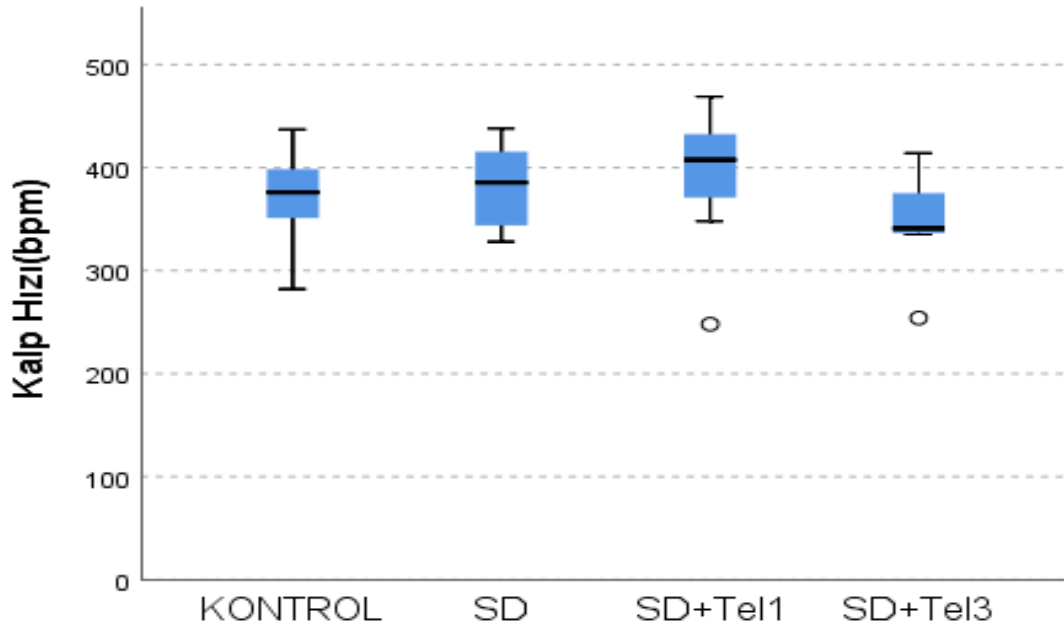
4.5. Kalp Hızı-RR İntervali Sonuçları

Kalp hızı ($p=0.206$) ve RR intervali ($p=0.318$) değerlerinde gruplar arası karşılaştırmalarda anlamlı bir fark gözlenmedi (Tablo 7) (Şekil 31) (Şekil 32).

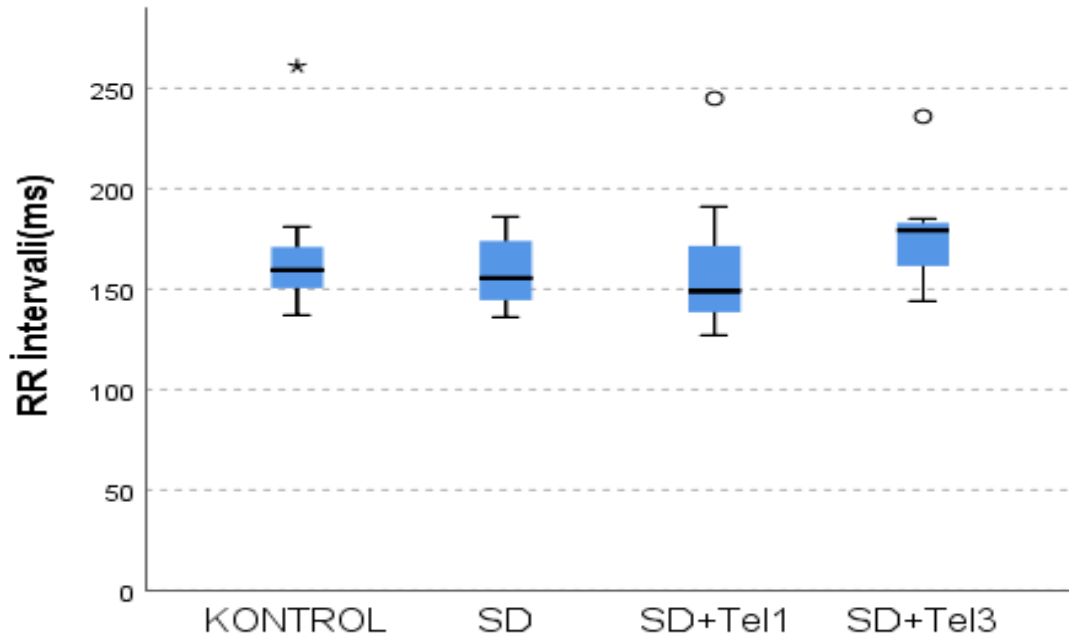
Tablo 7. Kalp hızı ve RR intervali değerlerinin gruplar arası karşılaştırması

	KONTROL	SD	SD+Tel1	SD+Tel3	p
Kalp Hızı(bpm)	376 (282-437)	386 (328-438)	408 (248-469)	341 (254-414)	0.206
RR İntervali(ms)	160 (137-261)	156 (136-186)	149 (127-245)	179 (144-236)	0.318

Değerler ortanca (min-max) olarak verilmiştir. Gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).



Şekil 31. Kalp hızı değerlerinin gruplar arası karşılaştırması. Gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$).



Şekil 32. RR intervali değerlerinin gruplar arası karşılaştırması. Gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

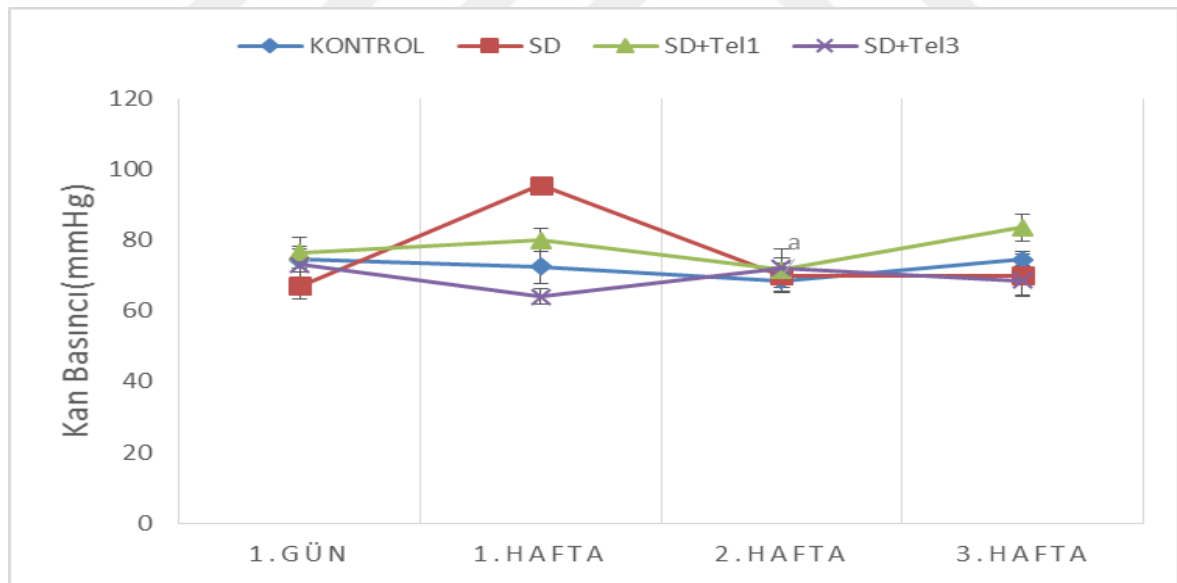
4.6. Kan Basıncı Sonuçları

Gruplardaki hayvanların kan basıncı düzeyleri grup içi karşılaştırıldığında KONTROL ($p=0.094$), SD+Tel1 (0.084) ve SD+Tel3 (0.481) gruplarında anlamlı bir fark görülmezken, SD grubundaki hayvanların 2.hafta kan basıncı düzeyleri 1.hafta kan basıncı düzeylerine kıyasla anlamlı bir şekilde azaldı ($p=0.016$) (Tablo 8) (Şekil 33).

Tablo 8. Kan basınçlarının haftalık grup içi karşılaştırmaları

Kan Basıncı(mmHg)	1.GÜN	1.HAFTA	2.HAFTA	3.HAFTA	p
KONTROL	75 (65-96)	73 (59-98)	69 (61-86)	75 (64-80)	0.094
SD	67 (57-92)	96 (79-99)	70 (52-98) ^a	70 (51-95)	0.016
SD+Tel1	77 (57-97)	80 (68-95)	72 (60-78)	84 (58-94)	0.084
SD+Tel3	73 (63-91)	64 (58-76)	72 (56-96)	69 (55-92)	0.481

Değerler ortanca (min-max) olarak verilmiştir. Kan basıncı düzeyleri, mean değerleri hesaplanarak verilmiştir. a 1.HAFTA'ya göre anlamlı farkı göstermektedir. $p<0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.



Şekil 33. Kan basınçlarının haftalık grup içi karşılaştırmaları. a, 1.HAFTA'ya göre farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

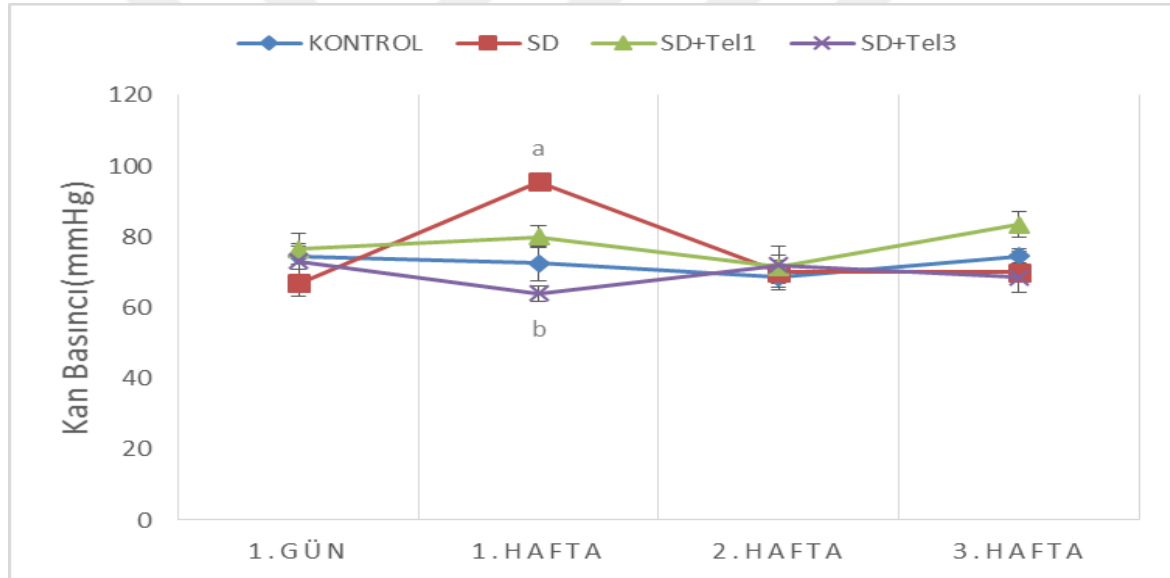
Gruplar arası kan basıncı düzeyleri karşılaştırıldığında ilk gün ($p=0.484$), 2.hafta ($p=0.965$) ve 3.hafta ($p=0.159$) kan basıncı düzeylerinde anlamlı bir fark görülmedi. 1.hafta kan basıncı düzeyleri ise, SD grubundaki hayvanlarda KONTROL grubuna kıyasla anlamlı

bir şekilde arttı ($p=0.036$) ve SD+Tel3 grubunda SD grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldı ($p<0.001$) (Tablo 9) (Şekil 34).

Tablo 9. Kan basınçlarının haftalık gruplar arası karşılaştırmaları

Kan Basıncı(mmHg)	1.GÜN	1.HAFTA	2.HAFTA	3.HAFTA
KONTROL	75 (65-96)	73 (59-98)	69 (61-86)	75 (64-80)
SD	67 (57-92)	96 (79-99) ^a	70 (52-98)	70 (51-95)
SD+Tel1	77 (57-97)	80 (68-95)	72 (60-78)	84 (58-94)
SD+Tel3	73 (63-91)	64 (58-76) ^b	72 (56-96)	69 (55-92)
p	0.484	0.001	0.965	0.159

Değerler ortanca (min-max) olarak verilmiştir. Kan basıncı düzeyleri, mean değerleri hesaplanarak verilmiştir. a, KONTROL grubuna, b, SD grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir. $p<0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.



Şekil 34. Kan basınçlarının haftalık gruplar arası karşılaştırmaları. a, KONTROL grubuna, b, SD grubuna göre farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

4.7. Morris Su Labirenti Testi Sonuçları

Gruplardaki hayvanların platformu bulma süreleri grup içi karşılaştırıldığında;

KONTROL grubundaki hayvanlarda günlük platformu bulma süresi açısından anlamlı bir fark görülmedi ($p=0.136$).

SD grubundaki hayvanların grup içi karşılaştırmalarda günlük platformu bulma sürelerinde anlamlı bir fark görüldü ($p=0.010$) (Tablo 10) (Şekil 35). İkili karşılaştırmalar yapıldığında 3.gün platformu bulma süresi 1.güne göre anlamlı düzeyde azaldı ($p=0.012$).

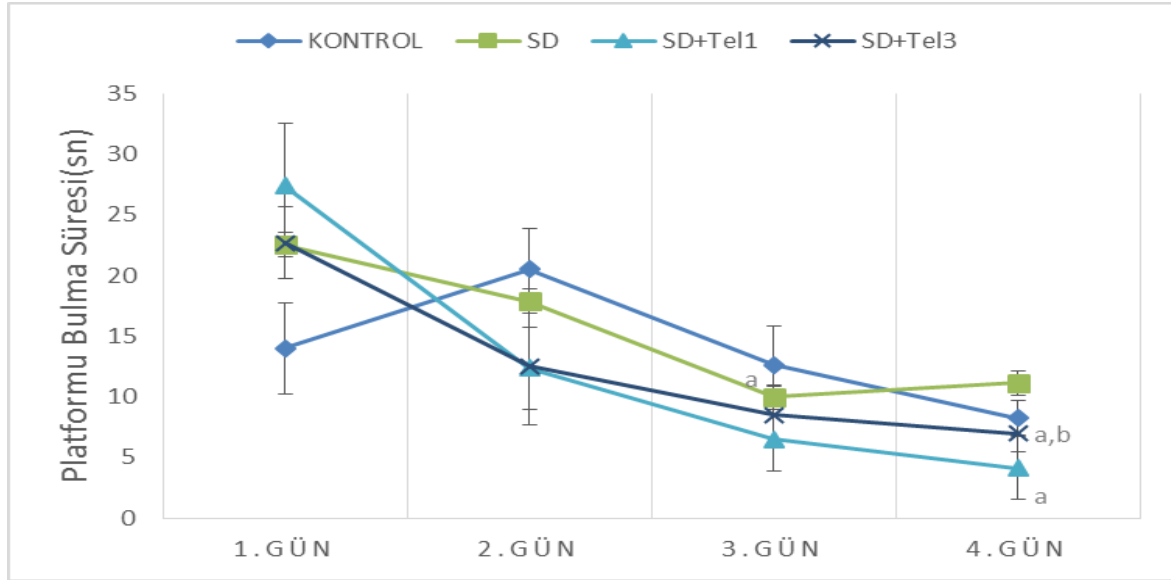
SD+Tel1 grubundaki hayvanların grup içi karşılaştırmalarda günlük platformu bulma sürelerinde anlamlı bir fark görüldü ($p=0.010$) (Tablo 10) (Şekil 35). İkili karşılaştırmalar yapıldığında 4.gün platformu bulma süresi 1.güne göre anlamlı düzeyde azaldı ($p=0.008$).

SD+Tel3 grubundaki hayvanların grup içi karşılaştırmalarda günlük platformu bulma sürelerinde anlamlı bir fark görüldü ($p=0.003$) (Tablo 10) (Şekil 35). İkili karşılaştırmalar yapıldığında 4.gün platformu bulma süresi 1. ($p=0.012$) ve 2. ($p=0.022$) güne göre anlamlı düzeyde azaldı.

Tablo 10. Platformu bulma sürelerinin grup içi karşılaştırmaları

Platformu Süresi(sn)	Bulma	1.GÜN	2.GÜN	3.GÜN	4.GÜN	p
KONTROL		14 (7-39)	21 (4-30)	13 (7-31)	8 (5-17)	0.136
SD		23 (13-36)	18 (9-28)	10 (3-17) ^a	11 (7-20)	0.010
SD+Tel1		27 (10-48)	12 (4-28)	7 (2-25)	4 (3-24) ^a	0.010
SD+Tel3		23 (10-34)	13 (9-51)	9 (4-23)	7 (4-17) ^{a,b}	0.003

Değerler ortanca (min-max) olarak verilmiştir. a, 1.GÜN'e göre, b, 2.GÜN'e göre anlamlı farkı göstermektedir. $p<0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.



Şekil 35. Platformu bulma sürelerinin grup içi karşılaştırmaları. a, 1.GÜN'e göre, b, 2.GÜN'e göre farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

Gruplardaki hayvanların platformu bulma süreleri gruplar arası karşılaştırıldığında ise;

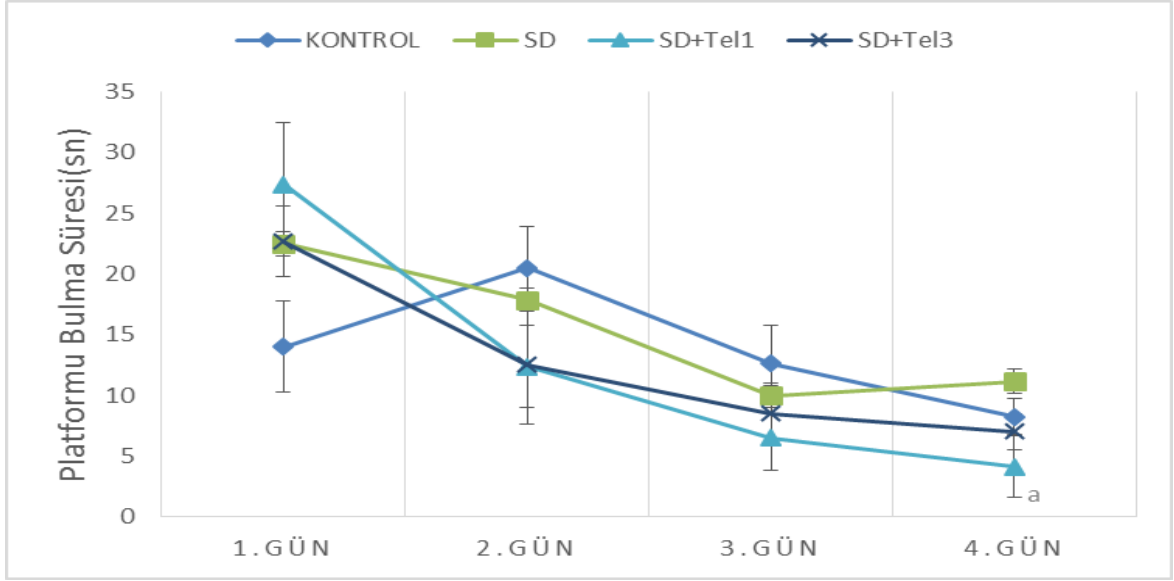
1. ($p=0.278$) , 2. ($p=0.799$) ve 3. ($p=0.299$) günlerde gruplar arası karşılaştırmalarda platformu bulma süreleri açısından anlamlı bir fark görülmedi (Tablo 11) (Şekil 36).

4.gün gruplar arası karşılaştırmalarda anlamlı bir fark görüldü ($p=0.016$) (Tablo 11) (Şekil 36). Yapılan ikili karşılaştırmalarda SD+Tel1 grubu hayvanlarının platformu bulma süreleri SD grubu hayvanlarının platformu bulma sürelerine kıyasla anlamlı ölçüde azaldı ($p=0.010$).

Tablo 11. Platformu bulma sürelerinin gruplar arası karşılaştırmaları

Platformu Bulma Süresi(sn)	1.GÜN	2.GÜN	3.GÜN	4.GÜN
KONTROL	14 (7-39)	21 (4-30)	13 (7-31)	8 (5-17)
SD	23 (13-36)	18 (9-28)	10 (3-17)	11 (7-20)
SD+Tel1	27 (10-48)	12 (4-28)	7 (2-25)	4 (3-24) ^a
SD+Tel3	23 (10-34)	13 (9-51)	9 (4-23)	7 (4-17)
p	0.278	0.799	0.299	0.016

Değerler ortanca (min-max) olarak verilmiştir. a, SD grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir. $p<0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.



Şekil 36. Platformu bulma sürelerinin gruplar arası karşılaştırmaları. a, SD grubuna göre farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

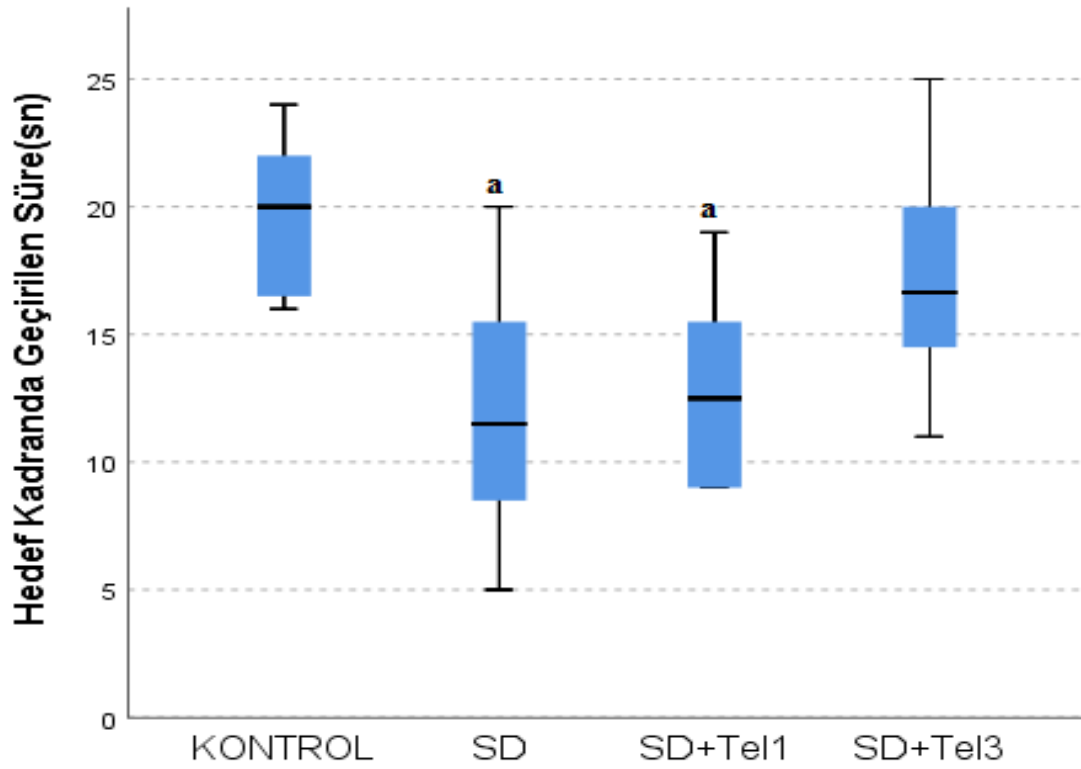
4.8. Probe Trail Testi Sonuçları

Hayvanların son gün hedef kadranda geçirdikleri süre gruplar arası karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlemlendi ($p=0.009$) (Tablo 12). Yapılan ikili karşılaştırmalarda ise SD ($p=0.029$) ve SD+Tel1 ($p=0.049$) grubundaki hayvanların hedef kadranda geçirdikleri sürenin KONTROL grubuna kıyasla anlamlı şekilde azaldığı görüldü (Tablo 12) (Şekil 37).

Tablo 12. Hedef kadranda geçirilen sürenin gruplar arası karşılaştırması

	KONTROL	SD	SD+Tel1	SD+Tel3	p
Hedef Kadranda Geçirilen Süre (sn)	20 (16-24)	12 (5-20) ^a	13 (9-19) ^a	17 (11-25)	0.009

Değerler ortanca (min-max) olarak verilmiştir. a, KONTROL grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir. $p<0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.



Şekil 37. Hedef kadranda geçirilen sürenin gruplar arası karşılaştırması. a, KONTROL grubuna göre farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

4.9. ELISA Sonuçları

4.9.1. Hipokampus ve PFC BDNF sonuçları

Hipokampus ve PFC dokularında ölçülen BDNF düzeyleri Tablo 13'te gösterilmiştir.

Hipokampus BDNF düzeyleri gruplar arası karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görüldü ($p=0.020$) (Şekil 38). Yapılan ikili karşılaştırmalarda hipokampus BDNF düzeyleri SD+Tel1 grubunda KONTROL ($p=0.022$) ve SD ($p=0.015$) grubuna göre anlamlı ölçüde arttı. SD+Tel3 grubunda ise KONTROL ($p=0.017$) ve SD ($p=0.011$) grubuna göre anlamlı ölçüde artış gözlemlendi.

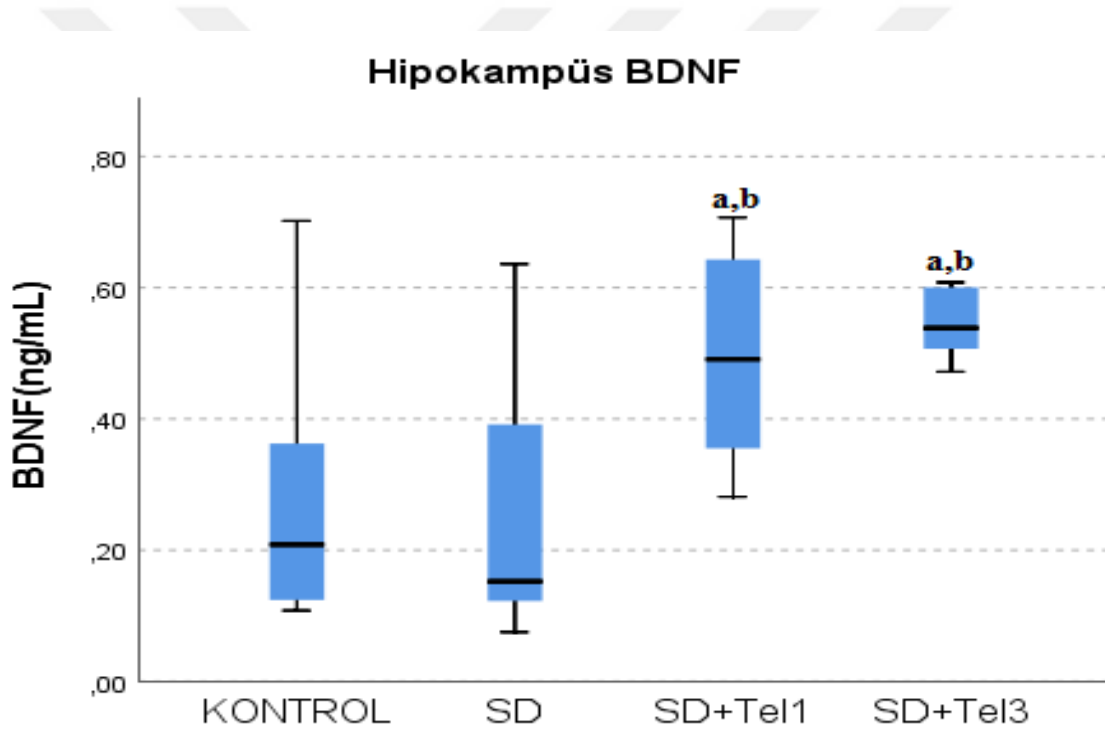
PFC BDNF düzeyleri gruplar arası karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görüldü ($p=0.002$) (Şekil 39). Yapılan ikili karşılaştırmalarda PFC BDNF düzeyleri SD grubunda

KONTROL grubuna göre anlamlı ölçüde azaldı ($p=0.005$). SD+Tel1 grubunda ise SD grubuna göre anlamlı ölçüde arttı ($p=0.008$) (Şekil 39).

