T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Dr. Öğr. Üyesi Ruhan Deniz TOPUZ

NÖROTENSİNİN FARELERDE İPUÇLU VE BAĞLAMSAL KORKU KOŞULLANMA ÜZERİNE ETKİSİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Sedef AKBAŞ

Referans no: 10163082

EDİRNE –2019

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Dr. Öğr. Üyesi Ruhan Deniz TOPUZ

NÖROTENSİNİN FARELERDE İPUÇLU VE BAĞLAMSAL KORKU KOŞULLANMA ÜZERİNE ETKİSİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Sedef AKBAŞ

Destekleyen Kurum: TÜBAP-2018/44

Tez no:

EDİRNE –2019

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

O N A Y

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde ve Dr. Öğretim Üyesi Ruhan Deniz TOPUZ'un danışmanlığında Yüksek Lisans öğrencisi Sedef AKBAŞ'a ait tez başlığı "Nörotensinin Farelerde İpuçlu ve Bağlamsal Korku Koşullanma Üzerine Etkisi"olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı 18.04.2019 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından "Yüksek Lisans Tezi" olarak kabul edilmiştir.

Dr. Öğretim Üyesi Ruhan Deniz TOPUZ
JÜRİ BAŞKANI

Prof. Dr. Ç. Hakan KARADAĞ
ÜYE

Doç. Dr. Coşkun SILAN
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Tammam SİPAHİ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimde ve tez çalışmalarımda sonsuz katkıları olan değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Ruhan Deniz TOPUZ'a, Prof. Dr. Ç. Hakan KARADAĞ, Prof. Dr. Ahmet ULUGÖL'e, Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ'ye, Doç. Dr. Özgür GÜNDÜZ'e ve çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen Öğr. Gör. Kübra DUVAN AYDEMİR'e, Zeynep ÇETİN'e, Ceyda VARLI'ya, beni her zaman destekleyen aileme ve TÜBAP'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ **1**

GENEL BİLGİLER **3**

ÖĞRENME VE BELLEK **3**

KORKU BELLEĞİ **7**

NÖROTENSİN **14**

GEREÇ VE YÖNTEMLER **19**

BULGULAR **26**

TARTIŞMA **39**

SONUÇLAR **45**

ÖZET **46**

SUMMARY **47**

KAYNAKLAR **48**

ŞEKİLLER LİSTESİ **57**

ÖZGEÇMİŞ **59**

EKLER

SİMGE VE KISALTMALAR

BA : Amigdalanın bazal nükleusu

CeA : Amigdalanın santral nükleusu

DG : Dentat girus

GABA : Gama aminobütirik asid

LA : Amigdalanın lateral nükleusu

NT : Nörotensin

NTS_1 : Nörotensin reseptörü 1

NTS_2 : Nörotensin reseptörü 2

NTS_3 : Nörotensin reseptörü 3

NTS_4 : Nörotensin reseptörü 4

mPFC : Medial prefrontal korteks

β-LT : β-Laktotensin

GİRİŞ VE AMAÇ

Bir tridekapeptid olan nörotensin (NT), ilk olarak Carraway ve Leeman tarafından sığır hipotalamusundan elde edilmiş ve nörotransmiter/nöromodülatör/nörohormon olarak görev yaptığı düşünülmüştür (1). NT, santral sinir sisteminde ve gastrointestinal sistemde yaygın olarak bulunur (2). Daha sonra yapılan araştırmalar endojen NT'nin dopamin ve glutamatın nörotransmisyonunu düzenlediğini ve ön hipofiz hormonlarının sekresyonu, termoregülasyon, ağrı, motor aktivite, bellek ve öğrenme yapılanması gibi süreçlerde etkili olabildiğini göstermiştir (3-6). NT'in dopaminerjik sistem ile yakın ilişkisi onun şizofreni, Parkinson gibi çeşitli merkezi sinir sistemi hastalıklarının patofizyolojisinde ve tedavisinde rol alabileceği fikrini oluşturmuştur (3,6,7). Yapılan çalışmalarda NT'nin antipsikotik etkisi ve bazı modellerde bellek fonksiyonunu düzeltici etkileri gösterilmiştir, ancak korku belleğine etkisi tam olarak aydınlatılamamıştır (6,8).

Nörotensinin etkilerine aracılık eden, günümüzde iyi karakterize edilmiş nörotensin reseptörü 1 (NTS_1), nörotensin reseptörü 2 (NTS_2) ve nörotensin reseptörü 3 (NTS_3) olmak üzere üç tip reseptörü bulunmaktadır. NTS_1 ve NTS_2 transmembranal reseptörlerdir ve her ikisi de santral sinir sisteminde yaygın dağılım gösterir. İyi karakterize edilmiş bu üç reseptöre ek olarak nörotensin reseptörü 4'ün (NTS_4/SorLA) varlığı da ileri sürülmüştür. NTS_4 reseptörünün fizyolojik rolü hakkında çok az şey bilinmektedir (7,9,10).

NTS_1 agonistleri ile yapılan bir çalışmada selektif NTS_1 agonisti PD149163'ün anksiyete tedavisinde kullanılabileceğine dair olasılıkları işaret eden kanıtlar sunulmuştur. Bu olasılıkların doğrulanması için NTS_1 agonistlerini test eden farklı hayvan modellerini ve anksiyete ile ilgili testleri içeren ek çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (11).

Bağlamsal korku koşullanma ve ipuçlu korku koşullanma, hipokampüs ve amigdalanın rol oynadığı süreçlerdir. Bu bilgilerden yola çıkarak projemizde korku belleğinin değerlendirildiği testler olan bağlamsal korku koşullanma ve ipuçlu korku koşullanma testlerinde NT reseptör agonisti PD149163 ve NT reseptör antagonisti SR142948 farklı dozlarda uygulanarak NT'nin bağlamsal korku koşullanma ve ipuçlu korku koşullanmada rolü olup olmadığının araştırılması amaçlandı.

GENEL BİLGİLER

ÖĞRENME ve BELLEK

Öğrenme ve bellek insan ve hayvanların türe özgü niteliklerini tam olarak yansıtması ve bağımsız olarak hayatta kalması için gerekli en önemli bilişsel fonksiyonlardır (12).

Kelime anlamlarıyla ifade edilecek olursa, öğrenme, çevresel bir uyarıcıya karşı değişmiş veya gelişmiş davranışsal tepki; bellek ise öğrenilen depolanmış bilgilerin aktarıldığı süreçler olarak tanımlanabilir. Türler varoluşları nedeniyle uyarılara karşı hali hazırda temel yanıtlara sahiptirler, fakat zamanla çevresel uyarılara karşı bu temel yanıtlardan farklı yanıtlar geliştirirler ki, işte bu öğrenmedir. Bellek, öğrenilenlerin depolanması olarak tanımlanır ve belleğin bazı mekanizmaları öğrenilenlerin geri çağırılması ve hatırlanmasını da içermektedir (13).

Ayrıca, öğrenme, yaşam ile ilgili bilgilerin elde edilmesi sonucu tecrübelere bağlı olarak elde edilen bilgilerin davranış değişikliğine dönüşmesi, bellek ise kazanılmış olan bilginin şifrelenmesi, depolanması istemli veya istemsiz olarak geri çağırılması, aklın bir şeyleri hatırlama gücü olarak açıklanabilir (12,14).

İnsan belleğinin sınıflandırılması, anlaşılması kadar zor ve karmaşık olup sınıflandırma genel olarak iki temel parametre üzerinden yapılır.

1. Bilginin saklanma süresine (veya zaman parametresine) göre bellek tipleri
2. Saklanan bilginin niteliğine göre bellek tipleri (12).

Bilginin Saklama Süresine (veya Zaman Parametresine) Göre Bellek Tipleri

Kısa dönem bellek: Birçok araştırmacıya göre neredeyse tüm bellek tipleri kısa süreli veya uzun süreli olabilir. Öğrenilen bir olayın kısa süreli bellekte mi, yoksa uzun süreli bellekte mi depolanacağını bazal davranışta değişikliğe yol açan uyaranla karşılaşma sayısı veya uyaranın şiddeti belirler (13). Kısa süreli bellek ya da diğer ifade ile kısa dönem depolama, bilginin birkaç dakika veya birkaç saniye kadar depolandığı, kategorize edilip bilince ulaştırıldığı bellek fonksiyonu olarak açıklanabilir (13,14). Kısa süreli belleğin duyusal algılarla ilgilendiği kesin olmakla birlikte, kısa süreli bellekteki bilgi ya duyusal uyarılar aracılığı ile yeni edinilmiş bir bilgidir, ya da uzun süreli bellekten geri çağırılmış bir bilgidir. Kısa süreli belleğin çift yönlü işlev gördüğü ifade edilir; şöyle ki, hem bilgi alır, hem de bilgileri seçmeli olarak uzun süreli belleğe aktarır (13).

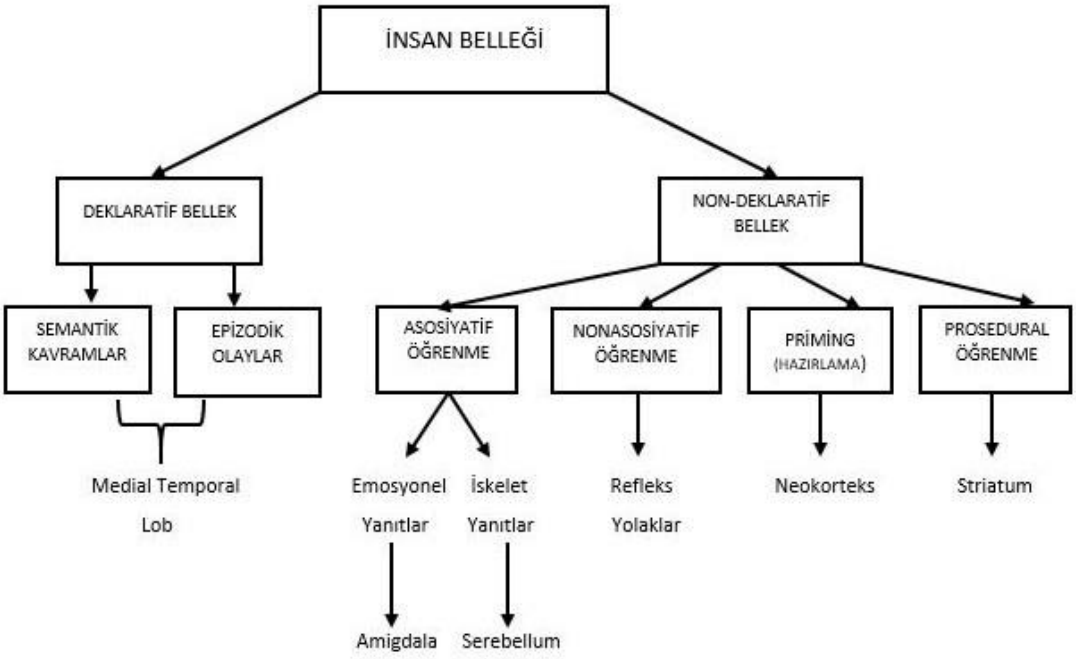
Kısa süreli bellek; duyusal bellek, kısa süreli depolama ve işler bellek olmak üzere birbirinden farklı aktiviteye sahip üç temel bileşen barındırır. Duyusal bellek ve kısa süreli depolama sadece yeni edinilen taze bilgilerle (örneğin yeni tanıştığımız birinin yüzü) ilgilidir. Duyu organlarımıza hitap eden dokunma, tat alma, ses işitme, koklama, görme gibi uyarılar bellekte yer edinmek için kısa süreli belleğin duyusal kısmından geçmek zorundadır (13). Duyusal bellek uyarı sinyalinin görsel (ikonik) veya işitsel (ekoik) olmasına göre ikiye ayrılabilir (14). Kısa süreli depolama, bilginin işlenmesinden ve bilince ulaşmasından kısa bir süre sonra bilgilerin kısa süreli sistemde tutulmasını ifade eder. Kısa süreli depolama alanımızdaki bilgiler, bilinçli olarak farkında olduğunuz bilgilerdir ve bu bilgiler hiçbir şey yapılmadan kısa süre depolanabilir. Ancak bilgi işleniyorsa, işler belleğin devreye girdiği söylenir. İşler bellekte yeni edilen bilgi işlenir ve kısa süreliğine kullanılır (13,14). Bir telefon numarasını akılda tutmak işler belleğe örnek verilebilir (15).

Uzun dönem bellek: Kısa dönem bellekte bilgiler birkaç saniye veya birkaç dakikalığına depolanırken uzun dönem bellekte bilgiler saatler, günler veya aylarla ifade edilen zaman aralıklarınca hatta hayat boyu saklanabilir (13,16). Uzun dönem belleğin oluşmasının ve bilgilerin bu kadar uzun süreli saklanabilmesinin altında sinirsel yapılarda meydana gelen biyokimyasal ve yapısal değişikler yatar (17). Gerçekleşen moleküler olaylar zinciri, yeni sinapsların oluşması, protein sentezi ve gen ekspresyonunu, sinapsların güçlenmesi için var olan proteinlerin daha kararlı forma dönüşmesini içeren bir pekiştirmedir (16,17). Bellek saklanan bilginin niteliğine göre deklaratif bellek ve non-deklaratif bellek olarak ikiye ayrılır (Şekil 1).

Saklanan Bilginin Niteliğine Göre Bellek Tipleri

Deklaratif (eksplisit/açık/bildirilebilen) bellek: Olayların ve olguların bilinçli olarak hatırlanması anlamına gelir (18). Deklaratif belleğe ait olan kavramlar; yüzler, müzik, sesler, fikirler, duygular, kokular ve kelimeler bilinçli bir hatırlamanın ürünleridir (18,19).

Deklaratif belleğin uzun süreli saklanmasında medial temporal lob önemli bir rol oynamaktadır. Medial temporal lob veya diensefalon hasarının oluştuğu durumlarda deklaratif bellek kaybıyla karakterize nörolojik amnezi durumu gelişir (20). Deklaratif bellek semantik ve episodik bellek şeklinde ikiye ayrılır. Episodik bellek, bir zaman ve mekana ait bir olayı yeniden hatırlama yeteneğini içeren bellektir. Semantik bellek ise dünya hakkındaki genel geçer bilgilerle ilgili bellek tipidir (19). Örnek verilecek olursa 'Geçen Pazartesi İstanbul'da trafiğe takıldığını hatırlamak' episodik bellekle, 'İstanbul'un trafik sorunu olduğunu bilmek' ise semantik bellekle ilgilidir.



Şekil 1. Saklanan bilginin niteliğine göre belleğin sınıflandırılması ve ilgili beyin bölgeleri (13)

Deklaratif bellekte bilgilerin kodlama, depolama, konsolidasyon (pekiştirme) ve geri çağırma olmak üzere dört aşamadan geçtiği söylenebilir. Bilginin kaydedilip, bellekteki başka bilgilerle ilişkisinin kurulması kodlama, edinilen bilgilerin bellekte depolanması depolama, kararsız bir bilginin gen ekspresyonu ve protein sentezi sonucu kalıcı hale gelmesi konsolidasyon, depolanan bilginin gerekli olduğunda hatırlanarak tekrar kullanılması geri çağırma olarak ifade edilir (12).

Deklaratif olmayan (non-deklaratif/implisit/örtük/bildirilemeyen) bellek: Non-deklaratif bellek, bilinçli hafıza yeteneğine ihtiyaç duyulmadan ve bilinç dışı davranışlarla kazanılan, alışkanlık ve becerileri kapsayan, performans yoluyla sergilenen bellek türüdür (19). Bisiklet kullanma, ayakkabı bağlamayı veya yazı yazmayı öğrenmek deklaratif olmayan belleğe örnek verilebilir (14).

Deklaratif olmayan belleği dört başlıkta incelemek mümkündür.

Assosiyatif öğrenme (klasik koşullanma ve edimsel koşullanma): Bu öğrenme biçiminde iki uyarı arasındaki ya da bir uyarı ile bir davranış arasındaki ilişki incelenir. Klasik koşullanma ve edimsel koşullanma olarak sınıflandırılır. Klasik koşullanma ilk olarak Ivan Pavlov tarafından tanımlamış olup rekleksif süreçlerle ilerleyen, iki uyaranın birbiriyle eşleştirildiği öğrenme biçimidir. Belirgin bir yanıt oluşturan koşulsuz uyaran (Pavlov'un deneyinde yiyecek) ile yanıt oluşturmayan veya zayıf yanıt oluşturan koşullu uyaran (Pavlov'un deneyinde ses) eşleştirilir. Tekrarlayan uygulamalar sonucu koşulsuz uyaran ortadan kaldırıldığında sadece koşullu uyaranın uygulanması ile koşulsuz uyaranın sebep olduğu yanıtın oluştuğu görülür (12,13). Edimsel koşullanma davranış sonuç ilişkisini açıklamakta olup, ödül ve ceza temeline dayanan bir öğrenme biçimidir. Bir davranış sonucunda ödül alınıyorsa (davranışın sonucu olumluysa) davranış tekrar edilmeye devam ederken, ceza alınıyorsa (davranışın sonucu olumsuzsa veya zarar verici ise) davranışın tekrar edilmesi bırakılır (12).

Non-assosiyatif öğrenme (habituasyon ve sensitizasyon): Habituasyon (alışma) ilk kez karşılaşılan uyarının rahatsız edici sonuçları olan bir uyarı olmaması halinde, tekrar eden uyarılar sonucu canlının bu uyarıya alışarak verdiği tepkinin azalması ya da yok olmasıdır. Sensitizasyon (duyarlılaşma), canlıyı rahatsız eden uyarıdan sonra, rahatsızlık vermeyen ya da daha az rahatsızlık veren uyarıyla karşılaştığında beklenenden fazla yanıt görülmesidir (12).

Prosedural öğrenme (motor öğrenme, beceri): Motor öğrenmede, beceri ve alışkanlıklar ilk defa öğrenilirken bilinçli bir şekilde yapıldığı halde, öğrenildikten sonra bilinç dışı hatırlanarak gerçekleştirilir. Bir müzik aletini çalmayı öğrenmek örnek verilebilir (13).

Priming (hazırlama): Priming, aynı ya da ilgili bir uyarıyla daha önceki karşılaşmanın sonucu olarak, bu uyarıyla tekrar karşılaşıldığında uyarının tanınması, sınıflandırılması ve verilen yanıtın üretilmesinde, değişim veya iyileştirme görülmesidir (21).

KORKU BELLEĞİ

Korku, tehlikeyle başa çıkmak için doğuştan gelen ya da öğrenilmiş tepkileri yerine getirmek için bir organizmayı hazırlayan nörofizyolojik süreçler olarak tanımlanabilir (22).

Korkunun hayatta kalma çabasını kamçılayan güçlü bir duygu olması onun öğrenme ve belleğin fazlaca araştırılan bir türü olmasına yol açmıştır. Stres ve kaygı (anksiyete), korku ile yakın ilişkili kavramlardır ve korku genellikle kaygı ve strese neden olur. Korku duygusunun bir tehdide karşı gelişen tepki olarak oluşması onu anksiyete kavramından ayrı tutar. Korku belleğinin silinmesi üzerine yapılan çalışmaların genel amacı posttravmatik stres bozukluğu gibi hastalıkları tedavi etmektir (23). Korku genellikle olaya özgü ipuçları ve bağlamlar aracılığı ile oluşurken, anksiyete bu tetikleyicilerin yokluğunda da meydana gelebilir (24). Korku belleği, travmatik olaylarla bağlantılı oluştuğundan bellek türleri içinde gücü ve uzun süreli oluşu ile ayırt edilir. Başka bir benzersiz yönü neredeyse bir anda oluşup canlının yaşamı boyunca bozulmadan kalabilmesidir (25).

Korku Koşullanma

Klasik (Pavlovian) korku koşullanma modeli, memelilerin davranış psikolojisinde assosiyatif öğrenmenin basit biçimlerini incelemek için uzun süredir kullanılmaktadır. Korku koşullanma modelinde memeli, rahatsızlık veren bir uyaranla (koşulsuz uyaran) birlikte, rahatsızlık vermeyen duyusal bir uyarana (koşullu uyaran) maruz bırakılarak, zamanla rahatsızlık vermeyen koşullu uyarandan da korkmayı öğrenir (26).

