



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI



**CDP-KOLİNİN UYKU YOKSUNLUĞU OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA ÖĞRENME VE BELLEK PARAMETRELERİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Ayşen ÇAKIR

DOKTORA TEZİ

BURSA-2018



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI



**CDP-KOLİNİN UYKU YOKSUNLUĞU OLUŞTURULAN SIÇANLARDA
ÖĞRENME VE BELLEK PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Ayşen ÇAKIR

(DOKTORA TEZİ)

DANIŞMANLAR:

Prof. Dr. Nevzat KAHVECİ

Prof. Dr. Güldal SÜYEN

KUAP(T)-2014/39 - BAP

BURSA-2018

**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ETİK BEYANI

Doktora tezi olarak sunduğum “**CDP-kolinin Uyku Yoksunluğu Oluşturulan Sıçanlarda Öğrenme ve Bellek Parametreleri Üzerine Etkisi**“ adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

Dr. Ayşen ÇAKIR

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Tıp Fizyoloji Anabilim Dalı Doktora öğrencisi **Dr. Ayşen ÇAKIR** tarafından hazırlanan **CDP-kolinin Uyku Yoksunluğu Oluşturulan Sıçanlarda Öğrenme ve Bellek Parametreleri Üzerine Etkisi** konulu Doktora tezi 28/09/2018 günü, 11.00-12.00 saatleri arasında yapılan tez savunma sınavında jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

	<u>Adı-Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Tez Danışmanı	Prof. Dr. Nevzat Kahveci	
Üye	Prof. Dr. Kasım Özlük	
Üye	Prof. Dr. Mehmet Cansev	
Üye	Prof. Dr. Ersin O. Koylu	
Üye	Prof. Dr. Lütfiye Kanıt	

Bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı toplantısında alınan numaralı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ali AYDOĞDU
Müdür

TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

28/09/2018

Adı Soyadı: Dr. Ayşen ÇAKIR

Anabilim Dalı: Tıp-Fizyoloji

Tez Konusu: CDP-kolinin Uyku Yoksunluğu Oluşturulan Sıçanlarda Öğrenme ve Bellek Parametreleri Üzerine Etkisi

<u>ÖZELLİKLER</u>	<u>UYGUNDUR</u>	<u>UYGUN DEĞİLDİR</u>	<u>ACIKLAMA</u>
Tezin Boyutları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dış Kapak Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İç Kapak Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kabul Onay Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Düzeni	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İçindekiler Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yazı Karakteri	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Satır Aralıkları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Başlıklar	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Numaraları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Eklerin Yerleştirilmesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tabloların Yerleştirilmesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kaynaklar	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

DANIŞMAN ONAYI

Unvanı Adı Soyadı: Prof. Dr. Nevzat KAHVECİ

Unvanı Adı Soyadı: Prof. Dr. Güldal SÜYEN

İmza:

İmza:

İÇİNDEKİLER

Dış Kapak	
İç Kapak	
ETİK BEYANI.....	II
KABUL ONAY.....	III
TEZ KONTROL BEYAN FORMU.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
TÜRKÇE ÖZET.....	VIII
İNGİLİZCE ÖZET.....	IX
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Uykunun Genel Özellikleri.....	3
2.1.1. NREM Uykusu.....	3
2.1.1.1. Evre 1.....	3
2.1.1.2. Evre 2.....	4
2.1.1.3. Evre 3 ve Evre 4.....	4
2.1.1.4. NREM Uykusunun Mekanizması.....	4
2.1.2. REM Uykusu.....	5
2.1.2.1. REM Uykusunun Mekanizması.....	5
2.1.3. NREM-REM döngüsü.....	6
2.2. Uyku-Uyanıklık.....	6
2.2.1. Uykunun Homeostatik Regülasyonu.....	7
2.2.2. Sirkadiyen Ritim.....	8
2.3. Uyku Yoksunluğu.....	8
2.3.1. Flower Pot Modeli.....	8
2.3.2. Su Üstünde Disk Modeli.....	9
2.3.3. Modifiye Çoklu Platform Modeli.....	10
2.3.4. Koşubandı ve Dönen Çark Modeli.....	10
2.3.5. Kafese Tıkkatma ve Nazik Dokunuş Modeli.....	10
2.3.6. Yeni Obje Sunma Modeli.....	11
2.3.7. Sarkaç Modeli.....	11
2.4. Uyku Yoksunluğunun Öğrenme ve Bellek Üzerine Etkileri.....	12
2.5. Stres.....	21
2.6. Öğrenme ve Bellek.....	24
2.6.1. Belleğin Aşamaları.....	26
2.6.2. Deneysel ve Mekansal Bellek Değerlendirmesi.....	27
2.6.2.1. T ve Y Labirent Testleri.....	28
2.6.2.2. Radyal Labirent Testi.....	28
2.6.2.3. Barnes Dairesel Labirent Testi.....	28
2.6.2.4. Morris Su Tankı Testi.....	29
2.7. Sitidin 5-difosfokolin (CDP-kolin).....	31
2.7.1. Sentezi ve Metabolitleri.....	30
2.7.2. CDP-kolinin Metabolizması ve Vücuttaki Dağılımı.....	32

2.7.3. CDP-kolin ve Metabolitlerinin Etkileri.....	33
2.7.4. CDP-kolinin Terapötik Etkileri.....	35
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER.....	37
3.1. Hayvanlar.....	37
3.2. Gruplar.....	37
3.2.1. Uyku Yoksunluğu (UY) Grupları.....	37
3.2.2. Ortam Kontrol (OK) Grupları.....	37
3.2.3. Kontrol Kafes (KK) Grupları.....	38
3.3. Uyku Yoksunluğu Modeli.....	38
3.4. İlaç ve Uygulanması.....	39
3.5. Öğrenme ve Bellek Testleri.....	39
3.6. Western-Blot Protokolü.....	41
3.7. İstatistiksel Analiz.....	42
4. BULGULAR.....	43
4.1. Morris Su Tankı Testi Eğitim Fazı Sonuçları.....	43
4.1.1. Platformu Bulma Süresi.....	43
4.1.1.1. Kontrol Kafes Gruplarının Karşılaştırılması.....	43
4.1.1.2. Ortam Kontrol Gruplarının Karşılaştırılması.....	44
4.1.1.3. Uyku Yoksunluğu Gruplarının Karşılaştırılması.....	45
4.1.1.4. SF Gruplarının Karşılaştırılması.....	47
4.1.1.5. C100 Gruplarının Karşılaştırılması.....	48
4.1.1.6. C300 Gruplarının Karşılaştırılması.....	49
4.1.1.7. C600 Gruplarının Karşılaştırılması.....	51
4.2. Morris Su Tankı Testi Probe Fazı Sonuçları.....	52
4.2.1. Platformun Bulunduğu Alana İlk Ulaşma Süresi.....	52
4.2.1.1. Kontrol Kafes Gruplarının Karşılaştırılması.....	52
4.2.1.2. Ortam Kontrol Gruplarının Karşılaştırılması.....	52
4.2.1.3. Uyku Yoksunluğu Gruplarının Karşılaştırılması.....	53
4.2.1.4. SF Gruplarının Karşılaştırılması.....	53
4.2.1.5. C100 Gruplarının Karşılaştırılması.....	53
4.2.1.6. C300 Gruplarının Karşılaştırılması.....	54
4.2.1.7. C600 Gruplarının Karşılaştırılması.....	54
4.2.2. Platformun Bulunduğu Alanı Çaprazlama Sayısı.....	55
4.2.2.1. Kontrol Kafes Gruplarının Karşılaştırılması.....	55
4.2.2.2. Ortam Kontrol Gruplarının Karşılaştırılması.....	56
4.2.2.3. Uyku Yoksunluğu Gruplarının Karşılaştırılması.....	56
4.2.2.4. SF Gruplarının Karşılaştırılması.....	56
4.2.2.5. C100 Gruplarının Karşılaştırılması.....	57
4.2.2.6. C300 Gruplarının Karşılaştırılması.....	57
4.2.2.7. C600 Gruplarının Karşılaştırılması.....	57
4.2.3. Platformun Bulunduğu Kadrandaki Geçirilen Süre.....	58
4.2.3.1. Kontrol Kafes Gruplarının Karşılaştırılması.....	58
4.2.3.2. Ortam Kontrol Gruplarının Karşılaştırılması.....	59
4.2.3.3. Uyku Yoksunluğu Gruplarının Karşılaştırılması.....	59
4.2.3.4. SF Gruplarının Karşılaştırılması.....	60
4.2.3.5. C100 Gruplarının Karşılaştırılması.....	60
4.2.3.6. C300 Gruplarının Karşılaştırılması.....	60
4.2.3.7. C600 Gruplarının Karşılaştırılması.....	61

4.3. Western Blot Analizi Sonuçları.....	62
4.3.1. tCaMKII/ β -Tubulin Oranı.....	62
4.3.1.1. Kontrol Kafes Gruplarının Karşılaştırılması.....	62
4.3.1.2. Ortam Kontrol Gruplarının Karşılaştırılması.....	62
4.3.1.3. Uyku Yoksunluğu Gruplarının Karşılaştırılması.....	62
4.3.1.4. SF Gruplarının Karşılaştırılması.....	63
4.3.1.5. C100 Gruplarının Karşılaştırılması.....	63
4.3.1.6. C300 Gruplarının Karşılaştırılması.....	64
4.3.1.7. C600 Gruplarının Karşılaştırılması.....	64
4.3.2. pCREB/ β -Tubulin Oranı.....	64
4.3.2.1. Kontrol Kafes Gruplarının Karşılaştırılması.....	65
4.3.2.2. Ortam Kontrol Gruplarının Karşılaştırılması.....	65
4.3.2.3. Uyku Yoksunluğu Gruplarının Karşılaştırılması.....	65
4.3.2.4. SF Gruplarının Karşılaştırılması.....	66
4.3.2.5. C100 Gruplarının Karşılaştırılması.....	66
4.3.2.6. C300 Gruplarının Karşılaştırılması.....	67
4.3.2.7. C600 Gruplarının Karşılaştırılması.....	67
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	69
6. KAYNAKLAR.....	90
7. SİMGELER VE KISALTMALAR.....	123
8. TEŞEKKÜR.....	125
9. ÖZGEÇMİŞ.....	126

TÜRKÇE ÖZET

Bu çalışmada, hızlı göz hareketleri (REM) uyku yoksunluğunun öğrenme ve bellek üzerine bilinen olumsuz etkilerine karşı farklı dozlarda sitidin 5-difosfokolin (CDP-kolin) uygulamasının etkileri incelenmiştir. Wistar albino cinsi erkek sıçanlar (n=72, 200-300 g, 8-12 haftalık) randomize olarak 12 gruba ayrılarak uygun kafeslerde takip edilmiştir.

“Flower pot” tekniği kullanılarak hayvanlar 4 gün boyunca 6.5 cm çapında bir platform üzerinde bırakılarak uyku yoksunluğu, 13 cm çapında platform üzerinde bırakılarak ortam kontrol grupları oluşturulmuştur. Morris su tankı testi ile dört gün boyunca günde iki kez eğitim fazı, 5. gün probe fazı gerçekleştirilmiştir. Morris su tankı testlerinden 30 dakika önce sıçanlara intraperitoneal olarak serum fizyolojik veya 100 µmol/kg, 300 µmol/kg, 600 µmol/kg dozunda CDP-kolin enjeksiyonu yapılmıştır. Davranış deneylerinin ardından hayvanlar dekapite edilip hipokampus bölgelerinden elde edilen homojenatlarda; Western-blot yöntemiyle fosforile siklik adenosin monofosfat yanıt elemanı bağımlı protein (pCREB), total kalsiyum kalmodulin bağımlı kinaz II (tCaMKII) ve β-Tubulin proteinlerinin analizleri yapılmıştır.

Çalışmamızda REM uyku yoksunluğunun öğrenme parametreleri üzerine etkisi olmadığı, bellek parametrelerini ise olumsuz yönde etkileyebileceği gözlemlenmiştir. CDP-kolin tedavisinin bozulan bellek üzerine olumlu yönde etki edebileceği saptanmıştır. Ayrıca uyku yoksunluğu oluşturmak için kullanılan model nedeniyle hayvanların maruz kaldığı stresin öğrenme ve bellek parametrelerini etkileyebileceği ve CDP-kolinin stres üzerine olumlu etkilerinin olabileceği gözlenmiştir. Western blot analizleri sonucunda ise total CaMKII oranı değişmezken, pCREB oranı uyku yoksunluğuna bağlı anlamlı olarak azalmıştır.

Anahtar Kelimeler: REM uyku yoksunluğu, Morris su tankı, öğrenme, bellek, CDP-kolin

İNGİLİZCE ÖZET

The Effect of CDP-choline on Learning and Memory Parameters in Sleep Deprived Rats

In this study, the effects of various doses of cytidine diphosphocholine (CDP-choline) on the well known negative effects of Rapid Eye Movements (REM) sleep deprivation on learning and memory were investigated. Male Wistar albino rats (n=72, 200-300 g, 8-12 weeks old) were randomized to 12 groups and placed in appropriate cages.

Sleep deprivation or environmental control was induced by placing rats on a platform with 6.5 cm or 13 cm diameter, respectively, for 4 days according to "Flower pot" method. Learning parameters were tested for 4 consecutive days (trial phase) and on the 5th day (probe phase) memory parameters were tested in Morris Water Maze. 30 minutes before the Morris water maze experiments saline or 100 µmol/kg, 300 µmol/kg, 600 µmol/kg doses of CDP-choline were administered intraperitoneally. After behavioral tests rats were decapitated and then phosphorylated cyclic adenosine monophosphate response element binding (pCREB), total Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II (tCaMKII) and β-tubulin proteins were analyzed in hippocampus homogenates using Western-blot technique.

In our study, we observed that selective REM sleep deprivation had no effect on learning parameters but may impair memory parameters. We determined that CDP-choline can reduce the impairment in memory parameters. It has been observed that the model used to generate sleep deprivation may cause stress therefore affects the learning and memory parameters and CDP-choline may have positive effects on stress. Western blot analyzes revealed that, the ratio of total CaMKII was unchanged while the rate of pCREB was decreased as a result of sleep deprivation.

Key Words: REM sleep deprivation, Morris water maze, learning, memory, CDP-choline

1.GİRİŞ

Uyku; organizmanın çevreden gelen uyarılara seçici yanıtızsızlık gösterdiği, geri dönüşümlü, farklı bir bilinçlilik durumudur (Pagel ve Barnes, 2001). İnsan hayatının 1/3'ünü kaplayan uykunun vücudumuzdaki fonksiyonu tam olarak bilinmese de özellikle santral sinir sistemi olmak üzere vücudun tüm sistemleri üzerinde çeşitli etkileri vardır (Van Cauter ve ark., 2008). Ortalama 7-8 saat uykunun sağlıklı bir vücut için vazgeçilmez olduğu bilinmektedir (Cirelli, 2006; Zepelin ve Rechtschaffen, 1954). Uyku dikkat, duygu ve bellek gibi bilişsel fonksiyonları da etkilemektedir (Orzel-Gryglewska, 2010). Öğrenme sürecinden sonra uyku süresinin uzaması (Lucero, 1970) ve REM uykusundan sonra bellek performansının artması (Boyce ve ark., 2016; Smith ve Lapp, 1991) uykunun öğrenme ve bellek süreci üzerinde önemli etkileri olduğunu desteklemektedir (Li ve ark., 2017; Yang ve ark., 2014). Uykunun farklı evrelerinin farklı bellek türleri üzerinde etkisi olduğu da yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Öğrenme öncesindeki ve sonrasındaki dönemde yeterli miktarda uyumanın deklaratif belleğin konsolidasyonunda ve hipokampusta sinaptik plastisitenin artmasında önemli katkısının olduğu gösterilmiştir (Diekelmann ve Born, 2010; Gais ve ark., 2007). Uzun süreli potansiyelizasyon (LTP) ve uzun süreli depresyon (LTD) sinaptik plastisitenin en çok üzerinde durulan iki formu olup öğrenme ve bellek sürecinin moleküler mekanizmasını oluşturduğu düşünülmektedir (Bliss ve Collingridge, 1993).

Uyku yoksunluğunun öğrenme ve bellek için önemli olan hücresel düzeydeki moleküler olaylar üzerine olumsuz etkileri olduğu gözlenmiştir (Havekes ve ark., 2016; Orzel-Gryglewska, 2010). Uyku yoksunluğu sonucunda hipokampusta sinaptik plastisite için çok önemli olan N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörler aracılı sinyalizasyonun (Liu ve ark., 2016; Kopp ve ark., 2006), eksitator sinaptik transmisyonunun bozulduğu (McDermott ve ark., 2006; Xie ve ark., 2016) ve LTP'nin inhibe olduğu (Youngblood ve ark., 1999) saptanmıştır. Kalsiyum kalmodulin bağımlı kinaz II (CaMKII) hipokampusta uzun süreli potansiyelizasyon için önemli bir moleküldür (Okamoto ve ark., 2007). Uyku yoksunluğu sonucunda hipokampusta fosforile kalsiyum kalmodulin bağımlı kinaz II (pCaMKII) protein

ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir (Alhaider ve ark., 2010). Siklik adenozin monofosfat yanıt elemanı bağımlı protein (CREB) de sinaptik plastisitede önemli rolü olan transkripsiyon faktörlerinden biridir. CREB gen ekspresyonunun da uyku yoksunluğu sonrasında hipokampusta azaldığı gösterilmiştir (Guzman-Marin ve ark., 2006). Uyku yoksunluğu ayrıca hipokampal hücre proliferasyonunu (Guzman-Marin ve ark., 2003) ve nörogenezi (Guzman-Marin ve ark., 2005) baskılayarak da öğrenme ve bellek sürecine olumsuz etki etmektedir (Kreutzmann ve ark., 2015).

Hücre zarının temel fosfolipit bileşeni olan fosfatidilkolinin sentezindeki hız kısıtlayıcı basamakta ortaya çıkan CDP-kolin ise öğrenme ve bellek üzerine olumlu etkileri olduğu gösterilmiş mononükleotid yapısında bir bileşiktir (Bruhwyler ve ark., 1998; De Bruin ve ark., 2003; Sanches, 1983; Teather ve Wurtman, 2003).

Uyku yoksunluğu ve beraberinde getirdiği sağlık problemleri birçok toplum için büyüyen bir sağlık sorunu haline gelmiştir (Horne, 2004). Bunun üzerine uyku yoksunluğunun organizma üzerinde nasıl etkiler oluşturduğu ve bu etkileri geri çevirebilecek yeni moleküllerin araştırılması birçok çalışmanın konusu olmuştur. Deneysel olarak hayvanlarda uyku yoksunluğu oluşturmak için birçok yöntem geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntemlerin avantajları olduğu gibi stres oluşturma gibi dezavantajları da mevcuttur (Sucheckı ve ark., 2012). REM uyku yoksunluğunun öğrenme ve bellek üzerine olumsuz etkileri çeşitli davranış testleriyle gösterilmiştir (Yang ve ark., 2008). Morris su tankı öğrenme ve bellek sürecinin incelenmesinde sıklıkla kullanılan davranış testlerinden biridir.

Biz de bu çalışmamızda Flower pot metodu ile REM uyku yoksunluğunun ve oluşan stresin öğrenme ve bellek üzerine olan etkilerini Morris su tankı testiyle, hipokampus ve LTP yolağına olan moleküler etkilerini Western blot analizi ile inceledik. CDP-kolin tedavisinin farklı dozlarının bu etkiler üzerindeki rolünü araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Uykunun Genel Özellikleri

Uyku, iyi organize edilmiş kompleks davranışlar bütünüdür. Motor aktivitenin ve uyarılara karşı tepkinin azaldığı, homeostatik ve sirkadiyen olarak düzenlenen, farklı nöron gruplarının etkilendiği fizyolojik bir olaydır (Rama ve ark., 2006; Stenberg, 2007). Birbirini tamamlayan elektrofizyolojik ve bilişsel bileşenleri bulunan farklı bir bilinçlilik durumudur. Uykunun, hücre içi mekanizmalardan başlayarak organizmanın her seviyesinde gerçekleşen fizyolojik olaylar üzerinde kontrol edici bir etkisinin olduğu düşünülmektedir (Pace-Schott ve Hobson, 2002).

Memelilerde uyku; Hızlı Göz Hareketleri (REM) ve non-REM (NREM) olmak üzere iki dönemden oluşur. Uykunun evrelerinin ayırt edilebilmesi için elektroensefalografi (EEG), elektromiyografi (EMG), elektrookülografi (EOG) olmak üzere üç temel polisomnografik inceleme kullanılır.

2.1.1. NREM Uykusu

Uykuda geçen toplam sürenin yaklaşık %75-80 ini kapsar. Uyku genellikle NREM uykusu ile başlar. NREM uykusu sırasındaki EEG paternleri genel olarak uyku içcikleri, K kompleksleri ve yüksek voltajlı yavaş dalgalar ile birlikte senkronize olarak tanımlanır (Carskadon ve Dement, 2011). EEG verileri doğrultusunda 4 evreye ayrılır (Rama ve ark., 2006).

2.1.1.1. Evre 1

Toplam uyku süresinin yaklaşık %3-8'ini kapsar. Uyanıklık ile uykunun diğer evreleri arasındaki geçiş aşamasıdır. EEG'de uyanıklıkta karakteristik olan düşük voltajlı alfa dalgaları (8-13 Hz) ve yüksek amplitüdü teta dalgaları (4-7 Hz) görülür. EMG aktivitesi düşer. EOG'de yavaş göz hareketleri görülür.

2.1.1.2. Evre 2

NREM uykusunun 10-12. dakikalarında başlar ve toplam uyku süresinin %45-55'ini oluşturur. Bu evrede uyku içcikleri ve K kompleksleri görülür. Uyku içcikleri 12-14 Hz'lik 0,5 saniye kadar süren diken şeklinde dalgalardır. Talamokortikal nöronlar üzerinde ritmik inhibitor impulslar oluşturan talamik retiküler nöronlar tarafından oluşturulur. K kompleksinin ise pozitif dalgayı takip eden negatif dalgadan oluşan iki bileşeni vardır. Delta dalgaları (0,5-4 Hz) az miktarda da olsa gözlenebilir. EMG aktivitesi uyanıklığa oranla azalmıştır. EOG'de göz hareketi gözlenmez.

2.1.1.3. Evre 3 ve Evre 4

Bu evrelerin ikisine birden 'Yavaş Dalga Uykusu' adı da verilir. Toplam uyku süresinin yaklaşık %15-20'si bu evrede geçer. Yüksek amplitüdü düşük frekanslı (0,5-4 Hz) delta dalgaları gözlenir. Evre 3 orta derecede yüksek amplitüdü yavaş dalga aktivitesi içerirken, evre 4 fazla miktarda yüksek amplitüdü yavaş dalga aktivitesi ile karakterizedir. Kas tonusu uyanıklığa göre azalmıştır. EOG'de göz hareketi gözlenmez.

2.1.1.4. NREM Uykusunun Mekanizması

NREM uykusunu oluşturan nöronlar medulla oblongatada traktus solitarius çekirdeğinde, beyin sapında rafe çekirdeğinde, talamusta retiküler çekirdekte, ön hipotalamusta preoptik bölgede, bazal ön beyinde ve orbital kortekste bulunmaktadır. Uykunun başlatılmasında en önemli etkisi olan bölgelerin ön hipotalamus ve bazal ön beyin bölgesi olduğu kanıtlanmıştır. Gamma-aminobütirik asit salgılayan (GABA-erjik) inhibitör nöronlar arka hipotalamustaki histaminerjik nöronların inhibisyonunu sağlar. Rafe çekirdeğindeki serotonerjik nöronlar kortikal aktivasyonu azaltarak yavaş dalga uykusunun başlatılmasını sağlarken, talamustaki retiküler çekirdekler ise EEG'deki uyku içciklerinin oluşumundan sorumludur (McGinty ve Szymusiak, 2001).

2.1.2. REM Uykusu

Toplam uyku süresinin %20-25'i REM uykusunda geçer. İlk REM uykusu NREM uykusu başladıktan yaklaşık 60-90 dakika sonra başlar. REM uykusu desenkronize EEG aktivitesi, hızlı göz hareketleri ve kas atonisi ile karakterizedir.

REM uykusu boyunca EEG'de teta dalgaları ve düşük voltajlı yavaş alfa dalgaları görülür (Buzsaki, 2002). Ponstaki kolinerjik nöronlar tarafından oluşturulan oradan genikulat cisme ve sonrasında oksipital kortekse ulaşan potansiyeller ponto-genikulo-okspital (PGO) dikenleri oluşturur. Bu dalgalar da hızlı göz hareketlerinin oluşumundan sorumludur (Callaway ve ark., 1987).

EEG, EMG ve EOG'ye göre REM uykusu tonik ve fazik olmak üzere iki evreye ayrılabilir. Tonik evrede iskelet kaslarında atoni, polisinyaptik ve monosinyaptik reflekslerde baskılanma gözlenir. Fazik evre ise; çene ve dudak kaslarında seyirmeler, düzensiz solunum, kan basıncında ve kalp hızında değişiklikler ve hızlı göz hareketleri ile karakterizedir (Oksenberg ve ark., 2001). REM uykusundaki mental aktivitenin rüyalara neden olduğu düşünülmektedir. REM uykusu sırasında sadece diyafram, kalp kası, göz kasları ve gastrointestinal sistem sfinkterleri aktiftir yani vücut genel olarak paralizdir (Carskadon ve Dement, 2011).

2.1.2.1. REM Uykusunun Mekanizması

REM uykusunda beyinde uyanıklık benzeri aktivite gözlenir. Retiküler formasyondaki nöronlarda, neokortekste, beyin sapındaki ve ön beyindeki kolinerjik nöronlardaki uyarılabilirlik uyanıklık ile hemen hemen eşittir (Steriade ve Hobson, 1976).

Pontomezensefalik bölgede özellikle laterodorsal tegmental (LDT) ve pedikülopontin tegmental (PPT) alan REM uykusunun başlatılmasından sorumlu olan kolinerjik REM-on nöronlarını içerir. REM-on nöronları ayrıca pozitif geri bildirim mekanizmasıyla REM uykusunun devamlılığını da sağlar. REM-on nöronlarının yoğun aktivitesi ise dorsal rafe ve lokus seruleustaki monoaminerjik REM-off nöronlarını aktive eder. Aktive olan REM-off nöronları hem REM-on nöronlarını hem de kendi nöronlarını inhibe eder. Böylece REM-on nöronları tekrar aktive olarak yeni REM döngüsünü başlatır (McCarley, 2007).

LDT ve PPT çekirdekleri ventral medulla aracılığı ile spinal korddaki alfa motor nöronlara projekte olur. Bu projeksiyon REM uykusu boyunca glisin salınımı aracılığı ile iskelet kası atonisini sağlar (Werman ve ark., 1968). Kaudal pontin retiküler formasyon motor nöron inhibisyonunu sağlayacak olan mediyal medüller retiküler formasyonun aktivitesini arttırır. Böylece REM uykusunda motor nöronlarda aktif bir inhibisyon oluşurken beyindeki motor merkezlerde ise aktivite artışı vardır (Chase ve Morales, 1990). Ayrıca ponsun subseruleus bölgesine bilateral lezyon uygulandığında kas atonisi olmadan REM uykusu olduğu gözlenmiştir (Morrison, 1988).

Lateral hipotalamusta lokalize hipokretin nöronları da uyanıklık ve REM uykusunun modülasyonu için önemlidir. Beyin sapı ve ön beyine yaygın projeksiyon gösterip, monoaminerjik ve kolinerjik nöronları innerve ederler. Hipokretin nöronları REM uykusunu inhibe eder ve uyanıklığı oluştururlar (Franken ve ark., 2001).

2.1.3. NREM-REM döngüsü

İnsanlarda NREM-REM döngüsü gece boyunca 90-110 dakikada bir, yaklaşık 4-6 siklus olarak görülür. Kemirgenlerde ise 10-15 dakikada bir, çok fazla sayıda siklus görülebilir (Vivaldi ve ark., 2005). NREM/REM uykusunun oranı gece boyunca değişir. İlk REM uykusu dönemi sadece birkaç dakika sürerken ilerleyen saatlerde bu süre uzar. Uykunun ilk 1/3'lük periyodunda yavaş dalga uykusu hakimken son 1/3'lük periyodunda REM uykusu hakimdir. Serotonin, norepinefrin ve asetilkolin uyku dönemleri arasındaki geçişte önemli nörotransmitterlerdir. Beyin sapındaki kolinerjik retiküler nöronların uyarılması ile asetilkolin seviyeleri artar ve REM dönemine geçilir. REM uykusunda kortizol ve asetilkolin düzeyleri yüksekken NREM uykusunda serotonin ve noradrenalin düzeyleri yüksektir (Walker ve Stickgold, 2006).

2.2. Uyku-Uyanıklık

Uyanıklık, pons ve orta beynin kesiştiği üst beyin sapından başlayan, diensefalona devam eden ve buradan sonra iki yola ayrılan Assendan Retiküler Aktive Edici Sistem (ARAS) tarafından sağlanır (Lin ve Anaclet, 2011).

Diensefalondan sonra ayrılan bir yol talamusu innerve ederken diğer yol ise hipotalamus ve ön beyine uzanır (Fuller ve ark., 2006).

Talamusu innerve eden yol talamokortikal aktarım için kolinerjik yapıdaki PPT ve LDT çekirdeklerini aktive eder. REM uykusu ve uyanıklıkta aktif olan bu çekirdekler NREM uykusunda yavaş deşarj gösterirler (Saper ve ark., 2001).

ARAS'ın ikinci kolu hipotalamus, bazal ön beyin üzerinden serebral kortekse projekte olur. Bu kolda noradrenerjik lokus seruleus (LC) nöronları, serotonerjik dorsal rafe (DR) çekirdeği, dopaminerjik ventral periakvaduktal gri madde (vPAG) nöronları ve histaminerjik tuberomamiller (TM) çekirdeği bulunur (Schwartz ve Roth, 2008). Bu sistemin dışında, serebral korteksin aktivasyonunda rol oynayan melanin konsantre edici hormon veya oreksin/hipokretin içeren lateral hipotalamik peptiderjik nöronlar, asetilkolin ve GABA içeren bazal önbeyin çekirdekleri gibi birçok serebrokortikal afferentler de tanımlanmıştır (Saper ve ark., 2005). Monoaminerjik sistemdeki bu nöronlar uyanıklık sırasında çok hızlı deşarj olurlar. NREM uykusu sırasında bu deşarj yavaşlar ve REM uykusu sırasında çok az aktivite gösterirler. Oreksin/hipokretin nöronları uyku-uyanıklık döngüsünde kararlılık sağlayan nöronlardır (Saper ve ark., 2005).

ARAS, ventrolateral preoptik çekirdeğin (VLPO) nöronları tarafından salgılanan GABA ve galanin tarafından uyku boyunca inhibe edilir (Sherin ve ark., 1998). ARAS ve VLPO arasındaki etkileşim sürekli ve yavaş bir şekilde değişen homeostatik ve sirkadiyen girdilerle (Saper ve ark., 2001) karşılıklı olarak inhibe edilerek uyku uyanıklık arasındaki denge ve geçiş sağlanır (Gallopın ve ark., 2000).

2.2.1. Uykunun Homeostatik Regülasyonu

Homeostatik mekanizmaya göre uyku, uzun süreli uyanıklık sonrasında vücudun denge durumuna dönmesini sağlayan restoratif bir süreçtir. Bu teoriye göre uyku süresi uykudan yoksun geçirilen süreye bağlıdır. Adenozin bazal önbeyinde homeostatik kontrolün önemli düzenleyicilerindendir. Uyanıklık süresince glikojenin adenozine yıkılması sonucunda ekstrasellüler adenozin miktarı artar ve uyku ihtiyacı ortaya çıkar (Kong ve ark., 2002). Adenozin ayrıca GABA-erjik girişleri kısıtlayarak VLPO nöronlarını da aktive eder (Chamberlin ve ark., 2003).

2.2.2. Sirkadiyen Ritim

Canlıların 24 saat süren biyolojik döngüsünü ifade eden sirkadiyen ritim; hücrenel, sistematik ve davranışsal olarak kontrol edilen moleküler olaylara bağlıdır (Achermann ve Borbely, 2003). Hipotalamustaki suprakiazmatik çekirdek (SCN) bu mekanizmanın kontrol bölgesidir (Saper ve ark., 2005). Gündüz güneş ışığı karanlıkta ise melatonin sirkadiyen ritmin oluşmasını sağlayan iki önemli uyarandır. Güneş ışınları retinadaki melanopsin içeren ganglion hücrelerini uyarır. Burada oluşan uyarılar retinohipotalamik yol aracılığı ile SCN'ye, oradan da paraventricüler çekirdeğe ve pineal bezde iletilerek uyanıklığın devamlılığı sağlanır (Roenneberga ve ark., 2007). Karanlıkta ise pineal bezden salgılanan melatonin uykunun başlatılmasını sağlar (Cajochen ve ark., 2003).

Sirkadiyen ritmin oluşması uykudan yoksun veya uyanık geçirilen süreden bağımsızdır. Fakat SCN lezyonu sonrasında hem sirkadiyen ritmin kaybolması hem de toplam uyku süresinin uzaması sirkadiyen ve homeostatik süreçlerin etkileşim içinde olduğunu düşündürmüştür (Edgar ve ark., 1993).

2.3. Uyku Yoksunluğu

Uyku, tüm canlıların fizyolojik fonksiyonlarının birçoğunu direkt veya indirekt olarak etkileyen, sağlık ve bilişsel beceriler için oldukça önemli fizyolojik bir olaydır (Markwald ve ark., 2013). Uyku yoksunluğu ise uzamış uyanıklık olarak da tanımlanabilir. Uyku yoksunluğu homeostatik dengenin bozulmasına ve strese yol açar (Killick ve ark., 2012). Uyku yoksunluğunun dikkati ve belleği kötü yönde etkilediği kanıtlanmıştır. Ayrıca uyku yaşamın devam etmesi için de vazgeçilmezdir. Kronik uyku yoksunluğuna maruz bırakılan sıçanların 2-3 hafta sonra öldüğü gözlenmiştir (Rechtschaffen ve ark., 1999).

Uyku yoksunluğunun fizyolojik fonksiyonlar üzerindeki etkilerini gösterebilmek için birçok deneysel model kullanılmaktadır. Bu modeller:

2.3.1. Flower pot Modeli

Flower pot modeli ilk kez 1964 yılında kedilerde kullanılmış (Jouvet ve ark., 1964) ve daha sonra sıçanlar için modifiye edilmiştir (Cohen ve Dement, 1965). Flower pot modelinde, deney hayvanı su dolu bir tankın içinde bulunan küçük

dairesel bir platform üzerine konular. REM uykusuna geçiş esnasında hayvan kas tonusunu kaybederek suya düşmesi sonucunda uyanır ve böylelikle REM uyku yoksunluğu oluşturulur. Platformun yüzey alanı sıçanlar için 6,5-11 cm çaplı olmalıdır (Kushida ve ark., 1989; Mendelson ve ark., 1974). Hayvanların uyumasına izin veren daha büyük çaplı platformlar (sıçanlar için çapın 11 cm'den fazla olması gereklidir) ise negatif kontrol olarak kullanılır (Youngblood ve ark., 1997). Bu teknik; efektif ve ucuz olması, invazif işlem gerektirmemesi, aynı anda birden çok hayvana uygulanabilmesi nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedir. Uykunun diğer evrelerini etkilemeden sadece REM uyku yoksunluğu yapabildiği elektrofizyolojik çalışmalarla kanıtlanmış ve bu nedenle diğer yöntemlere göre üstün olduğu gösterilmiştir (Van Luijtelaar ve Coenen, 1986). Ayrıca bu tekniğin diğer bir önemli avantajı da saatler süren kısa süreli REM uyku yoksunluğu yapılabileceği gibi (Coll-Andreu ve ark., 1989) haftalar süren kronik REM uyku yoksunluğu da oluşturulabilmesidir (Hicks ve ark., 1977; Mendelson ve ark., 1974). Ancak 24 saat veya daha kısa süreli REM uyku yoksunluğu sırasında büyük platformdaki hayvanlarda da bir miktar REM uyku yoksunluğu olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubu oluşturmada oluşabilecek sıkıntılar nedeniyle REM uyku yoksunluğunun 24 saatten kısa sürmesi planlanan deneylerde bu metodun kullanılması önerilmemektedir (Mendelson, 1974).

2.3.2. Su Üstünde Disk Modeli

Su üstünde disk metodu ise hem REM uyku yoksunluğu hem total uyku yoksunluğu oluşturmak için kullanılabilir (Bergmann ve ark., 1989a; Rechtschaffen ve ark., 1983). Deney hayvanları suyun üzerine yerleştirilmiş dönen bir platform veya disk üzerine yerleştirilir. Deney hayvanının uyanıklıktan uykuya veya NREM'den REM uykusuna geçtiği elektroensefalografi yardımıyla gösterildiğinde, bilgisayar bağlantılı otomatik düzenek diskin düşük hızda döndürülmesine neden olur. Hayvan su ile temastan kaçınmak için uyanmak ve yürümek zorunda kalır, böylece uyku yoksunluğu oluşturulur (Bergmann ve ark., 1989a; Bergmann ve ark., 1989b). Bu yöntemle REM uyku yoksunluğu oluşturulan hayvanların ortalama 5 hafta sonunda öldükleri gözlenmiştir (Kushida ve ark., 1989).

Flower pot ve su üstünde disk modeli ile yapılan deneylerde hayvanların sosyal izolasyon, immobilizasyon ve kas yorgunluğu gibi stres faktörlerine maruz kalması kaçınılmazdır (Suchecki ve ark., 2000; Tiba ve ark., 2008). Fareler kafes üzerindeki metal tellere tutunarak hareket edebildiği için immobilizasyon stresinden sıçanlara göre daha az etkilenirler (Bergmann ve ark., 1989a).

2.3.3. Modifiye Çoklu Platform Modeli

Hareket kısıtlılığını ve sosyal izolasyon stresini önlemek amacıyla geniş bir tankın içine fazla sayıda platform ve platformların bir kısmının boş kalması şartıyla birden fazla hayvan konularak oluşturulan modifiye çoklu platform modeli REM uyku yoksunluğu çalışmalarında kullanılmaktadır. Flower pot modelinde olduğu gibi ortamın etkilerini saptamak amacıyla büyük çaplı (sıçanlar için çapın 11 cm'den fazla olması gereklidir) platformlar yardımıyla kontrol grupları oluşturulur (Machado ve ark., 2004; Suchecki ve ark., 2000).

2.3.4. Koşubandı ve Dönen Çark Modeli

Hayvanlarda uyku yoksunluğu oluşturmak için kullanılan bir diğer yöntem de koşu bandı veya dönen çark modelidir. Bu modelde kafesin içine yavaş hareket eden (örneğin 0,02 m/s) otomatik koşu bandı veya dönen çark yerleştirilir (Guzman-Marin ve ark., 2006). Flower pot tekniğine göre daha az stresli bir model olsa da hayvanlar sürekli zorunlu aktiviteye maruz kaldıkları için uyku yoksunluğu ile bağlantısız birçok etki de gözlenebilir (Guzman-Marin ve ark., 2005; Roman ve ark., 2005).

2.3.5. Kafese Tıklatma ve Nazik Dokunuş Modeli:

Total uyku yoksunluğu oluşturmak için kullanılabileceği gibi EEG monitorizasyonu yardımıyla REM uyku yoksunluğu da oluşturulabilir (Dement, 1960). Uyanıklıktan uykuya veya NREM'den REM evresine geçiş esnasında hayvanın kafesine vurularak veya hayvana dokunularak hayvanın uyanması sağlanır. Uyku yoksunluğu oluşturmanın en az stresli yolu olduğu düşünülmektedir (van der Borgh ve ark., 2006). Fakat araştırmacının sürekli denetimi gerektiği için sadece kısa süreli uyku yoksunluğunda kullanılmaktadır (Rechtschaffen ve ark., 1999).

2.3.6. Yeni Obje Sunma Modeli

Bu model hayvanların yeni bir uyarana sonucunda çevreyi keşfetmeye karşı olan yatkınlığı üzerine oluşturulmuştur (Ennaceur ve Delacour, 1988). Bu keşfetme dürtüsü hayvanın uyanık kalmasını sağlamaktadır. Bu yöntemin en önemli avantajı dışarıdan bir etki ile değil endojen olarak gelişen bir uyku yoksunluğu olmasıdır. Her hayvanın yeni uyarana vereceği tepki değişkenlik gösterebileceği için kontrolü zor bir metottur (Duclot ve ark., 2011). Ayrıca uzun süre uygulanırsa yeni uyarana maruz kalma sonucu gelişen gen ekspresyonu değişikliklerini uyku yoksunluğu sonucunda gelişenlerden ayırt etmek oldukça zordur (da Costa Souza ve Ribeiro, 2015).

2.3.7. Sarkaç Modeli

Bu modelde hayvanlar salıncak gibi sallanabilen bir sarkaç düzeneğine konurlar. Postural bir dengesizliğe girdiklerinde düzenek çalışır, böylece hayvan uyanmak ve yürümek zorunda kalır. Yeni bir ortama transfer edilmeden kendi kafesleri içinde deney gerçekleştirdiği için stresin daha az olduğu bir yöntemdir (Van Hulzen ve Coenen, 1980).

Bu modellerin kullanılmasıyla total, parsiyel veya selektif uyku yoksunluğu oluşturularak uykunun önemi hakkında birçok araştırma yapılmıştır. Total uyku yoksunluğu oluşturmak için deneğin en az 24 saatlik bir döngü boyunca uyuması engellenmelidir. 40 saatten uzun süren uyku yoksunluğuna ise uzamış total uyku yoksunluğu denilmektedir. Parsiyel uyku yoksunluğu ise alışılmıştan daha az uyumaktır. Uyku süresinin günler içinde kademeli olarak veya tek seferde birden azalması ile oluşabilir (Naitoh ve ark., 1990). Parsiyel uyku yoksunluğu bazı ilaçlar, uyku bozuklukları, çalışma koşulları veya yaşam koşullarına bağlı olarak gelişebilir (Weinger ve Ancoli-Israel, 2002). Selektif uyku yoksunluğu ise uykunun belirli dönemlerinde (örneğin REM veya NREM) uyumanın engellenmesi ile oluşturulabilir (Naitoh ve ark., 1990).