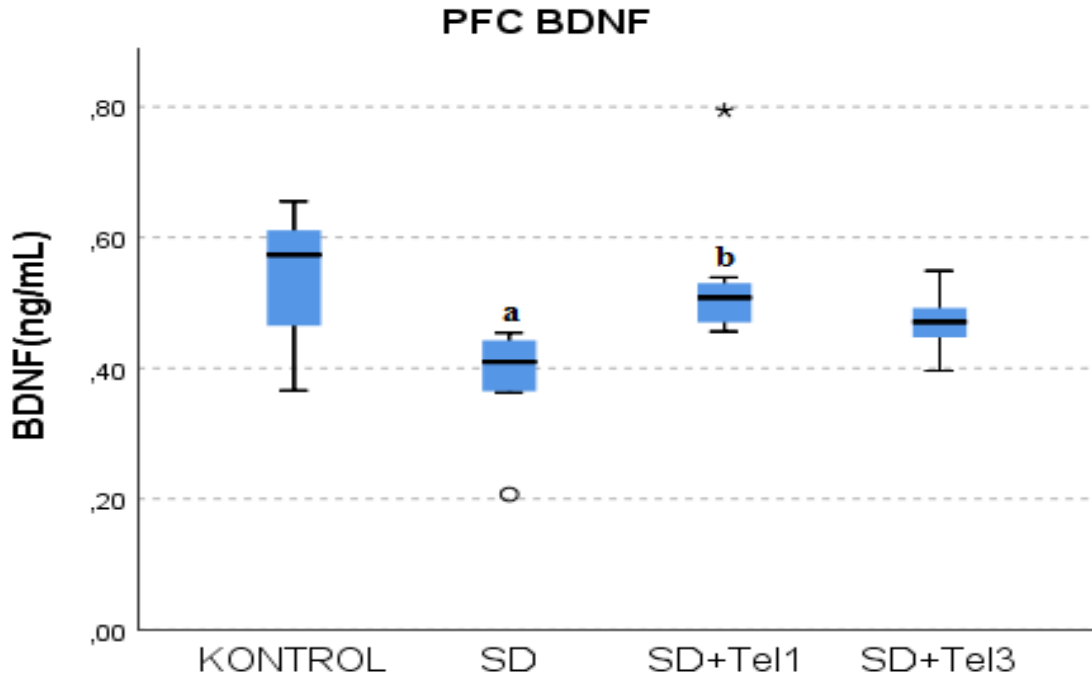
Tablo 13. Hipokampus ve PFC BDNF düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları

	KONTROL	SD	SD+Tel1	SD+Tel3	p
Hipokampus(ng/mL)	0.21 (0.11-0.70)	0.15 (0.08-0.64)	0.49 (0.28-0.71) ^{a,b}	0.54 (0.47-0.61) ^{a,b}	0.020
PFC(ng/mL)	0.57 (0.37-0.66)	0.41 (0.21-0.45) ^a	0.51 (0.46-0.79) ^b	0.47 (0.40-0.55)	0.002

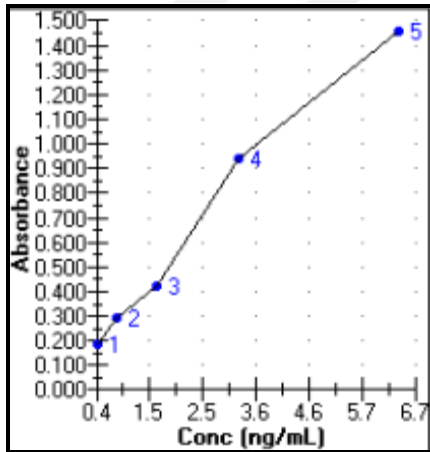
Değerler ortanca (min-max) olarak verilmiştir. a, KONTROL grubuna göre, b, SD grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir. $p<0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.



Şekil 38. Hipokampus BDNF düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları. a, KONTROL grubuna göre, b, SD grubuna göre farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).



Şekil 39. PFC BDNF düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları. a, KONTROL grubuna göre, b, SD grubuna göre farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 40. Hipokampus ve PFC için ELISA BDNF standart eğrisi

4.9.2. Hipokampus ve PFC CREB sonuçları

Hipokampus ve PFC dokularında ölçülen CREB düzeyleri Tablo 14'te gösterilmiştir.

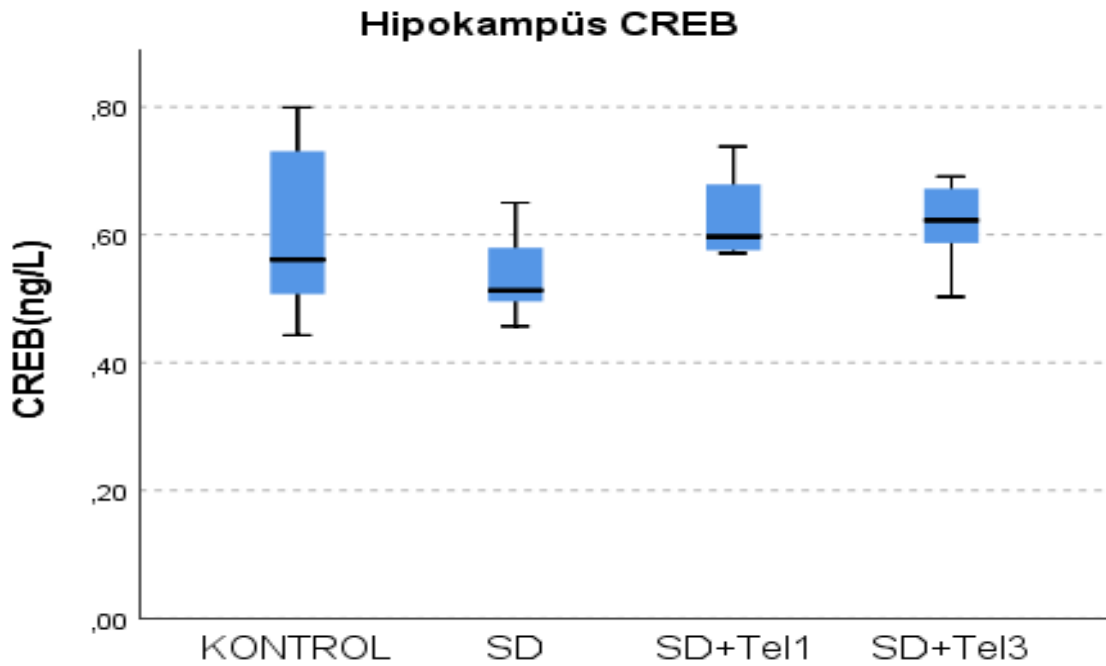
Hipokampus CREB düzeyleri gruplar arasında karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmedi ($p=0.095$) (Şekil 41).

PFC CREB düzeyleri gruplar arası karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görüldü ($p=0.040$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda PFC CREB düzeyleri SD+Tel3 grubunda KONTROL grubuna göre anlamlı ölçüde azaldı ($p=0.033$) (Şekil 43).

Tablo 14. Hipokampus ve PFC CREB düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları

	KONTROL	SD	SD+Tel1	SD+Tel3	p
Hipokampus(ng/L)	0.56 (0.16-0.80)	0.51 (0.09-0.65)	0.60 (0.57-0.74)	0.62 (0.50-0.69)	0.095
PFC(ng/L)	0.57 (0.37-0.66)	0.41 (0.21-0.45)	0.51 (0.46-0.79)	0.47 (0.40-0.55) ^a	0.040

Değerler ortanca (min-max) olarak verilmiştir. a, SD grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir. $p<0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.



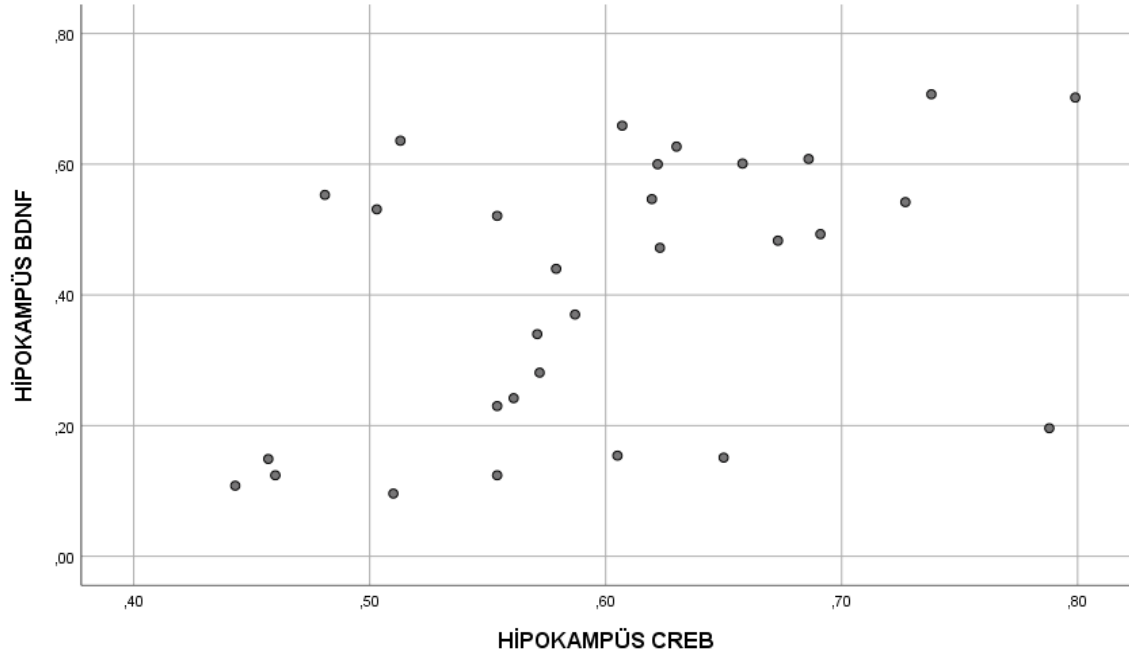
Şekil 41. Hipokampus CREB düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları. Gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Yapılan korelasyon analizinde hipokampus BDNF ve CREB düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon olduğu görüldü ($p=0.005$) (Tablo 15) (Şekil 42).

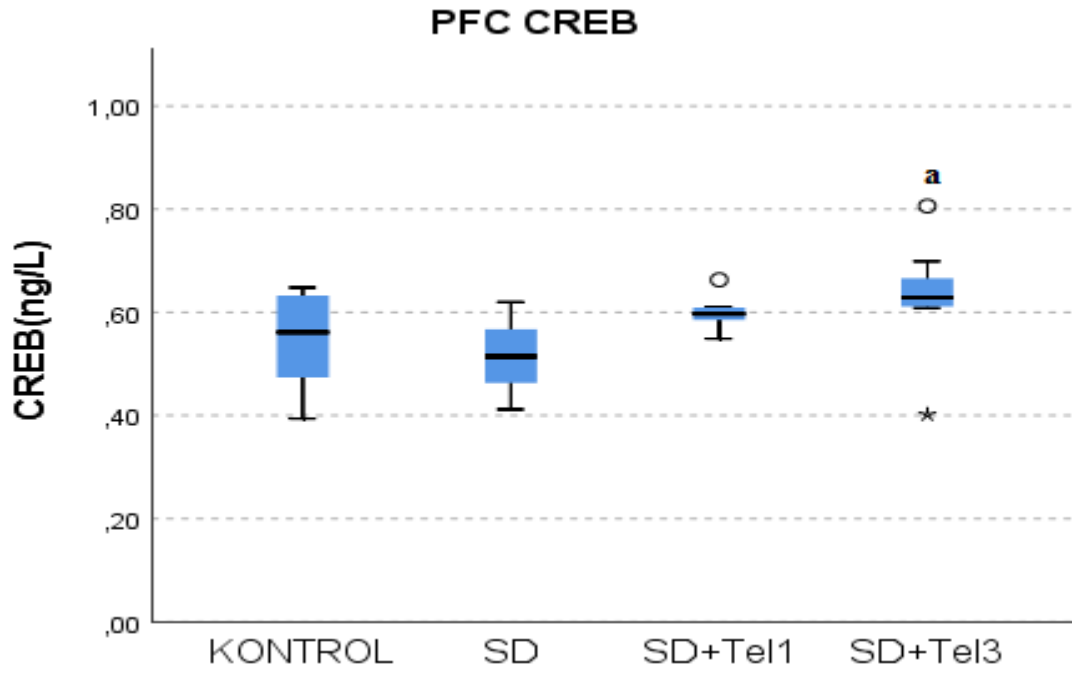
Tablo 15. Hipokampus BDNF ve CREB düzeyleri korelasyon analizi

		Hipokampus CREB
Hipokampus BDNF	r	0.499*
	p	0.005

* Anlamlı farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 42. Hipokampus BDNF ve CREB düzeyleri korelasyon analizi ($p < 0.05$).



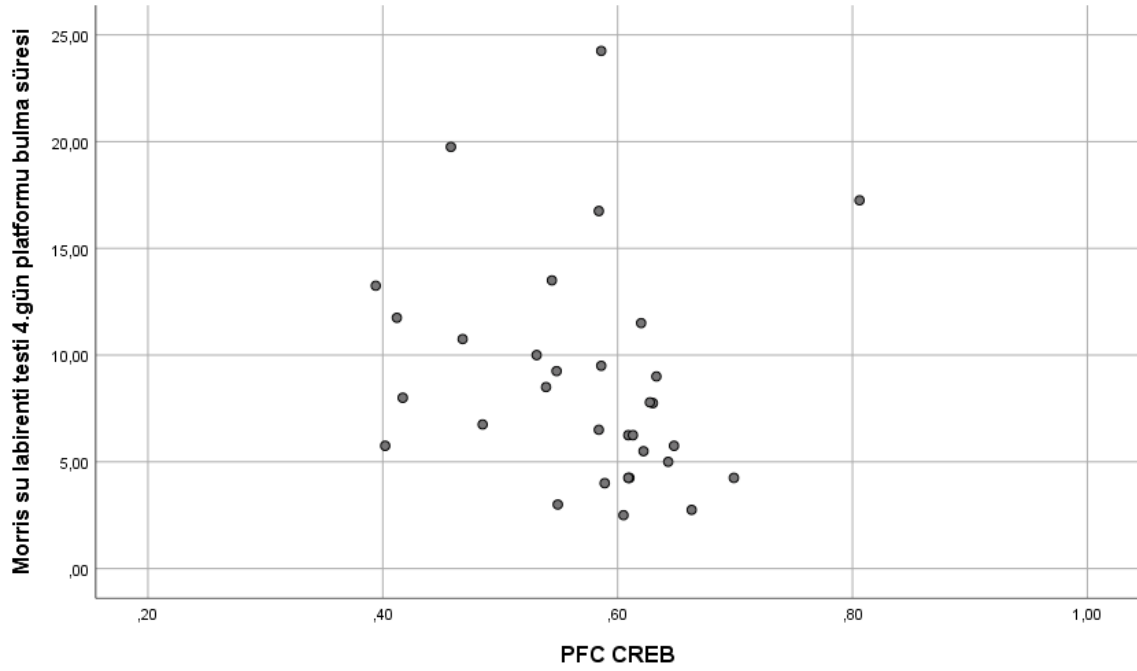
Şekil 43. PFC CREB düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları. a, SD grubuna göre farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).

Yapılan korelasyon analizinde Morris su labirenti testi 4.gün platformu bulma süresi ve PFC CREB düzeyleri arasında negatif bir korelasyon olduğu görüldü ($p = 0.032$) (Tablo 16) (Şekil 44).

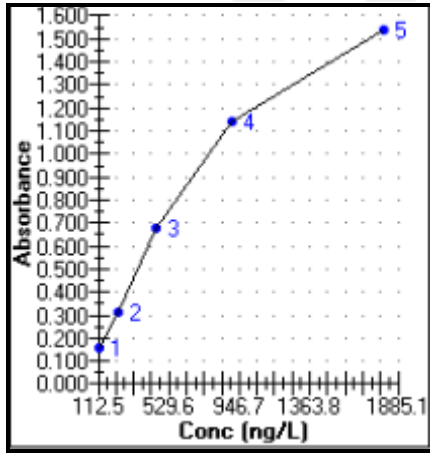
Tablo 16. Morris su labirenti testi 4.gün platformu bulma süresi ve PFC CREB düzeyleri korelasyon analizi

		PFC CREB
Morris su labirenti testi 4.gün platformu bulma süresi	r	-0.380*
	p	0.032

* Anlamlı farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 44. Morris su labirenti testi 4.gün platformu bulma süresi ve PFC CREB düzeyleri korelasyon analizi ($p < 0.05$).



Şekil 45. Hipokampus ve PFC için ELISA CREB standart eğrisi

4.9.3. Hipokampus ve PFC GSK-3 β sonuçları

Tablo 17’de gösterilen hipokampus ve PFC dokularında ölçülen GSK-3 β düzeyleri gruplar arası karşılaştırıldığında;

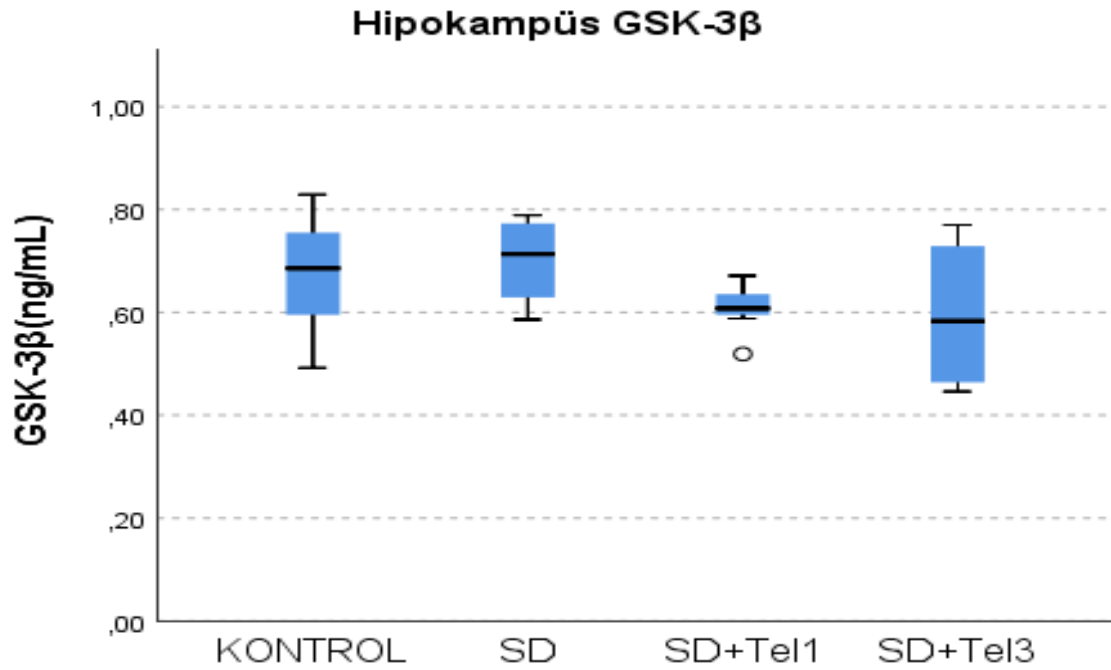
Hipokampus GSK-3 β düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi ($p=0.125$) (Şekil 46).

PFC GSK-3 β düzeyleri gruplar arası karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görüldü ($p=0.035$) Yapılan ikili karşılaştırmalarda PFC GSK-3 β düzeyleri SD+Tel3 grubunda SD grubuna göre anlamlı ölçüde azaldı ($p=0.036$) (Şekil 47).

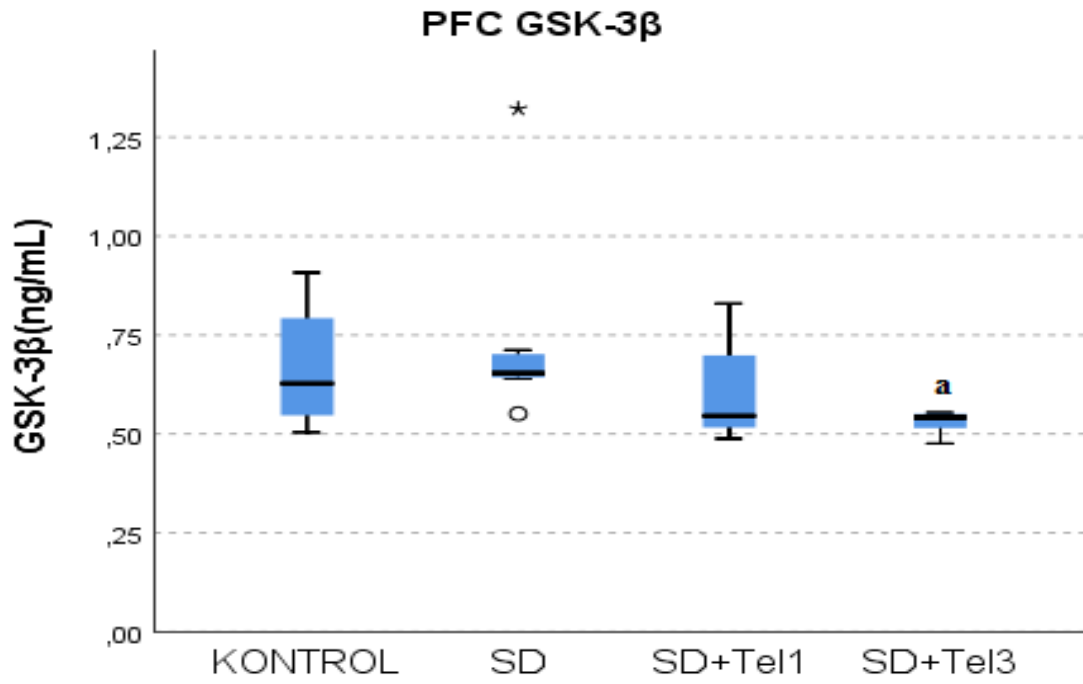
Tablo 17. Hipokampus ve PFC GSK-3 β düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları

	KONTROL	SD	SD+Tel1	SD+Tel3	p
Hipokampus(ng/mL)	0.69 (0.49-0.83)	0.71 (0.59-0.79)	0.61 (0.52-0.67)	0.58 (0.45-0.77)	0.125
PFC(ng/mL)	0.63 (0.50-0.91)	0.65 (0.55-1.32)	0.55 (0.49-0.83)	0.54 (0.48-0.55) ^a	0.035

Değerler ortanca (min-max) olarak verilmiştir. Gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$).



Şekil 46. Hipokampus GSK-3 β düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları. Gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$).



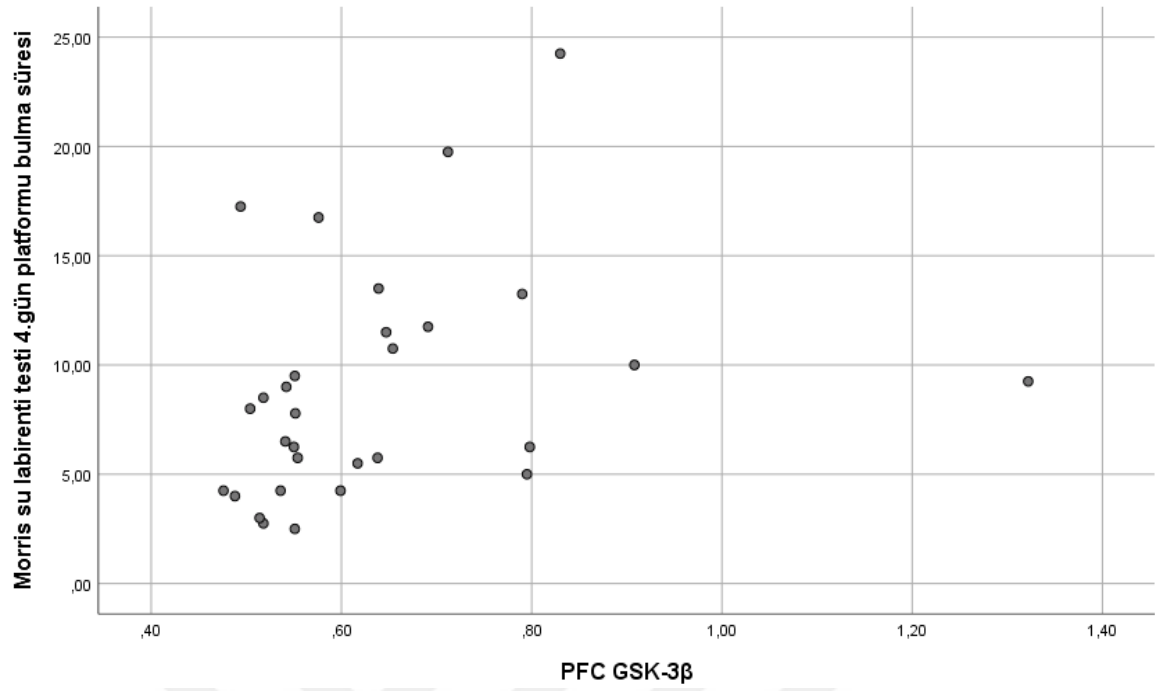
Şekil 47. PFC GSK-3 β düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları. a, SD grubuna göre farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

Yapılan korelasyon analizinde Morris su labirenti testi 4.gün platformu bulma süresi ve PFC GSK-3 β düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon olduğu görüldü ($p=0.010$) (Tablo 18) (Şekil 48).