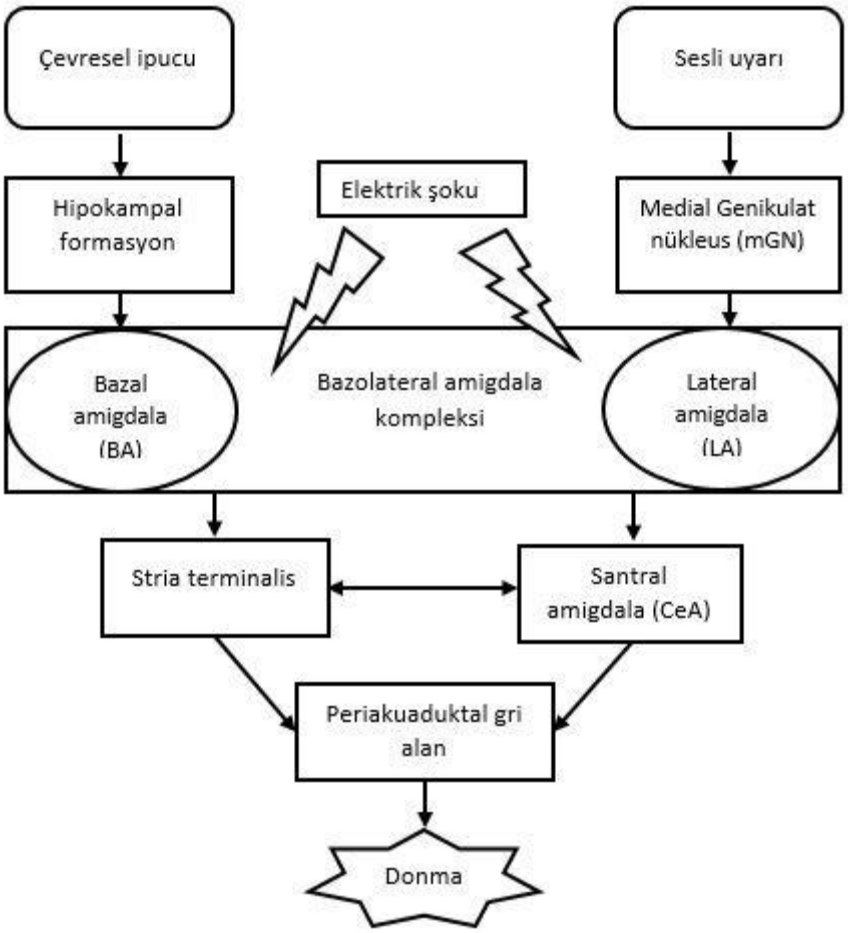
Bağlamsal korku koşullanma ve ipuçlu korku koşullanma testleri korku belleğinin değerlendirildiği iki klasik koşullanma işlemidir. İki testte de rahatsızlık vermeyen bir duyusal uyarı (koşullu uyaran) ile hayvanda strese yol açan (elektrik şoku gibi) bir uyarı (koşulsuz uyaran) eşleştirilir (23,24,27). Bağlamsal korku koşullanmada koşullu uyaran genellikle çevresel bir ipucu iken, ipuçlu korku koşullanmada koşullu uyaran genellikle ses, ışık veya kokudur (24,26).

Koşullu uyaran ve koşulsuz uyaranın tekrarlayan bir şekilde birlikte verilmesi koşullu uyaranla ilişkilendirilen korku belleğinin oluşmasını sağlar. Korku belleği oluşan hayvanın, koşulsuz uyaranın ortadan kaldırılıp sadece koşullu uyarana maruz bırakıldığında da korku tepkileri verdiği gözlemlenir. Bu tepkiler rodentlere özgü savunma tepkisi olan hareketsiz kalma (donma) davranışı ile birlikte kalp atış hızı, kan basıncı, defekasyon sıklığında ve stres hormon seviyelerindeki artış gibi otonomik ve endokrin yanıtlardır (24,26).

Korku koşullanma testleri ile incelen korku belleği edinim (*acquistion*), pekiştirme (*consolidation*) ve sönme (*extinction*) olmak üzere 3 farklı aşamadan oluşur (28,29). Edinim

aşamasında bağlam ve şok birbiri ile eşleştirilerek korku belleği oluşturulur. Pekiştirme aşaması edinimden sonra denekler kafeslerine döndüğünde gerçekleşir. Denekler aynı bağlamla şok olmadan tekrar karşılaştıklarında korku belleği ya tekrar pekiştirilir (*reconsolidation*) ya da unutulur (söner). Genel olarak şok olmaksızın, bağlama kısa süreli maruziyet korku belleğinin tekrar pekiştirilmesine, uzun süreli maruziyet ise bağlam için yeni bir bellek üretilerek korku belleğinin sönmesine neden olur (29,30).

Korku belleği oluşmasında rol alan birincil beyin bölgesi lateral ve bazal (bazolateral ve bazomedial nükleuslar) nükleusları içeren bazolateral amigdala kompleksidir (22,31). Diğer önde gelen beyin bölgeleri hipokampüs, medial genikulat nukleus (mGN), anterior singulat korteks ve ventral periakuaduktal gri alandır (vPAG) (31). Bağlamsal korku koşullanmanın hipokampüs bağımlı gerçekleştiğine dair güçlü kanıtlar varken, ipuçlu korku koşullanma amigdala bağımlıdır (32).



Şekil 2. Klasik korku koşullanmanın basitleştirilmiş sinirsel devreleri (31)

Bağlamsal korku koşullanmada bağlama (koşullu uyaran) ait bilgiler hipokampal formasyon aracılığı ile koşulsuz uyarana (elektriksel şok) ait bilgilerin eşleştirildiği amigdalanın bazal çekirdeğine (BA) iletilir. İpuçlu (işitsel) korku koşullanmada ise işitilen sesli uyarana (koşullu uyaran) ait bilgiler mGN aracılığı ile koşulsuz uyaran (elektriksel şok) ile ilgili bilgilerin eşleştirildiği amigdalanın lateral çekirdeğine (LA) iletilir. BA ve LA'ya gelen bağlamsal ve ipuçlu korku koşullanmaya ait bilgiler, Bazolateral amigdala kompleksinde işlenip filtrelenir ve stria terminalise ve amigdalanın korku yanıtını kontrol eden çıkış çekirdeği olan santral nükleusuna (CeA) geçer (31). LA, CeA ile doğrudan ya da aradaki interkalat hücreleri aracılığı ile ve hipokampüsten gelen bağlama ait bilgilerin eşleştirildiği BA aracılığı ile iletişim kurar (28). CeA'ya gelen bilgi korkunun sempatik yanıtlarını düzenleyen lateral hipotalamusa ve donma yanıtını düzenleyen orta beyindeki periakuaduktal gri alana projeksiyon yapar (23). Sonuç olarak korku yanıtı olan donma periakuaduktal gri alan yönetiminde oluşur (Şekil 2) (23,31).

Hipokampüsün kendi içindeki, iletişim ağında CA1 piramidal hücrelerinin apikal dendritlerine veri, CA3 hücrelerinden Schaeffer kollateralleri ile iletilir. CA3 hücreleri, dentat girusun (DG) granül hücrelerinin aksonları tarafından aktive edilir (23). Hipokampüsün çeşitli alt bölgeleri (CA1 ve CA3 alanları) ile amigdala arasındaki iletişim ise ventroangular yolak veya entorinal korteks aracılığı ile gerçekleşir. Amigdalanın santral çekirdeği ve hipokampüs ventromedial prefrontal korteksin infralimlik ve prelimbik yapılarıyla bağlantı kurar. Prelimbik yapılar korku belleğinin öğrenilmesi ve konsolidasyonundan sorumlu iken, infralimbik yapılar korku belleğinin sönme/unutulmasından sorumludur (23).

Bağlamsal korku koşullanmada, hayvanda koşullu uyaran ve koşulsuz uyaranın birlikte uygulanması ile elde edilen yanıtın (korku tepkilerinin), koşullu uyaranın koşulsuz uyaran olmadan tek başına günler ya da haftalar boyunca tekrar edilmesi ile azalması veya yok olması korkunun sönmesi olarak tanımlanır (23). Korkunun sönmesi için hipokampüs, bazolateral amigdala ve/veya infralimbik mPFC' de glutamat-N-metil D-aspartat (NMDA) reseptörü aracılı plastisite gereklidir (23,33,34). Sönmenin bellekte konsolidasyonu ise aynı bölgelerde test sonrası protein sentezini gerektirir (23).

Korku belleğinin geri çağırılması hipokampüsü gerekli kılan, kendi içinde karmaşık bir süreçtir. İnfralimbik alana ek olarak kortikal ve subkortikal yapıların da katıldığı sistemde, alfa-amino-3-hidroksil-5-metil-4-isoksazolepropionik asid (AMPA) reseptör aktivitesi ve protein sentezi gereklidir (23). Cho ve Kim (35) tarafından yapılan çalışmanın sonuçları bağlamsal korku belleğinin edinilmesinin ve geri çağrılmasının, hipokampüs, amigdala ve mPFC arasında

koordinasyona sahip bir sinirsel iletişim gerektirdiğini göstermiştir. Hipokampüsün bağlam ipuçlarını kodladığına, amigdalanın koşullu uyaran ile koşulsuz uyaran arasındaki ilişkileri depoladığına ve mPFC'nin savunma tepkisinin bu bağlamın karakterine uyup uymayacağının değerlendirmesini yaptığına işaret etmektedir.

Korku Belleğinde Rol Alan Belirleyici Nörotransmiterler

Korku belleğinin oluşması, sönmesi ve yeniden oluşmasında rol alan ana eksitatör nörotransmiter glutamat, ana inhibitör nörotransmiter gama aminobutirik asiddir (GABA) (23).

Amigdala ve hipokampüsteki $GABA_A$ reseptörleri korku belleğinin edinilmesi ve konsolide edilmesinde rol oynamaktadır. GABAerjik transmisyonu artıran ilaçlar korku belleği eğitimleri öncesi veya sonrası uygulandığında korku yanıtlarının azalmasına yol açmaktadır. (36).

Kim ve arkadaşları (37) yaptıkları çalışmada LA'ya metabotropik glutamat reseptörü 1 ($mGluR_1$) blokörü CPCCOEt enjekte edildiğinde, bu ajanın korku koşullanmadan 48 saat sonra doza bağımlı olarak hem uzun dönem hem de kısa dönem sönmeyi inhibe ettiğini göstermişlerdir. Ancak korku koşullanmadan 2 saat sonra test edildiğinde sönmede bir değişikliğe yol açmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada ayrıca CPCCOEt enjeksiyonun korku öğrenimini etkilememesi $mGluR_1$ aktivitesinin korku öğreniminden daha çok korkunun sönmesinin altında yatan mekanizmalarla ilişkili olduğunu düşündürmüştür.

Başka bir çalışmada spesifik metabotropik glutamat reseptörü 5 ($mGluR_5$) antagonisti 2-metil-6-(feniletinil)-piridin'in (MPEP) amigdalaya enjeksiyonunun doza bağımlı olarak korku koşullanma edinimini bozduğu gösterilmiştir (38).

Korku belleği üzerinde adrenerjik ve noradrenerjik etkiler

Noradrenalinin bazolateral amigdala üzerinde korku belleğini stimüle edici ve fizyolojik olarak bellek modülasyonunu kolaylaştırıcı rolü olduğunu gösteren güçlü kanıtlar mevcuttur. Yapılan çalışmalarda vagal stimülasyonun bazolateral amigdala ve olasılıkla hipokampüste noradrenalin salıverilmesini tetikleyerek korku motiveli olayların konsolidasyonunda rolü olduğu bulunmuştur (23). Başka bir çalışmada ise epinefrin sentezleyemeyen farelerde, normal farelere göre bağlamsal korku yanıtlarının azaldığı, ipuçlu korku yanıtlarının ise değişmediği gösterilmiştir (39).

Korku belleği üzerinde dopaminerjik etkiler

Son yıllarda dopaminin bazolateral amigdala ve hipokampüste bulunan dopamin reseptörü 1 (D_1) ve dopamin reseptörü 5 (D_5) aracılığı ile korku aracılı öğrenme ve diğer

davranışları konsolide ettiği gösterilmiştir (23). Sarinana ve arkadaşları (27) DG'de D_1 reseptörünü eksprese edemeyen *knock-out* (geni silinmiş) farelerin bağlamsal korku koşullanmanın konsolidasyonunda başarısız olurken, D_5'i eksprese edemeyenlerin başarılı olduğunu göstermişlerdir. Ratlarda yapılan başka bir çalışmanın sonucunda da hipokampal D_1 reseptörünün korku koşullanmanın sönmesinde rolü olduğu fakat D_5 reseptörünün rolü olmadığı bildirilmiştir (40).

Korku belleği üzerinde kolinerjik etkiler

Muskarinik reseptör antagonisti skopolamin genellikle bellek bozukluğu modeli oluşturmak için demans çalışmalarında kullanılır. Korku belleği üzerinde muskarinik etkilere bakıldığında hipokampüs ve bazolateral amigdalada bulunan muskarinik 1 (m1) reseptörünün etkili olduğu görülmüştür (23).

Hipokampüsün yapısında bulunan basket hücreleri, nikotinik reseptörler aracılığı ile dendiritik piramidal hücreleri inhibe eder. Bu inhibisyonun, hipokampal korku öğrenimi sırasında yetersiz ya da kafa karıştırıcı uyarıların dışlanmasında rolü olduğu savunulmuştur. Bu mekanizma ayrıca korku öğrenimi ve sönmesi sırasında amigdala ve prefrontal korteks arasında bilgi akışının sağlanmasında hipokampüsün rolünü açıklayabilir. CA1 bölgesinde bulunan nikotinik reseptörlerin, piramidal nöronlar üzerindeki alfa-7 nikotinik reseptörler aracılığı ile uzun süreli potansiyalizasyonu (LTP) kolaylaştırıcı etkisi olduğu bilinmektedir (23,41).

Muskarinik veya nikotinik agonist ve antagonistlerin kullanıldığı çalışmalarda muskarinik aktivasyonun ve nikotinik agonistlerin bağlamsal korku koşullanmasını ve korku sönmesini geliştirdiği gösterilmiştir. Ancak nikotinik antagonistlerin etkisinin reseptör alt tipine ve uygulandığı zamana göre değişiklik gösterdiği bildirilmiştir (42).

Korku belleği üzerinde histamin ve serotoninin etkisi

Histamin bellek oluşumunda önemli modülatör etkilere sahiptir. Histaminin korku belleği üzerine etkilerinin incelendiği çalışmaların çoğunda beyne enjekte edilen histamin ve histamin agonist ve antagonistlerinin endojen histaminin etkilerini artırarak belleğin konsolide edilmesini düzenlediği keşfedilmiştir. Çalışmaların sonuçlarına göre farklı beyin bölgelerinde farklı reseptörlere bağlanan histamin, korku koşullanma ve sönmenin farklı formlarını artırır (23).

Serotonerjik sistem ve korku süreçleri ile ilgili yapılan çalışmalarda serotonin reseptörü 2A (5-HT_{2A}) üzerinden anksiyojenik etki gösterip korku öğrenimini artırırken; serotonin

reseptörü 1A (5-HT_{1A}) üzerinden anksiyolitik etki gösterip bağlamsal ve ipuçlu korku koşullanmayı azalttığı belirtilmiştir (23,43).

Kim ve arkadaşları (44) korku koşullanma testindeki farelerin anterior singulat korteksine tek başına serotonin ya da dopaminle birlikte serotonin verildiğinde donma davranışının azaldığını, tek başına dopamin verildiğinde ise donma davranışının azalmadığını gözlemlemişlerdir.

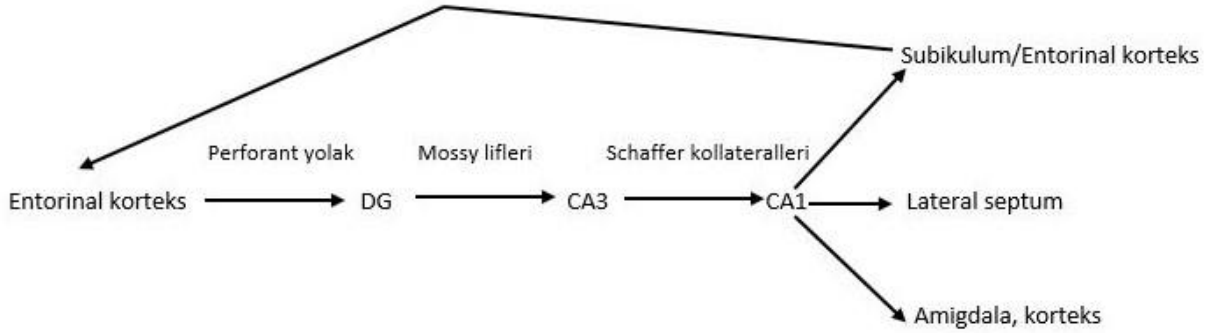
Hipokampüs Yapısı ve Korku Belleğindeki Fonksiyonu

Hipokampüs limbik sistemin içinde incelenmekte olup, şekil olarak deniz atına benzerliğinden dolayı Yunanca hipokampüs (*hippos*: at, *kampos*: deniz) adını almıştır. Dış yüzünün, koç boynuzları şeklinde boynuzları olan eski Mısır tanrısı Ammon'a benzetilmesinden dolayı, *Cornu Ammonis* olarak adlandırılmış ve bu ismin baş harflerinin kısaltması olan CA harfleri hipokampüsün bölümlerinin sınıflandırılmasında kullanılmıştır (45,46).

Hipokampal sistem, hipokampal formasyon ve parahipokampal yapılardan oluşur. Hipokampal formasyon DG, hipokampüs CA1, CA2, CA3 alanları ve subikulumdan oluşurken, parahipokampal veya diğer adıyla retrohipokampal alan ise peririnal, postrinal, entorinal, presubikular ve parasubikular kortekslerden oluşur (47).

CA alanlarının başlıca nöronları hipokampal nöronların %90'ını oluşturan piramidal nöronlardır (46). DG ve CA3 hipokampüse bilginin girdiği temel noktalar iken CA1 bilginin çıkış yaptığı noktadır. Hipokampüsün içinde bilginin giriş yaptığı DG'nin granül hücrelerinden CA3'e ve CA3'ün piramidal hücrelerinden hipokampüsü terk ettiği CA1'e bilgi akışının gerçekleştiği trisinaptik bir döngü vardır (47,48). Temel çıkış noktası CA1'in piramidal nöronlarının aksonları glutamaterjiktir (46). Bilginin CA1 den sonraki yönü dorsal CA1'den subikulum ve entorinal kortekse, ventral CA1 den mPFC, nükleus akumbens ve amigdalaya ulaşacak şekildedir (48). Bilgi entorinal korteksten medial ve lateral yolaklarla DG'ye, DG'den *mossy* lifleri aracılığı ile CA3'e ulaşmaktadır. CA3 alanına gelen bilgi ise Schaffer kollateralleri ile CA1 alanına oradan da subikuluma ulaşmakta ve tekrar entorinal kortekse dönmektedir (Şekil 3) (49).

Dorsal hipokampüste yer alan hücreler bağlamsal korku koşullanmada bağlamla ilgili yanıtın oluşması, birleştirilmesi ve depolanmasında rol oynar. Subikulumdan nükleus akumbense yapılan projeksiyonlar bağlamın karakterini ortaya koymak için gerekli bilgiyi düzenler (50).



Şekil 3. Uyarının hipokampüs içinde ilerleyerek çıkış yaptığı yapılar ve aracılık eden aferent yollar (46)

Sutherland ve Rudy (51) asosiyatif öğrenme ve belleğin hipokampüsle ilişkisini açıklamaya çalışmışlardır. Bağlamlar kısmen mekansal olarak tanımlanmıştır ve mekansal bağlamın işlenmesi hipokampüse bağlıdır (50,51). Daha sonra bu öngörüyü doğrulayan çalışmalar yapılmıştır. Hipokampüsün bağlamsal korku koşullanmada esansiyel olduğu, dorsal hipokampüs lezyonu olan deney grubunda bağlamsal korku koşullanma testlerinde donma yanıtının azalması, ipuçlu korku koşullanma testlerinde ise donma yanıtının değişmemesi ile ortaya konmuştur. Aynı deneyde amigdala lezyonu varlığında hem ipucu hem de bağlamla ilişkili donma davranışının bozulduğu gösterilmiştir (50,52).

Amigdala Yapısı ve Korku Belleğindeki Fonksiyonu

Yunanca badem anlamına gelen amigdala insan ve diğer birçok memelide medial temporal loblarda yer alan korku belleğinin temel nöroanatomik devresi içinde bulunan şekil olarak bademe benzeyen yapıdır. Korku koşullanmadaki rolü dışında genel olarak duygusal davranışların yönetilmesinden sorumludur (53). Kendi içinde lateral, bazal (bazolateral ve bazomedial çekirdekler) ve santral nükleuslardan ve interkalat hücrelerden oluşur (22). Talamus ve korteksten gelen koşullu uyaran sinyalleri ve koşulsuz uyaranın somatosensör talamus ile primer ve sekonder somatosensör kortekse olan yansıması amigdalanın lateral çekirdeğinden giriş yapar. Aynı bölgelerden geçen koşullu uyaran ve koşulsuz uyaran yansımaları hipokampüsün bellekle ilişkili bölgeleri olan anterior singulat korteks ve anterior insulada da sonlanır. CeA hem doğrudan, hem de BA aracılığı ile dolaylı olarak LA'dan bilgi alır (54).

Santral nükleus amigdalanın ana çıkış çekirdeğidir ve beynin çeşitli bölgelerine (örneğin, stres hormonlarını aktive etmek için stria terminalise, donma tepkisi için periakuaduktal gri alana, sempatik aktivasyon için lateral hipotalamusa) çıktılar göndererek korku yanıtlarının oluşmasını sağlar (55).