Uyku yoksunluğu sonucu ortaya çıkan etkiler uyku yoksunluğunun süresine, yoksunluğun uykunun hangi evrelerini kapsadığına, hangi model ile oluşturulduğuna, yaşa ve cinsiyete bağlıdır (Alhola ve Polo-Kantola, 2007). Akut dönemde dikkat eksikliği, rahatsızlık hissi ve hatırlama güçlüğü gibi etkiler gözlenirken uyku

yoksunluğu kronikleştikçe (genellikle 96 saat sonrasında) hiperaljezi (Roehrs ve ark., 2006), kilo kaybı (Everson ve Wehr, 1993), hipotermi (Bergmann ve ark., 1989a), immun sistem bozuklukları (Everson, 1993), kardiyovasküler sistem problemleri (Ogawa ve ark., 2003), dislipidemi (Kaneita ve ark., 2008), tip 2 diabetes mellitus riski artışı (Stamatakis ve Punjabi, 2010) ve bellek bozukluğu gibi etkiler de ortaya çıkmaktadır.

2.4. Uyku Yoksunluğunun Öğrenme ve Bellek Üzerine Etkileri

Uygunun bilişsel fonksiyonlar üzerinde çok önemli etkileri vardır. Uygunun farklı evrelerinin öğrenme ve bellek oluşumu için önemli olduğu (Plihal ve Born 1997; Plihal ve Born, 1999) ve uyku yoksunluğunun belleği olumsuz yönde etkilediği uzun yıllardır bilinmektedir (Jenkins ve Dallenbach, 1924; Morris ve ark., 1960). Günümüzdeki uyku yoksunluğu ile ilgili yapılan birçok çalışma oluşan öğrenme ve bellek hasarının moleküler mekanizmasının çözümlenmesi ve hasara engel olabilecek yeni moleküllerin araştırılması üzerine kurgulanmaktadır.

Bilişsel fonksiyonlarda çok önemli olan hipokampal formasyon; dentat girus, hipokampus, subikulum, perisubikulum, parasubikulum ve entorhinal korteksten oluşur (Lavenex ve ark., 2007). Hipokampal formasyon öğrenme ve bellek işlevinde, duygusal ve motor davranışların düzenlenmesinde önemli rol oynar (Milner ve ark., 1998; Phelps, 2004). Spasyal öğrenme için entegre sinir ağı oluşturan farklı beyin bölgelerinin birlikte hareket etmesi gerekse de en önemli beyin bölgesinin hipokampus olduğu kanıtlanmıştır. Hipokampus uzun süreli bellek (özellikle deklaratif bellek) ve spasyal navigasyonda önemli olan limbik sisteme ait bir beyin bölgesidir (Squire, 1992). Medial temporal lob içinde, lateral ventrikülün temporal boynuzunun zemini boyunca uzanan bir yapıdır (Barr ve Klernam, 1988). İnsanlar ve hayvanlarda yapılan çalışmalar sonucunda hipokampusun, fonksiyonel özellikleri farklı olan heterojenik bir yapıya sahip olduğu gösterilmiştir (Fanselow ve Dong, 2010; Strange ve ark., 2014). Farklı nöronal hücreler hipokampusta katmanlar halinde organize edilmiştir ve bu özelliği nedeniyle nörofizyolojik incelemelerde sıklıkla kullanılmaktadır (Isaacson, 2002). Entorhinal korteks hipokampal girdi ve çıktının en önemli kaynağıdır. Serebral korteks ile çok sıkı bağlantı içindedir ve bu sayede hipokampus ve diğer bölgeler arasında bir arayüz görevi görür. Yüzeysel

katmanlar hipokampus girdilerini sağlarken daha derin katmanlar hipokampus çıktıklarından sorumludur. Hipokampusta bilgi akışı genellikle dentat giristan CA3 bölgesine, oradan CA1 bölgesine ardından subikulum ve entorhinal kortekse doğrudur. Bu bölgelerin her biri ayrıca kendi iç devrelerine de sahiptir (Amaral ve Witter, 1989; Andersen ve ark., 1971). Entorhinal ve peririnal korteksi kapsayan hipokampusa bitişik korteks bölgesi ise parahipokampal girus olarak isimlendirilir. Peririnal korteks kompleks görsel simgelerin tanınmasında önemlidir (Eichenbaum ve ark., 2007).

Hipokampustan alınan EEG kayıtlarında teta dalgaları ve büyük irregüler aktivite olmak üzere iki önemli aktivite gözlenmektedir. Teta dalgası REM uykusu ve lokomotor sistemin aktif olduğu dönemlerde gözlenir. Bu dalganın öğrenme ve bellek için önemli olduğu düşünülmektedir (Huerta ve Lisman, 1993; Winson, 1978). Büyük irregüler aktivite ise teta dalgalarına göre biraz daha geniş, düzensiz keskin dalgaları kapsamakta ve yavaş dalga uykusu, immobil uyanıklık durumunda gözlenmektedir. Keskin dalgaların, hipokampus içindeki bağlantıların güçlendirilmesinde ve belleğe alınan bilgilerin yeniden aktifleştirilmesinde önemli olduğu bilinmektedir (Sutherland ve McNaughton, 2000).

Hayvanlarda dorsal hipokampusta oluşturulan bir lezyon sonucunda spasyal öğrenmenin bozulduğu bilinmektedir (Kheirbek ve ark., 2013). Ayrıca spasyal öğrenme testi sonrasında dorsal hipokampusta aktivite artışının olduğu gözlenmiştir (Colombo ve ark., 1998). İnsanlarda yapılan çalışmalarda da taksi sürücüsü gibi spasyal bilgiyi fazla kullanan bireylerin, hayvanlardaki dorsal hipokampusa eşdeğer olan posterior hipokampusunun daha büyük olduğu gösterilmiştir (Maguire ve ark., 2000).

Hayvanlarda ventral hipokampusta meydana gelen lezyon sonucunda ise davranış, sosyal ilişkiler ve strese karşı yanıtta değişiklikler olmaktadır (Henke, 1990; Stevens ve Cowey, 1973). İnsanlarda da hayvanlardaki ventral hipokampusa eşdeğer olan anterior hipokampusun depresyon sonucu küçüldüğü ve antidepresan kullanan insanlarda daha büyük olduğu gösterilmiştir. Anksiyete sonrasında anterior hipokampusun metabolizma hızının arttığı da saptanmıştır (O'Leary ve Cryan, 2014).

Hayvanların tanıdıkları belirli bir yerden geçerken belirli nöronların aksiyon potansiyeli oluşturduğu gözlenmiştir. Beyindeki uzaysal konumumuzun ve çevrenin

temsilinin sürekli olarak güncellendiği ve bunun hipokampal yer hücreleri tarafından sağlandığı bulunmuştur. Hipokampusta meydana gelecek bir hasar sonucunda insanlar ve hayvanlar nerede olduklarını veya nereye gideceklerini hatırlamakta güçlük çekerler (Moser ve ark., 2008).

Yaşlanma ile birlikte hipokampusta hücre kaybından çok sinaptik bağlantılarda çeşitli değişiklikler olduğu ve bunun sonucunda bazı bellek türlerinin zayıfladığı ayrıca sinaptik plastisite ile ilgili genlerin ekspresyonunda azalma olduğu gözlenmiştir (Burke ve Barnes, 2006; Rosenzweig ve Barnes, 2003).

Hipokampus uyku yoksunluğuna duyarlı bir beyin bölgesidir (Acosta-Pena ve ark., 2015). Uyku yoksunluğu çalışmaları sonucunda, hipokampus bağımsız belleğin etkilendiği hipokampus bağımlı belleğin etkilendiği kanıtlanmış bu da hipokampusun uyku yoksunluğuna duyarlılığını ispatlamıştır (McDermott ve ark., 2003). Uyku yoksunluğu sonucunda hipokampusta meydana gelen değişiklikler öğrenme ve bellekte meydana gelen bozulmaların altında yatan başlıca nedendir. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda uyku yoksunluğunun spasyal belleği bozduğu gösterildiği gibi (Hagewoud ve ark., 2010a) insan çalışmalarında da hipokampal aktiviteyi azalttığı (Van der Werf ve ark., 2009) ve episodik bellek kodlanmasını bozduğu gösterilmiştir (Yoo ve ark., 2007).

Uyku yoksunluğu hipokampustaki sinaptik plastisiteyi de olumsuz yönde etkiler. Sinaptik plastisite; sinapsların güçlenmesi veya zayıflamasını, reseptör yapısı ve sayısındaki değişiklikleri, sinaps sayısındaki ve postsinaptik sinyal ileti mekanizmalarındaki değişiklikleri ifade eder. Bilişsel işlevlerin ve bellek sürecinin genel olarak ilgili nöronlar arasındaki sinaptik ileti gücününün değişimine bağlı olduğu düşünülmektedir (Benington ve Frank, 2003; Lynch, 2004).

Aktiviteye bağlı sinaptik plastisite için kabul gören model Hebbian sinapsıdır. Bu kavrama göre eğer presinaptik nöron postsinaptik nöronun aktivasyonuna katkıda bulunuyorsa güçlenir, katkıda bulunmuyorsa zayıflar. Yani eğer presinaptik ve postsinaptik nöron eşzamanlı olarak aktive oluyorsa aralarındaki bağ güçlenir, olmuyorsa zayıflar (Hebb, 1949). Postsinaptik yanıt ise nöronal aktivite veya uygulanan kimyasal maddeye göre zayıflayabilir veya güçlenebilir. Potansiyelizasyon veya depresyon, presinaptik bir uyarıya postsinaptik yanıtın ölçümüdür.

Sinaptik plastisitenin bir örneği olan LTP ilk olarak hipokampusta ortaya koyulmuş ve sıklıkla bu bölgede incelenmiştir. LTP presinaptik nöronun hızla tekrarlanan uyarısına karşılık postsinaptik potansiyel yanıtının kalıcı güçlenmesidir. Posttetanik güçlenmeye benzer fakat çok daha uzun sürelidir ve günlerce devam edebilir. Şu anda bilişsel işlev ve bellek sürecinin altında yatan en güçlü mekanizmadır (Miller ve Mayford, 1999).

LTP, sinapslarda tekrarlayan tetanik stimülasyon veya yüksek frekanslı sinaptik aktivasyon devam ederken direkt depolarizasyonla oluşturulabilir (Paulsen ve Sejnowski, 2000).

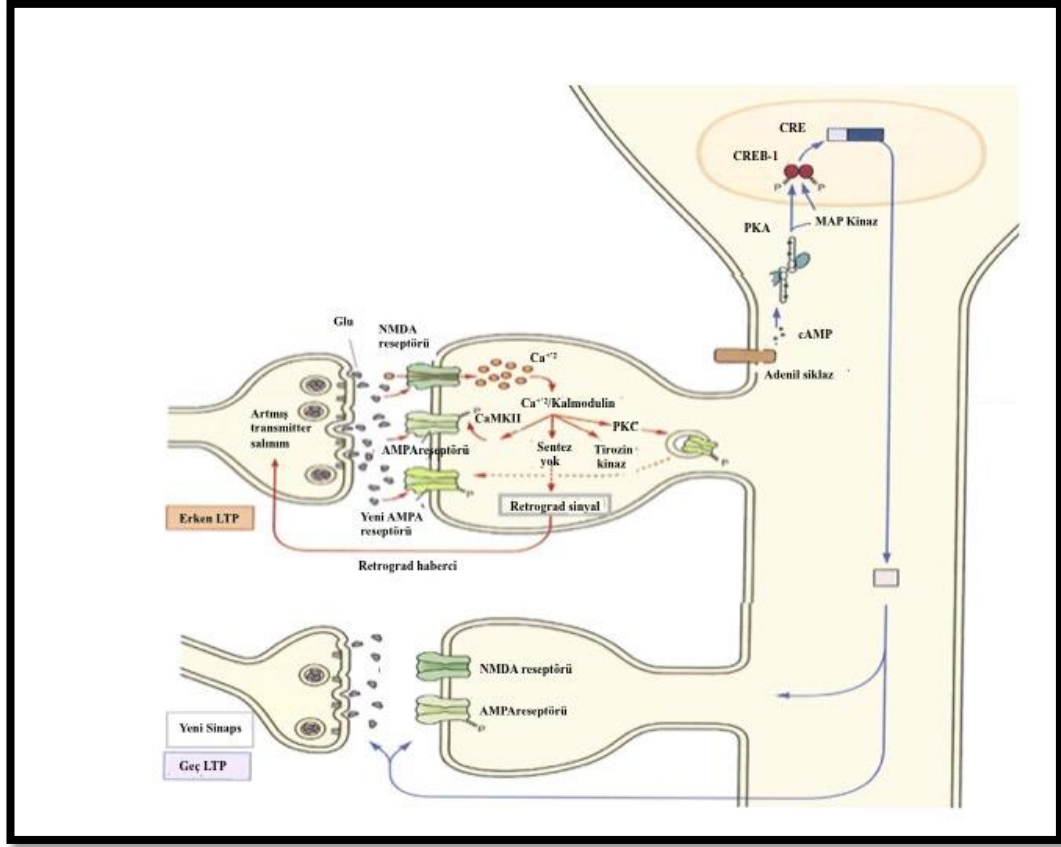
LTP iki fazdan oluşur. Erken faz LTP 1-3 saat arası sürer. Bir dizi aksiyon potansiyeli tarafından oluşturulur. Yeni protein sentezi, siklik adenosin monofosfat (cAMP) veya protein kinaz A (PKA) aktivasyonu içermez. Geç faz ise dört veya daha fazla sinaptik stimülasyon tarafından oluşturulur. 24 saate kadar sürer. Yeni protein sentezi, yeni gen transkripsiyonu ile cAMP ve PKA aktivasyonunu içerir (Bliss ve Collingridge, 1993).

Presinaptik uçtan salınan glutamat iki reseptöre bağlanır. Bunlardan biri sodyum (Na^+) ve potasyum (K^+) iyonlarına geçirgen bir kanal içeren amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol (AMPA) reseptörüdür. Diğeri ise ekstrasellüler magnezyum (Mg^{+2}) iyonu tarafından kanalı bloke edildiği için düşük frekanslı sinaptik iletim sırasında bazal postsinaptik yanıtta çok az katkıda bulunan kalsiyum (Ca^{+2}) iyonuna geçirgen N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörüdür. NMDA reseptörleri 2 tane NR1 ve NR2A, NR2B, NR2C ve NR2D alt ünitelerinin herhangi ikisini içeren 4 alt ünitelerden oluşmaktadır. Hipokampusta NR2A ve NR2B alt üniteleri daha fazla görülür (Li ve Tsien, 2009). NMDA reseptörleri belleğin edinme, konsolidasyon ve geri çağırma aşamalarının üçünde de önemli rolü olan sinaptik plastisite düzenleyicilerindedir (Hernandez ve Abel, 2011).

Postsinaptik hücre depolarize olduktan sonra açılan AMPA ve voltaj bağımlı Ca^{+2} kanalları Mg^{+2} 'u bağlı olduğu yerden ayırır, bloğu azaltır ve Ca^{+2} ve Na^+ 'un dendritik spinalardan girmesine izin verir (Elgersma ve Silva, 1999). İntersellüler Ca^{+2} miktarının artması LTP için kritik öneme sahiptir. NMDA reseptörleri ile içeriye giren Ca^{+2} ayrıca dendritlerdeki voltaj bağımlı Ca^{+2} kanallarını da aktive eder.

Kalsiyumun hücre içindeki artışı LTP açısından oldukça önemlidir. Hücre içerisine giren Ca^{+2} , kalmodulin ile bağlanarak kalmodulini aktifleştirir ve CaMKII'yi aktif hale getirir. Böylece CaMKII LTP'de anahtar rol oynar. CaMKII, AMPA reseptörünün GluR1 alt reseptörünü fosforile eder. Bu reseptörün fosforilasyonu mevcut AMPA reseptörlerinin iyonik iletkenliğini arttırarak daha büyük bir uyarıcı postsinaptik cevabın oluşmasını sağlayan bir süreci başlatır. Bunun sonucunda daha fazla sayıda AMPA reseptörünün hücre içi depo bölgelerinden sinaptik zara doğru hareketi sağlanır (Fink ve Meyer, 2002; Soderling, 2000). Tirozin kinaz ve mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK), fosfotidilinositol 3 (PI3) kinaz, protein kinaz C (PKC) ve kalsiyum kalmodulin bağımlı protein kinaz IV (CaMKIV) de LTP oluşumunda önemli protein kinazlardır (Sanes ve Lichtman, 1999).

LTP'nun geç fazında ise CaMKII adenil siklazı güçlendirir. Adenil siklaz PKA'yı aktive edecek olan cAMP'yi üretir. PKA da CREB'i fosforile edecek olan MAPK'ı aktive eder. CREB ise yeni sinaptik bağlantılar gelişimini sağlayan transkripsiyonu ve dendritlerdeki PKC'nin bir izoformunu kodlayan mRNA translasyonunu sağlar (Silva ve ark., 1998). Bu da postsinaptik membranda AMPA reseptör sayısının artmasını sağlar (Luscher ve Frerking, 2001). Yeni protein sentezinin artması sonucunda sinapsların şekil, boyut ve sayısında uzun süreli değişimler olur (Cohen-Cory, 2002) (Şekil 1).



Şekil 1. Sinapslarda LTP'nin erken ve geç fazlarında görülen moleküler olaylar (Bu şekil Kandel ve ark., 2012 kaynağından uyarlanmıştır).

Düşük frekanslı (birkaç dakikada 1-5 Hz'lik) presinaptik uyarılar ise LTP yerine LTD'yi indükler (Kemp ve Bashir, 2001). LTD olabilmesi için hücre içi Ca^{+2} artışının az ve kısa süreli olması ayrıca postsinaptik nöronda aksiyon potansiyeli oluşmadan sinaps aktivasyonu oluşturması gereklidir. Hücre içi kalsinörin kalsiyuma CaMKII'ye oranla daha yüksek afinitede bağlanır. NMDA reseptörlerinin zayıf aktivasyonu sonucunda düşük kalsiyum girişi olur, böylece nöronda LTP yerine LTD oluşumuna sebep olan olaylar gelişir (Massey ve Bashir, 2007). Kalsiyum kalsinörin kompleksi, I-1 benzeri proteinin defosforile olmasına sebep olur. Böylece protein fosfataz üzerindeki inhibisyon kalkar ve CaMKII defosforile yani inaktive olur (Winder ve Sweatt, 2001). LTD, NMDA reseptörüne veya metabotropik glutamat reseptörüne (mGlu) bağımlı olabilir (Oliet ve ark., 1997). NMDA bağımlı LTD'de glutamat NMDA reseptörlerini aktive eder fakat aksiyon potansiyeli oluşturamayacak kadar az kalsiyum girişi olur (Nicoll ve ark., 1998). mGlu bağımlı LTD oluşumu ise T tipi voltaj bağımlı kalsiyum kanalları ve inositol trifosfat aracılı hücre içi kalsiyum

salınımına bağımlıdır (Oliet ve ark., 1997; Otani ve ark., 2002). Düşük konsantrasyondaki kalsiyumun depresyon oluşturmasının sebebi protein kinazlardan ziyade protein fosfatazları aktive etmesidir (Isaac, 2001).

Sinaptik plastisitenin modülasyonunda, presinaptik olaylar postsinaptik aktiviteyi etkilediği gibi postsinaptik hücreden çıkan sinyaller de presinaptik fonksiyonları etkiler. Bu düzenleme retrograd haberciler ile sağlanır ve en çok bilinenleri nitrik oksit (NO), endokannabinoidler ve nörotrofinlerdir (Altar ve DiStefano, 1998; Ameri, 1999; Brenman ve Bredt, 1997).

Uyku yoksunluğunun LTP üzerine etkileri, uyku yoksunluğunun süresine ve hangi uyku evresinde oluşturulduğuna bağlı olarak değişmektedir. REM uyku yoksunluğunun LTP üzerine etkilerini araştıran bir çalışmada LTP'nin zamanla azaldığı 9 saatlik uyku yoksunluğunun sonucunda tamamen yok olduğu gösterilmiştir (Marks and Wayner, 2005). REM uyku yoksunluğu hipokampal dentat girusta LTP'yi belirgin biçimde bozarken NREM uyku yoksunluğunun böyle bir etkisi gözlenmemiştir (Ishikawa ve ark., 2006). Uyku yoksunluğunun LTP'yi zayıflatırken LTD'yi kolaylaştırdığını gösterilmiştir (Kopp ve ark., 2006). LTD'nin gelişmesinin hipokampustaki GABA-B ve metabotropik glutamat 1 α reseptörlerinin artmış ekspresyonu ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Tadavarty ve ark., 2011).

Uyku yoksunluğu sonucunda oluşan bilişsel bozuklukların diğer bir nedeni de NMDA ve AMPA gibi iyonotropik glutamat reseptörlerinin ekspresyon ve fonksiyonlarının değişmesidir (Lee ve ark., 2003; Ravassard ve ark., 2009). Uyku yoksunluğu sonucunda hücre içine Ca⁺² girişinin azaldığı, NMDA reseptörlerinin alt birimlerinin konfigürasyonunun değiştiği ve reseptör aktivitesinin bozulduğu gösterilmiştir (Chang ve ark., 2012; Kopp ve ark., 2006). Uyku yoksunluğuna maruz bırakılan sıçanlarda, CA1 piramidal hücrelerinde NMDA/AMPA reseptör oranının ortam kontrol grubundaki sıçanlara göre azalmış olduğu gözlenmiştir. Ayrıca NR1 alt ünitesinin agonisti olan glisin uygulanması sonucunda LTP'nin zayıflamasının da önlenemediği saptanmıştır (McDermott ve ark., 2006). Uyku yoksunluğu sonucunda AMPA reseptörünün GluR1 alt biriminin fosforilasyonunun (Hagewoud ve ark., 2010a) ve hipokampusta GluR1 protein ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir (Ravassard ve ark., 2009). Reseptör ekspresyonlarına olan etkisinin yanı sıra uyku yoksunluğu glutamat miktarı ve salınımını da değiştirebilir. Kısa süreli (6 veya 12

saatlik) uyku yoksunluğuna maruz bırakılan farelerde kontrol hayvanlarına göre hipokampusta glutamat seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (Cortese ve ark., 2010).

Uyku yoksunluğu sonucunda oluşan bellek bozukluklarının altında yatan nedenleri saptayabilmek için sinyal yolaklarına ve gen ekspresyonlarındaki değişimlere de bakılmaktadır. Uyku yoksunluğundan etkilenen hemen hemen tüm genlerin doğrudan veya dolaylı olarak cAMP yanıt elemanı tarafından regüle edildiği gözlenmiştir (Wang ve ark., 2010). Uyku yoksunluğu sonucunda cAMP sinyalinin zayıflaması sonucunda cAMP-PKA ile aktive olan, öğrenme ve bellek sürecinde ve sinaptik plastisitede önemli olduğu bilinen CREB gibi transkripsiyon faktörlerinin fosforilasyonunun azalması gözlenebilir (Vecsey ve ark., 2009). Kısa süreli (5-6 saat) uyku yoksunluğu CREB fosforilasyonunu azaltırken, uzamış (48 saat) uyku yoksunluğu CREB miktarını da azaltmaktadır (Guzman-Marin ve ark., 2006). Uyku yoksunluğu nedeni ile hipokampusta meydana gelen hasar sonucu hayvanların hipokampus bağımlı öğrenmeden çok striatum bağımlı öğrenmeyi kullanmak zorunda kaldığı ve bunun sonucunda striatumda CREB fosforilasyonunun arttığı gösterilmiştir (Hagewoud ve ark., 2010b). Nörogenez, sinaptik plastisite ve nöron sağkalımında önemli olan beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), CREB'in kontrolü altında olan nörotrofik faktörelere biridir. Uyku yoksunluğu sonucunda BDNF, CREB, CaMKII ve sinapsin-1'in mRNA düzeylerinde azalma gözlenmiştir (Guzman-Marin ve ark., 2006). Bir diğer önemli faktör ise ekstrasellüler regüle edici kinaz (ERK) ve MAPK olarak da bilinen faktörlerin değişime uğramasıdır. Uyku yoksunluğunun cAMP seviyelerini azalttığı için dolaylı olarak ERK yolağını da etkilediği düşünölmektedir (Ravassard ve ark., 2009). Fosfodiesterazlar (PDE) cAMP'nin yıkımına neden olurlar. PDE inhibitörlerinin uyku yoksunluğu sonucu oluşan hafıza bozukluklarında iyileştirici yönde etki ettiği, uyku yoksunluğu sonucunda PDE4 enzim aktivitesi ve PDE4A5 protein seviyelerinin arttığı gösterilmiştir. Kafein tedavisinin uyku yoksunluğunun plastisite üzerine olan olumsuz etkilerini çeşitli PDE ailelerini inhibe ederek, dolayısıyla cAMP-PKA yolağını kolaylaştırarak azalttığı düşünölmektedir (Vecsey ve ark., 2009).

Uyku yoksunluğu sonucunda oluşan öğrenme ve bellek bozukluklarından sorumlu tutulan bir diğer faktör ise adenzindir. Nöronal aktivite yüksek olduğunda ATP, adenozine defosforile olur (Bjorness and Greene, 2009). Uyanıklık sırasında

artan, uyku sırasında azalan adenozin; homeostatik mekanizma, yavaş dalga aktivitesi ve enerji restorasyonu için önemlidir (Huston ve ark., 1996). Uzun süreli uyanıklık sonrasında adenozin seviyelerinin artması adenozin A1 reseptörünün aktivasyonuna sebep olur. Bu reseptör genellikle inhibitör G proteinleri (Gi) ile birleşir ve cAMP yapımını engeller (Libert ve ark., 1992). Uyku yoksunluğu sonucunda oluşan bellek bozukluklarını önlemede kafein gibi adenozin reseptör antagonistlerinin yararlı olduğu gösterilmiştir (Alhaider ve ark., 2010).

Uyku yoksunluğu sonucunda tüm bunlara ek olarak öğrenme ve bellek süreci için çok önemli olan hücre çoğalması, farklılaşması, olgunlaşması anlamına gelen nörogenezin azaldığı gösterilmiştir (Meerlo ve ark., 2009). Morris su tankı eğitiminden sonra uyku yoksunluğuna maruz bırakılan sıçanların spasyal öğrenmelerinin bozulduğu gözlenmiştir (Hairston ve ark., 2005). REM uyku yoksunluğuna maruz bırakılan hayvanlarda hipokampal hücre proliferasyonunun anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır (Guzman-Marin ve ark., 2005). Hücre proliferasyonunun azalması sonucunda hipokampus volümünün azalması (Novati ve ark., 2011) gibi morfolojik değişiklikler de gözlenebilir. Hipokampus hacmindeki bu küçülmenin olası nedeni apoptozun artması veya yeni hücre oluşumunun azalması olabilir. Dolayısıyla kronik uyku yoksunluğu hipokampusun fonksiyon ve yapısında değişikliklere ve bilişsel bozukluklara neden olmaktadır.

Bellek oluşumu için önemli olan diğer bir sistem de kolinerjik sistemdir. Pons, REM uykusunun oluşturulmasında önemli olan kolinerjik nöronları içermektedir. Asetilkolini yıkan enzim olan asetilkolinesteraz enziminin REM uyku yoksunluğu sonucunda pons, talamus ve medulla oblongatada arttığı gözlenmiştir (Benedito ve Camarini, 2001). REM uyku yoksunluğu sonucunda pons ve hipokampustaki muskarinik M2 reseptör sayısının azaldığı da saptanmıştır (Salín-Pascual ve ark., 1998). Sistemik olarak nikotinik asetikolin reseptörünün (özellikle $\alpha 7$ nACh reseptörü) aktivitesinin artırılmasının REM uyku yoksunluğu sonucu meydana gelen bellek bozuklukları üzerine olumlu etkiler oluşturduğu saptanmıştır (Aleisa ve ark., 2011b). Uyku yoksunluğu sonucunda beyin sapı, korteks ve hipokampusta GABA miktarının arttığı ve eksitatör nöronların inhibe olduğu gösterilmiştir (Tretter ve ark., 2009; Wang ve Li, 2002).

Uyku yoksunluğu gerçekleştiği döneme göre belleğin farklı evrelerini etkiler. Uyku yoksunluğu öğrenme davranışından önce meydana gelirse belleğin kodlama evresini etkilerken, öğrenmeden sonra meydana gelirse konsolidasyon evresini etkiler (Abel ve ark., 2013). Morris su tankı testi kullanılarak yapılan bir çalışmada 4 eğitim gününün hemen ardından uyku yoksunluğuna maruz bırakılan fareler, kontrol hayvanlarına ve eğitim fazından 12 saat sonra uyku yoksunluğuna maruz bırakılan farelere göre platformu daha geç bulmuşlardır. Bu da eğitim döneminden sonra bellek konsolidasyonunun uyku yoksunluğuna hassas olduğu bir pencere döneminin olduğunu göstermektedir (Smith ve Rose, 1996).

Sirkadiyen ritim, hipokampus fonksiyonunu ve öğrenmeyi etkilediği için hafızanın konsolidasyonu ve geri çağırılması günün saatine göre değişkenlik göstermektedir (Cain ve ark., 2004). Dolayısıyla uyku yoksunluğunun etkisi deneğin eğitildiği veya test edildiği saate bağlı olarak farklılık sergileyebilir.

Uyku yoksunluğu sonucunda oluşan bellek bozukluklarından stres de sorumlu tutulmaktadır. Uyku yoksunluğunun tek başına stres kaynağı olmasının yanı sıra çalışmalarda kullanılan uyku yoksunluğu modelleri de strese sebep olabilir (Meerlo ve ark., 2008).

2.5. Stres

Stres, biyolojik sistemlerin fizyolojik veya psikolojik homeostazisini bozan durumlar olarak tanımlanabilir (Kim ve Diamond, 2002). Stres sonrasında sempatik sinir sistemi ve hipotalamo-pitüiter-adrenal (HPA) aks aktive olur. Sempatik sistemin aktivasyonu ile adrenal ve noradrenalin gibi katekolaminlerin salınması, kalp hızının artması gibi etkiler gözlenirken, HPA'nın aktivasyonu ile glukokortikoid salınımı artar. İnsanlarda dominant glikokortikoid kortizol iken kemirgenlerde kortikosterondur (Finsterwald ve Alberini, 2013). Yapılan birçok çalışma ile stres sonucunda; adrenal glandın büyüdüğü, immun sistemin baskılandığı, öğrenme-bellek hasarının olduğu kanıtlanmıştır (Sandi ve ark., 2013).

Stres belirli beyin bölgelerinin işlevlerini aktive eden potansiyel bir tehdit olarak da tanımlanır (Pacak ve Palkovits, 2001). Prefrontal korteks, singulat korteks, hipokampus, amigdala, talamus gibi birçok beyin bölgesi strese yanıtta önemlidir (Drevets, 2001; Lupien ve ark., 2009; Thierry ve ark., 1968). Birçok çalışma

glükokortikoid geri bildirim için önemli olan ve HPA aksında anahtar rol oynayan hipotalamus ve prefrontal korteks üzerine yoğunlaşmıştır (Sairanen ve ark., 2007; Popoli ve ark., 2002). Hipokampus stresin etkilerine oldukça duyarlı ve en çok kortikosteroid reseptörü içeren beyin bölgelerinden biridir (Lucassen ve ark., 2015; Joels M, 2008). Hipokampusta tip 1 mineralokortikoid reseptörleri ve tip 2 glukokortikoid reseptörleri olmak üzere iki tip adrenal steroid reseptörü bulunmaktadır (Reul ve De Kloet, 1985). Bu reseptörler nöronal eksitabiliteyi ve plastisitenin yapısını etkiler (De Kloet ve ark., 1996; De Kloet ve ark., 1998; De Kloet ve ark., 1999). Mineralokortikoid reseptörlerinin aktivasyonunun genel olarak sinaptik plastisiteyi arttırdığı gözlenmiştir (Kruger ve ark., 2010). Kortikosteroid hormonlarının stres sonucunda oluşturduğu negatif etkiler ise glukokortikoid reseptörleri üzerinden oluşmaktadır. Kortikosteroid hormonlarının düzeyleri normal seviyelerdeyken glükokortikoid reseptörlerine düşük afinitede bağlanır; dolaşımdaki miktarlarının artmasıyla bu reseptöre bağlanma artar ve negatif etkiler oluşur (Pavlidis ve ark., 1995). Stres; reseptör ve ikinci habercilerin miktarında, protein kinazların fosforilasyonunda, nöronal genlerin ekspresyonunda değişikliğe yol açabilir (Duman, 1995).

Hipokampus akut ve kronik strese farklı yanıtlar verir. Stres, akut etkilerini beta-adrenerjik sistem üzerinden gösterirken kronik etkileri özellikle steroidler tarafından gen ekspresyonunda meydana gelen değişimler ile ilgilidir (Mc Ewen ve Sapolsky, 1995). Akut stres bellek ile ilgili hücresel süreçleri aktive ederken daha uzun süreli stresin öğrenme ve belleği bozduğu saptanmıştır (Diamond ve ark., 2006; Joels ve Baram, 2009). Akut stres hipokampus CA1 nöronlarının eksitabilitesini arttırabilir (Shors, 2001). Buna karşı kronik stres sonucunda; hipokampus volümünün azalması (Lee ve ark., 2009), beyinde atrofi oluşması (Sarahian ve ark., 2014), piramidal nöronlarda dendritik yapının yeniden modellenmesi (Magarinos ve ark., 1997), nöron sayısının ve sinaptik terminallerin azalması (Sapolsky ve ark., 1990) gibi yapısal ve fonksiyonel değişimler olduğu insan ve hayvan çalışmaları ile gösterilmiştir (Leuner ve Gould, 2010). Zenginleştirilmiş ortamda bulunmanın dorsal hipokampusta nörogenezin artmasına (Kempermann ve ark., 1997), sosyal izolasyon gibi kronik stres modellerinin ise ventral hipokampusta nörogenezin azalmasına sebep olduğu gözlenmiştir (Lehmann ve ark., 2013; Tanti ve ark., 2012; Tanti ve

ark., 2013). Ventral hipokampus ayrıca HPA aksın aktivitesini ve glukokortikoid salınımını inhibe ederek nöroendokrin sistemin regülasyonunda da önemli rol oynar. Ventral hipokampal projeksiyonların GABA-erjik nöronları aktive etmesiyle hipotalamusun paraventriküler nükleusundan kortikotropin salıverici hormon (CRH) salınımı inhibe edilir. Kronik stres hipotalamusun HPA aksı üzerindeki negatif geri bildirimini önler ve bunun sonucunda HPA aksı hiperaktive olur. Stres sonucunda vücutta glukokortikoid düzeylerinin artması, strese yanıt olarak oluşan nöroenezisin ve davranışların modülasyonunda önemli rol oynamaktadır (Anacker, 2014; Anacker ve ark., 2016). Eksojen olarak glukokortikoid uygulanması sonucunda da anksiyete benzeri davranışlar ve nöroenezde baskılanma saptanmıştır (Murray ve ark., 2008).

Stresin bellek üzerinde oluşturduğu etki stresörün tipine, uygulanma zamanına, süresine, sıklığına ve vücuttaki stres hormonların düzeyine göre değişim göstermektedir (Lupien ve ark., 2007; Lupien ve ark., 2009). Stres hormonlarının miktarı ile bellek arasında ters U ilişkisi vardır (Salehi ve ark., 2010; Walther ve ark., 1999). Morris su tankı testinde glukokortikoid reseptör disfonksiyonu bulunan transgenik hayvanların gizli platformu bulmada sorun yaşadıkları saptanmış (Rousse ve ark., 1997), probe fazı öncesinde yüksek miktarda glukokortikoid uygulandığında ise bellekte doz bağımlı bir bozulma olduğu kanıtlanmıştır (de Quervain ve ark., 1998). Çok düşük (adrenalektomi sonrası) (Vaher ve ark., 1994) veya çok yüksek seviyedeki kortikosteron (kortikosteron uygulanması) miktarı LTP'yi bozarken orta seviyedeki miktar LTP'yi indüklemektedir (Diamond ve ark., 1992; Pavlides ve ark., 1993). Strese ve dolaşımdaki kortikosteron miktarının artmasına bağlı olarak LTP'nin supresyonunun gerçekleştiği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Bennet ve ark., 1991; Foy ve ark., 1987). Strese bağlı olarak LTP'de meydana gelen hasarın sıçanlarda en az 48 saat (Shors ve ark., 1997), farelerde en az 24 saat (Garcia ve ark., 1997) sürdüğü gözlenmiştir. Stresin LTP'de bozulmalara yol açmasının yanı sıra LTD'yi arttırdığı da saptanmıştır (Kim ve Yoon, 1998). HPA aksındaki fonksiyon bozukluğunun CREB fosforilasyonunda inhibisyona da neden olduğu kanıtlanmıştır (Carlezon Jr ve ark., 2005). Stres hormonlarının yüksek olması sonucunda deklaratif bellek (Lupien ve Lepage, 2001), spasyal bellek (de Quervain ve ark., 1998; Luine ve ark., 1994; Walther ve ark., 1999) ve obje tanıma hafızasında olumsuz etkiler olduğu gösterilmiştir (Baker ve Kim, 2002). Dışarıdan yüksek miktarda

kortikosteron uygulanması sonucunda da dentat girusta LTP indüksiyonunun bloke olduğu (Filipini ve ark., 1991), bu uygulamanın insanlarda prosedural belleğe etki etmezken deklaratif bellekte bozulmalara neden olduğu saptanmıştır (Newcorner ve ark., 1994).

Stresin öğrenme-bellek sürecinin değişik aşamalarında oluşması veya oluşturulması farklı etkiler gösterebilir (Sandi, 1998). Eğer stres öğrenme aşamasından önce oluşursa belleğin kodlama aşamasında bozulmalar gözlenebilir (Elzinga ve ark., 2005). Stresin etkisi, oluştuğu zamanla bellek testinin yapıldığı zaman arasında geçen süreye göre de farklılık gösterebilmektedir. Stres oluşuktan sonra, dolaşımında glukokortikoid ve noradrenalin yüksek seviyelerindeyken oluşan yanıt ile bu hormonların bazal seviyeye inmelerinin ardından oluşan yanıt farklı olmaktadır (Schwabe ve ark., 2012). Stres veya glukokortikoid uygulaması eğer öğrenmeden sonra bellek konsolidasyonunun gerçekleştiği dönemde oluşturulursa bellek performansını arttırabilir. Bunun aksine stres, belleğin geri çağırma aşamasını olumsuz yönde etkilemektedir (Roozendall, 2002). Stres geri çağırma aşamasından sonra oluştuysa sonraki hatırlamalar bozulmaktadır (Maroun ve Akirav, 2008; Wang ve ark., 2008).

Uyku yoksunluğu çalışmalarında kullanılan bazı modellerde olduğu gibi Flower pot metodunun da strese neden olduğu gösterilmiştir. Uyku yoksunluğu haricinde hayvanlar kullanılan düzenek nedeniyle sosyal izolasyon ve immobilizasyon stresine de maruz kalmaktadır (Kovalzon ve Tsibulsky, 1984). Uyku yoksunluğu nedeniyle hayvanlarda kilo kaybı, timus volümünde azalma, adrenal bez ağırlığında artma ayrıca bazal ve adrenokortikotropik hormon (ACTH) ile indüklenmiş kortikosteron seviyelerinde artış gösterilmiştir. Bu etkilerin uyku yoksunluğunun oluşturduğu strese bağlı olabileceği üzerinde durulmuştur (Coenen ve Van Luijtelaar, 1985; Fradda ve Faratta, 1997; Patchev ve ark., 1991).

2.6. Öğrenme ve Bellek

Yaşam boyunca isteyerek veya istemeden kazanılan bilgi ve deneyimlerin davranış biçimine yansımaları öğrenme, bu bilgilerin sınıflandırılıp, saklanıp, geri çağırılabilir hale getirilmesi ise bellek olarak tanımlanır. Çok farklı sınıflandırmalar

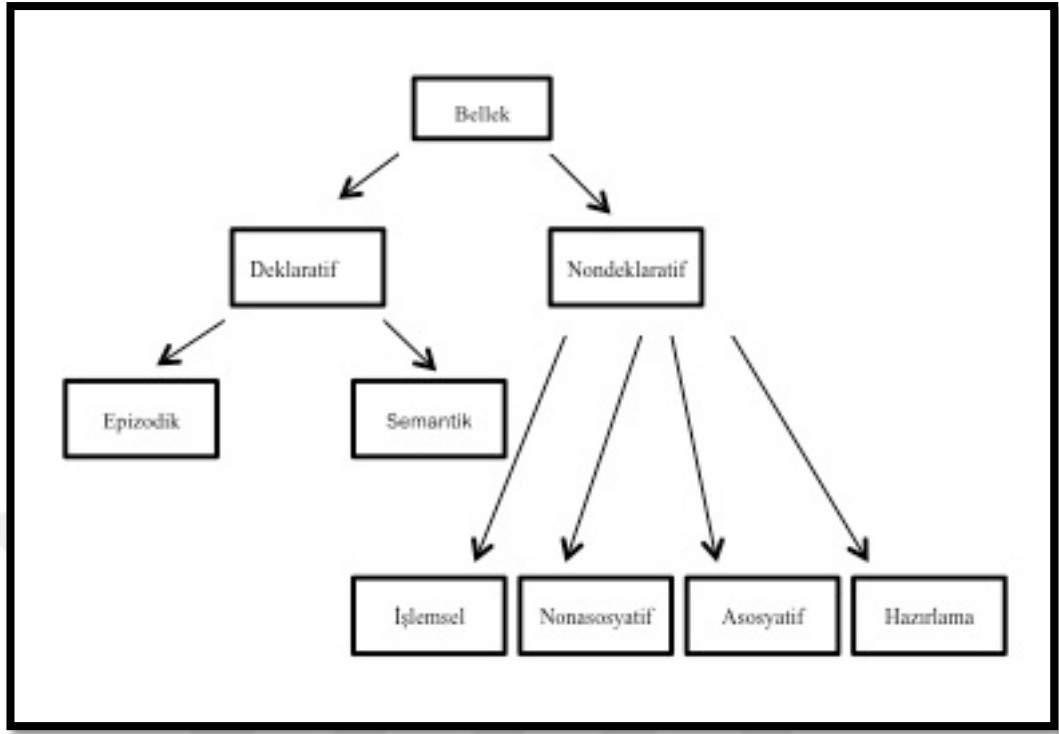
yapılsa da içeriğine göre bellek genel olarak iki sınıfa ayrılır: deklaratif (eksplisit, açık) ve nondeklaratif bellek (implisit, örtük) (Schacter ve Tulving, 1994) (Şekil 2).