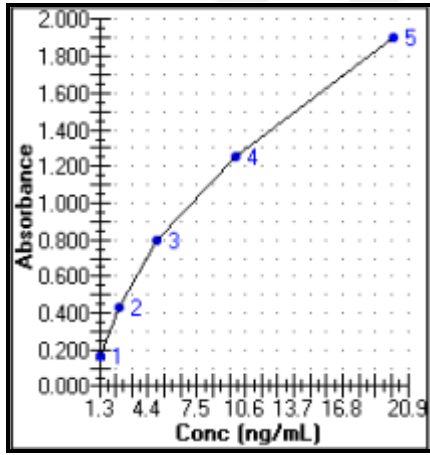
Tablo 18. Morris su labirenti testi 4.gün platformu bulma süresi ve PFC GSK-3 β düzeyleri korelasyon analizi

		PFC GSK-3 β
Morris su labirenti testi 4.gün platformu bulma süresi	r	0.461*
	p	0.010

* Anlamli farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).



Şekil 48. Morris su labirenti testi 4.gün platformu bulma süresi ve PFC GSK-3β düzeyleri korelasyon analizi ($p < 0.05$).



Şekil 49. Hipokampus ve PFC için ELISA GSK-3β standart eğrisi

4.9.4. Hipokampus ve PFC MCT2 sonuçları

Tablo 19’da hipokampus ve PFC dokularında ölçülen MCT2 düzeyleri verilmiştir. Buna göre;

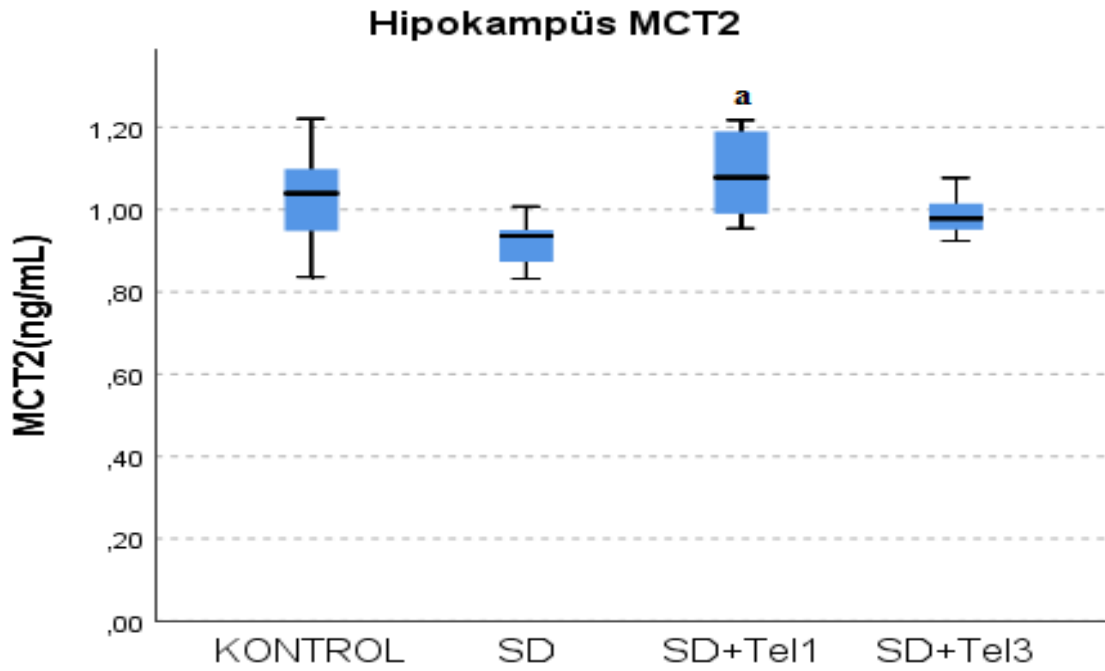
Hipokampus MCT2 düzeyleri gruplar arası karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görüldü ($p=0.023$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda PFC MCT2 düzeyleri SD+Tel1 grubunda SD grubuna göre anlamlı ölçüde arttı ($p=0.015$) (Şekil 50).

PFC MCT2 düzeyleri gruplar arası karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görüldü ($p=0.012$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda PFC MCT2 düzeyleri SD+Tel1 grubunda SD grubuna göre anlamlı ölçüde arttı ($p=0.008$) (Şekil 52).

Tablo 19. Hipokampus ve PFC MCT2 düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları

	KONTROL	SD	SD+Tel1	SD+Tel3	p
Hipokampus(ng/mL)	1.04 (0.84-1.22)	0.94 (0.83-1.01)	1.08 (0.95-1.22) ^a	0.98 (0.92-1.08)	0.023
PFC(ng/mL)	0.90 (0.78-1.22)	0.89 (0.78-0.96)	1.02 (0.93-1.24) ^a	0.94 (0.80-1.26)	0.012

Değerler ortanca (min-max) olarak verilmiştir. a, SD grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir. $p<0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.



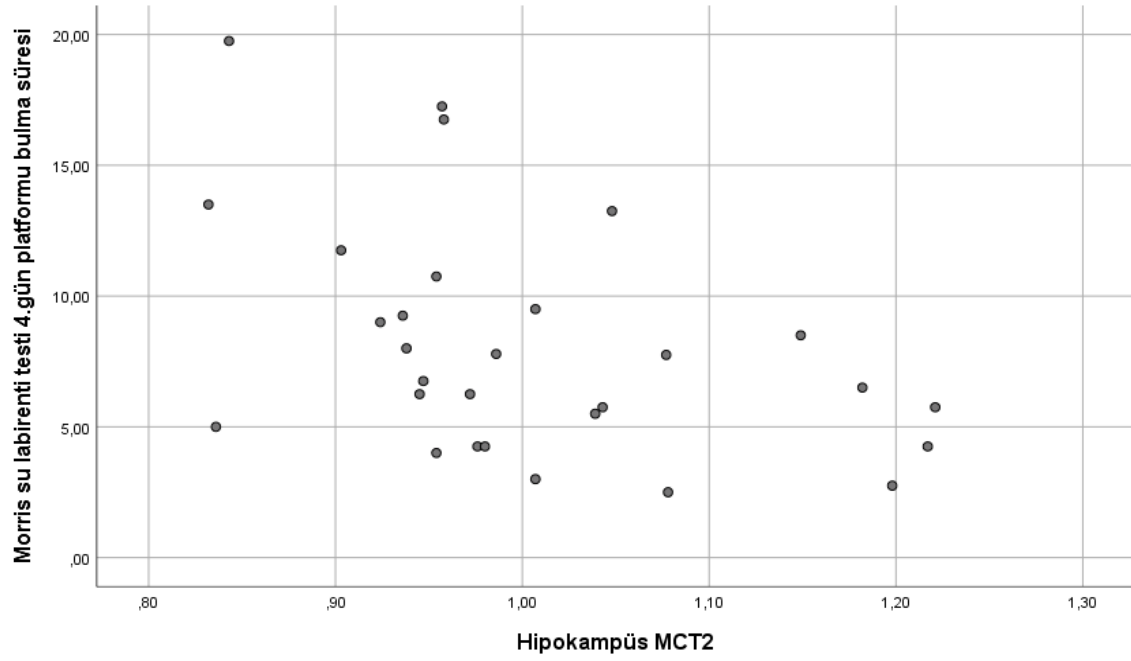
Şekil 50. Hipokampus MCT2 düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları. a, SD grubuna göre farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

Yapılan korelasyon analizinde hipokampus MCT2 düzeyleri ve Morris su labirenti testi 4.gün platformu bulma süresi arasında negatif bir korelasyon olduğu görüldü ($p=0.013$) (Tablo 20) (Şekil 51).

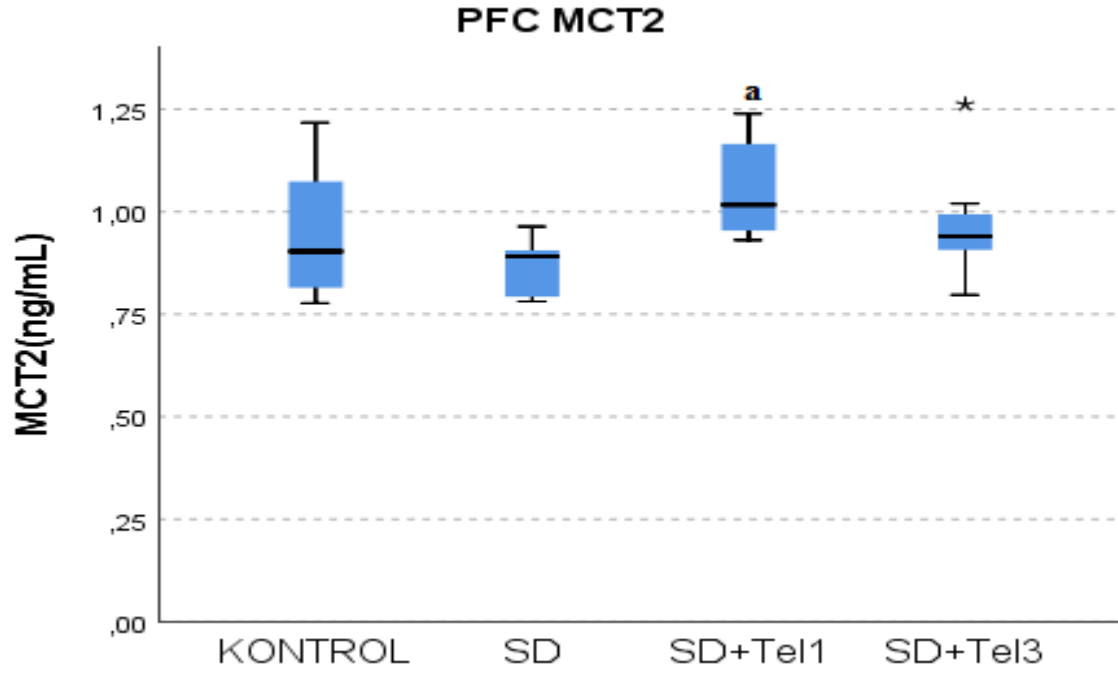
Tablo 20. Morris su labirenti testi 4.gün platformu bulma süresi ve hipokampus MCT2 düzeyleri korelasyon analizi

		Hipokampus MCT2
Morris su labirenti testi 4.gün platformu bulma süresi	r	-0.455*
	p	0.013

*Anlamlı farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 51. Hipokampus MCT2 düzeyleri ve Morris su labirenti testi 4.gün platformu bulma süresi korelasyon analizi ($p < 0.05$).



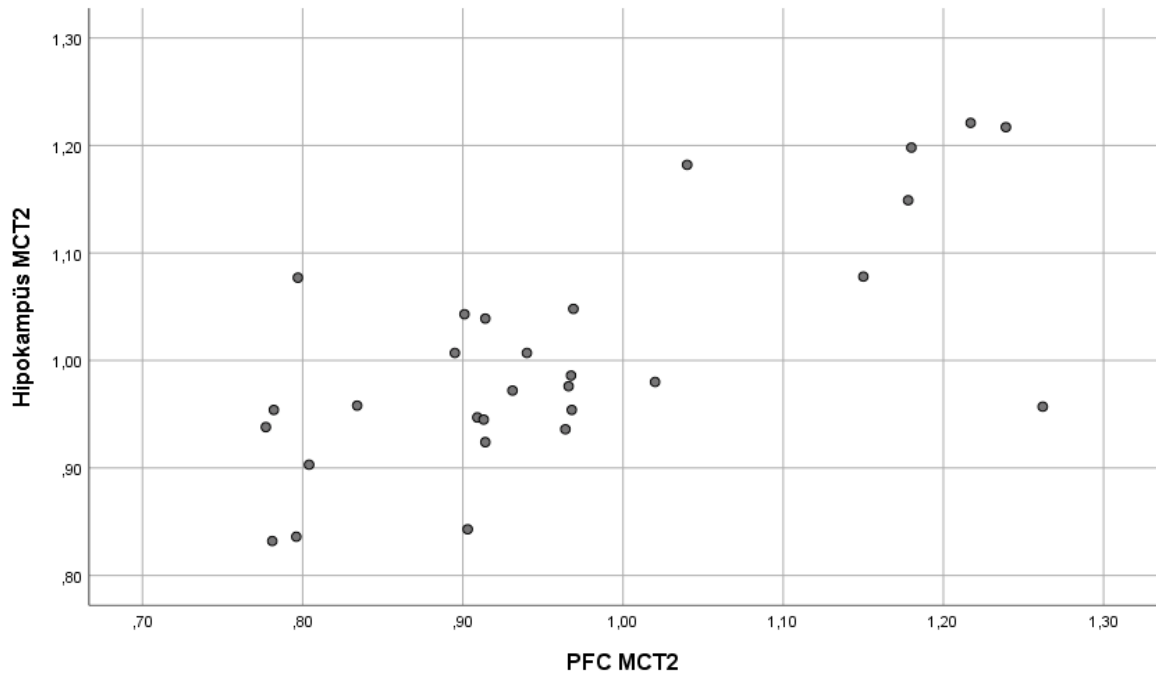
Şekil 52. PFC MCT2 düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları. a, SD grubuna göre farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

Yapılan korelasyon analizinde hipokampus ve PFC MCT2 düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon olduğu görüldü ($p<0.001$) (Tablo 21) (Şekil 53).

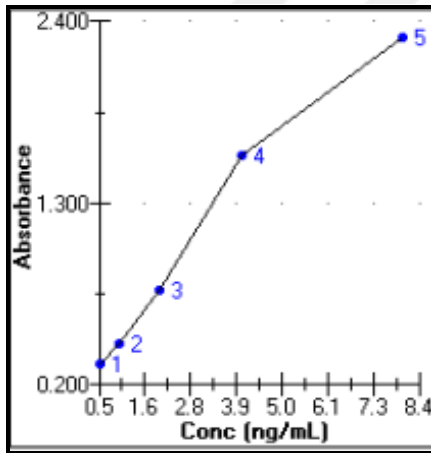
Tablo 21. Hipokampus ve PFC MCT2 düzeyleri korelasyon analizi

		PFC MCT2
Hipokampus MCT2	r	0.638*
	p	<0.001

* Anlamlı farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).



Şekil 53. Hipokampus ve PFC MCT2 düzeyleri korelasyon analizi ($p < 0.05$).



Şekil 54. Hipokampus ve PFC için ELISA MCT2 standart eğrisi

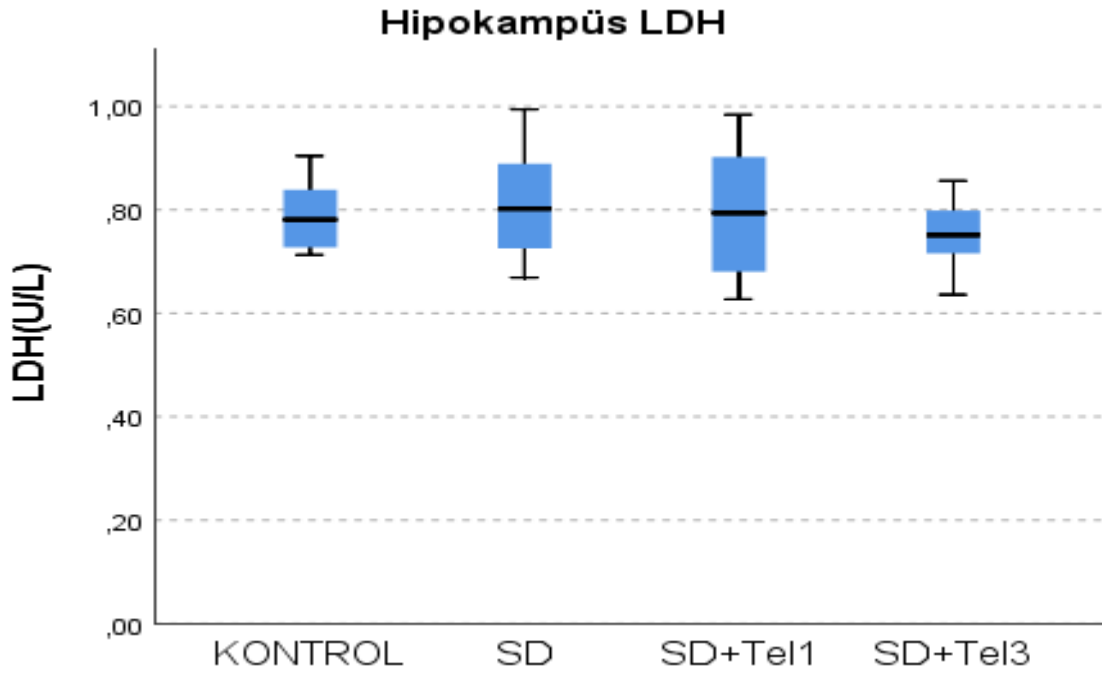
4.9.5. Hipokampus ve PFC LDH sonuçları

Tablo 22’de hipokampus ve PFC dokularında ölçülen LDH düzeyleri verilmiştir. Buna göre gruplar arasında LDH düzeyleri açısından hipokampus ($p=0.694$) (Şekil 55) ve PFC ($p=0.115$) (Şekil 56) dokularında anlamlı bir fark gözlenmedi.

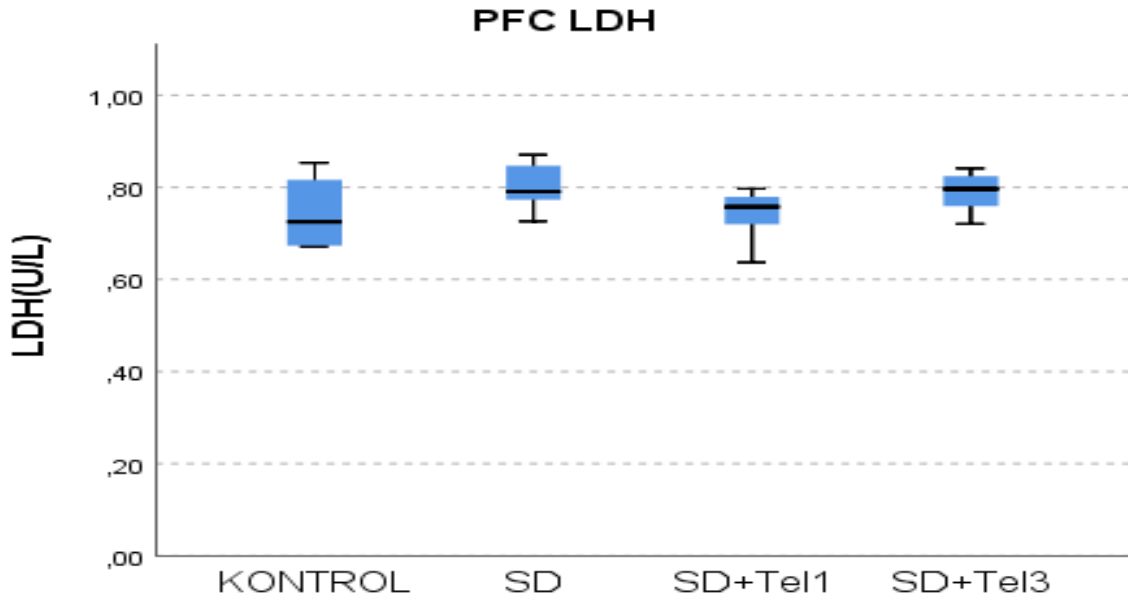
Tablo 22. Hipokampus ve PFC LDH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları

	KONTROL	SD	SD+Tel1	SD+Tel3	p
Hipokampus(U/L)	0.78 (0.71-0.90)	0.80 (0.67-0.99)	0.79 (0.63-0.98)	0.75 (0.64-0.96)	0.694
PFC(U/L)	0.73 (0.67-0.85)	0.79 (0.73-0.87)	0.76 (0.64-0.80)	0.80 (0.72-0.84)	0.115

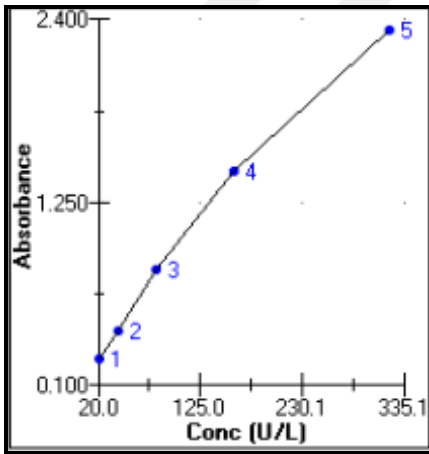
Değerler ortanca (min-max) olarak verilmiştir. Gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$).



Şekil 55. Hipokampus LDH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları. Gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$).



Şekil 56. PFC LDH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları. Gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$).



Şekil 57. Hipokampus ve PFC için ELISA LDH standart eğrisi

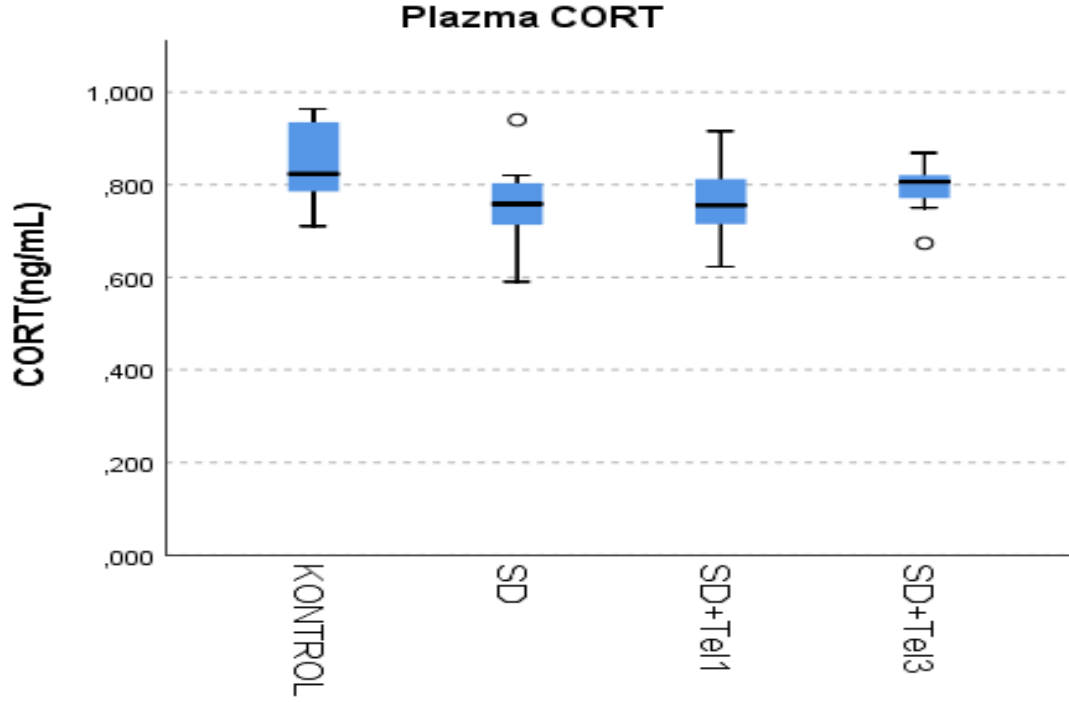
4.9.6. Plazma CORT sonuçları

Tablo 23'te plazmada ölçülen CORT düzeyleri verilmiştir. Buna göre gruplar arasında plazma CORT düzeyleri açısından anlamlı bir fark gözlenmedi ($p=0.213$) (Şekil 58).

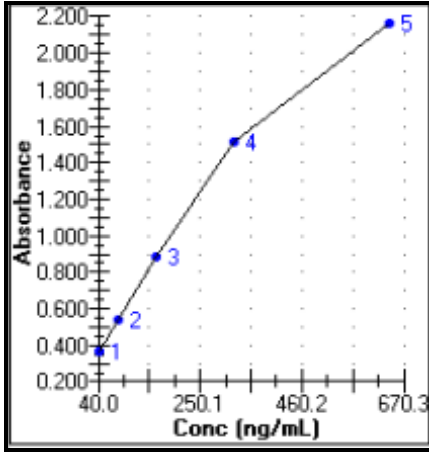
Tablo 23. Plazma CORT düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları

	KONTROL	SD	SD+Tel1	SD+Tel3	p
Plazma(ng/mL)	0.823 (0.711-0.964)	0.758 (0.591-0.940)	0.755 (0.623-0.916)	0.806 (0.674-0.869)	0.213

Değerler ortanca (min-max) olarak verilmiştir. Gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$).



Şekil 58. Plazma CORT düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları. Gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$).



Şekil 59. Plazma için ELISA CORT standart eğrisi

4.10. Biyokimyasal Parametre Sonuçları

4.10.1. Beyin ve PFC MDA sonuçları

Tablo 24’te beyin ve PFC dokularında ölçülen MDA düzeyleri verilmiştir. Buna göre;

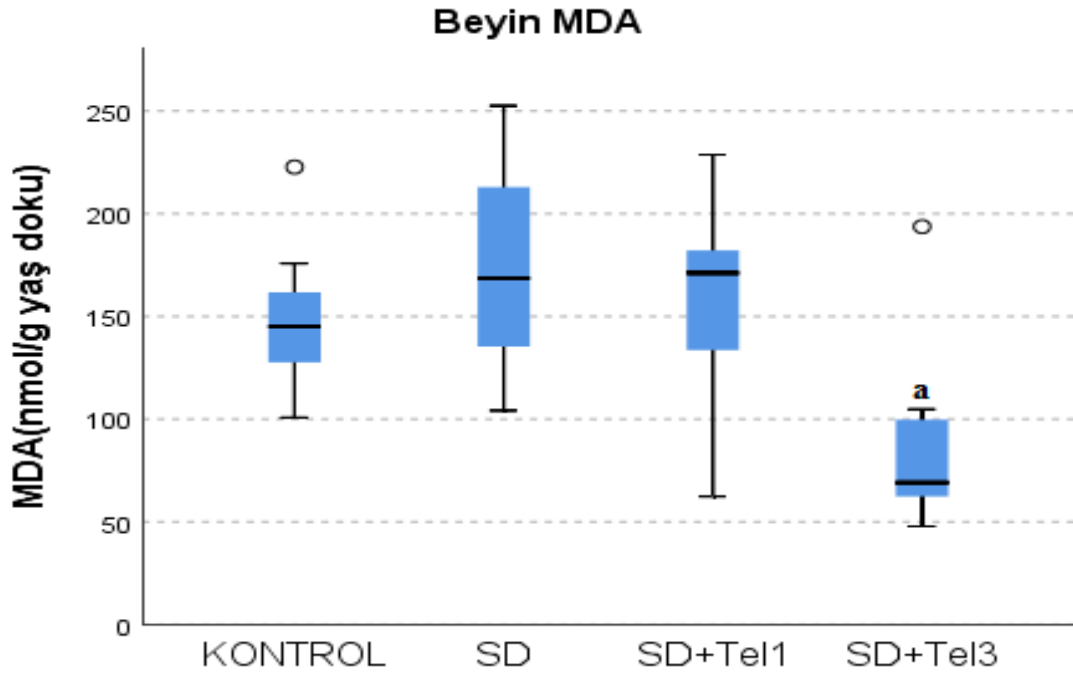
Beyin MDA düzeyleri gruplar arasında karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görüldü ($p=0.031$) Yapılan ikili karşılaştırmalarda beyin MDA düzeylerinin SD+Tel3 grubunda SD grubuna göre anlamlı ölçüde azaldığı gözlemlendi ($p=0.031$) (Şekil 60).