NÖROTENSİN

Nörotensin 1973 yılında ilk olarak sığır hipotalamusundan izole edilen endojen bir peptiddir (9). Merkezi sinir sisteminde ve gastrointestinal sistemde yaygın olarak bulunan, dopaminerjik sistem ve diğer nörotransmiter sistemlerde ilişkilendirilen 13 amino asitli bir peptid olup nörotransmiter/nöromodülatör olarak işlev gördüğünü destekleyen kanıtlar mevcuttur (3,10). Nörotensin sisteminin özellikle dopamin reseptörü 2 (D_2) ile limbik ve striatal alanlarda iletişimi olduğu bilinmektedir (3,9). NT reseptörü ile D_2'nin arasındaki allosterik etkileşim D_2'nin agonist bağlayan bölgelerinde afiniteyi azaltarak güçlü antagonistik modülasyon yönündedir (56,57). NT ve dopaminerjik sistem arasındaki bu etkileşim, NT'nin Huntington, Parkinson ve şizofreni gibi hastalıklarda rolü olan bir endojen nöroleptik olabileceği sonucunu doğurmuştur (9,56). Dopamin regülasyonunda etkisi olan endojen NT'nin ön hipofiz hormonlarının sekresyonu, gastrointestinal sistem motilitesi, termoregülasyon, nosisepsiyon, kas gevşemesi, motor aktivite, bellek ve öğrenme üzerinde rol oynadığı bilinmektedir (4,6,9).

Santral sinir sisteminde nörotensinin etkilerine aracılık eden iyi karakterize edilmiş en az üç farklı reseptör bulunmaktadır (9).

1. NTRH veya NTS_1: NT'ye yüksek afitine gösteren, histamin 1 reseptör antagonisti levokobastine duyarsız olan reseptör (9,58).
2. NTRL veya NTS_2: NT'ye düşük afinite gösteren, levokobastine duyarlı olan reseptör (9,59).
3. NTS_3: İntrasellüler yerleşimli NT reseptörü (9,60).

Nörotensin reseptörü 1 ve Nörotensin reseptörü 2 her ikisi de G proteini kenetli 7 transmembranal reseptörlerdir. NTS_3 ise membranı bir kez geçen transmembranal bir reseptördür (10,60). İyi karakterize edilmiş bu üç reseptöre ek olarak hücre içi bir NT reseptörünün (NTS_4/SorLA) daha varlığı ileri sürülmüştür. NTS_4 reseptörünün fizyolojik rolü hakkında çok az şey bilinmektedir (9,10). NTS_1 ve NTS_2'nin farelerde eksprese olduğu dokular, NTS_3'ün santral sinir sisteminde eksprese olduğu bölgeler, agonist ve antagonistleri ve reseptör sınıfları Tablo 1'de, reseptör tipleri ve ikinci ulak sistemleri Tablo 2'de özetlenmiştir.

Nörotensin reseptörleri arasında, en yaygın olarak çalışılan NTS_1, bilinen nörotensin etkilerinin çoğuna aracılık eder ve ilginç bir terapötik hedef potansiyeli taşımaktadır (61).

Nörotensinin, NMDA aracılı glutamat eksitotoksisitesi ve mezensefalon ile kortikal bölgelerdeki dopaminerjik nöronların dejenerasyonuna yol açtığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (62-64). Parkinson hastalığında glutamat nörotransmisyonunun artışı ve

dopaminerjik nöronların nörodejenerasyonundan bazal gangliyon ve beyin korteksinde NT seviyelerindeki artışın kısmen sorumlu olduğu söylenebilir (62,63). .

Santral sinir sistemine uygulanan NT analogları hipotermi ve analjeziyi indüklemektedir (10). NT koşullara bağlı olarak derin bir analjezi oluşturabilir veya ağrı yanıtlarını artırabilir. Son kanıtlara göre bunun sebebi ağrıyı modüle eden nöronların doza bağlı olarak etkilenmesidir. NT geni silinmiş fareler hem bazal nosiseptif tepkilerde hem stres kaynaklı analjezide bozulmalar gösterir. Stres kaynaklı antinosisepsiyon gösterememeleri, aksine stresin hiperaljeziye neden olması, NT'nin stres kaynaklı ağrının baskılanmasında kilit rol oynadığını göstermektedir (65). NT'nin ağrı modülasyonunda büyük rolü olduğuna dair güçlü kanıtlar bulunmaktadır. Opioidler gibi güçlü antinosiseptif maddelerle kombine edilerek daha az yan etki potansiyeline sahip sinerjistik etkili bileşikler elde edilmesi mümkün olabilir (9).

Tablo 1. NTS1, NTS2 ve NTS3'ün reseptör sınıflandırması, eksprese edildiği dokular ve agonist-antagonistleri (7,66,67)

Reseptör Adı	Reseptör sınıfı	Eksprese olduğu dokular	Agonistleri	Antagonistleri
NTS_1	G proteini ile kenetli 7 transmembranal reseptör	Beyin sapı, Serebellum, Serebral korteks, Hipokampüs, Amigdala, Hipotalamus, Olfaktör bulbus, Striatum, Retina, Göz dokuları, Beyaz yağ dokusu	NT, JMV449, EISAI-2, EISAI-1, JMV458, JMV457, Nöromedin N, JMV2004, JMV431, ABS-201, KH28, ABS-212, Thr^{10}kontulakin-G, Kontulakin G, PD149163	[^{3}H]meklinertant Meklinertant SR48527 SR142948A SR48692
NTS_2	G proteini ile kenetli 7 transmembranal reseptör	Beyin sapı, Serebellum Serebral korteks, Hipokampüs, Amigdala, Hipotalamus, Olfaktör bulbus, Hipofiz bezi, Striatum, Retina, Diğer göz dokuları, Tiroid/Paratiroid, Vena kava, Atriyum, Cilt Ventrikül, Akciğer, Kahverengi yağ dokusu, İskelet kasları, Beyaz yağ dokusu, Adipositler,Testisler,	JMV431, JMV458, JMV2004, JMV457, Levokobastin, Meklinertant, Ksenin, Neuromedin N, Thr^{10}kontulakin-G, Kontulakin-G, Trp^{11}-neurotensin	SR48692
NTS_3	Tip 1 aminoasit tek transmembran reseptör	Hipokampüs, DG, Serebral korteks, Piriformda nöronal hücre gövdeleri ve dendritler, Korteks, Neokortikal bölgeler, Septum, Amigdala, Talamus, Supraoptik çekirdek, Substantia nigra, Tüm kranyal sinir motor çekirdeği.	NT, Nöromedin N, D-Trp_{11}-NT, Ksenin, NT8-13, Reseptörle ilişkili protein (RAP), Lipoprotein Lipaz (LpL), ProNGF	Furin tarafından parçalanmış propeptid, SR48692 (muhtemel)

Tablo 2. Nörotensin reseptör tipleri ve ikinci ulak sistemleri (7)

Reseptör Adı	İkinci ulak sistemi
NTS_1	Fosfolipaz C (PLC), İnozitoltrifosfat (IP_3) ve cAMP, IP_3 ve cGMP, Na^+, K^+ ATPaz
NTS_2	Ca^{+2} immobilizasyonu ile İnozitolfosfat (IP) oluşumu, Araşidonik asit ve Mitojenle aktive edilmiş protein kinaz (MAPK), cAMP, PLC ve IP_3
NTS_3	Mürin ya da insan mikroglial hücre kültürlerinde Fosfotidilinozitol 3 kinaz ve mitojenle aktive edilmiş protein kinaz

Nörotensinin sindirim davranışını düzenlediği ve sıçanlarda farklı beyin bölgelerine enjekte edildiğinde gıda alımını azalttığı gösterilmiştir (10,68).

Nörotensin reseptörü 1 agonisti PD149163'ün farelerde bazal lokomotor aktivite ve dopamin reseptörleri aracılığıyla indüklenen lokomotor aktivite üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmanın sonuçları, PD149163'ün bazal ve dopamin reseptörü aracılı lokomotor aktiviteyi azalttığını, mPFC'deki NTS_1 aktivasyonunun lokomotor aktiviteyi etkilemediğini, fakat *nükleus akumbens*teki NTS_1 aktivasyonunun lokomotor aktiviteyi azalttığını göstermektedir (69).

Şizofreninin patofizyolojisine limbik sistemde NT hipofonksiyonunun eşlik ettiği hipotezi öne sürülmüştür. Nörotensinin şizofreninin patolojisinde ve tedavisinde bütünleyici rol oynadığına dair birçok biyokimyasal ve klinik kanıt bulunmaktadır Önceleri hayvan çalışmalarına dayanan bu hipotez, daha sonra insan çalışmaları ile de desteklenmiştir (4). Wolf ve arkadaşları (70) tarafından yapılan otoradyografik bir çalışmada şizofrenik hastalar ile kontrol grubu karşılaştırıldığında şizofrenik hastaların entorinal korteksindeki NT reseptörlerinin %40 azaldığı gösterilmiştir (4). NT agonistleri ile yapılan çalışmalardan elde edilen kanıtların çoğu yeni antipsikotik ilaçlar olarak NT reseptör agonistlerinin geliştirilmesini destekler (7).

Tipik antipsikotik ilaç haloperidol ve atipik antipsikotik ilaç klozapinin farklı dozlarının kullanıldığı koşullu kaçınma davranışlarının ölçüldüğü bir çalışmada, PD149163'ün doza bağlı olarak koşullu kaçınma davranışını azalttığı gösterilmiştir. Haloperidolun aksine, atipik antipsikotik ilaç olan klozapinde olduğu gibi katalepsi oluşturmadığının gösterilmesi ise, PD149163'ün atipik antipisikotik ilaçların özelliklerine sahip olduğunu düşündürmektedir (71).

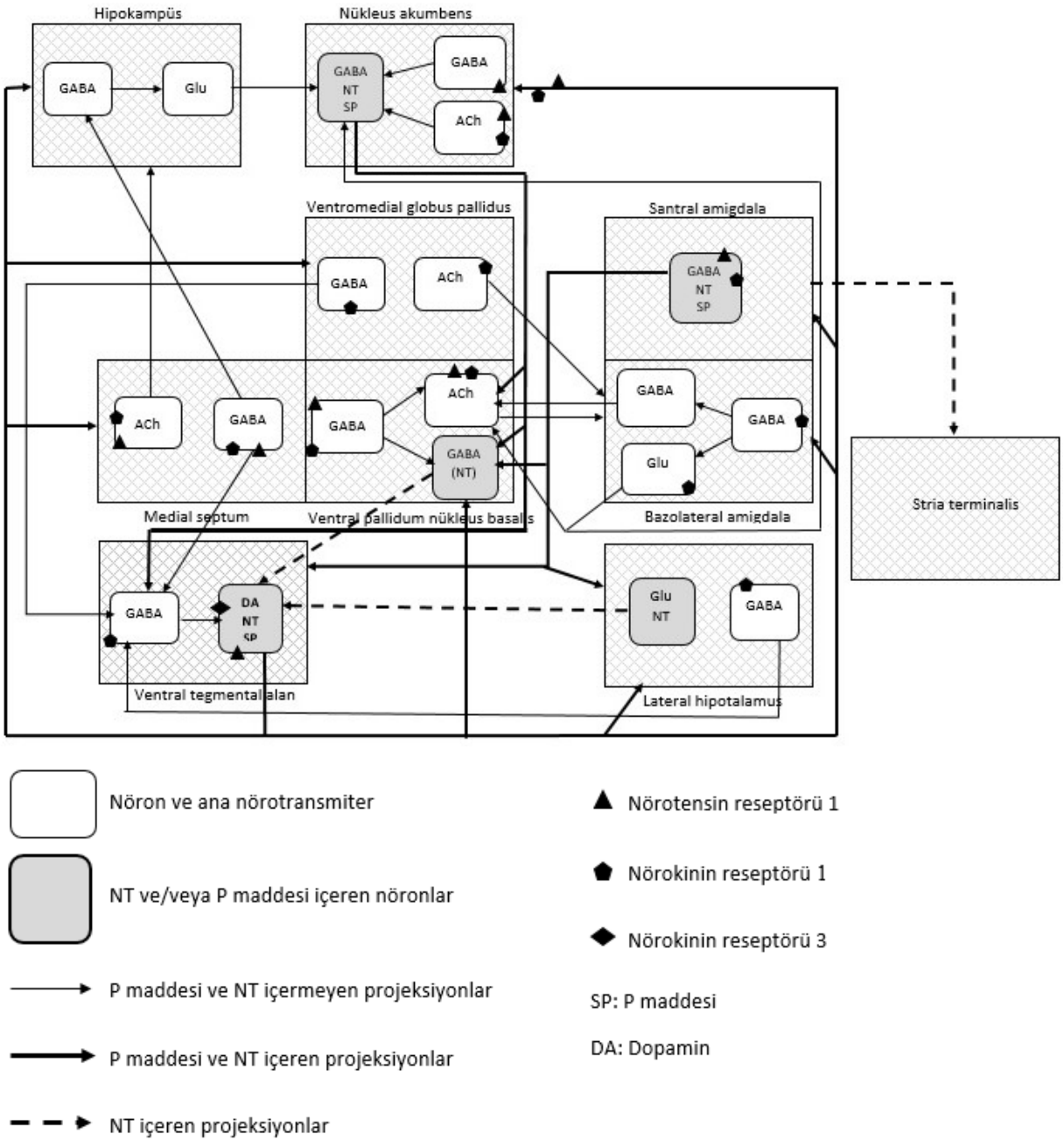
Kokain, amfetamin ve türevleri gibi psikostimulanlar, dolaylı dopamin reseptör agonistleridir. Psikostimulanlara davranışsal duyarlılığın gerçekleştiği yer esas olarak ventral tegmental alandır ve glutamat ve dopamin gibi nörotransmiterler rol oynar. Ventral tegmental

alan NT innervasyonu alır ve NT reseptörlerini yüksek derecede eksprese eder. Bu alana NT'nin mikroenjeksiyonu psikostimülanların sistemik uygulanmasında görülen akut ve uzun süreli etkilere benzer etkiler görülmesine neden olur. Ek olarak NT reseptör antagonistleriyle yapılan çalışmalar, endojen nörotensinin, psikostimulanların akut ve kronik etkilerine aracılık ettiğine ve NT reseptör antagonistlerinin ilaç bağımlılığı tedavisinde kullanılabileceğine dair kanıtlar içermektedir (72).

Nörotensin doza bağımlı olarak adrenokortikotropik hormon (ACTH) düzeylerini ve buna bağlı olarak kan glukozu ve kortikosteron düzeylerini artırır. Yine doza bağlı olarak tiroid stimule edici hormon (TSH), luteinleştirici hormon (LH) ve tetraiyodotironin'in (T4) düzeylerini düşürür. Bu etkilerine hipotalamik tirotiropin salıverici hormon (TRH) ve ACTH üzerine etkilerinin aracılık ettiği düşünülmüştür (4,73-76).

Hipotalamusta NT mRNA seviyelerinin yükselmesi ya da mezotelensefalik dopaminerjik sistemde NT artışı akut strese cevap olarak gözlenmektedir (72,77). Periventriküler nükleus ve amigdalanın santral çekirdeğini de içeren bazı bölgelerde kortikosteronun NT mRNA ekspresyonunun düzenlenmesinde rolü olduğu bilinmektedir (72,78,79). Kronik stres modelinde kortikotropin salıverici hormonu (CRF) fazla eksprese eden farelerde limbik yapılardaki NTS_1 reseptörünün *down-regülasyonu,* NT ile hipotalamus-hipofiz-adrenal (HPA) aksı arasında ilişki olduğunu göstermektedir (72,80). Bu konudaki sonuçlar birlikte ele alındığında, NT'nin HPA aksının düzenlemesinde rolü olduğunu ve NTS_1 selektif antagonistlerin stres karşıtı maddeler olarak kullanılabileceğini desteklemektedir (72).

P maddesi, nörotensin gibi merkezi sinir sisteminde nörotransmiter veya nöromodülatör olarak görev yapan bir nörokinindir. Santral sinir sisteminde, termoregülasyon, gıda alımı, öğrenme, bellek ve anksiyete rol aldığı süreçler arasında sayılabilir. Etkilerine aracılık eden reseptörlerinden biri nörokinin reseptörü 1 (NK_1) 'dir. Limbik sistemde nörotensin ve P maddesinin yolakları ve ilişkili reseptörleri tanımlanmıştır (Şekil 4). Yapılan çalışmalarda NT ve P maddesinin limbik sistemdeki bazı yapılar üzerinde belleği ve bellek konsolidasyonunu kolaylaştıcı etkileri olduğuna dair kanıtlar sunulmuştur. Korku belleğinde de rol alan limbik sistem yapıları olan, CeA ve bazolateral amigdala ile hipokampüs arasında nörotensin içeren projeksiyonlar olduğu, CeA'dan donma yanıtına aracılık eden stria terminalise ve korkunun sempatik yanıtlarına aracılık eden lateral hipotalamusa nörotensinerjik eferent liflerle projeksiyonlar yapıldığı gösterilmiştir (81).



Şekil 4. NT ve P maddesinin limbik sistemdeki varsayımsal yolakları (Lenar L.ve ark. (81)'den uyarlanmıştır)

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 30.06.2017 tarih ve 2017/06 sayılı oturumda 2017.06.04 karar numarası ile onaylandı (Ek-1). İyi Laboratuvar Uygulamaları Kılavuzu ve Hayvan Etiği Evrensel İlkelerine uygun olarak, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Davranış Laboratuvarında gerçekleştirildi. Bu çalışma Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından TÜBAP-2018/44 kayıt numarası ile desteklenmiştir.

DENEKLER

Çalışmada 20-40 gram ağırlığında Balb/c türü 2-3 aylık, erkek fareler kullanıldı. Deney hayvanları uyum sağlamaları için deney prosedüründen bir hafta önce deneyin yapılacağı Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na getirildi. Hayvan refahına uygun olarak havalandırma, ısıtma-soğutma sistemine sahip olan, 12 saat aydınlık/ 12 saat karanlık döngünün otomatik ayarlandığı ve nem takibi yapılan bir odada, her kafeste 6 fare olacak şekilde barındırıldı. Beslenmeleri için standart fare yemi ve içme suyu, miktarında herhangi kısıtlama olmaksızın kullanıldı.

DENEY PLANI VE GRUPLAR

Çalışmada kullanılan fareler her grup 6 fareden oluşacak şekilde 28 grupta toplandı. Fareler çalışmaya alınmadan önce tartılıp ağırlıkları kaydedildi ve toksik olmayan bir boya ile kuyrukları numaralandırıldı.

Farelere rota-rod testi, bağlamsal ve ipuçlu korku koşullanma testleri uygulandı. Deney gruplarına uygun olarak farelere deneyin ya birinci ya da ikinci günü farklı dozlarda nörotensin

reseptör agonisti PD149163 (0,25, 1, 4 mg/kg) ve nörotensin reseptör antagonisti SR142948 (0,1, 1, 3 mg/kg) ya da çözücü intraperitonal (i.p.) yolla uygulandı. Deneyler enjeksiyondan 30 dakika sonra yapıldı. Bağlamsal korku koşullanma ve ipuçlu korku koşullanma testlerinin ikinci gününde enjeksiyon olsun olmasın fareler, sirkadiyen ritmleri dikkate alınarak birinci gün teste alındıkları saatte ikinci gün teste alındılar. Deney protokolü tamamlandıktan sonra farelere ötenazi uygulandı.

Deney sırasında enjeksiyonlar sonrası yaşanan hayvan kayıpları yerine yeni denekler alınarak giderildi. Bağlamsal korku koşullanma testi ve ipuçlu korku koşullanma testinde gruplara uygulanan enjeksiyonlar Tablo 3 ve Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Bağlamsal korku koşullanma testlerinde uygulanan enjeksiyonlar

Bağlamsal korku koşullanma		
Gruplar	**Enjeksiyonlar**	
	1. Gün	**2. Gün**
Grup 1	Çözücü	–
Grup 2	–	Çözücü
Grup 3	0,25 mg/kg PD149163	–
Grup 4	1 mg/kg PD149163	–
Grup 5	4 mg/kg PD149163	–
Grup 6	–	0,25 mg/kg PD149163
Grup 7	–	1 mg/kg PD149163
Grup 8	–	4 mg/kg PD149163
Grup 9	0,1 mg/kg SR142948	–
Grup 10	1 mg/kg SR142948	–
Grup 11	3 mg/kg SR142948	–
Grup 12	–	0,1 mg/kg SR142948
Grup 13	–	1 mg/kg SR142948
Grup 14	–	3 mg/kg SR142948

Tablo 4. İpuçlu korku koşullanma testlerinde uygulanan enjeksiyonlar

İpuçlu korku koşullanma		
Gruplar	**Enjeksiyonlar**	
	1. Gün	**2. Gün**
Grup 15	Çözücü	–
Grup 16	–	Çözücü
Grup 17	0,25 mg/kg PD149163	–
Grup 18	1 mg/kg PD149163	–
Grup 19	4 mg/kg PD149163	–
Grup 20	–	0,25 mg/kg PD149163
Grup 21	–	1 mg/kg PD149163
Grup 22	–	4 mg/kg PD149163
Grup 23	0,1 mg/kg SR142948	–
Grup 24	1 mg/kg SR142948	–
Grup 25	3 mg/kg SR142948	–
Grup 26	–	0,1 mg/kg SR142948
Grup 27	–	1 mg/kg SR142948
Grup 28	–	3 mg/kg SR142948

KULLANILAN İLAÇLAR

Nörotensin reseptör agonisti PD149163 (Sigma PZ0175) 0,25 mg/kg, 1 mg/kg ve 4 mg/kg olarak üç farklı dozda ve NT reseptör antagonisti SR142948 (Sigma SML0015) 0,1 mg/kg, 1 mg/kg ve 3 mg/kg olarak üç farklı dozda seyreltilerek hazırlandı, çözücü olarak distile su kullanıldı. Vücut ağırlığı başına enjeksiyon hacimleri 0,1 ml/10 g olarak uygulandı.