Deklaratif bellek, gerçeklere dayalı bilgilerin bilinçli olarak erişilebilen anıları olarak tanımlanabilir. Medial temporal lob ve diensefalonun orta hattındaki yapılara bağlı olan bellek türüdür. Kişisel olarak deneyimlenen yer, olay, zaman ve kavram bilgisi için episodik bellek ve belirli bir olaya bağlı olmayan genel bilgiler (kurallar, dil gibi) için semantik bellek olmak üzere iki alt kategorisi bulunmaktadır (Tulving, 1983).

Nondeklaratif bellek ise beceri veya alışkanlıkların depolanmasını sağlayan bellek türüdür. Bilinçli bir hatırlama olmaksızın davranış ve algıdaki değişiklikleri ifade eder ve hazırlama, işlemsel bellek, asosiyatif bellek, asosiyatif olmayan bellek olmak üzere 4 alt gruba ayrılır. Hazırlama, neokorteksin sorumlu olduğu daha önce karşılaşılan bir nesnenin veya kelimenin tanınmasının daha kolay olmasını sağlayan bellek türüdür. İşlemsel bellek, kazanıldıktan sonra bilinçsiz olarak yapılabilen davranışları kapsar ve striatum bölgesi bu bellekten sorumludur. Asosiyatif olmayan bellek, tek bir uyaran ile kazanılırken asosiyatif bellek ise başka bir uyaranla ilişkisinin öğrenilmesidir. Asosiyatif bellekten amigdala ve serebellum sorumlu iken asosiyatif olmayan bellekten refleks yollar sorumludur (Squire ve Zola, 1996).

Süresine göre ise bellek kısa süreli ve uzun süreli bellek olmak üzere ikiye ayrılabilir. Kısa süreli bellek, dakikalar boyunca süren sinapslarda yapısal değişiklik oluşturmaksızın sadece sinaptik güçte değişikliğe yol açan bellektir. Uzun süreli bellek ise sinapslarda yapısal değişikliğe yol açar; bu sayede bilgi kodlanır ve istenildiğinde geri çağırılabilir (Barrett ve ark., 2011).

Spasyal bellek, bir cisim veya bir rota hakkında bilginin toplanması, kodlanması ve hatırlanmasını sağlayan bellek türüdür (Moscovitch ve ark., 2006). Labirent deneyleri, spasyal bellek ölçümünde kullanılan deney modelleridir. Hayvanların labirentteki hedefleri bulmak için bilişsel haritalar olarak isimlendirilebilecek stratejileri kullandığı düşünülmüştür (Tolman, 1948). Hipokampusta keşfedilen 'yer hücreleri' ile bu kavram daha da kabul görmüştür (O'Keefe ve Dostrovsky J, 1971).



Şekil 2. Bellek çeşitleri

2.6.1. Belleğin Aşamaları

Bellek oluşumu; kodlama, konsolidasyon, geri çağırma ve rekonsolidasyon aşamalarını içerir.

Kodlama, bir nesneyle etkileşim kurarak veya bir eylem gerçekleştirerek oluşturulabilir. Kodlamayı takiben bellek farklı gelişme evrelerinden geçebilir. Bu evrelerden en yaygın kabul edileni konsolidasyon aşamasıdır. Konsolidasyon aşamasında bellek güçlendirilir, geliştirilir ve kararlı hale getirilir (McGaugh, 2000). Konsolidasyonun stabilizasyon evresi uyanıklık esnasında olurken, geliştirme aşaması uyku esnasında olur (Walker ve ark., 2003). Stabilize edilen bellek gerek duyulduğunda hatırlanabilir, yani geri çağırılabilir. Fakat bazen bellek labil hale gelip bozulmalara maruz kalabilir bu nedenle yeniden stabilize edilmesi yani rekonsolidasyonu söz konusu olabilir (Nader, 2003).

Yapılan birçok çalışma ile uykunun bellek üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Eğitim öncesi uykunun, belleğin kodlama evresine olumlu etkileri varken eğitim

sonrası yeterli uykunun konsolidasyon evresi üzerine olumlu etkileri olduğu düşünülmektedir.

Spasyal öğrenme gibi görevlerden sonra uyku süresi ve uyku yapısında, öğrenme performansı ile yakından ilişkili olarak değişiklikler olduğu gösterilmiştir. Görevi iyi öğrenen hayvanların yavaş dalga uykusu ve REM uykusu sürelerinde artış gözlenirken öğrenmeyen hayvanlarda bu değişiklikler gözlenmez (Ambrosini ve ark., 1992). İnsanlar üzerinde yapılan bir çalışmada da yabancı dil öğrenimi sonrasında REM uyku süresinin artmasının öğrenme başarısı ile korele olduğu gösterilmiştir. Bu da REM uykusunun bellek konsolidasyonunda önemli bir rolünün olduğunu göstermektedir (De Koninck ve ark., 1989). Uykunun konsolidasyon üzerine olan etkisinin altında yatan mekanizmanın REM uykusunda gözlenen PGO dalgaları olduğu öne sürülmüştür. Kaçınma testi uygulanan bir çalışmada eğitimin ardından REM uykusu miktarının ve P dalgalarının yoğunluğunun arttığı gösterilmiştir (Datta, 2000). İnsanlarda ve hayvanlarda yapılan deneylerle REM uykusu sırasında hipokampusta görülen teta dalgalarının, hipokampal LTP indüksiyonunu kolaylaştırdığı saptanmıştır (Cantero ve ark., 2003; Poe ve ark., 2000). Motor beceriler ile ilgili öğrenmede özellikle uykunun geç fazındaki NREM uykusunun 2. evresinin süresinin önemli olduğu gösterilmiştir (Walker ve ark., 2002). Bu evrenin karakteristik özelliği olan uyku iğciklerinin sinaptik plastisite için önemli olan hücre içi mekanizmaları harekete geçirdiği düşünülmektedir (Sejnowski ve Destexhe, 2000).

2.6.2. Deneysel ve Mekansal Bellek Değerlendirmesi

Hayvan çalışmaları uzun süredir öğrenme ve belleğin test edilmesi için kullanılmaktadır. Labirentler spasyal belleğin test edilmesi için kullanılan deneysel yöntemlerdir. Labirentlerin temel ilkesi, görsel veya spasyal uyarılar aracılığı ile emniyet, yemek, su gibi ödüllerin yerinin hatırlanmasına dayanır. Bazen bu testlerin sonuçlarını değerlendirmek zor olabilir. Çünkü elde edilen bulgular bazen mekansal olmayan öğrenme-bellek, anksiyete, stres ve refleks aktiviteler gibi bilişsel veya bilişsel olmayan olaylardan da etkilenebilir (Paul ve ark., 2009).

2.6.2.1. T ve Y Labirent Testleri

Postnatal 30. günden itibaren kazanılan dönüşüm davranışı üzerine kurulmuş bir testtir. Test, hayvanların her kolu özgürce keşfetmesine izin veren Y veya T şeklindeki aparatlar aracılığı ile gerçekleştirilir. Kollara giriş sayısı ve sırası kaydedilir. Dönüşüm davranışına göre hayvanın daha önce ziyaret etmediği kola gitmesi öngörülür ve bunun için en son ziyaret ettiği kolu hatırlaması gerekir. T ve Y labirent testlerinde hayvanın sürekli ele alınması gerektiği için stres faktörü test sonuçlarını etkileyebilir (Lalonde, 2002).

2.6.2.2. Radyal Labirent Testi

Sekiz doğrusal yol ile merkeze bağlanan bu düzenek 1976 yılında geliştirilmiştir. Her kolun ucuna yiyecek yerleştirilir ve açlığa maruz bırakılan hayvanın labirentin ortasına konularak sekiz peleti toplayıncaya kadar kollara istediği gibi girmesine izin verilir (Olton ve Samuelson, 1976). Hayvanın daha önce girmedikleri kolları hafızasında tutması gerekmektedir. Bu testte hayvan mekansal referanslar yerine keşif stratejilerini, yiyeceğin kokusu ile ilgili ipuçlarını kullanabilir (Wasserman ve Jensen, 1969).

2.6.2.3. Barnes Dairesel Labirent Testi

Spasyal öğrenmeyi test etmek amacıyla 1979 yılında geliştirilmiştir (Barnes, 1979). Hayvanlar yükseltilmiş 92 cm çaplı, her biri 5 cm çapında 18-20 adet delik içeren dairesel açık bir platform üzerine yerleştirilerek yoğun ışık veya yüksek ses gibi irrite edici bir uyarana maruz bırakılır. Hayvanların bu maruziyet sonrasında düzeneğin etrafında olan 18 delikten birine girerek tepki vermesi beklenir. Bu deliklerin birinde veya birkaçında platformdan görülmeyecek şekilde kaçış kutuları bulunmaktadır. Her hayvan günde dört kez 15 dakikalık aralıklarla 3 dakika test edilmektedir. Alıştırma fazında, hayvanlar platforma yerleştirilip rahatsız edici uyarın verildikten sonra kaçış deliğine götürülür ve 2 dakika orada tutulur. Kaçış yolu sabit tutularak platform düzenli aralıklarla döndürülür. Eğitim fazında hayvanlar platforma yerleştirilir, kaçış deliğini ne kadar sürede bulduğu ve kaç kez yanlış deliğe girdiği değerlendirilir. 24 saat sonra ise bellek testi yapılır. Bu düzeneğin en büyük

dezavantajı öğrenmenin çok yavaş olması, hatta bazen olmamasıdır (Harrison ve ark., 2006; Sunyer ve ark., 2007).

2.6.2.4. Morris Su Tankı Testi

Morris su tankı testi 1981 yılında radyal labirent testine alternatif olarak geliştirilmiştir (Morris, 1981). Spasyal öğrenmeyi ve belleği ölçmeyi hedefleyen bir prosedürdür. Birçok deneysel lezyonun ve tedavilerin öğrenme ve bellek üzerine olan etkilerini değerlendirmek amacıyla uzun yıllardır kullanılmaktadır. Bu testte, belirli sıcaklıktaki suyla doldurulmuş ve opaklaştırılmış suyun içine, su seviyesinin 2-3 cm altında kalacak ve görülmeyecek şekilde gizli kaçış platformu yerleştirilir. Havuz dört kadrana bölünür ve farklı kadranslardan yüzü havuz duvarına dönük bir şekilde suya bırakılan hayvanın gizli platformu bulma süresi kaydedilir. Hayvanın platformda 30-60 saniye kalmasına izin verilerek platformun yerini çevreye yerleştirilmiş çeşitli görsel ipuçları yardımıyla öğrenmesi beklenir. Deneysel hayvanların davranış ve izlediği rotayı belirlemek için kamera sistemiyle kaydedilir. Platformu bulma süresi eğitim fazında en sık kullanılan parametredir. Bunun dışında yüzme hızı, yüzme mesafesi, platformu bulana kadar izlediği rota gibi parametreler de değerlendirilebilir. Eğitim fazının ardından bellek (probe) fazı değerlendirilir. Bu fazda platform bulunduğu yerden kaldırılır. Suyun içine bırakılan hayvanın platformun daha önce bulunduğu yeri hatırlaması ve orada daha fazla zaman geçirmesi beklenir. Bu aşamada da platformun daha önce bulunduğu kadranda geçirilen süre veya yüzde zaman, platformun daha önce bulunduğu alandan geçiş sayısı, platformun daha önce bulunduğu yere ortalama uzaklık gibi parametreler değerlendirilebilir (Maei ve ark., 2009).

Hayvanın kaçış platformunu bulmak için farklı stratejiler kullandığı düşünülmektedir. Bunlardan ilki, platforma ulaşmak için gereken hareket dizisini öğrenmesine dayalı pratik stratejidir. İkincisi, çevresel ipuçlarını kullandığı taktiksel strateji, üçüncüsü ise uzak görsel ipuçlarını kullandığı platformun konumunu belirlemeyi sağlayan spasyal stratejidir (Brandeis ve ark., 1989). Morris su tankı genellikle spasyal strateji kullanımını araştırmak için uygulanmaktadır. Hayvanların platformu bulma konusunda gösterdikleri başarı uzak görsel ipuçları yardımı ile bilişsel haritalar oluşturabilme kabiliyetine dayanmaktadır (Baldi ve ark., 2005).

Bunun aksine su tankında oluşturulan rotanın harita oluşturma yeteneği yerine tanıdık sahnelere dayanan daha basit stratejilere dayalı olduğunu iddia eden çalışmalar da bulunmaktadır (Sutherland ve ark., 1987).

Morris su tankı testinde dikkat edilmesi gereken ve hayvanların performansını etkileyen birçok değişken vardır. Bunlardan bir kısmı deney düzeneği, bir kısmı hayvan ile ilgilidir. Sıçanlar için uygun havuz boyutu 1.30-2 m arasındadır. Fareler için ise 75-150 cm arasındadır. Havuz çapındaki değişikliklerin performansı etkilediğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Van der Staay, 2000). Bir diğer önemli parametre ise hayvanların su tankına daha önce alıştırılıp alıştırılmadığıdır. Alıştırılmış hayvanların streslerinin daha az, keşfetme isteklerinin daha çok olduğu gözlenmiştir (D'Hooge ve De Deyn, 2001). Diğer önemli değişkenler ise bir gündeki deneme sayısı, eğitim günü sayısı, platform üzerinde bırakılan süredir. Bu parametreler deneyden deneye farklılık gösterebilir. Genellikle deneyler 5-10 gün, günde ortalama 4-6 deneme ve platformda kalış süresi 16-60 sn şeklinde değişiklik gösterebilir. Ardışık denemelerden belirli aralıklarla yapılan denemelerin görevi bellekte tutma süresini uzattığı gösterilmiştir (Bolding ve Rudy, 2006). Bir diğer önemli parametre ise ipuçlarının niteliğidir. Bazı çalışmalar görsel ipuçlarının basit olmasının öğrenmeyi olumlu yönde etkilediğini göstermiştir (Lamberty ve Gower, 1991).

Hayvanların Morris su tankında gösterdiği performansı etkileyen diğer önemli parametreler hayvanların yaşı, kilosu, cinsiyeti, türü ve fiziksel durumudur. Bu parametreler yüzme hızını değiştirerek farklı sonuçlara neden olabilir (D'Hooge ve De Deyn, 2001; James ve Kimura, 1997). Yaşlanma ile birlikte öğrenme kapasitesinin, yüzme yetisinin, keşif isteğinin ve lokomotor aktivitenin azaldığı bilinmektedir (Geinisman ve ark., 1995). Yapılan bazı çalışmalarda erkek hayvanların dişilere göre daha iyi performans sergilediği gösterilmiştir (Brandeis ve ark., 1989). Cinsiyetler arasındaki bu farkın testin yapıldığı zamanda dişilerin menstrüel siklusun hangi döneminde bulunduğu ile ilgili olduğu düşünülmüş ve östrojen seviyesinin mekansal performansı önemli derecede etkilediği gösterilmiştir (Coluccia ve Louse, 2004). Denek olarak kullanılan hayvan türü de sonuçlarda farklılıklara yol açabilir. Havuzun çeperinde daireler çizme hareketi olarak adlandırılan tigmotaksis, farelerde sıçanlardan daha sık görülmektedir. Sıçanların yüzme yetenekleri farelerden daha iyi

olduğu için genellikle performansları daha iyidir (Whishaw ve Tomie, 1996). Stres de performansı etkileyen önemli bir parametredir. Fareler strese neden olmayan deneysel çalışmalarda daha iyi performans sergilemektedir (Francis ve ark., 1995). Strese duyarlı olan hiperaktif sıçan türlerinde stres öğrenmeyi etkiler ve engelleyebilir (Holscher, 1999).

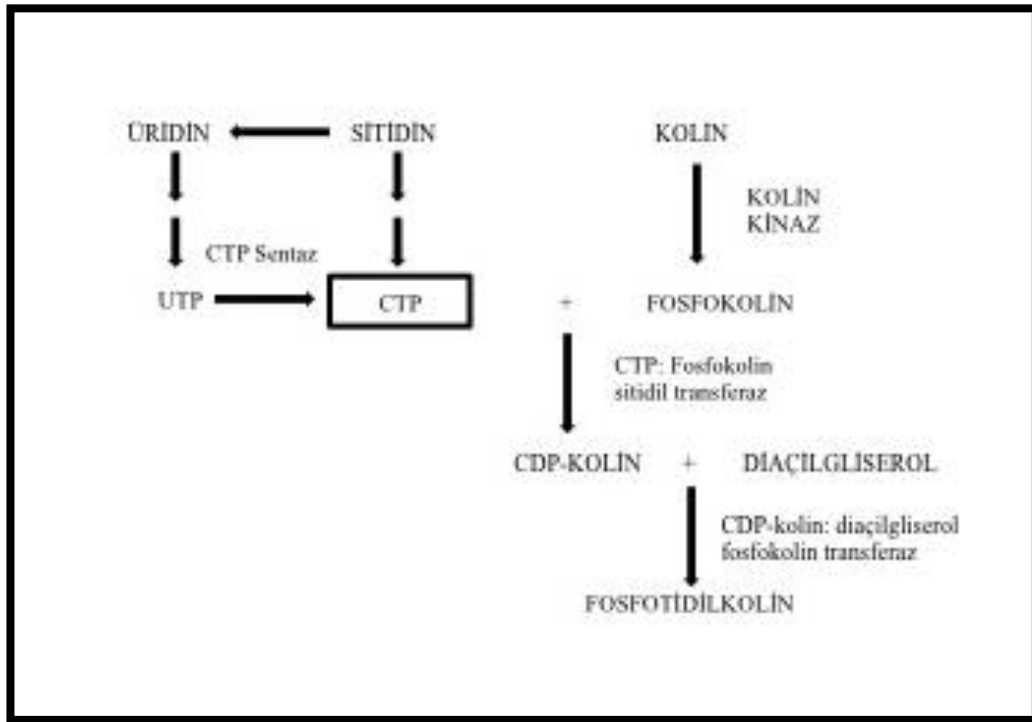
2.7. Sitidin 5-difosfokolin (CDP-kolin)

CDP-kolin ($C_{14}H_{26}N_4O_{11}P_2$) vücudumuzda endojen olarak da üretilen riboz, pirofosfat, sitozin ve kolinden oluşan mononükleotid yapıda polarize bir bileşiktir (Sanches, 1983; Secades ve Frontera, 1995). CDP-kolinin çalışmalarda ilgi odağı olmasının en önemli sebebi ise hücre zarının temel fosfolipit bileşeni olan fosfatidilkolinin sentezindeki hız kısıtlayıcı basamakta ortaya çıkmasıdır. Dışarıdan verilen CDP-kolinin fosfolipit sentezini artırarak hücre membranı dejenerasyonu ve doku iskemisi kaynaklı hastalıklarda tedavi edici etki gösterebileceği düşünülmektedir (Weiss, 1995).

2.7.1. Sentezi ve Metabolitleri

CDP-kolin Kennedy yolu olarak adlandırılan fosfatidilkolin sentezinin ara basamağında ortaya çıkar. Bu yolak üç basamaktan oluşmaktadır. İlk basamakta kolin, kolin kinaz (CK) enziminin katalizlediği geri dönüşlü bir reaksiyonla fosforile edilerek fosfokoline dönüşür. Hız kısıtlayıcı olan ikinci basamakta fosfokolin ve sitidin-5-trifosfattan (CTP) fosfokolin sitidil transferaz (CCT) enzimi katalizörlüğünde CDP-kolin sentezi gerçekleşir. Üçüncü basamakta ise 1,2 diaçilgliserol kolin fosfotransferaz (CPT) enzimi ile diaçilgliserol ve CDP-kolinden fosfatidilkolin üretilir (Kennedy ve Weiss, 1956). Kennedy yolu fosfatidilkolin üretimi için tek yolak olmasa da birçok hücre için ana yolaktır (Infante, 1987). Bu yolak dışında karaciğerde gelişen fosfatidiletanolamin metilasyon yolu da mevcuttur. Fosfatidilkolin sentezi için diğer bir yolak ise baz değişimidir. Fosfatidiletanolamindeki etanolamin ve fosfatidilserindeki serin ile serbest kolinin yer değiştirmesi ile gerçekleşir (Lakher ve ark., 1986). Dışarıdan verilen kolin ve sitidinin endojen CDP-kolin miktarını arttırdığı ve bu artışın da fosfatidilkolin sentezini arttırdığı gözlenmiştir (Lopez-Coviella ve ark., 1995) (Şekil 3).

CDP-kolin hücre membranında bulunan fosfodiesteraz enzimi sayesinde sitidin monofosfat ve fosfokoline hidrolize olur ve bu moleküllerin defosforilasyonu ile sitidin ve kolin oluşur (Floridi ve ark., 1981). Sitidin ve kolin hücre içine alınır ve hücre içinde tekrar CDP-kolin sentezlenir. Dışarıdan verilen CDP-kolin sıçanlarda sitidin ve koline metabolize olurken (Weiss, 1995) insanda üridin ve koline metabolize olur (Wurtman ve ark., 2000). Sıçanların dolaşımında baskın pirimidin bileşiği sitidin iken (Traut, 1994), insanların dolaşımında baskın bileşik üridindir (Wurtman ve ark., 2000). Üridin ve sitidin, fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolamin sentezi için gerekli olan CTP oluşumunda, pirimidin nükleotidlerinin sentezinde, üridin difosfat (UDP) ve üridin-5-trifosfat (UTP) sentezinde önemli olan pirimidin bileşikleridir (Kennedy ve Weiss, 1956; von Kugelgen, 2006).



Şekil 3. Kennedy yolağı üzerinden fosfatidilkolin sentezi. CTP: Sitidin trifosfat, UTP: Üridin trifosfat (Bu şekil Cansev, 2006 çalışmasından uyarlanmıştır).

2.7.2. CDP-kolinin Metabolizması ve Vücuttaki Dağılımı:

CDP-kolin, metabolitlerine parçalanmadan absorbe edilemeyen bir moleküldür. Oral yolla alınan CDP-kolin hızla sitidin ve koline parçalanır; barsak duvarı ve karaciğerde metabolize edilir. CDP-kolinin biyoyararlanımı yaklaşık

olarak %95'dir (Paroni ve ark., 1985). Oral alımından sonra plazma seviyesinde bifazik pik gözlenir. İlk pik beslenmeden 1 saat sonra ikinci pik ise 24 saat sonra görülür (Secades, 2011). CDP-kolin 50 mg/kg dozunda intravenöz olarak bolus enjekte edildikten bir dakika sonra plazmada saptanabilmiş, beş dakika sonra ise saptanamayacak seviyeye düşmüştür. Bu sırada plazma sitidin düzeyi hızlı bir şekilde artmış ve 60 dakika yüksek kalmıştır (Lopez-Coviella ve ark., 1987). Oral veya parenteral yolla işaretli CDP-kolin uygulanması sonrasında radyoaktivite üriner, fekal ve ekspiryum yoluyla yavaş yavaş atılır (Secades, 2011). Büyük bir bileşik olan CDP-kolinin beyine geçmesi için fosfodiesterazlar tarafından parçalanıp sitidin ve koline ayrılması gerekmektedir. Daha sonra beyinde sitidin trifosfat kolin (CTP)-sitidiltransferaz enzimi ile yeniden sentez edilir. İnsanda, sitidin beyinde üridin fosfata dönüştürülür ve daha sonra nöronal seviyede sitidin trifosfata çevrilir (Secades, 2011). Sıçanların dolaşımında sitidin, üridinin 2-3 katı kadar fazla olsa da kan beyin bariyerinden üridin çok daha fazla transport edilebildiği için sıçan beyinde ekstrasellüler sıvıdaki üridin konsantrasyonu sitidinden 7 kat fazladır (Dobolyi ve ark., 1998). Oral veya intravenöz CDP-kolin verilmesi sonucunda çok küçük bir kısmı beyine geçebilir. Fakat bu küçük miktar tekrar CDP-kolin ve fosfolipit sentezi için verimli olarak kullanılır (Galletti ve ark., 1991). Beyinde 5 saate kadar radyoaktivite artması izlenir ve 48 saate kadar bu radyoaktivitede herhangi bir düşüş gözlenmez (Galletti ve ark., 1985). Oral dozdaki radyoaktivitenin sadece %0.25'i beyin homojenatında gözlenmesine rağmen 24 saat sonra radyoaktivitenin %62.8'i fosfatidilkolin ve lipit ekstratında gözlenmiştir (Agut ve ark., 1983). İntraperitoneal olarak verilen CDP-kolinin hipokampusta ekstrasellüler kolin düzeylerini anlamlı olarak arttırdığı yapılan mikrodializ çalışmaları ile gösterilmiştir (Dixon ve ark., 1997).

2.7.3. CDP-kolin ve Metabolitlerinin Etkileri

Hem CDP-kolinin hem de metabolitlerinin birçok önemli etkisi vardır. CDP-kolinin asetilkolin sentezinde, kolinerjik sistemde ve membran fosfolipitleri üzerinde önemli etkileri vardır. CDP-kolin tedavisi sonrasında beyindeki fosfatidilkolin, fosfatidilserin ve fosfatidiletanolamin gibi önemli membran fosfolipitlerinin sentezinin arttığı kanıtlanmıştır (Lopez-Coviella ve ark., 1995). Ayrıca CDP-kolin

tedavisinin, fosfolipaz A2 enzimini inhibe ederek de membran bütünlüğünün korunmasını sağlamada önemli olduğu düşünülmektedir (Arrigoni ve ark., 1987).

Dışarıdan verilen CDP-kolinin plazma ve beyinde kolin ve dolayısı ile asetilkolin miktarını arttırdığı (Dixon ve ark., 1997), böylelikle kolinerjik sistemin aktivasyonunu değiştirdiği (Çavun ve Savcı, 2004) gösterilmiştir. CDP-kolinin kolinerjik sistem aktivasyonu üzerinden kan basıncını arttırdığı saptanmıştır (Arslan ve ark., 1991). CDP-kolinin kolinerjik sistem üzerine olan etkileri vasıtasıyla endokrin sistem üzerinde de etkileri vardır. CDP-kolin tedavisinin plazma ACTH, tiroid stimulan hormon (TSH), luteinizan hormon (LH) ve büyüme hormonu (GH) (Çavun ve Savcı, 2004), insülin ve katekolamin seviyelerini arttırdığı gösterilmiştir (Cansev, 2003).

Sitidin ve üridin pirimidin nükleozididir. Hücre içinde nükleik asit oluşumu, lipit sentezi ve protein yapısına katılmalarının yanı sıra sitidin trifosfata dönüşerek fosfatidilkolin yapımında rol oynar (Paroni ve ark., 1985). Oral yolla verilen üridin tedavisinden sonra beyinde UTP, sitidin-5-trifosfat (CTP), CDP-kolin (Cansev ve ark., 2005) ve sinaptik fosfolipit seviyelerinin (Wurtman ve ark., 2006) arttığı gözlenmiştir.

Kolin ise fosfatidilkolin, sfingomiyelin ve plazminojenlerin polar alt ünitelerinin sentezinin yanı sıra asetilkolin nörotransmitter sentezinde ve betain aracılı metionin sentezinde önemlidir. Kolin beyin gelişimi ve fonksiyonları için de çok önemli bir moleküldür (Zeisel, 1997; Zeisel, 2004). Diyet ile yumurta, balık, buğday, yerfıstığı gibi besinlerle alınabilir. Ayrıca karaciğer, böbrek ve sinir hücrelerinin membranındaki fosfatidilkolin, kolin için bir depo görevi görür (Zeiss, 1985). Kolin, asetilkolinin hem ön maddesi hem de yıkım ürünüdür. Asetilkolin, kolin asetil transferaz enzimi aracılığı ile kolin ve asetil koenzim A (asetil KoA)'dan oluşur. Dolaşımdaki kolin konsantrasyonu asetilkolin sentez ve salıverilme hızını belirleyen en önemli etmendir. Dolaşımdaki kolin düzeyinin artırılması sonucunda beyinde hem kolin (Köppen ve ark., 1993) hem de asetilkolin düzeyleri (Cohen ve Wurtman, 1975) artar. Kolin intrauterin hipokampus gelişiminde de önemlidir (Craciunescu ve ark., 2003) Hamileliğin geç dönemlerinde kolinden fakir beslenme sonucunda, erişkin kemirgenlerin uzun süreli potansiyelizasyon (Jones ve ark., 1998) ve belleği (Meck ve Williams, 1997) de içeren hipokampus fonksiyonlarında geri

dönüşü olmayan bozukluklar oluştuğu gösterilmiştir. Gebelikte normal diyetle alınana göre yaklaşık dört kat fazla kolin alımının hipokampal progenitör hücrelerin proliferasyonunu indüklediği (Albright ve ark., 1999) ve görsel ve işitsel hafızayı %30 oranında arttırdığı gösterilmiştir (Schenk ve Brandner, 1995; Williams ve ark., 1998).

2.7.4. CDP-kolinin Terapötik Etkileri

Hücre membran bütünlüğünün bozulması birçok hastalığın patofizyolojisinde yer alan bir durumdur. Hücre membranının önemli bir bileşeni olan fosfatidilkolin sentezi, hücrenin onarımı ve korunması için oldukça önemlidir. CDP-kolin de fosfatidilkolin sentezini arttıran madde olarak hastalıkların tedavisinde umut vadetmektedir. CDP-kolinin kafa travması (Secades, 2011), serebrovasküler hastalıklar (Matsuoka ve ark., 1967), bilişsel bozukluklar, nörodejeneratif hastalıklar (Blount ve ark., 2002; Cacabelos ve ark., 1996; Shimamoto ve ark., 1975), ağrı (Hamurtekin ve Gurun, 2006), ilaç bağımlılığı (Renshaw ve ark., 1999), ambliyopi (Campos ve ark., 1995) ve glokom (Parisi ve ark., 1999) gibi birçok hastalıkta etkileri araştırılmıştır.

CDP-kolinin öğrenme ve bellek üzerine etkileri de araştırılmıştır. Yaşlanmaya bağlı olarak öğrenme ve bellekte meydana gelen hasarlara karşı CDP-kolinin etkili olduğu gösterilmiştir. Pasif sakınma ve şartlandırılmış refleks testinin kullanıldığı bir çalışmada, CDP-kolin tedavisinin 13 aylık farelerin performansında 4 aylık farelerin performansına yakın bir iyileşme sağladığı gösterilmiştir (Agut ve Ortiz, 1991). Yaşlı sıçanlara 2 ay boyunca uygulanan CDP-kolin tedavisi sonrasında CTP aktivitesinin anlamlı olarak arttığı ve yaşlı hayvanlarda hücre membranında meydana gelen hasara karşı bu artışın iyileşme sağladığı düşünülmüştür (Gimenez ve ark., 1999). Skopolamin ile indüklenmiş bellek hasarı oluşturulan sıçanlarda CDP-kolinin amneziyi önlediği (Petkov ve ark., 1988) ve yaştan bağımsız olarak tüm yaş gruplarında olumlu etkilerinin olduğu saptanmıştır (Petkov ve ark., 1990a). Köpekler üzerinde yapılan diğer bir çalışmada da CDP-kolinin öğrenme ve bellek üzerine kolaylaştırıcı etkisi olduğu gösterilmiştir (Bruhwyler ve ark., 1998). Vasküler patolojiler nedeniyle gelişen bilişsel bozukluklarda da CDP-kolinin yararlı etkileri saptanmıştır (Cacabelos ve ark., 1994). Yirmi gün boyunca CDP-kolin tedavisi

verilen sıçanlarda tedavi sonrası aktif ve pasif sakınma testi sonuçlarında öğrenme ve bellek performanslarının yanı sıra motor kapasite ve koordinasyonlarında da iyileşme olduğu gözlenmiştir (Drago ve ark., 1993). CDP-kolinin ayrıca hipokampal asetilkolinesteraz ve Na/K pompasının aktivitesini iyileştirdiği gösterilmiştir (Plataras ve ark., 2003). CDP-kolin veya üridin monofosfat (UMP)+kolin uygulaması sonucunda hayvanların Morris su tankı testindeki spasyal bellek performanslarının arttığı bulunmuştur (De Bruin ve ark., 2003; Teather ve Wurtman, 2003). Uzun süreli UMP takviyesi sonucunda sıçanların hipokampus bağımlı kognitif davranışlarının geliştiği saptanmıştır (Teather ve Wurtman, 2006). Prenatal kolin tedavisi uygulanmış sıçanlarda navigasyon yeteneği gelişiminin kontrol hayvanlarına göre üç gün önce olduğu ayrıca MAPK ve CREB fosforilasyonunun da arttığı gösterilmiştir (Mellott ve ark., 2004). Bu etkilerinin dışında CDP-kolin serebral korteks ve hipotalamusta norepinefrin düzeylerini, striatumda dopamin düzeylerini, serebral korteks, striatum ve hipokampusta ise serotonin düzeylerini arttırmaktadır (Petkov ve ark., 1990b).

3.GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1. Hayvanlar

Çalışmalara Uludağ Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra başlandı (Karar no: 2014-01/04). Uludağ Üniversitesi Deneş Hayvanları Yetiştirme, Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen, 200-300 gr ağırlığında, 8-12 haftalık Wistar Albino cinsi erkek sıçanlar kullanıldı (n=72). Deneşler 20-24 °C sıcaklığında ve 12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsü sağlanmış odada gerçekleştirildi.

3.2. Gruplar

Deneş hayvanları her gruptaki hayvan sayısı 6 olacak şekilde randomize olarak 12 gruba ayrıldı:

3.2.1. Uyku Yoksunluğu (UY) Grupları

- **UY+SF:** %0,9 NaCl (SF) uygulanan uyku yoksunluğu grubu (i.p., n=6)
- **UY+C100:** 100 µmol/kg CDP-kolin uygulanan uyku yoksunluğu grubu (i.p., n=6)
- **UY+C300:** 300 µmol/kg CDP-kolin uygulanan uyku yoksunluğu grubu (i.p., n=6)
- **UY+C600:** 600 µmol/kg CDP-kolin uygulanan uyku yoksunluğu grubu (i.p., n=6)

3.2.2. Ortam Kontrol (OK) Grupları

- **OK+SF:** SF uygulanan ortam kontrol grubu (i.p., n=6)
- **OK+C100:** 100 µmol/kg CDP-kolin uygulanan ortam kontrol grubu (i.p., n=6)
- **OK+C300:** 300 µmol/kg CDP-kolin uygulanan ortam kontrol grubu (i.p., n=6)

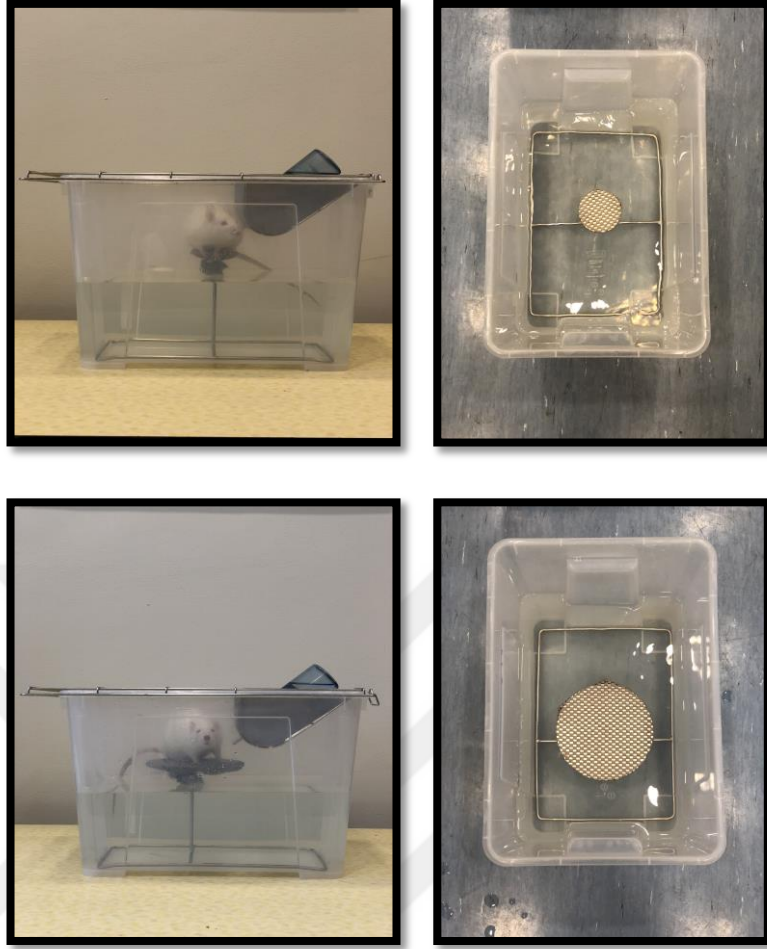
- **OK+C600:** 600 µmol/kg CDP-kolin uygulanan ortam kontrol grubu (i.p., n=6)

3.2.3. Kontrol Kafes (KK) Grupları

- **KK+SF:** SF uygulanan kontrol kafes grubu (i.p., n=6)
- **KK+C100:** 100 µmol/kg CDP-kolin uygulanan kontrol kafes grubu (i.p., n=6)
- **KK+C300:** 300 µmol/kg CDP-kolin uygulanan kontrol kafes grubu (i.p., n=6)
- **KK+C600:** 600 µmol/kg CDP-kolin uygulanan kontrol kafes grubu (i.p., n=6)

3.3. Uyku Yoksunluğu Modeli

Çalışmamızda REM uyku yoksunluğu oluşturmak için Flower pot metodu kullanıldı. Hayvanlar 22°C sıcaklığında su ile dolu bir kabın (23 cm genişliğinde, 37 cm uzunluğunda ve 30 cm derinliğinde şeffaf plastik) içinde su yüzeyinin 2 cm üzerinde kalacak şekilde konumlandırılmış, 14 cm yüksekliğinde ve 6,5 cm çapında platformlar üzerine bırakıldı. Bu düzenek hayvanların NREM uykusunu uyumalarına izin verirken, REM uykusuna geçtiklerinde kas tonusunu kaybettikleri için suyun içine düşerek uyanmalarına yol açar, böylece REM uyku yoksunluğu oluşturulur. Bu modelde uyku yoksunluğunun meydana getirdiği etkiler dışında hayvanların maruz kaldığı immobilizasyon, sosyal izolasyon gibi stres unsurlarının oluşturduğu etkiler de gözlenebilmektedir. Bu etkileri uyku yoksunluğunun oluşturduğu etkilerden ayırt edebilmek amacıyla ortam kontrol grupları oluşturuldu. Ortam kontrol grubundaki hayvanlar aynı şekilde su dolu kabın içine konulan daha büyük (13 cm çapında) platformlar üzerine yerleştirildi. Böylece hayvanlar REM uykusuna girdiklerinde suyun içine düşmediler ve uyku yoksunluğu oluşmadan aynı ortam koşullarına maruz bırakıldılar. Her iki grubun da kontrolünü sağlayabilmek amacıyla kontrol kafes grupları oluşturuldu. Bu gruplardaki hayvanlar her kafeste 2 deney hayvanı olacak şekilde normal laboratuvar kafeslerine yerleştirildi. Tüm gruplardaki hayvanların 96 saat boyunca buldukları ortamlarında su ve yem alımları serbest bırakıldı (Resim 1).



Resim 1. Flower pot metodunun uygulandığı kafesler

3.4. İlaç ve Uygulanması

Çalışmamızda deney hayvanlarına, Morris su tankı testinden 30 dk önce 4 gün boyunca günde 2 kez (saat 10:00 ve 14:00'da), 5. gün 1 kez (saat 10:00'da) olmak üzere SF (1ml/kg) veya 100 $\mu\text{mol/kg}$, 300 $\mu\text{mol/kg}$, 600 $\mu\text{mol/kg}$ olmak üzere üç farklı dozda CDP-kolin (Sigma Chemical, St. Louis, MO) SF içinde çözdürülerek 1ml/kg volümünde intraperitoneal olarak enjekte edildi.

3.5. Öğrenme ve Bellek Testleri

Öğrenme ve bellek testleri için 150 cm çapında, 30 cm yüksekliğinde ve 60 cm derinliğinde Morris su tankı kullanıldı. Tank 22°C sıcaklığında su ile doldurularak üzeri gizli kaçış platformunun görünmesini önlemek ve beyaz renkli sıçanlarla kontrast oluşturarak sistemin deney hayvanının hareketlerini

algılayabilmesini sağlamak için siyah polipropilen boncuklarla kaplandı. Tankın bulunduğu odanın duvarlarına ve tank çerçevesine sıçanların yerlerini belirleyebilmelerini kolaylaştırmak amacıyla görsel ipuçları yerleştirildi (Resim 2). İlk 4 gün eğitim fazında (öğrenme testi) sıçanlar 4 farklı kadrandan; kuzey, güney, doğu, batı yönlerinden sırayla, yüzleri tankın duvarına dönük olacak şekilde suya bırakıldı. Sıçanların 90 saniye içinde suyun 2 cm altında bulunan gizli kaçış platformunu bulmaları beklendi. Platformu bulan sıçanlar 30 saniye boyunca platformda tutuldu. Doksan saniye zarfında platformu bulamayan sıçanlar ise araştırmacı tarafından platforma konularak, 30 saniye boyunca duvarlardaki ipuçları yardımıyla platformun yerini öğrenmeleri beklendi. Eğitim fazı 4 ardışık günde, her gün saat 10.30 ve 14.30'da olmak üzere günde 2 kez yapıldı. Eğitim fazında sıçanların gizli kaçış platformunu bulma süreleri kaydedildi. Beşinci gün probe fazında (bellek testi) ise platform bulunduğu yerden kaldırıldı, sıçanlar platformun daha önce bulunduğu kadranın tam karşı kadrından yine yüzleri tank duvarına dönük olacak şekilde suya bırakıldı. Doksan saniye boyunca yüzmelerine izin verilen hayvanların daha önce platformun bulunduğu alana ilk ulaşma süresi, platformun bulunduğu alanı çaprazlama sayısı ve platformun bulunduğu kadranda geçirilen süre ölçüldü. Tüm davranış testleri bilgisayarlı video-kamera sistemi (Ethovision; Noldus, Hollanda) ile kayıt altına alındı. Deney hayvanları 5. günkü probe fazının ardından dekapite edildi.