PFC MDA düzeyleri gruplar arası karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görüldü ($p=0.001$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda PFC MDA düzeylerinin SD+Tel1 ($p=0.008$) ve SD+Tel3 ($p=0.001$) gruplarında KONTROL grubuna göre anlamlı ölçüde azaldığı gözlemlendi (Şekil 61).

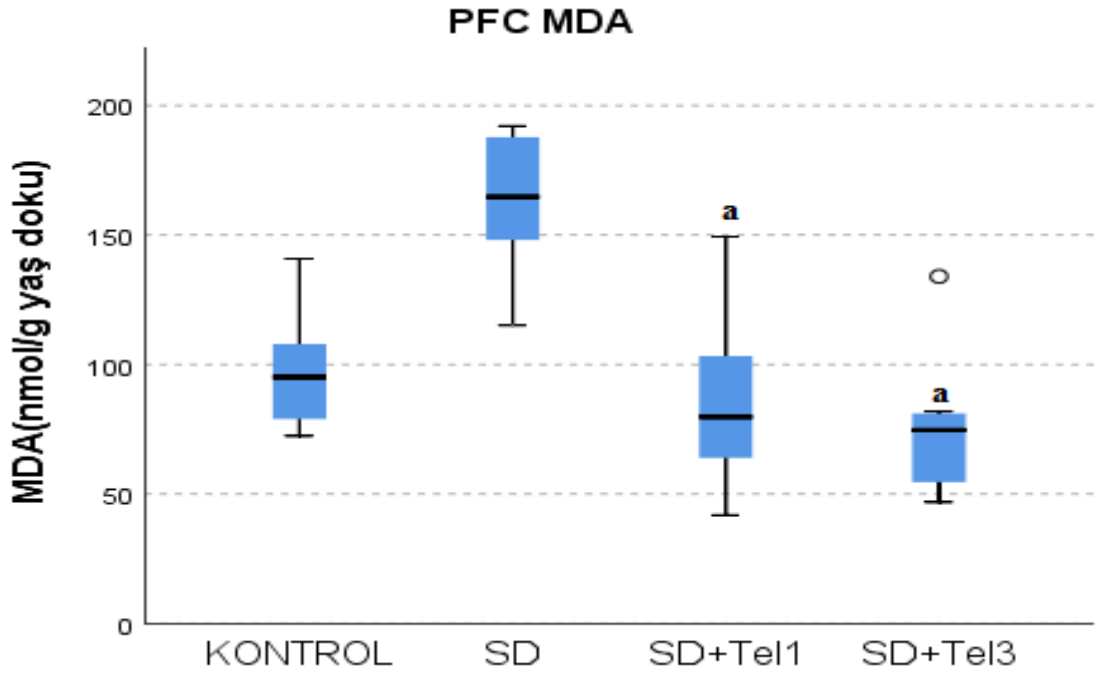
Tablo 24. Beyin ve PFC MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları

	KONTROL	SD	SD+Tel1	SD+Tel3	p
Beyin(nmol/g yaş doku)	145 (101-223)	169 (104-253)	171 (62-229)	82 (48-203) ^a	0.031
PFC(nmol/g yaş doku)	95 (73-141)	165 (115-192)	80 (42-149) ^a	75 (47-134) ^a	0.001

Değerler ortanca (min-max) olarak verilmiştir. a, SD grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir. $p<0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.



Şekil 60. Beyin MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları. a, SD grubuna göre farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).



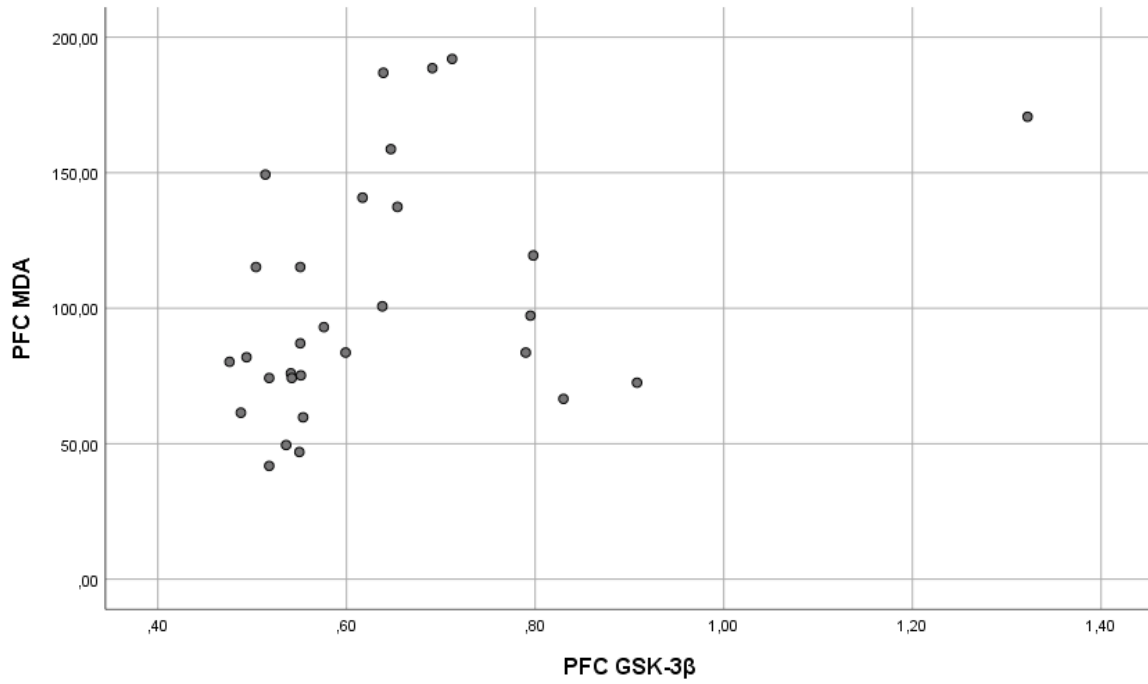
Şekil 61. PFC MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları. a, SD grubuna göre farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

Yapılan korelasyon analizinde PFC MDA ve GSK-3 β düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon olduğu görüldü ($p=0.024$) (Tablo 25) (Şekil 62).

Tablo 25. PFC MDA ve GSK-3 β düzeyleri korelasyon analizi

		PFC GSK-3β
PFC MDA	r	0.412*
	p	0.024

* Anlamli farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).



Şekil 62. PFC MDA ve GSK-3 β düzeyleri korelasyon analizi ($p<0.05$).

4.10.2. Beyin ve PFC GSH sonuçları

Beyin ve PFC dokularında ölçülen GSH düzeyleri Tablo 26’da gösterilmiştir.

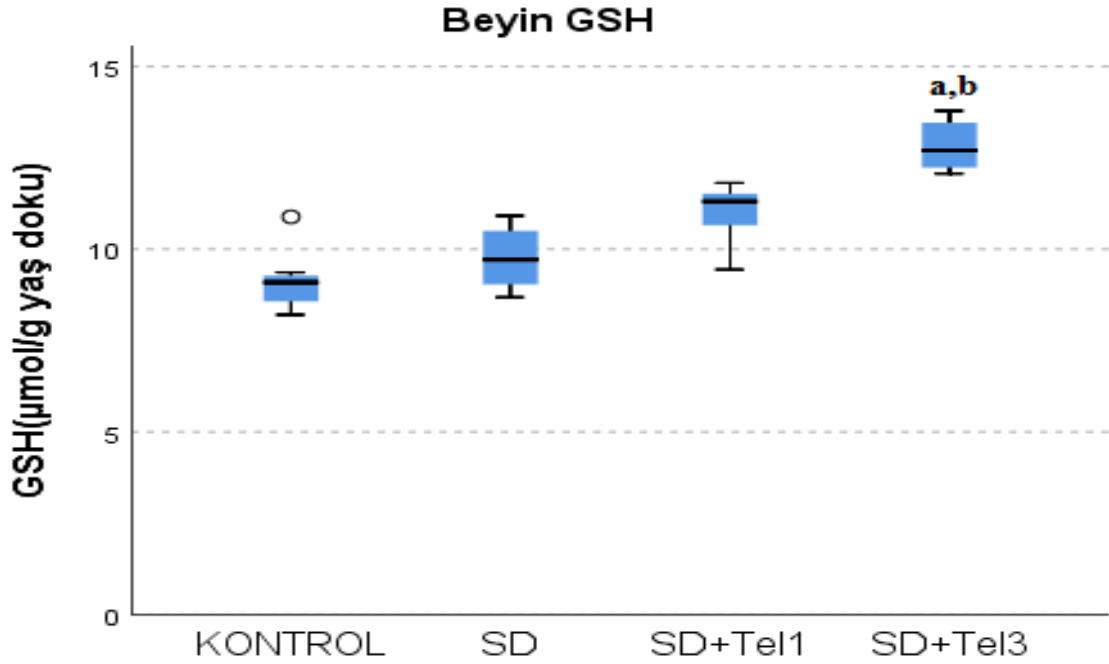
Beyin GSH düzeyleri gruplar arası karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görüldü ($p<0.001$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda beyin GSH düzeylerinin SD+Tel3 grubunda KONTROL ($p<0.001$) ve SD ($p=0.001$) grubuna göre anlamlı ölçüde arttığı gözlemlendi (Şekil 63).

PFC GSH düzeyleri gruplar arası karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görüldü ($p=0.020$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda PFC GSH düzeyleri SD ($p=0.011$) ve SD+Tel1 ($p=0.019$) gruplarında KONTROL grubuna göre anlamlı ölçüde azaldı. SD+Tel3 grubunda ise SD ($p=0.014$) ve SD+Tel1 ($p=0.023$) gruplarına göre anlamlı ölçüde arttı (Şekil 64).

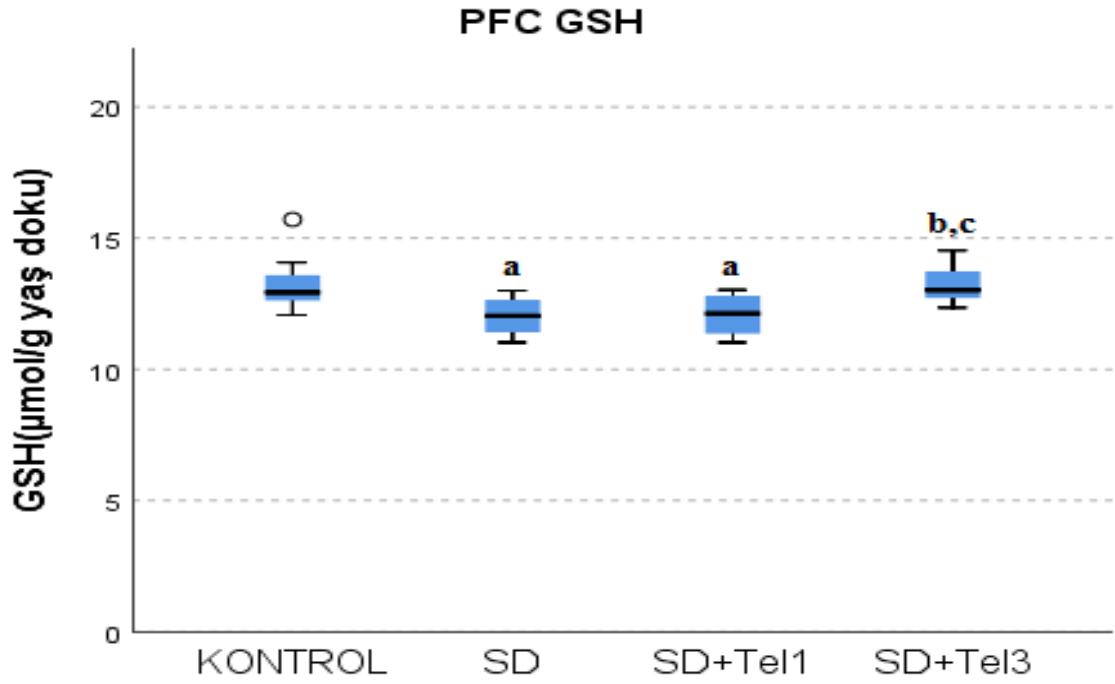
Tablo 26. Beyin ve PFC GSH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları

	KONTROL	SD	SD+Tel1	SD+Tel3	p
Beyin($\mu\text{mol/g}$ yaş doku)	9.09 (8.21-10.89)	9.71 (8.69-10.91)	11.31 (9.45-11.82)	12.71 (12.07-13.79) ^{a,b}	<0.001
PFC($\mu\text{mol/g}$ yaş doku)	12.93 (12.07-15.71)	12.04 (11.03-13.00) ^a	12.13 (11.03-13.03) ^a	13.01 (12.35-14.52) ^{b,c}	0.020

Değerler ortanca (min-max) olarak verilmiştir. a, KONTROL grubuna, b, SD grubuna, c, SD+Tel1 grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir. $p<0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.



Şekil 63. Beyin GSH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları. a, KONTROL grubuna, b, SD grubuna göre farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).



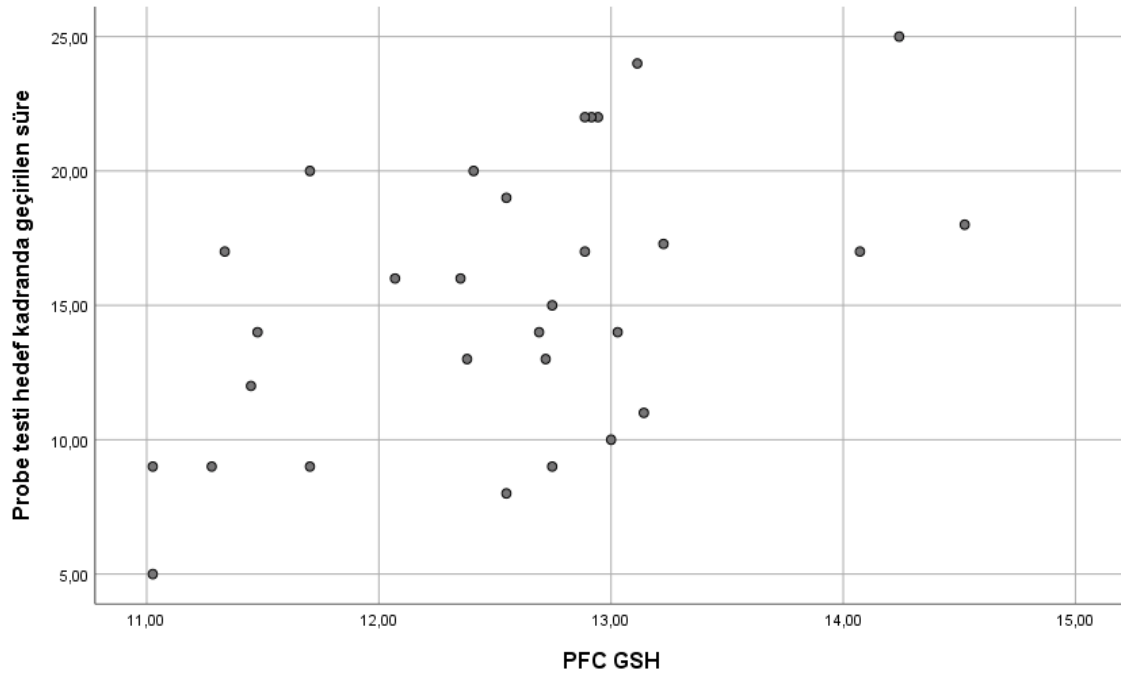
Şekil 64. PFC GSH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları. a, KONTROL grubuna, b, SD grubuna, c, SD+Tel1 grubuna göre farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).

Yapılan korelasyon analizinde *Probe trail* testi hedef kadranda geçirilen süre ve PFC GSH düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon olduğu görüldü ($p = 0.008$) (Tablo 27) (Şekil 65).

Tablo 27. *Probe trail* testi ve PFC GSH düzeyleri korelasyon analizi

		PFC GSH
<i>Probe trail</i> testi hedef kadranda geçirilen süre	r	0.486*
	p	0.008

* Anlamlı farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 65. *Probe trail* testi ve PFC GSH düzeyleri korelasyon analizi ($p<0.05$).

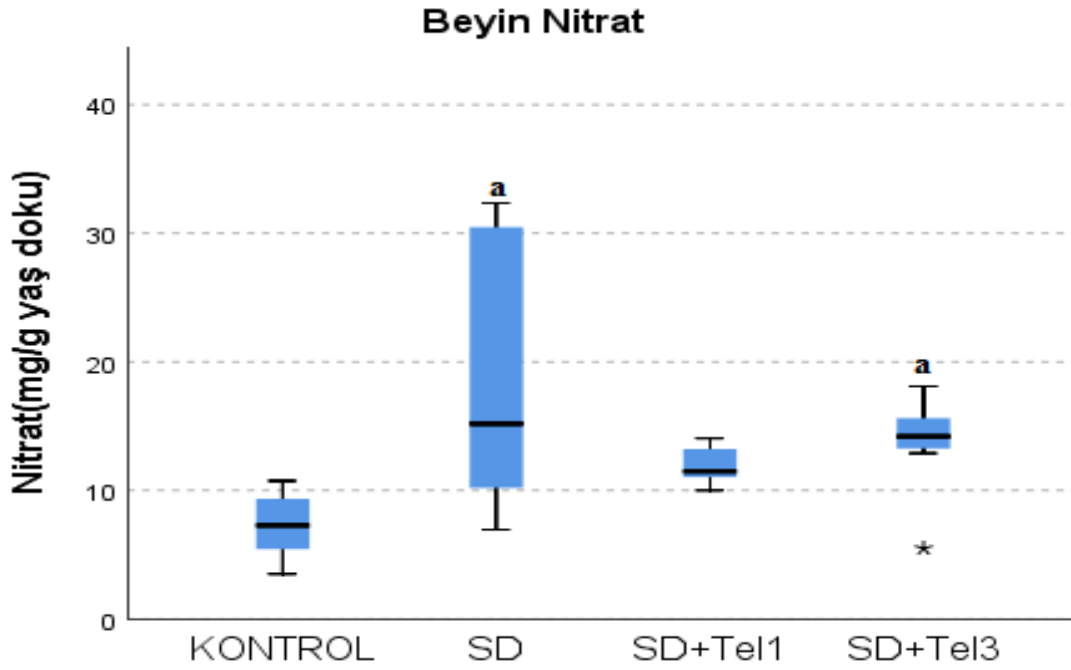
4.10.3. Beyin nitrat sonuçları

Beyin dokusunda ölçülen nitrat düzeyleri Tablo 28’de gösterilmiştir. Buna göre gruplar arası karşılaştırma yapıldığında beyin nitrat düzeyleri açısından anlamlı bir fark görüldü ($p=0.003$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda beyin nitrat düzeyleri SD ($p=0.008$) ve SD+Tel3 ($p=0.007$) grubunda KONTROL grubuna göre anlamlı olarak arttı (Şekil 66).

Tablo 28. Beyin nitrat düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları

	KONTROL	SD	SD+Tel1	SD+Tel3	p
Beyin (mg/g yaş doku)	7.3 (3.5-10.8)	15.2 (7.0-32.4) ^a	11.5 (10.0-14.1)	14.2 (5.5-18.1) ^a	0.003

Değerler ortanca (min-max) olarak verilmiştir. a, KONTROL grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir. $p<0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.



Şekil 66. Beyin nitrat düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları. a, KONTROL grubuna göre farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).

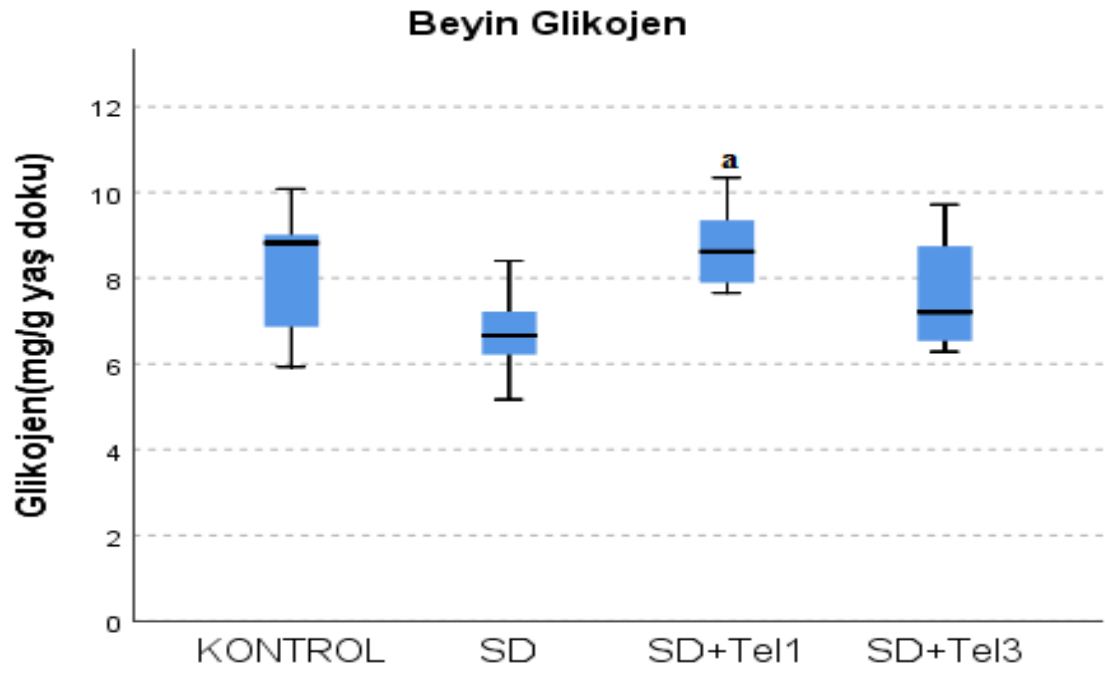
4.10.4. Beyin glikojen sonuçları

Beyin dokusunda ölçülen glikojen düzeyleri Tablo 29’da gösterilmiştir. Buna göre gruplar arası karşılaştırma yapıldığında beyin glikojen düzeyleri açısından anlamlı bir fark görüldü ($p = 0.047$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda beyin glikojen düzeyleri SD+Tel1 grubunda, SD grubuna göre anlamlı bir şekilde arttı ($p = 0,038$) (Şekil 67).

Tablo 29. Beyin glikojen düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları

	KONTROL	SD	SD+Tel1	SD+Tel3	p
Beyin (mg/g yaş doku)	8.8 (5.9-10.1)	6.7 (5.2-8.4)	8.6 (7.7-10.3) ^a	7.2 (6.3-9.7)	0.047

Değerler ortanca (min-max) olarak verilmiştir. Gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).



Şekil 67. Beyin glikojen düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmaları. a, SD grubuna göre farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

5. TARTIŞMA

Uyku, homeostatik bir süreç olmakla birlikte merkezi sinir sisteminin normal işleyişinde de önemli bir role sahiptir (1). Öncelikle belleğin sağlamlaştırılmasını sağlayan uyku, yeni edinilen bilgilerin de bellekteki konsolidasyonunu destekleyen fizyolojik bir süreçtir (2). Uyku yoksunluğu ise, hastalık, stres gibi nedenlerle uykunun kısmen veya tamamen ortadan kaldırılmasıdır. Öğrenme ve bellek aktivitesinde kötüleşme ile başlayan bu süreç, enerji harcamasında ilerleyici bir artış, kilo kaybı, belirgin cilt lezyonlarının gelişimi, termoregülasyonda bozulmalar ve nihai olarak ölümle sonuçlanabilen birçok duruma neden olabilmektedir (86). Uykunun öğrenme ve hafıza oluşumunda kritik bir rol oynadığı yaklaşık bir asır önce (147) gözlenmiştir. O günden bugüne yapılan çalışmalar NREM ve REM uykusunun öğrenme sürecinde farklı roller oynadığını ve NREM uykusunun deklaratif bellek (hipokampüse bağlı epizodik bellek) oluşumunda; REM uykusunun ise, non-deklaratif bellek (işlemsel bellek) oluşumunda etkili olduğunu göstermiştir (186,187). Yoğun ve modern yaşam tarzı nedeniyle yetişkinlerin büyük çoğunluğunun yeterli uyku uyumadığı ve bu yetersiz uykunun kişilerde yarattığı olumsuz sonuçların neler olduğu ve olumsuz sonuçlara yönelik ne tarz tedaviler uygulanabileceği birçok araştırmanın ana fikri olmuştur.

Bu süreçte uyku yoksunluğunun etkilediği parametrelerden biri olan vücut ağırlığının takibi haftalık olarak yapıldı. Yapılan bir çalışmada 7, 14 veya 21 gün boyunca REM uyku kısıtlamasına tabi tutulan genç sıçanlarda enerji harcamasının arttığı vücut ağırlığının ve vücut enerji kazancının ise azaldığı kanıtlanmıştır (295). Bizim çalışmamızda da grup içi ve gruplar arası karşılaştırmalar yapıldığında kronik uyku yoksunluğunun kilo alımını engellediği gözlenmiştir. KONTROL grubunda bulunan hayvanların vücut ağırlıkları haftalık olarak artış göstermiş ancak uyku yoksunluğu yapılan (SD) ve uyku yoksunluğu yapıp tedavi verilen gruplarda (SD+Tel1 ve SD+Tel3) vücut ağırlıkları KONTROL grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır. Kronik uyku yoksunluğu yapılmış tüm hayvanlar hiperfajik aktivite göstermelerine rağmen vücut ağırlığı haftalık yüzde değişimlerine bakıldığında kilo vermiş oldukları tespit edildi. Çalışmamızdan elde ettiğimiz bu veriler, kronik uyku yoksunluğu yapılmış sıçanlarda gıda alımındaki artışa rağmen vücut ağırlıklarında meydana gelen azalmanın gösterildiği bir başka çalışma ile de

benzerlik göstermektedir (296). Bu sonuçlar uyku yoksunluğunun vücut enerji metabolizması üzerinde olumsuz yönde etkisinin olduğunu göstermektedir. Telmisartan ise uyku yoksunluğun neden olduğu bu olumsuz etki üzerinde etkili olmamıştır.