FARELERE UYGULANAN DAVRANIŞ TESTLERİ

Farelerde lokomotor aktivite ve denge fonksiyonlarının değerlendirilmesi için rota-rod performans testi, korku belleğinin değerlendirilmesi için bağlamsal korku koşullanma ve ipuçlu korku koşullanma testleri uygulanmıştır.

Rota-Rod Performans Testi ile Lokomotor Aktivite ve Dengenin Değerlendirilmesi

Deneklerin motor koordinasyon ve denge fonksiyonları Rota-rod performans testi ile değerlendirilir. Rota-rod cihazında elektrik enerjisine bağlı olarak zeminden belli bir yükseklikte sabit hızda dönen bir mil vardır. Normal motor fonksiyonlara sahip deney

hayvanının bu dönen mil üzerine konduğunda belli bir süre düşmeden yürüyebilmesi ve dengede kalabilmesi beklenir. Deneyimizde May 972-A Rota Rod cihazı kullanıldı. Cihaz fareler birbirini görmeyecek şekilde aynı anda dört farenin test edilmesine olanak sağlayan tasarıma sahiptir.

Hayvanların yerleştirildiği bölmelerin genişliği 9 cm, zeminden yüksekliği 27 cm'dir. Her bölmeye bağlı olan bir zaman sayaç ekranı bulunmaktadır (Şekil 5). Hayvan dönen mile yerleştirildiğinde her bölme için zaman sayacındaki *reset* tuşuna basılarak zaman sayacı başlatılır ve hayvanın milde düşmeden kaldığı süre kaydedilir. Hayvan dönen milden düşmemek için milin dönme yönünün tersi yönünde yürümeye çalışır, hayvan milden düştüğünde zaman sayacı otomatik olarak durmaktadır.

Hayvanların deney düzeneğine ve ortama alışabilmesi önce kayıt alınmaksızın deneme testleri uygulandı. Her bir deney hayvanı toplamda en fazla 3 defa dönen milin üzerine alınarak mil üzerinde dengede kalarak 180 saniye yürüyebilmeleri beklendi. 180 saniyeyi tamamlayan hayvan düzenekten alındı. 3 defada 180 saniyeyi tamamlayamayan denekler için düşmeden yürüyebildikleri en uzun süre kaydedildi. Bu veriler ile hayvanların lokomotor aktivite ve denge fonksiyonları değerlendirildi. Düzeneğe yeni deney hayvanları yerleştirilmeden önce taban her seferinde %10'luk etanol kullanılarak temizlendi.



Şekil 5. Rota-rod cihazı

Bağlamsal Korku Koşullanma Testleri ile Korku Belleğinin Değerlendirilmesi

Bağlamsal korku koşullanma testinde hayvanda strese yol açan bir koşulsuz uyaran (elektrik şoku gibi) ile duyusal açıdan nötr olan bir uyaran (genellikle çevresel ipucu) eşleştirilir. Hayvanda korku belleği oluşturan, oluşan korku tepkisinin ölçüldüğü ve hipokampüs bağımlı korku belleğinin test edilebildiği bir davranış deneyidir.

Korku koşullanma cihazının dış kısmı, bir adet kapağı olan mat siyah renkte bir kutudur. İçinde elektrik şoku vermeyi sağlayan çelik bir ızgara üzerine oturtulan, ön yüzünde 16 cm çapında yuvarlak bir kapısı olan alt ve üst kısmı açık, 27 cm genişliğinde 27 cm derinliğinde ve 34 cm yüksekliğinde şeffaf bir kutu bulunmaktadır. Bağlamsal korku koşullanma testinde iç kısımdaki bu şeffaf kutunun etrafı çevresel ipucu oluşturmak amacıyla desenli bir kağıt ile kaplanmaktadır. Düzenek tavanda bulunan beyaz ışık ile aydınlatılmaktadır. Çelik ızgaranın alt kısmında hayvanların dışkılarının toplandığı takılıp çıkartılabilen bir çekmece mevcuttur (Şekil 6).

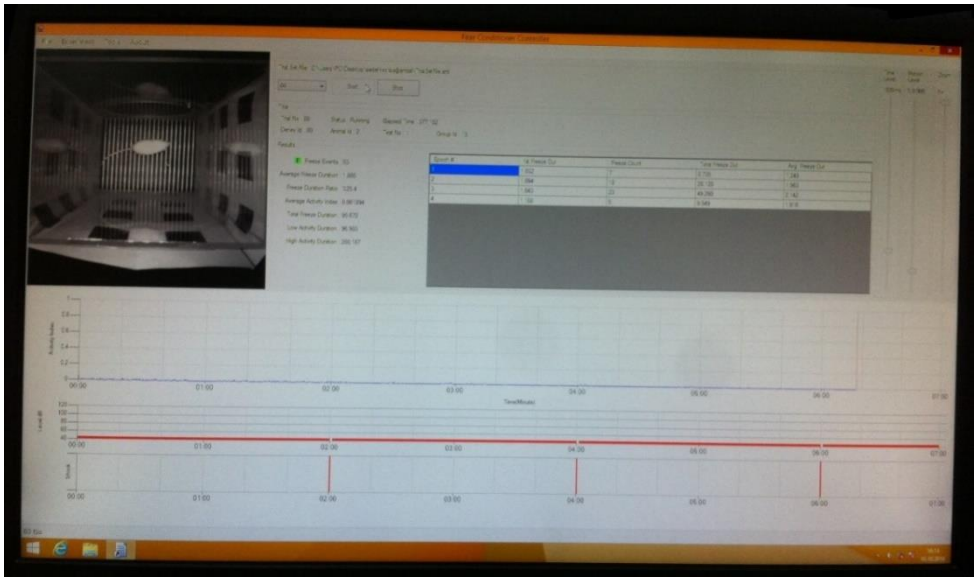


Şekil 6. Korku koşullanma cihazı dış görünüm (solda), korku koşullanma cihazı iç görünüm (sağda)

Bağlamsal korku koşullanma testi 2 günlük bir davranış testidir. İlk gün deney hayvanı, grubuna uygun olarak, testten 30 dakika önce enjeksiyon yapılarak veya enjeksiyon yapılmaksızın çevresel ipucu oluşturulan korku koşullanma cihazına alındı. Deneyin ilk gününde farelere 2., 4. ve 6. dakikalarda 0,5 mA şiddetinde ve 1 sn süre ile elektrik şoku verildi. Deneyin ilk günü bir hayvanın testi toplam 7 dakika sürdü.

Testin ikinci gününde deney hayvanı, yine grubuna uygun olarak, enjeksiyon yapılarak veya yapılmaksızın, önceki gün teste alındığı saatte tekrar teste alınarak korku koşullanma cihazında şok verilmeden 5 dakika boyunca izlendi. Testi tamamlayan deney hayvanı tekrar kafesine alındı. Deney sırasında her deney hayvanı düzenekten alındıktan sonra çelik ızgaranın alt kısmında biriken dışkılar temizlenip, yüzeyi %10'luk etanol ile silinip kurutuldu.

Deney sırasında farelerdeki donma davranışları FCS 21200-R sistemi ile kaydedildi ve toplam donma süreleri hesaplandı (Şekil 7).

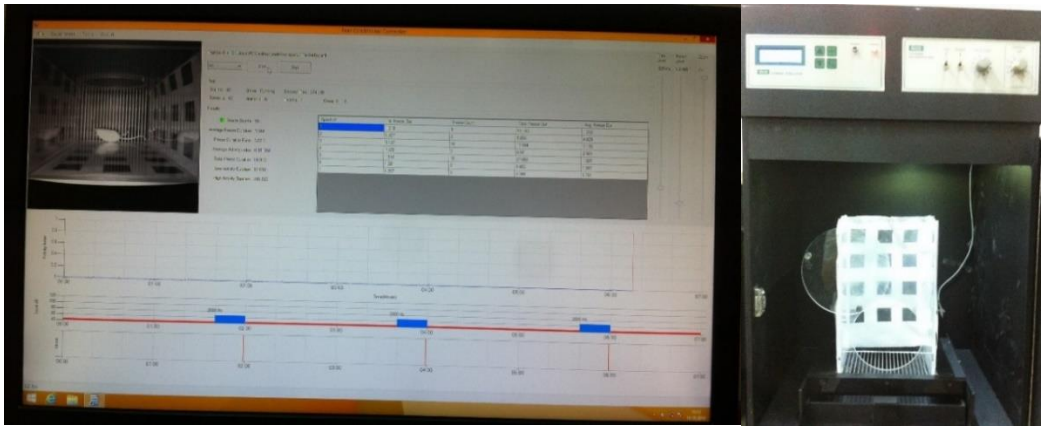


Şekil 7. Korku yanıtlarının kaydedildiği yazılım

İpuçlu Korku Koşullanma Testi ile Korku Belleğinin Değerlendirilmesi

İpuçlu korku koşullanma testi bağlamsal korku koşullanma testi ile çok benzer bir testtir. İki günlük bu davranış testinde koşulsuz uyaran olarak yine elektrik şoku gibi rahatsız edici bir uyaran kullanılırken, koşullu uyaran olarak genellikle ses kullanılmaktadır. Amigdala bağımlı korku belleğinin test edildiği bir deneydir.

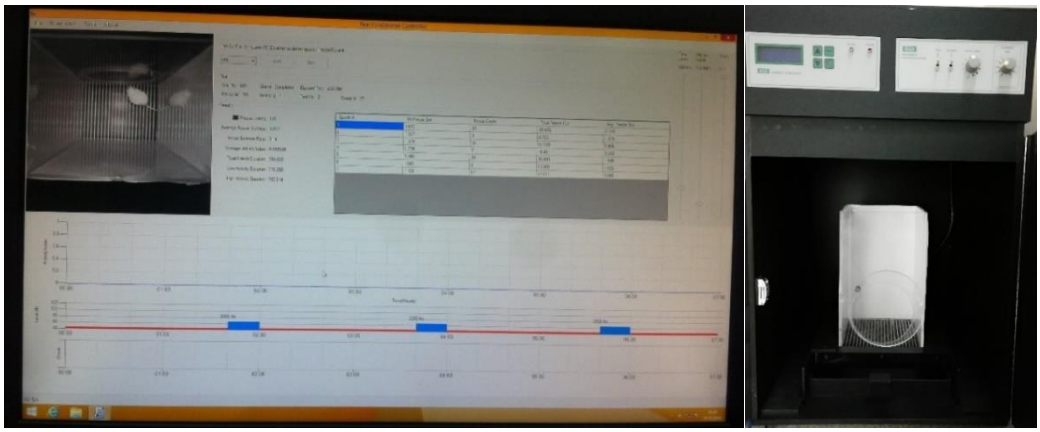
İlk gün deney hayvanı, grubuna uygun olarak enjeksiyon yapılarak veya yapılmaksızın (enjeksiyon yapıldı ise enjeksiyondan 30 dakika sonra), desenli kağıt ile çevresel ipucu oluşturulmuş şeffaf kafese alınarak 7 dakika boyunca izlendi; 7 dakikanın 2., 4. ve 6. dakikalarında 1 saniye boyunca tabandaki çelik ızgaradan 0,5 mA şiddetinde elektrik şoku uygulandı ve elektrik şokundan önceki 20 saniye boyunca 2000 Hz şiddetinde sesli uyaran verildi (Şekil 8). Son sesli uyarı ve şoktan sonra bir dakika daha içeride kalan deney hayvanı düzenekten alınarak kafesine konuldu.



Şekil 8. İpuçlu korku koşullanma testlerinin birinci gününde alınan kayıtlar (solda) ve deney düzeneği (sağda)

İkinci gün içteki şeffaf kafesin duvarları desensiz kağıt ile kaplanarak çevresel ipucu ortadan kaldırıldı. Deney hayvanı, yine grubuna uygun olarak, enjeksiyon yapılarak veya yapılmaksızın, önceki gün teste alındığı saatte teste alındı. Düzenekte kaldığı 7 dakikanın 2., 4. ve 6. dakikalarından önce 20 saniye boyunca sadece 2000 Hz şiddetinde sesli uyarı verildi (elektrik şoku verilmeksizin), 7 dakikanın sonunda hayvan kafesine alındı (Şekil 9).

Her deney hayvanından sonra düzeneğin alt kısmındaki çekmecede biriken fare dışkıları temizlenerek zemin %10'luk etanol ile silinip kurutuldu.



Şekil 9. İpuçlu korku koşullanma testlerinin ikinci gününde alınan kayıtlar (solda) ve deney düzeneği (sağda)

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Verilerin sunulmasında tanımlayıcı istatistik kullanıldı. Bağlamsal korku koşullanma ipuçlu korku koşullanma ve rota-rod testlerinden elde edilen verilerin analizinde gruplar arası, karşılaştırmalar için Kruskal Wallis ve *post hoc* Dunn testi yapıldı. Analizler Graphpad Prism 6.0 for Mac OS X yazılımında gerçekleştirildi ve $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi.

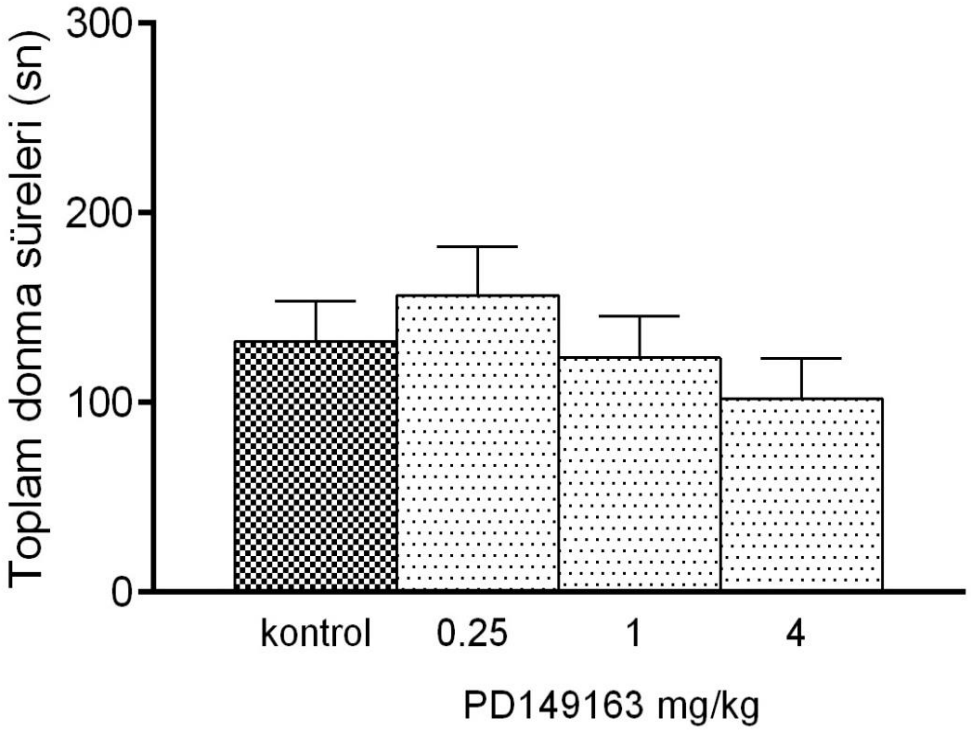
BULGULAR

Deneklere gruplarına göre sırasıyla rota-rod performans testi, bağlamsal ve ipuçlu korku koşullanma testleri uygulandı. Yirmi sekiz gruba deney planında belirtiği şekilde, grubuna uygun olarak, testlerinin birinci veya ikinci günü çözücü, farklı dozlarda NT reseptör agonisti PD149163 (0,25, 1, 4 mg/kg) veya NT reseptör antagonisti SR142948 (0,1, 1, 3 mg/kg) uygulanarak deneyler tamamlandı. Çalışmamızda elde edilen bulgular bağlamsal ve ipuçlu koşullanma testindeki yanıtlar olarak iki bölüm halinde, toplam donma süreleri üzerinden sunulacaktır. Rota- rod performans testi bulguları ise, birinci gün ve ikinci gün agonist ya da antagonist uygulanan gruplarda mil üzerinde toplam kalınan süre üzerinden değerlendirilecektir.

NÖROTENSİN RESEPTÖR AGONİSTİNİN BAĞLAMSAL KORKU KOŞULLANMA TESTİNE ETKİSİ

Bağlamsal korku koşullanma testinde, farelerin hipokampüs bağımlı korku koşullanma ve bellek fonksiyonları değerlendirilmektedir. Bağlamsal korku koşullanma testinin birinci veya ikinci gününde çözücü ve farklı dozlarda NT reseptör agonisti PD149163 (0,25, 1, 4 mg/kg) uygulanan grupların toplam donma süreleri Şekil 10 ve Şekil 11’ de gösterilmiştir.

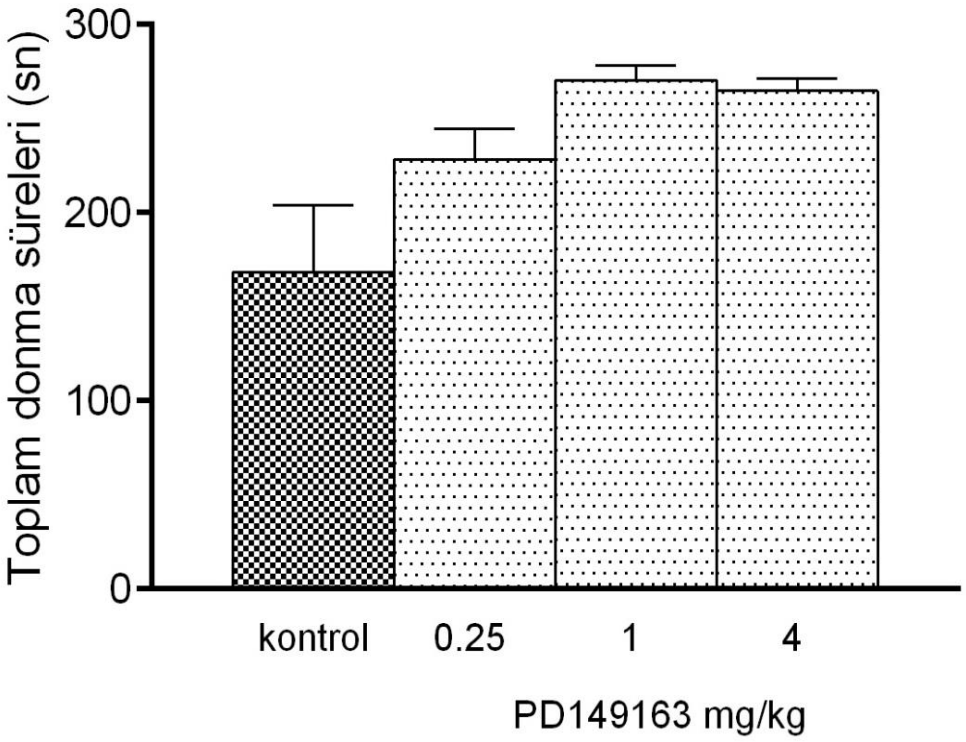
Bağlamsal korku koşullanma testinin birinci gününde NT reseptör agonisti PD149163 (0,25, 1, 4 mg/kg) uygulanan gruplarda ikinci gün ölçülen toplam donma sürelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı bir fark görülmedi (p=0,3845; Kruskal Wallis Varyans analizi) (Şekil 10).



Şekil 10. Bağlamsal korku koşullanma testinde 1. gün NT reseptör agonisti uygulanan gruplarda toplam donma süreleri

(n=6, Kruskal Wallis Varyans analizi, post hoc Dunn testi. Grafiklerdeki dikey çizgiler standart hatayı göstermektedir).

Bağlamsal korku koşullanma testinin ikinci gününde 0,25 mg/kg, 1 mg/kg ve 4 mg/kg dozlarında NT reseptör agonisti PD149163 uygulanan gruplarla çözücü uygulanan grup arasında toplam donma süreleri açısından fark olmasına rağmen bu fark istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı (p=0,0611; Kruskal Wallis Varyans analizi) (Şekil 11).