Resim 2. Morris su tankı

3.6. Western-Blot Protokolü

Beşinci gün dekapite edilen deney hayvanlarının sağ hipokampusları eksize edildi. Hipokampus dokusu 2 ml distile su içerisinde homojenize edilerek -80°C 'de muhafaza edildi. Tüm homojenatların total protein içeriği Lowry yöntemine (Lowry ve ark., 1951) göre analiz edildikten sonra 1:1 oranında Laemmli tamponu (Laemmli, 1970) ile muamele edilerek kaynatıldı. Her örnek, eşit miktarda protein içerecek şekilde Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi (SDS-PAGE; Mini Protean II, Bio-Rad, Hercules, CA, ABD) yardımıyla elektroforetik olarak yürütüldü. Ardından protein bantları poliviniliden florür (PVDF) membranlara (Millipore, Billerica, MA, ABD) aktarıldı. Membranlar tris tamponlu salin ve tween 20 (TBST) içinde çözdürülmüş % 5 yağsız kuru süt (Carnation, Glendale, CA, ABD) çözeltisi ile bloke edildi. Membranlar bloke edildikten sonra TBST tamponuyla yıkandı ve bir gece tavşan anti-fosfo-CREB (1:1000, Millipore, Temecula, CA, ABD) veya tavşan CaMKII (1:1000, Cell Signaling Technology, Danvers, MA, ABD) primer antikorları ile inkübe edildi. Ertesi gün, TBST tamponunda yıkandıktan sonra

membranlar HRP (Horse radish peroksidaz) ile bağlanmış tavşan anti Ig G ikincil antikoru (1:5000, Cell Signaling Technology, Danvers, MA, ABD) ile 1 saat inkübe edildi. En sonunda, membranlar güçlendirilmiş kemilüminesans solüsyonu (Millipore, Billerica, MA, ABD) ile inkübe edilerek görsel hale getirildi ve dijital görüntüler Licor CDigit tarayıcısı (LI-COR Biotechnology, Lincoln, NE, ABD) ile analiz edildi. Bantların dansitesi Licor CDigit sisteminin yazılımı kullanılarak karşılaştırıldı. Bu işlemi takiben membranlar, primer ve sekonder antikoları uzaklaştırmak için özel bir tampon (Thermo Fisher Scientific, Rockford IL, ABD) ile muamele edildi. Ardından membranlar, eşit miktarda protein yüklendiğinin kontrolü için fare-anti- β -III-tubulin antikoru (Millipore, Temecula, CA, ABD) ile inkübe edildi ve uygun ikincil antikor ile işlem tekrarlanıp görüntü alındı.

3.7. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için SigmaPlot (versiyon 12.5) programı kullanıldı. İstatistiksel değerlendirmeler için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve takiben post-hoc Tukey testi kullanıldı. İkili karşılaştırmalar için ise t-testi uygulandı. Elde edilen veriler ortalama \pm standart hata şeklinde belirtildi; 0,05'den küçük p değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Morris Su Tankı Testi Eğitim Fazı Sonuçları

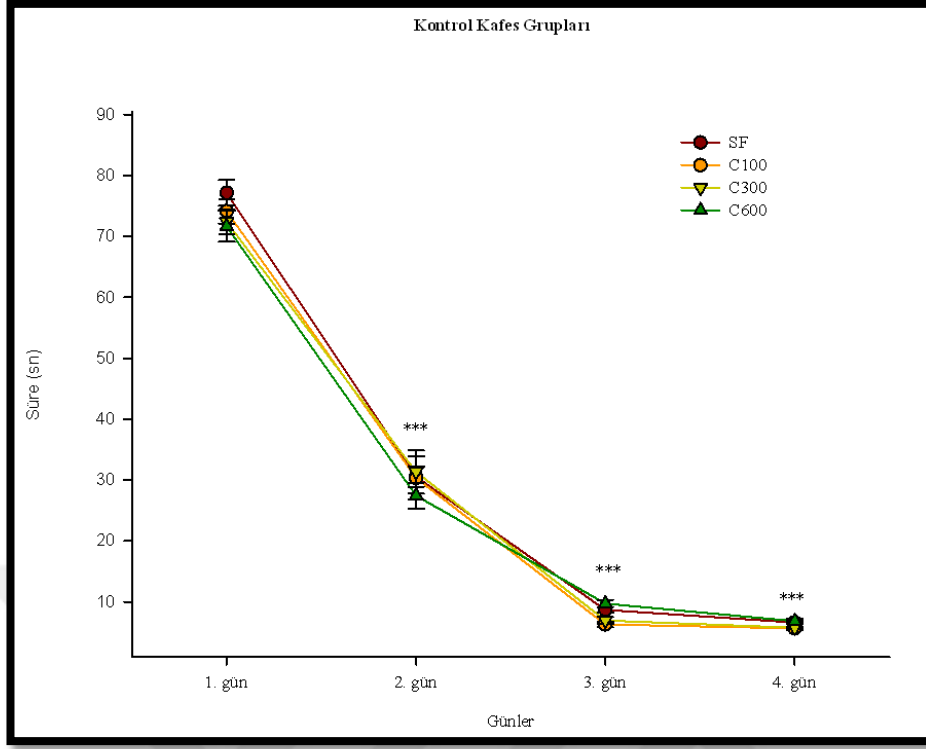
4.1.1. Platformu Bulma Süresi

4.1.1.1. Kontrol Kafes Gruplarının Karşılaştırılması

Eğitim fazının uygulandığı 4 günlük süre boyunca SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan KK gruplarındaki sıçanlar birinci güne göre platformu giderek daha kısa sürede bulmuşlardır ($p<0,001$).

KK+SF grubu ile CDP-kolin uygulanan KK gruplarının 1., 2., 3. ve 4. eğitim günü değerleri karşılaştırıldığında platformun yerini öğrenmeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

KK+C100, KK+C300 ve KK+C600 gruplarının 1., 2., 3. ve 4. eğitim günü değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında platformun yerini öğrenmeleri açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 4) (Tablo 1).



Şekil 4. 4 günlük eğitim fazı boyunca kontrol kafes gruplarındaki sıçanların platformu bulma süreleri (ortalama değer±standart hata) (***) $p < 0,001$ 1. güne göre tüm gruplar).

Tablo 1. Kontrol kafes gruplarındaki sıçanların platformu bulma sürelerinin aritmetik ortalama ve standart hata değerleri (***) $p < 0,001$ 1. güne göre tüm gruplar).

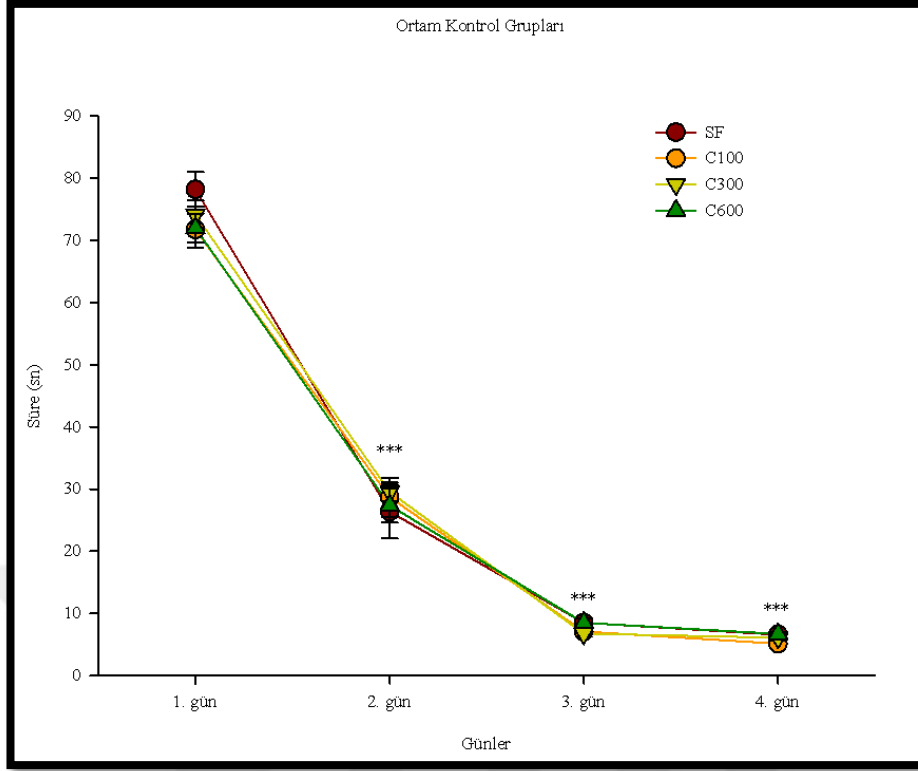
	1. GÜN	2. GÜN	3. GÜN	4. GÜN
KK+SF	77,12±2,11	30,55±1,66***	8,69±0,42***	6,61±0,20***
KK+C100	74,12±1,99	30,32±3,56***	6,29±0,46***	5,66±0,28***
KK+C300	72,37±1,97	31,32±3,56***	6,95±0,56***	5,76±0,19***
KK+C600	71,64±2,52	27,42±2,13***	9,73±0,59***	6,84±0,33***

4.1.1.2. Ortam Kontrol Gruplarının Karşılaştırılması

Eğitim fazının uygulandığı 4 günlük süre boyunca SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan OK gruplarındaki sıçanlar birinci güne göre platformu giderek daha kısa sürede bulmuşlardır ($p < 0,001$).

OK+SF grubu ile CDP-kolin uygulanan OK gruplarının 1., 2., 3. ve 4. eğitim günü değerleri karşılaştırıldığında platformun yerini öğrenmeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

OK+C100, OK+C300 ve OK+C600 gruplarının 1., 2., 3. ve 4. eğitim günü değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında platformun yerini öğrenmeleri açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 5) (Tablo 2).



Şekil 5. 4 günlük eğitim fazı boyunca ortam kontrol gruplarındaki sıçanların platformu bulma süreleri (ortalama değer±standart hata) (***) $p < 0,001$ 1. güne göre tüm gruplar).

Tablo 2. Ortam kontrol gruplarındaki sıçanların platformu bulma sürelerinin aritmetik ortalama ve standart hata değerleri (***) $p < 0,001$ 1. güne göre tüm gruplar).

	1. GÜN	2. GÜN	3. GÜN	4. GÜN
OK+SF	78,18 ±2,81	26,36 ±4,31***	8,49 ±0,32***	6,56 ±0,25***
OK+C100	71,72 ±2,89	28,67 ±3,09***	7,06 ±0,38***	5,12 ±0,28***
OK+C300	74,12 ±2,28	29,52 ±1,53***	6,74 ±0,47***	6,09 ±0,40***
OK+C600	71,96 ±2,34	27,34 ±2,77***	8,48 ±0,70***	6,68 ±0,19***

4.1.1.3. Uyku Yoksunluğu Gruplarının Karşılaştırılması

Eğitim fazının uygulandığı 4 günlük süre boyunca SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan UY gruplarındaki sıçanlar birinci güne göre platformu giderek daha kısa sürede bulmuşlardır ($p < 0,001$).

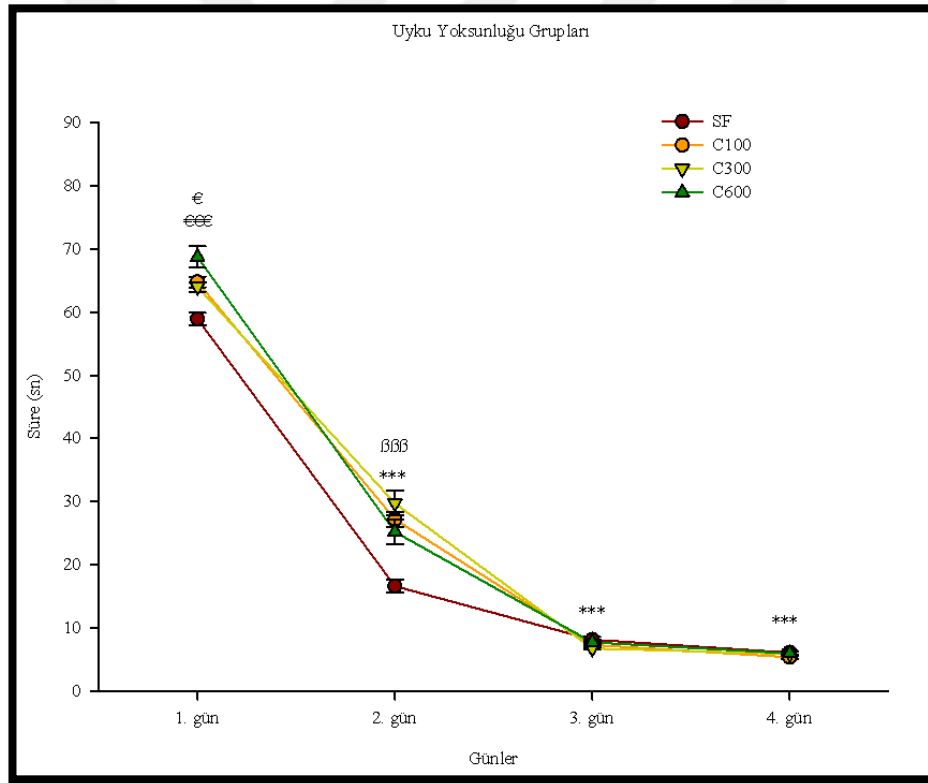
UY+SF grubundaki sıçanlara göre; UY+C100 grubundaki sıçanlar 1. eğitim gününde ($p < 0,001$) ve 2. eğitim gününde ($p < 0,001$) platformu daha uzun sürede bulmuşlardır.

UY+SF grubundaki sıçanlara göre; UY+C300 grubundaki sıçanlar 1. eğitim gününde ($p<0,05$) ve 2. eğitim gününde ($p<0,001$) platformu daha uzun sürede bulmuşlardır.

UY+SF grubundaki sıçanlara göre; UY+C600 grubundaki sıçanlar 1. eğitim gününde ($p<0,001$) ve 2. eğitim gününde ($p<0,001$) platformu daha uzun sürede bulmuşlardır.

Üçüncü ve dördüncü eğitim günlerinde platformun yerini öğrenmeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

UY+C100, UY+C300 ve UY+C600 gruplarının 1., 2., 3. ve 4. eğitim günü değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında platformun yerini öğrenmeleri açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 6) (Tablo 3).



Şekil 6. 4 günlük eğitim fazı boyunca uyku yoksunluğu gruplarındaki sıçanların platformu bulma süreleri (ortalama değer±standart hata) ($^{***} p<0,001$ 1. güne göre tüm gruplar, $^{\epsilon} p<0,05$ SF grubuna göre C300 grubu, $^{\epsilon\epsilon\epsilon} p<0,001$ SF grubuna göre C100 ve C600 grubu, $^{\beta\beta\beta} p<0,001$ SF grubuna göre C100, C300 ve C600 grubu).

Tablo 3. Uyku yoksunluğu gruplarındaki sıçanların platformu bulma sürelerinin aritmetik ortalama ve standart hata değerleri (^{***}p<0,001 1. güne göre tüm gruplar, ^εp<0,05 SF grubuna göre C300 grubu, ^{εεε}p<0,001 SF grubuna göre C100 ve C600 grubu, ^{BBB}p<0,001 SF grubuna göre C100, C300 ve C600 grubu).

	1. GÜN	2. GÜN	3. GÜN	4. GÜN
UY+SF	58,93±0,99	16,61±1,00***	8,17±0,42***	6,10±0,25***
UY+C100	64,79±0,86 ^{εεε}	27,20±1,24***, ^{BBB}	7,32±0,32***	5,37±0,20***
UY+C300	64,01±0,75 ^ε	29,73±1,97***, ^{BBB}	6,78±0,25***	5,89±0,35***
UY+C600	68,73±1,71 ^{εεε}	25,22±2,02***, ^{BBB}	7,74±0,39***	5,97±0,28***

4.1.1.4. SF Gruplarının Karşılaştırılması

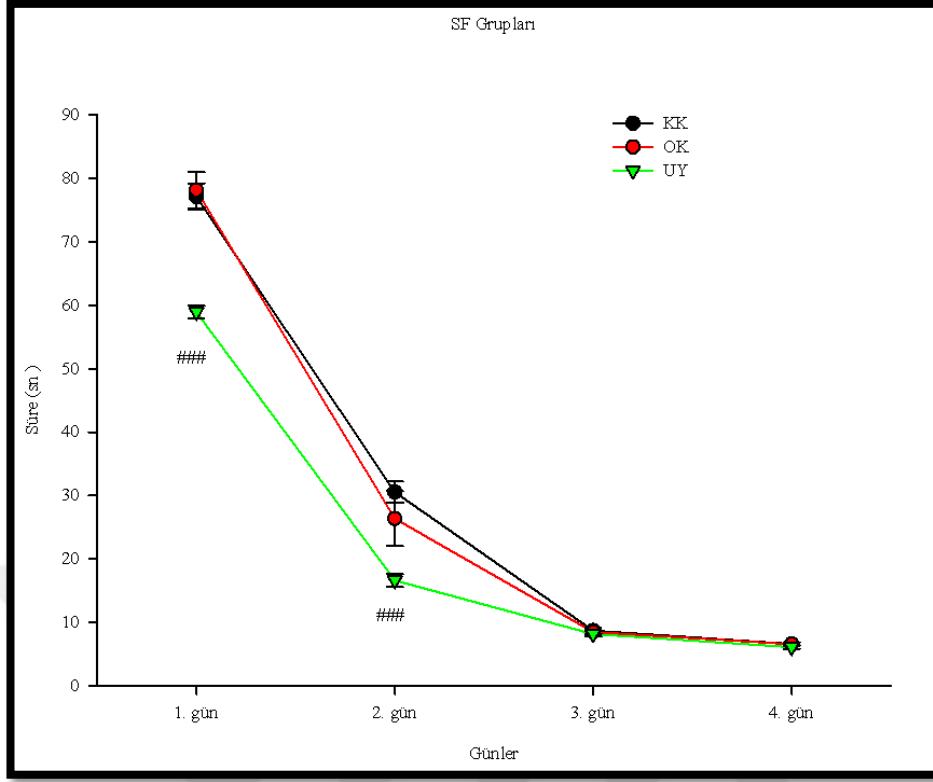
Eğitim fazının uygulandığı 4 günlük süre boyunca SF uygulanan KK, OK ve UY grupları karşılaştırıldığında;

KK+SF ile OK+SF grupları arasında 1. ve 2. eğitim günlerinde platformun yerini öğrenmeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

KK+SF grubundaki sıçanlara göre UY+SF grubundaki sıçanlar 1. ve 2. eğitim günlerinde platformu daha kısa sürede bulmuşlardır (p<0,001).

OK+SF grubundaki sıçanlara göre UY+SF grubundaki sıçanlar 1. ve 2. eğitim günlerinde platformu daha kısa sürede bulmuşlardır (p<0,001).

Üçüncü ve dördüncü eğitim günlerinde platformun yerini öğrenmeleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 7) (Tablo 4).



Şekil 7. 4 günlük eğitim fazı boyunca SF uygulanan sıçanların platformu bulma süreleri (ortalama değer±standart hata) (###p<0,001 KK grubuna ve OK grubuna göre).

Tablo 4. SF uygulanan sıçanların platformu bulma sürelerinin aritmetik ortalama ve standart hata değerleri (###p<0,001 KK grubuna ve OK grubuna göre).

	1. GÜN	2. GÜN	3. GÜN	4. GÜN
KK+SF	77,12±2,11	30,55±1,66	8,69±0,42	6,61±0,20
OK+SF	78,18 ±2,81	26,36±4,31	8,49±0,32	6,56±0,25
UY+SF	58,93±0,99###	16,61±1,00###	8,17±0,42	6,10±0,25

4.1.1.5. C100 Gruplarının Karşılaştırılması

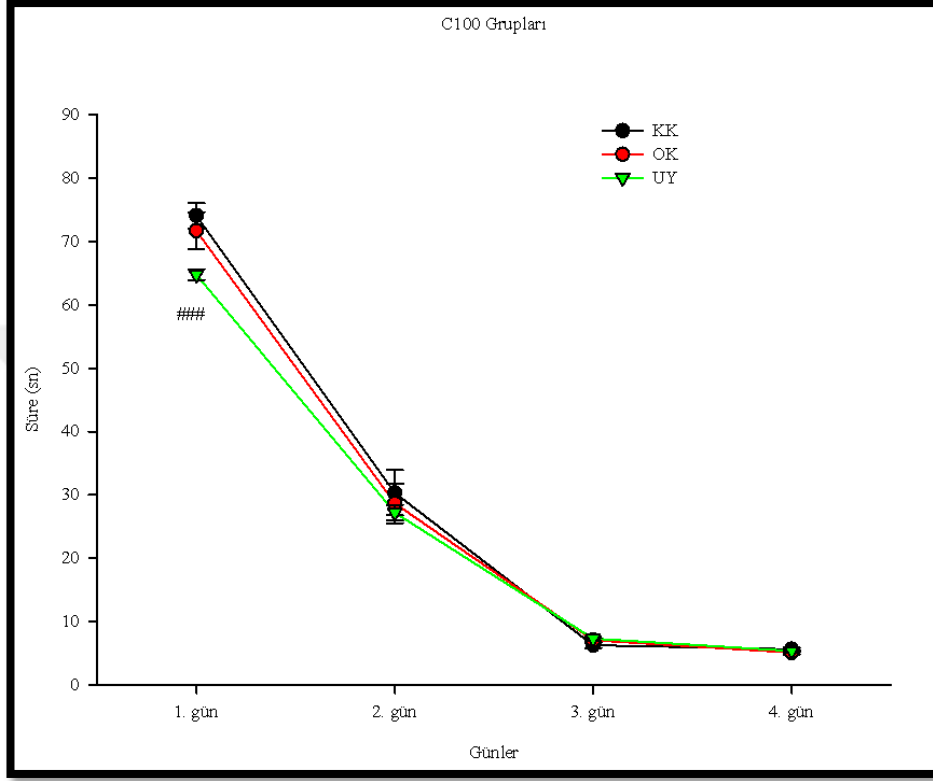
Eğitim fazının uygulandığı 4 günlük süre boyunca 100 µmol/kg CDP-kolin tedavisi uygulanan KK, OK ve UY grupları karşılaştırıldığında;

KK+C100 ile OK+C100 grupları arasında 1. eğitim gününde platformun yerini öğrenmeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

KK+C100 grubundaki sıçanlara göre UY+C100 grubundaki sıçanlar 1. eğitim gününde platformu daha kısa sürede bulmuşlardır (p<0,001).

OK+C100 grubu ile UY+C100 grubu arasında 1. eğitim gününde platformun yerini öğrenmeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

İkinci, üçüncü ve dördüncü eğitim günlerinde platformun yerini öğrenmeleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 8) (Tablo 5).



Şekil 8. 4 günlük eğitim fazı boyunca 100 µmol/kg CDP-kolin tedavisi uygulanan sıçanların platformu bulma süreleri (ortalama değer±standart hata) (###p<0,001 KK grubuna göre).

Tablo 5. 100 µmol/kg CDP-kolin tedavisi uygulanan sıçanların platformu bulma sürelerinin aritmetik ortalama ve standart hata değerleri (###p<0,001 KK grubuna göre).

	1. GÜN	2. GÜN	3. GÜN	4. GÜN
KK+C100	74,12±1,99	30,32±3,56	6,29±0,46	5,66±0,28
OK+C100	71,72±2,89	28,67±3,09	7,06±0,38	5,12±0,28
UY+C100	64,79±0,86###	27,20±1,24	7,32±0,32	5,37±0,20

4.1.1.6. C300 Gruplarının Karşılaştırılması

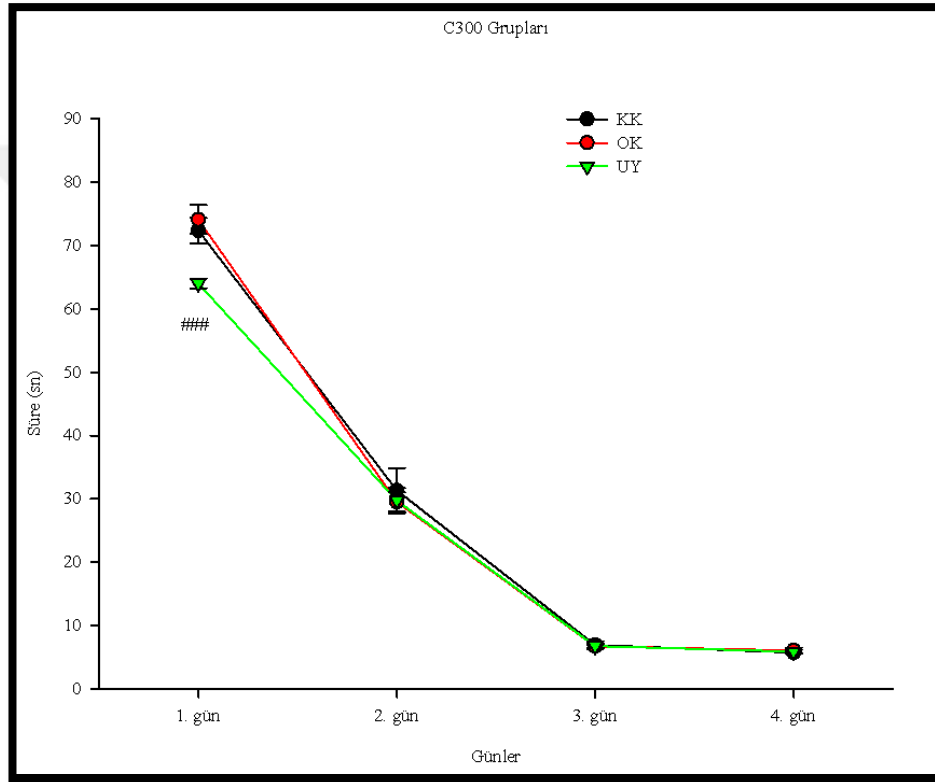
Eğitim fazının uygulandığı 4 günlük süre boyunca 300 µmol/kg CDP-kolin tedavisi uygulanan KK, OK ve UY grupları karşılaştırıldığında;

KK+C300 grubu ile OK+C300 grubu arasında 1. eğitim gününde platformun yerini öğrenmeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

KK+C300 grubundaki sıçanlara göre UY+C300 grubundaki sıçanlar 1. eğitim gününde platformu daha kısa sürede bulmuşlardır ($p<0,001$).

OK+C300 grubundaki sıçanlara göre UY+C300 grubundaki sıçanlar 1. eğitim gününde platformu daha kısa sürede bulmuşlardır ($p<0,001$).

İkinci, üçüncü ve dördüncü eğitim günlerinde platformun yerini öğrenmeleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 9) (Tablo 6).



Şekil 9. 4 günlük eğitim fazı boyunca 300 $\mu\text{mol/kg}$ CDP-kolin tedavisi uygulanan sıçanların platformu bulma süreleri (ortalama değer \pm standart hata) (### $p<0,001$ KK ve OK grubuna göre).

Tablo 6. 300 $\mu\text{mol/kg}$ CDP-kolin tedavisi uygulanan sıçanların platformu bulma sürelerinin aritmetik ortalama ve standart hata değerleri (### $p<0,001$ KK ve OK grubuna göre).

	1. GÜN	2. GÜN	3. GÜN	4. GÜN
KK+C300	72,37 \pm 1,97	31,32 \pm 3,56	6,95 \pm 0,56	5,76 \pm 0,19
OK+C300	74,12 \pm 2,28	29,52 \pm 1,53	6,74 \pm 0,47	6,09 \pm 0,40
UY+C300	64,01 \pm 0,75###	29,73 \pm 1,97	6,78 \pm 0,25	5,89 \pm 0,35

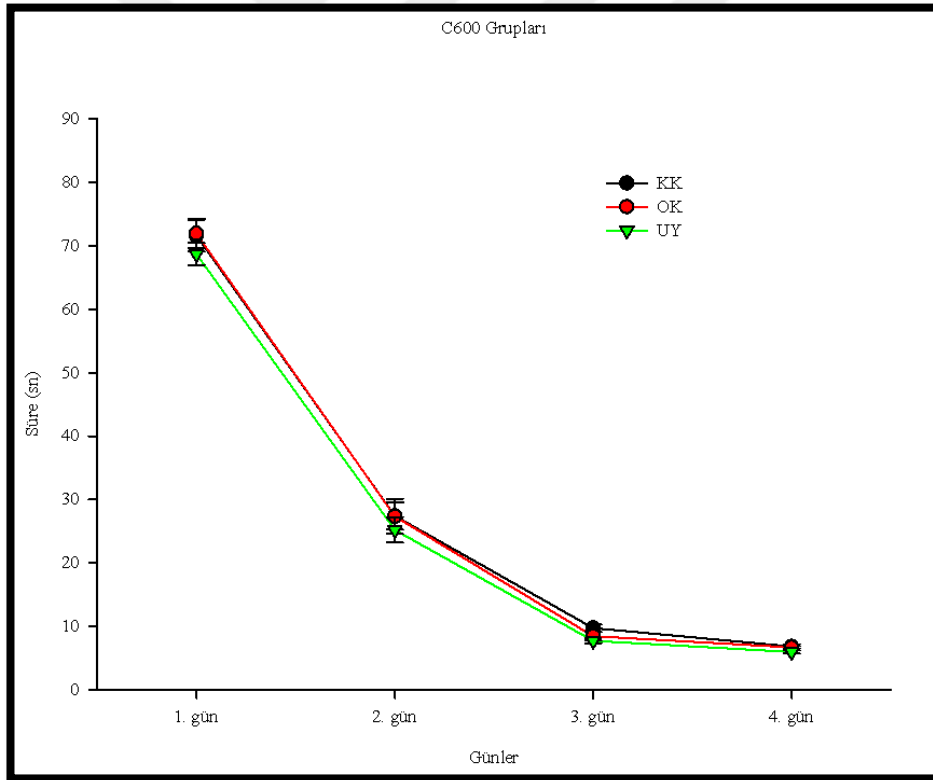
4.1.1.7. C600 Gruplarının Karşılaştırılması

Eğitim fazının uygulandığı 4 günlük süre boyunca 600 µmol/kg CDP-kolin tedavisi uygulanan KK, OK ve UY grupları karşılaştırıldığında;

KK+C600 grubu ile OK+C600 grubu arasında 1., 2., 3. ve 4. eğitim günlerinde platformun yerini öğrenmeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

KK+C600 grubu ile UY+C600 grubu arasında 1., 2., 3. ve 4. eğitim günlerinde platformun yerini öğrenmeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

OK+C600 grubu ile UY+C600 grubu arasında 1., 2., 3. ve 4. eğitim günlerinde platformun yerini öğrenmeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 10) (Tablo 7).



Şekil 10. 4 günlük eğitim fazı boyunca 600 µmol/kg CDP-kolin tedavisi uygulanan sıçanların platformu bulma süreleri (ortalama değer±standart hata).

Tablo 7. 600 µmol/kg CDP-kolin tedavisi uygulanan sıçanların platformu bulma sürelerinin aritmetik ortalama ve standart hata değerleri.

	1. GÜN	2. GÜN	3. GÜN	4. GÜN
KK+C600	71,64±2,52	27,42±2,13	9,73±0,59	6,84±0,33
OK+C600	71,96±2,34	27,34±2,77	8,48±0,70	6,68±0,19
UY+C600	68,73±1,71	25,22±2,02	7,74±0,39	5,97±0,28

4.2. Morris Su Tankı Testi Probe Fazı Sonuçları

4.2.1. Platformun Bulunduğu Alana İlk Ulaşma Süresi

4.2.1.1. Kontrol Kafes Gruplarının Karşılaştırılması

SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan KK grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

KK+SF grubu ile KK+C100 ve KK+C300 grubu arasında platformun bulunduğu alana ulaşma süresi bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır.

KK+SF grubuna göre KK+C600 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alana daha kısa sürede ulaşmışlardır ($p<0,001$).

KK+C100 grubu ile KK+C300 grubu arasında platformun bulunduğu alana ulaşma süresi bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır.

KK+C100 grubundaki sıçanlara göre KK+C600 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alana daha kısa sürede ulaşmışlardır ($p<0,001$).

KK+C300 grubundaki sıçanlara göre KK+C600 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alana daha kısa sürede ulaşmışlardır ($p<0,001$) (Şekil 11) (Tablo 8).

4.2.1.2. Ortam Kontrol Gruplarının Karşılaştırılması

SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan OK grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

OK+SF grubu ile CDP-kolin uygulanan OK grupları arasında platformun bulunduğu alana ulaşma süresi bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır.

OK+C100, OK+C300 ve OK+C600 grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında platformun bulunduğu alana ulaşma süresi bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır (Şekil 11) (Tablo 8).

4.2.1.3. Uyku Yoksunluğu Gruplarının Karşılaştırılması

SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan UY grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

UY+SF grubundaki sıçanlara göre UY+C100 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alana daha kısa sürede ulaşmışlardır ($p<0,05$).

UY+SF grubundaki sıçanlara göre UY+C300 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alana daha kısa sürede ulaşmışlardır ($p<0,05$).

UY+SF grubundaki sıçanlara göre UY+C600 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alana daha kısa sürede ulaşmışlardır ($p<0,05$).

UY+C100, UY+C300 ve UY+C600 grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında platformun bulunduğu alana ulaşma süresi bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır (Şekil 11) (Tablo 8).

4.2.1.4. SF Gruplarının Karşılaştırılması

KK, OK ve UY grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

KK+SF ile OK+SF grupları arasında platformun bulunduğu alana ulaşma süresi bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır.

KK+SF grubundaki sıçanlara göre UY+SF grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alana daha uzun sürede ulaşmışlardır ($p<0,001$).

OK+SF grubundaki sıçanlara göre UY+SF grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alana daha uzun sürede ulaşmışlardır ($p<0,001$) (Şekil 11) (Tablo 8).

4.2.1.5. C100 Gruplarının Karşılaştırılması

KK, OK ve UY grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

KK+C100 ile OK+C100 grupları arasında platformun bulunduğu alana ulaşma süresi bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır.

KK+C100 grubundaki sıçanlara göre UY+C100 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alana daha uzun sürede ulaşmışlardır ($p<0,001$).

OK+C100 grubundaki sıçanlara göre UY+C100 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alana daha uzun sürede ulaşmışlardır ($p<0,001$) (Şekil 11) (Tablo 8).

4.2.1.6. C300 Gruplarının Karşılaştırılması

KK, OK ve UY grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

KK+C300 ile OK+C300 grupları arasında platformun bulunduğu alana ulaşma süresi bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır.

KK+C300 grubundaki sıçanlara göre UY+C300 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alana daha uzun sürede ulaşmışlardır ($p<0,001$).

OK+C300 grubundaki sıçanlara göre UY+C300 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alana daha uzun sürede ulaşmışlardır ($p<0,001$) (Şekil 11) (Tablo 8).

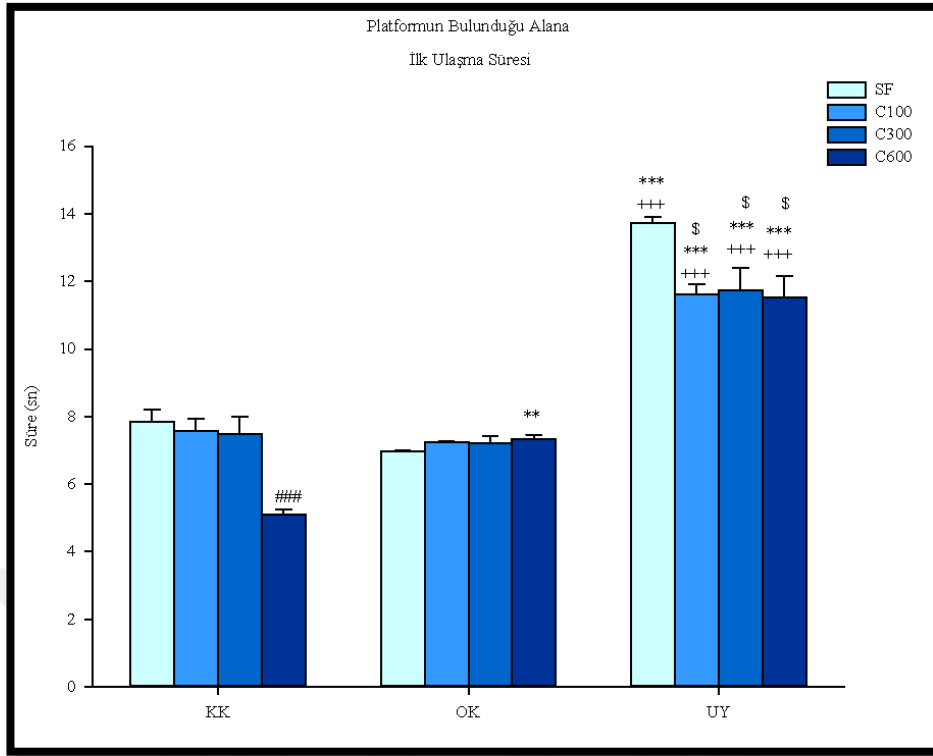
4.2.1.7. C600 Gruplarının Karşılaştırılması

KK, OK ve UY grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

KK+C600 grubundaki sıçanlara göre OK+C600 grubundaki sıçanlar platforma daha uzun sürede ulaşmışlardır ($p<0,01$).

KK+C600 grubundaki sıçanlara göre UY+C600 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alana daha uzun sürede ulaşmışlardır ($p<0,001$).

OK+C600 grubundaki sıçanlara göre UY+C600 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alana daha uzun sürede ulaşmışlardır ($p<0,001$) (Şekil 11) (Tablo 8).



Şekil 11. Platformun bulunduğu alana ilk ulaşma süreleri (ortalama değer±standart hata) (^{**} p<0,01 aynı tedavi uygulanan KK grubuna göre, ^{***} p<0,001 aynı tedavi uygulanan KK grubuna göre, ⁺⁺⁺ p<0,001 aynı tedavi uygulanan OK grubuna göre, ^{###} p<0,001 KK SF, C100, C300 gruplarına göre, [§] p<0,05 UY+SF grubuna göre).

Tablo 8. Sıçanların platformun bulunduğu alana ilk ulaşma sürelerinin aritmetik ortalama ve standart hata değerleri (^{**} p<0,01 aynı tedavi uygulanan KK grubuna göre, ^{***} p<0,001 aynı tedavi uygulanan KK grubuna göre, ⁺⁺⁺ p<0,001 aynı tedavi uygulanan OK grubuna göre, ^{###} p<0,001 KK SF, C100, C300 gruplarına göre, [§] p<0,05 UY+SF grubuna göre).

	KK	OK	UY
SF	7,84±0,37	6,98±0,01	13,72±0,18 ^{***,+++}
C100	7,57±0,35	7,25±0,02	11,62±0,28 ^{***,+++,§}
C300	7,49±0,52	7,20±0,21	11,74±0,66 ^{***,+++,§}
C600	5,09±0,15 ^{###}	7,34±0,13 ^{**}	11,52±0,63 ^{***,+++,§}

4.2.2. Platformun Bulunduğu Alanı Çaprazlama Sayısı

4.2.2.1. Kontrol Kafes Gruplarının Karşılaştırılması

SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan KK grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

KK+SF grubu ile CDP-kolin uygulanan KK grupları arasında platformun bulunduğu alanı çaprazlama sayısı bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır.

KK+C100, KK+C300 ve KK+C600 grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında platformun bulunduğu alanı çaprazlama sayısı bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır (Şekil 12) (Tablo 9).

4.2.2.2. Ortam Kontrol Gruplarının Karşılaştırılması

SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan OK grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

OK+SF grubu ile CDP-kolin uygulanan OK grupları arasında platformun bulunduğu alanı çaprazlama sayısı bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır.

OK+C100, OK+C300 ve OK+C600 grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında platformun bulunduğu alanı çaprazlama sayısı bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır (Şekil 12) (Tablo 9).

4.2.2.3. Uyku Yoksunluğu Gruplarının Karşılaştırılması

SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan UY grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

UY+SF grubu ile CDP-kolin uygulanan UY grupları arasında platformun bulunduğu alanı çaprazlama sayısı bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır.

UY+C100, UY+C300 ve UY+C600 grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında platformun bulunduğu alanı çaprazlama sayısı bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır (Şekil 12) (Tablo 9).

4.2.2.4. SF Gruplarının Karşılaştırılması

KK, OK ve UY grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

KK+SF ile OK+SF grupları arasında platformun bulunduğu alanı çaprazlama sayısı bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır.

KK+SF grubundaki sıçanlara göre UY+SF grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alanı daha az sayıda çaprazlamışlardır ($p<0,001$).

OK+SF grubundaki sıçanlara göre UY+SF grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alanı daha az sayıda çaprazlamışlardır ($p<0,01$) (Şekil 12) (Tablo 9).

4.2.2.5. C100 Gruplarının Karşılaştırılması

KK, OK ve UY grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

KK+C100 ile OK+C100 grupları arasında platformun bulunduğu alanı çaprazlama sayısı bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır.

KK+C100 grubundaki sıçanlara göre UY+C100 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alanı daha az sayıda çaprazlamışlardır ($p<0,001$).

OK+C100 grubundaki sıçanlara göre UY+C100 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alanı daha az sayıda çaprazlamışlardır ($p<0,001$) (Şekil 12) (Tablo 9).

4.2.2.6. C300 Gruplarının Karşılaştırılması

KK, OK ve UY grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

KK+C300 ile OK+C300 grupları arasında platformun bulunduğu alanı çaprazlama sayısı bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır.

KK+C300 grubundaki sıçanlara göre UY+C300 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alanı daha az sayıda çaprazlamışlardır ($p<0,001$).

OK+C300 grubundaki sıçanlara göre UY+C300 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alanı daha az sayıda çaprazlamışlardır ($p<0,001$) (Şekil 12) (Tablo 9).