REM uykusu yoksunluğunun, Na^+/K^+ ATPaz aktivitesinin noradrenalin aracılı stimülasyonu ile beyin uyarılabilirliğini arttırdığı bildirilmektedir. Uyku yoksunluğu gibi koşullar altında, uyku ile aktive olan onarım sistemi ortadan kalkmakta ve bu durum beyindeki metabolit temizleme mekanizmasını bloke ederek oksidatif strese ve nöronal hasara neden olabilmektedir (297). Ayrıca uyku yoksunluğu sonrası kan-beyin bariyerinde gelişen bozulmalar sonucunda serebral korteks ve hipokampus bölgelerinde ödemle birlikte hasar görmüş nöron sayısında artış yapılan bir çalışmada gösterilmiştir. Ayrıca, bu çalışma uyku yoksunluğu süresinin artışı ile beyin ödemi arasında aynı yönlü bir ilişki olduğunu da kanıtlamıştır (298). Bizim çalışmamızda da uyku yoksunluğu yaratılan hayvanlarda beyin ödeminin gelişip gelişmediğini tespit edebilmek için beyin-vücut ağırlığı oranı hesaplandı. Sonuçlara bakıldığında SD ve SD+Tel3 gruplarındaki hayvanların beyin-vücut ağırlığı oranlarında KONTROL grubundaki hayvanlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış görüldü. Bu sonuçlar, daha önce yapılmış çalışmalarla benzer olacak şekilde uyku yoksunluğunun beyin ödeme neden olduğunu ancak tedavi ajanı olarak kullanılan telmisartanın (3mg/kg) bu ödemin önüne geçemediğini göstermektedir.

Uyku yoksunluğunun etkilerini tersine çevirebilecek anjiyotensin II reseptör blokörü telmisartanın PPAR γ sinyali üzerinden gerçekleştirdiği metabolik etkileri görebilmek adına haftalık olarak hayvanların kan şekeri değeri takipleri yapıldı. ARB'lerden biri olan telmisartan, hem AT1R'yi bloke ederken hem de karbonhidrat ve lipid metabolizmasını düzenleyen PPAR γ 'yı kısmen aktive edebilmektedir (37). Daha önce yapılan ve hücresel düzeyde gerçekleştirilen deneylerde telmisartan, kısmi bir PPAR γ agonisti olarak işlev göstermiştir ve geleneksel PPAR γ ligandları ile elde edilen maksimum reseptör aktivasyonunun %25-30'unu sağlamıştır. Klinik ve klinik öncesi çalışmalar, telmisartan uygulamasının, tam PPAR γ aktivatörlerine eşlik eden yan etkilere neden olmadan karbonhidrat ve lipid metabolizmasını iyileştirebileceğini göstermektedir (299). Bizim çalışmamızda da grup içi karşılaştırmalar yapıldığında SD+Tel1 grubundaki hayvanların 3.hafta kan şekeri düzeylerinin 1.gün kan şekeri düzeylerine kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı bulundu. Çalışmamızda PPAR γ düzeylerine bakmamış olsak da bu sonuç daha önce yapılan çalışmalarda da olduğu gibi telmisartanın PPAR γ sinyali

üzerinden karbonhidrat metabolizması üzerinde etkili olduğunu ve bu sayede kan glikoz düzeylerinde düşüş sağladığını düşündürmektedir.

Yine uyku yoksunluğunun neden olduğu termoregülasyondaki bozulmayı test edebilmek amacıyla vücut sıcaklığı takibi rektal yoldan sağlandı. Yapılan bir çalışmada uyku yoksunluğunun termoregülasyonu değiştirebileceği kanıtlanmıştır. Yine aynı çalışma, deneyde kullanılan hayvanların vücut sıcaklıklarında bir azalma gerçekleştiğini ve bu durumun hayvanlar tarafından geri döndürülebilme yeteneğinin zayıfladığını göstermiştir (86,300). Bizim çalışmamızda da SD+Tel1 ve SD+Tel3 gruplarındaki hayvanların KONTROL grubundaki hayvanlara kıyasla vücut sıcaklıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir düşme olduğu görüldü. Aynı zamanda SD+Tel1 ve SD+Tel3 gruplarındaki hayvanların SD grubundaki hayvanlara kıyasla da vücut sıcaklıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir düşme olduğu görüldü. Telmisartan ile tedavi edilen bu gruplarda gözlenen vücut sıcaklığındaki azalmanın deneklerin vücut yağındaki azalma ile ilişkili olabileceği düşünüldü. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada telmisartanın beyaz yağ dokusunda artışa ve kahverengi yağ dokusunda azalmaya neden olduğunun kanıtlanması bu görüşü destekler niteliktedir (301).

Kalp hızı, REM uykusu sırasında belirgin artışlarla, NREM uykusu sırasında ise düşüşlerle karakterizedir. NREM uykusu sırasında baskın bir vagal aktivite ve REM uykusu sırasında belirgin bir sempatik kontrol gözlenir (98,99). Uyku yoksunluğu da artan sempatik tonusla ilişkilidir. Bu da gece katekolamin düzeylerini yükselterek kalp hızında yükselmeye neden olmaktadır (100). Bizim çalışmamızda da gruplardaki hayvanların kalp hızı ve RR intervali süreleri ölçüldü ve sonrasında gruplar arasında karşılaştırmalar yapıldı. Yapılan istatistikler sonucunda gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Ancak ölçülen değerler kontrol edildiğinde SD ve SD+Tel1 gruplarındaki hayvanların kalp hızı değerlerinde KONTROL grubundaki hayvanlara kıyasla bir yükselme eğilimi olduğu görüldü. Yine aynı şekilde SD ve SD+Tel1 gruplarındaki hayvanların RR intervali sürelerinin KONTROL grubundaki hayvanlara kıyasla azalma eğiliminde olduğu görüldü. Bu sonuçlar her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı bulunamamış olsa da uyku yoksunluğunun kalp hızını artırma eğiliminde olduğunu göstermektedir. Yapılan bir çalışmada telmisartanın diyetle oluşan obezitede kalp hızını kontrol grubuna göre azaltmada etkili olmadığı gözlenmiştir (302). Benzer şekilde telmisartanın L-NAME ile oluşturulan hipertansiyon modelinde kalp hızı üzerinde etkili olmadığını gösteren bir çalışma da bulunmaktadır (303).

Kötü uyku kalitesi ve kısa uyku süresinin kan basıncında dalgalanmalara neden olduğu ve yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, kısa uyku süresinin daha yüksek kan basıncı ve hipertansiyonla ilişkili olduğu ortaya konmuştur (96,304). Bizim çalışmamızda da uyku yoksunluğunun neden olabileceği kan basıncında gerçekleşecek bu dalgalanmaları görebilmek adına haftalık kan basıncı takibi yapıldı. Kan basıncı düzeyleri gruplar arası karşılaştırıldığında 1.hafta ölçümlerinde SD grubunda KONTROL grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış gösterdi. Yine kan basıncı düzeylerinin 1.hafta ölçümlerinde SD+Tel3 grubunda SD grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalma görüldü. Bu sonuçlar daha önceki yapılmış çalışmalarda olduğu gibi uyku yoksunluğunun kan basıncı düzeylerini artırdığını göstermektedir. Ayrıca daha önce yapılmış doz bağımlı (1-4-5 mg/kg) çalışmalarda da gösterildiği (305,306) gibi anjiotensin II reseptör blokörü telmisartanın 3 mg/kg dozda kullanımının kan basıncı düzeylerinde azalmaya neden olduğu da bizim çalışmamızda görülmektedir.

Daha önceki çalışmalar REM uyku yoksunluğunun öğrenme ve hafıza üzerinde olumsuz etkilerinin olduğunu göstermiştir (40). Çalışmamızda, günümüz şartlarında birçok yetişkinde gözlenen ve kronikleşen uyku yoksunluğu durumunun deneysel olarak oluşturulmasına izin veren ‘modifiye çoklu platform tekniği’ni kullanarak hem uyku yoksunluğunun fizyolojik parametreler ve öğrenme-bellek süreci üzerindeki olumsuz etkilerinin neler olduğunu hem de bu durumları tersine çevirebilecek bir tedavi ajanı olarak ön gördüğümüz anjiotensin II reseptör blokörü telmisartanın etkilerini araştırdık. Bu nedenle çalışmamızda öncelikle 21 günlük kronik uyku yoksunluğu oluşturduk. Hayvanlar 21 günlük süreçte 16:00-10:00 arasında 18 saat boyunca uykusuz bırakıldı. Geri kalan 6 saatlik dönemde (10:00 - 16:00) ise kafeslerine geri konularak uyumalarına izin verildi.

Tedavi gruplarında kullanılan anjiotensin II reseptör blokörü telmisartan uyku yoksunluğunun neden olduğu öğrenme ve hafıza performansı üzerindeki olumsuz etkileri tersine çevirebilecek bir ajan olarak düşünüldü. Telmisartan, lipofilitesinin yüksek olması nedeniyle kan-beyin bariyeri geçirgenliği diğer ARB’lere kıyasla daha fazla olan bir ajandır. Ayrıca uzun yarı ömrü açısından da diğer ARB’lerden farklılık gösterir (307). Yapılan çalışmalarda, telmisartanın uygulamasının PPAR γ aktivasyonu yolu ile anti-inflamatuar ve anti-oksidan etkiler gösterdiği saptanmıştır. Bu etkileriyle telmisartanın serebral iskemide bilişsel gerilemeye karşı koruyucu rollere sahip olduğu ve nöronlarda anti-enflamatuar etkiler ile beyin hasarını önlediği gösterilmiştir (281,282). Telmisartanın, özellikle

hipokampus CA1 ve CA3 bölgelerinde sağlam nöron sayısındaki artışı sağlayarak nörokoruyucu etki gösterdiği bildirilmektedir (286). Telmisartanın uzamsal belleği iyileştirdiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (308–310). Çalışmamızda telmisartan tedavisinin kronik REM uyku yoksunluğunun öğrenme ve bellek üzerinde oluşturduğu etkileri ne yönde değiştirdiği araştırıldı. Bu konuda daha önce yapılmış herhangi bir çalışma bulunmadığı için telmisartanın öğrenme ve bellek üzerindeki etkileri farklı dozlar kullanılarak araştırıldı. Çalışmamızda 21 günlük REM uyku yoksunluğu sonrası *probe trail* testi yapılan hayvanların sonuçlarının KONTROL grubuna kıyasla belirgin şekilde bozulduğu görüldü. Telmisartan tedavisinin kronik REM uyku yoksunluğu sonrası gelişen bellekteki bozulma üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir iyileşme sağladığı saptandı. Ancak 3mg/kg dozunda uygulanan telmisartanın 1mg/kg dozunda uygulanan telmisartana göre bellek performansında daha etkili olduğu görüldü. Çalışmamızda kullandığımız dozlar, daha önce öğrenme ve bellek performansında artış sağladığı kanıtlanmış çalışmalardan referans alınarak belirlendi (308–310).

Uyku yoksunluğunun öğrenme ve bellek performanslarına etkisini görebilmek için Morris su labirenti testi kullanıldı. Hayvanların öğrenme performansları 4 gün boyunca saklı platformla değerlendirildikten sonra bellek performansı 5.günde *probe trail* testi ile değerlendirildi. Sonuçlar grup içi değerlendirildiğinde 4 günlük süre boyunca bütün gruplardaki hayvanların platformu bulma süreleri 1.güne kıyasla giderek azalmıştır. Yani tüm gruplardaki hayvanlar bu 4 günlük süre içinde platformun yerini öğrenmişlerdir. Yapılan birçok uyku yoksunluğu çalışması sonucunda hipokampus bağımlı belleğin uykusuzluktan etkilendiği ancak hipokampus bağımsız belleğin herhangi bir hasar almadığı sonucuna ulaşılmıştır. Bu durum uyku yoksunluğunun hipokampus üzerinde ne kadar etkili olduğunu kanıtlamaktadır (165) ancak uyku yoksunluğunun öğrenmeyi etkilemediğini yani Morris su labirenti testinde uyku yoksunluğu yapılan ve yapılmayan tüm gruplarda platformu bulma sürelerinin giderek azaldığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (218,311). Telmisartanın öğrenme ve bellek üzerine olumlu etkilerini gösteren bir çalışmaya (285) paralel olacak şekilde bizim çalışmamızda da 4.günde SD+Tel1 grubunda SD grubuna göre platformu bulma süresinde düşme görüldü. Ayrıca uyku yoksunluğu hipokampus fonksiyonlarını zayıflatmış olsa da bazı hayvanların bu bozukluğu telafi etmek için alternatif davranış stratejileri geliştirdiğini ve bu durumda hipokampus bağımlı strateji yerine striatum bağımlı tepki tabanlı strateji kullandıklarını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (312,313).

Önceki yıllarda yapılmış bir başka çalışma da bu durumu destekler şekilde, görsel algısal öğrenme performansının yalnızca NREM uykusunu içeren bir uyku döneminden sonra önemli ölçüde arttığını, REM uykusunun ise uyku öncesi öğrenmenin dengelenmesinde rol oynadığını göstermektedir (189). Yine aynı çalışmada NREM uykusunun sinaptik plastisiteyi artırarak performans kazanımlarına yol açtığı, oysa REM uykusunun öğrenmeyi stabilize etmek için plastisiteyi azalttığı da kanıtlanmıştır (189). Bizim çalışmamızda da belleği gösteren ve 5.gün yapılan *probe trail* testinde SD ve SD+Tel1 grubundaki hayvanların hedef kadranda geçirdikleri süre KONTROL grubundaki hayvanlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldı. Bu durum REM uykusunun uyku öncesi öğrenmenin stabilizasyonunda etkili olduğu görüşünü desteklemektedir. Aynı zamanda SD+Tel3 grubundaki hayvanların hedef kadranda geçirdikleri süre her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da KONTROL grubuna yaklaşımıştır. Bu sonuç da telmisartanın uyku yoksunluğu sonrası bozulan bellek üzerindeki olumlu etkilerini gösterebilmek adına önemli bir parametredir.

Uyku yoksunluğundan en çok etkilenen beyin bölgeleri hipokampus ve PFC olduğu için ELISA testleri ile BDNF, CREB, GSK-3 β , MCT2 ve LDH çalışıldı.

Bu sonuçlar değerlendirildiğinde; hipokampus dokusu BDNF düzeyleri SD+Tel1 grubundaki hayvanlarda KONTROL ve SD grubu hayvanlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttı. Bu sonuç daha önceki yıllarda yine 1mg/kg dozda telmisartan kullanımının sıçan hipokampuslerinde BDNF yapımını artırdığını gösteren bir çalışmayı (285) destekler niteliktedir. PFC dokusu BDNF düzeyleri ise SD grubunda KONTROL grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldı ve yine SD+Tel1 grubunda SD grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttı. Bu sonuç hipokampusteki sonuçlarla tutarlılık göstermektedir.

Hipokampus CREB düzeylerine bakıldığında SD grubundaki hayvanlarda KONTROL grubundaki hayvanlara kıyasla bir azalma ve tedavi verilen SD+Tel1 ve SD+Tel3 gruplarındaki hayvanlarda SD grubundaki hayvanlara kıyasla bir artma görülse de gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Öğrenme ve bellek sürecinde etkinliği gösterilmiş sinyal yollarından biri olan CREB'in (27), SD grubundaki hayvanlarda düşüş eğiliminde olması uyku yoksunluğunun öğrenme ve belleği olumsuz yönde etkilediğini destekler niteliktedir. Ayrıca tedavi gruplarındaki hayvanların SD

gruplarındaki hayvanlara kıyasla CREB düzeylerinde görülen artma eğilimi de telmisartanın öğrenme üzerindeki etkinliğini desteklemektedir. PFC CREB düzeyleri gruplar arası karşılaştırıldığında SD+Tel3 grubundaki hayvanlarda SD grubundaki hayvanlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü. Ayrıca her ne kadar istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmamış olsa da SD grubu hayvanların CREB düzeylerinde KONTROL grubuna kıyasla bir düşüş gözlemlendi. Çalışmamızın sonucunda PFC CREB düzeyleri ile öğrenmeyi gösteren Morris su labirenti testinin 4.günü arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir korelasyon görüldü. Kronik REM uyku yoksunluğu yapılan hayvanlarda gözlenen platformu bulma sürelerindeki artışa CREB düzeylerindeki azalma eşlik etmiştir. SD+Tel1 grubundaki hayvanların 4.günde platformu bulma sürelerindeki anlamlı azalma CREB sinyal molekülü düzeyindeki artışla eşleniktir. Ayrıca hipokampus BDNF ve CREB düzeyleri arasında da pozitif bir korelasyon olduğu görüldü. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada anjiyotensin reseptör inhibisyonunun BDNF yapımındaki artışla ilişkili olduğu gösterilmiştir ve bu durumun beyin RAS sisteminin yeni ilaç geliştirmedeki önemini vurgulamaktadır (314).

Bir serin/treonin kinaz olan GSK-3 β , merkezi sinir sisteminde bol miktarda bulunmakta ve çok sayıda hücre fonksiyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır (28). Ayrıca GSK-3 β 'nın inhibisyonunun nöroprotektif olduğu ve anjiyotensin II reseptör blokörü olan telmisartanın, inaktif GSK-3 β düzeylerini arttırdığı yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (28). Çalışmamızda hipokampus GSK-3 β düzeyleri değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Ancak veriler incelendiğinde hipokampus dokularındaki GSK-3 β düzeylerinin tedavi verilen SD+Tel1 ve SD+Tel3 gruplarında KONTROL ve SD grubuna göre azalma eğiliminde olduğu görüldü. Çalışmamızdaki PFC GSK-3 β düzeyleri değerlendirildiğinde ise SD+Tel3 grubundaki hayvanlarda SD grubundaki hayvanlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü. Ayrıca PFC GSK-3 β düzeyleri ile öğrenmeyi gösteren Morris su labirenti testinin 4.günü arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir korelasyon saptandı. Platformu bulma sürelerindeki azalma 1mg/kg ve 3mg/kg telmisartan uygulanan hayvanların PFC dokularındaki GSK-3 β düzeylerindeki azalma ile ilişkilidir. Bu sonuç, nöronların hayatta kalmasını destekleyen ve besin yoksunluğu nedeniyle fosforilasyonu baskılanan Akt/GSK-3 β sinyal yolunun serebellar granül hücrelerinde telmisartan tedavisi ile tersine çevrildiğini, Akt aktivitesinde bir artma ve GSK-3 β aktivitesinde bir azalma, hücre kültürü düzeyinde gösteren çalışmadaki sonuçla

tutarlıdır (28). Yapmış olduğumuz bu çalışma kronik uyku yoksunluğu yapılmış ve öğrenme-hafıza bozukluğu gelişmiş sıçanlardaki anjiotensin II reseptör inhibisyonunun GSK-3 β sinyal yolağı üzerindeki etkisini araştıran ilk çalışmadır.

Monokarboksilat taşıyıcılar (MCT'ler), beyin monokarboksilatlarının (laktat gibi) nöronlara taşınmasını sağlayan sistemlerdir (31). Merkezi sinir sisteminde bulunan MCT'lerden nöronlarda ve astrositlerde yapılan MCT2'nin, nöronlara laktat alımında rol oynadığı önceki çalışmalarda gösterilmiştir (32). Daha önce yapılmış bir başka çalışmada ise orta serebral arter oklüzyonu gerçekleştirilmiş sıçan beyinlerindeki MCT-2 düzeylerinin kontrol gruplarına kıyasla azaldığı tespit edilmiştir (289). Ayrıca 1 mg/kg dozda telmisartanın tedavi ajanı olarak uygulandığı bir çalışmada sıçanlarda travmatik beyin hasarı geliştirilmiş ve sonrasında tedavi verilen ve verilmeyen grupların hipokampus ve PFC dokularında MCT-2 düzeyleri incelenmiştir. Sonuçlarda telmisartan verilen gruplardaki hipokampus ve PFC dokularının MCT-2 düzeylerinin tedavi verilmeyen gruba kıyasla artış eğiliminde olduğu gözlenmiştir (290). Bizim çalışmamızda hipokampus MCT-2 düzeyleri gruplar arasında karşılaştırıldığında SD+Tel1 grubundaki hayvanların hipokampus MCT-2 düzeylerinde SD grubundaki hayvanlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış görüldü. Ayrıca hipokampus MCT-2 düzeyleri ile morris su labirenti testinin 4.gün performansı arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir korelasyon görüldü. Bizim çalışmamızda değerlendirilen PFC MCT-2 düzeyleri gruplar arası karşılaştırıldığında SD+Tel1 grubundaki hayvanların PFC MCT-2 düzeylerinde SD grubundaki hayvanlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış görüldü. Bu durum telmisartan ile Ang II inhibisyonunun MCT-2 yolu ile nöronlara enerji desteğini sağlayarak öğrenme performansını artırdığını kanıtlamaktadır. Ayrıca hipokampus ve PFC MCT-2 düzeyleri arasında yapılan korelasyon analizinde de istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir korelasyon saptandı. Bu sonuçlar SD'nin nöral hasara neden olarak nöronlara laktat alımında görevli olan MCT-2 düzeylerinde düşmeye neden olduğunu ve bu durumun tedavi ajanı olarak kullanılan telmisartanın 1mg/kg dozu ile geri çevrilebildiğini gösterdi. Çalışmamız GSK-3 β 'nın yanı sıra kronik uyku yoksunluğu yapılmış ve öğrenme-hafıza bozukluğu gelişmiş sıçanlarda anjiotensin II reseptör inhibisyonu sonrası hipokampus ve PFC MCT-2 düzeylerini belirleyen ilk çalışmadır.

Laktat dehidrogenaz (LDH), laktatın piruvata geri dönüşümlü dönüşümünü katalize eden bir enzimdir. LDH-1 ise, büyük ölçüde beyinde bulunan bir LDH izoformudur

(29). Serumdaki LDH düzeylerinin sinir hasarının şiddeti ile orantılı olduğu yapılan bir çalışma ile kanıtlanmıştır (30). Telmisartan ve LDH ilişkisine bakıldığında ise yapılan bir çalışma anjiotensin II reseptör blokörü telmisartan kullanımının (1-10 µmol/L) LDH salınımını engellediğini kanıtlamıştır (28). Bizim çalışmamızda da hipokampus ve PFC LDH düzeyleri değerlendirildi ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ancak SD grubundaki hayvanların hipokampus LDH düzeylerinin KONTROL grubundaki hayvanlara kıyasla artma ve SD+Tel3 grubundaki hayvanların hipokampus LDH düzeylerinin SD grubundaki hayvanlara kıyasla azalma eğiliminde olduğu görüldü. Bu sonuçlar SD'nin nöral hasar oluşumuna bağlı olarak hipokampus LDH salınımını artırabileceği ve bu durumun tedavi ajanı olarak kullanılan telmisartanın 3mg/kg dozu ile geri çevrilebileceğini düşündürmektedir. Bizim çalışmamızda değerlendirilen PFC LDH düzeyleri gruplar arası karşılaştırıldığında hipokampus dokusu LDH düzeylerine benzer şekilde SD grubundaki hayvanlarda PFC LDH düzeylerinin KONTROL grubundaki hayvanlara kıyasla artma ve SD+Tel1 grubundaki hayvanlarda PFC LDH düzeylerinin SD grubundaki hayvanlara kıyasla azalma eğiliminde olduğu görüldü. Bu sonuçlar SD'nin nöral hasar oluşumuna bağlı olarak PFC LDH salınımını artırabileceği ve bu durumun tedavi ajanı olarak kullanılan telmisartanın 1mg/kg dozu ile geri çevrilebileceğini düşündürmektedir. Yapmış olduğumuz bu çalışma kronik uyku yoksunluğu yapılmış ve öğrenme-hafıza bozukluğu gelişmiş sıçanlardaki anjiotensin II reseptör inhibisyonunun hipokampus ve PFC LDH düzeyleri üzerindeki etkisini araştıran ilk çalışmadır.

Yapılan çalışmalar, 72 veya 96 saatlik toplam/kısmi uyku yoksunluğunun sıçanlarda plazma kortikosteron düzeylerini artırdığını göstermektedir (315,316) Yapılan çalışmalar 72 veya 96 saatin aksine, 21 günlük kronik uyku yoksunluğu sonrası bakılan plazma kortikosteron düzeylerinde ise herhangi bir değişiklik olmadığını kanıtlamıştır (316–318). Bizim çalışmamızda da yapılan çalışmalarla uyumlu olarak MMPM yöntemi kullanılarak oluşturulan 21 günlük kronik uyku yoksunluğu sonrası plazma kortikosteron (CORT) seviyeleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermedi.

Oksidatif stresi doku düzeyinde değerlendiren parametrelerden biri olan MDA, lipid peroksidasyonunun bir göstergesidir. REM uykusu yoksunluğunun beyindeki tüm yapılarda oksidatif strese neden olduğu bilinmektedir. Telmisartan ve MDA düzeyleri arasındaki ilişki araştırıldığında ise telmisartanın antioksidan etkinliğe sahip olduğu yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır (319,320). Yapmış olduğumuz bu çalışmada beyin ve PFC

dokularında oksidatif stresin bir göstergesi olan MDA düzeyleri ölçüldü. Sonuçlar beyin MDA düzeyleri açısından gruplar arasında değerlendirildiğinde SD+Tel3 grubundaki hayvanlarda SD grubundaki hayvanlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi. Bu sonuçlar daha önce yapılmış çalışmalarla karşılaştırıldığında tutarlıdır (319,320). PFC MDA düzeyleri gruplar arası karşılaştırıldığında SD+Tel1 ve SD+Tel3 gruplarındaki hayvanların PFC MDA düzeyleri SD grubundaki hayvanlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldı. Bu sonuç uyku yoksunluğunun oksidatif strese neden olduğunu kanıtlar niteliktedir. Anjiyosin II ROS oluşumuna neden olan ve oksidatif stres artışında etkili bir enzim olan NADPH oksidazı aktive edebilmektedir (321). Çok sayıda çalışma, diyabetik sıçanlarda, AT1R'nin ROS üretimindeki artış ile NADPH oksidazı aktive ederek retinada nörodejenerasyonu tetiklediğini göstermiştir (322). Telmisartan tedavileri ile diyabetik retinada oksidatif stresin önleniği bildirilmektedir. Bulgularımız, telmisartanın beyindeki antioksidan etkilerini gösteren diğer çalışmalarla desteklenmektedir (285). Ayrıca oksidatif stresi gösteren parametrelerden olan MDA düzeyleri ile GSK-3 β düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir korelasyon saptandı. PFC'de oksidatif stres artışı ile birlikte GSK-3 β artışı gözlemlendi. Bu durum kronik uyku yoksunluğunun oksidatif stres ve GSK-3 β düzeylerini artırarak öğrenme performansını azalttığını düşündürmektedir.