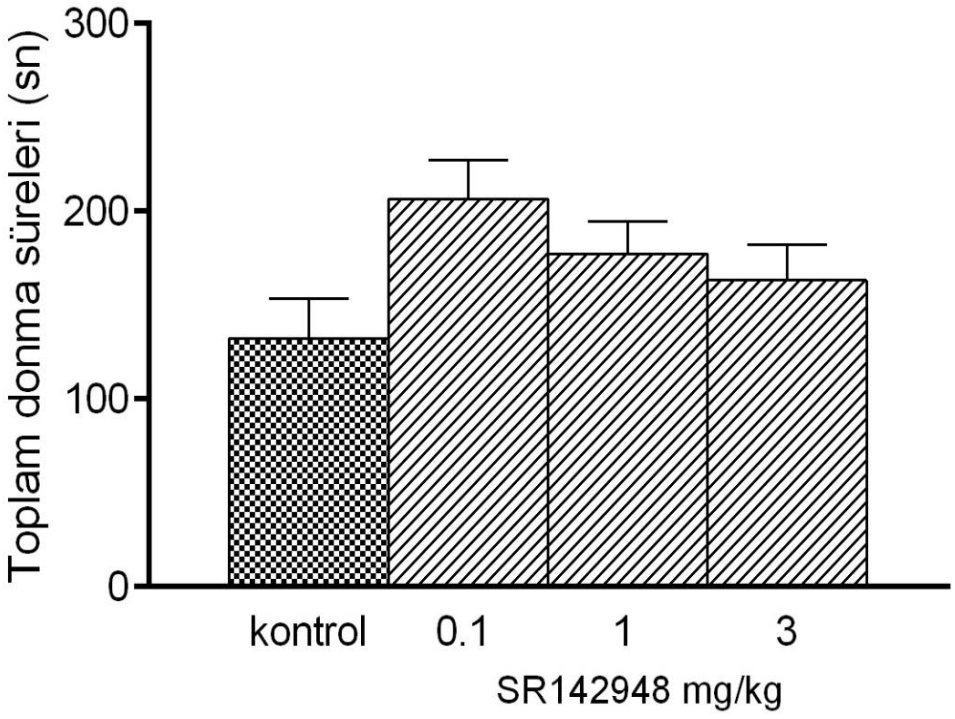
Şekil 11. Bağlamsal korku koşullanma testinde 2. gün NT reseptör agonisti uygulanan gruplarda toplam donma süreleri

(n=6, Kruskal Wallis Varyans analizi, post hoc Dunn testi. Grafiklerdeki dikey çizgiler standart hatayı göstermektedir).

NÖROTENSİN RESEPTÖR ANTAGONİSTİNİN BAĞLAMSAL KORKU KOŞULLANMA TESTİNE ETKİSİ

Bağlamsal korku koşullanma testinin birinci ve ikinci gününde çözücü ve farklı dozlarda NT reseptör antagonisti SR142948 (0,1, 1, 3 mg/kg) uygulanan grupların toplam donma süreleri Şekil 12 ve Şekil 13' de sunulmuştur.

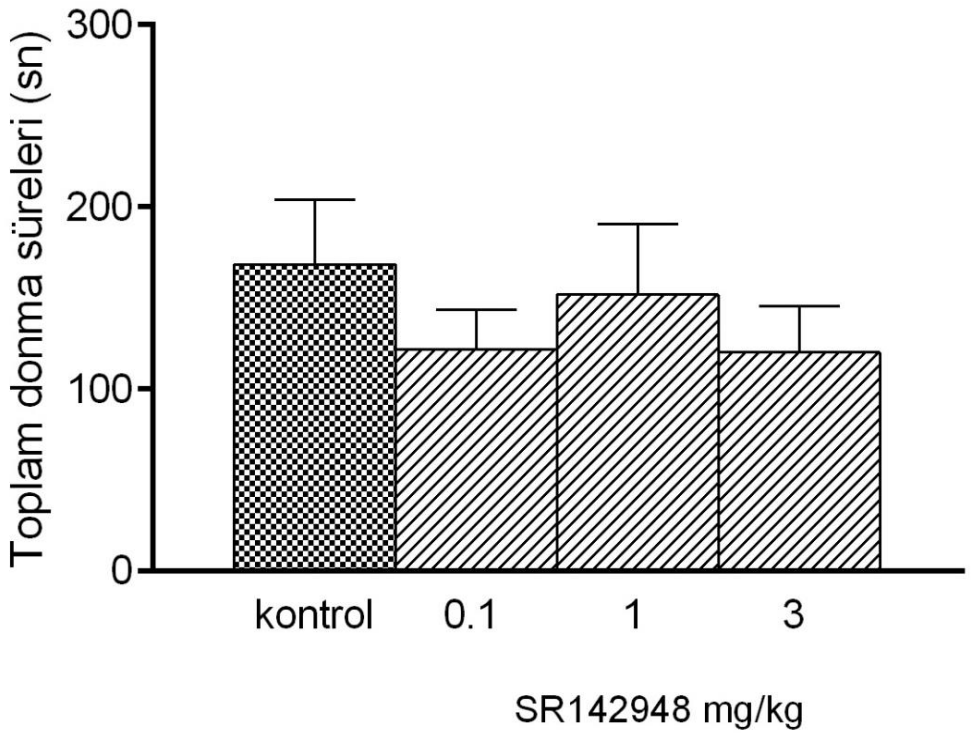
Bağlamsal korku koşullanma testinin birinci gününde NT reseptör antagonisti SR142948 (0,1, 1, 3 mg/kg) uygulanan grupların testin ikinci günündeki toplam donma sürelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı bir fark yoktu (p=0,0741; Kruskal Wallis Varyans analizi) (Şekil 12).



Şekil 12. Bağlamsal korku koşullanma testinde 1. gün NT reseptör antagonisti uygulanan gruplarda toplam donma süreleri

(n=6, Kruskal Wallis Varyans analizi, post hoc Dunn testi. Grafiklerdeki dikey çizgiler standart hatayı göstermektedir).

Bağlamsal korku koşullanma testinin ikinci gününde 0,1 mg/kg, 1 mg/kg ve 3 mg/kg dozlarda NT reseptör antagonisti SR142948 uygulanan gruplarla çözücü uygulanan grup karşılaştırıldığına toplam donma süreleri açısından istatistiksel açıdan anlamlı farklı olmadığı tespit edildi (p=0,6977; Kruskal Wallis Varyans analizi) (Şekil 13).



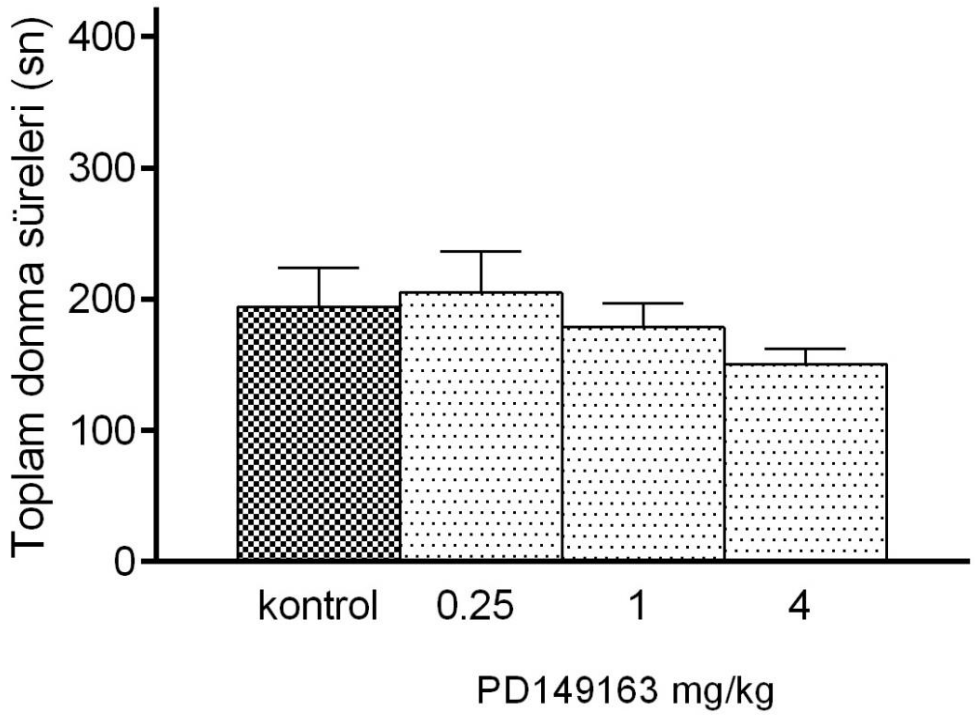
Şekil 13. Bağlamsal korku koşullanma testinde 2. gün NT reseptör antagonisti uygulanan gruplarda toplam donma süreleri

(n=6, Kruskal Wallis Varyans analizi, post hoc Dunn testi. Grafiklerdeki dikey çizgiler standart hatayı göstermektedir).

NÖROTENSİN RESEPTÖR AGONİSTİNİN İPUÇLU KORKU KOŞULLANMA TESTİNE ETKİSİ

İpuçlu korku koşullanma testinde, farelerin amigdala bağımlı korku koşullanma ve bellek fonksiyonları değerlendirilmektedir. İpuçlu korku koşullanma testinin birinci ve ikinci gününde çözücü, farklı dozlarda NT reseptör agonisti PD149163 (0,25, 1, 4 mg/kg) uygulanan grupların toplam donma süreleri Şekil 14 ve Şekil 15'te verilmiştir.

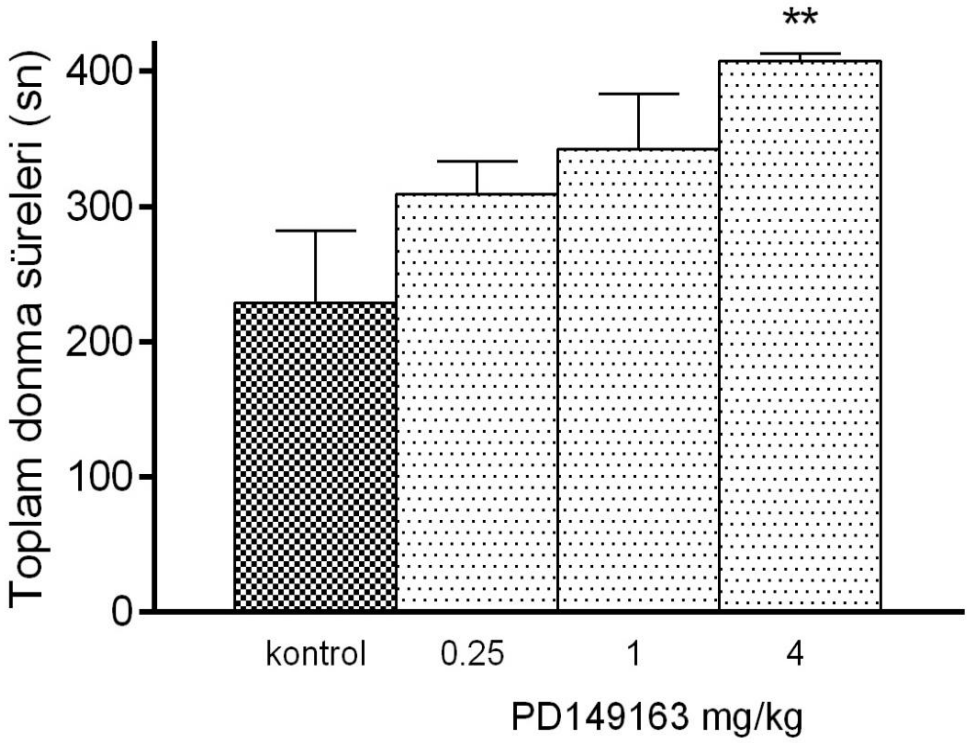
İpuçlu korku koşullanma testinin birinci gününde NT reseptör agonisti PD149163 (0,25, 1, 4 mg/kg) uygulanan gruplarda ikinci gün ölçülen toplam donma süreleri ile kontrol grubu kıyaslandığında istatistiksel anlamlı bir fark olmadığı görüldü (p=0,5465; Kruskal Wallis Varyans analizi) (Şekil 14).



Şekil 14. İpuçlu korku koşullanma testinde 1. gün NT reseptör agonisti uygulanan gruplarda toplam donma süreleri

(n=6, Kruskal Wallis Varyans analizi, post hoc Dunn testi. Grafiklerdeki dikey çizgiler standart hatayı göstermektedir).

İpuçlu korku koşullanma testinin ikinci gününde 0,25 mg/kg ve 1 mg/kg NT reseptör agonisti PD149163 uygulanan gruplarla çözücü uygulanan grup arasında toplam donma süreleri açısından istatistiksel açıdan anlamlı fark yoktu. Ancak 4 mg/kg NT reseptör agonisti PD149163 uygulanan grupta toplam donma süresinin çözücü uygulanan gruba kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı derecede fazla olduğu saptandı. (p=0,0078; Kruskal Wallis Varyans analizi) (Şekil 15).



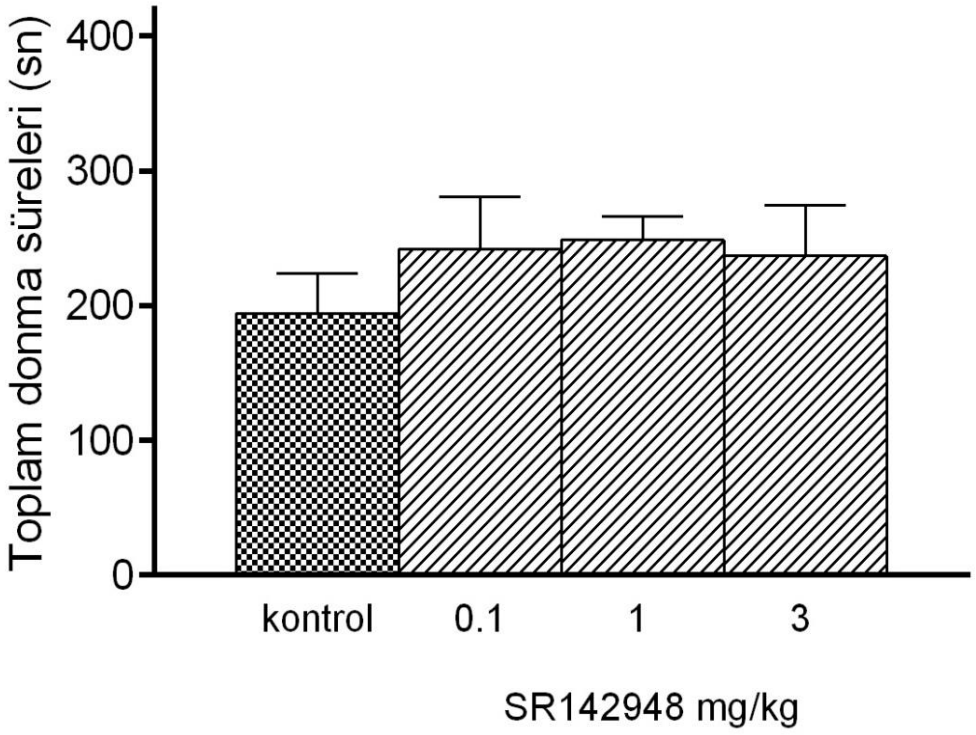
Şekil 15. İpuçlu korku koşullanma testinde 2. gün NT reseptör agonisti uygulanan gruplarda toplam donma süreleri

(n=6, Kruskal Wallis Varyans analizi, post hoc Dunn testi. Grafiklerdeki dikey çizgiler standart hatayı göstermektedir).

NÖROTENSİN RESEPTÖR ANTAGONİSTİNİN İPUÇLU KORKU KOŞULLANMA TESTİNE ETKİSİ

İpuçlu korku koşullanma testinin birinci ve ikinci gününde çözücü ile farklı dozlarda NT reseptör antagonisti SR142948 (0,1, 1, 3 mg/kg) uygulanan grupların toplam donma süreleri Şekil 16 ve Şekil 17'de gösterilmiştir.

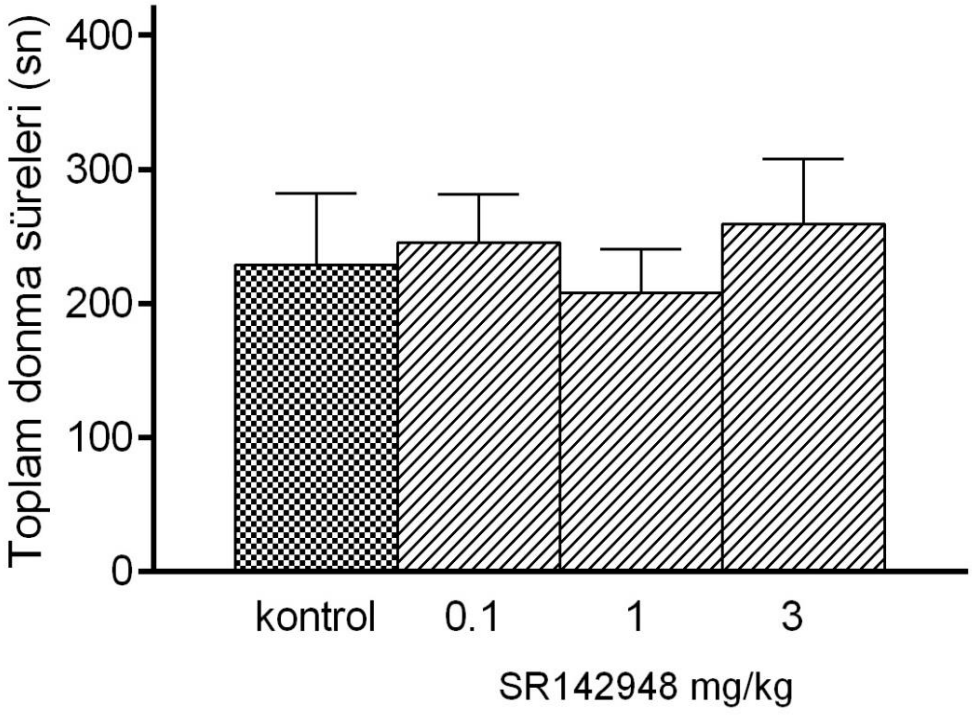
İpuçlu korku koşullanma testinin birinci gününde 0,1 mg/kg, 1 mg/kg ve 3 mg/kg dozlarda NT reseptör antagonisti SR142948 uygulanan gruplarla çözücü uygulanan grup arasında ikinci gün ölçülen toplam donma süreleri yönünden istatistiksel açıdan anlamlı fark tespit edilemedi (p=0,6549; Kruskal Wallis Varyans analizi) (Şekil 16).



Şekil 16. İpuçlu korku koşullanma testlerinde 1. gün NT reseptör antagonisti uygulanan gruplarda toplam donma süreleri

(n=6, Kruskal Wallis Varyans analizi, post hoc Dunn testi. Grafiklerdeki dikey çizgiler standart hatayı göstermektedir).

İpuçlu korku koşullanma testinin ikinci gününde 0,1 mg/kg, 1 mg/kg ve 3mg/kg dozlarda NT reseptör antagonisti SR142948 uygulanan gruplarla çözücü uygulanan grup karşılaştırıldığında toplam donma süreleri arasında bulunan fark istatistiksel açıdan anlamlı değildi (p=0,8303; Kruskal Wallis Varyans analizi) (Şekil 17).



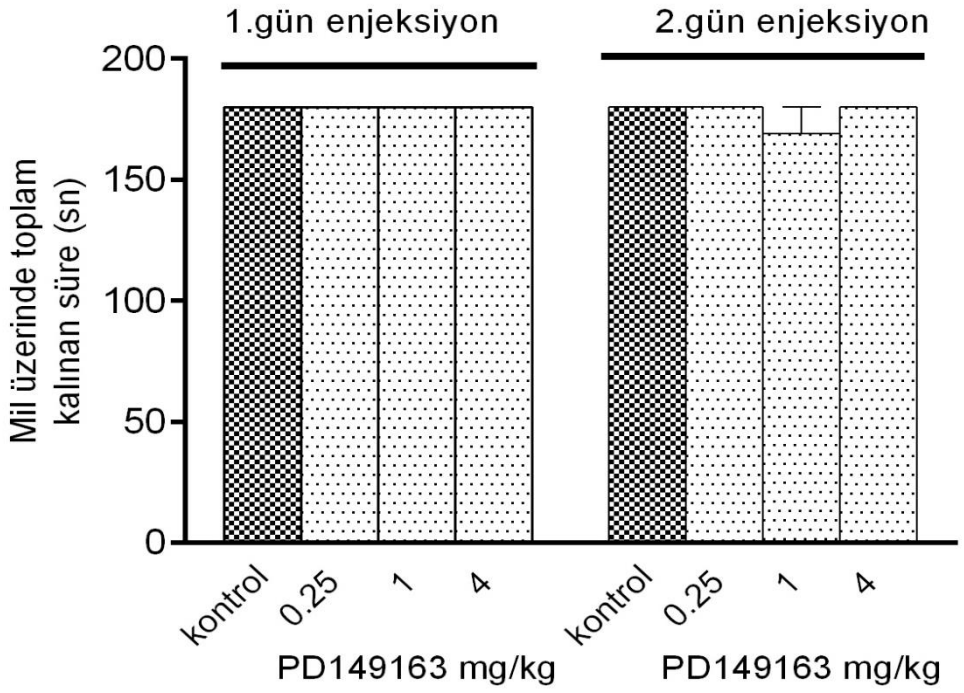
Şekil 17. İpuçlu korku koşullanma testlerinde 2. gün NT reseptör antagonisti uygulanan gruplarda toplam donma süreleri

(n=6, Kruskal Wallis Varyans analizi, post hoc Dunn testi. Grafiklerdeki dikey çizgiler standart hatayı göstermektedir).

BAĞLAMSAL KORKU KOŞULLANMADA ROTA-ROD PERFORMANS TESTİ VERİLERİ

Bağlamsal korku koşullanma testinde çözücü, farklı dozlarda NT reseptör agonisti PD149163 (0,25, 1, 4 mg/kg) ve farklı dozlarda NT reseptör antagonisti SR142948 (0,1, 1, 3 mg/kg) uygulanan grupların rota-rod performans testi verileri Şekil 18 ve Şekil 19'da verilmiştir.

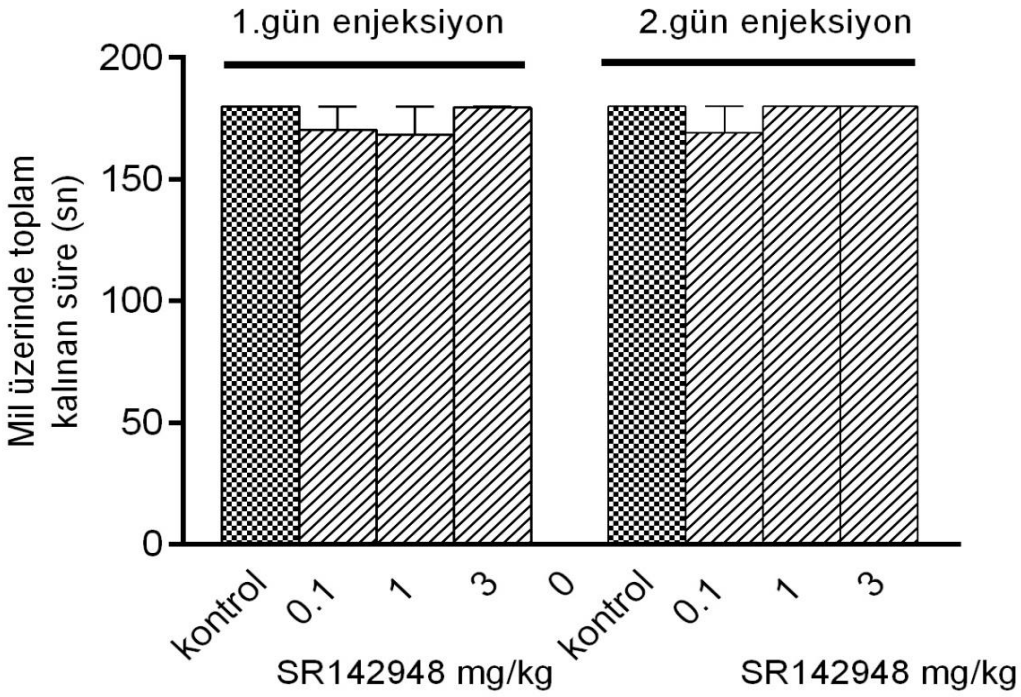
Bağlamsal korku koşullanma testinde birinci ve ikinci gün 0,25 mg/kg, 1 mg/kg, 4 mg/kg dozlarda NT reseptör agonisti PD149163 uygulanan grupların mil üzerinde durabildikleri süre açısından istatistiksel yönden anlamlı farklı olmadığı saptandı (p=0,4289; Kruskal Wallis Varyans analizi) (Şekil 18).



Şekil 18. Bağlamsal korku koşullanmada NT reseptör agonisti uygulanan gruplarda Rota-rod testinde mil üzerinde toplam kalınan süre

(n=6, Kruskal Wallis Varyans analizi, post hoc Dunn testi. Grafiklerdeki dikey çizgiler standart hatayı göstermektedir).

Bağlamsal korku koşullanma testinde birinci ve ikinci gün 0,1 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg dozlarda NT reseptör antagonisti SR142948 uygulanan grupların mil üzerinde kalabildikleri süreler karşılaştırıldığında istatistiksel yönden anlamlı farklı yoktu (p=0,7469; Kruskal Wallis Varyans analizi) (Şekil 19).



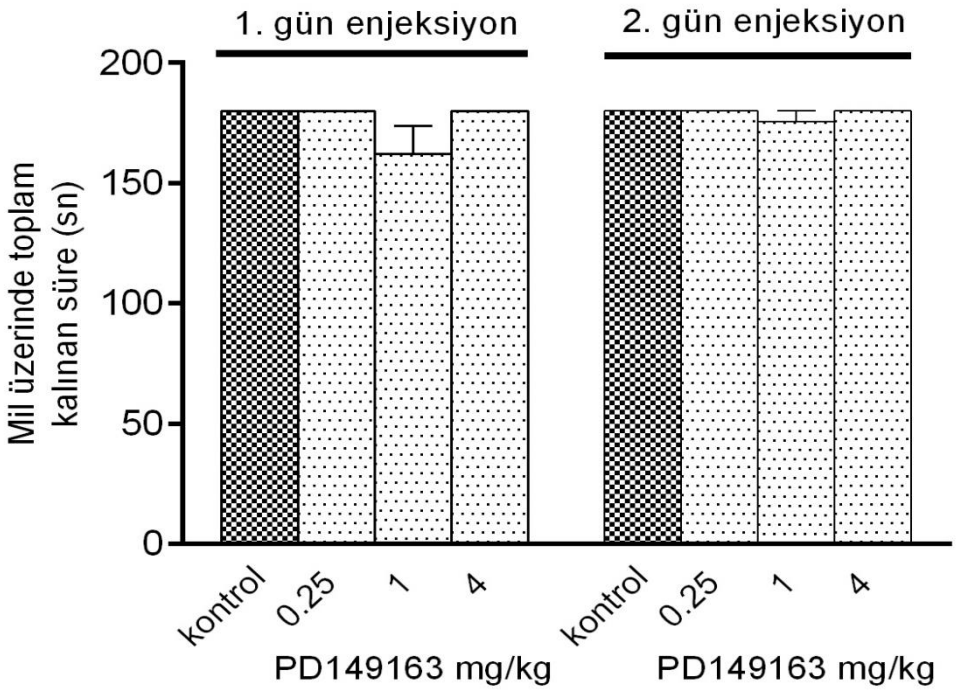
Şekil 19. Bağlamsal korku koşullanmada NT reseptör antagonisti uygulanan gruplarda Rota-rod testinde mil üzerinde toplam kalınan süre

(n=6, Kruskal Wallis Varyans analizi, post hoc Dunn testi. Grafiklerdeki dikey çizgiler standart hatayı göstermektedir).

İPUÇLU KORKU KOŞULLANMADA ROTA-ROD PERFORMANS TESTİ VERİLERİ

İpuçlu korku koşullanma testinde çözücü, farklı dozlarda NT reseptör agonisti PD149163 (0,25, 1, 4 mg/kg) ve farklı dozlarda NT reseptör antagonisti SR142948 (0,1, 1, 3 mg/kg) uygulanan grupların rota-rod performans testi verileri Şekil 20 ve Şekil 21'de gösterilmiştir.

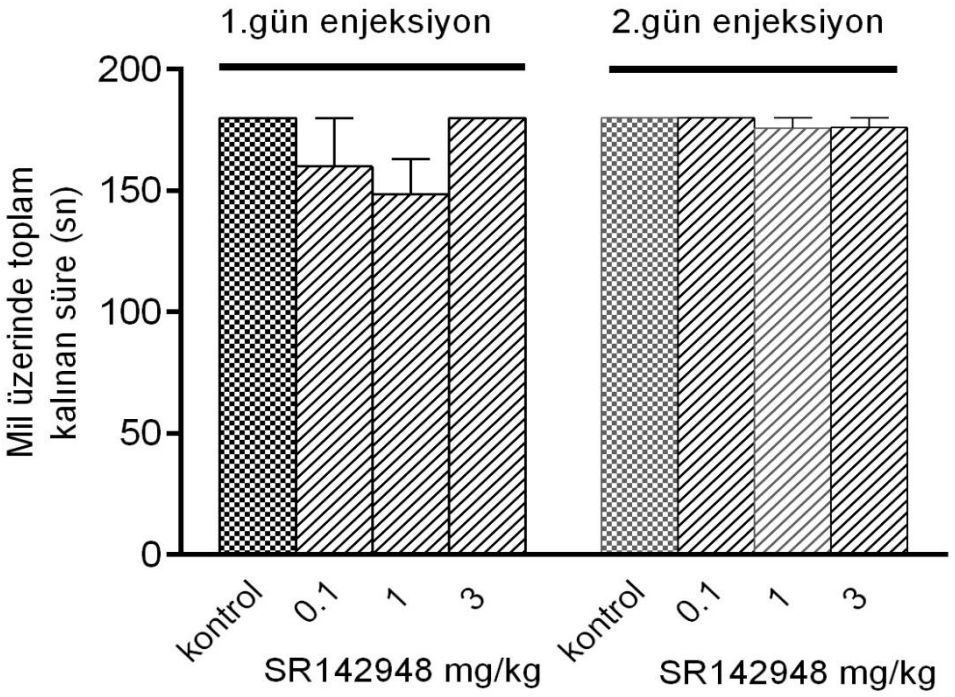
İpuçlu korku koşullanma testinde birinci ve ikinci gün 0,25 mg/kg, 1 mg/kg, 4 mg/kg dozlarda NT reseptör agonisti PD149163 uygulanan grupların mil üzerinde kalabildikleri süre açısından istatistiksel yönden anlamlı farklı olmadığı saptandı (p=0,1503; Kruskal Wallis Varyans analizi) (Şekil 20).



Şekil 20. İpuçlu korku koşullanmada NT reseptör agonisti uygulanan gruplarda Rota-rod testinde mil üzerinde toplam kalınan süre

(n=6, Kruskal Wallis Varyans analizi, post hoc Dunn testi. Grafiklerdeki dikey çizgiler standart hatayı göstermektedir).

İpuçlu korku koşullanma testinde birinci ve ikinci gün 0,1 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg dozlarda NT reseptör antagonisti SR142948 uygulanan gruplar mil üzerinde kalabildikleri süre açısından istatistiksel yönden anlamlı farka sahip değildi (p=0,1210; Kruskal Wallis Varyans analizi) (Şekil 21).



Şekil 21. İpuçlu korku koşullanmada NT reseptör antagonisti uygulanan gruplarda Rota-rod testinde mil üzerinde toplam kalınan süre

(n=6, Kruskal Wallis Varyans analizi, post hoc Dunn testi. Grafiklerdeki dikey çizgiler standart hatayı göstermektedir)

.

TARTIŞMA

Bu çalışmada NT reseptör agonisti PD149163 ve NT reseptör antagonisti SR142948'in bağlamsal ve ipuçlu korku koşullanma üzerine farklı dozlarda akut etkisini incelemeyi amaçladık. Bu davranış deneyleri iki günden oluşmaktadır ve ilk günü öğrenme *(acquistion)* ikinci günü ise geri çağırma *(retrieval)* olarak değerlendirilebilir. Bu nedenle uygulanan ilaçların ya korku belleğinin edinimine ya da geri çağırılmasına etkili olduğu hakkında yorum yapılabilir. Çalışmamızda farklı dozlarda uygulanan NT reseptör agonisti PD149163'ün bağlamsal korku koşullanmada öğrenme ve geri çağırma süreçlerinde etkisiz olduğu, ancak ipuçlu korku koşullanmada geri çağırmayı doz-bağımlı şekilde artırdığı ve bu artışın 4 mg/kg dozda istatistiksel anlamlılığa eriştiği görüldü. NT reseptör antagonisti SR142948 ise ne bağlamsal ne de ipuçlu korku koşullanmanın öğrenme ve geri çağırma süreçlerinde herhangi bir etki göstermedi. Bu sonuçlar, nörotensinin amigdala bağımlı korku belleğini artırıcı bir etkisinin olduğu, ancak gerek ipuçlu gerekse bağlamsal korku koşullanmanın öğrenme ve geri çağırma süreçlerinde fizyolojik bir rolünün bulunmadığı şeklinde yorumlanabilir.

Nörotensinin gıda alımının modülasyonu, öğrenme davranışları, antinosisepsiyon gibi birçok fizyolojik süreçte önemli rol oynadığı bilinmektedir. Literatürdeki bilgiler bu biyolojik aktivitelerden öğrenme ve bellek davranışlarına NTS_1'in aracılık ettiğine yöneliktir (29,82). NT reseptör antagonisti SR48692 doza bağlı olarak NTS_1 spesifik antagonist olarak davranır ve bu reseptörün aracılık ettiği fonksiyonların açıklığa kavuşması için yararlı olduğu kanıtlanmıştır. NT'nin merkezi ve periferik etkilerinin çoğunun NT reseptör antagonisti SR48692 ile bloke edildiği bilinmektedir (62,83). Örneğin NTS_1 antagonisti SR48692'nin kullanıldığı, sıçanlarda

yapılan bir uzaysal bellek çalışmasında daha fazla işler bellek hatasına rastlanmıştır (29,82). Başka bir çalışmada sıçanlarda CeA'ya NT ve NTS_1 antagonisti SR48692 mikroenjeksiyonu uygulanarak yapılan Morris su labirenti testinde NT'nin uzaysal öğrenmeyi kolaylaştırdığı ve bu etkinin NTS_1 antagonisti SR48692 tarafından bloke edildiği ortaya konmuştur. Böylece hipokampüs bağımlı uzaysal bellek üzerinde CeA'daki NTS_1 reseptörlerinin bir rolü olduğu öne sürülmüştür (84). Sıçanların entorinal korteksine NT reseptör agonisti PD149163 enjeksiyonu yapılmasının ise, uzaysal öğrenme ve belleği ölçmek için kullanılan bir davranış deneyi olan Barnes labirent testinde uzaysal öğrenmeyi artırdığı gösterilmiştir (85,86). Çalışmamızda da NTS_1 agonisti PD149163'ün bağlamsal korku koşullanma yanıtını artırma eğiliminde olduğu gözlenmektedir, ancak gözlenen artma eğilimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Nörotensinin bilişsel işlevleri artırdığını gösteren birçok literatür bulunmaktadır (5,6,87). Skopolamin ile belleği bozulmuş sıçanlarda NT analoğu PD149163 ve NT antagonisti SR142948A kullanılarak, bellek davranışlarının değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan nesne tanıma testindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmada PD149163, skolopolamin'in meydana getirdiği bellek bozukluğunu geri döndürmüştür. Aynı çalışmada PD149163'ün bu etkisinin NT antagonisti SR142948A tarafından doza bağımlı olarak inhibe edildiği gösterilmiştir (6).

Long Evans türü ve *Brown Norway* türü sıçanlarda NT reseptör agonisti PD149163 ile NT reseptör antagonisti SR142948'in incelendiği başka bir çalışmada da PD149163 üç farklı dozda (0,25, 1, 4 mg/kg), SR142948 ise tek dozda (1 mg/kg) radyal kollu labirent testinde incelenmiştir. İlaç uygulamaları öğrenme çalışmalarından hemen önce veya hemen sonra yapılmıştır. *Brown Norway* türü sıçanlarda NT reseptör agonisti PD149163 uygulamasının hatırlama testlerinde bellek hatalarını azalttığı, *Long Evans* türünde ise herhangi bir etki göstermediği tespit edilmiştir. NT reseptör antagonisti SR142948'in bellek hatalarına etkisi olmadığı saptanmıştır. Bu çalışmada PD149163 düşük dozlarda bilginin öğrenilmesini, yüksek dozlarda ise bilginin konsolidasyonunu artırdığının görülmesi, NT'nin hem öğrenme hem de konsolidasyonda rol oynadığını düşündürmektedir (86).

Grimond-Billa ve arkadaşları (87) sıçanlarda iki farklı dozda NT reseptör agonisti PD149163 (0,25 ve 1 mg/kg) ve NT reseptör antagonisti SR142948A (0,01 ve 0,1 mg/kg) kullanarak koşullu ve koşulsuz uyaranların yer aldığı bir assosiyatif öğrenme süreci çalışması yapmışlardır. Gruplara koşullanma öğrenimi öncesinde ilaç uygulanmış, testler ise ilaçsız yapılmıştır. Sonuçta NT reseptör agonisti PD149163'ün 0,25 mg/kg dozda koşullanmayı belirgin şekilde artırdığı, 1 mg/kg dozda ise etkisiz olduğu saptanmıştır. NT reseptör antagonisti

SR142948A'nın ise her iki dozda da assosiyatif öğrenmeye herhangi bir etkisinin olmadığı görülmüştür.

Sıçanlarda *nükleus bazalis magnoselülaris* lezyonlarının bellek kaybı yapıcı etkisine NT'nin mi yoksa asetilkolin'in mi aracılık ettiğinin araştırıldığı bir çalışmada, iki farklı nörotoksin olan ibotenik asit (IBO) ve kuiskualik asid (QUIS) enjeksiyonu yapılarak hayvanlar T labirentinde test edilmişlerdir. Testlerin sonunda IBO uygulanan hayvanların QUIS uygulanan hayvanlardan ve kontrol grubundan istatistiksel olarak daha fazla bellek bozukluğu gösterdiği saptanmıştır. QUIS uygulanan grup ise kontrol grubundan istatistiksel anlamlı derecede daha fazla bellek hatası göstermemiştir. IBO neokortekste kolin asetiltransferaz aktivitesini ve nörotensin bağlanmasını azaltırken, OUIS sadece kolin asetiltransferaz aktivitesini azaltmıştır. Sonuçlar *nükleus bazalis magnoselülaris* lezyonlarından sonra gelişen bellek kaybından sorumlu kritik bileşenin kolinerjik sistemin olmayabileceğini, NT'nin önemli rol oynadığını ortaya koymaktadır (88).

Alzheimer hastalarının hipokampüslerinde nörotensin bağlayan alanlarda belirgin oranda azalma olduğu Jansen ve arkadaşları (89) tarafından da gösterilmiştir. Benzer bir şekilde Alzheimer hastalarına ait postmortem beyin dokularında yapılan bir çalışmada, temporal lobda NTS_1 ve NTS_2 mRNA'larının kontrol grubuna göre ciddi şekilde azaldığı, ancak NTS_3 mRNA miktarının değişmediği gösterilmiştir (90). NTS_1 ve NTS_2'nin öğrenme ve bellek fonksiyonlarında rolü olması nedeniyle reseptör sistemlerindeki bu azalmanın Alzheimer hastalığının patofizyolojisinde görülen bilişsel bozukluklarının altında yatan mekanizmaları kısmen açıklamaya yardımcı olabileceği düşünülmüştür (89,90).

Çeşitli ilaç moleküllerinin antidepresan etkilerinin Hillhouse ve arkadaşları (91) tarafından incelendiği bir çalışmada yüksek seçiciliğe sahip NTS_1 agonisti PD149163'ün sıçanlarda sistemik verilişle trisiklik antidepresan imipramin ve atipik antipsikotik risperidon gibi antidepresan ilaçların etkilerine benzer antidepresan etkiler gösterdiği ortaya konmuştur. Yapılan başka çalışmalarda NTS_1 agonisti PD149163'ün sıçanlarda artmış korkuya bağlı ürkme davranışını ve ultrasonik vokalizayon testinde (Korku ve benzeri emosyonel durumların anksiyeteden ayırt edilmesinde kullanılan bir testtir. Bir tehlike sinyali ardından kuyruktan elektrik şoku verilmesi gibi farklı uyaranların oluşturduğu etkiler sonucu sıçanın çıkardığı ultrasonik seslerin frekans aralıkları değerlendirilir) 22 kHz şiddetindeki sesleri azaltması, klinik kullanımdaki antidepresanların anksiyolitik etkilerine benzetilmiştir (11,92,93). Sıçanlarda prefrontal korktese uygulanan nörotensin reseptör agonistlerinin hem *in vivo* hem *in vitro* serotonin salıverilmesini artırdığı ve bu etkinin NT reseptör antagonistleriyle tersine

çevrildiği gösterilmiştir (94,95). NTS_1 reseptörü dopamin salıverilmesini düzenleyen dopamin 2 reseptörü ile presinaptik alanda yan yana yerleşimlidir (57). NTS_1 agonistlerinin sistemik verilişi, ventral tegmental alana mikroenjeksiyonunda olduğu gibi sıçanların medial prefrontal korteksinde ve *nükleus akumbens*inde dopamin salıverilmesini artırmıştır (96,97). Klinik kullanımdaki antidepresanların etkilerini bir veya daha fazla monoamin nörotransmitterin konsantrasyonunu artırarak gösterdikleri bilinmektedir. Nörotensin agonistlerinin monoaminerjik nörotransmisyonu kolaylaştırmasının NT agonistleri ile üretilen antidepresan etkiye aracılık eden en olası mekanizma olduğu düşünülmektedir (93).

Çeşitli bulguların, korku belleğinin ve çeşitli emosyonel davranışların düzenlenmesinde NT ve reseptörlerinin kritik rol oynadığını göstermesine karşın, NT'nin korku belleğine olan etkisi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (8,29). Yamada ve arkadaşlarının (8) yaptığı çalışmada NTS_1 geni silinmiş (*knock out*) fareler ile normal fareler bağlamsal korku koşullanma testlerinde karşılaştırılmıştır. Çalışmada deneyin birinci gününde farklı gruplarda 1 kez, 3 kez ve 8 kez ayak şoku uygulanmıştır. 24 saat ve 48 saat sonra hayvanlar tekrar düzeneğe alınmış ve ayak şoku uygulanmadan donma süreleri incelenmiştir. Bir kez ayak şoku uygulanan gruplarda, hem 24 saat hem de 48 saat sonra donma sürelerinin geni silinmiş farelerde normal hayvanlara göre belirgin yüksek olduğu saptanmıştır. Ancak aynı çalışmada 3 ve 8 kez şok alan gruplarda 24 ve 48. saatlerdeki donma sürelerinde gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Bu durum tekrarlanmayan tek bir uyarı ile bellek oluşumunda NT'nin inhibitör rol oynadığı şeklinde yorumlanabilir. Ancak tekrarlayan uyarılar olduğunda korku yanıtının oluşumda NT'nin bir rolü olmadığını göstermektedir. Bizim çalışmamızda bağlamsal korku koşullanma testinde hayvanlara tek seansta 3 ayak şoku uygulanmış ve 24 saat sonraki donma yanıtları değerlendirildiğinde donma sürelerinde ne agonist ne de antagonist alan gruplarda bir artış olmadığı gösterilmiştir. Her ne kadar bu çalışma bizim sonuçlarımızı destekler nitelikte olsa da çalışma dizaynı ve hayvan türü açısından farklılıklar mevcuttur.

Anneden ayrılmanın, korku koşullanma üzerindeki etkilerini incelemek için yapılan bir çalışmada *Sprague-Dawley* türü erkek sıçanlar postnatal 2 ile 14. günler arasında her gün 3'er saat annelerinden ayrı tutulmuşlar ve erişkin döneme geldiklerinde korku koşullanma yanıtları ile hipokampüs ve amigdaladaki nörotensin ve reseptörlerinin düzeyleri değerlendirilmiştir. Hipokampüste nörotensin ve reseptörlerinin düzeyinde değişme olmazken, amigdala NTS_1 düzeyinde azalma olduğu görülmüştür. NTS_1 miktarındaki azalmanın amigdalada NTS_1 geninin metilasyonunda meydana gelen artışa bağlı olduğu gösterilmiştir. Bu durum erken dönemde anneden ayrılmanın epigenetik bir işaretlenmeye yol açtığı şeklinde yorumlanmıştır.

Bu hayvanlar erişkin döneme geldiklerinde de artmış korku yanıtı göstermişlerdir. Ek olarak aynı çalışmada normal hayvanlarda amigdalaya NTS_1 agonisti PD149163'un mikroenjeksiyonunun korku yanıtlarını azalttığı, NTS_1 antagonisti SR48692 mikroenjeksiyonunun ise korku yanıtlarını artırdığı bildirilmiştir (98).

Yamauchi ve arkadaşları (29) NTS_2 eksikliği olan farelerle normal fareleri bağlamsal ve ipuçlu korku koşullanma testlerinde karşılaştırdıklarında NTS_2 eksikliği olan farelerin bağlamsal korku koşullanma testlerinde koşullanmadan 1 saat, 24 saat, 1, 3 ve 6 hafta sonra donma davranışının normal farelere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığını bildirmişlerdir. Korku yanıtlarının korku ediniminden 1 saat ve 24 saat sonra azalmış olması NTS_2'nin korku belleğinin konsolidasyonunda etkisi olduğunu düşündürürken, 1, 3 ve 6 hafta sonra azalmış olması NTS_2 eksikliğinin korku belleğinin sönmesini modüle ettiğini düşündürmüştür (29). Daha önceki çalışmalarında NT reseptörleri için doğal bir ligand olan β-laktotensin (β-LT)'in farelerde delikli tahta testinde (*hole-board test*) anksiyete düzeyine etkisini ve korku koşullanma testinde korku belleği üzerine etkilerini incelemişlerdir. β-LT uygulanmasının stres davranışlarını azalttığı, β-LT'nin anti-stres etkisinin NTS_2 antagonisti levokobastin tarafından bloke edildiği görülmüştür. İpuçlu korku koşullanma testlerinde β-LT'nin korku belleğinin sönmesine neden olduğu bildirilirken, bağlamsal korku koşullanma testlerinde değişiklik bulunmamıştır. β-LT, NTS_2'ye afinite gösterdiği gibi NTS_1'e de bağlanmaktadır. Ek olarak, bu çalışmada β-LT'in korku koşullanmadaki etkileri spesifik NTS_2 antagonisti levokobastin tarafından bloke edilmemiştir. Bu nedenle çalışmanın sonuçları β-LT'nin korku belleğine etkilerine sadece NTS_2'nin aracılık etmediğini düşündürmektedir (29,99).

Literatürdeki bilgilere bakıldığında genel olarak NT'nin ve NT agonistlerinin belleği ve öğrenmeyi kolaylaştırdığı, NT antagonistlerinin ise beklentinin aksine öğrenme ve belleği etkilemediği görülmekle birlikte bunun tersini savunan kanıtlar da bulunmaktadır.

Nörotensin ve NT reseptör agonist ve antagonistlerinin korku belleğine olan etkilerinin incelendiği çalışmalara bakıldığında, NTS_1 eksikliğinin korku yanıtlarını artırdığı ve bu bilgiyle çelişmekle birlikte, NTS_1 agonisti PD149163'ün korku yanıtlarını artırırken, NT antagonistlerin korku yanıtlarını azalttığı veya etkisiz kaldığı gösterilmiştir. Literatürdeki az sayıdaki çalışmaların sonuçları değerlendirildiğinde, bu çelişkinin sebeplerinin farklı bir araştırmanın konusu olabileceği akla gelmektedir.

Elde ettiğimiz sonuçlar, amigdala bağımlı ipuçlu korku koşullanma testlerinde geri çağırma öncesi i.p. 4 mg/kg NT reseptör agonisti PD149163 uyguladığımız grupta kontrol

grubuna göre toplam donma sürelerinin istatistiksel olarak anlamlı derece fazla olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda literatürdeki çalışmalarla genel anlamda uyumlu olarak NT agonisti ile korku yanıtlarının doza bağlı olarak artmış olduğunu görmekteyiz. Hipokampüs bağımlı bağlamsal korku koşullanma testlerinde aynı sonucu neden elde edemediğimiz NT reseptör agonisti PD149163'ün afinite gösterdiği bilinen NTS_1'in amigdalada mı yoksa hipokampüste mi daha fazla eksprese olduğuyla ilgili olabilir. Çalışmamızda NT reseptör antagonisti SR142948 kullandığımız gruplardaki sonuçlarımız literatürdeki bilgilerle çelişmektedir bunun sebebi molekülün afinite gösterdiği NT reseptörü ve bu reseptörün aracılık ettiği NT'nin biyolojik etkileri ile ilişkili olabilir. Ayrıca kullanılan hayvan türü, veriliş yolu ve veriliş süresi ile de ilgili olabilir. Bu farklılıkların açıklanabilmesi için ilave çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bağlamsal korku koşullanma testlerinde de ikinci gün NT reseptör agonisti uygulanan gruplarda kontrol gruplarına göre toplam donma sürelerinde istatistiksel olarak anlamlı olmasa da artış olması, NT reseptör agonisti PD149163'ün korku belleğinin geri çağırılması üzerine etkili olduğunu düşüncesini güçlendirmekle birlikte, gruplardaki denek sayısı artırılarak yeni çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda NT reseptör agonisti PD149163'ün amigdala bağımlı ipuçlu korku koşullanma testlerinin ikinci gününde, geri çağırma testleri öncesi akut verilişle doza bağlı olarak korku yanıtlarını artırdığını, NT reseptör antagonisti SR 142948'in ise korku koşullanmanın edinimi veya geri çağırılmasına etki etmediğini gösterdik. Bu sonuç literatürdeki verilerle genel olarak uyuşmakla birlikte, her iki molekülün kronik verilişle etkilerini test etmek gerektiği düşünmekteyiz.

SONUÇLAR

Çalışmamızda NT reseptör agonisti PD149163 ve NT reseptör antagonisti SR142948'in farelerde bağlamsal ve ipuçlu korku koşullanma testlerine etkisi incelendi. Bağlamsal ve ipuçlu korku koşullanma testlerinin dışında hayvanlarda rota-rod performans testi yapıldı.

1- Bağlamsal korku koşullanma testinin 1. gününde agonist ve antagonist alan gruplar ile çözücü alan gruplar arasında toplam donma süreleri açısından farklılık tespit edilmedi ($p>0,05$).

2- Bağlamsal korku koşullanma testlerinin 2. gününde agonist uygulanan gruplarda toplam donma süresi çözücü uygulanan gruplara göre artmış olmasına rağmen, bu fark istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı ($p>0,05$).

3- Bağlamsal korku koşullanma testlerinin 2. gününde antagonist uygulanan grupların toplam donma süreleri ile çözücü uygulanan grupların toplam donma süreleri karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark yoktu ($p>0,05$).

4- İpuçlu korku koşullanma testlerinin 1. gününde agonist ve antagonist uygulanan gruplar ile çözücü uygulanan gruplar arasında toplam donma süreleri açısından fark tespit edilmedi ($p>0,05$).

5- İpuçlu korku koşullanma testlerinin 2. gününde, 0,25 mg/kg ve 1 mg/kg agonist alan gruplarla kontrol grupları arasında donma süreleri açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmazken ($p>0,05$), 4 mg/kg agonist uygulanan grupta toplam donma süreleri çözücü uygulanan gruptan istatistiksel anlamlı derecede fazlaydı ($p<0,05$).

6- Rota-rod performans testinde agonist, antagonist ve çözücü uygulanan gruplar arasında fark bulunmadı ($p>0,05$).

ÖZET

Nörotensin, santral sinir sisteminde ve gastrointestinal sistemde yaygın olarak bulunur ve nörotransmiter/nöromodülatör/nörohormon olarak görev yaptığı düşünülmektedir. Bu çalışmada nörotensin reseptör agonisti PD149163 ve nörotensin reseptör antagonisti SR142948'in bağlamsal ve ipuçlu korku koşullanma testleri üzerine etkisinin incelemesi amaçlandı.

Çalışmada her grupta 6 hayvan olacak şekilde toplam 168 adet Balb/c türü erkek fare kullanıldı. Davranış deneylerinde gruplarına uygun olarak deneklere nörotensin reseptör agonisti PD149163 (0,25, 1, 4 mg/kg) ve nörotensin reseptör antagonisti SR142948 (0,1, 1, 3 mg/kg) uygulandı. Tüm gruplara rota-rod performans testi bağlamsal korku koşullanma testi ve ipuçlu korku koşullanma testi yapıldı.

Nörotensin reseptör agonisti PD149163'ün ipuçlu korku koşullanma testinde öğrenmeye etkisi olmadığı ancak doza bağımlı olarak geri çağırmayı artırdığı görüldü. Nörotensin reseptör antagonisti SR142948'in ise ipuçlu korku koşullanmada öğrenme ve geri çağırma süreçlerini etkilemediği görüldü.

Bağlamsal korku koşullanma testinde ise ne nörotensin reseptör agonisti PD149163'ün ne de nörotensin reseptör antagonisti SR142948'in korkunun öğrenimine ya da geri çağrılmasına etkisi olmadığı görüldü.

Elde ettiğimiz sonuçlar amigdala bağımlı ipuçlu korku koşullanma testinde korku yanıtlarını nörotensin reseptör agonisti PD149163'ün doza bağlı artırdığını göstermektedir.

Anahtar kelimeler: nörotensin, hipokampüs, amigdala, korku koşullanma, korku belleği

THE EFFECT OF NEUROTENSIN ON CUED AND CONTEXTUAL FEAR CONDITIONING IN MICE

SUMMARY

Neurotensin is commonly found in the central nervous system and the gastrointestinal tract and it plays role as a neurotransmitter/neuromodulator/neurohormone. The aim of this study was to investigate the effect of the neurotensin receptor agonist PD149163 and the neurotensin receptor antagonist SR142948 on contextual and cued fear conditioning tests. In total 168 male Balb/c mice were divided into 28 groups (n= 6 animals for each group). In the behavioral experiments, the neurotensin receptor agonist PD149163 (0.25, 1, 4 mg/kg) or neurotensin receptor antagonist SR142948 (0.1, 1, 3 mg/kg) were administered to subjects according to their groups. Rota-rod performance test, contextual and cued fear conditioning test were performed in all groups.

It was observed that the neurotensin receptor agonist PD149163 had no effect on learning in the cued fear conditioning test, but retrieval was increased dose-dependently. The neurotensin receptor antagonist SR142948 did not affect the learning and retrieval processes in cued fear conditioning.

In the contextual fear conditioning test, neither the neurotensin receptor agonist PD149163 nor the neurotensin receptor antagonist SR142948 had any effect on the learning or retrieval of fear conditioning.

Our results show that neurotensin receptor agonist PD149163 increases amygdala-dependent cued fear conditioning responses dose-dependently.

Key words: neurotensin, hippocampus, amygdala, fear conditioning, fear memor

KAYNAKLAR

1. Carraway R, Leeman SE. The isolation of a new hypotensive peptide, neurotensin, from bovine hypothalami. J Biol Chem 1973;248(19):6854-61.

2. Carraway R, Leeman SE. Characterization of radioimmunoassayable neurotensin in the rat. Its differential distribution in the central nervous system, small intestine, and stomach. J Biol Chem 1976;251(22):7045-52.

3. Ferraro L, Tomasini MC, Mazza R, Fuxe K, Fournier J, Tanganelli S, et al. Neurotensin receptors as modulators of glutamatergic transmission. Brain Res Rev 2008;58(2):365-73.

4. Tyler-McMahon BM, Boules M, Richelson E. Neurotensin: peptide for the next millennium. Regul Pept 2000;93(1-3):125-36.

5. Shibata K, Furukawa T. The mammillary body, a potential site of action of neurotensin in passive avoidance behavior in rats. Brain Res 1988;443(1-2):117-24.

6. Azmi N, Norman C, Spicer CH, Bennett GW. Effects of a neurotensin analogue (PD149163) and antagonist (SR142948A) on the scopolamine-induced deficits in a novel object discrimination task. Behav Pharmacol 2006;17(4):357-62.

7. Kinkead B, Nemeroff CB. Novel treatments of schizophrenia: targeting the neurotensin system. CNS Neurol Disord Drug Targets 2006;5(2):205-18.

8. Yamada D, Wada E, Amano T, Wada K, Sekiguchi M. Lack of neurotensin type 1 receptor facilitates contextual fear memory depending on the memory strength. Pharmacol Biochem Behav 2010;96(3):363-9.,

9. Kleczkowska P, Lipkowski AW. Neurotensin and neurotensin receptors: characteristic, structure-activity relationship and pain modulation--a review. Eur J Pharmacol 2013;716(1-3):54-60.

10. Boules M, Fredrickson P, Richelson E. Bioactive analogs of neurotensin: focus on CNS effects. Peptides 2006;27(10):2523-33.

11. Shilling PD, Feifel D. The neurotensin-1 receptor agonist PD149163 blocks fear-potentiated startle. Pharmacol Biochem Behav 2008;90(4):748-52.

12. Schacter DL WA. Learning and Memory. In: Kandel ER SJ, Jessell, TM SS, Hudspeth AJ.(Eds), editors. Principles of Neural Science. 5th ed ed. Newyork: The McGraw-Hill Companies; 2013. p. 1441-60.

13. Sweatt JD. The Basics of Psychological Learning and Memory Theory. In: Sweatt JD, editor. Mechanism of Memory. 2 ed. USA: Elsevier; 2010. p. 2-23.

14. Roediger H. L. I, Zaromb F.M., and Goode M.K. A Typology of Memory Terms. In: Byrne jH, editor. Concise Learning and Memory: The Editor's Selection. 1 ed. Slovenia: Elsevier; 2009. p. 1-13.

15. Gathercole SE. Working Memory. In: Byrne JH, editor. Concise Learning and Memory: The Editor's Selection. Slovenia: Elsevier; 2008. p. 149-67.

16. Bailey CH, Bartsch D, Kandel ER. Toward a molecular definition of long-term memory storage. Proc Natl Acad Sci U S A 1996;93(24):13445-52.

17. Guyton AC. Beyin Korteksi, Beynin Zihinsel İşlevleri, Öğrenme ve Bellek (çeviri: Peker G.Ö.). Yeğen BÇ (Editor). Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji. 12.baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitap Evi; 2013. s.697-709

18. Squire LR. Declarative and nondeclarative memory: multiple brain systems supporting learning and memory. J Cogn Neurosci 1992;4(3):232-43.

19. Squire LR, Dede AJ. Conscious and unconscious memory systems. Cold Spring Harb Perspect Biol 2015;7(3):a021667.

20. Squire LR, Shrager Y. Declarative Memory System: Amnesia. In: Byrne JH, editor. Concise Learning and Memory: The Editor's Selection. Slovenia: Elsevier; 2008. p. 15-26.

21. Stevens W.D. WGS, Schacter D.L. Implicit Memory and Priming. In: Byrne JH, editor. Concise Learning and Memory:The Editor's Selection. Slovenia: Elservier; 2009. p. 65-83.

22. Keifer OP, Jr., Hurt RC, Ressler KJ, Marvar PJ. The Physiology of Fear: Reconceptualizing the Role of the Central Amygdala in Fear Learning. Physiology (Bethesda) 2015;30(5):389-401.

23. Izquierdo I, Furini CR, Myskiw JC. Fear Memory. Physiol Rev 2016;96(2):695-750.

24. Pape HC, Pare D. Plastic synaptic networks of the amygdala for the acquisition, expression, and extinction of conditioned fear. Physiol Rev 2010;90(2):419-63.

25. Bergstrom HC. The neurocircuitry of remote cued fear memory. Neurosci Biobehav Rev 2016;71409-17.

26. G. E. Schafe JEL. Neural and Molecular Mechanisms of Fear Memory. In: Byrne JH, editor. Concise Learning and Memory: The Editor's Selection. Slovenia: Elservier; 2008. p. 430-64.

27. Sarinana J, Kitamura T, Kunzler P, Sultzman L, Tonegawa S. Differential roles of the dopamine 1-class receptors, D1R and D5R, in hippocampal dependent memory. Proc Natl Acad Sci U S A 2014;111(22):8245-50.

28. Sotres-Bayon F, Cain CK, LeDoux JE. Brain mechanisms of fear extinction: historical perspectives on the contribution of prefrontal cortex. Biol Psychiatry 2006;60(4):329-36.

29. Yamauchi R, Wada E, Kamichi S, Yamada D, Maeno H, Delawary M, et al. Neurotensin type 2 receptor is involved in fear memory in mice. J Neurochem 2007;102(5):1669-76.

30. Abel T, Lattal KM. Molecular mechanisms of memory acquisition, consolidation and retrieval. Curr Opin Neurobiol 2001;11(2):180-7.

31. A. M. Poulos, K. M. Christian, Thompson RF. Procedural Learning: Classical Conditioning. In: Byrne JH, editor. Concise Learning and Memory: The Editor's Selection. Slovenia: Elsevier; 2008. p. 403-27.

32. Sweatt JD. Rodent Behavioral Learning and Memory Models. In: Sweatt D, editor. Mechanism of Memory. USA: Elservier; 2010. p. 78-103.

33. Fiorenza NG, Rosa J, Izquierdo I, Myskiw JC. Modulation of the extinction of two different fear-motivated tasks in three distinct brain areas. Behav Brain Res 2012;232(1):210-6.

34. Orsini CA, Maren S. Neural and cellular mechanisms of fear and extinction memory formation. Neurosci Biobehav Rev 2012;36(7):1773-802.

35. Kim WB, Cho JH. Synaptic Targeting of Double-Projecting Ventral CA1 Hippocampal Neurons to the Medial Prefrontal Cortex and Basal Amygdala. J Neurosci 2017;37(19):4868-82.

36. Makkar SR, Zhang SQ, Cranney J. Behavioral and neural analysis of GABA in the acquisition, consolidation, reconsolidation, and extinction of fear memory. Neuropsychopharmacology 2010;35(8):1625-52.

37. Kim J, Lee S, Park H, Song B, Hong I, Geum D, et al. Blockade of amygdala metabotropic glutamate receptor subtype 1 impairs fear extinction. Biochem Biophys Res Commun 2007;355(1):188-93.

38. Rodrigues SM, Bauer EP, Farb CR, Schafe GE, LeDoux JE. The group I metabotropic glutamate receptor mGluR5 is required for fear memory formation and long-term potentiation in the lateral amygdala. J Neurosci 2002;22(12):5219-29.

39. Toth M, Ziegler M, Sun P, Gresack J, Risbrough V. Impaired conditioned fear response and startle reactivity in epinephrine-deficient mice. Behav Pharmacol 2013;24(1):1-9.

40. Menezes J, Alves N, Borges S, Roehrs R, de Carvalho Myskiw J, Furini CR, et al. Facilitation of fear extinction by novelty depends on dopamine acting on D1-subtype dopamine receptors in hippocampus. Proc Natl Acad Sci U S A 2015;112(13):E1652-8.

41. Yamazaki Y, Jia Y, Hamaue N, Sumikawa K. Nicotine-induced switch in the nicotinic cholinergic mechanisms of facilitation of long-term potentiation induction. Eur J Neurosci 2005;22(4):845-60.

42. Wilson MA, Fadel JR. Cholinergic regulation of fear learning and extinction. J Neurosci Res 2017;95(3):836-52.

43. Bauer EP. Serotonin in fear conditioning processes. Behav Brain Res 2015;27768-77.

44. Kim BS, Lee J, Bang M, Seo BA, Khalid A, Jung MW, et al. Differential regulation of observational fear and neural oscillations by serotonin and dopamine in the mouse anterior cingulate cortex. Psychopharmacology (Berl) 2014;231(22):4371-81.

45. İzci Y, Erbaş YC. Hipokampus: Yapısı ve Fonksiyonları. Türk Nöroşirüji Dergisi 2015;25(3):287-95.

46. Sweatt JD. Studies of Human Learning and Memory. In: Sweatt JD, editor. Mechanisms of Memory. USA: Elsevier; 2010. p. 25-47.

47. Burwell RD, Agster KL. Anatomy of the Hippocampus and the Declarative Memory System. In: Byrne JH, editor. Concise Learning and Memory: The Editor's Selection. Slovenia: Elsevier; 2008. p. 189-208.

48. Yang Y, Wang JZ. From Structure to Behavior in Basolateral Amygdala-Hippocampus Circuits. Front Neural Circuits 2017;1186.

49. Song J, Olsen RH, Sun J, Ming GL, Song H. Neuronal Circuitry Mechanisms Regulating Adult Mammalian Neurogenesis. Cold Spring Harb Perspect Biol 2016;8(8).

50. Fanselow MS. Contextual fear, gestalt memories, and the hippocampus. Behav Brain Res 2000;110(1-2):73-81.

51. Sutherland R, Rudy JW. Configural association theory: The role of the hippocampal formation in learning, memory, and amnesia1989.

52. Phillips RG, LeDoux JE. Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning. Behav Neurosci 1992;106(2):274-85.

53. Sweatt JD. Associative Learning and Unlearning. In: Sweatt D, editor. Mechanism of Memory. 2 ed. USA: Elservier; 2010. p. 106-27.

54. Gür E. The Long-Lasting Effects of Extinction During the Recondalidation Process of Fear Memory [Yüksek Lisans]. İzmir: İzmir Ekonomi Üniversitesi; 2014.

55. Kim JJ, Jung MW. Neural circuits and mechanisms involved in Pavlovian fear conditioning: a critical review. Neurosci Biobehav Rev 2006;30(2):188-202.

56. Fuxe K, Von Euler G, Agnati LF, Merlo Pich E, O'Connor WT, Tanganelli S, et al. Intramembrane interactions between neurotensin receptors and dopamine D2 receptors as a major mechanism for the neuroleptic-like action of neurotensin. Ann N Y Acad Sci 1992;668186-204.

57. Binder EB, Kinkead B, Owens MJ, Nemeroff CB. Neurotensin and dopamine interactions. Pharmacol Rev 2001;53(4):453-86.

58. Vita N, Laurent P, Lefort S, Chalon P, Dumont X, Kaghad M, et al. Cloning and expression of a complementary DNA encoding a high affinity human neurotensin receptor. FEBS Lett 1993;317(1-2):139-42.

59. Mazella J, Botto JM, Guillemare E, Coppola T, Sarret P, Vincent JP. Structure, functional expression, and cerebral localization of the levocabastine-sensitive neurotensin/neuromedin N receptor from mouse brain. J Neurosci 1996;16(18):5613-20.

60. Mazella J, Zsurger N, Navarro V, Chabry J, Kaghad M, Caput D, et al. The 100-kDa neurotensin receptor is gp95/sortilin, a non-G-protein-coupled receptor. J Biol Chem 1998;273(41):26273-6.

61. Di Fruscia P, He Y, Koenig M, Tabrizifard S, Nieto A, McDonald PH, et al. The discovery of indole full agonists of the neurotensin receptor 1 (NTSR1). Bioorg Med Chem Lett 2014;24(16):3974-8.

62. Antonelli T, Fuxe K, Tomasini MC, Mazzoni E, Agnati LF, Tanganelli S, et al. Neurotensin receptor mechanisms and its modulation of glutamate transmission in the brain: relevance for neurodegenerative diseases and their treatment. Prog Neurobiol 2007;83(2):92-109.

63. Antonelli T, Tomasini MC, Finetti S, Giardino L, Calza L, Fuxe K, et al. Neurotensin enhances glutamate excitotoxicity in mesencephalic neurons in primary culture. J Neurosci Res 2002;70(6):766-73.

64. Antonelli T, Ferraro L, Fuxe K, Finetti S, Fournier J, Tanganelli S, et al. Neurotensin enhances endogenous extracellular glutamate levels in primary cultures of rat cortical neurons: involvement of neurotensin receptor in NMDA induced excitotoxicity. Cereb Cortex 2004;14(4):466-73.

65. Dobner PR. Neurotensin and pain modulation. Peptides 2006;27(10):2405-14.

66. Driessen TM, Zhao C, Whittlinger A, Williams H, Gammie SC. Endogenous CNS expression of neurotensin and neurotensin receptors is altered during the postpartum period in outbred mice. PLoS One 2014;9(1):e83098.

67. Jean Mazella, Philippe Sarret, Jean-Pierre Vincent. Neurotensin receptors. IUPHAR/BPS Guide to Pharmacology. (Son erişim zamanı: 08.03.2019), http://www.guidetopharmacology.org/GRAC/FamilyDisplayForward?familyId=47.

68. Levine AS, Kneip J, Grace M, Morley JE. Effect of centrally administered neurotensin on multiple feeding paradigms. Pharmacol Biochem Behav 1983;18(1):19-23.

69. Vadnie CA, Hinton DJ, Choi S, Choi Y, Ruby CL, Oliveros A, et al. Activation of neurotensin receptor type 1 attenuates locomotor activity. Neuropharmacology 2014;85482-92.

70. Wolf SS, Hyde TM, Saunders RC, Herman MM, Weinberger DR, Kleinman JE. Autoradiographic characterization of neurotensin receptors in the entorhinal cortex of schizophrenic patients and control subjects. J Neural Transm Gen Sect 1995;102(1):55-65.

71. Holly EN, Ebrecht B, Prus AJ. The neurotensin-1 receptor agonist PD149163 inhibits conditioned avoidance responding without producing catalepsy in rats. Eur Neuropsychopharmacol 2011;21(7):526-31.

72. Geisler S, Berod A, Zahm DS, Rostene W. Brain neurotensin, psychostimulants, and stress--emphasis on neuroanatomical substrates. Peptides 2006;27(10):2364-84.

73. Fuxe K, Agnati LF, Andersson K, Eneroth P, Harfstrand A, Goldstein M, et al. Studies on neurotensin catecholamine interactions in the hypothalamus and in the forebrain of the male rat. Neurochem Int 1984;6(6):737-50.

74. Wolfe RR, Allsop JR, Burke JF. Increased glucose production following neurotensin administration. Life Sci 1978;22(12):1043-8.

75. Gudelsky GA, Berry SA, Meltzer HY. Neurotensin activates tuberoinfundibular dopamine neurons and increases serum corticosterone concentrations in the rat. Neuroendocrinology 1989;49(6):604-9.

76. Rowe W, Viau V, Meaney MJ, Quirion R. Central administration of neurotensin stimulates hypothalamic-pituitary-adrenal activity. The paraventricular CRF neuron as a critical site of action. Ann N Y Acad Sci 1992;668365-7.

77. Nakamura H, Moroji T, Nohara S, Nakamura H, Okada A. Effects of whole-body vibration stress on substance P- and neurotensin-like immunoreactivity in the rat brain. Environ Res 1990;52(2):155-63.

78. Nicot A, Rostene W, Berod A. Hypercorticism induces neurotensin mRNA in rat periventricular hypothalamus. Neuroreport 1995;6(16):2158-60.

79. Watts AG, Sanchez-Watts G. Region-specific regulation of neuropeptide mRNAs in rat limbic forebrain neurones by aldosterone and corticosterone. J Physiol 1995;484 (Pt 3)721-36.

80. Peeters PJ, Fierens FL, van den Wyngaert I, Goehlmann HW, Swagemakers SM, Kass SU, et al. Gene expression profiles highlight adaptive brain mechanisms in corticotropin releasing factor overexpressing mice. Brain Res Mol Brain Res 2004;129(1-2):135-50.

81. Lenard L, Laszlo K, Kertes E, Ollmann T, Peczely L, Kovacs A, et al. Substance P and neurotensin in the limbic system: Their roles in reinforcement and memory consolidation. Neurosci Biobehav Rev 2018;851-20.

82. Tirado-Santiago G, Lazaro-Munoz G, Rodriguez-Gonzalez V, Maldonado-Vlaar CS. Microinfusions of neurotensin antagonist SR 48692 within the nucleus accumbens core impair spatial learning in rats. Behav Neurosci 2006;120(5):1093-102.

83. Gully D, Canton M, Boigegrain R, Jeanjean F, Molimard JC, Poncelet M, et al. Biochemical and pharmacological profile of a potent and selective nonpeptide antagonist of the neurotensin receptor. Proc Natl Acad Sci U S A 1993;90(1):65-9.

84. Laszlo K, Toth K, Kertes E, Peczely L, Ollmann T, Lenard L. Effects of neurotensin in amygdaloid spatial learning mechanisms. Behav Brain Res 2010;210(2):280-3.

85. Xiao Z, Cilz NI, Kurada L, Hu B, Yang C, Wada E, et al. Activation of neurotensin receptor 1 facilitates neuronal excitability and spatial learning and memory in the entorhinal cortex: beneficial actions in an Alzheimer's disease model. J Neurosci 2014;34(20):7027-42.

86. Keiser AA, Matazel KS, Esser MK, Feifel D, Prus AJ. Systemic administration of the neurotensin NTS(1)-receptor agonist PD149163 improves performance on a memory task in naturally deficient male brown Norway rats. Exp Clin Psychopharmacol 2014;22(6):541-7.

87. Grimond-Billa SK, Norman C, G WB, Cassaday HJ. Selectively increased trace conditioning under the neurotensin agonist PD 149163 in an aversive procedure in which SR 142948A was without intrinsic effect. J Psychopharmacol 2008;22(3):290-9.

88. Wenk GL, Markowska AL, Olton DS. Basal forebrain lesions and memory: alterations in neurotensin, not acetylcholine, may cause amnesia. Behav Neurosci 1989;103(4):765-9.

89. Jansen KL, Faull RL, Dragunow M, Synek BL. Alzheimer's disease: changes in hippocampal N-methyl-D-aspartate, quisqualate, neurotensin, adenosine, benzodiazepine, serotonin and opioid receptors--an autoradiographic study. Neuroscience 1990;39(3):613-27.

90. Gahete MD, Rubio A, Cordoba-Chacon J, Gracia-Navarro F, Kineman RD, Avila J, et al. Expression of the ghrelin and neurotensin systems is altered in the temporal lobe of Alzheimer's disease patients. J Alzheimers Dis 2010;22(3):819-28.

91. Hillhouse TM, Shankland Z, Matazel KS, Keiser AA, Prus AJ. The quetiapine active metabolite N-desalkylquetiapine and the neurotensin NTS(1) receptor agonist PD149163 exhibit antidepressant-like effects on operant responding in male rats. Exp Clin Psychopharmacol 2014;22(6):548-56.

92. Prus AJ, Hillhouse TM, LaCrosse AL. Acute, but not repeated, administration of the neurotensin NTS1 receptor agonist PD149163 decreases conditioned footshock-induced ultrasonic vocalizations in rats. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2014;4978-84.

93. Carey LM, Rice RJ, Prus AJ. The Neurotensin NTS1 Receptor Agonist PD149163 Produces Antidepressant-Like Effects in the Forced Swim Test: Further Support for Neurotensin as a Novel Pharmacologic Strategy for Antidepressant Drugs. Drug Dev Res 2017;78(5):196-202.

94. Heaulme M, Leyris R, Soubrie P, Le Fur G. Stimulation by neurotensin of (3H)5-hydroxytryptamine (5HT) release from rat frontal cortex slices. Neuropeptides 1998;32(5):465-71.

95. Petkova-Kirova P, Rakovska A, Zaekova G, Ballini C, Corte LD, Radomirov R, et al. Stimulation by neurotensin of dopamine and 5-hydroxytryptamine (5-HT) release from rat prefrontal cortex: possible role of NTR1 receptors in neuropsychiatric disorders. Neurochem Int 2008;53(6-8):355-61.

96. Sotty F, Brun P, Leonetti M, Steinberg R, Soubrie P, Renaud B, et al. Comparative effects of neurotensin, neurotensin(8-13) and [D-Tyr(11)]neurotensin applied into the ventral tegmental area on extracellular dopamine in the rat prefrontal cortex and nucleus accumbens. Neuroscience 2000;98(3):485-92.

97. Prus AJ, Huang M, Li Z, Dai J, Meltzer HY. The neurotensin analog NT69L enhances medial prefrontal cortical dopamine and acetylcholine efflux: potentiation of risperidone-, but not haloperidol-, induced dopamine efflux. Brain Res 2007;1184354-64.

98. Toda H, Boku S, Nakagawa S, Inoue T, Kato A, Takamura N, et al. Maternal separation enhances conditioned fear and decreases the mRNA levels of the neurotensin receptor 1 gene with hypermethylation of this gene in the rat amygdala. PLoS One 2014;9(5):e97421.

99. Yamauchi R, Wada E, Yamada D, Yoshikawa M, Wada K. Effect of beta-lactotensin on acute stress and fear memory. Peptides 2006;27(12):3176-8

ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİLLER

Şekil 1. Saklanan bilginin niteliğine göre belleğin sınıflandırılması ve ilgili beyin bölgeleri... 5
Şekil 2. Klasik korku koşullanmanın basitleştirilmiş sinirsel devreleri..... 8
Şekil 3. Uyarının hipokampüs içinde ilerleyerek çıkış yaptığı yapılar ve aracılık eden aferent yollar 13
Şekil 4. NT ve P maddesinin limbik sistemdeki varsayımsal yoklakları..... 18
Şekil 5. Rota-rod cihazı 22
Şekil 6. Korku koşullanma cihazı dış görünüm (solda), korku koşullanma cihazı iç görünüm (sağda)..... 23
Şekil 7. Korku yanıtlarının kaydedildiği yazılım 24
Şekil 8. İpuçlu korku koşullanma testlerinin birinci gününde alınan kayıtlar (solda) ve deney düzeneği (sağda) 25
Şekil 9. İpuçlu korku koşullanma testlerinin ikinci gününde alınan kayıtlar (solda) ve deney düzeneği (sağda) 25
Şekil 10. Bağlamsal korku koşullanma testinde 1. gün NT reseptör agonisti uygulanan gruplarda toplam donma süreleri 27
Şekil 11. Bağlamsal korku koşullanma testinde 2. gün NT reseptör agonisti uygulanan gruplarda toplam donma süreleri 28
Şekil 12. Bağlamsal korku koşullanma testinde 1. gün NT reseptör antagonisti uygulanan gruplarda toplam donma süreleri 29
Şekil 13. Bağlamsal korku koşullanma testinde 2. gün NT reseptör antagonisti uygulanan gruplarda toplam donma süreleri 30

Şekil 14. İpuçlu korku koşullanma testinde 1. gün NT reseptör agonisti uygulanan gruplarda toplam donma süreleri..... …31
Şekil 15. İpuçlu korku koşullanma testinde 2. gün NT reseptör agonisti uygulanan gruplarda toplam donma süreleri..... 32
Şekil 16. İpuçlu korku koşullanma testlerinde 1. gün NT reseptör antagonisti uygulanan gruplarda toplam donma süreleri..... 33
Şekil 17. İpuçlu korku koşullanma testlerinde 2. gün NT reseptör antagonisti uygulanan gruplarda toplam donma süreleri..... 34
Şekil 18. Bağlamsal korku koşullanmada NT reseptör agonisti uygulanan gruplarda Rota-rod testinde mil üzerinde toplam kalınan süre..... 35
Şekil 19. Bağlamsal korku koşullanmada NT reseptör antagonisti uygulanan gruplarda Rota-rod testinde mil üzerinde toplam kalınan süre..... 36
Şekil 20. İpuçlu korku koşullanmada NT reseptör agonisti uygulanan gruplarda Rota-rod testinde mil üzerinde toplam kalınan süre..... 37
Şekil 21. İpuçlu korku koşullanmada NT reseptör antagonisti uygulanan gruplarda Rota-rod testinde mil üzerinde toplam kalınan süre..... 38

TABLOLAR

Tablo 1. NTS_1, NTS_2 ve NTS_3'ün reseptör sınıflandırması, eksprese edildiği dokular ve agonist-antagonistleri..... 15
Tablo 2. Nörotensin reseptör tipleri ve ikinci ulak sistemleri..... 16
Tablo 3. Bağlamsal korku koşullanma testlerinde uygulanan enjeksiyonlar..... 20
Tablo 4. İpuçlu korku koşullanma testlerinde uygulanan enjeksiyonlar..... 21

ÖZGEÇMİŞ

Tekirdağ'ın Çorlu ilçesinde 1988 yılında doğdum. İlköğretimi Tekirdağ'ın Muratlı ilçesinde, ortaöğretimi Çorlu'da tamamladım. 2006 yılında Eskişehir Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi 'nde başladığım lisans eğitimimi 2011 yılında tamamladım. 2011-2014 yılları arasında Tekirdağ Hayrabolu İlçe Devlet Hastanesinde görev yaptım. 2014 yılından bu güne Tekirdağ Muratlı İlçe Devlet Hastanesinde görev yapmaktayım. Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans programına 2015 yılında başladım.

EKLER

Ek-1

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(Trakya University, Local Ethics Committee of Animal Experiments)

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Oturum Sayısı: 2017/06 **Karar Tarihi: 30.06.2017**

KARAR NO: 2017.06.04

Yürütücülüğünü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Ruhan Deniz TOPUZ'un yaptığı, Ecz. Sedef AKBAŞ'ın Yüksek Lisanas tezi olarak planlanan TÜHADYEK-2017/20 protokol nolu "**Nörotensinin farelerde ipuçlu ve bağlamsal korku koşullanma üzerine etkisi**'' başlıklı çalışma görüşüldü. Araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan deneyleri yerel etik kurulu yönergesinde belirtilen ilke ve kurallara uygun bulunarak, çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Enis ULUÇAM
Başkan
Araştırma ile İlişki: □ var ☒yok
Toplantı Katılım: ☒ evet □ hayır

Vet. Hekim Ziya ÇUKUR
Vet. Hek. Üye
Araştırma ile İlişki: □ var □yok
Toplantı Katılım: □ evet □ hayır

Yrd. Doç. Dr. Hayati ARDA
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: □ var □yok
Toplantı Katılım: □ evet □ hayır

Yrd. Doç. Dr. Beytullah ÖZKAN
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: □ var □yok
Toplantı Katılım: □ evet □ hayır

Prof. Dr. Y. Atakan SEZER
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: □ var □yok
Toplantı Katılım: □ evet □ hayır

Doç. Dr. Tevfik AKTOZ
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: □ var ☒yok
Toplantı Katılım: ☒ evet □ hayır

Doç. Dr. Hakan GÜRKAN
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: □ var ☒yok
Toplantı Katılım: ☒ evet □ hayır

-İZİNLİ-
Doç. Dr. Elvan BAKAR
Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: □ var □yok
Toplantı Katılım: □ evet □ hayır

-KATILMADI-
Ecz. F. Uygar GÜLER
Sivil Toplum Kuruluşu Sivil Üye
Araştırma ile İlişki: □ var □yok
Toplantı Katılım: □ evet □ hayır

-KATILMADI-
Osman GÜLTEKİN
Sivil Üye
Araştırma ile İlişki: □ var □yok
Toplantı Katılım: □ evet □ hayır