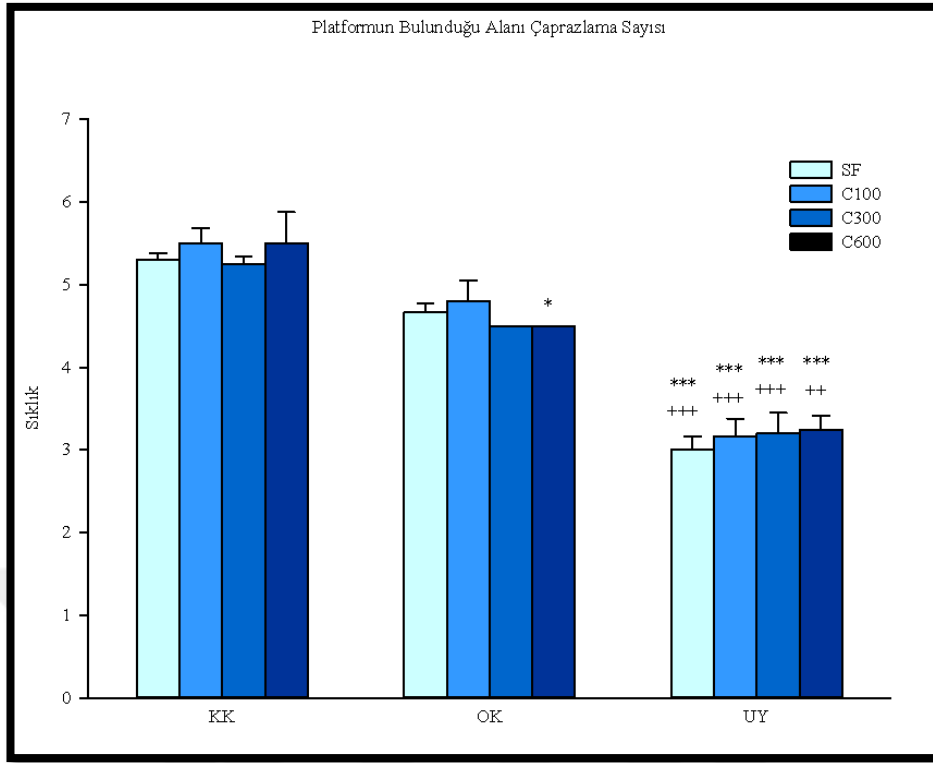
4.2.2.7. C600 Gruplarının Karşılaştırılması

KK, OK ve UY grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

KK+C600 grubundaki sıçanlara göre OK+C600 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alanı daha az sayıda çaprazlamıştır ($p<0,05$).

KK+C600 grubundaki sıçanlara göre UY+C600 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alanı daha az sayıda çaprazlamışlardır ($p<0,001$).

OK+C600 grubundaki sıçanlara göre UY+C600 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alanı daha az sayıda çaprazlamışlardır ($p<0,001$) (Şekil 12) (Tablo 9).



Şekil 12. Platformun bulunduğu alanı çaprazlama sayısı (ortalama değer±standart hata) (* $p<0,05$ aynı tedavi uygulanan KK grubuna göre, *** $p<0,001$ aynı tedavi uygulanan KK grubuna göre, ++ $p<0,01$ aynı tedavi uygulanan OK grubuna göre, +++ $p<0,001$ aynı tedavi uygulanan OK grubuna göre).

Tablo 9. Sıçanların platformun bulunduğu alanı çaprazlama sayılarının aritmetik ortalama ve standart hata değerleri (* $p<0,05$ aynı tedavi uygulanan KK grubuna göre, *** $p<0,001$ aynı tedavi uygulanan KK grubuna göre, ++ $p<0,01$ aynı tedavi uygulanan OK grubuna göre, +++ $p<0,001$ aynı tedavi uygulanan OK grubuna göre).

	KK	OK	UY
SF	5,30±0,08	4,66±0,10	3,00±0,17***,+++
C100	5,50±0,19	4,80±0,25	3,17±0,21***,+++
C300	5,25±0,09	4,50±0,00	3,20±0,25***,+++
C600	5,50±0,38	4,50±0,00*	3,25±0,16***,++

4.2.3. Platformun Bulunduğu Kadrandaki Geçirilen Süre

4.2.3.1. Kontrol Kafes Gruplarının Karşılaştırılması

SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan KK grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

KK+SF grubundaki sıçanlara göre KK+C100 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu kadranda daha fazla süre geçirmişlerdir ($p<0,001$).

KK+SF grubundaki sıçanlara göre KK+C300 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu kadranda daha fazla süre geçirmişlerdir ($p<0,001$).

KK+SF grubundaki sıçanlara göre KK+C600 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu kadranda daha fazla süre geçirmişlerdir ($p<0,001$).

KK+C100, KK+C300 ve KK+C600 grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında platformun bulunduğu kadranda geçirilen süre bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır (Şekil 13) (Tablo 10).

4.2.3.2. Ortam Kontrol Gruplarının Karşılaştırılması

SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan OK grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

OK+SF grubundaki sıçanlara göre OK+C100 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu kadranda daha fazla süre geçirmişlerdir ($p<0,001$).

OK+SF grubundaki sıçanlara göre OK+C300 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu kadranda daha fazla süre geçirmişlerdir ($p<0,001$).

OK+SF grubundaki sıçanlara göre OK+C600 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu kadranda daha fazla süre geçirmişlerdir ($p<0,001$).

OK+C100, OK+C300 ve OK+C600 grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında platformun bulunduğu kadranda geçirilen süre bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır (Şekil 13) (Tablo 10).

4.2.3.3. Uyku Yoksunluğu Gruplarının Karşılaştırılması

SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan UY grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

UY+SF grubu ile CDP-kolin uygulanan UY grupları arasında platformun bulunduğu kadranda geçirilen süre bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır.

UY+C100, UY+C300 ve UY+C600 grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında platformun bulunduğu kadranda geçirilen süre bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır (Şekil 13) (Tablo 10).

4.2.3.4. SF Gruplarının Karşılaştırılması

KK, OK ve UY grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

KK+SF grubundaki sıçanlara göre OK+SF grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu kadranda daha az süre geçirmişlerdir ($p<0,001$).

KK+SF grubundaki sıçanlara göre UY+SF grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu kadranda daha az süre geçirmişlerdir ($p<0,001$).

OK+SF grubundaki sıçanlara göre UY+SF grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu kadranda daha az süre geçirmişlerdir ($p<0,01$) (Şekil 13) (Tablo 10).

4.2.3.5. C100 Gruplarının Karşılaştırılması

KK, OK ve UY grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

KK+C100 grubundaki sıçanlara göre OK+C100 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu kadranda daha az süre geçirmişlerdir ($p<0,001$).

KK+C100 grubundaki sıçanlara göre UY+C100 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu kadranda daha az süre geçirmişlerdir ($p<0,001$).

OK+C100 grubundaki sıçanlara göre UY+C100 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu kadranda daha az süre geçirmişlerdir ($p<0,001$) (Şekil 13) (Tablo 10).

4.2.3.6. C300 Gruplarının Karşılaştırılması

KK, OK ve UY grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

KK+C300 grubundaki sıçanlara göre OK+C300 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu kadranda daha az süre geçirmişlerdir ($p<0,001$).

KK+C300 grubundaki sıçanlara göre UY+C300 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu kadranda daha az süre geçirmişlerdir ($p<0,001$).

OK+C300 grubundaki sıçanlara göre UY+C300 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu kadranda daha az süre geçirmişlerdir ($p<0,001$) (Şekil 13) (Tablo 10).

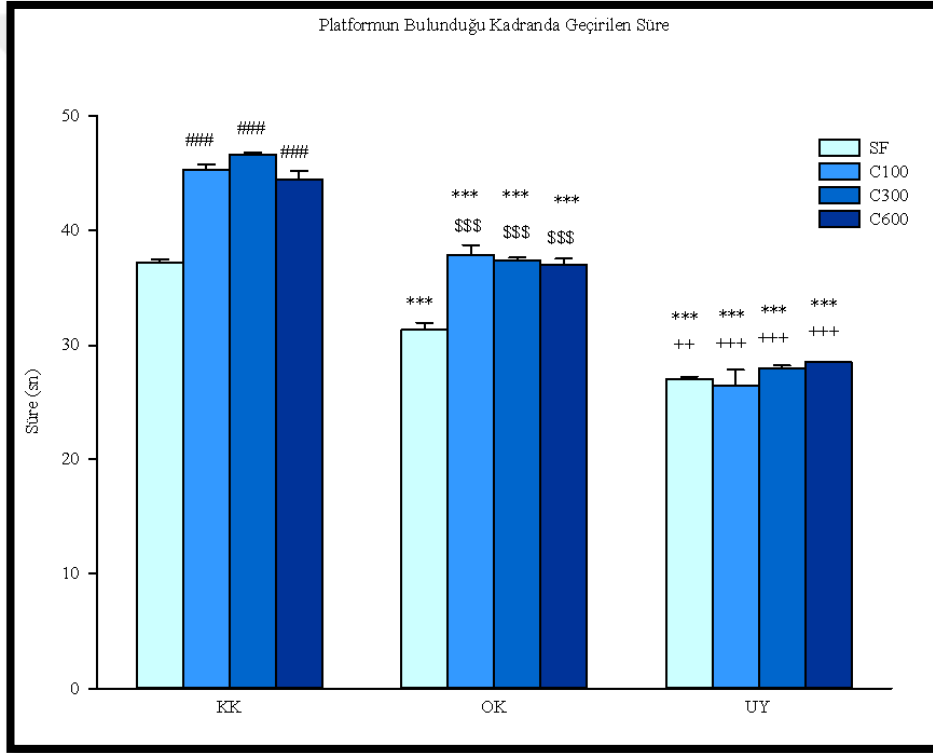
4.2.3.7. C600 Gruplarının Karşılaştırılması

KK, OK ve UY grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

KK+C600 grubundaki sıçanlara göre OK+C600 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu kadranda daha az süre geçirmişlerdir ($p<0,001$).

KK+C600 grubundaki sıçanlara göre UY+C600 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu kadranda daha az süre geçirmişlerdir ($p<0,001$).

OK+C600 grubundaki sıçanlara göre UY+C600 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu kadranda daha az süre geçirmişlerdir ($p<0,001$) (Şekil 13) (Tablo 10).



Şekil 13. Platformun bulunduğu kadranda geçirilen süre (ortalama değer±standart hata) (** $p<0,001$ aynı tedavi uygulanan KK grubuna göre, ++ $p<0,01$ aynı tedavi uygulanan OK grubuna göre, +++ $p<0,001$ aynı tedavi uygulanan OK grubuna göre, ### $p<0,001$ KK SF grubuna göre, \$\$\$ $p<0,001$ OK SF grubuna göre).

Tablo 10. Sıçanların platformun bulunduğu kadranda geçirdikleri sürelerin aritmetik ortalama ve standart hata değerleri (**p<0,001 aynı tedavi uygulanan KK grubuna göre, ++p<0,01 aynı tedavi uygulanan OK grubuna göre, +++p<0,001 aynı tedavi uygulanan OK grubuna göre, ###p<0,001 KK SF grubuna göre, \$\$\$p<0,001 OK SF grubuna göre).

	KK	OK	UY
SF	37,17±0,34	31,39±0,22***	27,04±0,22***, ++
C100	45,32±0,48###	37,91±0,85***, \$\$\$	26,46±1,37***, +++
C300	46,68±0,16###	37,36±0,28***, \$\$\$	28,02±0,22***, +++
C600	44,51±0,69###	37,02±0,52***, \$\$\$	28,50±0,02***, +++

4.3. Western Blot Analizi Sonuçları

4.3.1. tCaMKII/β-Tubulin Oranı

tCaMKII/β-Tubulin protein düzeyleri, aynı ortama maruz bırakılan SF grubundaki tCaMKII/β-Tubulin protein bantlarının ortalama dansitelerinin yüzdesi olarak değerlendirildiğinde (Şekil 18);

4.3.1.1. Kontrol Kafes Gruplarının Karşılaştırılması

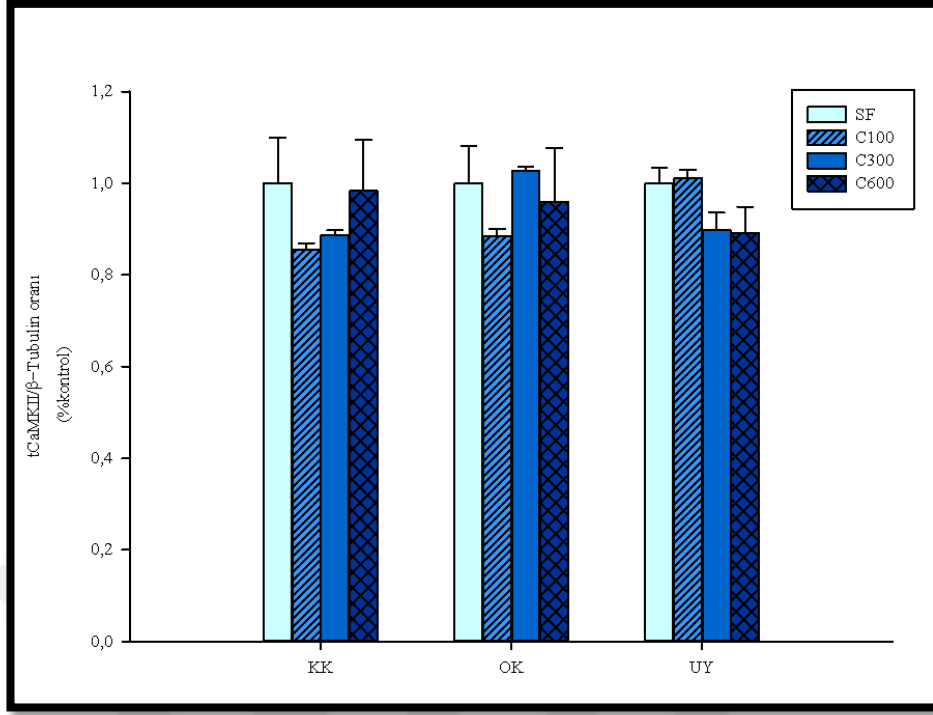
SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan KK grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında tCaMKII/β-Tubulin protein düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 14).

4.3.1.2. Ortam Kontrol Gruplarının Karşılaştırılması

SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan OK grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında tCaMKII/β-Tubulin protein düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 14).

4.3.1.3. Uyku Yoksunluğu Gruplarının Karşılaştırılması

SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan UY grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında tCaMKII/β-Tubulin protein düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 14).



Şekil 14. tCaMKII/ β -Tubulin oranlarının SF gruplarına göre yüzde değişim oranı (ortalama değer \pm standart hata).

tCaMKII/ β -Tubulin protein düzeyleri, aynı doz tedavi verilen KK grubundaki tCaMKII/ β -Tubulin protein bantlarının ortalama dansitelerinin yüzdesi olarak değerlendirildiğinde (Şekil 18);

4.3.1.4. SF Gruplarının Karşılaştırılması

KK+SF, OK+SF ve UY+SF grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında tCaMKII/ β -Tubulin protein düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 15).

4.3.1.5. C100 Gruplarının Karşılaştırılması

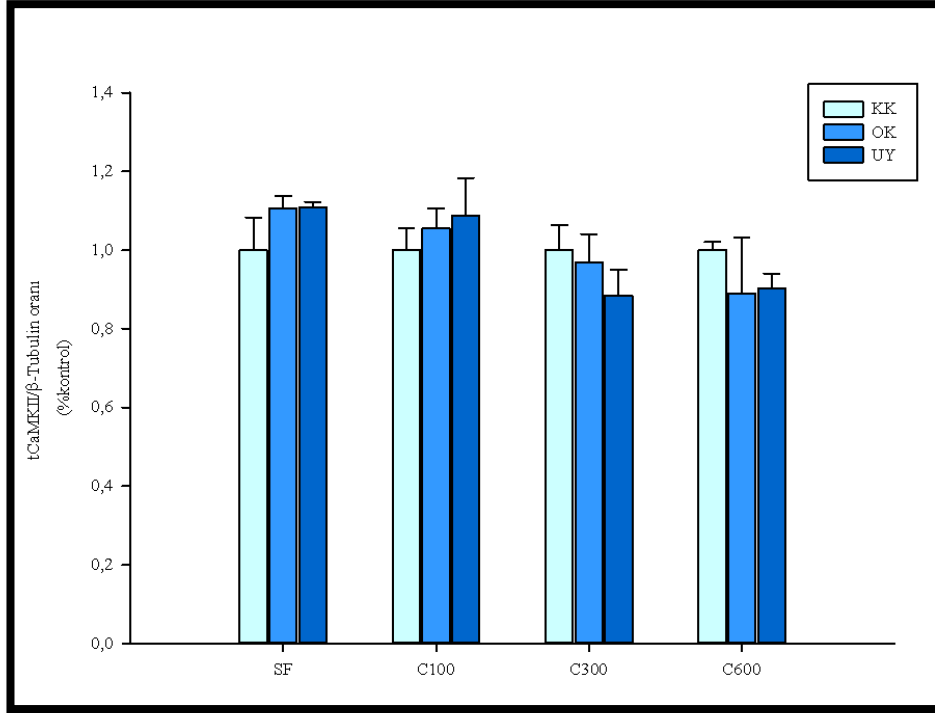
KK+C100, OK+C100 ve UY+100 grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında tCaMKII/ β -Tubulin protein düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 15).

4.3.1.6. C300 Gruplarının Karşılaştırılması

KK+C300, OK+C300 ve UY+300 grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında tCaMKII/ β -Tubulin protein düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 15).

4.3.1.7. C600 Gruplarının Karşılaştırılması

KK+C600, OK+C600 ve UY+600 grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında tCaMKII/ β -Tubulin protein düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 15).



Şekil 15. Aynı tedavi uygulanan kontrol kafes gruplarına göre tCaMKII/ β -Tubulin düzeyinin yüzde değişim oranı (ortalama değer \pm standart hata).

4.3.2. pCREB/ β -Tubulin Oranı

pCREB/ β -Tubulin protein düzeyleri, aynı ortama maruz bırakılan SF grubundaki pCREB/ β -Tubulin protein bantlarının ortalama dansitelerinin yüzdesi olarak değerlendirildiğinde (Şekil 18);

4.3.2.1. Kontrol Kafes Gruplarının Karşılaştırılması

SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan KK grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında pCREB/ β -Tubulin protein düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 16).

4.3.2.2. Ortam Kontrol Gruplarının Karşılaştırılması

SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan OK grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında;

OK+SF grubuna göre OK+C100 grubunun pCREB/ β -Tubulin protein düzeyleri %19,4 oranında artmıştır ($p<0,01$).

OK+SF grubuna göre OK+C300 grubunun pCREB/ β -Tubulin protein düzeyleri % 38,5 oranında artmıştır ($p<0,01$).

OK+SF grubuna göre OK+C600 grubunun pCREB/ β -Tubulin protein düzeyleri %49,4 oranında artmıştır ($p<0,01$).

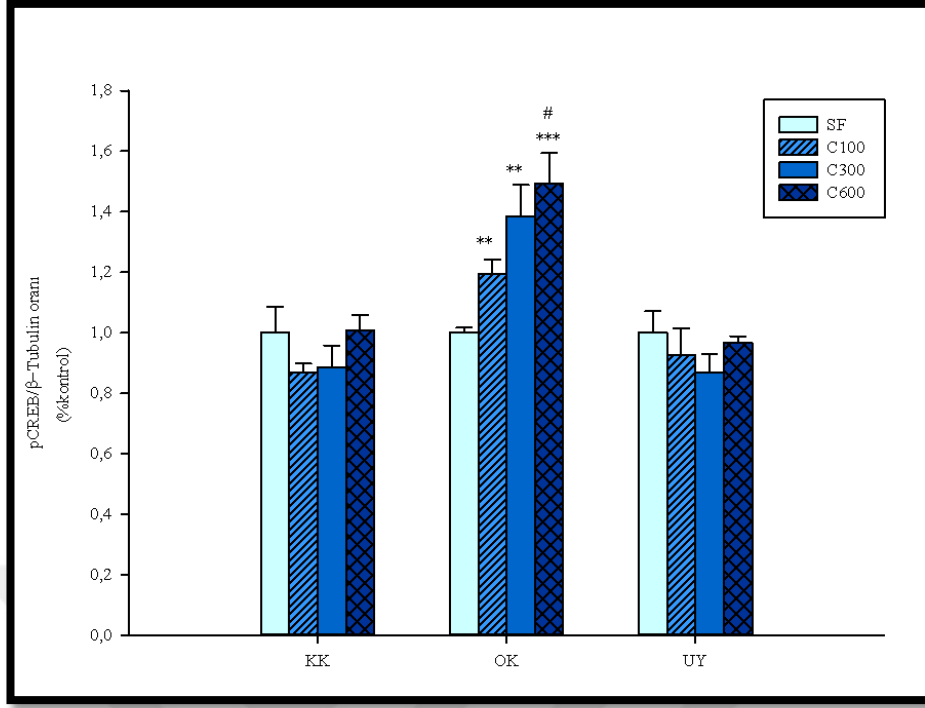
OK+C100 grubu ile OK+ C300 grubu karşılaştırıldığında pCREB/ β -Tubulin protein düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

OK+C100 grubu ile OK+C600 grubu karşılaştırıldığında OK+C600 grubunun pCREB/ β -Tubulin protein düzeyleri anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur ($p<0,05$).

OK+C300 grubu ile OK+ C600 grubu karşılaştırıldığında pCREB/ β -Tubulin protein düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 16).

4.3.2.3. Uyku yoksunluğu Gruplarının Karşılaştırılması

SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan UY grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında pCREB/ β -Tubulin protein düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 16).



Şekil 16. pCREB/ β -Tubulin oranının SF gruplarına göre yüzde değişim oranı (ortalama değer±standart hata) (* $p<0,01$ OK+SF grubuna göre, *** $p<0,001$ OK+SF grubuna göre, # $p<0,05$ OK+C100 grubuna göre).

pCREB/ β -Tubulin protein düzeyleri, aynı doz tedavi verilen KK grubundaki pCREB/ β -Tubulin protein bantlarının ortalama dansitelerinin yüzdesi olarak değerlendirildiğinde (Şekil 18);

4.3.2.4. SF Gruplarının Karşılaştırılması

KK+SF grubuna göre OK+SF grubunun pCREB/ β -Tubulin protein düzeylerinin %71,5'a düştüğü saptanmıştır ($p<0,001$).

KK+SF grubuna göre UY+SF grubunun pCREB/ β -Tubulin protein düzeylerinin %50,4'e düştüğü bulunmuştur ($p<0,001$).

OK+SF grubu ile kıyaslandığında UY+SF grubunun pCREB/ β -Tubulin protein düzeylerinin anlamlı olarak daha düşük olduğu gösterilmiştir ($p<0,01$) (Şekil 17).

4.3.2.5. C100 Gruplarının Karşılaştırılması

KK+C100 grubu ile OK+C100 grupları arasında pCREB/ β -Tubulin protein düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

KK+C100 grubuna göre UY+C100 grubunun pCREB/ β -Tubulin protein düzeylerinin %86'ya düştüğü gösterilmiştir ($p<0,05$).

OK+C100 grubu ile UY+C100 grupları arasında pCREB/ β -Tubulin protein düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (şekil 17).

4.3.2.6. C300 Gruplarının Karşılaştırılması

KK+C300 grubu ile OK+C300 grupları arasında pCREB/ β -Tubulin protein düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

KK+C300 grubuna göre UY+C300 grubunun pCREB/ β -Tubulin protein düzeylerinin %86,1'e düştüğü saptanmıştır ($p<0,01$).

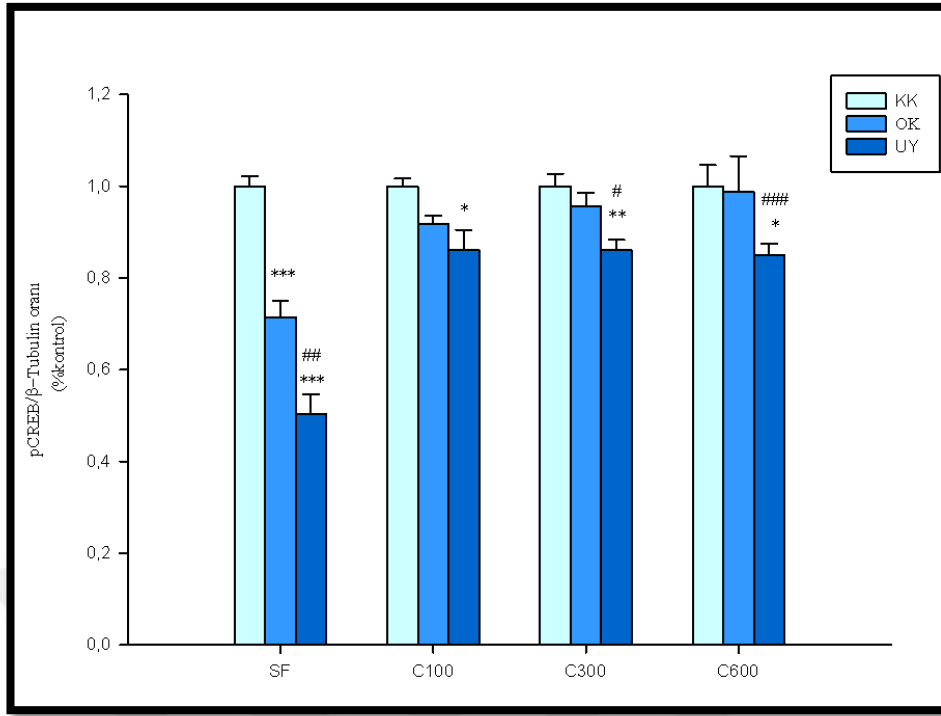
OK+C300 grubu ile kıyaslandığında UY+C300 grubunun pCREB/ β -Tubulin protein düzeylerinin anlamlı olarak daha düşük olduğu gösterilmiştir ($p<0,05$) (şekil 17).

4.3.2.7. C600 Gruplarının Karşılaştırılması

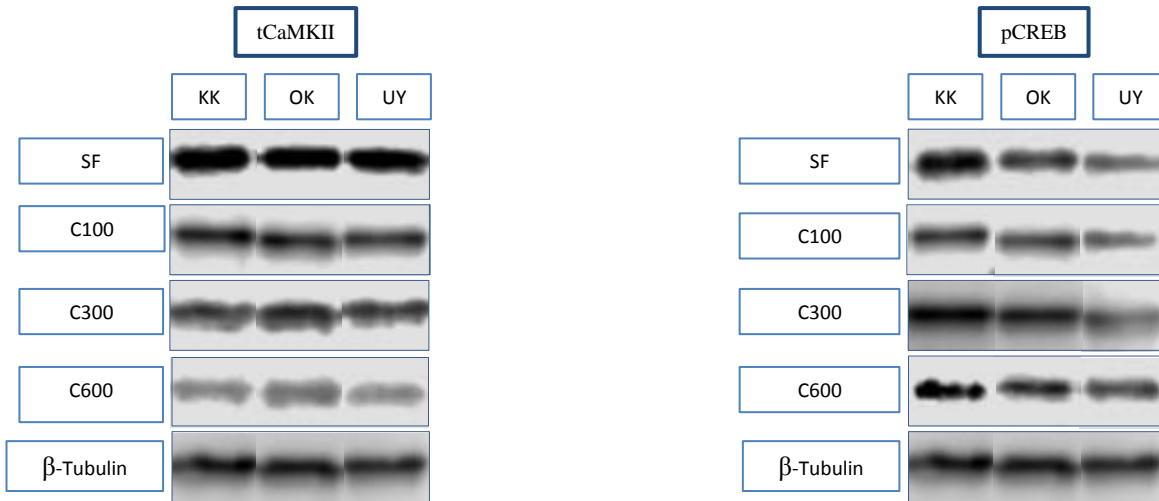
KK+C600 grubu ile OK+C600 grupları arasında pCREB/ β -Tubulin protein düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

KK+C600 grubuna göre UY+C600 grubunun pCREB/ β -Tubulin protein düzeylerinin %84,9'a düştüğü saptanmıştır ($p<0,05$).

OK+C600 grubu ile kıyaslandığında UY+C600 grubunun pCREB/ β -Tubulin protein düzeylerinin anlamlı olarak daha düşük olduğu gösterilmiştir ($p<0,001$) (şekil 17).



Şekil 17. Aynı doz tedavi uygulanan kontrol kafes gruplarına göre pCREB/β-Tubulin düzeyinin yüzde değişim oranı (ortalama değer±standart hata) (* $p < 0,05$ aynı doz etken madde kullanılan KK grubuna göre, ** $p < 0,01$ aynı doz etken madde kullanılan KK grubuna göre, *** $p < 0,001$ aynı doz etken madde kullanılan KK grubuna göre, # $p < 0,05$ aynı doz etken madde kullanılan OK grubuna göre, ## $p < 0,01$ aynı doz etken madde kullanılan OK grubuna göre, ### $p < 0,001$ aynı doz etken madde kullanılan OK grubuna göre).



Şekil 18. Western-blot çalışması sonucunda elde edilen protein bantlarının temsili görüntüleri.

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Uyku, canlıların fiziksel ve mental performansları için önemli olan fizyolojik bir olaydır (Auyeung ve ark., 2015; Tarokh ve ark., 2016; Xi ve ark., 2013). Hastalık, stres ve çevresel faktörler uyku bozukluğu veya uyku yoksunluğuna neden olabilmektedir (Costa e Silva ve ark., 1996). Uyku yoksunluğu sonucunda metabolizmada ölümle sonuçlanabilecek kadar olumsuz etkiler gözlenebilir (Davies ve ark., 2014). Uyku yoksunluğunun öğrenme ve bellek üzerine de olumsuz etkileri mevcuttur. REM uykusunun çeşitli bellek türlerinin konsolidasyonundaki önemi ispatlanmıştır (McDermott ve ark., 2003). REM uyku yoksunluğunun öğrenme ve belleğin moleküler temeli olarak görülen uzun süreli potansiyelizasyonu da bozduğu gösterilmiştir (Alhaider ve ark 2010; McDermott ve ark., 2006).

Hayatımızın vazgeçilmez bir dönemi olan, ömrümüzün yaklaşık 1/3'lük süresini kapsayan uykunun metabolizma üzerindeki etkileri birçok araştırmacının dikkatini çekmiştir. Değişen yaşam koşulları nedeniyle günümüzde birçok insanın maruz kaldığı uyku yoksunluğunun yarattığı olumsuz etkiler ve bunları düzeltmeye yönelik tedaviler birçok araştırmacının konusu olmuştur. Uyku yoksunluğunun birçok çeşidi olmasına rağmen çalışmalar özellikle öğrenme ve bellek için çok önemli olduğu kanıtlanmış REM uykusunun yoksunluğu üzerine yoğunlaşmıştır (Li ve ark., 2009; Oniani ve Lortkipanidze, 2003). Çalışmamızda bu nedenle REM uyku yoksunluğu tercih edilmiştir. REM uyku yoksunluğu oluşturabilmek için geliştirilen modellerden biri de 'Flower pot' metodudur. Uyku yoksunluğu oluşturulan tüm metodlarda olduğu gibi bu metodun da avantaj ve dezavantajları mevcuttur. Kabul görmüş ve sıklıkla kullanılan bir metod olmasına rağmen hayvanların maruz kaldığı immobilizasyon ve sosyal izolasyon stresi kaçınılmazdır (Kovalzon ve Tsibulsky, 1984). REM uyku yoksunluğu sonucunda kilo kaybı, metabolik hızın çok fazla yükselmesi gibi patolojik bulguların ilk haftadan itibaren ortaya çıktığı ve çok uzun süreli uygulanan total uyku yoksunluğunun ölümle sonuçlanabileceği bilindiği için çalışmalar genellikle 96 saat veya daha az uyku yoksunluğu oluşturularak gerçekleştirilmektedir (Koban ve Swinson, 2005). Çalışmamızda 96 saat REM uyku

yoksunluğu oluşturulan sıçanların 4 gün boyunca öğrenme performansları 5. gün ise bellek performanslarını Morris su tankı testinden faydalanarak değerlendirildi.

Morris su tankı testi deney hayvanlarının çeşitli ipuçları kullanarak sudan kaçmasına izin veren görünür veya görünmez platform yardımı ile spasyal öğrenme ve belleği test eden bir davranış testidir (D'Hooge ve De Deyn, 2001; Frick ve ark., 1995; Li ve ark., 2009; Vorhees ve Williams, 2006). Hipokampus aracılı öğrenme ve bellek işlevinin araştırılmasında gizli platform kullanılan yöntemin daha uygun olduğu kanıtlandığı için çalışmamız gizli kaçış platformuyla gerçekleştirildi (Graves ve ark., 2001; Smith ve Rose, 1996).

Çalışmamızda; hücre membranının önemli bir bileşeni olan fosfatidilkolin sentezinin ara basamağında ortaya çıkan ve asetilkolin sentezinde önemli olan sitidin 5-difosfokolin (CDP-kolin) tedavi olarak kullanıldı. CDP-kolinin hücre membran bütünlüğünün bozulması sonucunda ortaya çıkan bir çok hastalıkta yararlı etkileri gösterilmiştir (Cacabelos ve ark., 1996; Matsuoka ve ark., 1967; Secades, 2011; Shimamoto ve ark., 1975). Bunun dışında öğrenme ve bellek bozuklukları üzerine etkileri de araştırılmaktadır (Agut ve Ortiz, 1991; Bruhwyler ve ark., 1998; Petkov ve ark., 1990). CDP-kolinin spasyal bellek performansını arttığı (De Bruin ve ark., 2003; Teather ve Wurtman, 2003) ve sıçanlarda hipokampus bağımlı bilişsel davranışları geliştirdiği saptanmıştır (Teather ve Wurtman, 2006). Çalışmamızda CDP-kolin tedavisinin, REM uyku yoksunluğunun öğrenme-bellek performansı üzerinde oluşturduğu etkileri nasıl değiştirdiği incelendi. Bu konuda daha önce yapılmış herhangi bir çalışma bulunmadığı için farklı dozlarda tedavi uygulanarak doz etkisi de araştırıldı. Farklı dozlara daha önce nöroproteksiyon ve akson rejenerasyonu sağladığı ispatlanmış CDP-kolin dozu referans alınarak karar verildi (Gundogdu ve ark., 2016; Kaplan ve ark., 2014).

Öğrenmeyi değerlendirdiğimiz Morris su tankı testinin eğitim fazının sonuçlarına göre, 4 günlük süre boyunca bütün gruplardaki sıçanlar birinci güne kıyasla platformu giderek daha kısa sürede bulmuşlardır. Tüm gruplardaki hayvanlar platformun yerini öğrenmişlerdir. Bu konuda daha önce yapılan çalışmalarda uyku yoksunluğunun hipokampus bağımlı öğrenmeyi bozduğunu gösteren birçok çalışma olsa da (Aleisa ve ark., 2011b; Alhaider ve ark. 2010; Greenberg ve Pearlman, 1974; Li ve ark., 2009; Smith, 1985; Stickgold, 2001) öğrenmeyi etkilemediğini gösteren

çalışmalar da mevcuttur (Alzobi ve ark., 2017; Chernik, 1972; Horne ve McGrath, 1984; Walsh ve ark., 2011; Wang ve ark., 2009; Zhao ve ark., 2010). Farklı sonuçların elde edilmesinin nedeni uyku yoksunluğu oluşturulan metodun, yoksunluk süresinin, hayvan cinsinin, yaşının veya davranış testinin farklı olması olarak açıklanmaktadır (Francis ve ark., 1995; Geinisman ve ark., 1995; Holscher, 1999; Paul ve ark., 2009; Whishaw ve Tomie, 1996). Ayrıca uyku yoksunluğunun hipokampus fonksiyonlarını zayıflatmasına karşın bazı hayvanlar bu bozukluğu telafi etmek için alternatif davranış stratejileri geliştirebilir. Yapılan bir çalışmada uyku yoksunluğu oluşturulan deney hayvanları T labirent testine tabi tutulmuşlar ve bu hayvanların hipokampus bağımlı spasyal strateji yerine striatum bağımlı tepki tabanlı bir strateji kullandıkları saptanmıştır (Packard ve McGaugh, 1996; Watts ve ark., 2012). Tüm bu sonuçlar hipokampusun uyku yoksunluğuna ne kadar duyarlı olduğunu ve uyku yoksunluğunun öğrenme ve bellek üzerine etkilerinin beyin bölgesine özgü olduğunu göstermektedir. Bizim bulgularımız da REM uyku yoksunluğunun spasyal öğrenme üzerinde bir etkisinin olmadığı yönündedir.

Morris su tankı testi eğitim fazında aynı ortama maruz kalan SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan sıçanlar, tedavinin etkinliğini araştırmak amacıyla karşılaştırıldığında;

Normal laboratuvar kafeslerinde (KK) takip edilen ve SF uygulanan hayvanlara göre 100 µmol/kg, 300 µmol/kg, 600 µmol/kg CDP-kolin uygulanan KK grubundaki hayvanların 1., 2., 3. ve 4. eğitim günü değerleri karşılaştırıldığında platformun yerini öğrenmeleri açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Ayrıca C100, C300, C600 gruplarının her eğitim günündeki platformun yerini bulma süreleri karşılaştırıldığında da anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu sonuçlar CDP-kolin tedavisinin, KK gruplarındaki hayvanların öğrenmeleri üzerine bir etkisinin olmadığını düşündürmüştür. Köpekler üzerinde yapılan bir çalışmada kronik olarak uygulanan CDP-kolin tedavisinin köpeklerin öğrenme performansını arttırdığı görülmüştür (Bruhwyler ve ark., 1998). Günde 500 mg/kg CDP-kolin tedavisinin 8 hafta boyunca uygulandığı ve yaşlanmaya bağlı gelişen öğrenme ve bellek bozukluklarında CDP-kolinin etkisini araştıran bir çalışmada ise kontrol diyeti uygulanan kontrol grubundaki sıçanlara göre CDP-kolin diyeti uygulanan kontrol grubundaki sıçanların Morris su tankı testinde 4 eğitim günü boyunca platformun

yerini bulma süreleri açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır (Teather ve Wurtman, 2003). Bizim sonuçlarımız da bu çalışmayı destekler niteliktedir.

Flower pot metoduna göre oluşturulan ortam kontrol kafeslerinde (OK) takip edilen ve SF uygulanan hayvanlara göre; 100 µmol/kg, 300 µmol/kg, 600 µmol/kg CDP-kolin uygulanan OK grubundaki hayvanların 1., 2., 3. ve 4. eğitim günü değerleri karşılaştırıldığında platformun yerini öğrenmeleri açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Ayrıca C100, C300, C600 gruplarının her eğitim günündeki platformun yerini bulma süreleri karşılaştırıldığında da anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu sonuçlar CDP-kolin tedavisinin, OK gruplarındaki hayvanların öğrenmeleri üzerine bir etkisinin olmadığını düşündürmüştür. Bu gruptaki hayvanlarda sadece Flower pot tekniği nedeniyle maruz kaldıkları immobilizasyon ve sosyal izolasyon stresinin etkileri görülmektedir. Kronik veya tek seferde yoğun strese maruz kalma sonucunda bilişsel fonksiyonlarda negatif etkiler gözlenirken ılımlı stres sonucunda pozitif etkiler gözlenmektedir (de Kloet ve ark., 2005). CDP-kolinin stres üzerine etkileri ile ilgili literatürde bir çalışma bulunmamaktadır. Fakat CDP-kolinin metaboliti olan kolin ile yapılan bir çalışmada yüksek miktarda ve kısa sürede bir stres hormonu olan glikokortikoidlere maruz kalmanın NMDA reseptöründe duyarlılığı arttırdığı ve hipokampusta nöron hasarı oluşturduğu ve bu hasarın da kolin ile anlamlı derecede azaldığı gösterilmiştir (Mulholland ve ark., 2004). Bizim çalışmamızda ise strese maruz kalan bu hayvanlarda CDP-kolinin öğrenme üzerine bir etkisi gözlenmemiştir. Sonuçlarımızın bu çalışmadan farklı olmasının sebebinin; uygulanan stres türünün, süresinin ve yoğunluğunun farklılığından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Uyku yoksunluğuna maruz kalan ve SF uygulanan sıçanlar 100 µmol/kg, 300 µmol/kg, 600 µmol/kg CDP-kolin uygulanan sıçanlara göre 1. ve 2. eğitim günlerinde platformu daha hızlı bulmuşlardır. Üçüncü ve dördüncü eğitim günlerinde ise anlamlı bir fark bulunmamıştır. C100, C300, C600 gruplarının her eğitim günündeki platformun yerini bulma süreleri karşılaştırıldığında da anlamlı bir fark saptanmamıştır. UY grubundaki sıçanlar Flower pot tekniği nedeniyle maruz kaldıkları immobilizasyon ve sosyal izolasyon stresinin yanı sıra uyku yoksunluğunun oluşturduğu stresin de etkisi altındadır. Stres; katekolamin salınımı düzenleyen sempatik sinir sistemi üzerinden hızlı etkilerini gösterirken,

glükokortikoid salınımını düzenleyen HPA aksı üzerinden yavaş etkilerini gösterir (Gagnon ve Wagner, 2016). HPA aksının aktivasyonu sonucunda görülen yavaş etkiler de membran reseptörleri ile etkileşim sonucu oluşan hızlı genomik olmayan etkiler ve gen transkripsiyonu üzerinde değişimlere neden olan genomik etkiler olmak üzere ikiye ayrılabilir (Groeneweg ve ark., 2011; Joels ve ark., 2012). İlimli stresle karşılaştıktan yaklaşık 20-60 dakika sonra katekolaminerjik etki ve genomik olmayan glukokortikoid aktivasyonu sonucunda LTP'nin artması ile stresten kısa bir süre sonra öğrenme güçlenmektedir (Diamond ve ark., 2007). Yaklaşık 2 saat sonra ise hipokampusta plastisitenin azalmasına neden olan genomik etkiler ortaya çıkmaya başlar (Schwabe ve ark., 2012). Hipokampusta bulunan, glükokortikoidlere yüksek afiniteli mineralokortikoid reseptörlerinin seçici aktivasyonunun LTP'yi güçlendirdiği, düşük afiniteli glükokortikoid reseptörlerinin aktivasyonunun ise LTP'yi zayıflatıp LTD'yi güçlendirdiği birçok çalışma ile gösterilmiştir (Pavlidis ve ark., 1995; Vaher ve ark., 1994). UY grubundaki hayvanlar eğitimin 1. gününde 6,5 cm çaplı küçük bir platform üzerinde durmayı öğrenmeye çalışırken suya düşüp ıslanmaları ve sonra platform üzerinde immobilizasyon ve sosyal izolasyon stresine maruz kalmaları nedeniyle eğitimin ilk gününde akut stresin etkisindedir. İkinci eğitim gününden itibaren ise uyku yoksunluğunun oluşturduğu stresin etkisi altındadır. Uyku yoksunluğunun tek başına sadece stres maruziyeti sonucunda oluşan davranışsal değişikliklere yol açabileceği (Antelman ve Caggiula, 1980), REM uyku yoksunluğu sonucunda lokomotor aktivitenin ve keşfetme davranışının arttığı (Steiner ve Ellman, 1972) gösterilmiştir. Flower pot metodunun oluşturduğu stresin 48 saat içerisinde öğrenme ve bellek hasarına neden olması (Youngblood ve ark., 1997) 1. ve 2. günde elde edilen bu sonuçların strese bağlı olduğu düşüncesini güçlendirmiştir. Yapılan başka bir çalışmada açık alan testinde sosyal izolasyon stresi nedeniyle artmış olan lokomotor aktivitenin üridin ile baskılandığı gösterilmiştir (Kawasaki ve ark., 2013). SF grubundaki hayvanlara göre CDP-kolin tedavisi alan sıçanların platformu daha uzun sürede bulmuş olmaları CDP-kolin tedavisinin akut stresin oluşturduğu lokomotor aktivite artışını azaltarak olumlu etki edebileceğini düşündürmüştür. Farklı dozlarda CDP-kolin tedavisi uygulanan uyku yoksunluğu grubundaki hayvanlar arasında anlamlı bir fark olmaması tüm dozların stres üzerine olumlu etkisinin olduğunu düşündürmüştür. Eğitimin 3. ve 4.

günlerinde ise anlamlı bir fark görülmemektedir. Zaman içinde stres hormonlarının değişimi sonucunda stresin oluşturduğu fizyolojik etkiler alarm reaksiyon evresi, adaptasyon evresi ve tükenmişlik evresi olarak üç başlık altında incelenebilir (Kim ve ark., 2015). Kontrol edilebilir stres sonucunda vücudun strese adapte olduğu (Gronli ve ark., 2013) düşünülmüş ve belirli zaman aralığı ile birkaç kez uygulanan strese adaptasyon geliştiği ifade edilmiştir (Coll-Andreu ve ark., 1989). Sıçanlarda 48 saatlik uyku yoksunluğu sonucunda kısıtlama stresine karşı oluşan HPA yanıtının azaldığı (Meerlo ve ark., 2002), REM uyku yoksunluğu sonucunda katekolamin sisteminin bozulduğu (Stern ve Morgane, 1974) gösterilmiştir. Eğitimin 3. ve 4. günlerinde anlamlı fark gözlenmemesinin bir sebebinin de strese yanıtın azalması ve adaptasyon olduğu düşünülmüştür.