Kronik uyku yoksunluğu yapılmış olan çalışmamızda antioksidan parametrelerden biri olan GSH düzeyleri beyin ve PFC dokularında ölçüldü. Telmisartanın antioksidan etkinlik gösterdiği daha önceki çalışmalarda bildirilmiş olmakla birlikte antioksidan bir parametre olan GSH ile de pozitif yönde bir etkisi bulunmaktadır (320). Gruplar arası karşılaştırmalar yapıldığında beyin dokusu GSH düzeylerinde SD+Tel3 grubundaki hayvanlarda KONTROL ve SD grubu hayvanlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü. PFC dokusu GSH düzeyleri gruplar arası karşılaştırıldığında ise SD ve SD+Tel1 grubundaki hayvanların PFC GSH düzeylerinde KONTROL grubu hayvanlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi. SD+Tel3 grubu hayvanların PFC GSH düzeyleri ise SD ve SD+Tel1 grubundaki hayvanlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttı. Ayrıca PFC GSH düzeyleri ile belleğin göstergesi olan *probe trail* testinin sonuçları karşılaştırıldığında bu iki değer arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir korelasyon olduğu gözlemlendi. Uyku yoksunluğuna bağlı olarak GSH düzeylerinde gözlenen azalma, kronik uyku yoksunluğunun beyindeki antioksidan etkinliği azaltarak belleği

olumsuz etkilediğini kanıtlamaktadır. Sonuçlarımız paradoksal uyku yoksunluğu yapılan farelerde PFC GSH düzeylerindeki azalmanın gösterildiği çalışma ile de tutarlılık göstermektedir (323). Çalışmamızda gösterilen antioksidan etkinlik telmisartan kullanılan diyabetik sıçanlarda renal oksidatif stresin azalarak diyabetik nefropatinin iyileştiğini gösteren başka bir çalışmada da kanıtlanmıştır (320).

Nitrik oksit (NO), serebral kan akışında (324), nöronal aktivitenin modülasyonunda (325) ve beyin inflamatuvar yollarının kontrolünde (326) hayati rol oynayan bir nörotransmitterdir. L-arginin'den 3 nitrik oksit sentaz (NOS), yani nNOS, eNOS ve iNOS tarafından sentezlenir ve nöronlarda, endotel hücrelerinde, makrofajlarda ve glial hücrelerde üretilir (327). NO, çok kısa (birkaç saniye) yarı ömre sahip olduğundan doğrudan ölçümü oldukça zordur. Oldukça reaktif bir moleküldür ve oksijen varlığında hızla nitrat (NO_3^-) ve nitrite (NO_2^-) metabolize olur. Nitrat, NO'nun kararlı, uzun ömürlü bir son ürünüdür ve NO üretiminin güvenilir bir biyobelirteçi olarak kullanılır (328). Nitrat, oksidan parametrelerden biridir. Bizim çalışmamızda da uyku yoksunluğu sonrası beyin nitrat düzeyleri incelendi. Gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda SD ve SD+Tel3 grubundaki hayvanların beyin nitrat düzeyleri KONTROL grubundaki hayvanlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış gösterdi. Bu durum uyku yoksunluğunun yaratmış olduğu stresin etkilerini kanıtlar niteliktedir. Ancak tedavi olarak kullanılan 1mg/kg ve 3mg/kg telmisartan dozları oksidatif durumun bir göstergesi olan nitrat düzeylerinde herhangi bir düşüş sağlamadı. Bu durum bize daha önce yapılmış bir çalışma temel alınarak telmisartanın bu yolda tek başına değil de kombine tedavilerle birlikte etkili olabileceğini düşündürdü (329).

Vücudun ana enerji deposu olan glikojen, uyanıklık dönemlerinde tükenir (57). Glikojen adenozeine parçalanırken, hücre dışı adenozein seviyeleri bazal ön beyinde birikmeye başlar (58). Uyku yoksunluğu sonrası telafi edilen uyku ile de beyin glikojen depoları yenilenir (57,59). Bu nedenle uyku yoksunluğu oluşturduğumuz çalışmamızda beyin glikojen düzeylerini araştırdık. Beyin glikojen düzeyleri, gruplar arası karşılaştırıldığında SD+Tel1 grubundaki hayvanlarda SD grubundaki hayvanlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdi. Uyku yoksunluğu oluşturduğumuz SD grubunda ise beyin glikojen düzeylerinin, KONTROL grubuna kıyasla düşüş eğiliminde olduğu görüldü. Bu sonuç uyanıklık durumunda azalan beyin glikojen düzeylerinin uyku ile birlikte eski seviyelerine döndüğünü kanıtlar niteliktedir. Daha önce yapılmış bir çalışmada GSK-3'ün glikojen sentaz enzimini inhibe ederek glikojen sentezini engellediği

gösterilmiştir (288). Ayrıca anjiotensin II reseptör blokörü olan telmisartan ile GSK-3 β 'nın bloke edilerek, inaktif GSK-3 β seviyesini arttırdığı yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (28). Yaptığımız çalışmada uyku yoksunluğu sonrası tedavi ajanı olarak kullandığımız 1mg/kg telmisartan dozunun beyin glikojen düzeylerinde SD grubuna kıyasla anlamlı düzeyde artış sağladığı görüldü. Bu sonuç, daha önce bahsedilen ve telmisartan kullanımının GSK-3 β seviyelerini doku düzeyinde düşürmüş olduğunu gösteren sonuçlarımızla birbirini tamamlar niteliktedir.



6. SONUÇLAR

Kronik REM uyku yoksunluğu gerçekleştirdiğimiz çalışmamız sonrası elde ettiğimiz veriler, beyin dokusunda oksidatif strese artma ve nörotrofik sinyal mekanizmalarında azalma olduğunu göstererek kronik REM uyku yoksunluğunun öğrenme ve bellek üzerinde olumsuz etkilerinin olduğunu kanıtlamıştır. Kronik REM uyku yoksunluğu sonrası hipokampus ve PFC dokularının BDNF ve CREB düzeylerinde azalma, PFC ve beyin dokularının MDA ve nitrat düzeylerinde artma gözlenmiştir. Ayrıca antioksidan etkinlik gösteren ve çalışmamızda iki farklı dozda kullanılan anjiotensin II reseptör blokörü telmisartanın REM uyku yoksunluğu sonrası gelişen öğrenme ve bellek hasarı üzerindeki etkileri daha önce araştırılmamış olmakla birlikte bu hasarın GSK-3 β , CREB, BDNF sinyal molekülleri aracılığıyla geri döndüğü belirlenmiştir. Bununla birlikte yapmış olduğumuz çalışma kronik uyku yoksunluğu yapılmış ve öğrenme-hafıza bozukluğu gelişmiş sıçanlarda anjiotensin II reseptör inhibisyonu sonrası hipokampus ve PFC dokularında GSK-3 β , MCT-2 ve LDH düzeylerini belirleyen ilk çalışmadır.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında beyin enerji metabolizmasını gösteren parametrelerden biri olan ve beyin dokusuna laktat taşınmasında görevli MCT2 düzeylerinin kronik REM uyku yoksunluğu ile azaldığı ve bu durumun muhtemel nöronal hasar sonrası öğrenme ve bellekte bozulmaya yol açtığı kanıtlanmıştır. AT1RB telmisartan kullanımının ise bu etkileri tersine çevirerek kronik REM uyku yoksunluğu sonrası gelişen öğrenme ve bellek hasarını iyileştirmede etkili olduğu gösterilmiştir.

7. KAYNAKLAR

1. Nabaee E, Kesmati M, Shahriari A, Khajehpour L, Torabi M. Cognitive and hippocampus biochemical changes following sleep deprivation in the adult male rat. *Biomed Pharmacother.* 2018 Aug;104:69–76.
2. Diekelmann S, Born J. The memory function of sleep. *Nat Rev Neurosci.* 2010 Feb 4;11(2):114–26.
3. Miyazaki S, Liu C-Y, Hayashi Y. Sleep in vertebrate and invertebrate animals, and insights into the function and evolution of sleep. *Neurosci Res.* 2017 May;118:3–12.
4. Rajizadeh MA, Esmaeilpour K, Masoumi-Ardakani Y, Bejeshk MA, Shabani M, Nakhaee N, et al. Voluntary exercise impact on cognitive impairments in sleep-deprived intact female rats. *Physiol Behav.* 2018 May;188:58–66.
5. Saadati H, Sheibani V, Esmaeili-Mahani S, Darvishzadeh-Mahani F, Mazhari S. Prior regular exercise reverses the decreased effects of sleep deprivation on brain-derived neurotrophic factor levels in the hippocampus of ovariectomized female rats. *Regul Pept.* 2014 Nov;194–195:11–5.
6. Marshall L, Helgadóttir H, Mölle M, Born J. Boosting slow oscillations during sleep potentiates memory. *Nature.* 2006 Nov 1;444(7119):610–3.
7. Nasehi M, Mosavi-Nezhad S-M, Khakpai F, Zarrindast M-R. The role of omega-3 on modulation of cognitive deficiency induced by REM sleep deprivation in rats. *Behav Brain Res.* 2018 Oct;351:152–60.
8. Siegel JM. The REM Sleep-Memory Consolidation Hypothesis. *Science (80-).* 2001 Nov 2;294(5544):1058–63.
9. Lucero MA. Lengthening of REM sleep duration consecutive to learning in the rat. *Brain Res.* 1970 Jun;20(2):319–22.
10. Boyce R, Glasgow SD, Williams S, Adamantidis A. Causal evidence for the role of REM sleep theta rhythm in contextual memory consolidation. *Science (80-).* 2016 May 13;352(6287):812–6.

11. Li W, Ma L, Yang G, Gan W-B. REM sleep selectively prunes and maintains new synapses in development and learning. *Nat Neurosci*. 2017 Mar 16;20(3):427–37.
12. Yang G, Lai CSW, Cichon J, Ma L, Li W, Gan W-B. Sleep promotes branch-specific formation of dendritic spines after learning. *Science* (80). 2014 Jun 6;344(6188):1173-8.
13. Malenka RC, Bear MF. LTP and LTD. *Neuron*. 2004 Sep;44(1):5–21.
14. Hajali V, Sheibani V, Mahani SE, Hajializadeh Z, Shabani M, Aliabadi HP, et al. Ovariectomy does not exacerbate the negative effects of sleep deprivation on synaptic plasticity in rats. *Physiol Behav*. 2015 May;144:73–81.
15. Saadati H, Sheibani V, Esmaeili-Mahani S, Hajali V, Mazhari S. Prior regular exercise prevents synaptic plasticity impairment in sleep deprived female rats. *Brain Res Bull*. 2014 Sep;108:100–5.
16. Zagaar M, Dao A, Alhaider I, Alkadhi K. Regular treadmill exercise prevents sleep deprivation-induced disruption of synaptic plasticity and associated signaling cascade in the dentate gyrus. *Mol Cell Neurosci*. 2013 Sep;56:375–83.
17. Stevens RG, Brainard GC, Blask DE, Lockley SW, Motta ME. Breast cancer and circadian disruption from electric lighting in the modern world. *CA Cancer J Clin*. 2014 May;64(3):207–18.
18. Villafuerte G, Miguel-Puga A, Murillo Rodríguez E, Machado S, Manjarrez E, Arias-Carrión O. Sleep deprivation and oxidative stress in animal models: A systematic review. *Oxid Med Cell Longev*. 2015;2015:1–15.
19. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Effect of short sleep duration on daily activities--United States, 2005-2008. Vol. 60, *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*. 2011.
20. Alzoubi KH, Khabour OF, Albawaana AS, Alhashimi FH, Athamneh RY. Tempol prevents chronic sleep-deprivation induced memory impairment. *Brain Res Bull*. 2016 Jan;120:144–50.

21. Castro-Diehl C, Diez Roux A V, Redline S, Seeman T, McKinley P, Sloan R, et al. Sleep Duration and Quality in Relation to Autonomic Nervous System Measures: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Sleep*. 2016 Nov 1;39(11):1927–40.
22. Kadoya M, Koyama H. Sleep, Autonomic Nervous Function and Atherosclerosis. *Int J Mol Sci*. 2019 Feb 13;20(4):794.
23. Acheson A, Conover JC, Fandl JP, DeChiara TM, Russell M, Thadani A, et al. A BDNF autocrine loop in adult sensory neurons prevents cell death. *Nature*. 1995 Mar;374(6521):450–3.
24. Torabi-Nami M, Nasehi M, Razavi S, Zarrindast MR. Aversive Memory, Anxiety-Related Behaviors, and Serum Neurochemical Levels in a Rat Model of Labored Sleep Loss. *Shiraz E-Medical J*. 2014 Jul 20;15(3).
25. Abd Rashid N, Hapidin H, Abdullah H, Ismail Z, Long I. Nicotine-prevented learning and memory impairment in REM sleep-deprived rat is modulated by DREAM protein in the hippocampus. *Brain Behav*. 2017 Jun;7(6):e00704.
26. Zhang L, Zhang H-Q, Liang X-Y, Zhang H-F, Zhang T, Liu F-E. Melatonin ameliorates cognitive impairment induced by sleep deprivation in rats: Role of oxidative stress, BDNF and CaMKII. *Behav Brain Res*. 2013 Nov;256:72–81.
27. Guzman-Marin R, Suntsova N, Methippara M, Greiffenstein R, Szymusiak R, McGinty D. Sleep deprivation suppresses neurogenesis in the adult hippocampus of rats. *Eur J Neurosci*. 2005 Oct;22(8):2111–6.
28. Pang T, Sun L, Wang T, Jiang Z, Liao H, Zhang L. Telmisartan protects central neurons against nutrient deprivation-induced apoptosis in vitro through activation of PPAR γ and the Akt/GSK-3 β pathway. *Acta Pharmacol Sin*. 2014 Jun 5;35(6):727–37.
29. Suresh K, Shankar V, Dayanand CD. Impact of REM sleep deprivation and sleep recovery on circulatory neuroinflammatory markers. *Sleep Sci*. 2021;14(1):64–8.
30. Bakay RAE, Ward AA. Enzymatic changes in serum and cerebrospinal fluid in neurological injury. *J Neurosurg*. 1983 Jan;58(1):27–37.

31. Merezhinskaya N, Fishbein WN. Monocarboxylate transporters: Past, present, and future. *Histol Histopathol.* 2009;24(2):243–64.
32. Pierre K, Pellerin L. Monocarboxylate transporters in the central nervous system: distribution, regulation and function. *J Neurochem.* 2005 Jul;94(1):1–14.
33. Forrester SJ, Booz GW, Sigmund CD, Coffman TM, Kawai T, Rizzo V, et al. Angiotensin II Signal Transduction: An Update on Mechanisms of Physiology and Pathophysiology. *Physiol Rev.* 2018 Jul 1;98(3):1627–738.
34. Villapol S, Saavedra JM. Neuroprotective Effects of Angiotensin Receptor Blockers. *Am J Hypertens.* 2015 Mar;28(3):289–99.
35. Rodriguez-Perez AI, Borrajo A, Rodriguez-Pallares J, Guerra MJ, Labandeira-Garcia JL. Interaction between NADPH-oxidase and Rho-kinase in angiotensin II-induced microglial activation. *Glia.* 2015 Mar;63(3):466–82.
36. Saavedra JM. Angiotensin II AT1 Receptor Blockers Ameliorate Inflammatory Stress: A Beneficial Effect for the Treatment of Brain Disorders. *Cell Mol Neurobiol.* 2012 Jul 22;32(5):667–81.
37. Kwon HS, Ha J, Kim JY, Park H-H, Lee E-H, Choi H, et al. Telmisartan Inhibits the NLRP3 Inflammasome by Activating the PI3K Pathway in Neural Stem Cells Injured by Oxygen-Glucose Deprivation. *Mol Neurobiol.* 2021 Apr 6;58(4):1806–18.
38. Khallaf WAI, Messiha BAS, Abo-Youssef AMH, El-Sayed NS. Protective effects of telmisartan and tempol on lipopolysaccharide-induced cognitive impairment, neuroinflammation, and amyloidogenesis: possible role of brain-derived neurotrophic factor. *Can J Physiol Pharmacol.* 2017 Jul;95(7):850–60.
39. Saravanan PB, Shanmuganathan M V., Ramanathan M. Telmisartan attenuated LPS-induced neuroinflammation in human IMR-32 neuronal cell line via SARM in AT1R independent mechanism. *Life Sci.* 2015 Jun;130:88–96.
40. Yang R-H, Hu S-J, Wang Y, Zhang W-B, Luo W-J, Chen J-Y. Paradoxical sleep deprivation impairs spatial learning and affects membrane excitability and mitochondrial protein in the hippocampus. *Brain Res.* 2008 Sep;1230:224–32.

41. Machado RB, Hipólido DC, Benedito-Silva AA, Tufik S. Sleep deprivation induced by the modified multiple platform technique: quantification of sleep loss and recovery. *Brain Res.* 2004 Apr;1004(1–2):45–51.
42. Moruzzi G, Magoun HW. Brain stem reticular formation and activation of the EEG. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1949;1(1–4):455–73.
43. Starzl TE, Taylor CW, Magoun HW. Ascending conduction in reticular activating system, with special reference to the diencephalon. *J Neurophysiol.* 1951 Nov 1;14(6):461–77.
44. Jones BE. Arousal systems. *Front Biosci.* 2003;8(6):1074.
45. Saper CB. Organization of cerebral cortical afferent systems in the rat. II. Hypothalamocortical projections. *J Comp Neurol.* 1985 Jul 1;237(1):21–46.
46. Saper CB, Chou TC, Scammell TE. The sleep switch: hypothalamic control of sleep and wakefulness. *Trends Neurosci.* 2001 Dec;24(12):726–31.
47. Schwartz J, Roth T. *Neurophysiology of Sleep and Wakefulness: Basic Science and Clinical Implications.* *Curr Neuroparmacol.* 2008 Dec 1;6(4):367–78.
48. Hallanger AE, Levey AI, Lee HJ, Rye DB, Wainer BH. The origins of cholinergic and other subcortical afferents to the thalamus in the rat. *J Comp Neurol.* 1987 Aug 1;262(1):105–24.
49. Saper CB, Scammell TE, Lu J. Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. *Nature.* 2005 Oct 27;437(7063):1257–63.
50. Aston-Jones G, Bloom F. Activity of norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats anticipates fluctuations in the sleep-waking cycle. *J Neurosci.* 1981 Aug 1;1(8):876–86.
51. Fuller PM, Gooley JJ, Saper CB. Neurobiology of the Sleep-Wake Cycle: Sleep Architecture, Circadian Regulation, and Regulatory Feedback. *J Biol Rhythms.* 2006 Dec 29;21(6):482–93.
52. Mileykovskiy BY, Kiyashchenko LI, Siegel JM. Behavioral Correlates of Activity in Identified Hypocretin/Orexin Neurons. *Neuron.* 2005 Jun;46(5):787–98.

53. Lee MG. Cholinergic Basal Forebrain Neurons Burst with Theta during Waking and Paradoxical Sleep. *J Neurosci*. 2005 Apr 27;25(17):4365–9.
54. Achermann P. Mathematical models of sleep regulation. *Front Biosci*. 2003;8(6):1064.
55. McCarley RW. Neurobiology of REM and NREM sleep. *Sleep Med*. 2007 Jun;8(4):302–30.
56. Benington JH, Kodali SK, Heller HC. Stimulation of A1 adenosine receptors mimics the electroencephalographic effects of sleep deprivation. *Brain Res*. 1995 Sep;692(1–2):79–85.
57. Kong J, Shepel PN, Holden CP, Mackiewicz M, Pack AI, Geiger JD. Brain Glycogen Decreases with Increased Periods of Wakefulness: Implications for Homeostatic Drive to Sleep. *J Neurosci*. 2002 Jul 1;22(13):5581–7.
58. Porkka-Heiskanen T, Strecker R., McCarley R. Brain site-specificity of extracellular adenosine concentration changes during sleep deprivation and spontaneous sleep: an in vivo microdialysis study. *Neuroscience*. 2000 Aug;99(3):507–17.
59. Shepel PN, Ramonet D, Stevens P, Geiger JD. Purine level regulation during energy depletion associated with graded excitatory stimulation in brain. *Neurol Res*. 2005 Mar 19;27(2):139–48.
60. Chamberlin NL, Arrigoni E, Chou TC, Scammell TE, Greene RW, Saper CB. Effects of adenosine on gabaergic synaptic inputs to identified ventrolateral preoptic neurons. *Neuroscience*. 2003 Jul;119(4):913–8.
61. Dijk D, Czeisler C. Contribution of the circadian pacemaker and the sleep homeostat to sleep propensity, sleep structure, electroencephalographic slow waves, and sleep spindle activity in humans. *J Neurosci*. 1995 May 1;15(5):3526–38.
62. Reppert SM, Weaver DR. Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*. 2002 Aug;418(6901):935–41.
63. Cassone VM, Chesworth MJ, Armstrong SM. Entrainment of rat circadian rhythms by daily injection of melatonin depends upon the hypothalamic suprachiasmatic nuclei. *Physiol Behav*. 1986 Jan;36(6):1111–21.

64. Edgar D, Dement W, Fuller C. Effect of SCN lesions on sleep in squirrel monkeys: evidence for opponent processes in sleep-wake regulation. *J Neurosci*. 1993 Mar 1;13(3):1065–79.
65. Bathory E, Tomopoulos S. Sleep Regulation, Physiology and Development, Sleep Duration and Patterns, and Sleep Hygiene in Infants, Toddlers, and Preschool-Age Children. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*. 2017 Feb;47(2):29–42.
66. Jiang F. Sleep and Early Brain Development. *Ann Nutr Metab*. 2019;75(Suppl. 1):44–54.
67. Borb AA, Achermann P. Sleep Homeostasis and Models of Sleep Regulation. *J Biol Rhythms*. 1999 Dec 29;14(6):559–70.
68. Sulaman BA, Wang S, Tyan J, Eban-Rothschild A. Neuro-orchestration of sleep and wakefulness. *Nat Neurosci*. 2022 Dec 29;
69. Ağar Erdal, editor. İnsan Fizyolojisi. 1st ed. 2021. 627 p.
70. Berry RB, Brooks R, Gamaldo CE, Harding SM, Marcus CL VB and TM. The AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events: Rules, Terminology and Technical Specifications. 2012.
71. Joyce Schenkein. Can you have spindles in REM sleep? [Internet]. 2021. Available from: <https://qr.ae/prjLn9>
72. Krystle Minkoff. Sleep: The Evolution Of Sleep Medicine In Neurology (Part One) [Internet]. 2016. Available from: [https://www.aastweb.org/hubfs/A2Zzz/A2Zz-December 2016/6 - Sleep_ The Evoloution of.pdf](https://www.aastweb.org/hubfs/A2Zzz/A2Zz-December%202016/6-Sleep_The%20Evolution%20of.pdf)
73. Şahin, L., & Aşçıoğlu M. Uyku ve uykunun düzenlenmesi. *Sağlık Bilim Derg*. 2013;93–8.
74. Saygın, M., Özgüner M. Uykunun mikro yapısı ve mimarisi. *Uyku Bülteni*. 2020;19–29.
75. Jones BE. Principles and Practice of Sleep Medicine. 4th ed. Kryger MH, Roth T DW, editor. Elsevier Saunders; 2005. 136–153 p.
76. Öztürk L. Uyku ve uyanıklığın güncel fizyolojisi. *Türkiye Klin J Pulm Med-Special Top*. 2008;5–10.

77. Berry RB WM. Sleep Medicine Pearls. 3rd ed. Elsevier; 2015. 10–14 p.
78. Blumberg MS, Lesku JA, Libourel P-A, Schmidt MH, Rattenborg NC. What Is REM Sleep? *Curr Biol*. 2020 Jan;30(1):R38–49.
79. Peever J, Fuller PM. The Biology of REM Sleep. *Curr Biol*. 2017 Nov;27(22):R1237–48.
80. Callaway CW, Lydic R, Baghdoyan HA, Hobson JA. Pontogeniculooccipital waves: spontaneous visual system activity during rapid eye movement sleep. *Cell Mol Neurobiol*. 1987 Jun;7(2):105–49.
81. Carskadon MA, Dement WC. Distribution of REM sleep on a 90 minute sleep-wake schedule. *Sleep*. 1980;2(3):309–17.
82. Weitzman ED, Czeisler CA, Zimmerman JC, Ronda JM. Timing of REM and stages 3 + 4 sleep during temporal isolation in man. *Sleep*. 1980;2(4):391–407.
83. Memar P, Faradji F. A Novel Multi-Class EEG-Based Sleep Stage Classification System. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng*. 2018 Jan;26(1):84–95.
84. Malik J, Lo Y-L, Wu H. Sleep-wake classification via quantifying heart rate variability by convolutional neural network. *Physiol Meas*. 2018 Aug 20;39(8):085004.
85. Patel AK, Reddy V, Shumway KR AJ. Physiology, Sleep Stages. StatPearls. StatPearls Publishing; 2022.
86. Kushida CA, editor. Sleep Deprivation. 1st ed. CRC Press; 2004.
87. Kvetňanský R, Pacák K, Fukuhara K, Viskupič E, Hřemagalur B, Nankova B, et al. Sympathoadrenal System in Stress: Interaction with the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical System. *Ann N Y Acad Sci*. 1995 Dec;771(1):131–58.
88. Herman JP, McKlveen JM, Ghosal S, Kopp B, Wulsin A, Makinson R, et al. Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Stress Response. *Compr Physiol*. 2016 Mar 15;603–21.
89. Son GH, Cha HK, Chung S, Kim K. Multimodal Regulation of Circadian Glucocorticoid Rhythm by Central and Adrenal Clocks. *J Endocr Soc*. 2018 May 1;2(5):444–59.

90. Kalsbeek A, van der Spek R, Lei J, Endert E, Buijs RM, Fliers E. Circadian rhythms in the hypothalamo–pituitary–adrenal (HPA) axis. *Mol Cell Endocrinol.* 2012 Feb;349(1):20–9.
91. Späth-Schwalbe E, Gofferje M, Kern W, Born J, Fehm HL. Sleep disruption alters nocturnal ACTH and cortisol secretory patterns. *Biol Psychiatry.* 1991 Mar;29(6):575–84.
92. Follenius M, Brandenberger G, Bandesapt JJ, Libert JP, Ehrhart J. Nocturnal Cortisol Release in Relation to Sleep Structure. *Sleep.* 1992 Jan;15(1):21–7.
93. Suchecki D, Tufik S. Social stability attenuates the stress in the modified multiple platform method for paradoxical sleep deprivation in the rat. *Physiol Behav.* 2000 Jan;68(3):309–16.
94. Miller MA, Cappuccio FP. Biomarkers of cardiovascular risk in sleep-deprived people. *J Hum Hypertens.* 2013 Oct 1;27(10):583–8.
95. Mezick EJ, Matthews KA, Hall MH, Richard Jennings J, Kamarck TW. Sleep duration and cardiovascular responses to stress in undergraduate men. *Psychophysiology.* 2014 Jan;51(1):88–96.
96. Gangwisch JE. A Review of Evidence for the Link Between Sleep Duration and Hypertension. *Am J Hypertens.* 2014 Oct 1;27(10):1235–42.
97. Joukar S, Ghorbani-Shahrbabaki S, Hajali V, Sheibani V, Naghsh N. Susceptibility to life-threatening ventricular arrhythmias in an animal model of paradoxical sleep deprivation. *Sleep Med.* 2013 Dec;14(12):1277–82.
98. Trinder J, Kleiman J, Carrington M, Smith S, Breen S, Tan N, et al. Autonomic activity during human sleep as a function of time and sleep stage. *J Sleep Res.* 2001 Dec 13;10(4):253–64.
99. Somers VK, Dyken ME, Mark AL, Abboud FM. Sympathetic-Nerve Activity during Sleep in Normal Subjects. *N Engl J Med.* 1993 Feb 4;328(5):303–7.
100. Irwin MR, Ziegler M. Sleep Deprivation Potentiates Activation of Cardiovascular and Catecholamine Responses in Abstinent Alcoholics. *Hypertension.* 2005 Feb;45(2):252–7.