CDP-kolin tedavisi sonucunda vücutta sitidin ve kolin düzeyi artmaktadır. Kolin artışının beyinde asetilkolin sentezinin (Cohen ve Wurtman, 1975) ve salınımının artmasını sağladığı (Johnson ve ark., 1992; Ulus ve ark., 1989) gösterilmiştir. Asetilkolinin hipokampusta yeni anıların kodlanması için çok önemli olduğu (Hasselmo, 2006) ve hipokampusta LTP'yi arttırdığı kanıtlanmıştır (Adams ve ark., 2004; Huerta ve Lisman, 1995). Kolinerjik antagonist olan skopolamin uygulanması sonucunda hipokampusta spasyal öğrenmenin, bellek kodlamasının ve asetilkolin salınımının azaldığı gözlenmiştir (Elvander ve ark., 2004). REM uykusu asetilkolin salınımının en fazla olduğu dönem olsa da 96 saatlik REM uyku yoksunluğu sonucunda pons ve medulla oblongatada asetikolinesteraz enziminin aktivitesinin arttığı, hipokampusta ise değişmediği gösterilmiştir. Pons ve medulla oblongatadaki bu artışın REM uykusunu oluşturabilmek amacıyla bu bölgelerde asetilkolin salınımında meydana gelen artış sonucu olabileceği savunulmuştur (Benedito ve Camarini, 2001). Ayrıca REM uyku yoksunluğu sonucunda postsinaptik asetilkolin reseptörlerinde duyarlılığın azaldığı da gösterilmiştir (Tufik ve ark., 1987). Kısıtlama stresine maruz bırakılan sıçanlarda hipokampustaki asetilkolin miktarının hızlı bir şekilde arttığı ve yaklaşık 60 dakika sonra bazal seviyeye döndüğü gözlenmiştir (Imperto ve ark., 1991). Dışarıdan verilen CDP-kolin sıçanlarda hızla sitidin ve koline metabolize olur (Weiss, 1995), ardından fosfolipit veya asetilkolin sentezine yönelebilir. SF uygulanan sıçanlara göre CDP-kolin tedavisi alan sıçanların platformu daha uzun sürede bulmalarının

sebebi CDP-kolinin asetilkolin sentezi yerine fosfolipit sentezine yönlendirilmiş olması veya kolin asetilkolin yapımını arttırmış olsa bile sitidinin bu süreçte kolinin aksi yönünde bir etkisi olabileceğini düşündürmüştür.

Aynı tedavi uygulanan ancak farklı ortamlara (KK, OK ve UY) maruz bırakılan sıçanlar, ortamın etkisini araştırmak için karşılaştırıldığında ise;

SF veya aynı dozlarda CDP-kolin uygulanan KK ve OK grupları karşılaştırıldığında 4 eğitim günü boyunca platformun yerini öğrenmeleri açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. SF veya aynı dozda CDP-kolin uygulanan KK ve OK grupları UY grubu ile karşılaştırıldığında; UY+SF grubundaki sıçanlar 1. ve 2. eğitim gününde, UY+C100 ve UY+C300 grubundaki sıçanlar 1. eğitim gününde platformu daha kısa sürede bulurlarken, C600 dozunda anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Eğitimin 1. gününde uyku yoksunluğu grubundaki sıçanlar küçük bir platformun üzerinde tutulmaları, platform üzerinde durmakta zorlanarak sık sık suya düşmeleri nedeniyle akut bir stresin etkisi altındadır. MMP tekniği yardımıyla üç ay boyunca aralıklarla uyku yoksunluğu oluşturulan bir çalışmada uyku yoksunluğu oluşturulan hayvanların öğrenme fazında görünür veya görünmez kaçış platformunu kontrol hayvanlarına göre daha kısa sürede bulduklarını saptanmıştır. Araştırmacılar bu sonucun uzun süre uyku yoksunluğunda takip edilen hayvanların su ortamına alışkın olması ve böylelikle Morris su tankında daha az mesafe katederek bulmada daha efektif stratejileri kullanabildiğini savunmuşlardır (Yin ve ark., 2017). OK grupları da su üzerindeki platformlarda takip edilmelerine rağmen UY gruplarının eğitim fazının ilk gününde platformu aynı tedavi uygulanan OK ve KK gruplarına göre daha kısa sürede bulmaları ayrıca bu sonuçların uyku yoksunluğunun da oluşturduğu ek strese bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Flower pot yöntemiyle oluşturulan REM uyku yoksunluğu deneyinde 6,5 cm çaplı platform üzerinde tutulan hayvanların serum kortikosteron düzeylerinin hem KK grubuna hem de 14 cm çaplı platform üzerinde takip edilen ortam kontrol hayvanlarına göre anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir (Youngblood ve ark., 1996). Hipokampus fonksiyonları ile kortikosteroid seviyesi arasında ters U ilişkisi vardır (Kim ve ark., 2015). Bu nedenle CDP-kolin veya SF enjeksiyonunun ardından 30 dk boyunca 6,5 cm çaplı platformun üzerinde tutulan UY grubundaki sıçanların öğrenmeyi olumlu yönde etkileyecek

strese maruz kaldıkları, bu stres sonucunda lokomotor aktivitenin ve keşfetme davranışının arttığı düşünülmüştür. Eğitimin 2. gününde ise hayvanlar uyku yoksunluğunun oluşturduğu stresin etkisi altındır. Flower pot metodunun oluşturduğu stresin 48 saat içerisinde öğrenme ve bellek hasarına neden olması (Youngblood ve ark., 1997) 1. ve 2. günde elde edilen bu sonuçların strese bağlı olduğu düşüncesini güçlendirmiştir. Akut stresin beta adrenerjik sistemi aktive ettiği ve hipokampal CA1 nöronlarının eksitabilitesini arttırdığı (Mc Ewen ve Sapolsky, 1995; Shors, 2001), akut ılımlı stresin bilişsel fonksiyonlarda olumlu etkilerinin olduğu bilinmektedir (McGaugh, 1989). REM uyku yoksunluğuna maruz bırakılan sıçanlarda saldırganlık ve nöronal eksitabilitenin artmasının (De Paula ve Hoshino, 2002) yanı sıra lokomotor aktivitede de artış olduğu gözlenmiştir (Tartar ve ark., 2009). Ayrıca uyku yoksunluğunun keşfetme davranışını arttırdığı da saptanmıştır (Albert ve ark., 1970). REM uyku yoksunluğu sonucunda öğrenme fazında gizli kaçış platformunu bulma süresinin uzadığını gösteren çalışmalar olsa da (Zhang ve ark., 2013), bizim sonuçlarımız öğrenme fazının ilk iki gününde hayvanların maruz kaldığı stresin hayvanların platformu daha kısa sürede bulmalarını sağladığı yönündedir. Açık alan testinde sosyal izolasyon stresi nedeniyle artmış olan lokomotor aktivitenin üridin ile suprese edildiği gösterilmiştir (Kawasaki ve ark., 2013). SF uygulanan UY grubundaki sıçanların OK ve KK grubundaki sıçanlara göre 1. ve 2. günde platformu hızlı bulması, bu etkinin C100 ve C300 dozunda sadece 1. günde gözlenmesi C600 dozunda ise gözlenmemesi CDP-kolin tedavisinin akut stres üzerine doz bağımlı bir etkisinin olabileceğini düşündürmüştür. C100 ve C300 dozu ilk gün lokomotor aktivite ve stres üzerine yeterince etkili olmayıp KK ve OK gruplarına göre UY gruplarının platform daha hızlı bulmasına sebep olmuş, C600 dozu ise ilk günden itibaren KK, OK ve UY grupları arasında anlamlı bir fark oluşmamasını sağlamıştır. Radyal kol labirenti ile stresin keşfetme davranışına olan etkilerini araştıran bir çalışmada stresli hayvanların ilk 2 gün hata sayısının stressiz olanlara göre daha az olduğu, 3. ve 4. günlerde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamadığı saptanmıştır (Shors ve Dryver, 1992). Bizim sonuçlarımız da bu çalışmaları destekler nitelikte, strese adaptasyon sonucunda 3. ve 4. eğitim günlerinde platformun yerini bulmaları açısından anlamlı bir fark oluşmadığını düşündürmüştür.

Bellek fazının test edildiği Morris su tankı probe fazı sonuçlarında hayvanların platformun bulunduğu alana ilk ulaşma süresi (Y1 ve ark., 2017), platformun bulunduğu alanı çaprazlama sayısı (Gulec Suyen ve ark., 2016; Kahveci ve ark., 2006; Morris, 1984) ve platformun bulunduğu kadranda geçirilen süre (Kahveci ve ark., 2006; Moser ve Moser, 1998) parametreleri değerlendirilmiştir.

Platformun bulunduğu alana ilk ulaşma süresinde SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan sıçanlar tedavinin etkinliğini araştırmak amacıyla karşılaştırıldığında;

Normal laboratuvar kafeslerinde takip edilen ve SF uygulanan hayvanlara göre 100 µmol/kg ve 300 µmol/kg CDP-kolin uygulanan KK gruplarındaki hayvanların platformun bulunduğu alana ulaşma süresi bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır. KK+SF grubuna göre KK+C600 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alana daha kısa sürede ulaşmışlardır. KK+C100 grubu ile KK+C300 grubu arasında anlamlı bir fark saptanmazken; KK+C100 grubuna ve KK+C300 grubuna göre KK+C600 grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alana daha kısa sürede ulaşmışlardır. Daha önce yapılan çalışmalarda CDP-kolin veya UMP+kolin tedavisinin Morris su tankı testinin probe fazında kontrol hayvanlarının bellek performansında herhangi bir etkisi görülmemişken (De Bruin ve ark., 2003; Teather ve Wurtman, 2003) CDP-kolin tedavisinin normal köpeklerin bellek performansını arttırdığı görülmüştür (Bruhwylers ve ark., 1998). Bizim çalışmamız da kontrol hayvanlarında 600 µmol/kg CDP-kolin dozunun bellek üzerine olumlu etkiler gösterebileceğini düşündürmüştür.

OK+SF grubu ile CDP-kolin uygulanan OK grupları arasında ve OK+C100, OK+C300 ve OK+C600 grupları arasında platformun bulunduğu alana ulaşma süresi bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır. OK grubundaki hayvanlar probe fazına kadar 96 saat boyunca immobilizasyon ve sosyal izolasyon stresine maruz kalmışlardır. Yüksek dozda stres hormonu uygulanması ile hipokampusta meydana gelen hasara kolin tedavisinin olumlu etki ettiği görülmüştür (Mulholland ve ark., 2004) fakat bizim çalışmamızda CDP-kolin tedavisinin OK gruplarındaki hayvanların platformun bulunduğu alana ulaşma süresini etkilemediğini gözlenmiştir. Sonuçlarımızın bu çalışmadan farklı olmasının sebebinin; stresin

süresi, oluşturulma yöntemi ve vücuttaki stres hormonlarının düzeyinin farkından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Uyku yoksunluğu oluşturulan ve SF uygulanan sıçanlara göre 100 µmol/kg, 300 µmol/kg ve 600 µmol/kg CDP-kolin uygulanan UY grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alana daha kısa sürede ulaşmışlardır. UY+C100, UY+C300 ve UY+C600 grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında ise anlamlı bir fark saptanmamıştır. Yaşlanma sonucunda veya fakirleştirilmiş ortama maruz bırakılma sonucunda bellekte meydana gelen bozulmalarda CDP-kolinin hipokampus bağımlı bellek üzerine olumlu etkileri olduğu daha önce yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Teather ve Wurtman, 2003; Teather ve Wurtman, 2005; Teather ve Wurtman, 2006). Yirmi gün boyunca günde 10 mg/kg veya 20 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak uygulanan CDP-kolin tedavisinin pasif sakınma testinde bilişsel performanslarının yanı sıra açık alan testinde motor kapasite ve koordinasyonlarında da iyileşme sağladığı gözlenmiştir (Drago ve ark., 1993). Köpekler üzerinde yapılan diğer bir çalışmada da CDP-kolinin öğrenme ve bellek üzerine olumlu etkisinin olduğu gösterilmiştir (Bruhwyler ve ark., 1998). Prenatal kolin tedavisi uygulanmış sıçanların postnatal 18-19. gününde uygulanan Morris su tankı testinde, navigasyon yeteneğinin kontrol hayvanlarına göre üç gün daha önce geliştiği gözlenmiştir (Mellott ve ark., 2004). Uzun süre kolinden zengin diyet uygulanan yaşlı farelerin de yaşa bağlı bellek bozukluklarında kolin tedavisinin olumlu etkileri saptanmıştır (Bartus ve ark., 1980; Leathwood ve ark., 1982). Bizim sonuçlarımız da yapılan çalışmalara benzer şekilde uyku yoksunluğunun bellek üzerine olan olumsuz etkilerine CDP-kolin tedavisinin doz bağımsız olarak olumlu etki edebileceğini düşündürmüştür.

Platformun bulunduğu alana ilk ulaşma süresinde SF veya aynı dozda CDP-kolin uygulanan KK, OK ve UY grupları ortamın etkisini araştırmak amacıyla karşılaştırıldığında;

SF veya aynı doz CDP-kolin uygulanan KK ve OK grupları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmamışken; KK ve OK grupları ile UY grubu karşılaştırıldığında, UY grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alana daha uzun sürede ulaşmışlardır.

Aralıklarla REM uyku yoksunluğu oluşturulan (Yin ve ark., 2017) veya 72 saat REM uyku yoksunluğu oluşturulan (Wang ve ark., 2009) çalışmalarda Morris su tankı testinde bellek performansının olumsuz etkilendiği gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da aynı doz tedavi uygulanan KK ve OK grubundaki sıçanlara göre UY grubundaki sıçanların platforma daha uzun sürede ulaşmaları REM uyku yoksunluğunun bellek üzerine olumsuz etkisinin olduğunu gösteren çalışmaları destekler niteliktedir (Li ve ark., 2009; McDermott ve ark., 2003).

Platformu çaprazlama sayısı bellek performansının değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılan önemli parametrelerdendir (Gallagher ve ark., 1993; Maei ve ark., 2009). Platformun bulunduğu alanı çaprazlama sayısı parametresinde SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan sıçanlar tedavinin etkinliğini araştırmak amacıyla karşılaştırıldığında;

KK+SF grubu ile CDP-kolin uygulanan KK grupları arasında ve KK+C100, KK+C300 ve KK+C600 grupları arasında platformun bulunduğu alanı çaprazlama sayısı bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Kontrol grubundaki köpeklere göre CDP-kolin tedavisi uygulanan köpeklerin bellek performansının arttığı gösterilmiş olsa da (Bruhwyer ve ark., 1998) yapılan başka bir çalışmada, Morris su tankı testinde kontrol grubu ile CDP-kolin tedavisi verilen grup arasında bellek performansı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (Teather ve Wurtman, 2003). Bizim çalışmamızda da CDP-kolin tedavisi KK gruplarındaki hayvanların platformun bulunduğu alanı çaprazlama sayısını etkilememiştir.

OK+SF grubu ile CDP-kolin uygulanan OK grupları arasında ve OK+C100, OK+C300, OK+C600 grupları arasında platformun bulunduğu alanı çaprazlama sayısı bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır. OK grubundaki hayvanlar kronik bir strese maruz kalmaktadır. Yüksek dozda glikokortikoid uygulanması ile hipokampusta meydana gelen hasara kolin tedavisinin olumlu yönde etki ettiği görülmüştür (Mulholland ve ark., 2004). Bizim çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak CDP-kolin tedavisinin OK gruplarındaki hayvanların platformun bulunduğu alanı çaprazlama sayısını etkilemediği gözlenmiştir. Sonuçlarımızın bu çalışmadan farklı olmasının sebebinin; stresin süresi, oluşturulma yöntemi ve vücuttaki stres hormonlarının düzeyinin farkından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

UY+SF grubu ile CDP-kolin uygulanan UY grupları arasında ve UY+C100, UY+C300 ve UY+C600 grupları arasında platformun bulunduğu alanı çaprazlama sayısı bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Farklı etmenlerle bellek hasarı oluşturulan sıçanlarda CDP-kolin tedavisinin (10-500 mg/kg, 5-7 gün) bellek performansı üzerine olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (Petkov ve ark., 1992; Petkov ve ark., 1993). CDP-kolin tedavisinin bellek performansını olumlu yönde etkilediğini gösteren çalışmaların (Bruhwyer ve ark., 1998; Teather ve Wurtman, 2003) aksine bizim sonuçlarımız CDP-kolin tedavisinin UY gruplarındaki hayvanların platformun bulunduğu alanı çaprazlama sayısını etkilemediği gözlenmiştir. Sonuçlarımızın bu çalışmalardan farklı olmasının sebebinin oluşturulan bellek hasarının farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Platformun bulunduğu alanı çaprazlama sayısı parametresinde SF veya aynı dozda CDP-kolin uygulanan KK, OK ve UY grupları ortamın etkisini araştırmak amacıyla karşılaştırıldığında;

SF veya aynı doz CDP-kolin uygulanan KK ve OK grupları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmamışken; KK ve OK grupları ile UY grubu karşılaştırıldığında UY grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu alanı daha az sayıda çaprazlamışlardır.

KK ve OK grubundaki sıçanlara göre aynı doz etken madde uygulanan UY grubundaki sıçanların platformu daha az sayıda çaprazlamış olması REM uyku yoksunluğunun bellek performansını bozduğunu gösteren diğer çalışmaları desteklemektedir (Walsh ve ark., 2011; Youngblood ve ark., 1993).

Platformun bulunduğu kadranda geçirilen süre parametresinde SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan sıçanlar tedavinin etkinliğini araştırmak amacıyla karşılaştırıldığında;

Normal laboratuvar kafeslerinde takip edilen ve SF uygulanan sıçanlara göre 100 µmol/kg, 300 µmol/kg, 600 µmol/kg CDP-kolin uygulanan sıçanlar platformun bulunduğu kadranda daha uzun süre geçirmişlerdir. KK+C100, KK+C300 ve KK+C600 grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında ise platformun bulunduğu kadranda geçirilen süre bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Yaşlanmanın oluşturduğu bellek hasarına CDP-kolin tedavisinin etkileri incelendiğinde kontrol hayvanlarında CDP-kolin tedavisinin platformun bulunduğu kadranda geçirilen

sürenin oranını etkilemediği gözlenmiştir (Teather ve Wurtman, 2003). Bu çalışmadan farklı olarak köpekler üzerinde yapılan ve kronik CDP-kolin tedavisi uygulanan çalışmada bellek üzerine olumlu etkileri olduğunu gösterilmiştir (Bruhwyler ve ark., 1998). Bizim çalışmamız da CDP-kolin tedavisinin kontrol grubundaki sıçanların bellek performansını doz bağımsız olarak olumlu yönde etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Flower pot metoduna göre oluşturulan ortam kontrol kafeslerinde takip edilip SF uygulanan sıçanlara göre 100 µmol/kg, 300 µmol/kg, 600 µmol/kg CDP-kolin uygulanan sıçanlar platformun bulunduğu kadranda daha uzun süre geçirmişlerdir. OK+C100, OK+C300 ve OK+C600 grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında ise platformun bulunduğu kadranda geçirilen süre bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Literatürde stres üzerine CDP-kolinin etkileri ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır fakat CDP-kolinin metaboliti olan kolin ile yapılan bir çalışmada; yüksek miktarda ve kısa sürede glikokortikoidlere maruz kalmanın NMDA reseptörünün artmış duyarlılığı ve fonksiyonu sebebiyle nöron hasarı oluşturduğu ve bu hasara kolinin olumlu etki ettiği gösterilmiştir (Mulholland ve ark., 2004). Bizim çalışmamız da CDP-kolin tedavisinin 96 saat boyunca sadece stres unsurlarına maruz kalan ortam kontrol grubundaki sıçanların bellek performansı üzerine doz bağımsız olarak olumlu etkisinin olabileceğini düşündürmektedir.

Uyku yoksunluğu oluşturulup SF uygulanan sıçanlar ile CDP-kolin uygulanan UY grupları arasında ve UY+C100, UY+C300 ve UY+C600 grupları arasında platformun bulunduğu kadranda geçirilen süre bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu sonuçlar CDP-kolin tedavisinin platformun bulunduğu kadranda geçirilen süre üzerine olumlu bir etkisi olmadığı yönündedir. İnsanlar üzerinde yapılan bir çalışmada CDP-kolinin sözel hafızaya olumlu etkileri gösterilmiştir (Spiers ve ark., 1996). Yaşlanmaya bağlı oluşan bellek hasarına CDP-kolinin etkilerini inceleyen çalışmada CDP-kolin tedavisinin yaşlı hayvanlarda platformun bulunduğu kadranda geçirilen süre yüzdesini arttırdığı gösterilmiştir (Teather ve Wurtman, 2003). Bizim çalışmamızda bu sonuçtan farklı olarak CDP-kolin tedavisinin platformun bulunduğu kadranda geçirilen süreyi etkilemediği gözlenmiştir. Sonuçlarımızın bu çalışmalardan farklı olmasının sebebinin oluşturulan bellek hasarının farkından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Platformun bulunduğu kadranda geçirilen süre parametresinde SF veya aynı dozda CDP-kolin uygulanan KK, OK ve UY grupları ortamın etkisini araştırmak amacıyla karşılaştırıldığında;

SF veya aynı doz CDP-kolin uygulanan KK grubu ile OK grubu karşılaştırıldığında, OK grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu kadranda daha az süre geçirmişlerdir. SF veya aynı doz CDP-kolin uygulanan KK ve OK grupları ile UY grubu karşılaştırıldığında ise; UY grubundaki sıçanlar platformun bulunduğu kadranda daha az süre geçirmişlerdir.

OK grubundaki sıçanlar 96 saat boyunca immobilizasyon ve sosyal izolasyon stresinin etkisi altında kalmıştır. Kronik stres sonucunda belleğin konsolidasyonu bozulmakta ve bilişsel bozukluklar ortaya çıkmaktadır (de Kloet ve ark., 2005; Lupien ve ark., 2007). KK gruplarına göre aynı etken madde uygulanan OK grubundaki sıçanların platformun bulunduğu kadranda daha kısa süre geçirmeleri stresin bellek performansı üzerine olumsuz etkilerinin olduğunu gösteren çalışmaları desteklemektedir (Gronli ve ark., 2013; McDermott ve ark., 2003; Silva ve ark., 2004; Shors, 2004).

KK ve OK grubundaki sıçanlara göre aynı etken madde uygulanan UY grubundaki sıçanların platformun bulunduğu kadranda daha az süre geçirmiş olması uyku yoksunluğunun bellek performansına olumsuz etkilerine işaret etmektedir. Bu sonuçlar uyku yoksunluğunun spasyal bellek üzerine olumsuz etkileri olduğunu gösteren çalışmalarla paraleldir (Aleisa ve ark., 2011a; Alzobi ve ark., 2017; Li ve ark., 2009; Yin ve ark., 2017). Daha önce yapılan bazı uyku yoksunluğu çalışmalarında platformun bulunduğu kadranda geçirilen zamanın etkilenmediği gösterilmiş olsa da (Arıcanlı, 2010) bir çok çalışma uyku yoksunluğu sonucunda platformun bulunduğu kadranda geçirilen sürenin azaldığını göstermiştir (Guan ve ark., 2004; Hajali ve ark., 2012; McCoy ve ark., 2013). Bizim sonuçlarımız da bu çalışmaları destekler niteliktedir.

Beşinci gün, Morris su tankı testi probe fazının ardından tüm gruplardaki hayvanlar dekapite edildi ve sağ hipokampusları eksize edildi. Hipokampus uzun süreli bellek (özellikle deklaratif bellek) ve spasyal navigasyonda önemli bir beyin bölgesidir (Squire, 1992). Hipokampus uyku yoksunluğuna da oldukça duyarlıdır. Uyku yoksunluğu sonucunda hipokampusta meydana gelen değişiklikler öğrenme ve

bellekte meydana gelen bozulmaların altında yatan başlıca nedendir. Yapılan bir çalışmada 72 saat uyku yoksunluğunun hipokampus bağımlı ve hipokampus bağımsız bellek sürecine etkileri araştırılmıştır. Uyku yoksunluğunun hipokampus bağımsız bellek üzerine bir etkisi olmadığını, hipokampus bağımlı belleği bozduğu gösterilmiştir (McDermott ve ark., 2003). Bu nedenle analizlerde hipokampus dokusunun kullanılmasına karar verildi. REM uyku yoksunluğunun hipokampusta oluşturduğu moleküler düzeydeki etkilerin incelenmesi amaçlandı. Hipokampus dokusu homojenatından öğrenme ve belleğin temelini oluşturan LTP yolağında çok önemli olan tCaMKII ve pCREB miktarlarının kontrol hayvanlarına göre değişimi Western-blot yöntemi ile tayin edildi. Spesifik proteinlerin ayrıştırılması ve analizini sağlayan Western-blot yöntemi sıklıkla kullanılan moleküler tekniklerden biridir.

Uyku yoksunluğu hipokampustaki sinaptik plastisiteyi olumsuz yönde etkiler. Sinaptik plastisite sinaptik bağlantıların biçimlendirilmesi, gücündeki değişimlerin tamamını kapsar. Bu değişimler bilginin depolanması ve anıların oluşumu için çok önemlidir (Lynch, 2004). Uyku yoksunluğunun sinaptik plastisitenin artması olarak da tanımlanan LTP üzerine etkileri, uyku yoksunluğunun süresine ve hangi uyku evresinde oluşturulduğuna bağlı olarak değişmektedir. REM uyku yoksunluğunun LTP üzerine etkilerini araştıran bir çalışmada 3 saatlik uyku yoksunluğu LTP'yi %38,7'den %7,6'ya düşürürken, 6 saatlik uyku yoksunluğunun %1,5'e düşürdüğü, 9 saatlik uyku yoksunluğunun ise tamamen yok ettiği gösterilmiştir (Marks and Wayner, 2005). REM uyku yoksunluğu hipokampal dentat girusta LTP'yi belirgin biçimde bozarken NREM uyku yoksunluğunun böyle bir etkisi gözlenmemiştir (Ishikawa ve ark., 2006). Uyku yoksunluğunun LTP üzerine olan olumsuz etkileri LTP'nin oluşumunda etkili olan birçok basamakta gözlenmektedir. Uyku yoksunluğu sonucunda LTP indüksiyonunda önemli olan NMDA ve AMPA reseptörlerinin yapısı ve miktarı değişebileceği gibi (Chang ve ark., 2012; Hagewoud ve ark., 2010a; Kopp ve ark., 2006; McDermott ve ark., 2006; Ravassard ve ark., 2009) önemli proteinler, enzimler ve transkripsiyon faktörlerinde de değişimler gözlenmektedir.

CaMKII α , β , γ and δ gibi 6-12 alt üiteden oluşan çok fonksiyonlu bir enzimdir. Beyinde en çok bulunan kinazdır ve hipokampal proteinlerin %2'sini oluşturur (Braun ve Schulman, 1995; Erondu ve Kennedy, 1985). Hipokampusta CaMKII'nin aktivasyonunun sinaps oluşumu, nöroplastisite, öğrenme ve bellekte

önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Giese ve ark., 1998; Kandel ve Hawkins, 1992; Soderling, 1993). CaMKII, bir transkripsiyon faktörü olan CREB'in aktivasyonu için de çok önemlidir (Sun ve ark., 2006). CaMKII α nakavt farelerin hipokampal LTP'lerinin anormal olduğu ve spasyal öğrenme ve belleklerinin bozulduğu gösterilmiştir (Silva ve ark., 1992a; Silva ve ark., 1992b). Alzheimer hastalarında da CA1 bölgesinde CaMKII α içeren nöronların immunreaktivitesinin azaldığı gösterilmiştir (Wang ve ark., 2005).

Western-blot yöntemi ile analiz ettiğimiz protein düzeyleri yapısal bir protein olan β -Tubulin'e oranlanarak sunulmuştur (Goren ve ark., 2017). tCaMKII/ β -Tubulin protein düzeyleri, aynı ortama maruz bırakılan SF grubundaki tCaMKII/ β -Tubulin protein bantlarının ortalama dansitelerinin yüzdesi olarak değerlendirildiğinde;

SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan KK grupları arasında, SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan OK grupları arasında ve SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan UY grupları arasında tCaMKII/ β -Tubulin protein düzeyleri bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu sonuçlar CDP-kolin tedavisinin KK, OK veya UY gruplarında tCaMKII/ β -Tubulin protein oranı üzerine bir etkisinin olmadığı yönündedir.

tCaMKII/ β -Tubulin protein düzeyleri, aynı tedavi uygulanan KK grubundaki tCaMKII/ β -Tubulin protein bantlarının ortalama dansitelerinin yüzdesi olarak değerlendirildiğinde;

SF veya aynı dozda CDP-kolin uygulanan KK, OK ve UY grupları karşılaştırıldığında tCaMKII/ β -Tubulin protein düzeyleri bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Yapılan farklı çalışmalarda bellek hasarı sonucunda hipokampustaki tCaMKII ve aktif formu olan pCaMKII değişimi ile ilgili farklı sonuçlar elde edilmiştir. Pentilentetrazol ile epilepsi modeli oluşturularak Morris su tankı testinde spasyal bellek defisiti olduğu gösterilen bir çalışmada hem pCaMKII α hem tCaMKII α miktarlarının kontrol hayvanlarına göre azaldığı (Wang ve ark., 2008), MMP tekniği ile 24 saat REM uyku yoksunluğu oluşturulan diğer bir çalışmada hipokampus CA1 bölgesinden yapılan CaMKII analizlerinde de hem pCaMKII hem tCaMKII miktarının kontrol hayvanlarına göre düştüğü gösterilmiştir (Alkadhi ve Alhaider, 2015). 72 saatlik REM uyku yoksunluğu sonucunda hipokampus, korteks ve dentat

girusta yapılan immunohistokimyasal boyamalarda ise CaMKII pozitif nöron sayısının azaldığı saptanmıştır (Zhang ve ark., 2013). Bu sonuçlardan farklı olarak hipokampusa uygulanan kronik alüminyum maruziyeti sonucunda spasyal belleğin bozulduğu, pCaMKII düzeyi kontrol hayvanlarına göre azalırken tCaMKII düzeylerinin değişmediği (Wang ve ark., 2014); 3 gün boyunca günde 4 saat kafese tıklatma metodu ile REM uyku yoksunluğu oluşturulan çalışmada da CaMKII miktarında değişim olmadığı gözlenmiştir (Lopez ve ark., 2008). Kullanılan yöntem nedeniyle hayvanların maruz kaldığı stres kaçınılmazdır. Bu nedenle stresin CaMKII üzerine etkisini de incelemek ve değerlendirmek gereklidir. 4 gün boyunca günde bir kez 45 dakika immobilizasyon stresine maruz bırakılan hayvanların hipokampusunda tCaMKII miktarları değişmezken pCaMKII miktarlarının arttığı gösterilmiştir. Stres 14 gün boyunca uygulandığında ise hem pCaMKII hem tCaMKII miktarlarında kontrol gruplarına göre anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Suenaga ve ark., 2004). Farklı çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmesinin sebebi kullanılan metodun, uygulanma süresinin ve hayvanların yaş ve türlerindeki değişimler olabilir. Bizim çalışmamız tCaMKII miktarının değişmediğini gösteren çalışmaları desteklemektedir. Daha sonraki çalışmalarda CaMKII'nin aktif formu olan pCaMKII miktarının incelenmesi faydalı olacaktır.

CREB gen ekspresyonunu ve protein sentezini düzenleyerek cAMP kaskadının düzenlenmesinde önemli rolü olan bir transkripsiyon faktörüdür. Hipokampusta CREB'in aktive olması spasyal bellek için kritik öneme sahiptir (Porte ve ark., 2008). Spasyal bellek ile yakından ilgili olduğu bilinen hipokampus CA1 bölgesindeki nöronların %40'ının CREB proteininin kontrolü altında olduğu gösterilmiştir (Guzowski ve ark., 2006). CREB nakavt farelerde yapılan bir çalışmada Morris su tankı testinde spasyal öğrenme performanslarının bozulduğu saptanmıştır (Bourtchuladze ve ark., 1994). Kısa süreli belleğin uzun süreli belleğe dönüştürülmesi için gerekli olan yapısal proteinler, büyüme faktörleri gibi yeni efektör proteinlerin sentezi için CREB sinyalizasyonu mutlaka gereklidir (Alberini, 2009; Saura ve Valero, 2011; Wang ve ark., 2008). pCREB'in, REM uykusunda uyanık farelere kıyasla daha yüksek olduğu, ancak NREM uykusunda herhangi bir artış olmadığı gösterilmiş ve böylece REM uykusunun hipokampus bağımlı bellekteki önemi kanıtlanmıştır (Luo ve ark., 2013).

Çalışmamızda bu bilgiler doğrultusunda Western blot yöntemi ile pCREB miktarındaki değişim incelenmiştir.

pCREB/ β -Tubulin protein düzeyleri, aynı ortama maruz bırakılan SF grubundaki pCREB/ β -Tubulin protein bantlarının ortalama dansitelerinin yüzdesi olarak değerlendirildiğinde;

SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan KK grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında pCREB/ β -Tubulin protein düzeyleri bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

OK+SF grubuna göre OK+C100 grubunun pCREB/ β -Tubulin protein düzeyleri %19,4 oranında, OK+C300 grubunun CREB/ β -Tubulin protein düzeyleri % 38,5 oranında, OK+C600 grubunun CREB/ β -Tubulin protein düzeyleri %49,4 oranında artmıştır. OK+C600 grubunun CREB/ β -Tubulin protein düzeyleri OK+C100 grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur.

SF veya farklı dozlarda CDP-kolin uygulanan UY grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında pCREB/ β -Tubulin protein düzeyleri bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Bu sonuçlar CDP-kolin tedavisinin farklı dozlarının UY ve KK grubunda pCREB düzeyleri üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığı yönündedir. OK grubundaki sıçanlara bakılacak olursa CDP-kolin tedavisinin pCREB miktarı üzerine doza bağımlı pozitif bir etkisi görülmektedir. Glikokortikoidlerin bellek konsolidasyonu ve stabilizasyonu sürecinde rol oynadığı gösterilmiştir (Dudai, 2002; Roozendaal, 2000). Glikokortikoidler etkilerini direk olarak uzun süreli bellek için önemli olan ve yüksek miktarda glikokortikoid reseptörleri içeren amigdala, hipokampus ve prefrontal korteks üzerinde gösterir (Morimoto ve ark., 1996). İlimli miktardaki strese yol açan pozitif veya negatif olaylar uzun süre bellekte saklanırken çok yüksek miktarda veya kronik stresin amnezi ve bilişsel bozukluklara yol açtığı bilinmektedir (De Kloet, 2004; McEven, 2007). Glikotrikoidlerin bellek üzerindeki olumlu etkilerini CaMKII α -BDNF-CREB bağımlı plastisiteyi artırarak yaptığı gösterilmiştir (Chen ve ark., 2012). Akut veya kronik ayak şoku stresinin pCREB miktarını hipokampus ve amigdalada azalttığını (Lin ve ark., 2009), yüzme stresinin ise pCREB miktarını arttırdığını (Bilang-Bleuel ve ark., 2002) gösteren yayınlar da mevcuttur. Prenatal uygulanan kolin tedavisinin genç erişkin sıçanlarda uzun süreli

potansiyelizasyonu indüklediği (Pyapali ve ark., 1998) ve hipokampal büyüme, MAPK ve CREB aktivasyonunda önemli olduğu (Mellott ve ark., 2004) gösterilmiştir. Yüksek miktarda ve kısa sürede glikokortikoidlere maruz kalmanın NMDA reseptörünün artmış duyarlılığı ve fonksiyonu sebebiyle nöron hasarı oluşturduğu ve bu hasarın kolin ile geri döndürülebildiği gösterilmiştir (Mulholland ve ark., 2004). Çalışmamızda CDP-kolin tedavisinin OK gruplarında pCREB miktarını kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttırdığını gösterilmiştir. Kullanılan metod nedeniyle sadece stres unsurlarına maruz kalan uyku yoksunluğu oluşturulmayan bu grup üzerine CDP-kolinin etkisinin gözlenmesi CDP-kolin tedavisinin stres üzerine olumlu etkisinin olabileceğini düşündürmüştür.

pCREB/ β -Tubulin protein düzeyleri, aynı doz tedavi verilen KK grubundaki pCREB/ β -Tubulin protein bantlarının ortalama dansitelerinin yüzdesi olarak değerlendirildiğinde;

KK+SF grubuna göre OK+SF grubunun pCREB/ β -Tubulin protein düzeylerinin %71,5'a düştüğü saptanmıştır. KK+SF grubuna göre UY+SF grubunun pCREB/ β -Tubulin protein düzeylerinin %50,4'e düştüğü bulunmuştur. OK+SF grubu ile kıyaslandığında UY+SF grubunun pCREB/ β -Tubulin protein düzeylerinin anlamlı olarak daha düşük olduğu gösterilmiştir.

KK+C100 grubu ile OK+C100 grubu arasında ve OK+C100 grubu ile UY+C100 grubu arasında pCREB/ β -Tubulin protein düzeyleri bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır. KK+C100 grubuna göre UY+C100 grubunun pCREB/ β -Tubulin protein düzeylerinin %86'ya düştüğü gösterilmiştir.

KK+C300 grubu ile OK+C300 grubu arasında pCREB/ β -Tubulin protein düzeyleri bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır. KK+C300 grubuna göre UY+C300 grubunun pCREB/ β -Tubulin protein düzeylerinin %86,1'e düştüğü saptanmıştır. OK+C300 grubu ile kıyaslandığında UY+C300 grubunun pCREB/ β -Tubulin protein düzeylerinin anlamlı olarak daha düşük olduğu gösterilmiştir.

KK+C600 grubu ile OK+C600 grupları arasında pCREB/ β -Tubulin protein düzeyleri bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır. KK+C600 grubuna göre UY+C600 grubunun pCREB/ β -Tubulin protein düzeylerinin %84,9'a düştüğü saptanmıştır. OK+C600 grubu ile kıyaslandığında UY+C600 grubunun pCREB/ β -Tubulin protein düzeylerinin anlamlı olarak daha düşük olduğu gösterilmiştir.

Bu sonuçlar uyku yoksunluğu sonucunda pCREB miktarının kontrol hayvanlarına göre anlamlı olarak düştüğünü göstermektedir. Spasyal bellek bozukluğunun hipokampustaki CREB miktarı üzerine değişimi daha önce yapılan çalışmalarla incelenmiştir. Kısa süreli (5-6 saat) uyku yoksunluğu CREB fosforilasyonunu azaltırken, 48 saat gibi uzamış uyku yoksunluğu CREB miktarını da azalttığı gözlenmiştir (Guzman-Marin ve ark., 2006). Spasyal bellek defisiti olduğu ispatlanan bir çalışmada pCREB miktarlarının kontrol hayvanlarına göre azaldığı saptanmıştır (Wang ve ark., 2008). Hipokampusa uygulanan kronik alüminyum maruziyeti sonucunda spasyal belleğin bozulduğu, pCREB düzeyi kontrol hayvanlarına göre azalırken tCREB düzeylerinin değişmediği gösterilmiştir (Wang ve ark., 2014). REM uyku yoksunluğu oluşturulan çalışmada ise hipokampus CA1 bölgesinden yapılan analizlerde ise hem pCREB hem tCREB miktarının kontrol hayvanlarına göre düştüğü gözlenmiştir (Alkadhi ve Alhaider, 2015). Bizim çalışmamız da bu çalışmaları destekler niteliktedir. REM uyku yoksunluğu sonucunda bellek hasarı olduğu ve pCREB miktarının kontrol hayvanlarına göre anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir. OK gruplarına göre UY gruplarında pCREB düzeylerinin anlamlı olarak az olması sonuçların ortamdan bağımsız REM uyku yoksunluğu ile ilgili olduğunu göstermektedir. OK+SF gruplarındaki hayvanların hipokampusunda KK+SF grubundaki hayvanlara göre daha düşük oranda pCREB görülmesi kronik stresin de pCREB miktarını değiştirdiğini gösteren çalışmaları desteklemektedir (Lin ve ark., 2009). CDP-kolin tedavisi verilen OK grubundaki hayvanların pCREB düzeylerinin KK gruplarına göre anlamlı bir fark göstermemesi CDP-kolinin stres üzerine olumlu etki edebileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak; değişen yaşam koşullarını ve çalışma koşulları nedeniyle günümüzde birçok insan uyku yoksunluğuna maruz kalmaktadır. Uyku yoksunluğunun metabolizma üzerinde oluşturduğu olumsuz etkiler ve bu etkilere karşı kullanılabilecek tedavi alternatifleri günümüzde birçok çalışmanın konusu olmuştur. Uykunun bir dönemi olan REM uykusunun yoksunluğunda öğrenme ve bellek hasarı olduğu gösterilmiştir. CDP-kolin fosfotidilkolin sentezinin ara basamağında ortaya çıkan, nöroproteksiyon sağladığı ve öğrenme-bellek üzerine olumlu etkileri olduğu kanıtlanmış bir bileşiktir. CDP-kolin tedavisinin REM uyku yoksunluğu sonucu oluşan öğrenme ve bellek hasarı üzerine etkileri daha önce

araştırılmamıştır. Çalışmamızın sonucunda elde edilen bulgular, REM uyku yoksunluğunun öğrenme ve bellek üzerine etkileri ve CDP-kolinin olası tedavi edici niteliğini incelemenin yanı sıra stresin bu süreçlerde önemli etkilerinin olduğunu ve mutlaka göz önünde bulundurulması gerektiğini göstermiştir.



6.KAYNAKLAR

Abel T, Havekes R, Saletin JM et al (2013) Sleep, plasticity and memory from molecules to whole-brain networks. *Curr Biol* 23: R774–788.

Achermann P, Borbely AA (2003) Mathematical models of sleep regulation. *Front. Bioscience* 8: 683–693.

Acosta-Pena E, Camacho-Abrego I, Melgarejo-Gutierrez M et al (2015) Sleep deprivation induces differential morphological changes in the hippocampus and prefrontal cortex in young and old rats. *Synap* 69: 15-25.

Adams SV, Winterer J, Muller W (2004) Muscarinic signaling is required for spike-pairing induction of long-term potentiation at rat Schaffer collateral-CA1 synapses. *Hippocampus* 14: 413–416.

Agut J and Ortiz JA (1991) Age-related changes in memory and their pharmacologic modulation. *Ann NY Acad Sci.* 640: 295-297.

Agut J, Font E, Sacristan A et al (1983) Radioactivity incorporation into different cerebral phospholipids after oral administration of ¹⁴C methyl CDP-choline. *Arzneimittelforschung* 33(7A): 1048-1050.

Alberini CM (2009) Transcription factors in long-term memory and synaptic plasticity. *Physiol Rev* 89(1): 121–145.

Albert I, Cicala GA, Siegel J (1970) The behavioral effects of REM sleep deprivation in rats. *Psychophysiology* 6: 550–560.

Albright CD, Tsai AY, Friedrich CB et al (1999) Choline availability alters embryonic development of the hippocampus and septum in the rat. *Brain Res Dev Brain Res.* 113: 13-20.

Aleisa AM, Alzoubi KH, Alkadhi KA (2011a) Post-learning REM sleep deprivation impairs long-term memory: reversal by acute nicotine treatment. *Neurosci. Lett.* 499: 28–31.

Aleisa AM, Helal G, Alhaider IA et al (2011b) Acute nicotine treatment prevents REM sleep deprivation induced learning and memory impairment in rat. *Hippocampus* 21: 899–909.

Alhaider IA, Aleisa AM, Tran TT et al (2010) Chronic caffeine treatment prevents sleep deprivation-induced impairment of cognitive function and synaptic plasticity. *Sleep* 33: 437–444.

Alhola P, Polo-Kantola P (2007) Sleep deprivation: impact on cognitive performance. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 3: 553–567.

Alkadhi K, Zagaar M, Alhaider I et al (2013) Neurobiological consequences of sleep deprivation. *Curr Neuropharmacol* 11(3): 231–249.

Alkadhi KA, Alhaider IA (2015) Caffeine and REM sleep deprivation: Effect on basal levels of signaling molecules in area CA1. *Molecular and Cellular Neuroscience* 71: 125-131.

Altar CA, DiStefano PS (1998) Neurotrophin trafficking by anterograde transport. *Trends Neurosci.* 21: 433-437.

Alzoubi KH, Rababa'h AM, Owisi A et al (2017) L-carnitine prevents memory impairment induced by chronic REM-sleep deprivation. *Brain Reseach Bulletin* 131: 136-182.

Amaral DG, Witter MP (1989) The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience* 31: 571-591.

Ambrosini MV, Langella M, Gironi Carnevale UA et al (1992) The sequential hypothesis of sleep function. III. The structure of postacquisition sleep in learning and nonlearning rat. *Physiol. Behav.* 51: 217-226.

Ameri A (1999) The effects of cannabinoids on the brain. *Prog. Neurobiol.* 58: 315-348.

Anacker C (2014) Adult hippocampal neurogenesis in depression: behavioral implications and regulation by the stress system. *Curr. Top. Behav. Neurosci.* 18: 25-43.

Anacker C, Scholz J, O'Donnell KJ et al (2016) Neuroanatomic differences associated with stress susceptibility and resilience. *Biol. Psychiatry* 79: 840-849.

Andersen P, Bliss TV, Skrede KK (1971) Lamellar organization of hippocampal excitatory pathways. *Exp Brain Res* 13: 222-238.

Arıcanlı N. (2010) Selektif REM deprivasyonunun bellek fonksiyonları üzerine etkisinde selektif serotonin reuptake inhibitörü sitalopramin etkisi. Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Edirne, (Prof. Dr. Çetin Hakan Karadağ).

Arrigoni E, Averet N, Cohadon F (1987) Effects of CDP-choline on phospholipase A2 and cholinephosphotransferase activities following a cryogenic brain injury in the rabbit. *Biochem Pharmacol* 36(21): 3697-3700.

Arslan BY, Ulus IH, Savci V et al (1991) Effects of intracerebroventricular injected choline on cardiovascular functions and sympathoadrenal activity. *J Cardiovasc Pharmacol.* 17(5): 814-821.

Auyeung TW, Kwok T, Leung J et al (2015) Sleep duration and disturbances were associated with testosterone level, muscle mass, and muscle strength—a cross-sectional study in 1274 older men. *J. Am. Med. Dir. Assoc.* 16(7): e1-e6.

Bagot RC, Parise EM, Pena CJ et al (2015) Ventral hippocampal afferents to the nucleus accumbens regulate susceptibility to depression. *Nat. Commun.* 6: 7062.

Baker KB, Kim JJ (2002) Effects of stress and hippocampal NMDA receptor antagonism on recognition memory in rats. *Learn Mem* 9: 58-65.

Baldi E, Efoudebe M, Lorenzini CA et al (2005) Spatial navigation in the Morris water maze: working and long lasting reference memories. *Neurosci Letter* 378: 176-180.

Barnes C (1979) Memory deficit associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *J Comp Physiol Psychol.* 93: 74-104.

Barr ML, Klernam JA (1988) *The human nervous system.* 5th edition, Philadelphia, JB Lippincott Comp, pp: 266-269.

Barrett KE, Barman SM, Boitano S et al (2011) *Ganongs review of medical pshiology.* McGraw-Hill, USA, pp: 289-299.

Bartus RT, Dean RL, Goas JA et al (1980) Age-related changes in passive avoidance retention: Modulation with dietary choline. *Science* 209: 301-303.

Benedito MA, Camarini R (2001) Rapid eye movement sleep deprivation induces an increase in acetylcholinesterase activity in discrete rat brain regions. *Braz J Med Biol Res.* 34(1): 103-109.

Benington JH, Frank MG (2003) Cellular and molecular connections between sleep and synaptic plasticity. *Progress in Neurobiology* 69: 71-101.

Bennet MC, Diamond DM, Fleshner M et al (1991) Serum corticosterone level predicts the magnitude of hippocampal primed burst potentiation and depression in urethane-anesthetized rats. *Psychobiology* 19: 301-307.

Bergmann BM, Everson CA, Kushida CA et al (1989a) A. Sleep deprivation in the rat: V. Energy use and mediation. *Sleep* 12: 31-41.

Bergmann BM, Kushida CA, Everson CA et al (1989b) Sleep deprivation in the rat: II. Methodology. *Sleep* 12(1): 5-12.

Bilang-Bleuel A, Rech J, De Carli S et al (2002) Forced swimming evokes a biphasic response in CREB phosphorylation in extrahypothalamic limbic and neocortical brain structures in the rat. *Eur. J. Neuroscience* 15: 1048-1060.

Bjorness TE, Greene RW (2009) Adenosine and sleep. *Curr Neuropharmacol* 7: 238-245.

Bliss TVP, Collingridge GL (1993) A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361: 31-39.

Blount PJ, Nguyen CD, McDeavitt JT (2002) Clinical use of cholinomimetic agents: a review. *J Head Trauma Rehabil* 17: 314-321.

Bolding K, Rudy JW (2006) Place learning in the Morris water task. Making the memory stick. *Learn Memory* 13: 278-286.

Bourtchuladze R, Frenguelli B, Blendy J et al (1994) Deficient long-term memory in mice with a targeted mutation of the cAMP-responsive element-binding protein. *Cell* 79: 59-68.

Boyce R, Glasgow SD, Williams S et al (2016) Causal evidence for the role of REM sleep theta rhythm in contextual memory consolidation. *Science* 352:812-816.

Brandeis R, Brandys Y, Yehuda S (1989) The use of the Morris water maze in the study of memory and learning. *Int J Neurosci.* 48: 29-69.

Braun AP, Schulman H (1995) The multifunctional calcium/calmodulin dependent protein kinase: from form to function. *Annu. Rev. Physiol.* 57: 417-445.

Brenman JE, Bredt DS (1997) Synaptic signaling by nitric oxide. *Curr. Opin. Neurobiol.* 7: 374-378.

Bruhwyler J, Liegeois JF, Geczy J (1998) Facilitatory effects of chronically administered citicoline on learning and memory processes in the dog. *Prog Neuro-Psychopharm Biol Psych.* 22: 115-128.

Burke SN, Barnes CA (2006) Neural plasticity in the ageing brain. *Nat Rev Neuroscience* 7(1): 30-40.

Buzsaki G (2002) Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron* 33: 325-340.

Cacabelos R, Alvarez XA, Franco-Maside A et al (1993) Effect of CDP-choline on cognition and immune function in Alzheimer's disease and multi-infarct dementia. *Ann N Y Acad Sci.* 695: 321-323.

Cacabelos R, Caamano J, Gomez MJ et al (1996) Therapeutic effects of CDP-choline in Alzheimer's disease. Cognition, brain mapping, cerebrovascular hemodynamics, and immune factors. *Ann N Y Acad Sci.* 777: 399-403.

Cain SW, Chou T, Ralph MR (2004) Circadian modulation of performance on an aversion-based place learning task in hamsters. *Behav Brain Res* 150: 201–205.

Cajochen C, Krauchi K, Wirz-Justice A (2003) Role of melatonin in the regulation of human circadian rhythms and sleep. *Journal of Neuroendocrinology* 15: 432–437.

Callaway CW, Lydic R, Baghdoyan HA et al (1987) Pontogeniculooccipital waves: Spontaneous visual system activity during rapid eye movement sleep. *Cell. Mol. Neurobiology* 7: 105-149.

Campos EC, Schiavi C, Benedetti P et al (1995) Effect of citicoline on visual acuity in amblyopia: preliminary results. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmology* 233: 307-312.

Cansev M (2003) CDP-Kolin'in Kardiyovasküler, Metabolik ve Nöroendokrin Etkileri, Tıpta Uzmanlık Tezi, Uludag Üniversitesi, Bursa, 2003.

Cansev M (2006) Uridine and cytidine in the brain: Their transport and utilization. *Brain Res Rev* 52: 389-397.

Cansev M, Watkins CJ, van der Beek EM et al (2005) Oral uridine 5'monophosphate (UMP) increases brain CDP-choline levels in gerbils. *Brain Res.* 1058: 101-108.

Cantero JL, Atienza M, Stickgold R et al (2003) Sleep-dependent theta oscillations in the human hippocampus and neocortex. *J. Neuroscience* 23: 10897-10903.

Carlezon Jr WA, Duman RS, Nestler EJ (2005) The many faces of CREB. *Trends Neurosci.* 28: 436-445.

Carskadon MA and Dement WC (2011) Monitoring and staging human sleep. Editor: KRYGER MH, ROTH T, DEMENT WC, Principles and practice of sleep medicine. 5th edition, St. Louis: Elsevier Saunders, pp: 16-26.

Çavun S, Savci V (2004) CDP-choline increases plasma ACTH and potentiates the stimulated release of GH, TSH and LH: the cholinergic involvement. *Fundam Clin Pharmacol.*, 18(5): 513-523.

Chamberlin NL, Arrigoni E, Chou TC et al (2003) Effects of adenosine on GABAergic synaptic inputs to identified ventrolateral preoptic neurons. *Neuroscience* 119: 913–918.

Chang HM, Liao WC, Sheu JN, Chang CC, Lan CT, Mai FD (2012) Sleep deprivation impairs Ca²⁺ expression in the hippocampus: ionic imaging analysis for cognitive deficiency with TOF-SIMS. *Microsc Microanal.* 18: 425–435.

Chase MH, Morales F (1990) The atonia and myoclonia of active (REM) sleep. *Annu Rev Psychol.* 41: 557–584.

Chernik DA (1972) Effect of REM sleep deprivation on learning and recall by humans. *Perceptual and Motor Skills* 34: 283-294.

Cirelli C (2006) Cellular consequences of sleep deprivation in the brain. *Sleep Med Rev* 10: 307–321.

Coenen AML and Van Luijckelaar ELJM (1985) Stress induced by three procedures of deprivation of paradoxical sleep. *Physiol Behav.* 35: 501-504.

Cohen EL, Wurtman RJ (1975) Brain acetylcholine: increase after systemic choline administration. *Life Sci* 16(7): 1095-1102.

Cohen HB, Dement WC (1965) Sleep: changes in threshold to electroconvulsive shock in rats after deprivation of “paradoxical” phase. *Science* 150: 1318–1319.

Cohen-Cory S (2002) The developing synapse: construction and modulation of synaptic structures and circuits. *Science* 298: 770-776.

Coll-Andreu M, Ayora-Mascarell L, Trullas-Oliva R et al (1989) Behavioral evaluation of the stress induced by the platform method for short-term paradoxical sleep deprivation in rats. *Brain Res Bull* 22: 825–828.

Colombo M, Fernandez T, Nakamura K et al (1998) Functional differentiation along the anterior–posterior axis of the hippocampus in monkeys. *J. Neurophysiol.* 80: 1002-1005.

Coluccia E, Louse G (2004) Gender differences in spatial orientation: a review. *J Environ Psychology* 24: 329-340.

Cortese BM, Mitchell TR, Galloway MP et al (2010) Region-specific alteration in brain glutamate: possible relationship to risk-taking behavior. *Physiol Behav* 99: 445–450.

Costa e Silva JA, Chase M, Sartorius N et al (1996) Special report from a symposium held by the World Health Organization and the World Federation of Sleep Research Societies: an overview of insomnias and related disorders—recognition, epidemiology, and rational management. *Sleep* 19(5): 412-416.

Craciunescu CN, Albright CD, Mar MH et al (2003) Choline availability during embryonic development alters progenitor cell mitosis in developing mouse hippocampus. *J Nutr.* 133: 3614–3618.

D'Hooge R, De Deyn P (2001) Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Res Rev* 36: 60-90.

da Costa Souza A, Ribeiro S (2015) Sleep deprivation and gene expression. Editors: MEERLO P, BENCA RM, ABEL T *Sleep, Neuronal Plasticity and Brain Function*. Springer-Verlag, Berlin, pp: 65–901.

Datta S (2000) Avoidance task training potentiates phasic pontine-wave density in the rat: A mechanism for sleep-dependent plasticity. *J. Neuroscience* 20: 8607-8613.

Davies SK, Ang JE, Revell VL et al (2014) Effect of sleep deprivation on the human metabolome. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 111(29): 10761-10766.

De Bruin NM, Kiliaan AJ, De Wilde MC et al (2003) Combined uridine and choline administration improves cognitive deficits in spontaneously hypertensive rats. *Neurobiol Learn Mem* 80: 63–79.

De Kloet ER (2004) Hormones and the stressed brain. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1018: 1–15.

De Kloet ER, Azmitia EC, Landfield PW (1996) Brain corticosteroid receptors: studies on the mechanism, function, and neurotoxicity of corticosteroid action. *Ann NY Acad Sci* 746: 499.

de Kloet ER, Joels M, Holsboer F (2005) Stress and the brain: From adaptation to disease. *Nature Reviews: Neuroscience* 6: 463–475.

De Kloet ER, Oitzl MS, Joëls M (1999) Stress and cognition: are corticosteroids good or bad guys? *Trends Neuroscience* 22: 422-426.

De Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS (1998) Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr Rev* 19: 269-301.

De Koninck J, Lorrain D, Christ G et al (1989) Intensive language learning and increases in rapid eye movement sleep: evidence of a performance factor. *Int. J. Psychophysiol* 8: 43-47.

De Paula HM, Hoshino K (2002) Correlation between the fighting rates of REM sleep-deprived rats and susceptibility to the 'wild running' of audiogenic seizures. *Brain Res* 926: 80-85.

De Quervain DJ, Roozendaal B, McGaugh JL (1998) Stress and glucocorticoids impair retrieval of long-term spatial memory. *Nature* 394: 787-790.

Dement WC (1960) The effect of dream deprivation *Science* 131: 1705-1707.

Diamond DM, Bennett MC, Fleshner M et al (1992) Inverted-U relationship between the level of peripheral corticosterone and the magnitude of hippocampal primed burst potentiation. *Hippocampus* 2: 421-430.

Diamond DM, Campbell AM, Park CR et al (2006) Influence of predator stress on the consolidation versus retrieval of long-term spatial memory and hippocampal spinogenesis. *Hippocampus* 16: 571-576.

Diamond DM, Campbell AM, Park CR et al (2006) The temporal dynamics model of emotional memory processing: a synthesis on the neurobiological basis of stress-induced amnesia, flashbulb and traumatic memories, and the Yerkes-Dodson law. *Neural Plast.* 2007: 60803.

Diekelmann S, Born J (2010) The memory function of sleep. *Nat. Rev. Neurosci.* 11: 144-126.

Dixon CE, Ma X, Marion DW (1997) Effects of CDP-choline treatment on neurobehavioral deficits after TBI and on hippocampal and neocortical acetylcholine release. *J. Neurotrauma* 14: 161-169.

Dobolyi A, Reichart A, Szikra T et al (1998) Analysis of purine and pyrimidine bases, nucleosides and deoxynucleosides in brain microsamples (microdialysates and micropunches) and cerebrospinal fluid. *Neurochem. Int.* 32: 247-256.

Drago F, Mauceri F, Nardo L et al (1993) Effects of cytidine-diphosphocholine on acetylcholine-mediated behaviors in the rat. *Brain Res Bull.* 31: 485-489.

Drevets WC (2001) Neuroimaging and neuropathological studies of depression: implications for the cognitive emotional features of mood disorders. *Curr Opin Neurobiol.* 11: 240-249.

Duclot F, Hollis F, Darcy MJ et al (2011) Individual differences in novelty-seeking behavior in rats as a model for psychosocial stress-related mood disorders. *Physiol Behav* 104(2): 296-305.

Dudai Y (2002) Molecular bases of long-term memories: a question of persistence. *Curr. Opin. Neurobiology* 12: 211-216.

Duman RS (1995) Regulation of intracellular signal transduction and gene expression by stress. Editors: FRIEDMAN MJ, CHARNEY DS, DEUTCH AY, *Neurobiology and Clinical Consequences of Stress.* Lippincott-Raven, Philadelphia, pp: 27-43.

Edgar DM, Dement WC, Fuller CA (1993) Effect of SCN lesions on sleep in squirrel monkeys: Evidence for opponent processes in sleep-wake regulation. *J. Neuroscience* 13: 1065-1079.

Eichenbaum H, Yonelinas AP, Ranganath C (2007) The medial temporal lobe and recognition memory. *Annu Rev Neurosci* 30: 123-152.

Elgersma Y, Silva AJ (1999) Molecular mechanisms of synaptic plasticity and memory. *Curr. Opin. Neurobiol.* 9: 209-213.

Elvander E, Schott PA, Sandin J et al (2004) Intraseptal muscarinic ligands and galanin: influence on hippocampal acetylcholine and cognition. *Neuroscience* 126: 541–557.

Elzinga BM, Bakker A, Bremner JD (2005) Stress-induced cortisol elevations are associated with impaired delayed, but not immediate recall. *Psychiatry Res.*134: 211-223.

Ennaceur A, Delacour J (1988) A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats.1: Behavioral data. *Behav Brain Res* 31(1): 47–59.

Erondu NE, Kennedy MB (1985) Regional distribution of type II Ca²⁺/calmodulin dependent protein kinase in rat brain. *J. Neurosci.* 5: 3270–3277.

Everson, CA (1993) Sustained sleep deprivation impairs host defense. *Am. J. Physiol.* 265: 1148–1154.

Everson, CA, Wehr, TA (1993) Nutritional and metabolic adaptations to prolonged sleep deprivation. *Am. J. Physiol.* 264: 376–387.

Fanselow MS and Dong HW (2010) Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? *Neuron* 65: 7-19.

Filipini D, Gijbsbers K, Birmingham MK et al (1991) Effects of adrenal steroids and their reduced metabolites on hippocampal long-term potentiation. *Steroid Biochem. Mol. Biol.* 40: 87-92.

Fink CC, Meyer T (2002) Molecular mechanisms of CaMKII activation in neuronal plasticity. *Curr. Opin. Neurobiol.* 12: 293-299.

Finsterwald C, Alberini CM (2014) Stress and glucocorticoid receptor-dependent mechanisms in long-term memory: from adaptive responses to psychopathologies. *Neurobiol. Learn. Mem.* 112: 17–29.

Floridi A, Vecchini A, Palmerini CA et al (1981) Cytidine uptake and utilization in primary culture from the rat brain. *Meeting of the Italian Biochemical Society* 3: 317-319.

Foy MR, Stanton ME, Levine S et al (1987) Behavioral stress impairs long-term potentiation in rodent hippocampus. *Behavioral and Neural Biology* 48: 138-149.

Fradda P and Fratta W (1997) Stress-induced sleep deprivation modifies corticotropin releasing factor (CRF) levels and CRF binding in rat brain and pituitary. *Pharmacol Research* 35: 443-446.

Francis DD, Zaharia MD, Shank H et al (1995) Stress induced disturbances in Morris water-maze performance inter-strain variability. *Physiol Behaviour* 58: 57-65.

Franken P, Chollet D, Tafti M (2001) The homeostatic regulation of sleep need is under genetic control. *J. Neurosci.* 21: 2610–2621.

Frick KM, Baxter MG, Markowska AL et al (1995) Age-related spatial reference and working memory deficits assessed in the water maze. *Neurobiology of Aging* 16: 149-160.

Fuller PM, Gooley JJ, Saper CB (2006) Neurobiology of the sleep-wake cycle: sleep architecture, circadian, regulation, and regulatory feedback. *J. Biol. Rhythms* 21: 482–493.

Gagnon, SA, Wagner AD (2016) Acute stress and episodic memory retrieval: Neurobiological mechanisms and behavioral consequences. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1369: 55-75.

Gais S, Albouy G, Boly M et al (2007) Sleep transforms the cerebral trace of declarative memories. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104: 18778-18783.

Gais S, Born J (2004) Low acetylcholine during slow-wave sleep is critical for declarative memory consolidation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 2140-2144.

Gallagher M, Burwell R, Burchinal M (1993) Severity of spatial learning impairment in aging: development of a learning index for performance in the morris water maze. *Behavioral Neuroscience* 107: 618-626.

Galletti P, De Rosa M, Cotticelli MG et al (1991) Biochemical rationale for the use of CDP-choline in traumatic brain injury: pharmacokinetics of the orally administered drug. *J. Neurol. Sci.* 103: 19-25.

Galletti P, De Rosa M, Nappi MA et al (1985) Transport and metabolism of double-labelled CDPchoine in mammalian tissues. *Biochem Pharmacol.* 34: 4121–4130.

Gallopin T, Fort P, Eggermann E et al (2000) Identification of sleep-promoting neurons in vitro. *Nature* 404: 992–995.

Garcia R, Musleh W, Tocco G et al (1997) Time-dependent blockade of STP and LTP in hippocampal slices following acute stress in mice. *Neurosci Lett*, 233: 41-44.

Geinisman Y, DeToledo-Morrell L, Morrell F et al (1995) Hippocampal markers of aged-related memory dysfunction: behavioral, electrophysiological and morphological perspectives. *Prog Neurobiol*, 45: 223-252.

Giese KP, Fedorov NB, Filipkowski RK et al (1998) Autophosphorylation at Thr286 of the alpha calcium-calmodulin kinase II in LTP and learning. *Science* 279: 870-873.

Goren B, Cakir A, Sevinc C et al (2017) Uridine treatment protects against neonatal brain damage and long term cognitive deficits caused by hyperoxia. *Brain Research* 1676: 57- 68.

Gimenez R, Soler S, Aguilar J (1999) Cytidine diphosphate choline administration activates brain cytidine triphosphate: phosphocholine cytidylyltransferase in aged rats. *Neurosci Lett*. 273: 163-166.

Graves L, Pack A, Abel T (2001) Sleep and memory: a molecular perspective. *Trends in Neurosciences* 24: 237-243.

Greenberg R, Pearlman C (1974) Cutting the REM nerve: an approach to the adaptive role of REM sleep. *Perspect Biol Med*. 17(4): 513-521.

Groeneweg FL, Karst H, de Kloet ER et al (2011) Rapid non-genomic effects of corticosteroids and their role in the central stress response. *J. Endocrinol*. 209: 153-167.

Gronli J, Soule J, Bramham CR et al (2013) Sleep and protein synthesis-dependent synaptic plasticity: impacts of sleep loss and stress. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 7(224): 1-18.

Guan Z, Peng X, Fang J (2004) Sleep deprivation impairs spatial memory and decreases extracellular signal-regulated kinase phosphorylation in the hippocampus. *Brain Res* 1018: 38-47.

Gulec Suyen G, Isbil-Buyukcoskun N, Kahveci N et al (2016) Immediate and delayed treatment with gabapentin, carbamazepine and CNQX have almost similar impact on cognitive functions and behavior in the lithium-pilocarpine model in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 148: 128-135.

Gundogdu EB, Bekar A, Turkyılmaz M et al (2016) CDP-choline modulates matrix metalloproteinases in rat sciatic injury. *J Surg Research* 200: 655-663.

Guzman-Marin R, Suntsova N, Methippara M et al (2005) Sleep deprivation suppresses neurogenesis in the adult hippocampus of rats. *Eur J Neurosci* 22: 2111-2116.

Guzman-Marín R, Suntsova N, Stewart DR (2003) Sleep deprivation reduces proliferation of cells in the dentate gyrus of the hippocampus in rats. *J. Physiol* . 549: 563–571.

Guzman-Marín R, Ying Z, Suntsova N et al (2006) Suppression of hippocampal plasticity-related gene expression by sleep deprivation in rats. *J Physiol* 575: 807–819.

Guzowski JF, Miyashita T, Chawla MK et al (2006) Recent behavioral history modifies coupling between cell activity and Arc gene transcription in hippocampal CA1 neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 103(4): 1077–1082.

Hagewoud R, Havekes R, Novati A et al (2010a) Sleep deprivation impairs spatial working memory and reduces hippocampal AMPA receptor phosphorylation. *J Sleep Res* 19: 280–288.

Hagewoud R, Havekes R, Tiba PA et al (2010b) Coping with sleep deprivation: shifts in regional brain activity and learning strategy. *Sleep* 33(11): 1465–1473.

Hairston IS, Little MT, Scanlon MD et al (2005) Sleep restriction suppresses neurogenesis induced by hippocampus-dependent learning. *J Neurophysiol* 94: 4224–4233.

Hajali V, Sheibani V, Esmaeili-Mahani S et al (2012) Female rats are more susceptible to the deleterious effects of paradoxical sleep deprivation on cognitive performance. *Behav Brain Res* 228: 311–318.

Hamurtekin E, Gurun MS (2006) The antinociceptive effects of centrally administered CDP-choline on acute pain models in rats: the involvement of cholinergic system. *Brain Res.* 1117: 92–100.

Harrison FE, Reiserer RS, Tomarken AJ (2006) Spatial and non spatial escape strategies in the Barnes maze. *Learn Mem*, 13: 809-819.

Hasselmo ME (2006) The role of acetylcholine in learning and memory. *Current Opinion in Neurobiology* 16(6): 710–715.

Havekes R, Park AJ, Tudor JC et al (2016) Sleep deprivation causes memory deficits by negatively impacting neuronal connectivity in hippocampal area CA1. *Elife* 5: e13424.

Hebb DO (1949) *The Organization of Behavior*. John Wiley & Sons: New York, pp: 62.

Henke PG (1990) Hippocampal pathway to the amygdala and stress ulcer development. *Brain Res. Bull.* 25: 691-695.

Hernandez PJ, Abel T (2011) A molecular basis for interactions between sleep and memory. *Sleep Med Clin* 6: 71–84.

Hicks RA, Okuda A, Thomsen D (1977) Depriving rats of REM sleep: the identification of a methodological problem. *Am J Psychology* 90: 95-102.

Holscher C (1999) Stress impairs performance in spatial water maze learning task. *Behav Brain Research* 100: 225-235.

Horne J (2004) Is there a sleep debt. *Sleep* 27: 1047–1049.

Horne JA, McGrath MJ (1984) The consolidation hypothesis for REM sleep function: stress and other confounding factors-a review. *Biol Psychol* 18(3): 165-184.

Huerta PT, Lisman JE (1993) Heightened synaptic plasticity of hippocampal CA1 neurons during a cholinergically induced rhythmic state. *Nature* 364 (6439): 723-725.

Huerta PT, Lisman JE (1995) Bidirectional synaptic plasticity induced by a single burst during cholinergic theta oscillation in CA1 in vitro. *Neuron* 15: 1053–1063.

Huston JP, Haas HL, Boix F et al (1996) Extracellular adenosine levels in neostriatum and hippocampus during rest and activity periods of rats. *Neuroscience* 73: 99–107.

Imperato A, Puglisi-Allegra S, Casolini P et al (1991) Changes in brain dopamine and acetylcholine release during and following stress are independent of the pituitary-adrenocortical axis. *Brain Res*. 538(1): 111-117.

Infante JP (1987) De novo CDP-choline-dependent glycerophosphorylcholine synthesis and its involvement as an intermediate in phosphatidylcholine synthesis. *Febs Lett*. 214: 149-152.

Isaac, J (2001) Protein phosphatase 1 and LTD: synapses are the architects of depression. *Neuron* 32: 963-966.

Isaacson RL (2002) Unsolved mysteries: The hippocampus. *Behav Cogn Neurosci Rev* 1(2): 87-107.

Ishikawa A, Kanayama Y, Matsumura H et al (2006) Selective rapid eye movement sleep deprivation impairs the maintenance of long-term potentiation in the rat hippocampus. *Eur J Neurosci* 24: 243–248.

James TW, Kimura D (1997) Sex differences in remembering the locations of objects in an array: location-shifts versus location-exchanges. *Evol Hum Behav*. 18: 155-163.

Jenkins JG, Dallenbach KM (1924) Oblivescence during sleep and waking. *American Journal of Psychology* 35: 605–612.

Joels M (2008) Functional actions of corticosteroids in the hippocampus. *Eur J Pharmacol* 583(2-3): 312-321.

Joels M, Baram TZ (2009) The neuro-symphony of stress. *Nat. Rev. Neurosci.* 6: 459-466.

Joels M, Sarabdjitsingh RA, Karst H (2012) Unraveling the time domains of corticosteroid hormone influences on brain activity: rapid, slow, and chronic modes. *Pharmacol. Rev.* 64: 901–938.

Jones JP, Meck W, Williams CL et al (1999) Choline availability to the developing rat fetus alters adult hippocampal long-term potentiation. *Brain Res Dev Brain Res.* 118: 159–167.

Jouvet D, Vimont P, Delorme F et al (1964) Study of selective deprivation of the paradoxal sleep phase in the cat. *C R Seances Soc Biol Fil* 158: 756–759.

Kahveci N, Gulec G, Ozluk K (2006) Effects of intracerebroventricularly-injected morphine on anxiety, memory retrieval and locomotor activity in rats: involvement of vasopressinergic system and nitric oxide pathway. *Pharmacol Biochem Behav.* 85: 859–867.

Kandel ER, Hawkins RD (1992) The biological basis of learning and individuality. *Sci. Am.* 267: 78–86.

Kaneita Y, Uchiyama M, Yoshiike N et al (2008) Associations of usual sleep duration with serum lipid and lipoprotein levels. *Sleep* 31(5): 645-652.

Kaplan T, Kafa IM, Cansev M et al (2014) Investigation of the dose-dependency of citicoline effects on nerve regeneration and functional recovery in a rat model of sciatic nerve injury. *Turk Neurosurg* 24: 54–62.

Kemp N, Bashir ZI (2001) Long-term depression: a cascade of induction and expression mechanisms. *Prog. Neurobiol.* 65: 339-365.

Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH (1997) More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 386: 493-495.

Kennedy EM, Weiss SB (1956) The function of cytidine coenzymes in the biosynthesis of phospholipids. *J. Biol. Chem.* 222: 193-214.

Kheirbek MA, Drew LJ, Burghardt NS et al. (2013) Differential control of learning and anxiety along the dorsoventral axis of the dentate gyrus. *Neuron* 77: 955-968.

Killick R, Banks S, Liu PY (2012) Implications of sleep restriction and recovery on metabolic outcomes. *J Clin Endocrinol Metab* 97(11): 3876–3890.

Kim EJ, Pellman B, Kim JJ (2015) Stress effects on the hippocampus: a critical review. *Learn. Mem.* 22: 411-416.

Kim EY, Mahmoud GS, Grover LM (2005) REM sleep deprivation inhibits LTP in vivo in area CA1 of rat hippocampus. *Neurosci. Lett.* 388: 163–167.

Kim JJ, Diamond DM (2002) The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories. *Nature Reviews* 3: 453-462.

Kim JJ, Yoon KS (1998) Stress: metaplastic effects in the hippocampus. *Trends in neurosciences* 21(12): 505-509.

Koban M, Swinson KL (2005) Chronic REM-sleep deprivation of rats elevates metabolic rate and increases UCP1 gene expression in brown adipose tissue. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 289: 68-74.

Kong J, Shepel PN, Holden CP et al (2002) Brain glycogen decreases with increased periods of wakefulness: implications for homeostatic drive to sleep. *J. Neuroscience* 22: 5581–5587.

Kopp C, Longordo F, Nicholson JR (2006) Insufficient sleep reversibly alters bidirectional synaptic plasticity and NMDA receptor function. *J. Neurosci.* 26: 12456–12465.

Köppen A, Klein J, Holler T et al (1993) Synergistic effect of nicotinamide and choline administration on extracellular choline levels in the brain. *J Pharmacol Exp Ther.* 266(2): 720-725.

Kovalzon VM, Tsibulsky VL (1984) REM-sleep deprivation, stress and emotional behavior in rats. *Behav. Brain Res.* 14: 235-245.

Kreutzmann JC, Havekes R, Abel T et al (2015) Sleep deprivation and hippocampal vulnerability: changes in neuronal plasticity, neurogenesis and cognitive function. *Neuroscience* 309: 173-190.

Krugers HJ, Hoogenraad CC, Groc L (2010) Stress hormones and AMPA receptor trafficking in synaptic plasticity and memory. *Nat. Rev. Neurosci.* 11: 675-681.

Kushida CA, Bergmann BM, Rechtschaffen A (1989) Sleep deprivation in the rat: IV. Paradoxical sleep deprivation. *Sleep* 12(1): 22–30.

Laemmli UK (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-689.

Lakher M, Wurtman RJ, Blusztajn J et al (1986) Brain phosphatidylcholine pools as possible sources of free choline for acetylcholine synthesis. Editors: BORCHARDT RT, CYRUS R, CREVELING CR, UELAND PM, Biological Methylation and Drug Design. The Humana Press, pp: 101-110.

Lalonde R (2002) The neurobiological basis of spontaneous alternation. *Brain Res Rev*, 26: 91-104.

Lamberty Y, Gower AJ (1991) Simplifying environmental cues in a Morris-type water maze improves place learning in old NMRI mice. *Behav Neural Biology* 54: 89-100.

Lavenex P, Banta Lavenex P, Amaral DG (2007) Postnatal development of the primate hippocampal formation. *Dev Neurosci* 29: 179–192.

Leathwood PD, Heck E, Mauron J (1982) Phosphatidylcholine and avoidance performance in 17 month old SEC/1ReJ mice. *Life Sci* 30: 1065-1070.

Lee HK, Takamiya K, Han JS et al (2003) Phosphorylation of the AMPA receptor GluR1 subunit is required for synaptic plasticity and retention of spatial memory. *Cell* 112: 631–643.

Lee T, Jarome T, Li SJ et al (2009) Chronic stress selectively reduces hippocampal volume in rats: a longitudinal magnetic resonance imaging study. *Neuroreport* 20: 1554-1558.

Lehmann ML, Brachman RA, Martinowich K et al (2013) Glucocorticoids orchestrate divergent effects on mood through adult neurogenesis. *J. Neurosci.* 33: 2961-2972.

Leuner B and Gould E (2010) Structural plasticity and hippocampal function. *Annu. Rev. Psychol.* 61: 111-113.

Li F, Tsien JZ (2009) Memory and the NMDA receptors. *N Engl J Med* 361(3): 302–303.

Li S, Tian Y, Ding Y et al (2009) The effects of rapid eye movement sleep deprivation and recovery on spatial reference memory of young rats. *Learning & Behavior* 37: 246-253.

Li W, Ma L, Yang G et al (2017) REM sleep selectively prunes and maintains new synapses in development and learning. *Nat Neurosci* 20: 427-437.

Libert F, Van Sande J, Lefort A et al (1992) Cloning and functional characterization of a human A1 adenosine receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 16; 187(2): 919-926.

Lin JS, Anaclet C (2011) The waking brain: an update. *Cellular and Molecular Life Sciences* 68: 2499-2512.

Lin Y, Ter Horst GJ, Wichmann R (2009) Sex differences in the effects of acute and chronic stress and recovery after long-term stress on stress-related brain regions of rats. *Cereb Cortex* 19: 1978–1989.

Liu S, Liu Q, Tabuchi M et al (2016) Sleep drive is encoded by neural plastic changes in a dedicated circuit. *Cell* 165: 1347-1360.

Lopez J, Roffwarg HP, Dreher A (2008) Rapid eye movement sleep deprivation decreases long-term potentiation stability and affects some glutamatergic signaling proteins during hippocampal development. *Neuroscience*. 153: 44–53.

Lopez-Coviella I, Agut J, Savci V et al (1995) Evidence that 5'-cytidinediphosphocholine can affect brain phospholipid composition by increasing choline and cytidine plasma levels. *J. Neurochem.*, 65: 889-894.

Lopez-Coviella I, Agut J, Von Borstel R et al (1987) Metabolism of cytidine (5')-diphosphocholine (CDP- choline) following oral and intravenous administration to the human and the rat. *Neurochem. Int.* 11: 293-297.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL et al (1951) Protein measurement with the folinphenol reagents. *The Journal of Biological Chemistry* 193: 265-275.

Lucassen PJ, Oomen CA, Naninck EF et al (2015) Regulation of adult neurogenesis and plasticity by (early) stress, glucocorticoids, and inflammation. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 7: a021303.

Lucero MA (1970) Lengthening of REM sleep duration consecutive to learning in the rat. *Brain Res.* 20: 319-322.

Luine V, Villegas M, Martinez C et al (1994) Repeated stress causes reversible impairments of spatial memory performance. *Brain Research* 639: 167-170.

Luo J, Phan TX, Yang Y (2013) Increases in cAMP, MAPK Activity, and CREB Phosphorylation during REM Sleep: Implications for REM Sleep and Memory Consolidation. *J. Neuroscience* 33: 6460–6468.

Lupien SJ, Lepage M (2001) Stress, memory, and the hippocampus: can't live with it, can't live without it. *Behav Brain Res.* 127: 137-158.

Lupien SJ, Maheu F, Tu M et al (2007) The effects of stress and stress hormones on human cognition: Implications for the field of brain and cognition. *Brain and Cognition* 65: 209–237.

Lupien SJ, McEwen BS, Gunnar MR et al (2009) Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behavior and cognition. *Nat Rev Neurosci.* 10: 434-445.