101. Meier-Ewert HK, Ridker PM, Rifai N, Regan MM, Price NJ, Dinges DF, et al. Effect of sleep loss on C-Reactive protein, an inflammatory marker of cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol*. 2004 Feb;43(4):678–83.
102. Dement W. The Effect of Dream Deprivation. *Science* (80-). 1960 Jun 10;131(3415):1705–7.
103. Vogel GW. A Review of REM Sleep Deprivation. *Arch Gen Psychiatry*. 1975 Jun 1;32(6):749.
104. Longordo F, Fan J, Steimer T, Kopp C, Lüthi A. Do Mice Habituate to “Gentle Handling?” A Comparison of Resting Behavior, Corticosterone Levels and Synaptic Function in Handled and Undisturbed C57BL/6J Mice. *Sleep*. 2011 May;34(5):679–81.
105. Meerlo P, Sgoifo A, Suchecki D. Restricted and disrupted sleep: Effects on autonomic function, neuroendocrine stress systems and stress responsivity. *Sleep Med Rev*. 2008 Jun;12(3):197–210.
106. Zamore Z, Veasey SC. Neural consequences of chronic sleep disruption. *Trends Neurosci*. 2022 Sep;45(9):678–91.
107. Jouvet D, Vimont P, Delorme F, Jouvet M. [Study Of Selective Deprivation Of The Paradoxal Sleep Phase In The Cat]. *C R Seances Soc Biol Fil*. 1964;158:756–9.
108. Cohen HB, Dement WC. Sleep: Changes in Threshold to Electroconvulsive Shock in Rats after Deprivation of “Paradoxical” Phase. *Science* (80-). 1965 Dec 3;150(3701):1318–9.
109. Sayan H, Gelir E BA. Brain Stem and Cerebral Cortex Histamine Concentrations in the Rem Sleep Deprived Rats. *Turkish J Med Sci*. 2001;31(6):499–502.
110. Gessa GL, Pani L, Fadda P, Fratta W. Sleep deprivation in the rat: an animal model of mania. *Eur Neuropsychopharmacol*. 1995 Jan;5:89–93.
111. Van Hulzen ZJM, Coenen AML. Paradoxical sleep deprivation and locomotor activity in rats. *Physiol Behav*. 1981 Oct;27(4):741–4.
112. Revel FG, Gottowik J, Gatti S, Wettstein JG, Moreau J-L. Rodent models of insomnia: A review of experimental procedures that induce sleep disturbances. *Neurosci Biobehav Rev*. 2009 Jun;33(6):874–99.

113. Venancio DP, Suchecki D. Prolonged REM sleep restriction induces metabolic syndrome-related changes: Mediation by pro-inflammatory cytokines. *Brain Behav Immun*. 2015 Jul;47:109–17.
114. de Quervain DJ-F, Roozendaal B, McGaugh JL. Stress and glucocorticoids impair retrieval of long-term spatial memory. *Nature*. 1998 Aug;394(6695):787–90.
115. Van Hulzen ZJM, Coenen AML. The pendulum technique for paradoxical sleep deprivation in rats. *Physiol Behav*. 1980 Dec;25(6):807–11.
116. Nunes Jr GP, Tufik S. Validation of the modified multiple platform method (MPM) of paradoxical sleep deprivation in rats. *Sleep Res*. 1994;23(1).
117. Rechtschaffen A, Gilliland MA, Bergmann BM, Winter JB. Physiological Correlates of Prolonged Sleep Deprivation in Rats. *Science* (80-). 1983 Jul 8;221(4606):182–4.
118. Rechtschaffen A, Bergmann BM. Sleep deprivation in the rat by the disk-over-water method. *Behav Brain Res*. 1995 Jul;69(1–2):55–63.
119. Guzmán-Marín R, Suntsova N, Stewart DR, Gong H, Szymusiak R, McGinty D. Sleep Deprivation Reduces Proliferation of Cells in the Dentate Gyrus of the Hippocampus in Rats. *J Physiol*. 2003 Jun;549(2):563–71.
120. Van Luijckelaar ELJM, Coenen AML. Electrophysiological evaluation of three paradoxical sleep deprivation techniques in rats. *Physiol Behav*. 1986 Jan;36(4):603–9.
121. Ferguson J, Dement W. The effect of variations in total sleep time on the occurrence of rapid eye movement sleep in cats. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1967 Jan;22(1):2–10.
122. Datta S, Mavanji V, Ulloor J, Patterson EH. Activation of Phasic Pontine-Wave Generator Prevents Rapid Eye Movement Sleep Deprivation-Induced Learning Impairment in the Rat: A Mechanism for Sleep-Dependent Plasticity. *J Neurosci*. 2004 Feb 11;24(6):1416–27.
123. Kovalzon VM, Tsibulsky VL. Rem-sleep deprivation, stress and emotional behavior in rats. *Behav Brain Res*. 1984 Dec;14(3):235–45.

124. Kim S, Park J. Sleep deprivation, headache, and Fos immunohistochemistry. In: *The Neurobiology, Physiology, and Psychology of Pain*. Elsevier; 2022. p. 203–15.
125. Ağar Erdal, editor. *İnsan Fizyolojisi*. 1st ed. 2021. 608–612 p.
126. Stork O, Welzl H. Memory formation and the regulation of gene expression. *Cell Mol Life Sci*. 1999 Apr 1;55(4):575–92.
127. Squire LR. Memory and the hippocampus: A synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychol Rev*. 1992;99(2):195–231.
128. Correll RE, Scoville WB. Effects of medial temporal lesions on visual discrimination performance. *J Comp Physiol Psychol*. 1965;60(2):175–81.
129. Clark RE, Squire LR. An animal model of recognition memory and medial temporal lobe amnesia: History and current issues. *Neuropsychologia*. 2010 Jul;48(8):2234–44.
130. Morris R. Neurobiology of learning and memory. Pfaff DW, editor. *Neuroscience in the 21st Century: From Basic to Clinical*. Springer Science Business Media; 2013. 2173–2211 p.
131. Clark RE. Current Topics Regarding the Function of the Medial Temporal Lobe Memory System. In: Martin SJ, editor. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*. Springer; 2018. p. 1–30.
132. Abel T, Lattal KM. Molecular mechanisms of memory acquisition, consolidation and retrieval. *Curr Opin Neurobiol*. 2001 Apr;11(2):180–7.
133. Bosch M, Hayashi Y. Structural plasticity of dendritic spines. *Curr Opin Neurobiol*. 2012 Jun;22(3):383–8.
134. Weng G, Bhalla US, Iyengar R. Complexity in Biological Signaling Systems. *Science* (80-). 1999 Apr 2;284(5411):92–6.
135. Hernandez PJ, Abel T. A Molecular Basis for Interactions Between Sleep and Memory. *Sleep Med Clin*. 2011 Mar;6(1):71–84.
136. Rao VR, Finkbeiner S. NMDA and AMPA receptors: old channels, new tricks. *Trends Neurosci*. 2007 Jun;30(6):284–91.

137. O'Keefe J, Dostrovsky J. The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Res.* 1971 Nov;34(1):171–5.
138. Hafting T, Fyhn M, Molden S, Moser M-B, Moser EI. Microstructure of a spatial map in the entorhinal cortex. *Nature.* 2005 Aug 19;436(7052):801–6.
139. McClelland JL, Goddard NH. Considerations arising from a complementary learning systems perspective on hippocampus and neocortex. *Hippocampus.* 1996;6(6):654–65.
140. O'Reilly RC, McClelland JL. Hippocampal conjunctive encoding, storage, and recall: Avoiding a trade-off. *Hippocampus.* 1994 Dec;4(6):661–82.
141. McNaughton BL, Morris RGM. Hippocampal synaptic enhancement and information storage within a distributed memory system. *Trends Neurosci.* 1987 Jan;10(10):408–15.
142. Garthe A, Kempermann G. An old test for new neurons: refining the Morris water maze to study the functional relevance of adult hippocampal neurogenesis. *Front Neurosci.* 2013;7.
143. Morris RGM. Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learn Motiv.* 1981 May;12(2):239–60.
144. Othman MZ, Hassan Z, Che Has AT. Morris water maze: a versatile and pertinent tool for assessing spatial learning and memory. *Exp Anim.* 2022;71(3):21–0120.
145. Mahboubi S, Nasehi M, Imani A, Sadat-Shirazi M-S, Zarrindast M-R, Vouseoghi N, et al. Benefit effect of REM-sleep deprivation on memory impairment induced by intensive exercise in male wistar rats: with respect to hippocampal BDNF and TrkB. *Nat Sci Sleep.* 2019 Sep;Volume 11:179–88.
146. Turan I, Sayan Ozacmak H, Ozacmak VH, Ergenc M, Bayraktaroğlu T. The effects of glucagon-like peptide 1 receptor agonist (exenatide) on memory impairment, and anxiety- and depression-like behavior induced by REM sleep deprivation. *Brain Res Bull.* 2021 Sep;174:194–202.
147. Jenkins JG, Dallenbach KM. Obliviscence during Sleep and Waking. *Am J Psychol.* 1924 Oct;35(4):605.

148. Bueno OFA, Lobo LL, Gabriela M.^Oliveira M, Gugliano EB, Pomarico AC, Tufik S. Dissociated paradoxical sleep deprivation effects on inhibitory avoidance and conditioned fear. *Physiol Behav.* 1994 Oct;56(4):775–9.
149. Harris PF, Overstreet DH, Orbach J. Disruption of passive avoidance memory by REM sleep deprivation: Methodological and pharmacological considerations. *Pharmacol Biochem Behav.* 1982 Dec;17(6):1119–22.
150. Skinner DM, Overstreet DH, Orbach J. Reversal of the memory-disruptive effects of REM sleep deprivation by physostigmine. *Behav Biol.* 1976 Oct;18(2):189–98.
151. Youngblood BD, Smagin GN, Elkins PD, Ryan DH, Harris RB. The Effects of Paradoxical Sleep Deprivation and Valine on Spatial Learning and Brain 5-HT Metabolism. *Physiol Behav.* 1999 Nov;67(5):643–9.
152. Youngblood BD, Zhou J, Smagin GN, Ryan DH, Harris RBS. Sleep Deprivation by the “Flower Pot” Technique and Spatial Reference Memory. *Physiol Behav.* 1997 Feb;61(2):249–56.
153. Smith CT, Conway JM, Rose GM. Brief Paradoxical Sleep Deprivation Impairs Reference, but Not Working, Memory in the Radial Arm Maze Task. *Neurobiol Learn Mem.* 1998 Mar;69(2):211–7.
154. Lavenex P, Banta Lavenex P, Amaral DG. Postnatal Development of the Primate Hippocampal Formation. *Dev Neurosci.* 2007;29(1–2):179–92.
155. Bannerman D., Rawlins JN., McHugh S., Deacon RM., Yee B., Bast T, et al. Regional dissociations within the hippocampus—memory and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev.* 2004 May;28(3):273–83.
156. Bieri KW, Bobbitt KN, Colgin LL. Slow and Fast Gamma Rhythms Coordinate Different Spatial Coding Modes in Hippocampal Place Cells. *Neuron.* 2014 May;82(3):670–81.
157. Strange BA, Witter MP, Lein ES, Moser EI. Functional organization of the hippocampal longitudinal axis. *Nat Rev Neurosci.* 2014 Oct 19;15(10):655–69.
158. Isaacson RL. Unsolved Mysteries: The Hippocampus. *Behav Cogn Neurosci Rev.* 2002 Jun 18;1(2):87–107.

159. Amaral DG, Scharfman HE, Lavenex P. The dentate gyrus: fundamental neuroanatomical organization (dentate gyrus for dummies). In 2007. p. 3–790.
160. Saab BJ, Georgiou J, Nath A, Lee FJS, Wang M, Michalon A, et al. NCS-1 in the Dentate Gyrus Promotes Exploration, Synaptic Plasticity, and Rapid Acquisition of Spatial Memory. *Neuron*. 2009 Sep;63(5):643–56.
161. Koyanagi I, Akers K, Vergara P, Srinivasan S, Sakurai T, Sakaguchi M. Memory consolidation during sleep and adult hippocampal neurogenesis. *Neural Regen Res*. 2019;14(1):20.
162. Tsao A, Sugar J, Lu L, Wang C, Knierim JJ, Moser M-B, et al. Integrating time from experience in the lateral entorhinal cortex. *Nature*. 2018 Sep 29;561(7721):57–62.
163. Neural Academy. Trisynaptic Circuit of the Hippocampus [Internet]. YouTube. 2018. Available from: <https://www.youtube.com/watch?v=AEchxzgweOg>
164. Acosta-peña E, Camacho-Abrego I, Melgarejo-Gutiérrez M, Flores G, Drucker-Colín R, García-García F. Sleep deprivation induces differential morphological changes in the hippocampus and prefrontal cortex in young and old rats. *Synapse*. 2015 Jan;69(1):15–25.
165. McDermott CM, LaHoste GJ, Chen C, Musto A, Bazan NG, Magee JC. Sleep Deprivation Causes Behavioral, Synaptic, and Membrane Excitability Alterations in Hippocampal Neurons. *J Neurosci*. 2003 Oct 22;23(29):9687–95.
166. Hagewoud R, Havekes R, Novati A, Keijser JN, Van Der Zee EA, Meerlo P. Sleep deprivation impairs spatial working memory and reduces hippocampal AMPA receptor phosphorylation. *J Sleep Res*. 2010 Dec 28;19(2):280–8.
167. Van Der Werf YD, Altena E, Schoonheim MM, Sanz-Arigita EJ, Vis JC, De Rijke W, et al. Sleep benefits subsequent hippocampal functioning. *Nat Neurosci*. 2009 Feb 18;12(2):122–3.
168. Yoo S-S, Hu PT, Gujar N, Jolesz FA, Walker MP. A deficit in the ability to form new human memories without sleep. *Nat Neurosci*. 2007 Mar 11;10(3):385–92.
169. Ebbinghaus H. Über das gedächtnis: untersuchungen zur experimentellen psychologie. 1st ed. Duncker & Humblot; 1885.

170. Van Ormer EB. Sleep and retention. *Psychol Bull.* 1933 Jun;30(6):415–39.
171. Patrick GTW, Gilbert JA. Studies from the psychological laboratory of the University of Iowa: On the effects of loss of sleep. *Psychol Rev.* 1896 Sep;3(5):469–83.
172. Heine R. Über des Wiedererkennen und Rückwirkende Hemmung. Vol. 68, *Zeitschrift für Psychologie.* Johann Ambrosius Bart; 1914. 161–236 p.
173. Schmidt R. On recognition and retroactive inhibition": A work by Rosa Heine (1914). *Zeitschrift für Angew Psychol.* 1987;195(2):223–30.
174. Benson K, Feinberg I. Sleep and Memory: Retention 8 and 24 Hours After Initial Learning. *Psychophysiology.* 1975 Mar;12(2):192–5.
175. Benson K, Feinberg I. The Beneficial Effect of Sleep in an Extended Jenkins and Dallenbach Paradigm. *Psychophysiology.* 1977 Jul;14(4):375–84.
176. Idzikowski C. Sleep and memory. *Br J Psychol.* 1984 Nov;75(4):439–49.
177. Ekstrand BR. Effect of sleep on memory. *J Exp Psychol.* 1967;75(1):64–72.
178. Gais S, Lucas B, Born J. Sleep after learning aids memory recall. *Learn Mem.* 2006 May;13(3):259–62.
179. Payne JD, Tucker MA, Ellenbogen JM, Wamsley EJ, Walker MP, Schacter DL, et al. Memory for Semantically Related and Unrelated Declarative Information: The Benefit of Sleep, the Cost of Wake. Mazza M, editor. *PLoS One.* 2012 Mar 22;7(3):e33079.
180. Talamini LM, Nieuwenhuis ILC, Takashima A, Jensen O. Sleep directly following learning benefits consolidation of spatial associative memory. *Learn Mem.* 2008 Apr;15(4):233–7.
181. Ellenbogen JM, Hulbert JC, Stickgold R, Dinges DF, Thompson-Schill SL. Interfering with Theories of Sleep and Memory: Sleep, Declarative Memory, and Associative Interference. *Curr Biol.* 2006 Jul;16(13):1290–4.
182. Ellenbogen JM, Hulbert JC, Jiang Y, Stickgold R. The Sleeping Brain's Influence on Verbal Memory: Boosting Resistance to Interference. Rogers N, editor. *PLoS One.* 2009 Jan 7;4(1):e4117.

183. Alger SE, Lau H, Fishbein W. Slow wave sleep during a daytime nap is necessary for protection from subsequent interference and long-term retention. *Neurobiol Learn Mem.* 2012 Sep;98(2):188–96.
184. Diekelmann S, Biggel S, Rasch B, Born J. Offline consolidation of memory varies with time in slow wave sleep and can be accelerated by cuing memory reactivations. *Neurobiol Learn Mem.* 2012 Sep;98(2):103–11.
185. Sheth BR, Varghese R, Truong T. Sleep Shelters Verbal Memory from Different Kinds of Interference. *Sleep.* 2012 Jul 1;
186. Smith C. Sleep states, memory processes and synaptic plasticity. *Behav Brain Res.* 1996 Jun;78(1):49–56.
187. Plihal W, Born J. Effects of early and late nocturnal sleep on priming and spatial memory. *Psychophysiology.* 1999 Sep;36(5):571–82.
188. Stickgold R, James L, Hobson JA. Visual discrimination learning requires sleep after training. *Nat Neurosci.* 2000 Dec;3(12):1237–8.
189. Tamaki M, Wang Z, Barnes-Diana T, Guo D, Berard A V., Walsh E, et al. Complementary contributions of non-REM and REM sleep to visual learning. *Nat Neurosci.* 2020 Sep 20;23(9):1150–6.
190. Ambrosini M V., Langella M, Gironi Carnevale UA, Giuditta A. The sequential hypothesis of sleep function. III. The structure of postacquisition sleep in learning and nonlearning rats. *Physiol Behav.* 1992 Feb;51(2):217–26.
191. Ambrosini MV, Mariucci G, Bruschelli G, Colarieti L, Giuditta A. Sequential Hypothesis of sleep function. V. Lengthening of post-trial SS episodes in reminiscent rats. *Physiol Behav.* 1995 Nov;58(5):1043–9.
192. Niethard N, Burgalossi A, Born J. Plasticity during Sleep Is Linked to Specific Regulation of Cortical Circuit Activity. *Front Neural Circuits.* 2017 Sep 15;11.
193. De Gennaro L, Ferrara M. Sleep spindles: an overview. *Sleep Med Rev.* 2003 Oct;7(5):423–40.
194. Schönauer M, Pöhlchen D. Sleep spindles. *Curr Biol.* 2018 Oct;28(19):R1129–30.

195. Fernandez LMJ, Lüthi A. Sleep Spindles: Mechanisms and Functions. *Physiol Rev.* 2020 Apr 1;100(2):805–68.
196. Gent TC, Bandarabadi M, Herrera CG, Adamantidis AR. Thalamic dual control of sleep and wakefulness. *Nat Neurosci.* 2018 Jul 11;21(7):974–84.
197. Barakat M, Doyon J, Debas K, Vandewalle G, Morin A, Poirier G, et al. Fast and slow spindle involvement in the consolidation of a new motor sequence. *Behav Brain Res.* 2011 Feb;217(1):117–21.
198. Klinzing JG, Niethard N, Born J. Mechanisms of systems memory consolidation during sleep. *Nat Neurosci.* 2019 Oct 26;22(10):1598–610.
199. Tononi G, Cirelli C. Sleep and the Price of Plasticity: From Synaptic and Cellular Homeostasis to Memory Consolidation and Integration. *Neuron.* 2014 Jan;81(1):12–34.
200. Huber R, Felice Ghilardi M, Massimini M, Tononi G. Local sleep and learning. *Nature.* 2004 Jul 6;430(6995):78–81.
201. Kim J, Gulati T, Ganguly K. Competing Roles of Slow Oscillations and Delta Waves in Memory Consolidation versus Forgetting. *Cell.* 2019 Oct;179(2):514–526.e13.
202. Vijayan S, Lepage KQ, Kopell NJ, Cash SS. Frontal beta-theta network during REM sleep. *Elife.* 2017 Jan 25;6.
203. Nishida M, Pearsall J, Buckner RL, Walker MP. REM Sleep, Prefrontal Theta, and the Consolidation of Human Emotional Memory. *Cereb Cortex.* 2009 May 1;19(5):1158–66.
204. Lipinska G, Stuart B, Thomas KGF, Baldwin DS, Bolinger E. Preferential Consolidation of Emotional Memory During Sleep: A Meta-Analysis. *Front Psychol.* 2019 May 10;10.
205. Whitlock JR, Heynen AJ, Shuler MG, Bear MF. Learning Induces Long-Term Potentiation in the Hippocampus. *Science (80-).* 2006 Aug 25;313(5790):1093–7.
206. Campbell IG, Guinan MJ, Horowitz JM. Sleep Deprivation Impairs Long-Term Potentiation in Rat Hippocampal Slices. *J Neurophysiol.* 2002 Aug 1;88(2):1073–6.

207. Tartar JL, Ward CP, McKenna JT, Thakkar M, Arrigoni E, McCarley RW, et al. Hippocampal synaptic plasticity and spatial learning are impaired in a rat model of sleep fragmentation. *Eur J Neurosci*. 2006 May;23(10):2739–48.
208. Ravassard P, Pachoud B, Comte J-C, Mejia-Perez C, Scoté-Blachon C, Gay N, et al. Paradoxical (REM) Sleep Deprivation Causes a Large and Rapidly Reversible Decrease in Long-Term Potentiation, Synaptic Transmission, Glutamate Receptor Protein Levels, and ERK/MAPK Activation in the Dorsal Hippocampus. *Sleep*. 2009 Feb;32(2):227–40.
209. Florian C, Vecsey CG, Halassa MM, Haydon PG, Abel T. Astrocyte-Derived Adenosine and A1 Receptor Activity Contribute to Sleep Loss-Induced Deficits in Hippocampal Synaptic Plasticity and Memory in Mice. *J Neurosci*. 2011 May 11;31(19):6956–62.
210. Chang H-M, Liao W-C, Sheu J-N, Chang C-C, Lan C-T, Mai F-D. Sleep Deprivation Impairs Ca²⁺ Expression in the Hippocampus: Ionic Imaging Analysis for Cognitive Deficiency with TOF-SIMS. *Microsc Microanal*. 2012 Jun 12;18(3):425–35.
211. McDermott CM, Hardy MN, Bazan NG, Magee JC. Sleep deprivation-induced alterations in excitatory synaptic transmission in the CA1 region of the rat hippocampus. *J Physiol*. 2006 Feb;570(3):553–65.
212. Cirelli C, Tononi G. Gene expression in the brain across the sleep-waking cycle. *Brain Res*. 2000 Dec;885(2):303–21.
213. Vyazovskiy V V, Cirelli C, Pfister-Genskow M, Faraguna U, Tononi G. Molecular and electrophysiological evidence for net synaptic potentiation in wake and depression in sleep. *Nat Neurosci*. 2008 Feb 20;11(2):200–8.
214. Schmitt WB, Sprengel R, Mack V, Draft RW, Seeburg PH, Deacon RMJ, et al. Restoration of spatial working memory by genetic rescue of GluR-A-deficient mice. *Nat Neurosci*. 2005 Mar 20;8(3):270–2.
215. Disbrow JK, Ruth JA. Differential glutamate release in brain regions of long sleep and short sleep mice. *Alcohol*. 1984 May;1(3):201–3.
216. Cortese BM, Mitchell TR, Galloway MP, Prevost KE, Fang J, Moore GJ, et al. Region-specific alteration in brain glutamate: Possible relationship to risk-taking behavior. *Physiol Behav*. 2010 Mar;99(4):445–50.

217. Vecsey CG, Baillie GS, Jaganath D, Havekes R, Daniels A, Wimmer M, et al. Sleep deprivation impairs cAMP signalling in the hippocampus. *Nature*. 2009 Oct;461(7267):1122–5.
218. Zhao Z, Huang L, Wu H, Li Y, Zhang L, Yin Y, et al. Neuropeptide S mitigates spatial memory impairment induced by rapid eye movement sleep deprivation in rats. *Neuroreport*. 2010 Jun 23;21(9):623–8.
219. Alhaider IA, Aleisa AM, Tran TT, Alkadhi KA. Sleep deprivation prevents stimulation-induced increases of levels of P-CREB and BDNF: Protection by caffeine. *Mol Cell Neurosci*. 2011 Apr;46(4):742–51.
220. Pinho N, Moreira KM, Hipolide DC, Sinigaglia-Coimbra R, Ferreira TL, Nobrega JN, et al. Sleep deprivation alters phosphorylated CREB levels in the amygdala: Relationship with performance in a fear conditioning task. *Behav Brain Res*. 2013 Jan;236:221–4.
221. Bjorness T, Greene R. Adenosine and Sleep. *Curr Neuropharmacol*. 2009 Sep 1;7(3):238–45.
222. Huston JP, Haas HL, Boix F, Pfister M, Decking U, Schrader J, et al. Extracellular adenosine levels in neostriatum and hippocampus during rest and activity periods of rats. *Neuroscience*. 1996 Jul;73(1):99–107.
223. Alhaider IA, Aleisa AM, Tran TT, Alzoubi KH, Alkadhi KA. Chronic Caffeine Treatment Prevents Sleep Deprivation-Induced Impairment of Cognitive Function and Synaptic Plasticity. *Sleep*. 2010 Apr;33(4):437–44.
224. Prince T-M, Abel T. The impact of sleep loss on hippocampal function. *Learn Mem*. 2013 Oct;20(10):558–69.
225. Xue R, Wan Y, Sun X, Zhang X, Gao W, Wu W. Nicotinic Mitigation of Neuroinflammation and Oxidative Stress After Chronic Sleep Deprivation. *Front Immunol*. 2019 Oct 29;10.
226. Chuang D-M, Wang Z, Chiu C-T. GSK-3 as a Target for Lithium-Induced Neuroprotection Against Excitotoxicity in Neuronal Cultures and Animal Models of Ischemic Stroke. *Front Mol Neurosci*. 2011;4.