- Luscher C, Frerking M (2001) Restless AMPA receptors: implications for synaptic transmission and plasticity. *Trends Neurosci.* 24: 665-670.
- Lynch MA (2004) Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev* 84: 87–136.
- Machado RB, Hipolide DC, Benedito-Silva AA et al (2004) Sleep deprivation induced by the modified multiple platform technique: quantification of sleep loss and recovery. *Brain Res* 1004: 45-51.
- Maei HR, Zaslavsky K, Teixeira CM et al (2009) What is the most sensitive measure of water maze probe test performance? *Front Integr Neuroscience* 3: 1-9.
- Magarinos AM, Verdugo JM, McEwen BS (1997) Chronic stress alters synaptic terminal structure in hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94: 14002-14008.
- Maguire EA, Gadian DG, Johnsrude IS et al (2000) Navigation-related structural change in the hippocampi of taxi drivers. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 97: 4398-4403.
- Marks CA, Wayner MJ (2005) Effects of sleep disruption on rat dentate granule cell LTP in vivo. *Brain Res Bull* 66: 114–119.
- Markwald RR, Melanson EL, Smith MR et al (2013) Impact of insufficient sleep on total daily energy expenditure, food intake, and weight gain. *Proc Natl Acad Sci USA* 110(14): 5695–5700.
- Maroun M, Akirav I (2008) Arousal and stress effects on consolidation and reconsolidation of recognition memory. *Neuropsychopharmacology* 33: 394-405.
- Massey PV, Bashir ZI (2007) Long-term depression: multiple forms and implications for brain function. *Trends in Neurosciences* 30(4): 176-184.
- Matsuoka K, Uozumi T, Kano M et al (1967) Clinical study of the effect of cytidine diphosphate choline on sequelae of cerebral circulation disorders. *Gendai no Rinsho* 1: 184-189.
- Mccarley RW (2007) Neurobiology of REM and NREM sleep. *Sleep Medicine*, 8: 302-330.
- McCoy JG, Christie MA, Kim Y et al (2013) Chronic sleep restriction impairs spatial memory in rats. *NeuroReport* 24: 91–95.
- McDermott CM, Hardy MN, Bazan NG et al (2006) Sleep deprivation induced alterations in excitatory synaptic transmission in the CA1 region of the rat hippocampus. *J. Physiol.* 570: 553–565.

- McDermott CM, LaHoste GJ, Chen C et al (2003) Sleep deprivation causes behavioral, synaptic, and membrane excitability alterations in hippocampal neurons. *J Neurosci* 23: 9687–9695.
- McEwen BS (2007) Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol. Rev.* 87: 873–904.
- McEwen BS, Sapolsky RM (1995) Stress and cognitive function. *Curr Opin Neurobiol.* 5: 205-216.
- McGaugh J (1989) Involvement of hormonal and neuromodulatory systems in the regulation of memory storage. *Annu Rev Neurosci* 12: 255-287.
- McGaugh JL (2000) Memory-a century of consolidation. *Science*, 287: 248-251.
- McGinty D and Szymusiak R (2001) Brain structures and mechanisms involved in the generation of NREM sleep: focus on the preoptic hypothalamus. *Sleep Med Rev* 5: 323–342.
- Meck W and Williams C (1997) Perinatal choline supplementation increases the threshold for chunking in spatial memory. *Neuroreport.* 8: 3053–3059.
- Meerlo P, Koehl M, Van Der Borgh K et al (2002) Sleep restriction alters the hypothalamic-pituitary-adrenal response to stress. *J. Neuroendocrinol.* 14: 397–402.
- Meerlo P, Mistlberger RE, Jacobs BL et al (2009) New neurons in the adult brain: the role of sleep and consequences of sleep loss. *Sleep Med Rev* 13: 187–194.
- Meerlo P, Sgoifo A, Suchecki D (2008) Restricted and disrupted sleep: effects on autonomic function, neuroendocrine stress systems and stress responsivity. *Sleep Med Rev* 12: 197–210.
- Mellott TJ, Williams CL, Meck WH et al (2004) Prenatal choline supplementation advances hippocampal development and enhances MAPK and CREB activation. *Faseb J.*18: 545–547.
- Mendelson WB, Guthrie RD, Frederick G et al (1974) The Flower pot technique of rapid eye movement (REM) sleep deprivation. *Pharmacol Biochem Behav* 2(4): 553–556.
- Miller S, Mayford M (1999) Cellular and molecular mechanisms of memory: the LTP connection. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 9: 333-337.
- Milner B, Squire LR, Kandel ER (1998) Cognitive neuroscience and the study of memory. *Neuron* 20: 445–468.

- Morimoto M, Morita N, Ozawa H et al (1996) Distribution of glucocorticoid receptor immunoreactivity and mRNA in the rat brain: an immunohistochemical and in situ hybridization study. *Neurosci. Res.* 26: 235–269.
- Morris GO, Williams HL, Lubin A (1960) Misperception and Disorientation During Sleep Deprivation. *Arch Gen Psychiat* 2: 247-254.
- Morris R (1984) Development of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J. Neurosci. Methods* 11: 47–60.
- Morris RGM (1981) Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learn Motiv.* 12: 239-260.
- Morrison AR (1988) Paradoxical sleep without atonia. *Arch Ital Biol.* 126: 275–289.
- Moscovitch M, Nadel L, Winocur G et al (2006) The cognitive neuroscience of remote episodic, semantic and spatial memory. *Curr Opin Neurobiol*, 16: 179-190.
- Moser EI, Kropf E, Moser M-B (2008) Place Cells, Grid Cells, and the Brain's Spatial Representation System. *Ann. Rev. Neurosci.* 31: 69-89.
- Moser MB Moser EI (1998) Distributed encoding and retrieval of spatial memory in the hippocampus. *J. Neurosci.* 18: 7535–7542.
- Mulholland PJ, Self RL, Harris BR et al (2004) Choline exposure reduces potentiation of N-methyl-D-aspartate toxicity by corticosterone in the developing hippocampus. *Brain Res Dev Brain Res.* 153(2): 203–211.
- Murray F, Smith DW, Hutson PH (2008) Chronic low dose corticosterone exposure decreased hippocampal cell proliferation, volume and induced anxiety and depression like behaviours in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 583: 115–127.
- Nader K (2003). Memory traces unbound. *Trends Neurosci.* 26: 65–72.
- Naitoh P, Kelly TL, Englund C (1990) Health effects of sleep deprivation. Published in *Occupational Medicine: State of the Art Reviews* 5: 209-237.
- Newcomer JW, Craft S, Hershey T et al (1994) Glucocorticoid-induced impairment in declarative memory performance in adult humans. *J Neuroscience* 14(4): 2047-53.
- Nicoll RA, Oliet SHR, Malenka RC (1998) NMDA receptor-dependent and metabotropic glutamate receptor-dependent forms of long-term depression coexist in CA1 hippocampal pyramidal cells. *Neurobiol. Learn. Mem.* 70: 62-72.

Novati A, Hulshof HJ, Koolhaas JM et al (2011) Chronic sleep restriction causes a decrease in hippocampal volume in adolescent rats, which is not explained by changes in glucocorticoid levels or neurogenesis. *Neuroscience* 190: 145–155.

O'Keefe J, Dostrovsky J (1971) The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Res*, 34: 171-175.

O'Leary OF and Cryan JFA (2014) Ventral view on antidepressant action: roles for adult hippocampal neurogenesis along the dorsoventral axis. *Trends Pharmacol. Sci.* 35: 675-687.

Ogawa Y, Kanbayashi T, Saito Y et al (2003) Total sleep deprivation elevates blood pressure through arterial baroreflex resetting: a study with microneurographic technique. *Sleep* 26(8): 986-989.

Okamoto K, Narayanan R, Lee SH et al (2007) The role of CaMKII as an F-actin-bundling protein crucial for maintenance of dendritic spine structure. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 6418-6423.

Oksenberg A, Gordon C, Arons E et al (2001) Phasic activities of rapid eye movement sleep in vegetative state patients. *Sleep* 24(6): 703–706.

Oliet SH, Malenka RC, Nicoll RA (1997) Two distinct forms of long-term depression coexist in CA1 hippocampal pyramidal cells. *Neuron* 18: 969-982.

Olton DS, Samuelson RJ (1976) Remembrance of place passed. Spatial memory in rats. *J Exp Psychol: Anim Behav Process*, 2: 97-116.

Oniani T, Lortkipanidze N (2003) Effect of paradoxical sleep deprivation on the learning and memory. *Neurobiology of Sleep-Wakefulness Cycle* 3: 9-43.

Orzel-Gryglewska J (2010) Consequences of sleep deprivation. *Int. J. Occup. Med. Environ Health* 23: 95-114.

Otani S, Daniel H, Takita M (2002) Long-term depression induced by postsynaptic group II metabotropic glutamate receptors linked to phospholipase C and intracellular calcium rises in rat prefrontal cortex. *J. Neuroscience* 22: 3434-3444.

Pacák K, Palkovits M (2001) Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. *Endocr. Rev.* 22: 502-548.

Pace-Schott EF, Hobson JA (2002) The neurobiology of sleep: genetics, cellular physiology and subcortical networks. *Nat Rev Neuroscience*. 3: 591–605.

Packard MG, McGaugh JL (1996) Inactivation of hippocampus or caudate nucleus with lidocaine differentially affects expression of place and response learning. *Neurobiol Learn Mem* 65: 65–72.

- Pagel JF, Barnes BL (2001) Medications for the treatment of sleep disorders: An overview. *J Clin Psych* 3: 118–125.
- Parisi V, Manni G, Colacino G et al (1999) Cytidine-5'- diphosphocholine (citicoline) improves retinal and cortical responses in patients with glaucoma. *Ophthalmology* 106: 1126-1134.
- Paroni R, Cighetti G, Del Puppo M et al (1985) Evidence for a different metabolic behaviour of cytidine diphosphate choline after oral and intravenous administration to rats. *Pharmacol Res Commun.* 17(9): 805-829.
- Patchev V, Felszeghy K, Korányi L (1991) Neuroendocrine and neurochemical consequences of a long-term sleep deprivation in rats: similarities to some features of depression. *Homeostasis* 33: 97–108.
- Paul CM, Magda G, Abel S (2009) Spatial memory: Theoretical basis and comparative review on experimental methods in rodents. *Behavioral Brain Research* 203: 151-164.
- Paulsen O, Sejnowski TJ (2000) Natural patterns of activity and long-term synaptic plasticity *Curr. Opin. Neurobiology* 10: 172-179.
- Pavlidis C, Watanabe Y, Margarinos AM et al (1995) Opposing roles of Type I and Type II adrenal steroid receptors in hippocampal long-term potentiation. *Neuroscience* 68(2): 387-94.
- Pavlidis C, Watanabe Y, McEwen BS (1993) Effects of glucocorticoids on hippocampal long-term potentiation. *Hippocampus* 3: 183-192.
- Petkov VD, Kehayov RA, Mosharrof AH et al (1993) Effects of cytidine diphosphate choline on rats with memory deficits. *Arzneimittelforschung* 43: 822-828.
- Petkov VD, Mosharrof AH, Kehayov R et al (1992) Effects of CDP- choline on learning and memory processes in rodents. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 14: 593-605.
- Petkov VD, Mosharrof AH and Petkov VV (1988) Comparative studies on the effects of the nootropic drugs adafenoxate, meclofenoxate and piracetam, and of citicholine on scopolamine-impaired memory, exploratory behavior and physical capabilities (experiments on rats and mice). *Acta Physiol Pharmacol Bulg.* 14: 3-13.
- Petkov VD, Mosharrof AH, Petkov VV et al (1990a) Age-related differences in memory and in the memory effects of nootropic drugs. *Physiol Pharmacol Buig.* 16: 28-36.

Petkov VD, Stancheva SL, Tocuschieva L et al (1990b) Changes in brain biogenic monoamines induced by the nootropic drugs adafenoxate and meclofenoxate by citicholine (experiments on rats). *Gen Pharmacol*. 21: 71–75.

Phelps EA (2004) Human emotion and memory: interactions of the amygdala and hippocampal complex. *Curr Opin Neurobiol* 14: 198–202.

Plataras C, Angelogianni P, Tsakiris S (2003) Effect of CDP-choline on hippocampal acetylcholinesterase and Na⁺, K⁽⁺⁾-ATPase in adult and aged rats. *Z Natur-forsch* 58: 277–281.

Plihal W, Born J (1997) Effects of early and late nocturnal sleep on declarative and procedural memory. *Journal of Cognitive Neuroscience* 9(4): 534–547.

Plihal W, Born J (1999) Effects of early and late nocturnal sleep on priming and spatial memory. *Psychophysiology* 36(5): 571–582.

Poe GR, Nitz DA, McNaughton BL et al (2000) Experience-dependent phase-reversal of hippocampal neuron firing during REM sleep. *Brain Res*, 855: 176-180.

Popoli M, Gennarelli M, Racagni G (2002) Modulation of synaptic plasticity by stress and antidepressants. *Bipolar Disord*. 4: 166-182.

Porte Y, Buhot MC, Mons NE (2008) Spatial memory in the Morris water maze and activation of cyclic AMP response elementbinding (CREB) protein within the mouse hippocampus. *Learn Mem* 15(12): 885–894.

Pyapali GK, Turner DA, Williams CL et al (1998) Prenatal dietary choline supplementation decreases the threshold for induction of long-term potentiation in young adult rats. *J. Neurophysiology* 79: 1790-1796.

Rama AN, Cho SC, Kushida CA (2006) Normal Human Sleep. Editor: TEOFILO LC, *Sleep: A Comprehensive Handbook*. John Wiley & Sons, Hoboken, pp: 3-9.

Ravassard P, Pachoud B, Comte JC et al (2009) 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* 32: 227–240.

Rechtschaffen A, Bergmann BM (1995) Sleep deprivation in the rat by the disk-over-water method. *Behav Brain Res* 69(1–2): 55–63.

Rechtschaffen A, Bergmann BM, Gilliland MA et al (1999) Effects of method, duration, and sleep stage on rebounds from sleep deprivation in the rat. *Sleep* 22(1): 11–31.

Rechtschaffen A, Gilliland MA, Bergmann BM et al (1983) Physiological correlates of prolonged sleep deprivation in rats. *Science* 221(4606): 182–84.

Renshaw PF, Daniels S, Lundahl LH et al (1999) Short-term treatment with citicoline (CDP-choline) attenuates some measures of craving in cocaine-dependent subjects: a preliminary report. *Psychopharmacology* 142: 132-138.

Reul JM, DeKloet ER (1985) Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology* 117: 2505-2511.

Roberti R, Mancini A, Freysz L et al (1992) Reversibility of the reactions catalyzed by cholinephosphotransferase and ethanolaminephosphotransferase solubilized from rat-brain microsomes. *Biochim Biophys Acta*.1165: 183–188.

Roehrs T, Hyde M, Blaisdell B, et al (2006) Sleep loss and REM sleep loss are hyperalgesic. *Sleep* 29(2): 145-151.

Roenneberga T, Kuehnlea T, Judaa M et al (2007) Epidemiology of the human circadian clock. *Sleep Medicine Reviews* 11: 429–438.

Roman V, Walstra I, Luiten PG et al (2005) Too little sleep gradually desensitizes the serotonin 1A receptor system. *Sleep* 28(12): 1505–1510.

Rooyendaal B (2000) 1999 Curt P. Richter award. Glucocorticoids and the regulation of memory consolidation. *Psychoneuroendocrinology*. 25: 213–238.

Rooyendaal B (2002) Stress and memory: opposing effects of glucocorticoids on memory consolidation and memory retrieval. *Neurobiol. Learn. Memory* 78: 578-595.

Rosenzweig ES, Barnes CA (2003) Impact of aging on hippocampal function: plasticity, network dynamics, and cognition. *Prog Neurobiol* 69(3): 143-179.

Rousse I, Beaulieu S, Rowe W et al (1997) Spatial memory in transgenic mice with impaired glucocorticoid receptor function. *Neuroreport* 8: 841-845.

Sairanen M, O’leary OF, Knuutila JE et al (2007) Chronic antidepressant treatment selectively increases expression of plasticity-related proteins in the hippocampus and medial prefrontal cortex of the rat. *Neuroscience* 144: 368-374.

Salehi B, Cordero MI, Sandi C (2010) Learning under stress: The inverted-U shape function revisited. *Learning and Memory* 17: 522–530.

Salín-Pascual RJ, Díaz-Muñoz M, Rivera-Valerdi L et al (1998) Decrease in muscarinic M2 receptors from synaptosomes in the pons and hippocampus after REM sleep deprivation in rats. *Sleep Res Online* 1(1): 19-23.

Sanchez MC, Fernandez JM, Forne E et al (1983) CDP-choline: physico-chemical characteristics. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* 3: 1011-1012.

Sandi C (1998) The role and mechanisms of action of glucocorticoid involvement in memory storage. *Neural Plast.* 6: 41-52.

Sandi C (2013) Stress and cognition. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science* 4: 245-261.

Sanes JR, Lichtman JW (1999) Can molecules explain long-term potentiation? *Nat. Neurosci.* 2: 597-604.

Saper CB, Chou TC, Scammell TE (2001) The sleep switch: Hypothalamic control of sleep and wakefulness. *Trends in Neurosciences* 24: 726-731.

Saper CB, Scammell TE, Lu J (2005) Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. *Nature* 437: 1257–1263.

Sapolsky RM, Uno H, Rebert CS et al (1990) Hippocampal damage associated with prolonged glucocorticoid exposure in primates. *J Neurosci.* 10: 2897-2902.

Sarahian N, Sahraei H, Zardooz H et al (2014) Effect of memantine administration within the nucleus accumbens on changes in weight and volume of the brain and adrenal gland during chronic stress in female mice. *Modares J Med Science Pathobiology* 17: 71-82.

Saura CA, Valero J (2011) The role of CREB signaling in Alzheimer's disease and other cognitive disorders. *Rev Neurosci* 22(2): 153–169.

Schenk F and Brandner C (1995) Indirect effects of peri- and postnatal choline treatment on place-learning abilities in rat. *Psychobiology* 23: 302-313.

Schwabe L, Joëls M, Roozendaal B et al (2012) Stress effects on memory: an update and integration. *Neurosci Biobehav Rev.* 36: 1740-1749.

Schwartz JRL, Roth T (2008) Neurophysiology of sleep and wakefulness: Basic science and clinical implications. *Current Neuropharmacology* 6: 367-378.

Secades J (2011) Citicoline: pharmacological and clinical review, 2010 update. *Revista De Neurologia* 52: 1-62.

Secades JJ, Frontera G (1995) CDP-choline: pharmacological and clinical review. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 17: 1-54.

Sejnowski TJ, Destexhe A (2000) Why do we sleep? *Brain Res.* 886: 208-223.

Sherin JE, Elmquist JK, Torrealba F et al (1998) Innervation of histaminergic tuberomammillary neurons by GABAergic and galaninergic neurons in the ventrolateral preoptic nucleus of the rat. *J. Neurosci* 18: 705–721.

Shimamoto K, Hirano T, Aramaki Y (1975) Therapeutic mechanism of cytidine diphosphate choline (CDP-choline) in parkinsonism. *Journal of the Takeda Research Laboratory*, 34: 440-448.

Shors TJ (2001) Acute stress rapidly and persistently enhances memory formation in the male rat. *Neurobiol. Learn. Mem.* 75: 10–29.

Shors TJ (2004) Learning during stressful times. *Learn Mem* 11: 137-144.

Shors TJ, Dryver E (1992) Stress impedes exploration and the acquisition of spatial information in the eight-arm radial maze. *Psychobiology* 20: 247-253.

Shors TJ, Gallegos RA, Breindl A (1997) Transient and persistent consequences of acute stress on long-term potentiation (LTP), synaptic efficacy, theta rhythms and bursts in area CA1 of the hippocampus. *Synapse* 26: 209-217.

Silva AJ, Kogan JH, Frankland PW et al (1998) CREB and memory. *Annu. Rev. Neurosci.* 21: 127-148.

Silva AJ, Paylor R, Wehner JM et al (1992a) Impaired spatial learning in alpha-calmodulin kinase II mutant mice. *Science* 257: 206–211.

Silva AJ, Stevens CF, Tonegawa S et al (1992b) Deficient hippocampal long-term potentiation in alpha calcium-calmodulin kinase II mutant mice. *Science* 257: 201–206.

Silva RH, Chehin AB, Kameda SR et al (2004) Effects of pre- or post-training paradoxical sleep deprivation on two animal models of learning and memory in mice. *Neurobiology of Learning and Memory* 82: 90-98.

Smith C (1985) Sleep states and learning: a review of the animal literature. *Neurosci Biobehav Rev.* 9: 157–168.

Smith C, Lapp L (1991) Increases in number of REMS and REM density in humans following an intensive learning period. *Sleep* 14(4): 325-330.

Smith C, Rose GM (1996) Evidence for a paradoxical sleep window for place learning in the Morris water maze. *Physiol Behav.* 59: 93-97.

Soderling TR (1993) Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II: role in learning and memory. *Mol. Cell. Biochem.* 127/128: 93–101.

Soderling TR (2000) CaM-kinases: modulators of synaptic plasticity. *Curr. Opin. Neurobiol.* 10: 375-380.

Spiers PA, Myers D, Hochanadel G et al (1996) Citicoline improves verbal memory in aging. *Arch Neurol* 53: 441-448.

Spiegel JM (2000) Brainstem mechanisms generating REM sleep. Editor: KRYGER MH, ROTH T, DEMENT WC, *Principles and practice of sleep medicine*. Saunders, Philadelphia, pp: 112–133.

Squire LR (1992) Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans *Psych. Rev.* 99: 195-231.

Squire LR, Zola SM (1996) Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proc Natl Acad Sci* 93: 13515.

Stamatakis KA, Punjabi NM (2010) Effects of sleep fragmentation on glucose metabolism in normal subjects *Chest* 137(1): 95-101.

Steiner S, Ellman S (1972) Relation between REM sleep and intracranial self stimulation. *Science* 177:1122-1124.

Stenberg D (2007) Neuroanatomy and neurochemistry of sleep. *Cell Mol Life Science* 64: 1187-1204.

Steriade M, Hobson JA (1976) Neuronal activity during the sleep–waking cycle. *Prog Neurobiol* 6: 155–376.

Stern WC, Morgane PJ (1974) Theoretical view of REM sleep function: maintenance of catecholamine systems in the central nervous system. *Behav Biology* 11: 1-32.

Stevens R and Cowey A (1973) Effects of dorsal and ventral hippocampal lesions on spontaneous alternation, learned alternation and probability learning in rats. *Brain Research* 52: 203-224.

Stickgold R, Hobson JA, Fosse R et al (2001) Sleep, learning and dreams: off-line memory reprocessing. *Science* 294: 1052–1057.

Stickgold R, Walker MP (2007) Sleep-dependent memory consolidation and reconsolidation. *Sleep Medicine* 8(4): 331-343.

Strange BA, Witter MP, Lein ES et al. (2014) Functional organization of the hippocampal longitudinal axis. *Nat. Rev. Neurosci.* 15: 655-669.

Suchecki D, Palma BD, Tufik S (2000) Sleep rebound in animals deprived of paradoxical sleep by the modified multiple platform method. *Brain Res* 875: 14-22.

SucHECKI D, Tiba PA, Machad RB (2012) REM sleep rebound as an adaptive response to stressful situations. *Front. Neurol.* 3: 41.

Suenaga T, Morinobu S, Kawano K et al (2004) Influence of immobilization stress on the levels of CaMKII and phospho-CaMKII in the rat hippocampus. *Int J Neuropsychopharmacol.* 7: 299–309.

Sun CY, Qi SS, Lou XF et al (2006) Changes of learning, memory and levels of CaMKII, CaM mRNA, CREB mRNA in the hippocampus of chronic multiple-stressed rats. *Chin. Med. J.* 119: 140-147.

Sunyer B, Patil S, Hoger H et al (2007) Barnes maze, a useful task to assess spatial reference memory in the mice. *Nat Protoc.* 390: 10-38.

Sutherland GR, McNaughton B (2000) Memory trace reactivation in hippocampal and neocortical neuronal ensembles. *Curr. Opin. Neurobiol.* 10(2): 180-186.

Sutherland RJ, Chew GL, Baker JC et al (1987) Some limitations on the use of distal cues in place navigation by rats. *Psychobiology* 15: 48-57.

Tadavarty R, Rajput PS, Wong JM et al (2011) Sleep-deprivation induces changes in GABA(B) and mGlu receptor expression and has consequences for synaptic long-term depression. *PLoS One* 6(9): e24933.

Tanti A, Rainer Q, Minier F et al (2012) Differential environmental regulation of neurogenesis along the septo-temporal axis of the hippocampus. *Neuropharmacology* 63: 374-384.

Tanti A, Westphal WP, Girault V et al (2013) Region-dependent and stage-specific effects of stress, environmental enrichment, and antidepressant treatment on hippocampal neurogenesis. *Hippocampus* 23: 797-811.

Tarokh L, Saletin JM, Carskadon MA (2016) Sleep in adolescence: physiology, cognition and mental health. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 70: 182–188.

Tartar JL, Ward CP, Cordeira JW et al (2009) Experimental sleep fragmentation and sleep deprivation in rats increases exploration in an open field test of anxiety while increasing plasma corticosterone levels. *Behav Brain Res* 197: 450-453.

Teather LA and Wurtman, RJ (2003) Dietary cytidine (5')-diphosphocholine supplementation protects against development of memory deficits in aging rats. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 27: 711-717.

Teather LA, Wurtman RJ (2005) Dietary CDP-choline supplementation prevents memory impairment caused by impoverished environmental conditions in rats. *Learn Mem.* 12: 39–43.

Teather LA, Wurtman RJ (2006) Chronic administration of UMP ameliorates the impairment of hippocampal-dependent memory in impoverished rats. *J Nutr.* 136: 2834–2837.

Thierry A-M, Javoy F, Glowinski J et al (1968) Effects of stress on the metabolism of norepinephrine, dopamine and serotonin in the central nervous system of the rat. I. Modifications of norepinephrine turnover. *J Pharmacol Exp Ther.* 163: 163-171.

Tiba PA, Menezes Oliveira MG, Rossi VC et al (2008) Glucocorticoids are not responsible for paradoxical sleep deprivation-induced memory impairments. *Sleep* 31: 505-515.

Tolman EC (1948) Cognitive maps in rats and men. *Psychol Rev* 55: 189-208.

Traut TW (1994) Physiological concentrations of purines and pyrimidines. *Mol. Cell. Biochem.* 140: 1-22.

Tretter V, Revilla-Sanchez R, Houston C et al (2009) Deficits in spatial memory correlate with modified γ -aminobutyric acid type A receptor tyrosine phosphorylation in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci* 106(47): 20039-20044.

Tufik S, Troncone LRP, Braz S et al (1987) Does REM sleep deprivation induce subsensitivity of presynaptic dopamine or postsynaptic acetylcholine receptors in the rat brain? *Eur. J. Pharmacol.* 140: 215–219.

Tulving E (1983) *Elements of episodic memory.* Cambridge: Oxford University Press.

Vaher P, Luine V, Gould E et al (1994) Effects of adrenalectomy on spatial memory performance and dentate gyms morphology. *Brain Res* 656:71-78.

Van Cauter E, Spiegel K, Tasali E et al (2008) Metabolic consequences of sleep and sleep loss. *Sleep Med* 9 (Suppl 1):23-28.

Van der Borght K, Ferrari F, Klauke K et al (2006) Hippocampal cell proliferation across the day: increase by running wheel activity, but no effect of sleep and wakefulness. *Behav Brain Res* 167(1): 36–41.

Van der Staay FJ (2000) Effects of the size of the Morris water tank on spatial discrimination learning in the CFW1 mouse. *Physiol Behav.* 68: 599-602.

Van der Werf YD, Altema E, Schoonheim MM et al (2009) Sleep benefits subsequent hippocampal functioning. *Nat Neurosci* 12: 122–123.

Van Hulzen ZJM, Coenen AML (1980) The pendulum technique for paradoxical sleep deprivation in rats. *Physiology and Behavior* 25: 807-811.

Van Luijtelaar ELJM Coenen AML (1986) Electrophysiological evaluation of three paradoxical sleep deprivation techniques in rats. *Physiology and Behavior* 36: 603-609.

Vecsey CG, Baillie GS, Jaganath D et al (2009) Sleep deprivation impairs cAMP signalling in the hippocampus. *Nature* 461: 1122–1125.

Vivaldi EA, Ocampo-Garces A, Villegas R (2005) Short-term homeostasis of REM sleep throughout a 12:12 light:dark schedule in the rat. *Sleep* 28: 931-943.

von Kugelgen I (2006) Pharmacological profiles of cloned mammalian P2Y-receptor subtypes. *Pharmacol. Ther.* 110: 415-432.

Vorhees CV, Williams MT (2006) Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat. Protoc.* 1(2): 848-858.

Walker MP, Brakefield T, Allan Hobson J et al (2003) Dissociable stages of human memory consolidation and reconsolidation. *Nature* 425: 616-620.

Walker MP, Brakefield T, Morgan A (2002) Practice with sleep makes perfect: sleep-dependent motor skill learning. *Neuron* 35: 205-211.

Walker MP, Stickgold R (2006) Sleep, memory and plasticity. *Annu Rev Psychol* 57: 139-166.

Walsh CM, Booth V, Poe GR (2011) Spatial and reversal learning in the Morris water maze are largely resistant to six hours of REM sleep deprivation following training. *Learn Mem.* 18(7): 422-434.

Walther T, Voigt JP, Fukamizu A et al (1999) Learning and anxiety in angiotensin-deficient mice. *Behav. Brain Res.* 100: 1-4.

Wang B, Zhao J, Yu M et al (2014) Disturbance of intracellular calcium homeostasis and CaMKII/CREB signaling is associated with learning and memory impairments induced by chronic aluminum exposure. *Neurotox Res.* 26(1): 52–63.

Wang GP, Huang LQ, Wu HJ et al (2009) Calcineurin contributes to spatial memory impairment induced by rapid eye movement sleep deprivation. *Neuro Report* 20(13): 1172–1176.

Wang H, Liu Y, Briesemann M et al (2010) Computational analysis of gene regulation in animal sleep deprivation. *Physiol Genomics* 42(3): 427-436.

Wang P, Wang WP, Zhang S et al (2008) Impaired spatial learning related with decreased expression of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II alpha and cAMP-response element binding protein in the pentylentetrazol-kindled rats. *Brain Research* 1238: 108-117.

Wang SX, Li QS (2002) Effects of sleep deprivation on gamma-amino-butyric acid and glutamate contents in rat brain. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao* 22(10): 888-890.

Wang XY, Zhao M, Ghitza UE et al (2008) Stress impairs reconsolidation of drug memory via glucocorticoid receptors in the basolateral amygdala. *J. Neuroscience* 28: 5602-5610.

Wang YJ, Chen GH, Hu XY et al (2005) The expression of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II-a in the hippocampus of patients with Alzheimer's disease and its links with AD-related pathology. *Brain Res.* 1031: 101-108.

Wasserman EA, Jensen DD (1969) Olfactory stimuli and the "pseudo-extinction" effect. *Science* 166: 1307-1309.

Watts A, Gritton HJ, Sweigart J et al (2012) Antidepressant suppression of non-REM sleep spindles and REM sleep impairs hippocampus-dependent learning while augmenting striatum-dependent learning. *J Neurosci* 32: 13411-13420.

Weinger MB, Ancoli-Israel S (2002) Sleep deprivation and clinical performance. *JAMA* 287: 955-957.

Weiss GB (1995) Metabolism and actions of CDP-choline as an endogenous compound and administered exogenously as citicoline. *Life Sci.* 56: 637-660.

Werman R, Davidoff RA, Aprison MH (1968) Inhibitory of glycine on spinal neurons in the cat. *J Neurophysiol.* 31: 81-95.

Whishaw IQ, Tomie JA (1996) Of mice and mazes: similarities between mice and rats on dry land but not water maze. *Physiol Behaviour* 60: 1191-1197.

Williams CL, Meck WH, Heyer DD et al (1998) Hypertrophy of basal forebrain neurons and enhanced visuospatial memory in perinatally choline-supplemented rats. *Brain Res.* 794: 225-238.

Winder DG, Sweatt JD (2001) Roles of serine/threonine phosphatases in hippocampal synaptic plasticity. *Nature Reviews Neuroscience* 2: 461-474.

Winson J (1978) Loss of hippocampal theta rhythm results in spatial memory deficit in the rat. *Science* 201(4351): 160-163.

Wurtman RJ, Regan M, Ulus I et al (2000) Effect of oral CDP-choline on plasma choline and uridine levels in humans. *Biochem. Pharmacol.* 60: 989-992.

Wurtman RJ, Ulus IH, Cansev M et al (2006) Synaptic proteins and phospholipids are increased in gerbil brain by administering uridine plus docosahexaenoic acid orally. *Brain Res.* 1088: 83-92.

Xie L, Kang H, Xu Q et al (2013) Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. *Science* 342(6156): 373-377.

Xie M, Li C, He C (2016) Short-term sleep deprivation disrupts the molecular composition of ionotropic glutamate receptors in entorhinal cortex and impairs the rat spatial reference memory. *Behav Brain Res* 300: 70-76.

Yang G, Lai CS, Cichon J et al (2014) Sleep promotes branch-specific formation of dendritic spines after learning. *Science* 344: 1173-1178.

Yang RH, Hu SJ, Wang Y (2008) Paradoxical sleep deprivation impairs spatial learning and affects membrane excitability and mitochondrial protein in the hippocampus. *Brain Res.* 1230: 224–232.

Yin M, Chen Y, Zheng H et al (2017) Assessment of mouse cognitive and anxiety-like behaviors and hippocampal inflammation following a repeated and intermittent paradoxical sleep deprivation procedure. *Behavioural Brain Research* 321: 69-78.

Yi J, ZX F, Zhang BH et al (2007) Hippocampal overexpression of Down syndrome cell adhesion molecule in amyloid precursor protein transgenic mice. *Braz J Med Bio Res* 50(6): e6049.

Yoo SS, Hu PT, Gujar N et al (2007) A deficit in the ability to form new human memories without sleep. *Nat Neurosci* 10: 385-392.

Youngblood BD, Smagin GN, Elkins PD (1999) The effects of paradoxical sleep deprivation and valine on spatial learning and brain 5-HT metabolism. *Physiol. Behav.* 67: 643–649.

Youngblood BD, Zhou J, Smagin GN et al (1997) Sleep deprivation by the “Flower pot” technique and spatial reference memory. *Physiol. Behav.* 61: 249–256.

Zeisel SH (1985) Formation of unesterified choline by rat brain. *Biochim Biophys Acta* 835(2): 331-343.

Zeisel SH (1997) Choline: essential for brain development and function. *Adv Pediatr.* 44: 263-295.

Zeisel SH (2004) Nutritional importance of choline for brain development. *J Am Coll Nutr.* 23(6): 621-626.

Zepelin H, Rechtschaffen A (1974) Mammalian sleep, longevity, and energy metabolism. *Brain Behav Evol* 10: 425–470.

Zhang L, Zhang H-Q, Liang X-Y et al (2013) Melatonin ameliorates cognitive impairment induced by sleep deprivation in rats: role of oxidative stress, BDNF and CaMKII. *Behav Brain Res.* 256: 72–81.

Zhao Z, Huang L, Wu H et al (2010) Neuropeptide S mitigates spatial memory impairment induced by rapid eye movement sleep deprivation in rats. *NeuroReport* 21: 623–628.



7. SİMGELER VE KISALTMALAR

ACTH: adrenokortikotropik hormon
AMPA: amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol
ARAS: assendan retiküler aktive edici sistem
Asetil KoA: asetil koenzim A
BDNF: beyin kaynaklı nörotrofik faktör
Ca⁺²: kalsiyum
CaMKII: kalsiyum kalmodulin bağımlı kinaz II
CaMKIV: kalsiyum kalmodulin bağımlı kinaz IV
cAMP: siklik adenozin monofosfat
CCT: fosfokolin sitidil transferaz
CDP-kolin: sitidin 5-difosfokolin
CK: kolin kinaz
CPT: 1,2 diaçilgliserol kolin fosfotransferaz
CREB: siklik adenozin monofosfat yanıt elemanı bağımlı protein
CRH: kortikotropin salıverici hormon
CTP: sitidin-5-trifosfat
DR: dorsal rafe
EEG: elektroensefalografi
EMG: elektromiyografi
EOG: elektrookülografi
ERK: ekstrasellüler regüle edici kinaz
GABA: gama-aminobutirik asit
GH: büyüme hormonu
Gi: inhibitör G proteini
HPA: hipotalamo-pitüiter-adrenal
K⁺: potasyum
KK: kontrol kafes
LC: lokus seruleus
LDT: laterodorsal tegmental
LH: luteinizan hormon
LTD: uzun süreli depresyon
LTP: uzun süreli potansiyelizasyon
MAPK: mitojen aktive edici protein kinaz
Mg⁺²: magnezyum
Na⁺: sodyum
nACh: nikotinik asetikolin
NMDA: N-metil-D-aspartat
NO: nitrik oksit
NREM: non-REM
OK: ortam kontrol
pCaMKII: fosforile kalsiyum kalmodulin bağımlı kinaz II
pCREB: fosforile siklik adenozin monofosfat yanıt elemanı bağımlı protein
PDE: fosfodiesteraz

PGO: ponto-genikulo-okspital
PI3: fosfotidilinozitol 3
PKA: protein kinaz A
PKC: protein kinaz C
PPT: pedikülopontin tegmental
PVDF: poliviniliden florür
REM: hızlı göz hareketleri
SCN: suprakiazmatik çekirdek
SDS-PAGE: sodyum dodesil sülfat poliakrilamid
SF: salin
TBST: tris tamponlu salin ve tween 20
tCaMKII: total kalsiyum kalmodulin bağımlı kinaz II
TM: tuberomamiller
TSH: tiroid stimulan hormon
UDP: üridin difosfat
UMP: üridin monofosfat
UTP: üridin-5-trifosfat
UY: uyku yoksunluğu
VLPO: ventrolateral preoptik çekirdek
vPAG: ventral periakuaduktal gri madde

8. TEŞEKKÜR

Fizyoloji Anabilim Dalı'nda doktora eğitimi aldığım süre boyunca sürekli desteği ile yanımda olan bilgi, görgü ve tecrübelerine her zaman başvurduğum Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Kasım ÖZLÜK hocama; bana her açıdan yol gösteren, desteklerini esirgemeyen, bilimsel görgülerini ve kişiliklerini hep örnek aldığım, öğrencileri olmaktan gurur duyduğum hoşgörülü danışmanlarım Prof. Dr. Nevzat KAHVECİ ve Acıbadem M. Ali Aydınlar Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Güldal SÜYEN hocama; çalışmanın her aşamasında bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, hep destek olan, motivasyonumu arttıran Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mehmet CANSEV hocama; bir üyesi olmaktan gurur duyduğum herbirinden ayrı ayrı çok büyük destekler gördüğüm, bilgilerini cömertçe paylaşan, özveri ile çalışan Fizyoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyeleri Prof. Dr. Naciye İŞBİL BÜYÜKCOŞKUN, Prof. Dr. Tülin ALKAN, Prof. Dr. Fadıl ÖZYENER, Doç. Dr. Bülent GÖREN'e ve Fizyoloji Anabilim Dalı'nın değerli çalışanlarına; tez çalışmamın bir kısmını yürüttüğüm Farmakoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyelerine, asistanlarına, çalışanlarına ve her konuda destek olan, bilgisini esirgemeyen Kimyager Sami AYDIN'a; çalışmalarımda çok büyük katkıları olan ve birlikte çalışmaktan çok mutlu olduğum sevgili çalışma arkadaşlarım Arş. Gör. Büşra ÖCALAN ve Cansu KOÇ'a; beni bugünlere getiren aileme; hayatımı anlamlı kılan sabrı ve sevgisiyle her zaman yanımda olan, beni destekleyen, motive eden eşim Arş. Gör. Dr. Cihan ÇAKIR'a ve sevgili oğlum M. Kerem ÇAKIR'a; bana desteğini esirgemeyen herkese teşekkür ederim.

Bu tez çalışması Uludağ Üniveristesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından desteklenmiştir (Destek No: KUAP (T)-2014/39).

9. ÖZGEÇMİŞ

31 Ağustos 1985 yılında Soma'da doğdu. Orta öğrenimini Soma Rıfat Dağdelen Anadolu Lisesi'nde, lise öğrenimini TC Ziraat Bankası Balıkesir Fen Lisesi'nde tamamladı. 2003 yılında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'ni kazandı. 2009 yılında mezun olduktan sonra 2014 yılına kadar Sağlık Bakanlığı Bursa İl Sağlık Müdürlüğü'ne bağlı 4 No'lu Acil Sağlık Hizmetleri İstasyonunda hekim olarak mecburi hizmetini tamamladı. 2012 yılında doktora eğitimine başladığı Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'na 2014 yılında Araştırma Görevlisi olarak atandı, halen bu görevine devam etmektedir. Evli, bir erkek çocuk annesidir.



ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TEZ ÇOĞALTMA VE ELEKTRONİK YAYIMLAMA İZİN FORMU

Yazar Adı Soyadı	Dr. Ayşen ÇAKIR
Tez Adı	CDP-kolinin uyku yoksunluğu oluşturulan sıçanlarda öğrenme ve bellek parametreleri üzerine etkisi
Enstitü	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
Bilim Dalı	-
Tez Türü	Doktora
Tez Danışman(lar)ı	Prof. Dr. Nevzat KAHVECİ, Prof. Dr. Güldal SÜYEN
Çoğaltma (Fotokopi Çekim) İzni	<input checked="" type="checkbox"/> Tezimden fotokopi çekilmesine izin veriyorum <input type="checkbox"/> Tezimin sadece içindekiler, özet, kaynakça ve içeriğinin % 10 bölümünün fotokopi çekilmesine izin veriyorum <input type="checkbox"/> Tezimden fotokopi çekilmesine izin vermiyorum
Yayımlama İzni	<input checked="" type="checkbox"/> Tezimin elektronik ortamda yayımlanmasına izin veriyorum <input type="checkbox"/> Tezimin elektronik ortamda yayımlanmasının ertelenmesini istiyorum 1 yıl <input type="checkbox"/> 2 yıl <input type="checkbox"/> 3 yıl <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Tezimin elektronik ortamda yayımlanmasına izin vermiyorum

Hazırlamış olduğum tezimin yukarıda belirttiğim hususlar dikkate alınarak, fikri mülkiyet haklarım saklı kalmak üzere Uludağ Üniversitesi Kütüphane ve Dokümantasyon Daire Başkanlığı tarafından hizmete sunulmasına izin verdiğimi beyan ederim.

Tarih:

İmza:

RİT-FR-KDD-12/00