227. Laghnam D, Jozwiak M, Nguyen LS. Renin–Angiotensin–Aldosterone System and Immunomodulation: A State-of-the-Art Review. *Cells*. 2021 Jul 13;10(7):1767.
228. Griendling KK, Murphy TJ, Alexander RW. Molecular biology of the renin-angiotensin system. *Circulation*. 1993 Jun;87(6):1816–28.
229. Unger T, Chung O, Csikos T, Culman J, Gallinat S, Gohlke P, et al. Angiotensin receptors. *J Hypertens Suppl*. 1996 Dec;14(5):S95-103.
230. Vajapey R, Rini D, Walston J, Abadir P. The impact of age-related dysregulation of the angiotensin system on mitochondrial redox balance. *Front Physiol*. 2014 Nov 24;5.
231. Bernstein KE, Khan Z, Giani JF, Cao D-Y, Bernstein EA, Shen XZ. Angiotensin-converting enzyme in innate and adaptive immunity. *Nat Rev Nephrol*. 2018 May 26;14(5):325–36.
232. Furuta H, Guo D-F, Inagami T. Molecular cloning and sequencing of the gene encoding human angiotensin II type 1 receptor. *Biochem Biophys Res Commun*. 1992 Feb;183(1):8–13.
233. Ganten D, Marquez-Julio A, Granger P, Hayduk K, Karsunky K, Boucher R, et al. Renin in dog brain. *Am J Physiol Content*. 1971 Dec 1;221(6):1733–7.
234. Wright JW, Harding JW. The brain renin–angiotensin system: a diversity of functions and implications for CNS diseases. *Pflügers Arch - Eur J Physiol*. 2013 Jan 26;465(1):133–51.
235. Rodríguez-Pallares J, Rey P, Parga JA, Muñoz A, Guerra M., Labandeira-Garcia JL. Brain angiotensin enhances dopaminergic cell death via microglial activation and NADPH-derived ROS. *Neurobiol Dis*. 2008 Jul;31(1):58–73.
236. De Silva TM, Faraci FM. Effects of angiotensin II on the cerebral circulation: role of oxidative stress. *Front Physiol*. 2013;3.
237. Labandeira-Garcia JL, Rodríguez-Perez AI, Garrido-Gil P, Rodríguez-Pallares J, Lanciego JL, Guerra MJ. Brain Renin-Angiotensin System and Microglial Polarization: Implications for Aging and Neurodegeneration. *Front Aging Neurosci*. 2017 May 3;9.

238. Saavedra JM. Brain Angiotensin II: New Developments, Unanswered Questions and Therapeutic Opportunities. *Cell Mol Neurobiol*. 2005 Jun;25(3–4):485–512.
239. Saavedra JM, Ando H, Armando I, Baiardi G, Bregonzio C, Jezova M, et al. Brain angiotensin II, an important stress hormone: Regulatory sites and therapeutic opportunities. *Ann N Y Acad Sci*. 2004 Jun;1018(1):76–84.
240. Saavedra JM, Benicky J. Brain and peripheral angiotensin II play a major role in stress. *Stress*. 2007 Jan 7;10(2):185–93.
241. de Morais SDB, Shanks J, Zucker IH. Integrative Physiological Aspects of Brain RAS in Hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2018 Feb 26;20(2):10.
242. Fernando RN, Larm J, Albiston AL, Chai SY. Distribution and cellular localization of insulin-regulated aminopeptidase in the rat central nervous system. *J Comp Neurol*. 2005 Jul 11;487(4):372–90.
243. Wright JW, Harding JW. Brain renin-angiotensin—A new look at an old system. *Prog Neurobiol*. 2011 Sep;95(1):49–67.
244. Solleiro-Villavicencio H, Rivas-Arancibia S. Effect of Chronic Oxidative Stress on Neuroinflammatory Response Mediated by CD4+T Cells in Neurodegenerative Diseases. *Front Cell Neurosci*. 2018 Apr 27;12.
245. Chan SHH, Hsu K-S, Huang C-C, Wang L-L, Ou C-C, Chan JYH. NADPH Oxidase—Derived Superoxide Anion Mediates Angiotensin II—Induced Pressor Effect via Activation of p38 Mitogen—Activated Protein Kinase in the Rostral Ventrolateral Medulla. *Circ Res*. 2005 Oct 14;97(8):772–80.
246. Wang G, Coleman CG, Chan J, Faraco G, Marques-Lopes J, Milner TA, et al. Angiotensin II slow-pressor hypertension enhances NMDA currents and NOX2-dependent superoxide production in hypothalamic paraventricular neurons. *Am J Physiol Integr Comp Physiol*. 2013 Jun 15;304(12):R1096–106.

247. Chen M, Lai L, Li X, Zhang X, He X, Liu W, et al. Baicalein Attenuates Neurological Deficits and Preserves Blood–Brain Barrier Integrity in a Rat Model of Intracerebral Hemorrhage. *Neurochem Res*. 2016 Nov 12;41(11):3095–102.
248. Carvalho C, Moreira PI. Oxidative Stress: A Major Player in Cerebrovascular Alterations Associated to Neurodegenerative Events. *Front Physiol*. 2018 Jul 3;9.
249. Wang J, Pang T, Hafko R, Benicky J, Sanchez-Lemus E, Saavedra JM. Telmisartan ameliorates glutamate-induced neurotoxicity: Roles of AT1 receptor blockade and PPAR γ activation. *Neuropharmacology*. 2014 Apr;79:249–61.
250. Tong Q, Wu L, Jiang T, Ou Z, Zhang Y, Zhu D. Inhibition of endoplasmic reticulum stress-activated IRE1 α -TRAF2-caspase-12 apoptotic pathway is involved in the neuroprotective effects of telmisartan in the rotenone rat model of Parkinson's disease. *Eur J Pharmacol*. 2016 Apr;776:106–15.
251. Burnier M, Brunner H. Angiotensin II receptor antagonists. *Lancet*. 2000 Feb;355(9204):637–45.
252. Burnier M. Angiotensin II Type 1 Receptor Blockers. *Circulation*. 2001 Feb 13;103(6):904–12.
253. Saavedra JM, Sánchez-Lemus E, Benicky J. Blockade of brain angiotensin II AT1 receptors ameliorates stress, anxiety, brain inflammation and ischemia: Therapeutic implications. *Psychoneuroendocrinology*. 2011 Jan;36(1):1–18.
254. Sanchez-Lemus E, Murakami Y, Larrayoz-Roldan IM, Moughamian AJ, Pavel J, Nishioku T, et al. Angiotensin II AT1 Receptor Blockade Decreases Lipopolysaccharide-Induced Inflammation in the Rat Adrenal Gland. *Endocrinology*. 2008 Oct 1;149(10):5177–88.
255. Benicky J, Sánchez-Lemus E, Honda M, Pang T, Orecna M, Wang J, et al. Angiotensin II AT1 Receptor Blockade Ameliorates Brain Inflammation. *Neuropsychopharmacology*. 2011 Mar 8;36(4):857–70.

256. Sánchez-Lemus E, Benicky J, Pavel J, Saavedra JM. In vivo Angiotensin II AT1 receptor blockade selectively inhibits LPS-induced innate immune response and ACTH release in rat pituitary gland. *Brain Behav Immun*. 2009 Oct;23(7):945–57.
257. Sánchez-Lemus E, Benicky J, Pavel J, Larrayoz IM, Zhou J, Baliova M, et al. Angiotensin II AT 1 blockade reduces the lipopolysaccharide-induced innate immune response in rat spleen. *Am J Physiol Integr Comp Physiol*. 2009 May;296(5):R1376–84.
258. Felder RB. Mineralocorticoid receptors, inflammation and sympathetic drive in a rat model of systolic heart failure. *Exp Physiol*. 2010 Jan 1;95(1):19–25.
259. Ando H, Zhou J, Macova M, Imboden H, Saavedra JM. Angiotensin II AT 1 Receptor Blockade Reverses Pathological Hypertrophy and Inflammation in Brain Microvessels of Spontaneously Hypertensive Rats. *Stroke*. 2004 Jul;35(7):1726–31.
260. Zhou J, Ando H, Macova M, Dou J, Saavedra JM. Angiotensin II AT 1 Receptor Blockade Abolishes Brain Microvascular Inflammation and Heat Shock Protein Responses in Hypertensive Rats. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2005 Jul 23;25(7):878–86.
261. Tsutsumi K, Saavedra JM. Characterization and development of angiotensin II receptor subtypes (AT1 and AT2) in rat brain. *Am J Physiol Integr Comp Physiol*. 1991 Jul 1;261(1):R209–16.
262. Cailotto C, Costes LMM, van der Vliet J, VAN Bree SHW, VAN Heerikhuize JJ, Buijs RM, et al. Neuroanatomical evidence demonstrating the existence of the vagal anti-inflammatory reflex in the intestine. *Neurogastroenterol Motil*. 2012 Feb;24(2):191–e93.
263. Saavedra JM. Beneficial effects of Angiotensin II receptor blockers in brain disorders. *Pharmacol Res*. 2017 Nov;125:91–103.
264. Saavedra JM. Evidence to Consider Angiotensin II Receptor Blockers for the Treatment of Early Alzheimer’s Disease. *Cell Mol Neurobiol*. 2016 Mar 18;36(2):259–79.
265. Grammas P, Martinez J, Miller B. Cerebral microvascular endothelium and the pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Expert Rev Mol Med*. 2011 Jun 10;13:e19.

266. Liu H, Mao P, Wang J, Wang T, Xie C-H. Azilsartan, an angiotensin II type 1 receptor blocker, attenuates tert-butyl hydroperoxide-induced endothelial cell injury through inhibition of mitochondrial dysfunction and anti-inflammatory activity. *Neurochem Int.* 2016 Mar;94:48–56.
267. Gebre AK, Altaye BM, Atey TM, Tuem KB, Berhe DF. Targeting Renin–Angiotensin System Against Alzheimer’s Disease. *Front Pharmacol.* 2018 Apr 30;9.
268. Tsukuda K, Mogi M, Iwanami J, Min L-J, Sakata A, Jing F, et al. Cognitive Deficit in Amyloid- β -Injected Mice Was Improved by Pretreatment With a Low Dose of Telmisartan Partly Because of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ Activation. *Hypertension.* 2009 Oct;54(4):782–7.
269. Lanz T V., Ding Z, Ho PP, Luo J, Agrawal AN, Srinagesh H, et al. Angiotensin II sustains brain inflammation in mice via TGF- β . *J Clin Invest.* 2010 Aug 2;120(8):2782–94.
270. Min L-J, Mogi M, Iwanami J, Sakata A, Jing F, Tsukuda K, et al. Angiotensin II and aldosterone-induced neuronal damage in neurons through an astrocyte-dependent mechanism. *Hypertens Res.* 2011 Jun 7;34(6):773–8.
271. O’Callaghan EL, Bassi JK, Porrello ER, Delbridge LMD, Thomas WG, Allen AM. Regulation of angiotensinogen by angiotensin II in mouse primary astrocyte cultures. *J Neurochem.* 2011 Oct;119(1):18–26.
272. Miyoshi M, Miyano K, Moriyama N, Taniguchi M, Watanabe T. Angiotensin type 1 receptor antagonist inhibits lipopolysaccharide-induced stimulation of rat microglial cells by suppressing nuclear factor κ B and activator protein-1 activation. *Eur J Neurosci.* 2008 Jan 11;27(2):343–51.
273. Li JJ, Lu J, Kaur C, Sivakumar V, Wu CY, Ling EA. Expression of angiotensin II and its receptors in the normal and hypoxic amoeboid microglial cells and murine BV-2 cells. *Neuroscience.* 2009 Feb;158(4):1488–99.
274. Morgan JM, Routtenberg A. Angiotensin Injected into the Neostriatum After Learning Disrupts Retention Performance. *Science (80-).* 1977 Apr;196(4285):87–9.

275. Barnes JM, Barnes NM, Costall B, Horovitz ZP, Ironside JW, Naylor RJ, et al. Angiotensin II Inhibits Cortical Cholinergic Function. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1990 Aug;16(2):234–8.
276. Anil Kumar K, Nagwar S, Thyloor R, Satyanarayana S. Anti-stress and nootropic activity of drugs affecting the renin-angiotensin system in rats based on indirect biochemical evidence. *J Renin-Angiotensin-Aldosterone Syst*. 2015 Dec 4;16(4):801–12.
277. Hamel E, Royea J, Ongali B, Tong X-K. Neurovascular and Cognitive failure in Alzheimer's Disease: Benefits of Cardiovascular Therapy. *Cell Mol Neurobiol*. 2016 Mar 18;36(2):219–32.
278. Sun H, Wu H, Yu X, Zhang G, Zhang R, Zhan S, et al. Angiotensin II and its receptor in activated microglia enhanced neuronal loss and cognitive impairment following pilocarpine-induced status epilepticus. *Mol Cell Neurosci*. 2015 Mar;65:58–67.
279. Chen J-L, Zhang D-L, Sun Y, Zhao Y-X, Zhao K-X, Pu D, et al. Angiotensin-(1–7) administration attenuates Alzheimer's disease-like neuropathology in rats with streptozotocin-induced diabetes via Mas receptor activation. *Neuroscience*. 2017 Mar;346:267–77.
280. Benson SC, Pershadsingh HA, Ho CI, Chittiboyina A, Desai P, Pravenec M, et al. Identification of Telmisartan as a Unique Angiotensin II Receptor Antagonist With Selective PPAR γ -Modulating Activity. *Hypertension*. 2004 May;43(5):993–1002.
281. Washida K, Ihara M, Nishio K, Fujita Y, Maki T, Yamada M, et al. Nonhypotensive Dose of Telmisartan Attenuates Cognitive Impairment Partially Due to Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ Activation in Mice With Chronic Cerebral Hypoperfusion. *Stroke*. 2010 Aug;41(8):1798–806.
282. Luna-Medina R, Cortes-Canteli M, Alonso M, Santos A, Martínez A, Perez-Castillo A. Regulation of Inflammatory Response in Neural Cells in Vitro by Thiadiazolidinones Derivatives through Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ Activation. *J Biol Chem*. 2005 Jun;280(22):21453–62.
283. Denny JB, Polan-Curtain J, Wayner MJ, Armstrong DL. Angiotensin II blocks hippocampal long-term potentiation. *Brain Res*. 1991 Dec;567(2):321–4.

284. Gard PR. The role of angiotensin II in cognition and behaviour. *Eur J Pharmacol.* 2002 Mar;438(1–2):1–14.
285. Kishi T, Hirooka Y, Sunagawa K. Telmisartan protects against cognitive decline via up-regulation of brain-derived neurotrophic factor/tropomyosin-related kinase B in hippocampus of hypertensive rats. *J Cardiol.* 2012 Dec;60(6):489–94.
286. Abo-Youssef AM, Khallaf WA, Khattab MM, Messiha BAS. The anti-Alzheimer effect of telmisartan in a hyperglycemic ovariectomized rat model; role of central angiotensin and estrogen receptors. *Food Chem Toxicol.* 2020 Aug;142:111441.
287. Abdel Rasheed NO, Ibrahim WW. Telmisartan neuroprotective effects in 3-nitropropionic acid Huntington's disease model in rats: Cross talk between PPAR- γ and PI3K/Akt/GSK-3 β pathway. *Life Sci.* 2022 May;297:120480.
288. Coghlan MP, Culbert AA, Cross DA, Corcoran SL, Yates JW, Pearce NJ, et al. Selective small molecule inhibitors of glycogen synthase kinase-3 modulate glycogen metabolism and gene transcription. *Chem Biol.* 2000 Oct;7(10):793–803.
289. Yu X, Zhang R, Wei C, Gao Y, Yu Y, Wang L, et al. MCT2 overexpression promotes recovery of cognitive function by increasing mitochondrial biogenesis in a rat model of stroke. *Animal Cells Syst (Seoul).* 2021 Mar 4;25(2):93–101.
290. Zhou J, Burns MP, Huynh L, Villapol S, Taub DD, Saavedra JM, et al. Temporal Changes in Cortical and Hippocampal Expression of Genes Important for Brain Glucose Metabolism Following Controlled Cortical Impact Injury in Mice. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2017 Sep 11;8.
291. Casini AF, Ferrali M, Pompella A, Maellaro E, Comporti M. Lipid peroxidation and cellular damage in extrahepatic tissues of bromobenzene-intoxicated mice. *Am J Pathol.* 1986 Jun;123(3):520–31.
292. Aykaç G, Uysal M, Süha Yalçın A, Koçak-Toker N, Sivas A, Öz H. The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology.* 1985 Jul;36(1):71–6.

293. Lo S, Russell JC, Taylor AW. Determination of glycogen in small tissue samples. *J Appl Physiol*. 1970 Feb;28(2):234–6.
294. Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A Rapid, Simple Spectrophotometric Method for Simultaneous Detection of Nitrate and Nitrite. *Nitric Oxide*. 2001 Feb;5(1):62–71.
295. Menezes L, Moraes DA, Ribeiro-Silva N, Silva SMA, Suchecki D, Luz J. Chronic REM sleep restriction in young rats increases energy expenditure with no change in food intake. *Exp Physiol*. 2020 Aug 7;105(8):1339–48.
296. Koban M, Swinson KL. Chronic REM-sleep deprivation of rats elevates metabolic rate and increases UCP1 gene expression in brown adipose tissue. *Am J Physiol Metab*. 2005 Jul;289(1):E68–74.
297. Xu Y-P, Tao Y-N, Wu Y-P, Zhang J, Jiao W, Wang Y-H, et al. Sleep deprivation aggravates brain injury after experimental subarachnoid hemorrhage via TLR4-MyD88 pathway. *Aging (Albany NY)*. 2021 Jan 31;13(2):3101–11.
298. Sharma A, Muresanu DF, Lafuente J V., Patnaik R, Tian ZR, Buzoianu AD, et al. Sleep Deprivation-Induced Blood-Brain Barrier Breakdown and Brain Dysfunction are Exacerbated by Size-Related Exposure to Ag and Cu Nanoparticles. Neuroprotective Effects of a 5-HT₃ Receptor Antagonist Ondansetron. *Mol Neurobiol*. 2015 Oct 2;52(2):867–81.
299. Kurtz TW. Treating the metabolic syndrome: telmisartan as a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activator. *Acta Diabetol*. 2005 Apr;42(S1):s9–16.
300. Shaw PJ, Bergmann BM, Rechtschaffen A. Effects of Paradoxical Sleep Deprivation on Thermoregulation in the Rat. *Sleep*. 1998 Jan;21(1):7–17.
301. Ma Q-X, Zhu W-Y, Lu X-C, Jiang D, Xu F, Li J-T, et al. BCAA–BCKA axis regulates WAT browning through acetylation of PRDM16. *Nat Metab*. 2022 Jan 24;4(1):106–22.
302. Naguib YM, Samaka RM, Rizk MS, Ameen O, Motawea SM. Countering adipose tissue dysfunction could underlie the superiority of telmisartan in the treatment of obesity-related hypertension. *Cardiovasc Diabetol*. 2021 Dec 24;20(1):70.

303. Sadek SA, Rashed LA, Bassam AM, Said ES. Effect of aliskiren, telmisartan and torsemide on cardiac dysfunction in l-nitro arginine methyl ester (l-NAME) induced hypertension in rats. *J Adv Res*. 2015 Nov;6(6):967–74.
304. Jiang J, Gan Z, Li Y, Zhao W, Li H, Zheng J-P, et al. REM sleep deprivation induces endothelial dysfunction and hypertension in middle-aged rats: Roles of the eNOS/NO/cGMP pathway and supplementation with L-arginine. Zaragoza C, editor. *PLoS One*. 2017 Aug 15;12(8):e0182746.
305. Sueta D, Koibuchi N, Hasegawa Y, Toyama K, Uekawa K, Katayama T, et al. Telmisartan Exerts Sustained Blood Pressure Control and Reduces Blood Pressure Variability in Metabolic Syndrome by Inhibiting Sympathetic Activity. *Am J Hypertens*. 2014 Dec 1;27(12):1464–71.
306. Heinemann A, Sattler V, Jocic M, Wienen W, Holzer P. Effect of angiotensin II and telmisartan, an angiotensin1 receptor antagonist, on rat gastric mucosal blood flow. *Aliment Pharmacol Ther*. 1999 Mar;13(3):347–55.
307. Mallat SG. What is a preferred angiotensin II receptor blocker-based combination therapy for blood pressure control in hypertensive patients with diabetic and non-diabetic renal impairment? *Cardiovasc Diabetol*. 2012;11(1):32.
308. Gao Y, Li W, Liu Y, Wang Y, Zhang J, Li M, et al. Effect of Telmisartan on Preventing Learning and Memory Deficits Via Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ in Vascular Dementia Spontaneously Hypertensive Rats. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2018 Feb;27(2):277–85.
309. Wincewicz D, Braszko JJ. Angiotensin II AT1 receptor blockade by telmisartan reduces impairment of spatial maze performance induced by both acute and chronic stress. *J Renin-Angiotensin-Aldosterone Syst*. 2015 Sep 12;16(3):495–505.
310. Shindo T, Takasaki K, Uchida K, Onimura R, Kubota K, Uchida N, et al. Ameliorative Effects of Telmisartan on the Inflammatory Response and Impaired Spatial Memory in a Rat Model of Alzheimer's Disease Incorporating Additional Cerebrovascular Disease Factors. *Biol Pharm Bull*. 2012;35(12):2141–7.

311. Wang G-P, Huang L-Q, Wu H-J, Zhang L, You Z-D, Zhao Z-X. Calcineurin contributes to spatial memory impairment induced by rapid eye movement sleep deprivation. *Neuroreport*. 2009 Aug 26;20(13):1172–6.
312. Packard MG, McGaugh JL. Inactivation of Hippocampus or Caudate Nucleus with Lidocaine Differentially Affects Expression of Place and Response Learning. *Neurobiol Learn Mem*. 1996 Jan;65(1):65–72.
313. Watts A, Gritton HJ, Sweigart J, Poe GR. Antidepressant Suppression of Non-REM Sleep Spindles and REM Sleep Impairs Hippocampus-Dependent Learning While Augmenting Striatum-Dependent Learning. *J Neurosci*. 2012 Sep 26;32(39):13411–20.
314. Wincewicz D, Juchniewicz A, Waszkiewicz N, Braszko JJ. Angiotensin II type 1 receptor blockade by telmisartan prevents stress-induced impairment of memory via HPA axis deactivation and up-regulation of brain-derived neurotrophic factor gene expression. *Pharmacol Biochem Behav*. 2016 Sep;148:108–18.
315. Hipolide DC, Suchecki D, Pinto AP, Chiconelli Faria E, Tufik S, Luz J. Paradoxical Sleep Deprivation and Sleep Recovery: Effects on the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Activity, Energy Balance and Body Composition of Rats. *J Neuroendocrinol*. 2006 Apr;18(4):231–8.
316. Zager A, Andersen ML, Ruiz FS, Antunes IB, Tufik S. Effects of acute and chronic sleep loss on immune modulation of rats. *Am J Physiol Integr Comp Physiol*. 2007 Jul;293(1):R504–9.
317. Süer C, Dolu N, Artis AS, Sahin L, Yilmaz A, Cetin A. The effects of long-term sleep deprivation on the long-term potentiation in the dentate gyrus and brain oxidation status in rats. *Neurosci Res*. 2011 May;70(1):71–7.
318. Andersen ML, Ribeiro DA, Bergamaschi CT, Alvarenga TA, Silva A, Zager A, et al. Distinct effects of acute and chronic sleep loss on DNA damage in rats. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry*. 2009 Apr;33(3):562–7.

319. Erdi F, Keskin F, Esen H, Kaya B, Feyzioglu B, Kilinc I, et al. Telmisartan ameliorates oxidative stress and subarachnoid haemorrhage-induced cerebral vasospasm. *Neurol Res.* 2016 Mar 3;38(3):224–31.
320. Antar SA, Abdo W, Taha RS, Farage AE, El-Moselhy LE, Amer ME, et al. Telmisartan attenuates diabetic nephropathy by mitigating oxidative stress and inflammation, and upregulating Nrf2/HO-1 signaling in diabetic rats. *Life Sci.* 2022 Feb;291:120260.
321. Fukui Y, Yamashita T, Kurata T, Sato K, Lukic V, Hishikawa N, et al. Protective Effect of Telmisartan Against Progressive Oxidative Brain Damage and Synuclein Phosphorylation in Stroke-resistant Spontaneously Hypertensive Rats. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2014 Jul;23(6):1545–53.
322. Ola MS, Ahmed MM, Abuhashish HM, Al-Rejaie SS, Alhomida AS. Telmisartan Ameliorates Neurotrophic Support and Oxidative Stress in the Retina of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Neurochem Res.* 2013 Aug 27;38(8):1572–9.
323. Kanazawa LKS, Vecchia DD, Wendler EM, Hocayen P de AS, dos Reis Lívero FA, Stipp MC, et al. Quercetin reduces manic-like behavior and brain oxidative stress induced by paradoxical sleep deprivation in mice. *Free Radic Biol Med.* 2016 Oct;99:79–86.
324. Garry PS, Ezra M, Rowland MJ, Westbrook J, Pattinson KTS. The role of the nitric oxide pathway in brain injury and its treatment — From bench to bedside. *Exp Neurol.* 2015 Jan;263:235–43.
325. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev.* 1991 Jun;43(2):109–42.
326. Mander P, Brown GC. Nitric oxide, hypoxia and brain inflammation. *Biochem Soc Trans.* 2004 Nov 1;32(6):1068–9.
327. Stuehr DJ. Mammalian nitric oxide synthases. *Biochim Biophys Acta - Bioenerg.* 1999 May;1411(2–3):217–30.
328. Curcic-Jovanovic M, Djukic M, Vasiljevic I, Ninkovic M, Jovanovic M. Determination of nitrate by the IE-HPLC-UV method in the brain tissues of Wistar rats poisoned with paraquat. *J Serbian Chem Soc.* 2007;72(4):347–56.

329. Singh B, Sharma B, Jaggi AS, Singh N. Attenuating effect of lisinopril and telmisartan in intracerebroventricular streptozotocin induced experimental dementia of Alzheimer's disease type: possible involvement of PPAR- γ agonistic property. J Renin-Angiotensin-Aldosterone Syst. 2013 Jun 11;14(2):124–36.



8. EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onayı

7
7



T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu



TOPLANTI TARİHİ : 03/02/2022
TOPLANTI NO : 2022/02

- 4- Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2022-06-03/02 Protokol no'lu "REM Uyku Yoksunluğu Sonrası Gelişen Öğrenme Ve Hafıza Bozukluğunda Ang II Reseptör İnhibisyonunun GSK-3 β , CREB, BDNF Yolağına Etkisi" konulu çalışmanın Etik Kurul İlkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR

Prof. Dr. Emine YILMAZ ÇAN
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı