

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

STRES MARUZİYETİ SONRASI UYGULANAN TİMOKİNON TEDAVİSİNİN  
SIÇANLARDA ÖĞRENME VE BELLEK ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN NMDA  
RESEPTÖRLERİ İLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Eda ALTUNTAŞ

Sinir Bilimi Anabilim Dalı

Sinir Bilimi Tezli Yüksek Lisans Programı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Savaş ÜSTÜNOVA

OCAK, 2024

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

STRES MARUZİYETİ SONRASI UYGULANAN TİMOKİNON TEDAVİSİNİN  
SIÇANLARDA ÖĞRENME VE BELLEK ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN NMDA  
RESEPTÖRLERİ İLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Eda ALTUNTAŞ  
215317001

Sinir Bilimi Anabilim Dalı

Sinir Bilimi Tezli Yüksek Lisans Programı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Savaş ÜSTÜNOVA

OCAK, 2024

Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 205317001 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Eda ALTUNTAŞ, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "Stres Maruziyeti Sonrası Uygulanan Timokinon Tedavisinin Sıçanlarda Öğrenme ve Bellek Üzerindeki Etkisinin NMDA Reseptörleri ile İlişkinin Değerlendirilmesi" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

**Tez Danışmanı :** **Doç. Dr. Savaş ÜSTÜNOVA** .....  
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

**Jüri Üyeleri :** **Doç. Dr. Ferda USLU** .....  
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

**Doç. Dr. Birsen ELİBOL** .....  
İstanbul Medeniyet Üniversitesi

**Teslim Tarihi** : 01.02.2024

**Savunma Tarihi** : 18.01.2024

## ÖNSÖZ

Tez konumun oluşturulmasından, tezimin bitimine kadar değerli fikir ve görüşleri ile bana her zaman yol gösteren ve bu süreçte hiçbir konuda desteğini esirgemeyen kıymetli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Savaş ÜSTÜNOVA'ya,

Yüksek lisans eğitimim süresince yanımda olan, cesaretlendiren, çalışmanın yürütülmesinde emeği geçen hocam Sayın Öğr. Gör. Aysu KILIÇ'a ve Bezmialem Vakıf Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalının değerli araştırma görevlileri Sayın Betül Esra İpek, Mert YILMAZ ve Yasin Ali ÇİMEN'e,

Beni her zaman destekleyen, ne olursa olsun hep yanımda olan, beni çok seven kıymetli aileme ve arkadaşşıma teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından 20221208 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Ocak 2024

Eda ALTUNTAŞ  
Öğretmen

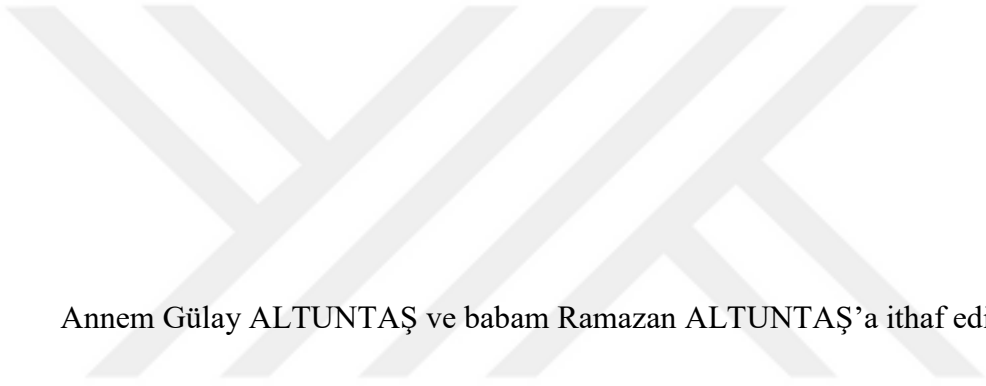
## **BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Eda ALTUNTAŞ



## İTHAF



Annem Gülay ALTUNTAŞ ve babam Ramazan ALTUNTAŞ'a ithaf ediyorum.

# İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	iv
BEYAN.....	v
İTHAF.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
KISALTMALAR.....	viii
SEMBOLLER .....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
ÖZET.....	xii
SUMMARY .....	xiii
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>4</b>
2.1 Stres.....	4
2.1.1. Tanım .....	4
2.1.2. Stres Çeşitleri .....	5
2.1.3. Stres ve Hipotalamik-Hipofizer Adrenal Eksen (HPA Eksen) İlişkisi...6	
2.2. Öğrenme ve Bellek.....	8
2.2.1. Öğrenme Nasıl Gerçekleşir? .....	8
2.2.2. Kısa Süreli ve Uzun Süreli Bellek Çeşitleri .....	8
2.3 Hipokampus .....	9
2.4 Stresin Öğrenme ve Bellek Üzerine Etkisi.....	11
2.5 NMDAR ve Öğrenme .....	11
2.6 Oksidatif Stresin Öğrenme ve Bellek Üzerine Etkisi.....	13
2.6 Timokinon.....	15
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>17</b>
3.2 Deneysel Uygulamalar.....	17
3.2.1. Açık Alan Testi .....	20
3.2.2. Yükseltmiş Artı Labirent Testi .....	21
3.2.3. Pasif Sakınma Testi.....	21
3.2.4. Morris Su Labirenti Testi .....	22
3.3 Biyokimyasal Çalışmalar .....	23
3.4 İstatistiksel Analiz.....	24
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>26</b>
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>43</b>
<b>6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>	<b>50</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>51</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>58</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>60</b>

## **KISALTMALAR**

<b>ACTH</b>	: Adrenokortikotropik hormon
<b>APV</b>	: DL-2-amino5-fosfonovaleik asit
<b>BDNF</b>	: Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>CREB</b>	: Cyclic AMP-Response Element Binding Protein
<b>CRF</b>	: Hipotalamus, kortikotropin salgılatan faktör
<b>GABA</b>	: Gama Aminobütirik Asit
<b>GC</b>	: glukokortikoid
<b>GPx</b>	: Glutasyon peroksidaz
<b>HPA</b>	: Hipotalamik-hipofizer adrenal eksen
<b>LTD</b>	: Uzun süreli depresyon
<b>LTP</b>	: Uzun süreli potansiyasyon
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>NF-κB</b>	: Nükleer faktör kappa B
<b>NMDA</b>	: N-metil-D-aspartat reseptörü
<b>OSS</b>	: Otonom sinir sistemi
<b>RNI</b>	: Reaktif nitrojen ara ürünleri
<b>ROS.</b>	: Reaktif oksijen türleri
<b>SOD</b>	: Süperoksit Dismutaz
<b>TQ:</b>	: Timokinon

## **SEMBOLLER**

**%** : Yüzde  
**°C** : Santigrat derece  
**cm** : Santimetre



## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 1: Stresin HPA aksı sonucu immun sistemi etkilemesinin şematik gösterimi....	7
Şekil 2: Hipokampusün şematik gösterimi.....	9
Şekil 3: LTP indüksiyonu şeması.....	12
Şekil 4: Hayvanlara gavaj yöntemiyle TQ verilmesinin gösterimi.....	19
Şekil 5: Hayvanlara uygulanan restraint stres gösterimi.....	19
Şekil 6: Deneysel prosedürün şematik gösterimi.....	20
Şekil 7: Deneysel uygulamardan görüntüler.....	20
Şekil 8: Hayvanların açık alan testinden görüntü.....	21
Şekil 9: Hayvanların kapalı ve açık kollarda gezinme konumlarının gösterimi.....	22
Şekil 10: Pasif sakinme testi uygulamasında öğrenme periyodundan görüntü.....	23
Şekil 11: Morris su labirenti testinde kullanılan ipucu simgeler.....	24
Şekil 12: Deney gruplarının açık alan testinde orta alanda bulunma süreleri.....	26
Şekil 13: Deney gruplarının açık alan testinde orta alana geçme sıklığı.....	27
Şekil 14: Deney gruplarının açık alan testinde kenar alanda geçirdikleri süreleri.....	27
Şekil 15: Deney gruplarının açık alan testinde hayvanların şahlanma sayıları.....	28
Şekil 16: Deney gruplarının açık alan testindeki hayvanların temizlenme sayıları..	29
Şekil 17: Deney gruplarının açık alan testindeki hayvanların temizlenme süreleri..	29
Şekil 18: Deney gruplarının açık alan testindeki hayvanların temizlenme süreleri....	30
Şekil 19: Deney gruplarının açık alan testindeki hayvanların karanlık bölüme geçiş süresi.....	31
Şekil 20: Deney gruplarının yükseltilmiş artı labirent testindeki hayvanların kapalı bölümde geçirdikleri süre.....	31
Şekil 21: Deney gruplarının yükseltilmiş artı labirent testindeki hayvanların açık bölümde geçirdikleri süre.....	32
Şekil 22: Deney gruplarının (yükseltilmiş artı labirent testindeki hayvanların orta bölümde geçirdikleri süre.....	32
Şekil 23: Deney gruplarının Morris su tankı testinde hayvanların platformu bulma süreleri.....	33
Şekil 24: Deney gruplarının Morris su tankı testinde hayvanların katettikleri mesafeleri.....	34
Şekil 25: Deney gruplarının Morris su tankı testinde hayvanların yüzme hızları.....	34
Şekil 26: Deney gruplarının Morris su tankı testinde hayvanların platform bölgesinde geçirdikleri süre.....	35
Şekil 27: Deney gruplarının Morris su tankı testinde hayvanların platform kadranına giriş sıklığı.....	35
Şekil 28: Deney gruplarının hipokampus BDNF düzeyleri.....	36
Şekil 29: Deney gruplarının hipokampus MDA düzeyleri.....	37
Şekil 30: Deney gruplarının hipokampus NMDA düzeyleri.....	37
Şekil 31: Deney gruplarının hipokampus GABA düzeyleri.....	38
Şekil 32: Deney gruplarının hipokampus NF-κB düzeyleri.....	38
Şekil 33: Deney gruplarının hipokampus CREB düzeyleri.....	39
Şekil 34: Deney gruplarının hipokampus CAT düzeyleri.....	40
Şekil 35: Deney gruplarının hipokampus SOD düzeyleri.....	40

<b>Şekil 36:</b> Deney gruplarının kan serumlarında CAT düzeyi .....	41
<b>Şekil 37:</b> Deney gruplarının kan serumlarında kortizol düzeyi.....	41
<b>Şekil 38:</b> Deney gruplarının kan serumlarında MDA düzeyi .....	42
<b>Şekil 39:</b> Deney gruplarının kan serumlarında epinefrin düzeyi .....	42



# STRES MARUZİYETİ SONRASI UYGULANAN TIMOKİNON TEDAVİSİNİN SIÇANLARDA ÖĞRENME VE BELLEK ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN NMDA RESEPTÖRLERİ İLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

## ÖZET

Modern çağın hastalığı olarak nitelendirilen stres, hayata devam edebilme şansını arttırmak amacıyla birçok vücut sisteminin uyumunu içeren bir tepkidir. N-Metil D-Aspartat (NMDA) reseptörleri, öğrenme ve bellek süreçlerinde kritik bir rol oynar. Stres, bu reseptörlerin işleyişini etkileyerek öğrenme ve bellek yeteneklerimizi etkileyebilir. Timokinon, *Nigella sativa* bitkisinden elde edilen ve nöroprotektif özelliklere sahip bir bileşendir. Bu çalışma, stresin beyin üzerindeki etkilerini ve timokinonun bu etkileri nasıl modüle ettiğini, öğrenme ve bellek üzerindeki olası iyileştirici etkilerini anlamayı hedeflemektedir. Çalışmada 28 adet erkek *Wistar albino* sıçan kullanıldı. Sıçanlar kontrol, timokinon, stres ve timokinon tedavisi uygulanan stres grupları olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Deneyde, sıçanların anksiyete düzeylerini ve öğrenme-bellek kapasitelerini değerlendirmek için açık alan testi, yükseltilmiş artı labirent testi, pasif sakınma testi ve Morris su labirenti testi uygulandı. Açık alan ve yükseltilmiş labirent testlerinde, timokinon tedavisi uygulanan sıçanların anksiyete düzeylerinde belirgin bir azalma gözlemlendi ( $p<0.05$ ). Morris su labirenti testlerinde, hayvanların platformu bulma süreleri incelendiğinde timokinon tedavisi uygulanan sıçanlar, stres altında olmayan kontrollere kıyasla daha iyi bellek performansı gösterdi ( $p<0.01$ ). Çalışmada ayrıca hipokampus dokusu homojenatı örneklerinde NMDA, beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), gama aminobütirikAsit (GABA) ve katalaz (CAT) seviyeleri, serum örneklerinde ise kortizol, epinefrin düzeyleri doku ve kan örneklerinde ortak olarak CAT ve MDA ELISA yöntemi ile ölçüldü. Kortizol seviyesinin ölçümlerinde stres grubuna kıyasla timokinon grubunda istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.05$ ) artma, serum epinefrin ve CAT düzeylerinde ise stres grubuna kıyasla stres+timokinon grubunda istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.05$ ) bir artış tespit edilmiştir. Doku homejenatı örneklerinde BDNF, NMDA, GABA ve CAT düzeyleri ölçümlerinde stres grubuna kıyasla stres+timokinon grubunda istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.01$ ) bir artış, SOD ve NMDA ölçümlerinde ise stres grubuna kıyasla timokinon grubunda istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.05$ ) artma tespit edildi. Bu bulgular, timokinonun özellikle NMDA reseptörleri üzerinden etki ederek öğrenme ve belleği iyileştirdiğini göstermektedir. Bu çalışma, stresin öğrenme ve bellek üzerindeki olumsuz etkilerinin, timokinon tedavisiyle hafifletilebileceğini aynı zamanda nörolojik bozuklukların tedavisinde timokinonun potansiyel kullanımını işaret etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Stres, Timokinon, NMDA, Öğrenme ve Bellek

# EVALUATION OF THE EFFECT OF THYMOQUINONE TREATMENT APPLIED AFTER STRESS EXPOSURE ON LEARNING AND MEMORY IN RATS AND ITS RELATIONSHIP WITH NMDA RECEPTORS

## SUMMARY

Stress, described as the disease of the modern age, is a reaction that involves the adaptation of many body systems in order to increase the chance of continuing life. N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors play a critical role in learning and memory processes. Stress can affect the functioning of these receptors, affecting our learning and memory abilities. Thymoquinone is a compound derived from the *Nigella sativa* plant that has neuroprotective properties. This study aims to understand the effects of stress on the brain and how thymoquinone modulates these effects and its possible ameliorative effects on learning and memory. In the study, 28 male *Wistar albino* rats were used. The rats were divided into 4 groups: control, thymoquinone, stress and thymoquinone-treated stress groups. In the experiment, open field test, elevated plus maze test, passive avoidance test and Morris water maze test were applied to evaluate the anxiety levels and learning-memory capacities of the rats. In the open field and elevated plus maze tests, a significant decrease in the anxiety levels of thymoquinone treated rats was observed ( $p < 0.05$ ). When the animals' time to find the platform was examined in the Morris water maze test, thymoquinone-treated rats showed better memory performance compared to non-stressed controls ( $p < 0.01$ ). Additionally, NMDA, brain derived neurotrophic factor (BDNF), gamma aminobutyric acid (GABA) and catalase (CAT) levels in the hippocampus tissue homogenate samples and cortisol levels in the serum samples were measured by ELISA. There was a statistically significant ( $p < 0.05$ ) increase in cortisol levels in the thymoquinone group compared to the stress group, and a statistically significant ( $p < 0.05$ ) increase in serum epinephrine and CAT levels in the stress+thymoquinone group compared to the stress group. In the measurements of BDNF, NMDA, GABA and CAT levels in tissue homogenate samples, a statistically significant ( $p < 0.01$ ) increase was found in the stress+thymoquinone group compared to the stress group, and a statistically significant ( $p < 0.05$ ) increase was found in the SOD and NMDA levels in the thymoquinone group compared to the stress group. These findings show that thymoquinone improves learning and memory especially by acting through NMDA receptors. This study indicates that the negative effects of stress on learning and memory can be alleviated by thymoquinone treatment and also indicates the potential use of thymoquinone in the treatment of neurological disorders.

**Keywords:** Stress, Thymoquinone, NMDA, Learning and Memory

## 1. GİRİŞ

Stres, istenmeyen, güçlükler, zorluklar ya da stresörler sebebiyle vücudun gösterdiği olağan psikofizyolojik tepkidir. Stresin sinir sistemini özellikle de beyin hasarlarını etkilediği uzun süredir bilinen bir gerçektir. Stresörler beyin bölgelerinde deformasyona neden olarak beynin fonksiyonel eksikliklerini ortaya çıkarır [1, 2].

İnsanlarda olduğu gibi hayvanların da farklı çevresel etkilere maruz kalması, çeşitli fizyolojik değişimlerin meydana gelmesine neden olur ve bu durum genellikle iki başlık altında değerlendirilir. Bunlardan ilki, 1935 yılında ilk olarak Cannon ile ortaya çıkan akut stres tepkisidir. İkinci başlık ise 1936 yılında ilk defa Selye tarafından ortaya atılan kronik stres tepkisidir [2, 3].

Akut stres, kısa zamanlı, uyarlanabilir hali ifade eder, buna karşın kronik stres, bedensel mekanizmaların üzerinde olumsuz etkiler oluşturan ve sonucunda uyumsuz tepkiyle uzun zamanlı ilişki kuran haldir. Kronik, uzun süreli veya kalıcı stres, vücuttaki belirli hormonların ya da kimyasalların salgılanması ile sonuçlanır [3, 4]. Vücutta oluşan sürekli stres hali kalp, beyin gibi hayati organları çeşitli yönlerden olumsuz olarak etkiler. Kronik stres, genel olarak, depresyon, anksiyete, öğrenme ve bellek bozukluğu gibi bilişsel bozukluklar da dahil çeşitli zihinsel bozukluklara kaynak olan risk faktörü olarak bilinir [2-4].

Stresin beyinde oluşturduğu olumsuz etkiler süresine göre farklılık gösterir ve beynin uzun süreli strese maruz kalması yapısal bozukluklara sebebiyet vererek psikolojik ve fizyolojik değişikliklere neden olur. Kronik strese bağlı oluşan beyin atrofisi gibi yapısal değişiklikler, çeşitli tepkilere yol açar ve bu da biliş ve hafıza üzerindeki etkisinin araştırılmasını gerektirir [4, 5]. Bu bağlamda, yapılan araştırmalar, şiddetli, uzun süreli stresin sıçan hipokampusünde varolan piramidal hücrelerin dendritik dallanmasını azalttığını göstermiştir.

Ek olarak, stresin insanlardaki bilişsel işlevlerin azalmasına neden olduğu ve bu

azalmanın da doğrudan hipokampüsün aktivitesi ile ilişkili olduğunu belirtmektedir. Öğrenme ve bellek oluşumunun dışında, beyin bölgesinin iki kritik alanı olan hipokampüs ve prefrontal korteksin kronik stresten etkilendiğini ve kaygı, endişe gibi davranışların oluşmasında etkili olduğuna dair kanıtlar sunulmuştur. Literatür, stresin bu beyin bölgelerindeki hücresel bütünleşmeyi ve aktif katılımını etkilediğini göstermiştir. Ayrıca çeşitli araştırmalar, stresin sebep olduğu nöroinflamasyon ve serbest oksijen radikallerinin üretiminin arttırması ile hipokampüsün olumsuz etkilendiğini ve nihayetinde nöron kaybı ile sonuçlandığını göstermiştir [3-5].

Hipokampüsün öğrenme ve bellekteki rolüne hipokampüste bulunan N-metil-D-aspartat (NMDA) glutamat reseptörlerinin aracılık ettiği bilinmektedir. Ek olarak hipokampüsteki nörojenez de öğrenme ve bellek işlevleri için ciddi öneme sahiptir. NMDA reseptörleri ve nörojenez, hipokampusta stres hormonları tarafından etkilenen bir yapıdadır. Bu sebeple, NMDA reseptörlerinin baskılanması, hipokampüsün morfolojik bozukluğu üzerindeki stres etkilerini sınırlar [5, 6].

NMDA reseptörler antagonistleri, hayvan modellerinde stres kaynaklı depresyon ve kaygıyı engeller, bu göz önüne alındığında, kronik stresin öğrenme ve bellek bozukluklarına neden olduğu söylenebilir. NMDA, nöronal gelişim sürecinde sinaptik plastisite için glutamat reseptörlerinin anahtar molekülüdür [2, 5, 6].

Bitkisel ilaçlar, bulunabilirlik ve uygulama kolaylığı sağlamasıyla, pek çok nörodejeneratif bozukluğun tedavisi için yaygın olarak kullanılmaktadır. Ranunculaceae familyasına ait, kalonji tohumları olarak da bilinen çörek otu (*N. sativa*), tek yıllık bir bitkidir. Kuzey Afrika, Güney Avrupa, Güney ve Güneybatı Asya'da çok fazla üretilir ve Akdeniz ülkelerinde yaşayan insanlar arasında popülerdir. Binlerce yıldır birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. *N. sativa*'nın nöroprotektif, anti-oksidatif ve anti-inflamatuvar etkileri olduğu önesürülmüştür [7, 8].

## 1.1 Tezin Amacı

Bu tezde, stres maruziyetinin neden olacağı bilişsel hasarın öğrenme ve bellek üzerindeki etkisinin NMDA reseptörleri aracılığıyla olan etkileşiminin incelenmesinin yanı sıra timokinon tedavisinin potansiyel iyileştirici etkisi de incelenmiştir. Öğrenme ve bellek üzerinde stres maruziyeti ile oluşan nörodejeneratif etkinin timokinon (TQ)

ile önlenip önlenemeyeceğinin sıçanlar üzerinde uygulanacak davranış testleri ve biyokimyasal analizlerle değerlendirilmesi amaçlanmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Stres

#### 2.1.1 Tanım

Modern çağın hastalığı olarak nitelendirilen stres aslında hayatın bir parçasıdır. Hayat akışında meydana gelen herhangi bir zihinsel değişiklik, sağlığımızda oluşan farklılıklar, başımıza gelen anlaşmazlıklar, tartışmalar, yorumlar stres verici durumlardır [9]. Rutin olarak canlılar stresli ve uyarıcı etkilere maruz kalırlar. Stresli durumlara maruz kalma, tehdit edici uyarılara karşı baş edebilmede öncülük eden beyin sistemlerinin aktivasyonunu uyarır [10].

Stres kelime anlamı olarak Latince "estricia"dan gelmektedir. Temelde stres terimi ilk olarak endokrinolog Hans Selye tarafından yapılan araştırmalar neticesinde etkili olmuştur [9, 11, 12] ve Hans Selye tarafından vücudun herhangi bir talebe spesifik olmayan tepkisini tanımlamak için türetilmiştir [12]. Selye'nin bu fenomenle ilgili olarak 1936'da "Çeşitli Zararlı Ajanların Ürettiği Bir Sendrom" başlığıyla yayınladığı ilk çalışma, stresi tipik bir sendrom olarak tanımladı. Selye'ye göre semptomlar, kullanılan ilacın farmakolojik tipindeki zarar verici maddenin doğasından bağımsızdır ve daha çok hasara verilen bir yanıtı temsil eder. Bu sendrom, organizmanın cerrahi yaralanma, spinal şoka yol açan omurilik travması, soğuğa maruz kalma, aşırı kas egzersizi veya ölümcül olmayan dozlarda çeşitli ilaçlara (örneğin; formaldehit, morfin, adrenalin ve atropin) verilen tepkilerde görülmektedir [12].

Stres, hayata devam edebilme şansını arttırmak amacıyla birçok vücut sisteminin uyumunu içeren tepkidir [13]. Genellikle stres, insanın psikofizyolojik uyumluluğu üzerinde bir etki olarak gözlemlenir ve ayrıca stres nöronal ve hormonal sistemlerin bütünleşmesi sebebiyle homeostazinin bozulmasına neden olan stresörlere karşı vücudun gösterdiği olağan tepkidir [14, 15]. Stresin beyinde oluşturduğu olumsuz etkiler süresine göre farklılık gösterir ve beynin uzun süreli strese maruz kalması yapısal bozukluklara sebebiyet vererek psikolojik ve fizyolojik değişikliklereneden olur [2, 4].

Stresin tanımı gereği olumsuz bir çağrışım yaptığı düşünülebilir. Fakat, adaptasyona ve hayatta kalmaya izin verdiği için stres tepkisi olağan bir süreçtir. Canlılar yaşamları boyunca günlük güçlüklerden ağır travmatik olaylara kadar değişen çeşitli zorluklarla karşı karşıya kalırlar. Stres tepkisi, vücudu hızlı bir şekilde homeostatik duruma döndürmek için bir stres etkenine olabildiğince hızlı ve verimli bir şekilde yanıt verilmesini sağlar [16].

İlk tanımlandığı zamandan beri stres terimi daha da detaylandırıldı ve bir yandan Selye'nin tanımladığı gibi somatik stres diğer yandan ise psikolojik stres olarak ayırım yapıldı [16]. Psikolojik stres çeşitli şekillerde tanımlanmıştır. Daha küresel olarak kabul edilen tanımlardan biri; kişi tarafından, kaynaklarını zorlayıcı veya aşan ve refahını tehlikeye atan olarak değerlendirilen, kişi ve çevre arasındaki belirli bir ilişkidir. Strese bağlı çeşitli bozuklukların başlamasına ve devam etmesine katkıda bulunur [17].

### **2.1.2 Stres Çeşitleri**

Amerikan Psikoloji Derneği (APA), stresi akut stres ve kronik stres olmak üzere iki farklı ana türe veya forma ayırır [18]. Bu stres türleri, özellikleri, süresi, semptomları ve tedavi yaklaşımları açısından farklı bir şekilde öne çıkar. Akut stres, stresin en yaygın ve sık görülen şeklidir. Bu stres türü genellikle kendini kısa süreli olarak gösterir ve genellikle yakın geçmişin talep ve baskılarından ve yakın geleceğin beklenen talep ve baskılarından kaynaklanan reaktif düşünceden kaynaklanır [18]. Akut stres, canlının tehlikelerin üstesinden gelmek ve stresörlere karşı gerekli işlevlerin yerine getirilmesi ve hayatta kalma adına olumlu sonuç şansını arttıran uyumlu bir süreçtir [11].

Kronik stres, uzun süreli bir stres şeklidir [19]. Bu stres türü, umutsuzluk ve çaresizlik duygularıyla karakterizedir. Kronik stres durumunda, stres sistemleri artık sadece stresli olmaz; aynı zamanda bir stres etkenine, birden fazla stres etkenine veya ciddi bir akut stres etkenine tekrar tekrar maruz kalındığı için, strese maruz kalan biyolojilerin psikolojik ve nörobiyolojik süreçlerinde değişiklikler görülür [19]. Kronik stres, stresörlere karşı sürekli ama zayıf bir yanıt oluşturur ve bedensel mekanizmaların üzerinde olumsuz etkiler oluşturan ve sonucunda uyumsuz tepkisi sonucunda çözilemeyen stres oluşturur. Kronik, uzun süreli stres, vücuttaki belirli hormonların ya da kimyasalların salgılanması ile sonuçlanır [4, 11, 20]. Vücutta oluşan sürekli stres hali kalp, beyin gibi hayati organları çeşitli yönlerden olumsuz olarak

etkiler. Kronik stres, genel olarak, depresyon, anksiyete ve öğrenme ve bellek bozukluğu gibi bilişsel bozukluklar da dahil çeşitli zihinsel bozukluklara kaynak olan risk faktörü olarak bilinir [2, 4, 20].

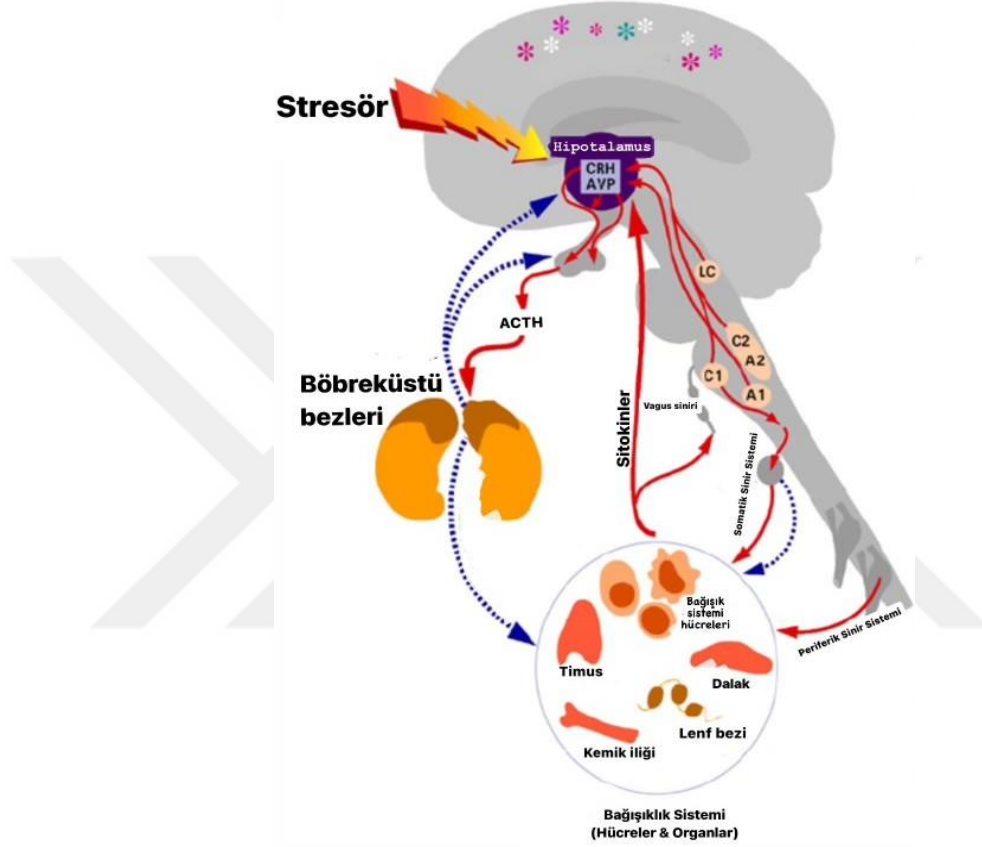
### **2.1.3 Stres ve Hipotalamik-Hipofizer Adrenal Eksen (HPA Ekseni) İlişkisi**

Canlılar strese sebep olan çevresel ya da iç etkenler, vücudun homeostaz halini bozan, hayat akışını tehdit eden stresörler ile karşılaştığında, organizmada stres durumuna karşı savunma amacıyla bilişsel, fizyolojik ve davranışsal mekanizmalar uyarılır ve bir yanıt oluşturularak homeostaz sağlanmaya çalışılır [21]. Stres yanıtının temelinde, nöronal ve hormonal seviyelerdeki değişimler desteklenerek bireyin hayatta kalma şansını en üst seviyeye çıkarmak vardır [11]. Strese karşı oluşturulan ani yanıt, beyin ve iskelet kaslarının uyarılmasını içerir ve bu da, canlıya fiziksel ve bilişsel hazırlığı oluşturmak için gereklidir. Bu, otonom sinir sisteminin (OSS) sempatik bölümü ve hipotalamik-hipofizer adrenal eksen (HPA ekseni) sayesinde mümkündür [11, 21]. HPA ekseninin aktivasyonu, strese karşı biyolojik tepki olarak meydana çıkar [22]. HPA ekseni ve OSS, insanlarda ve çoğu memelide strese yanıt veren iki ana sistemdir [23].

Stres reaksiyonu; HPA ekseni gibi düzenleyici yollarla beraber biliş, davranış ve duygunun da üzerinde etkisi olan tehdit edici bir unsur olarak görülür. Çevredeki stres etkenlerinin algılanması ile birlikte beyinde limbik bölge ve talamus gibi çeşitli merkezlere ileterek, otonom ve somatik afferent sinir bağlantısıyla amigdaladaki duygusal merkezi, hipokampüsdeki bellek merkezini ve prefrontal korteks yoluyla da algılama, hissetme-ve yaşamsal faktörleri etkiler [15, 24].

Kontrol edilemeyen, zorlayıcı veya tehdit edici bir durumda, endokrin stres yanıtının birincil sürücüsü olan HPA ekseni etkinleştirilir [16]. Hipotalamus, kortikotropin salgılatan faktörü (CRF) sentezler ve salgılar. Bu eylem, hipofiz bezinin kan dolaşımına adrenokortikotropik hormonu (ACTH) salmasına neden olarak adrenal korteksi, glukokortikoid (GC) kortizol (ana stres hormonlarından biri olarak da bilinir) üretmesi ve salgılaması için uyarır. Bu, vücutta dolaşan serbest kortizol konsantrasyonlarının artmasına neden olur. Bu seviyeler yükseldikçe, CRF salınımı engellenir, bu da ACTH seviyelerinde düşüşe ve ardından kortizol seviyelerinde düşüşe yol açarak stres tepkisini söndürür ve vücudu homeostatik durumuna geri döndürür. Bu süreç, negatif geri besleme döngüsü olarak adlandırılır [25, 26]. Akut

strese tepki olarak kortizol, kişinin bağımsıklık fonksiyonunu baskılayarak, depolanan enerjiyi harekete geçirerek ve merkezi sinir sisteminin öğrenme ve bellek gibi çeşitli işlemlerini kolaylaştırarak tepki vermesini sağlar. Bununla birlikte, kronik olarak artan CRF veya kortizol seviyeleri, bilişsel bozukluklar, depresif ruh hali, kaygı, bağımsıklık dengesizliği ve artmış kardiyovasküler hastalık, diyabet ve inme riski gibi çok sayıda zararlı etki ile birlikte gelir (Şekil 1) [16].



Şekil 1: Stresin HPA aksı sonucu immün sistemini etkilemesinin şematik gösterimi [27]

## 2.2 Öğrenme ve Bellek

### 2.2.1 Öğrenme Beyinde Nasıl Gerçekleşir?

Öğrenme, deneyimler yoluyla davranış değişikliklerinin kazanılmasıdır. Bu karmaşık süreç, bir dizi beyin bölgesi ve nörotransmitterin etkinleştirilmesini içerir. Öğrenme, beynin belirli bir deneyim veya bilgiye adaptasyonunu ve bu bilgileri depolama kapasitesini içerir. Böylelikle bu bilgiler, gerektiğinde ulaşılabilecek bir kaynak olarak kullanılır [28, 29]. Öğrenme süreci, algılama, işleme, depolama ve geri çağırma olmak üzere dört ana aşamadan oluşur. Algılama aşaması, bir kişinin çevresinden bilgi toplamasını içerir. İşleme aşamasında, bu bilgiler anlamlandırılır ve organize edilir. Depolama aşamasında, bilgiler beyinde saklanır ve geri çağırma aşamasında, bu bilgiler daha sonraki bir zamanda geri getirilir [29, 30]. Öğrenme süreci, bir dizi nörobiyolojik mekanizma tarafından desteklenir. Bu mekanizmalar arasında nörotransmitterlerin salınımı, nöronların etkinleştirilmesi ve sinaptik bağlantıların güçlendirilmesi yer alır. Bu süreçler, beynin belirli bir deneyim veya bilgiye adaptasyonunu ve bu bilgiyi depolama kapasitesini içerir [30, 31]. Öğrenme, beynin birçok farklı bölgesini içerir, ancak özellikle hipokampus ve prefrontal korteks önemlidir. Hipokampus, öğrenme ve bellek süreçlerinin birincil merkezidir ve yeni bilgilerin depolanması ve organizasyonu için kritiktir [32, 33]. Prefrontal korteks ise, bilgilerin işlenmesi ve organize edilmesi konusunda önemli bir rol oynar. Bellek, geçmiş deneyimlerden elde edilen bilgilerin saklanması ve gerektiğinde geri getirilmesi sürecidir. Bu süreç, beynin belirli bir deneyimi veya bilgiyi depolamasını ve bu bilgiyi daha sonraki bir zamanda geri getirebilmesini sağlar. Bellek, bireyin çevresine adaptasyonunu ve gelecekteki olaylara uyum sağlama yeteneğini kolaylaştırır [30].

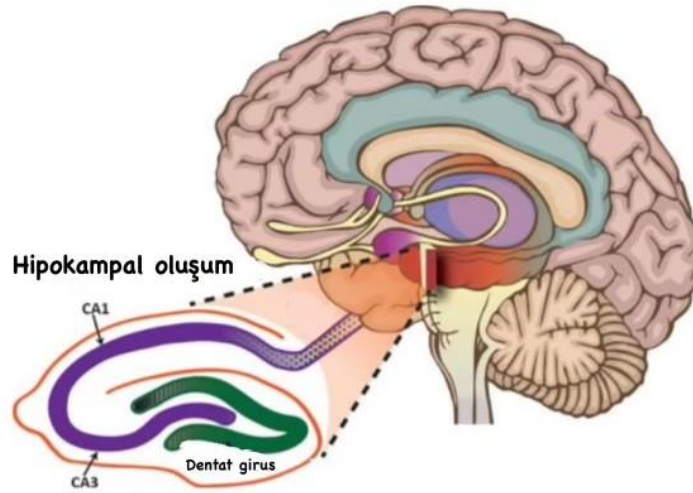
### 2.2.2 Kısa Süreli ve Uzun Süreli Bellek Çeşitleri

Bellek genellikle iki ana tipe ayrılır: kısa süreli bellek ve uzun süreli bellek. Uzun süreli bellek, geniş bir bilgi deposu ve önceki olayların bir kayıdır ve tüm teorik görüşlere göre mevcuttur; her normal kişinin, kusursuz veya eksiksiz olmasa da, uzun vadeli anılar kümesi olan zengin bir komuta sahip olduğu bilinmektedir [34]. Öte yandan kısa süreli bellek, insan zihnini yansıtabilen ve erişilebilir bir durumda geçici olarak sınırlı miktarda bilgi tutabilen bellek aşaması olarak tanımlanmaktadır [34].

### 2.3 Hipokampus

Hipokampus, adını Yunanca'da "deniz atı" anlamına gelen kelimedenden alır ve bu isim, hipokampusun eşsiz şekline atıfta bulunur. Anatomik olarak, hipokampus, dentate gyrus ve Ammon'un boynuzu olarak adlandırılan bir dizi yapıyı içerir. Bu yapılar, hipokampusun farklı işlevlerini yerine getirir ve birbirleriyle ve diğer beyin bölgeleriyle karmaşık bir ağ oluşturur. Hipokampusun her iki yarım küresinde bulunan bir çift yapısı vardır ve her biri bir dizi hücre tabakası içerir. Hipokampus, ayrıca, farklı hücre tiplerini ve çeşitli nörotransmitter sistemlerini içerir. Bu hücreler ve sistemler, hipokampusun çeşitli işlevlerini yerine getirir ve hipokampusun diğer beyin bölgeleriyle etkileşimini sağlar. Hipokampus, insanlarda kararlı bildirimsel belleğin oluşumu için gerekli olan medial temporal lob sisteminin [35-37] ve kemirgenlerde uzamsal belleğin bir parçasıdır [31, 38, 39]. Bu denizati benzeri yapı, memeli beyinde kortikosteroidler (strese yanıt olarak seviyeleri yükselen glukokortikoid hormonlar) için en yüksek reseptör konsantrasyonlarından birine sahiptir ve HPA ekseninin glukokortikoid aracılı negatif geri bildirimine katılır [40].

Hippokampusün orta vücut seviyesinde, hipokampus birbirine geçen iki gri madde laminasından oluşur: Cornu Ammonis (Ammon'un Boynuzu) ve **gyrus dentatus**'. Cornuammonis, dört mikroskobik granüler hücre bölgesine bölünebilir: CA1, CA2, CA3 ve CA4. Hipokampal sulkus, dentat girus ile subikulum ve cornu ammonis arasında bulunur (Şekil 2) [41].



Şekil 2: Hipokampusün şematik gösterimi [42]

Sıçan hippocampusunda, kortikosteronun nöronal metabolizmayı, fizyolojik fonksiyonları, genomik ekspresyonu düzenlediği ve nöronal morfolojiyi değiştirdiği gösterilmiştir [43]. Sonuç olarak, belirli hipokampal işlevlerin (öğrenme ve bellek gibi) kontrol edilemeyen strese duyarlı olduğu görülmektedir [44]. Bu fikri destekleyen kanıtlar, strese (ve kortikosteroidlere) maruz kalmanın hem insanlarda hem de hayvanlarda sonraki hipokampal bağımlı bellek biçimlerini bozduğunu ortaya çıkarmaktadır [45]. Hipokampus, özellikle uzun süreli bellek oluşumu ve uzamsal öğrenme ve hafıza ile ilgili süreçlerde kritik bir rol oynar. Örneğin, hipokampusun hasar görmesi veya çıkarılması, yeni bilgileri uzun süreli belleğe kodlama yeteneğini ciddi şekilde etkiler. Ayrıca, hipokampus, uzamsal hafıza ve navigasyon süreçlerinde de önemlidir, örneğin bir labirentte yol bulma yeteneği hipokampus tarafından düzenlenir. Hipokampus, ayrıca, öğrenme ve bellek süreçlerinde bir dizi moleküler ve hücresel mekanizmayı düzenler. Bu mekanizmalar arasında, uzun süreli potansiyasyon (LTP) ve uzun süreli depresyon (LTD) gibi sinaptik plastisite biçimleri ve yeni nöronların oluşumu ve entegrasyonu (nörogenез) bulunur. Bu süreçler, yeni bilgilerin kodlanması ve uzun süreli belleğe aktarılmasını sağlar ve yeni deneyimlere ve çevresel değişikliklere adaptasyonu sağlar. Benzer şekilde, stres ve stres hormonlarının sıçanlarda etkin uzamsal bellek işlevlerini bozduğu bilinmektedir [46-51].

NMDA reseptörleri, hipokampusun öğrenme ve bellek süreçlerinde önemli bir rol oynar. Bu reseptörler, glutamatın etkisiyle aktive olur ve hücre içinde kalsiyum iyonlarının seviyesini artırır. Bu, hücre içi sinyal yollarının aktivasyonuna ve gen ifadesinin değişmesine yol açar, bu da sinaptik plastisiteyi ve dolayısıyla öğrenme ve bellek süreçlerini etkiler [52]. NMDA reseptörlerinin hipokampus işlevlerine etkisi, ayrıca, LTP ve LTD gibi sinaptik plastisite biçimlerini ve nörogenез sürecini düzenlemeyi içerir. Örneğin, NMDA reseptörlerinin aktivasyonu, LTP'nin tetiklenmesini ve sinaptik bağlantıların güçlendirilmesini sağlar. Ayrıca, NMDA reseptörlerinin aktivasyonu, nörojenik bölgelerde yeni nöronların oluşumunu ve entegrasyonunu düzenler. Bu süreçler, hipokampusun öğrenme ve bellek süreçlerindeki rolünün temelini oluşturur. Davranışsal verilerle tutarlı olan *in vitro* ve *in vivo* elektrofizyolojik çalışmalar, stres ve glukokortikoidlerin, memeli beyinde varsayılan bir sinaptik anımsatıcı mekanizma olan hipokampal LTP'yi bozduğunu göstermektedir [53-56]. O halde stresin hipokampal plastisiteyi etkileyerek hipokampal hafızayı etkilediği düşünülebilir [44].

Son zamanlarda yapılan bir çalışma, stresin hipokampusa bağlı iz göz kırpma şartlandırmasını kolaylaştırdığını bildirdi [57]. Bu bulgu, stresin farklı hipokampal bellek biçimleri üzerinde farklı etkiler ortaya koyduğunu öne sürerken uzamsal belleği bozduğunu, uzamsal olmayan belleği ise güçlendirdiğini göstermektedir. Hipokampal LTP üzerindeki stres etkilerini farmakolojik olarak taklit eden NMDAR antagonisti DL-2-amino5-fosfonovalerik asidin (APV) intrahipokampal infüzyonları, tanıma belleği üzerinde stres ile benzer etkilere neden olur [44].

## **2.4 Stresin Öğrenme ve Bellek Üzerindeki Etkisi**

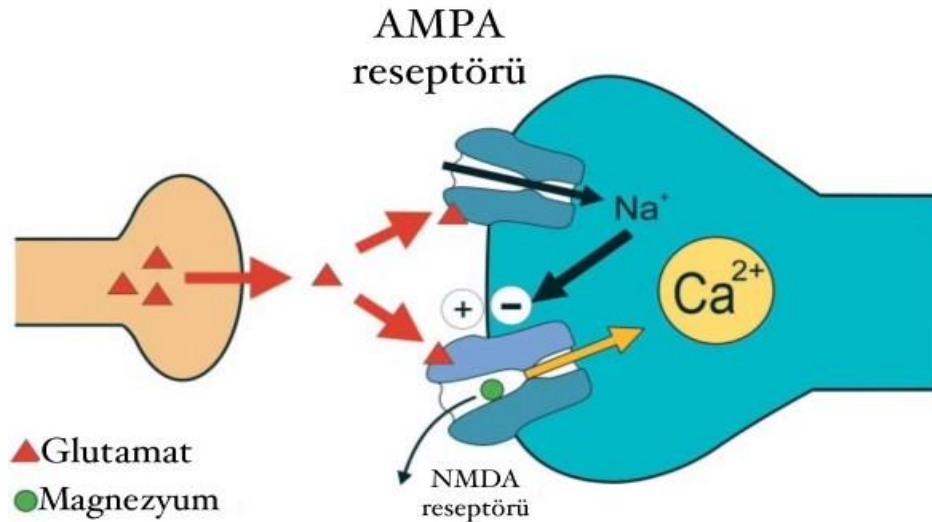
Stres öğrenme ve hafıza süreçlerini etkiler [33]. Bellek performansındaki değişikliklerin yönü (artış veya azalış) stresin öğrenilecek bilgiler bağlamında ve öğrenme zamanı içinde öğrenilenlerle yakından bağlantılı olup olmadığına bağlıdır. Bir öğrenme deneyimi bağlamında yaşanan stres, odaklanmış dikkati uyandıracak ve alakasız bilgilere kıyasla öğrenilen konuyla alakalı bilgilere ilişkin ilgili hafızayı geliştirecektir [33]. Olaya bağlı bilginin işlenmesinde yer alan devrelerin aktivitesini restore etmek (normalleştirmek) için strese bağlı kortikosteroid hormonların salınımı gereklidir. Hem bu devrelerin stres kaynaklı kolaylaştırılması hem de normalleşme yeterli öğrenme ve hafıza için gerekli görünmektedir. Normalizasyon aşamasının yetersiz olması, bilgilerin uygunsuz hatırlanmasına sebep olmaktadır [33].

## **2.5 NMDA ve Öğrenme**

NMDA reseptörleri, glutamat adı verilen eksitatör bir nörotransmitterin reseptör alt tiplerindedir ve öğrenme ve bellek süreçlerinde önemli bir rol oynar. NMDA reseptörlerinin işlevi, sinir hücreleri arasındaki iletişimi düzenlemek ve sinaptik bağlantıların güçlendirilmesine katkıda bulunmaktır. Bu süreç, uzun süreli potansiyasyon olarak bilinir ve öğrenme ve bellek oluşumunun temelini oluşturur. Stres, NMDA reseptörlerinin işlevini etkileyebilir ve bu da öğrenme ve bellek süreçlerinde bozulmaya yol açabilir. Özellikle kronik stres, NMDA reseptörlerinin aktivitesini azaltarak LTP sürecini inhibe edebilir. [58, 59]. Bu durum, öğrenme ve bellek süreçlerinde zayıflamaya ve bilişsel işlevlerin azalmasına neden olabilir. Öte yandan, akut stresin NMDA reseptörlerinin aktivitesini artırabileceği ve bu nedenle öğrenme ve belleği iyileştirebileceği de gösterilmiştir. Ancak bu etki, stresin süresi ve şiddetine bağlıdır ve uzun süreli stres durumlarında genellikle olumsuz etkiler gözlenir. NMDA reseptörlerinin stresin öğrenme ve bellek üzerindeki etkilerindeki

rolü, bu reseptörleri hedefleyen tedavilerin geliştirilmesi açısından önemlidir [58-60].

Beyindeki ana uyarıcı sistemini oluşturan glutamaterjik nöronlar, çeşitli metabotropik reseptör sınıflarını ve iyonotropik reseptörleri aktive eden glutamat üzerinden önemli bir rol oynar. Glutamat, ligand kapılı iyonik kanalları etkileyerek  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , ve  $\text{Ca}^{2+}$  kationlarını geçirgen kılar. AMPA reseptörleri genellikle  $\text{Ca}^{2+}$ 'ye karşı geçirimsizdir ve hızlı sinaptik ilettime katılır. NMDA reseptörleri ise belirli koşullar altında etkinleşir ve yüksek geçirgenlik, voltaja bağlı  $\text{Mg}^{2+}$  blokması ve yavaş geçiş kinetiği gibi üç temel özelliğe sahiptir. NMDA reseptörlerinin özellikleri, beyinde öğrenme gibi değişikliklere aracılık etmelerini ideal kılar. LTP, bu plastisitetik değişikliklerin bir örneğidir ve hafıza oluşumunun temel mekanizmalarını modellediği düşünülmektedir [61-63]. Yüksek frekanslı bir sinyalin glutamaterjik sinapsa ulaşmasıyla başlayan LTP, AMPA ve NMDA reseptörlerinin etkileşimiyle şekillenir.  $\text{Mg}^{2+}$  blokajının kaldırılması,  $\text{Ca}^{2+}$  iyonlarının hücreye girişine ve sinaptik gücün sabitlenmesine yol açar. Bu süreç, nöronal hafıza oluşumunu sağlar ve AMPA reseptör duyarlılığında artışa neden olur.  $\text{Mg}^{2+}$  iyonlarının NMDA reseptörlerini bloke etme ve öğrenme süreçlerine özgü aktivasyona izin verme önemli bir rol oynar (Şekil 3). Ancak, aşırı glutamat reseptör aktivasyonu, nöronal fonksiyon bozukluğuna ve hatta ölüme neden olabilir; bu durum eksitotoksiste olarak adlandırılır ve akut olaylarda ve kronik nörodejeneratif hastalıklarda gözlemlenir [6, 61].



Şekil 3: LTP indüksiyonu şeması [61].

NMDA reseptörleri, HPA eksenini üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir. NMDA reseptörlerinin aktivasyonu, HPA ekseninin aktivasyonunu tetikleyebilir ve bu da stres

yanıtını başlatabilir. NMDA reseptörlerinin işlevi ve HPA eksenindeki etkileşim, stres yanıtının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Özellikle, NMDA reseptörlerinin aktivasyonu, kortizol salgılanmasını tetikleyebilir, bu da vücudun stres yanıtını başlatır. NMDA reseptörlerinin aşırı aktivasyonu, kronik stres durumlarında HPA ekseninin aşırı aktivasyonuna yol açabilir. Bu, sürekli yüksek kortizol seviyelerine neden olabilir ve bu da bir dizi sağlık sorununa yol açabilir, özellikle de beyin üzerinde olumsuz etkiler olabilir. Bu etkileşim, NMDA reseptörlerinin, stres yanıtının düzenlenmesinde ve stresle ilişkili bilişsel bozuklukların tedavisinde hedeflenmesi gereken potansiyel bir hedef olduğunu göstermektedir [28, 64]. Özellikle, NMDA reseptörlerinin aktivitesini modüle etmek, HPA eksenindeki etkilerini düzenleyebilir ve bu da stres yanıtını hafifletebilir ve bilişsel işlevleri iyileştirebilir [64,65].

NMDA reseptörleri, öğrenme sürecinde kilit bir rol oynarlar. Bu reseptörler, glutamat tarafından aktive edilince sinaptik plastisite olarak bilinen bir süreci düzenlerler. Sinaptik plastisite, sinir hücreleri arasındaki bağlantıların güçlendirilmesini veya zayıflatılmasını içerir ve bu, öğrenme ve bellek oluşumunun temelini oluşturur. Özellikle, NMDA reseptörlerinin aktivasyonu, LTP' yi tetikler. LTP, sinir hücreleri arasındaki bağlantıların güçlendirilmesi sürecidir ve öğrenme ve bellek oluşumunun temelini oluşturur. NMDA reseptörlerinin aktivasyonu, sinir hücrelerinin birbirleriyle daha kolay iletişim kurmasını sağlar, bu da yeni bilgilerin daha kolay öğrenilmesine ve saklanmasına yardımcı olur. Ancak, NMDA reseptörlerinin aşırı veya yetersiz aktivasyonu, öğrenme ve bellek süreçlerini olumsuz yönde etkileyebilir [66]. Kronik stres durumlarında NMDA reseptörlerinin aşırı aktivasyonu, HPA ekseninin aşırı aktivasyonuna ve sonuçta öğrenme ve bellek süreçlerinin bozulmasına yol açabilir [58, 66].

## **2.6 Oksidatif Stresin Öğrenme ve Bellek Üzerine Etkisi**

Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ile antioksidan savunmalar arasındaki dengede doku hasarına yol açabilen bir fizyolojik durum olarak tanımlanmıştır [67]. Serbest radikaller, oksijen moleküllerinin hücre metabolizması sırasında oluşan kararsız moleküllerdir ve DNA, proteinler ve lipitler dahil olmak üzere hücresel yapıları hasara uğratabilirler. Antioksidanlar ise bu serbest radikalleri nötralize eder ve hücre hasarını önler. Kronik stres durumunda, serbest radikal üretimi artabilir ve antioksidan kapasite azalabilir, bu da oksidatif stresin artmasına yol açar.

Oksidatif stres, bilişsel işlevler dahil olmak üzere birçok sağlık sorununa yol açabilir ve özellikle öğrenme ve bellek üzerinde olumsuz etkileri olabilir [68].

ROS, vücutta normal ve kontrollü koşullar altında fizyolojik fonksiyonları düzenler; ancak ROS dengesinin kaybı, aşırı birikim ve oksidatif stresle sonuçlanabilir. Bu durum, hücrelere, organlara ve vücuda ciddi zararlar vererek yaralanma, iltihaplanma, yaşlanma, kronik hastalıklar gibi durumları tetikleyebilir. Vücut, aşırı ROS birikimini kontrol altında tutmak için enzimatik ve enzimatik olmayan sistemleri kullanır. Superoksit dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GPx) ve Katalaz (CAT) gibi enzimatik antioksidan savunmalar, ROS dengesini koruyarak oksidatif stresi önler [69]. Aşırı serbest radikaller, plazma zarını serbestçe geçerek hücre zarına zarar verebilir, lipid peroksidasyonu ile hücre zarını etkileyebilir ve sinyal ile yapısal proteinlerde değişikliklere neden olarak yanlış katlanma ve birikmeye yol açabilir. RNA/DNA oksidasyonu ile transkripsiyonu kesintiye uğratabilir ve gen mutasyonlarına yol açabilir. Reaktif nitrojen ara ürünleri (RNI), apoptotik veya nekrotik hücre ölümünün düzenlenmesinde rol oynayarak önemli radikaller olarak kabul edilir. Serbest radikaller, hücre ve çekirdek zarlarını geçerek biyomakromolekülleri oksitleyebilir. Lipid peroksidasyonu, ROS'un sebep olduğu membran sızıntısına neden olur. Amino asit kalıntılarının oksidasyonu protein-protein çapraz bağlarını oluşturabilir, bu da protein işlev bozukluklarına yol açar. Kinaz ve fosfataz oksidasyonu ise sinyal yollarını etkileyebilir. ROS kaynaklı DNA peroksidasyonu gen transkripsiyonunu bozabilir ve gen mutasyonlarına yol açabilir. Bu olaylar, lipidlerin, proteinlerin, RNA ve DNA'nın peroksidasyonu sonucunda yüksek düzeyde ROS'un çeşitli hücresel bileşenlere zarar vermesine neden olur, sonucunda hücre ölümü gerçekleşir. Aşırı ROS, nörodejeneratif hastalıklara ve bilişsel bozukluk gibi kronik hastalıklara yol açabilir [69-71].

Oksidatif stres, merkezi sinir sisteminin fizyolojik fonksiyonlarına, özellikle öğrenme ve hafıza süreçlerine katkıda bulunabilir. LTP, sinaptik plastisitenin bir yönüdür ve öğrenme ile hafızanın ana hücresel mekanizmalarından biri olarak kabul edilir. Hipokampus, epizodik hafıza, mekansal öğrenme ve duygusal davranışın düzenlenmesinde kritik bir rol oynar ve yaşlanma sürecine karşı savunmasızdır. Araştırmalar, stresin LTP üzerinde zamanla değişen bir etkiye sahip olduğunu, kısa vadeli güçlendirmenin ardından uzun vadeli bir inhibe edici etki yarattığını ve aynı stresin LTP'yi artırdığını göstermektedir. Bu keşif, stresin hafıza bozukluklarına neden olma mekanizmasını anlamak ve farklı stres etkenlerini değerlendirmek için LTP'nin

bir belirteci olarak kullanılabilir. Bu, sinaptik etkinlikteki değişikliklerin stresle ilişkili hafıza eksikliklerini açıklamaya yardımcı olabilir ve farklı stres etkenlerinin etkilerini karşılaştırmak için bir standart sağlar [69, 71].

Stres ve yaşlanmanın nörotrofik faktör ifadesini azalttığı bilinen bir gerçektir. Örneğin, kronik immobilizasyon stresine maruz kalan hayvanlarda hipokampustaki Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) seviyelerinin azaldığı belirlenmiştir. BDNF dahil nörotrofik faktörlerin öğrenme, hafıza ve LTP üzerinde olumlu etkileri olduğu iyi bilinmektedir. Ayrıca, BDNF'nin nöronlardaki oksidatif stres hasarına karşı koruyucu bir madde olarak işlev gördüğü ve hücre ölümünü önlediği rapor edilmiştir. İlginç bir şekilde, farelerde ergenlik dönemindeki kronik sosyal stresin hipokampal BDNF seviyelerini azalttığı ve bu durumun hayvanların yaşlandığında bilişsel bozulmaya yol açtığı gözlemlenmiştir. Bu durum, yaşamın erken dönemindeki stresin, yaşlanma sürecinde beyni olumsuz etkileyebileceğini düşündürmektedir. Yararlı stresörlerin adaptif stres tepkisi proteinlerinin bir parçası olan nörotrofik faktörler, GABAerjik sinapsların düşük seviyeli inhibisyonu üzerinde etki ederek serebellar BDNF mRNA ekspresyonunu artırır. Bu etki, motor kontrolde nöroplastisite ve nörogenezde önemli bir rol oynar. Bu bağlamda, artmış nöral aktivitenin öğrenme ve belleği geliştirdiği de belirtilmiştir. Siklik AMP Regülatuar Eleman Bağlayıcı Protein (CREB), sinir sisteminin gelişimi, korunması ve nöronal plastisite yanı sıra öğrenme ve hafıza ile ilişkili bir transkripsiyon faktörüdür ve nöronlarda BDNF ekspresyonunu artırarak adaptif bir stres yanıt yolunu aktive eder. BDNF, özellikle LTP aracılığıyla anı oluşumuna katkıda bulunur. Ayrıca, BDNF'nin yaşlanma sürecinde antioksidan savunmanın bir parçası olarak oksidatif stresle birlikte arttığı bilinmektedir [72-75].

## 2.7 Timokinon

Kimyasal bileşiklerin doğal üreticileri olarak bitkiler, insan sağlığı için geleneksel ilaçlar olarak kullanılmaktadır [76]. TQ, *Nigella sativa* bitkisinde bulunan kimyasal bir bileşiktir, ayrıca siyah kimyon veya çörek otu olarak da bilinir. TQ, bitkinin tohumlarından elde edilir ve çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir[77]. Antioksidan, anti-inflamatuar, antikanser ve antimikrobiyal etkileri nedeniyle geniş çapta araştırılmıştır. Bunun yanında, timokinonun nöroprotektif etkileri de vardır. Nörotoksik maddelere veya stres gibi zararlı uyarılara maruz kalma sonucu beyin hücrelerinde oluşan hasarı önlemeye yardımcı olabilir. Bu etkiler, timokinonun nörolojik bozuklukların tedavisinde potansiyel bir bileşen olabileceğini

göstermektedir [52, 65].

Bir dizi hayvan çalışması, TQ'nun öğrenme ve bellek üzerinde olumlu bir etkiyesahip olabileceğini göstermiştir. Özellikle, TQ'nun, stres, yaşlanma veya nörolojik bozukluklar gibi faktörler nedeniyle bozulan öğrenme ve bellek süreçlerini iyileştirebileceği bulunmuştur [52].

Timokinonun öğrenme ve bellek üzerindeki etkisinin bir parçası, NMDA reseptörlerinin aktivitesi üzerindeki etkisi ile ilişkilidir. Bu reseptörler, öğrenme ve bellek süreçlerinde kilit bir rol oynarlar ve timokinon, bu reseptörlerin işlevini düzenleyerek öğrenme ve bellek süreçlerini modüle edebilir [78, 79]. Timokinonun NMDA reseptörlerini aktive etmesi, daha yüksek sinaptik plastisite seviyelerine ve güçlü bellek oluşumuna yol açar. Bu etki, LTP ve LTD gibi sinaptik olayları düzenleyerek, sinir hücreleri arasındaki iletişimi optimize eder. Bu süreçler, öğrenme ve belleğin temelini oluşturur [52, 80]. Ayrıca, timokinonun NMDA reseptörlerinin aktivasyonu sonucu, hipokampal nöronlarda oksidatif stresin azaltılması gibi başka olumlu etkileri de gözlenmiştir [81]. Bu, nöronları potansiyel zararlardan korur ve genel beyin sağlığını ve işlevini geliştirir. Sonuç olarak, TQ'nun hipokampus ve NMDA reseptörleri üzerindeki etki mekanizması, öğrenme ve bellek süreçlerini modüle etme ve stresle ilişkili bilişsel bozuklukların tedavisine yardımcı olma potansiyelini içerir [52, 80, 81].

Bu bilgiler ışığında projemizde, stres maruziyetinin neden olacağı bilişsel hasarın öğrenme ve bellek üzerindeki etkisinin NMDA reseptörleri aracılığıyla olan etkileşimi incelenirken timokinon tedavisinin potansiyel iyileştirici etkisinin olup olmadığı araştırılacaktır. Öğrenme ve bellek üzerinde stres maruziyeti ile oluşan nörodejeneratif etkinin ve timokinon ile önlenip önlenemeyeceğinin sıçanlar üzerinde uygulanacak davranış testleri ve biyokimyasal analizlerle değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1 Deney Hayvanları ve Etik Kurul Onayı

Çalışmada, deney hayvanı olarak yetişkin 3 aylık, ağırlıkları 300-400 gr arasında değişen 28 adet erkek *Wistar albino* sıçan kullanıldı. Daha önceki çalışmalar referans alınarak %95 güven düzeyinde ve  $\alpha=0.05$  anlamlılık seviyesinde %80 güç için ortalamalar arası fark 0.51 birim, standart sapması 0,31 olarak alındığında her grup için hayvan sayısı minimum 7 belirlendi. Bezmialem Vakıf Üniversitesi Yerel Etik Kurulu tarafından, araştırma protokolüne, Etik Kurul onayı alındı (Tarih: 22/08/2022, Karar no: 2022/89). Araştırma Bezmialem Vakıf Üniversitesi Araştırma Merkezi bölümünde gerçekleştirildi.

#### 3.2 Deneysel Uygulamalar

Deney öncesi tüm gruplara ait sıçanların ağırlıkları ölçüldü ve ağırlıkları birbirlerine benzer olacak şekilde gruplandırıldı. Çalışmada kullanılacak hayvanlar; herhangi bir işlem uygulanmayacak olan kontrol grubu (grup 1), hareketsizlik stresi (restraint stresi) uygulanacak grup (grup 2), stres uygulanmayıp gavaj yoluyla 1 ml mısır yağında çözdürülen 10 mg/kg TQ [109] verilecek grup (grup 3), restraint stresi uygulandıktan sonra gavaj yoluyla 1 ml mısır yağında çözdürülen 10 mg/kg TQ verilecek grup (grup 4) (Şekil 4) olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

Deney grupları aşağıdaki şekilde oluşturuldu.

1. **Kontrol Grubu (n=7):** 7 gün boyunca 1 ml mısır yağının (TQ çözücüsü) gavaj ile uygulandığı grup.

2. **Stres Grubu (n=7):** 7 gün boyunca her gün hareketsizlik stresi uygulanması yanında 1 ml mısır yağının (TQ çözücüsü) gavaj ile uygulandığı grup.
3. **TQ Grubu (n=7):** 7 gün boyunca 1 ml mısır yağı içerisinde 10 mg/kg TQ'un gavaj ile uygulandığı grup.
4. **Stres+ TQ Grubu (n=7):** 7 gün boyunca her gün hareketsizlik stresi uygulanması yanında 1 ml mısır yağı içerisinde 10 mg/kg TQ'un gavaj ile uygulandığı grup.



**Şekil 4:** Hayvanlara gavaj yöntemiyle TQ verilmesinin görüntüsü

Grup 2 ve Grup 4'teki erişkin Wistar albino sıçanlara (n=7/grup) hareketsizlik stresi (restraint stres) 1 hafta boyunca günlük 2 saat olacak şekilde özel pleksiglas tüplerin (rodent restrainer) içerisinde tek tek yem ve su verilmeksizin uygulandı (Şekil 5).



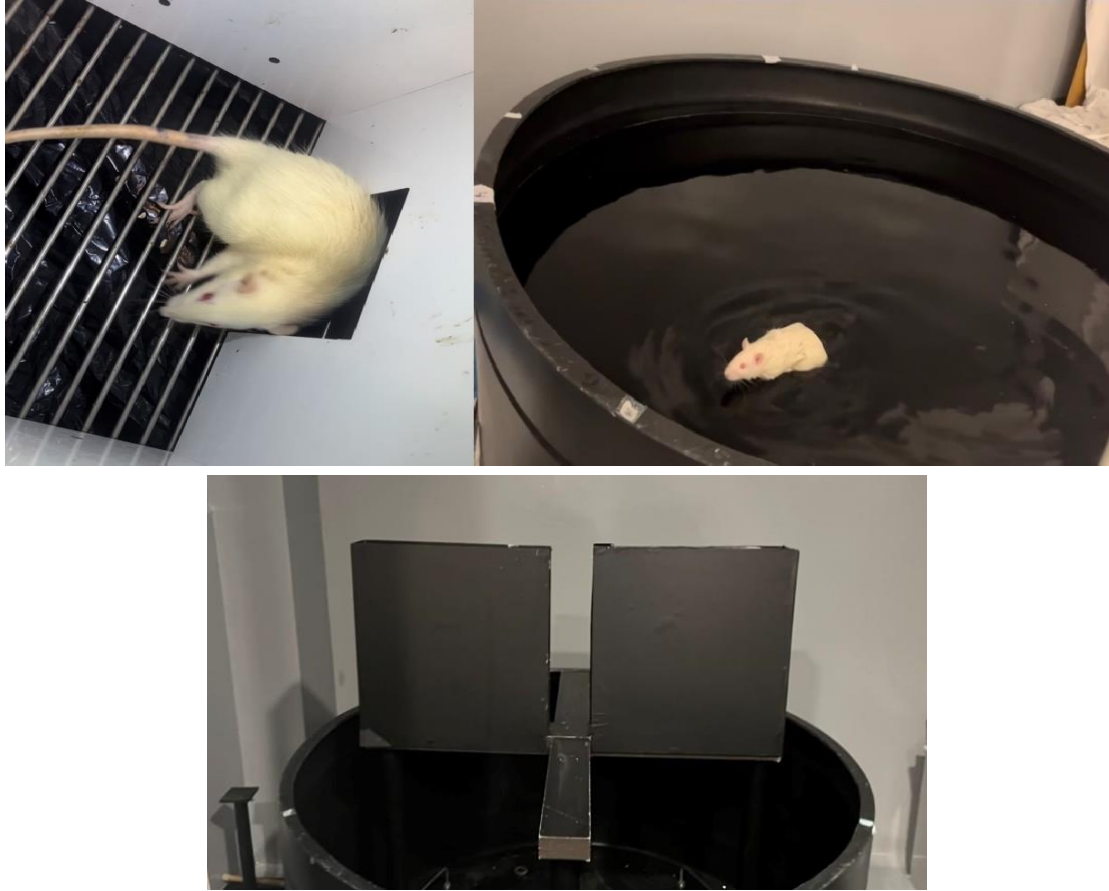
**Şekil 5:** Hayvanlara uygulanan hareketsizlik stresi görüntüsü

Tüm gruplardaki sıçanların 7. günün sonunda ağırlıkları tekrar ölçüldü. Deneyin 8. ve

9. günü anksiyete değerlendirilmesi için açık alan ve yükseltilmiş artı labirent testi uygulandı. Deneyi takiben 10. ve 11. günde korku koşullanmasını değerlendirmek amacıyla pasif sakınma testi uygulandı. Deneyin 12. günü ile 17. günleri arasında mekansal hafızayı ölçmek amacıyla Morris su labirenti testi uygulandı. 17.günün sonunda 10 mg/kg ksilazin ve 100 mg/kg ketamin ile anestezi altında sıçanlar dekapite edilerek beyinleri çıkarıldı, hippocampus bölgesi ayrılarak biyokimyasal analizler için - 80°C’de muhafaza edildi (Şekil 6, Şekil 7).



Şekil 6: Deneysel prosedürün şematik gösterimi



Şekil 7: Deneysel uygulamalardan görüntüler

### 3.2.1 Açık Alan Testi

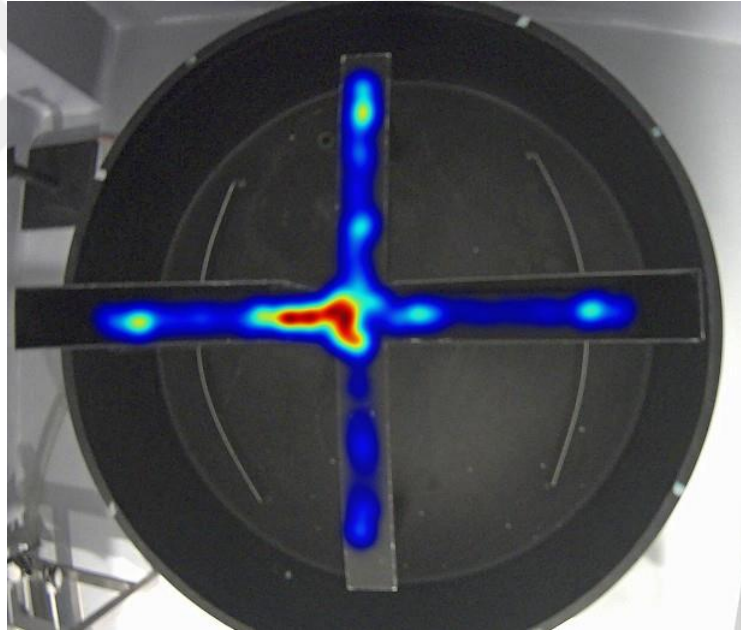
Deneyin 8. gününde uygulanan açık alan testi, hayvanların anksiyeteye bağlı duygularının motor aktivitelerine etkisini belirlemek amacıyla yapılan bir testtir. Dikdörtgen bir kutu, üstü açık ve iç kısmı siyah bantla kaplanmış olarak kullanılır. Bu kutu, 91 cm x 91 cm ebatlarındadır. Açık ve geniş alan, sıçanlarda agorafobi benzeri bir durum yaratır. Hayvan, kendi ortamından alınıp bilmediği bir açık alana bırakıldığında geniş alan korkusunu sergiler. Test süresi bizim çalışmamızda 5 dakika olarak belirlendi ve hayvanın hareketleri bilgisayarlı video izleme sistemi ile kaydedilip bilgisayara aktarılarak gözlemlendi (Şekil 8). Hayvanın konumu, merkezde mi yoksa kenarlarda mı gezdiği önemlidir. Alıştığı ortam dışında bulunan hayvanın, alanın ortasından ziyade kenarlarda hareket etme eğilimi, şahlanma sayıları ve temizlenme sayı ve süreleri incelenerek anksiyete parametresi değerlendirildi.



Şekil 8: Deneyde uygulanan açık alan testinden görüntü.

### 3.2.2 Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

Deneyin 9. gününde uygulanan test, sıçanların daha önce deneyimlemedikleri bir ortamda çevreyi tanıma davranışlarını sergilerken buldukları alanın yükseltilmiş olmasının anksiyete artırıcı etkilerini değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Yükseltilmiş labirent testi düzeneği, birbirine dik olarak yerleştirilmiş artı şeklindeki labirentleri içerir. Bu labirentler, 110 cm x 110 cm ölçülerinde kapalı ve açık kollara sahiptir. Sıçanlar, yüksek ve açık yerlerden korktukları bilinen bir özellikleri nedeniyle, yüzleri açık kola dönük şekilde platformun merkezine yerleştirildi. Açık ve kapalı alanlarda geçirilen süreler, merkezi alanda gezinme süreleri ve açık ve kapalı kollara giriş sayıları analiz edilmesi amacıyla kaydedildi (Şekil 9). Anksiyete oluşumunu gösteren davranış parametreleri, dona kalma süresindeki artış, açık kola giriş sayılarının azalması veya kapalı kolda geçirilen sürenin uzaması ve havayı koklama sayı ve süresindeki artıştır.



Şekil 9: Hayvanların yükseltilmiş artı labirent testi düzeneğinde kapalı ve açık kollarda gezinme konumlarının gösterimi.

### 3.2.3 Pasif Sakınma Testi

Deneyin 10. ve 11. günlerinde uygulanan pasif sakınma testi, (MAY-PA 1014-7 Passive Avoidance System, Türkiye) iki bölmeli plastik düzenek üzerinden gerçekleştirildi. Bölmelerden biri aydınlık, diğeri karanlık olacak şekilde tasarlanmıştır ve aralarında bir kapı bulunmaktadır. Karanlık bölüm, hayvana 1 mA elektrik şoku

uygulanabilen taraftır, aydınlık bölümde ise şok verilmemektedir. Deneyin ilk aşaması, 10. gününde öğrenme periyodu ile başladı (Şekil 10). Hayvanlar ayrı ayrı aydınlık bölmeye bırakıldı, 15 saniye sonra kapı açılarak hayvanın karanlık bölmeye geçmesine izin verildi. Hayvan karanlık bölmeye geçtiğinde 1 mA elektrik şoku uygulandı ve hayvanın aydınlık bölmeye geçmesi sağlandı. 24 saat sonra deney tekrarlandı ve pasif kaçınma testi uygulandı. Hayvanın aydınlık bölmeye konulduğunda, elektrik şoku alacağını bilmesine rağmen karanlık bölmeye geçiş süresi gözlemlendi. Testin sonlandırılması 300 saniye olarak belirlendi ve bu süreçte karanlık bölmeye geçmeyen hayvanlarda öğrenmede bozukluk olmadığı kabul edildi.



Şekil 10: Pasif kaçınma testi uygulamasında öğrenme periyodundan görüntü

### 3.2.4 Morris Su Labirenti Testi

Deneyin 12. gününden itibaren 5+1 gün boyunca gerçekleştirilen Morris su labirenti testi, 1,2 m çapında, 43 cm derinliğinde ve 25°C sıcaklığındaki opak boyalı suyla doldurulmuş bir düzenek üzerinden yapıldı. Laboratuvar karanlık olarak ayarlanmış ve deney süresince sabit ışık kaynağıyla aydınlatılarak tankın etrafındaki duvarlara ipucu olacak simgeler eklenmiştir (Şekil 11). Havuz ortasından geçen iki dikey çizgi ile kuzey, güney, doğu, batı olarak dört kadrana ayrıldı. Hayvanların göremeyeceği ama sudan kaçmak için üzerine çıkabileceği şekilde suyun 2 cm altına havuzun güney

kadranının merkezine gelecek şekilde, şeffaf pleksiglastan yapılmış platform konuldu. Tüm sıçanlara alıştırma ve öğrenme yüzmesi periyodunda, her seferinde rastgele seçilmiş kadrandan birinden bırakıldı ve platformu bulana kadar hayvanların 60 s yüzmelerine izin verildi. Platformu bulan sıçanlar, buldukları andan itibaren 10 s boyunca platformda bekletildi ve su tankından çıkarıldılar. Deneyin 6. gününde, su tankından platform kaldırılarak bellek ölçümleri yapıldı. Sıçanlar daha önce bırakılmadıkları yönden suya bırakılarak 60 s boyunca yüzmeleri sağlandı. Bu aşamada sıçanların hareketleri, su tankının tam merkezine bakacak şekilde tavana yerleştirilen Bilgisayarlı video izleme sistemi (Noldus Bilgi Teknolojisi, EthoVision Sistemi, Hollanda) ile bilgisayara aktarılarak analiz edildi.



Şekil 11: Morris su labirenti testinde kullanılan ipucu simgeleri.

### 3.3 Biyokimyasal Çalışmalar

Morris su labirenti testinden sonra sıçanlar, 10 mg/kg ketamin ve 100 mg/kg ksilazin ile genel anestezi altında dekapite edildi ve sıçanlardan kan ve beyin dokusu örnekleri alındı. Ardından, hayvanlardan alınan kan örnekleri 5000 rpm devirde 10 dakika santrifüj (Hettich Mikro 220R, Tuttlingen, Almanya) edildikten sonra serum kısımları mikrotüplere aktarılarak -80°C'de saklandı ve beyinden diseksiyon yapılarak bilateral hipokampus dokuları ve prefrontal korteks bölgeleri alındı. Doku örnekleri pH:7.4 PBS (Phosphate Buffered Saline) çözeltisi içinde homojenize edildi ve homojenatlar mikrotüplere alınarak 4 °C'de, 15.000 x g'de 20 dakika süreyle santrifüjlenerek süpernatant ve pelet olmak üzere iki farklı fraksiyon elde edildi. Elde edilen süpernatantlar yeni mikrotüplere aktarıldı.

Bikinkoninik Asit (BCA) yöntemi ile homojenatlardaki total protein miktarları hesaplandı. Doku homojenatı örneklerinde Malondialdehit (MDA), CAT, SOD, CREB, Nükleer faktör kappa B (NF- $\kappa$ B), Gama Aminobütirik Asit (GABA), BDNF ve NMDA düzeyleri, serum örneklerinde ise Epinefrin, kortizol, CAT ve MDA düzeyleri ölçüldü. Tüm analizler, 450 nm dalga boyundaki mikropalak okuyucusunda (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, ABD) gerçekleştirildi. Bu değerler, sıçanların biyokimyasal profilini ve moleküler düzeydeki değişiklikleri değerlendirmek amacıyla kullanıldı. Biyokimyasal çalışmalar aşağıda belirtilen prosedürler doğrultusunda gerçekleştirildi.

- i. Total protein tayini;** Deneyde, total protein miktarının belirlenmesi için BCA yöntemi kullanıldı. Öncelikle BCA çözeltisine Bakır Sülfat Pentahidrat eklenerek protein belirleme reaktifi hazırlandı ve 1 mg/ml olacak şekilde hazırlanan standart bir bovin serum albumin (BSA) çözeltisi kullanıldı. Standartlar 96 kuyucuklu mikropalakaya 25  $\mu$ l hacimde ölçülerek pipetlendi. Grafik üzerindeki absorbans (x eksen) ve konsantrasyon (y değeri) değerlerinden lin-lin grafik elde edilip, protein miktarları mg/ml cinsinden hesaplandı.
- ii. ELISA Protokolü;** Çalışma, örneklerin ve kitlerin oda sıcaklığına getirilmesiyle başladı. Altı standart kiti kullanarak NMDA için 32 ng/ml, GABA için 1600 nmol/L, CREB için 112.5 ng/L, BDNF için 0.4 ng/ml, NF- $\kappa$ B için 24 ng/ml, Epinefrin için 480 ng/L, Kortizol için 480 ng/ml, SOD için 4 ng/ml, CAT için 320 ng/ml (BT-LAB) ve 10 ng/ml (SunRed), MDA için 12.8 nmol/ml (BT-LAB) ve 2.5 nmol/ml (SunRed) konsantrasyonları elde edildi. Mikropalakadaki örnek kuyucuklarına 40  $\mu$ l örnek ve 10  $\mu$ l ilgili antikor eklenip 1 saat boyunca 37°C'de inkübe edildi. Ardından yıkama ve solüsyon adımlarıyla devam edildi. Mikropalakalar, ışık almayacak şekilde 37°C'de 10 dakika inkübe edildi. Son olarak, Stop Solüsyonu eklenip 450 nm absorbansla mikropalak okuyucuda ölçüldü; konsantrasyonlar lineer standart grafiği kullanılarak hesaplandı.

### 3.4 İstatistiksel Analiz

Elde edilen tüm veriler, InStat İstatistiksel Paket Programı (InStat Graphpad Software, San Diego, CA, USA) 8.0.1 kullanılarak analiz edildi. Grupların dağılımı Shane Wilk testi ile değerlendirildi. Normal dağılıma uygunluğu test edildikten sonra, normal dağılıma sahip

bağımsız gruplar için One Way ANOVA ve normal dağılıma sahip olmayan bağımsız gruplar için Kruskal Wallis testi kullanıldı. Anlamli değişkenler için post hoc karşılaştırmalar Bonferroni ve Dunn testi ile gerçekleştirildi. Bağımlı grup karşılaştırmalarında Two-Way ANOVA analizi ve Benferroni'nin çoklu karşılaştırma testi uygulandı. Verilerin tamamlayıcı istatistikleri ortalama  $\pm$  standart sapma ile sunuldu. Tüm analizlerde  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.



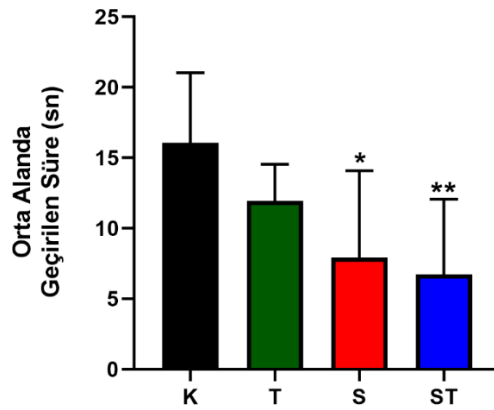
## 4. BULGULAR

### 4.1 Açık Alan Testi Bulguları

Açık alan testi ile hayvanların tek başına alınarak büyük siyah üstü açık bir alanda anksiyeteye bağlı olarak gösterdikleri stres davranışları incelendi. Hayvanların şahlanma sayıları, temizlenme hareketi süreleri ve buldukları alanda kenarlarda mı merkezde mi dolandıkları incelenerek analiz edildi.

#### 4.1.1 Deney Hayvanlarının Açık Alan Testinde Orta Alanda Geçirdikleri Süre

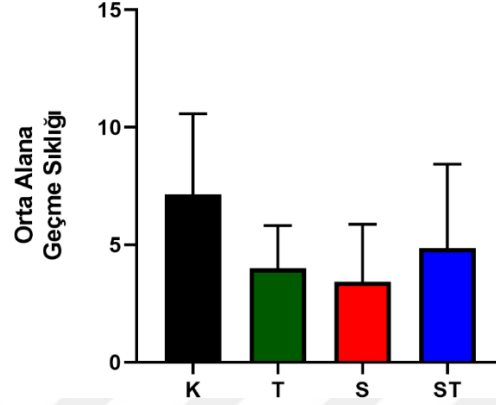
Açık alan testinde 5 dakika boyunca hayvanların bulunduğu siyah kutuda stresin oluşturduğu anksiyeteye bağlı olarak strese girmiş olan sıçanlar kenar alanlarda dolaşması beklenirken stres etkisinde olmayan sıçanların orta alanda daha kolay hareket etmesi beklenir. Hayvanların orta alanda buldukları süreler, kontrol grubuna kıyasla stres grubu ( $p<0,05$ ) ve stres+timokinon grubunda ( $p<0,01$ ) anlamlı olarak azdı. Timokinon grubu kontrol grubuna göre azalma göstereceği bulunamadı (Şekil 12).



Şekil 12: Deney gruplarının açık alan testinde orta alanda bulunma süreleri (\* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$  kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılık) (K: Kontrol, T: Timokinon, S: Stres, ST: Stres+timokinon).

#### 4.1.2 Orta Alana Geçme Sıklığı

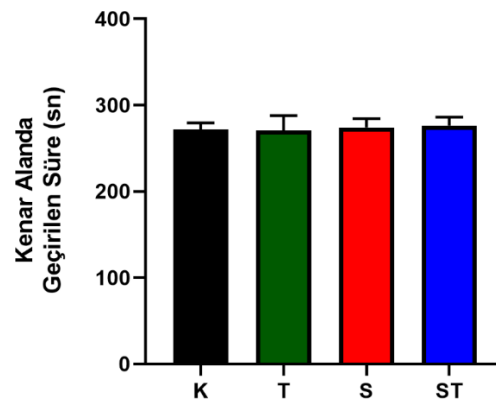
Açık alan testinde sıçanların orta alana geçtikleri ve orada vakit geçirdikleri gözlemlendi. Bununla beraber analizlerde her ne kadar kontrol grubuna kıyasla orta alana geçme sıklığında bir azalma olsa da anlamlı bir fark tespit edilemedi (Şekil 13).



**Şekil 13:** Deney gruplarının açık alan testinde orta alana geçme sıklığı (K: Kontrol, T: Timokinin, S: Stres, ST: Stres+timokinin)

#### 4.1.3 Kenar Alanda Geçirilen Süre

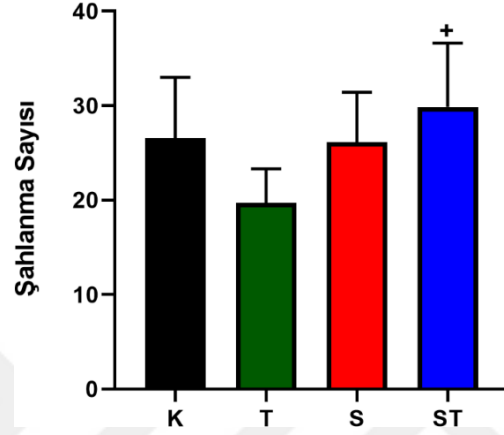
Açık alan testinde strese girmiş olan hayvanların testin yapıldığı kutunun kenar kısımlarında dolaşması beklenirken yapılan analizde herhangi bir anlamlı fark bulunamadı (Şekil 14).



**Şekil 14:** Deney gruplarının açık alan testinde kenar alanda geçirdikleri süreleri(K: Kontrol, T: Timokinin, S: Stres, ST: Stres+timokinin)

#### 4.1.4 Hayvanların Şahlanma Sıklıkları

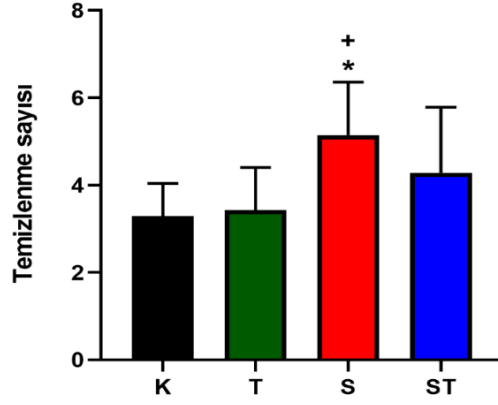
Açık alan testinde test boyunca her bir hayvanın şahlanma sayıları gözlemlendi ve not edildi. Hayvanların şahlanma sayıları stres grubuna kıyasla stres+timokinon grubunda anlamlı olarak ( $p<0.05$ ) yüksek bulundu. Kontrol ve timokinon gruplarında anlamlı bir fark tespit edilemedi (Şekil 15).



**Şekil 15:** Deney gruplarının açık alan testinde hayvanların şahlanma sayıları (+ $p<0.05$  Stres grubuna göre istatistiksel anlamlılık) (K: Kontrol, T: Timokinon, S: Stres, ST: Stres+timokinon).

#### 4.1.5 Hayvanların Temizlenme Sayısı

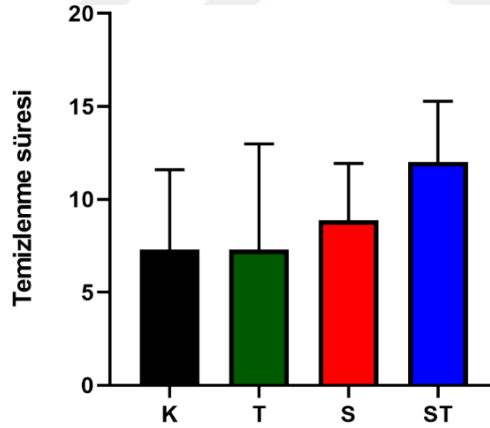
Strese bağlı olarak açık alan testi sırasında hayvanların kendilerini temizleme hareketlerinde artış meydana gelmesi beklenir. Yapılan analizlerde kontrol grubuna kıyasla stres grubunda anlamlı olarak ( $p<0.05$ ) artış olduğu görüldü (Şekil 16).



**Şekil 16:** Deney gruplarının açık alan testindeki hayvanların temizlenme sayıları (\* $p < 0.05$  kontrol grubuna göre, + $p < 0.05$  stres grubuna göre istatistiksel anlamlılık) (K: Kontrol, T: Timokinin, S: Stres, ST: Stres+timokinin).

#### 4.1.6 Hayvanların Temizlenme Süresi

Hayvanların test süresince yaptıkları temizlenme hareketi strese girdiklerini gösterirken, temizlenme süreleri incelenip, analiz edildiğinde herhangi bir anlamlı fark bulunamadı (Şekil 17).

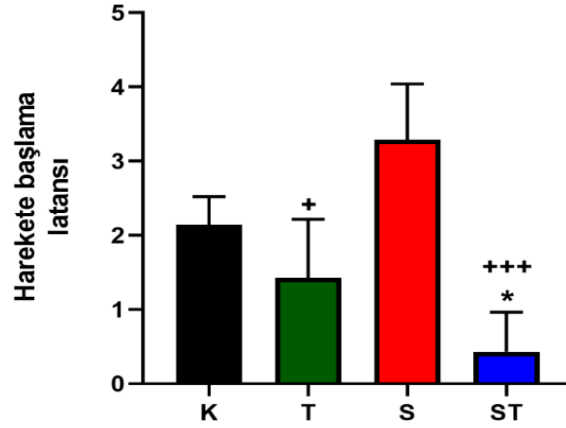


**Şekil 17:** Deney gruplarının açık alan testindeki hayvanların temizlenme süreleri (K: Kontrol, T: Timokinin, S: Stres, ST: Stres+timokinin)

#### 4.1.7 Hayvanların Harekete Başlama Latansı

Test başlangıcında hayvanların kutuya konuldukları andan hareket etmeye başlamaları arasında geçen süre stres belirtici olarak görülmektedir. Kontrol grubuna kıyasla stres+timokinin grubunda harekete başlama sürelerinde anlamlı ( $p < 0.05$ ) bir fark bulunurken, timokinin grubunda stres grubuna kıyasla anlamlı ( $p < 0.05$ ) bir azalış görüldü. Ayrıca, stres grubuna kıyasla stres+timokinin grubunda anlamlı ( $p < 0.001$ ) bir

azalma gözlemlendi (Şekil 18).



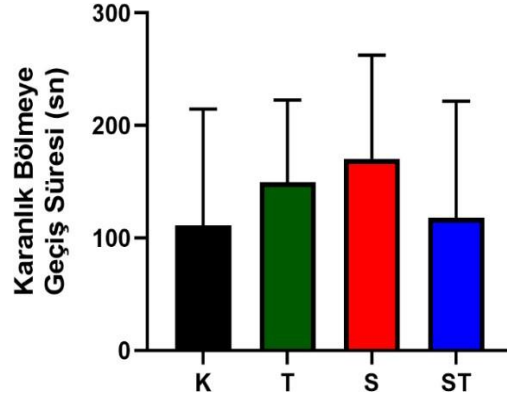
**Şekil 18:** Deney gruplarının açık alan testindeki hayvanların temizlenme süreleri (kontrol grubuna göre \* $p < 0.05$ , stres grubuna göre +++  $p < 0.001$  istatistiksel anlamlılık) (K: Kontrol, T: Timokinin, S: Stres, ST: Stres+timokinin).

## 4.2 Pasif Sakınma Testi Bulguları

Pasif sakınma testinde ilk olarak hayvanlara elektrik verilerek karanlık tarafa geçmemeleri gerektiği öğretildi. 24 saat sonra deneme periyodunda uzun süreli hafızayı anlamak adına aynı test tüm hayvan gruplarında tekrarlandı ve hayvanların karanlık tarafa geçme süreleri kaydedilerek analizler için kullanıldı.

### 4.2.1 Pasif Sakınma Testinde Hayvanların Karanlık Bölmeye Geçiş Süresi

Pasif sakınma testinde hayvanların karanlık alana geçiş süreleri ileri analizlerde kullanılmak amacıyla kaydedildi. Yapılan analizlerde stres grubunda kontrol ve timokinin gruplarına göre geçiş sürelerinde artış olmasına rağmen herhangi bir anlamlılık tespit edilmedi (Şekil 19).



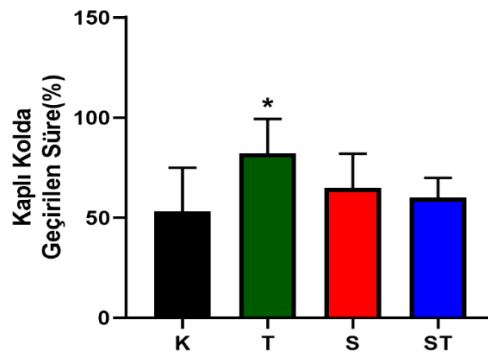
**Şekil 19:** Deney gruplarının pasif sakinme testindeki hayvanların kararlık bölümüne geçiş süresi (K: Kontrol, T: Timokinin, S: Stres, ST: Stres+timokinin).

### 4.3 Yükseltilmiş Artı Labirent Testi Bulguları

Yükseltilmiş artı labirent testinde hayvanların açık ve kapalı alanda bulunma süreleri anksiyete oluşumunu tespit etmek amacıyla incelendi ve analiz edildi.

#### 4.3.1 Kapalı Kolda Geçirilen Süre

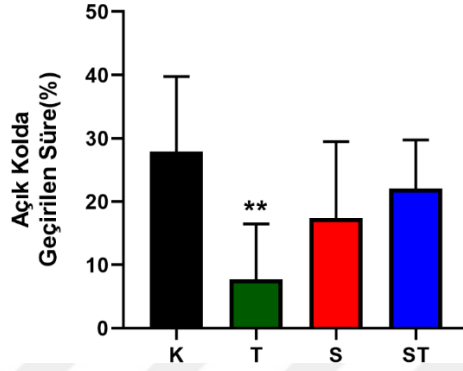
Bu testte hayvanların kapalı kolda daha fazla vakit geçirmeleri stres belirteçidir. Yapılan analizde kontrol grubuna kıyasla timokinin grubunda anlamlı ( $p < 0.05$ ) bir artış görüldü fakat stres ve stres+timokinin gruplarında her ne kadar artış gözlemlense de istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü (Şekil 20).



**Şekil 20:** Deney gruplarının yükseltilmiş artı labirent testindeki hayvanların kapalı bölümde geçirdikleri süre (\* $p < 0.05$  kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılık). (K: Kontrol, T: Timokinin, S: Stres, ST: Stres+timokinin)

### 4.3.2 Açık Kolda Geçirilen Süre

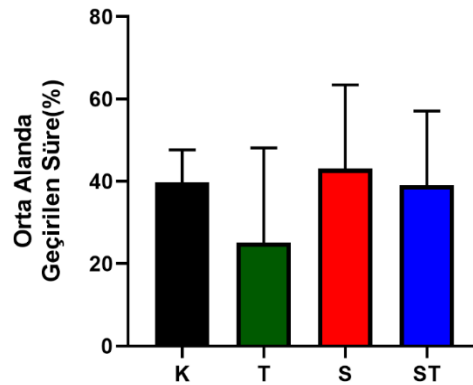
Testte hayvanların açık kolda geçirdikleri süreler istatistiksel olarak incelendi. Kontrol grubuna kıyasla timokinon grubunda anlamlı ( $p<0.001$ ) bir azalış görüldü. Stres ve stres+timokinon gruplarında kontrol grubuna kıyasla azalış görülsede anlamlı bir azalma bulunamadı (Şekil 21).



**Şekil 21:** Deney gruplarının yükseltilmiş artı labirent testindeki hayvanların açık bölümde geçirdikleri süre (\*\* $p<0.01$  kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılık). (K: Kontrol, T: Timokinon, S: Stres, ST: Stres+timokinon).

### 4.3.3 Orta Alanda Geçirilen Süre

Hayvanların yükseltilmiş artı labirent testinde orta alanda buluma süreleri incelendiğinde anlamlı bir fark belirlenmemiştir (Şekil 22).



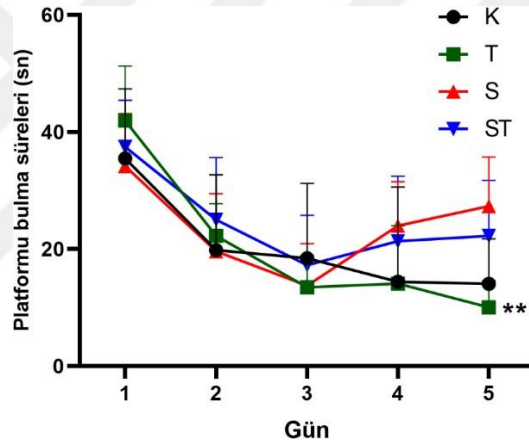
**Şekil 22:** Deney gruplarının yükseltilmiş artı labirent testindeki hayvanların orta bölümde geçirdikleri süre. (K: Kontrol, T: Timokinon, S: Stres, ST: Stres+timokinon).

#### 4.4 Morris Su Labirenti Testi Bulguları

Mekansal ve uzamsal hafızayı ölçmek için sıçanlara ilk gün platformun yerini öğrenme periyodu uygulandı. Diğer 4 gün boyunca hayvanların sadece belirteç olarak kullanılan şemalara bakarak platformu bulma, platform bölgesinde dolanma hareketi gösterme durumları incelenerek analiz edildi.

##### 4.4.1 Hayvanların Platformu Bulma Süreleri

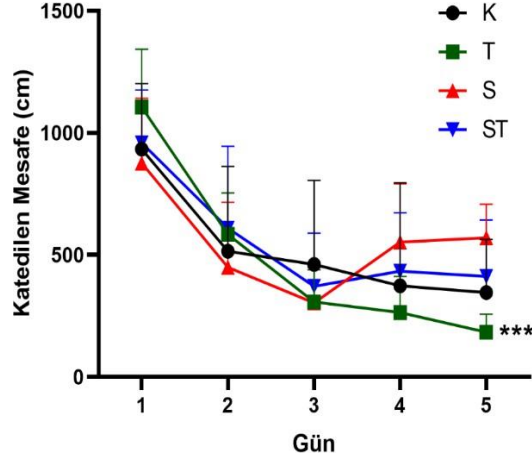
Morris su labirenti testinde hayvanlar öğrenme periyoduyla beraber, 4 farklı noktadan suya bırakıldılar ve platformu bulma süreleri incelendi. Yapılan analizde kontrol grubuna kıyasla 5. günde timokinon grubunun platformu bulma süresinde anlamlı ( $p<0.01$ ) bir azalış olduğu belirlendi (Şekil 23).



Şekil 23: Deneş gruplarının Morris su tankı testinde hayvanların platformu bulma süreleri (\*\* $p<0.01$  kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılık) (K: Kontrol, T: Timokinon, S: Stres, ST: Stres+timokinon).

##### 4.4.2 Hayvanların Katettikleri Mesafeler

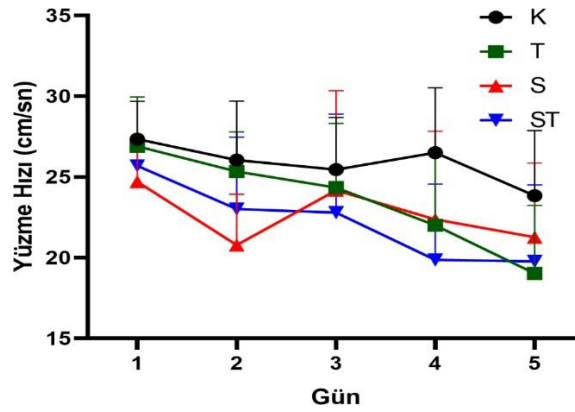
Test sırasında hayvanları platformu bulmak amacıyla ne kadar hareket ettikleri mesafe cinsinden incelendiğinde kontrol grubuna kıyasla timokinon grubunda anlamlı ( $p<0.001$ ) bir azalış olduğu görüldü. Stes ve stres+timokinon gruplarında herhangi bir anlamlılık gözlenmedi (Şekil 24).



**Şekil 24:** Deney gruplarının Morris su tankı testinde hayvanların katettikleri mesafeleri (\*\*\*)  $p < 0.001$  kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılık) (K: Kontrol, T: Timokinon, S: Stres, ST: Stres+timokinon).

#### 4.4.3 Hayvanların Yüzme Hızları

Hayvanlar öğrenme periyodundan itibaren 5 gün boyunca farklı noktalardan suya bırakıldı ve yüzme hızları incelendi. Yapılan incelemede hayvanların yüzme hızlarında artış olması beklenen durumken hayvanların yüzme hızlarında stres veya kontrol gruplarına kıyasla herhangi bir anlamlılık bulunamadı (Şekil 25).

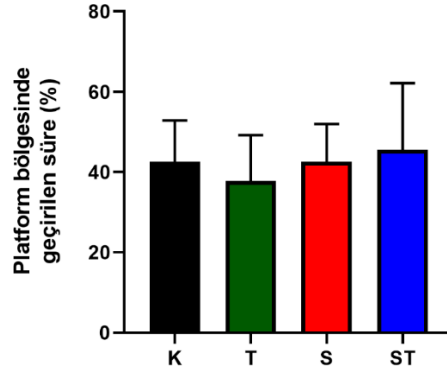


**Şekil 25:** Deney gruplarının Morris su tankı testinde hayvanların yüzme hızları (K: Kontrol, T: Timokinon, S: Stres, ST: Stres+timokinon)

#### 4.4.4 Hayvanların Platform Bölgesinde Geçirdikleri Süreler

Deneyin son günü platform kaldırıldı ve hayvanlar tekrar suya bırakıldı böylelikle hayvanların platform bölgesinde geçirdikleri süreler incelenerek analiz edildi. Yapılan analizde hayvanların platform bölgesinde daha fazla vakit geçirmesi beklenen bir

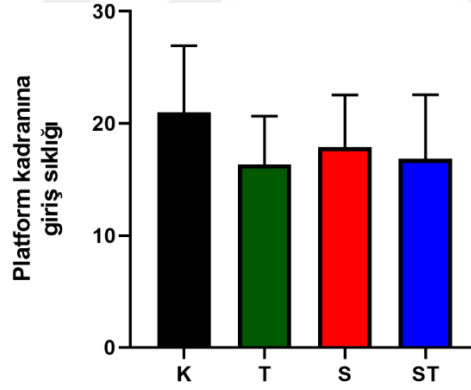
durumken kontrol ve stres grubuna kıyasla anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 26).



Şekil 26: Deney gruplarının Morris su tankıtestinde hayvanların platform bölgesinde geçirdikleri süre (K: Kontrol, T: Timokinin, S: Stres, ST: Stres+timokinin)

#### 4.4.5 Hayvanların Platform Kadranına Giriş Sıklığı

Hayvanların platformsuz su tankında platform olmasa dahi o kadranda dolaşması beklenir. Yapılan analizde hayvanların platform kadranına giriş sıklığı incelendi fakat kontrol ya da stres grubuna kıyasla herhangi bir anlamlılık gözlenmedi (Şekil 27).

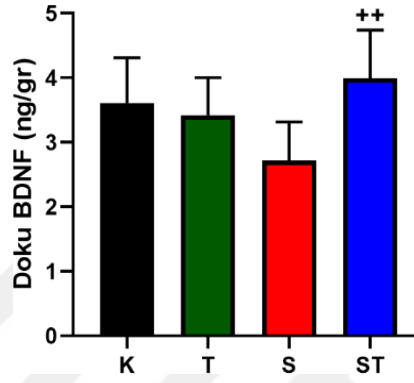


Şekil 27: Deney gruplarının Morris su tankıtestinde hayvanların platform kadranına giriş sıklığı (K: Kontrol, T: Timokinin, S: Stres, ST: Stres+timokinin)

## 4.5 Biyokimyasal Bulgular

### 4.5.1 Hipokampus Dokusundan Elde Edilen Süpernatantlarda BDNF Seviyesi

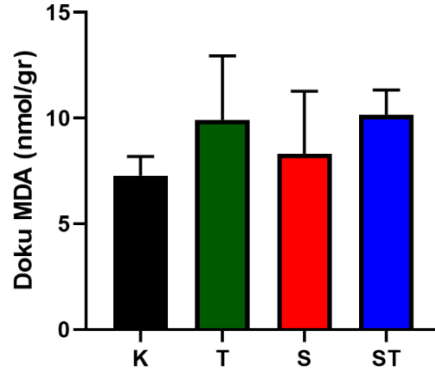
Hipokampus dokularının süpernatantlarında nöron gelişiminde önemli etkisi olan BDNF seviyesi ölçüldü. BDNF seviyesinde kontrol grubuna kıyasla timokinon ve stres gruplarında azalma tespit edildi. Stres grubuna kıyasla ( $p<0.01$ ) stres+timokinon grubunda istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.01$ ) bir artış görüldü (Şekil 28).



Şekil 28: Deney gruplarının hipokampus BDNF düzeyleri (\*\* $p<0.01$  stres grubuna göre istatistiksel anlamlılık) (K: Kontrol, T: Timokinon, S: Stres, ST: Stres+timokinon)

### 4.5.2 Hipokampus Dokusundan Elden Edilen Süpernatantlarda MDA Seviyesi

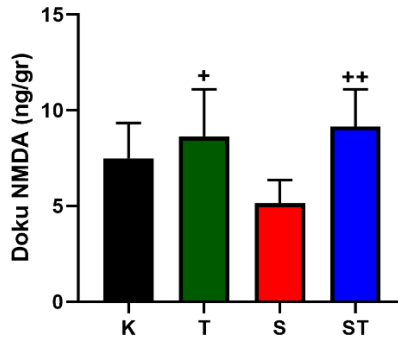
Hipokampus süpernatantlarında MDA seviyesi ölçüldü. Yapılan ölçümlerde kontrol grubuna kıyasla timokinon grubunda, stres grubuna kıyasla stres+timokinon grubunda artış olmasına rağmen istatistiksel anlamlılık tespit edilemedi (Şekil 29).



**Şekil 29:** Deney gruplarının hipokampus MDA düzeyleri (K: Kontrol, T: Timokinin, S: Stres, ST: Stres+timokinin)

#### 4.5.3 Hipokampus Dokusundan Elde Edilen Süpernatantlarda NMDA Seviyeleri

Hipokampus dokusu süpernatantlarında NMDA seviyeleri ölçüldü. Yapılan ölçümlerde stres grubuna kıyasla timokinin grubunda ( $p<0.05$ ) ve stres+timokinin grubunda ( $p<0.01$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü. Stres grubunda NMDA seviyesi kontrol grubuna göre azalma olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlılık gözlenmedi (Şekil 30).

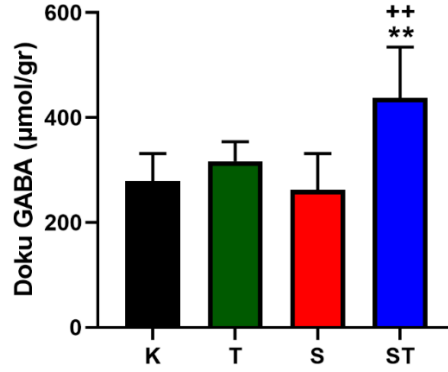


**Şekil 30:** Deney gruplarının hipokampus NMDA düzeyleri (+ $p<0.05$ , ++ $p<0.01$  stres grubuna göre istatistiksel anlamlılık) (K: Kontrol, T: Timokinin, S: Stres, ST: Stres+timokinin)

#### 4.5.4 Hipokampus Dokusundan Elde Edilen Süpernatantlarda GABA Seviyeleri

Hipokampus dokularından elde edilen GABA seviyelerine bakıldığında en yüksek artışın stress+timokinin grubunda olduğu; timokinin grubunda kontrol grubuna kıyasla artış olduğu fakat istatistiksel olarak anlamlılık olmadığı görüldü.

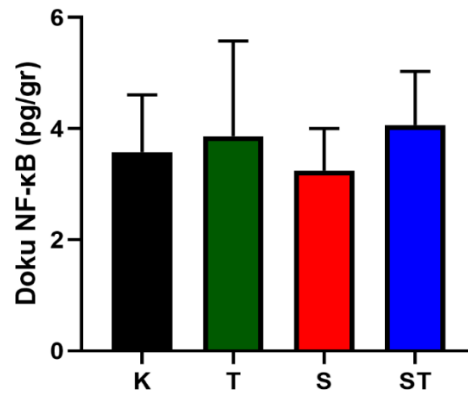
Stres+timokinon grubunda stres grubuna göre ( $p<0.01$ ) ve kontrol grubuna göre ( $p<0.01$ ) istatistiksel olarak bir artış olduğu tespit edildi (Şekil 31).



Şekil 31: Deney gruplarının hipokampus GABA düzeyleri (\*\* $p<0.01$  kontrol grubuna göre, ++ $p<0.01$  stres grubuna göre istatistiksel anlamlılık) (K: Kontrol, T: Timokinon, S: Stres, ST: Stres+timokinon)

#### 4.5.5 Hipokampus Dokusundan Elde Edilen Süpernatantlarda NF- $\kappa$ B Seviyeleri

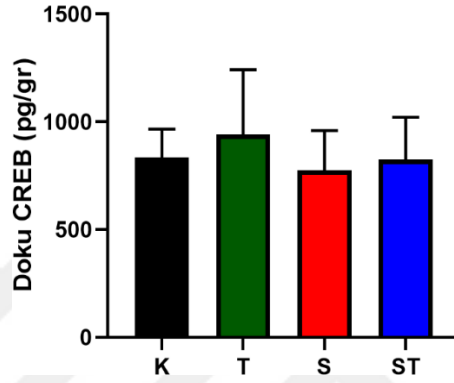
Gen ekspresyonunda rol oynayan NF- $\kappa$ B hipokampus süpernatantlarındaki seviyesi incelendiğinde kontrol ve stres grubuna kıyasla timokinon ve stres+timokinon gruplarında artış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlılık olmadığı gözlemlendi (Şekil 32)



Şekil 32: Deney gruplarının (K: Kontrol, T: Timokinon, S: Stres, ST: Stres+timokinon) hipokampus NF- $\kappa$ B düzeyleri (K: Kontrol, T: Timokinon, S: Stres, ST: Stres+timokinon)

#### 4.5.6 Hipokampus Dokusundan Elden Edilen Süpernatantlarda CREB Seviyeleri

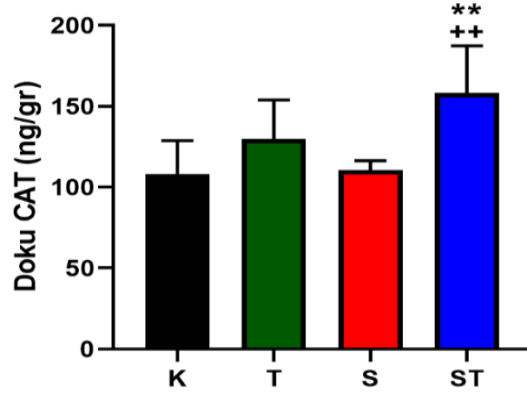
Özellikle beyinde anıları saklamada görevi olan CREB proteininin hipokampus süpernatantlarındaki seviyesi ölçüldüğünde, kontrol ve stres grubuna kıyasla; timokinon grubunda artış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi. Aynı zamanda stres grubuna kıyasla stres+timokinon grubunda da artış olmasına karşılık istatistiksel anlamlılık yoktu (Şekil 33).



Şekil 33: Deney gruplarının hipokampus CREB düzeyleri (K: Kontrol, T: Timokinon, S: Stres, ST: Stres+timokinon)

#### 4.5.7 Hipokampus Dokularından Elden Edilen Süpernatantlarda CAT Seviyeleri

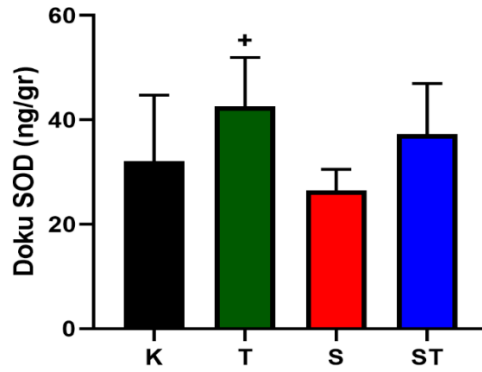
Hipokampus dokularından elde edilen CAT seviyelerine bakıldığında en yüksek artışın stress+timokinon grubunda olduğu; timokinon grubunda kontrol ve stres gruplarına kıyasla artış olduğu fakat istatistiksel olarak anlamlılık olmadığı gözlemlendi. Stres+timokinon grubunda stres grubuna göre ( $p<0.01$ ) ve kontrol grubuna göre ( $p<0.01$ ) istatistiksel olarak bir artış olduğu görüldü (Şekil 34).



**Şekil 34:** Deney gruplarının hipokampus CAT düzeyleri (\*\*p<0.01 kontrol grubuna göre, ++p<0.01 stres grubuna göre istatistiksel anlamlılık) (K: Kontrol, T: Timokinin, S: Stres, ST: Stres+timokinin)

#### 4.5.8 Hipokampus Dokusundan Elde Edilen Süpernatantlarda SOD Seviyeleri

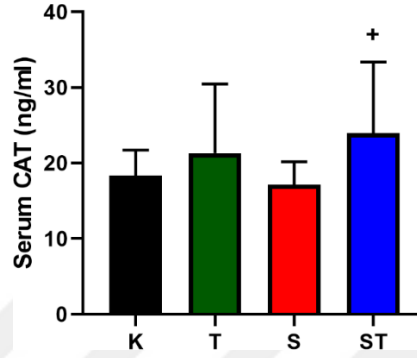
Hipokampus süpernatantlarında SOD seviyesi ölçüldü. Yapılan ölçümlerde kontrol grubuna kıyasla timokinin grubunda artış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilmedi. Buna karşın stres grubuna kıyasla timokinin grubunda istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05) bir artış olduğu görüldü. Stres+timokinin grubunda kontrol ve stress gruplarına kıyasla artış olmasına rağmen anlamlılık gözlenmedi (Şekil 35).



**Şekil 35:** Deney gruplarının hipokampus SOD düzeyleri (+p<0.05 stres grubuna göre istatistiksel anlamlılık) (K: Kontrol, T: Timokinin, S: Stres, ST: Stres+timokinin)

#### 4.5.9 Hayvanların Kan Serumundaki CAT Seviyesi

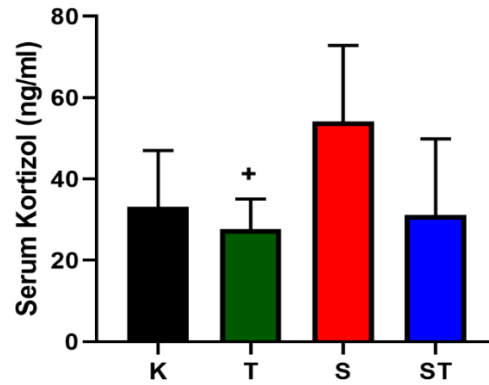
Hayvanların diseksiyonu öncesi kalplerinden alınan kandan ayrılan serum içerisindeki CAT seviyeleri ölçüldü. Yapılan ölçümde kontrol ve stres grubuna kıyasla timokinon grubunda artış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmedi. Stres grubuna kıyasla stres+timokinon grubunda istatistiksel olarak bir anlamlılık ( $p<0.05$ ) vardı (Şekil 36).



Şekil 36: Deney gruplarının kan serumlarında CAT düzeyi ( $+p<0.05$  stres grubuna göre istatistiksel anlamlılık) (K: Kontrol, T: Timokinon, S: Stres, ST: Stres+timokinon)

#### 4.5.10 Hayvanların Kan Serumundaki Kortizol Seviyesi

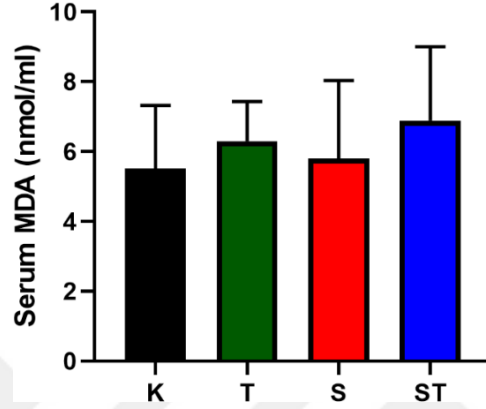
Hayvanların kalplerinden alınan serum içerisindeki kortizol seviyesi en az timokinon grubunda ölçüldü. Stres grubuna kıyasla tüm grupların kortizol düzeylerinde azalma meydana geldiği görülürken sadece timokinon grubunda ( $p<0.05$ ) anlamlı olarak bir azalma olduğu tespit edildi (Şekil 37).



Şekil 37: Deney gruplarının kan serumlarında kortizol düzeyi ( $+p<0.05$  stres grubuna göre istatistiksel anlamlılık) (K: Kontrol, T: Timokinon, S: Stres, ST: Stres+timokinon)

#### 4.5.11 Hayvanların Kan Serumundaki MDA Seviyesi

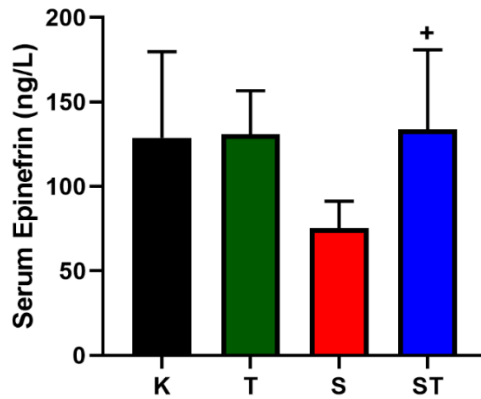
Hayvanların kalplerinden alınan serum örneklerinde MDA seviyeleri ölçüldü. Yapılan ölçümlerde kontrol grubuna kıyasla tüm gruplarda artış görülürken stres grubuna kıyasla stres+timokinon grubunda artış gözlemlendi ama herhangi bir istatistiksel anlamlılık tespit edilmedi (Şekil 38).



Şekil 38: Deney gruplarının kan serumlarında MDA düzeyi (K: Kontrol, T: Timokinon, S: Stres, ST: Stres+timokinon)

#### 4.5.12 Hayvanların Kan Serumundaki Epinefrin Seviyesi

Hayvanların kalplerinden alınan serum içerisindeki epinefrin seviyesi en az stres grubunda ölçüldü. Stres grubuna kıyasla tüm grupların epinefrin düzeylerinde artma meydana gelmesine rağmen sadece timokinon uygulanmış stres grubunda ( $p < 0.05$ ) anlamlı olarak bir artma olduğu tespit edildi (Şekil 39).



Şekil 39: Deney gruplarının kan serumlarında epinefrin düzeyi (+ $p < 0.05$  stres grubuna göre istatistiksel anlamlılık) (K: Kontrol, T: Timokinon, S: Stres, ST: Stres+timokinon)

## 5. TARTIŞMA

Yaşamın kaçınılmaz bir parçası olan stres, canlıların beyin fonksiyonları üzerinde derin etkiler yaratır. Stres, hayvanların zihinsel ve fizyolojik sağlığını etkiler ve bu etkiler özellikle öğrenme ve bellek üzerinde yoğunlaşır. Stresin, özellikle kronik formu, hayvan modellerinde gösterildiği üzere, hipokampal bölgede yapısal değişikliklere ve buna bağlı olarak bilişsel bozukluklara yol açabilir. Stres beyinde pek çok nörodejeneratif ve nörobiyolojik hasara neden olur. Son yıllarda yapılan araştırmalar, stresin beyinde hücrel sinir ağı, sinaptik plastisite ve bilişsel mekanizmalar üzerindeki olumsuz etkisi olduğunu göstermektedir [82, 83].

Timokinon, çeşitli sağlık yararlarıyla bilinen *Nigella sativa* bitkisinin aktif bileşenidir. Araştırmalar, *N. sativa*'nın aktif bileşiği olarak bilinen TQ'nun asetilkolinesteraz inhibe edici etkisi olduğunu ve kültüre edilmiş sıçan primer nöronlarını A $\beta$  kaynaklı nörotoksositeye karşı koruduğunu ayrıca, hipokampal hücreler üzerindeki nöroprotektif etkisinde önemli role sahip olduğunu göstermiştir [7, 8].

İnsandaki strese yanıt olarak oluşturulan parametreleri tam anlamıyla açıklığa kavuşturmasa da hayvan modelleri pek çok bilimsel soruya cevap kaynağı olmuştur. Özellikle kemirgen modelleri, bilişsel bozukluk ve anksiyete gibi nörodejeneratif hastalıkların temelinde yatan stres fizyolojisinin araştırılması, incelenmesi ve anlaşılması adına öncelikli olarak kullanılmıştır [21, 82, 83]. Literatür farklı stres modelleri kullanılan çalışmalarda biyokimyasal ve fizyolojik olarak bilimsel soruların tartışılması adına kemirgen modellerinin kullanılmasını desteklemektedir ve stres maruziyeti sonucu meydana gelen hafıza disfonksiyonu tedavisi için yeni hedeflerin potansiyeline dair açıklamalar sunmuştur [21, 83].

Stresin canlı beyinde oluşturduğu olumsuz etkiler süresine göre farklılık gösterir ve beynin uzun süreli strese maruz kalması yapısal bozukluklara sebebiyet vererek psikolojik ve fizyolojik değişikliklere neden olur. Kronik strese bağlı oluşan beyin atrofisi gibi yapısal değişiklikler, çeşitli tepkilere yol açar ve bu da biliş ve hafıza üzerindeki etkisinin araştırılmasını gerektirir [2, 4].

Bu bağlamda, yapılan araştırmalar, şiddetli, uzun süreli stresin sıçan hipokampüsünde varolan piramidal hücrelerin dendritik dallanmasını azalttığını göstermiştir. Ek olarak, stresin insanlardaki bilişsel işlevlerin azalmasına neden olduğu ve bu azalmanın da doğrudan hipokampüsün aktivitesi ile ilişkili olduğunu belirtmektedir [2, 4, 20]. Öğrenme ve hafıza oluşumunun dışında, beyin bölgesinin iki kritik alanı olan hipokampus ve prefrontal korteksin kronik stresten etkilendiğini ve kaygı, endişegibi davranışların oluşmasında etkili olduğuna dair kanıtlar sunulmuştur. Literatür, stresin bu beyin bölgelerindeki hücresel bütünleşmeyi ve aktif katılımını etkilediğini göstermiştir [2, 5, 6].

Stres yanıtı bir organizmanın hayatta kalma tekniğı olarak ortaya çıkan nöroendokrin ve sempatik sinir sisteminin birlikte çalışmasıyla korunan fizyolojik, davranışsal ve bilişsel yanıttır. Dolayısıyla stres yanıtı kavramı stresli olay sonrası tekrar aynı maruziyeti yaşamamak adına uyarılabilir bir hafıza oluşturmak üzere stres-bellek ilişkisini içeren henüz tam olarak nedeni açıklanmamış tepkilerdir [83, 92]. Bu bağlamda stres ve bellek arasındaki olumsuz etkileşim sonucu meydana gelebilecek tepkileri incelemek ve tartışmak adına yaptığımız davranış testleri aydınlatıcı oldu. Sosyal izolasyonun davranışsal testler üzerine olan etkisini inceleyen bir araştırmada uygulanan açık alan testinde anksiyeteye bağılı olarak sıçanların düzenek merkezine daha az girdiğı genel olarak kenarlarda dolaştığı gözlenmiştir [93].

Daha önce depresyon anksiyete gibi etkenlerin incelendiğı bir çalışmada yapılan açık alan ve yükseltilmiş artı labirent testinde, stresli olan hayvanların lokomotor aktivitelerinde azalma olduğu, temizlenme hareketlerinin (grooming) daha sık olduğu açıklanmıştır [64]. Tezimizde açık alan testine tabi tutulan stres maruziyeti yaşamış hayvanların, orta alanda daha az dolaştığı ve anksiyete nedeniyle kenar alanlarda daha sık hareket ettiğı gözlemlenmiştir. Yaptığımız analizlerde kontrol grubuna göre stres gruplarının daha az orta alanda vakit geçirdiğı stres tepkisi olarak karşımıza çıkan bir durumdur.

Farklı olarak yükseltilmiş artı labirent testinde hayvanların, açık ve kapalı kollarda geçirdikleri sürele bakıldığında kontrole kıyasla TQ grubunda kapalı kolda geçirilen sürede anlamlı olarak artma, açık kolda TQ grubunun geçirdiğı süre de yine kontrole kıyasla anlamlı şekilde azalma olduğu yapılan analizlerde tespit edilmiştir. Stres uygulanmış TQ grubunda anlamlı olmasada kapalı kolda geçirilen sürede stres

grubuna göre azalma olmuştur. Stres davranışı açısından değerlendirildiğinde TQ tedavisinin stres üzerinde etki ederek hayvanlar üzerindeki anksiyeteyi azalttığı ifade edilebilir.

Öğrenme ve bellekteki görevi sebebiyle hipokampus beyinde en çok çalışan bölümlerden biri olması dışında kalıcı hafızanın da olduğu ilk yer olarak bilinir [92, 94]. Hipokampusta bulunan ve memeli türlerinde tanımlanan dentat girus, yetişkin memelilerde yeni sinaptik etkileşimler oluşturan nörojenez olarak da bilinen yeni nöronların ortaya çıkmasıyla öğrenme ve hafızanın oluşumunda görevlidir [95, 96]. Kemirgenlerle yapılan öğrenme ve bellek çalışmaları incelendiğinde, Morris su labirenti testinin uzamsal bellek performansını ölçmek amacıyla kullanıldığı ve hipokampal bölgedeki CA1 nöronlarının dejenerasyonunu incelemeye etkili olduğu kabul edilir [97]. Öğrenme ve bellek fonksiyonlarının değerlendirilmesi amacıyla kullandığımız pasif sakınma testinde, timokinon tedavisi uyguladığımız grupların karanlık bölmeye geçme sürelerinin daha uzun olması beklenen durumdur. Pasif sakınma testindeki davranış testi analizine bakıldığında stres grubunun karanlık bölmeye geçme süresinin daha uzun olduğu tTQ tedavisi uyguladığımız grupların ise karanlık bölmeye daha kısa sürede geçtiği gözlenmiştir. TQ gruplarının pasif sakınma testinde daha düşük performans göstermelerinin sebebi timokinonun korku koşullanması üzerine belirgin etkiye sahip olmaması olabilir.

Hipokampusta özellikle uzamsal hafızayı analiz etmek için çalışmamızda Morris su labirenti testi uygulandı. Uygulanan testte hayvanların deney günleri boyunca platformu bulma süreleri analiz edildi. İlk gün ile son gün kıyaslandığında tüm gruplarda platformu bulma süresinde azalma olduğu görüldü. Son gün kontrol grubuna kıyasla TQ grubunda anlamlı bir azalma olduğu buna karşın stres gruplarında kontrol grubuna göre hayvanların platformu bulma sürelerinin uzun olduğu tespit edildi. Stres grubuna kıyasla stres+timokinon grubunun daha kısa sürede platformu bulduğu gözlemlendi. Morris su labirenti testi bulgularında hayvanların kat edilen mesafeleri incelendiğinde, ilk güne kıyasla son gün hayvanların su tankında katettikleri mesafe azalmıştır. Kontrol grubuna kıyasla TQ grubunda anlamlı azalış görülmüştür aynı zamanda stres grubuna kıyasla timokinon tedavisi uygulanan stres grubunda anlamlılık olmamasına rağmen belirgin bir azalış vardır. Bu analizler stresin hafızayı baskıladığını kanıtlarken timokinonunda stres maruziyeti geçirmiş hayvanların hafızasına olumlu koruyucu bir etki sağladığını kanıtlar niteliktedir.

Çeşitli araştırmalar, oksidatif stresin sebep olduğu nöroinflamasyon ve serbest oksijen radikallerinin üretiminin arttırması ile hipokampüsün olumsuz etkilendiğini ve nihayetinde nöron kaybı ile sonuçlandığını göstermiştir [2, 20]. Oksidatif stres varlığında üretilen CAT hidrojen peroksiti parçalayarak oksidatif hasara karşı savunma oluşturur ve hücreyi korur [84-86]. Araştırmamız sonucunda elde ettiğimiz biyokimyasal bulgulardaki hipokampal doku homojenatlarındaki CAT seviyelerinde kontrol ve stres gruplarına kıyasla stres+timokinon grubunda anlamlı bir artış vardır. TQ grubunda da stres ve kontrol gruplarına göre anlamlı olmasa da CAT düzeyinde artış olduğu görülmektedir. Bu durum, timokinonun antioksidan özellikleri sayesinde hücreleri korumaya ve stresin etkilerini azaltmaya çalıştığını işaret etmektedir. Timokinonun stresle etkileşiminde meydana gelen kan serumundaki CAT artışı, daha önce yapılan çalışmalarla değerlendirildiğinde, stresle başa çıkma durumunda timokinonun önemli derecede etkili olduğunu göstermektedir.

Stres hormonu olarak adlandırılan kortizol kanda bulunma miktarına göre stres göstergesidir ve uzun süreli stres durumunda öğrenme ve belleği olumsuz etkilediği bildirilmiştir [74, 87]. Çalışmamızda serum kortizol seviyesinin stres grubunda en fazla çıkması literatürü destekler niteliktedir. Biyokimyasal bulgulardaki stres grubuna kıyasla timokinon tedavisi uygulanan stres grubunun kortizol seviyesinde anlamlı bir artış görülmüştür.

Kemirgenlerin beyin bölgesinde özellikle hipokampüste bulunduğu belirtilen strese karşı üretilen SOD enzimi, serbest radikallerle savaşan antioksidandır ayrıca öğrenme ve bellekle ilişkilendirilir. SOD artışı vücudun oksidatif strese karşı başa çıkma yöntemi olarak değerlendirilebilir [32, 86, 88]. Çalışmamızdaki bulgular incelendiğinde, SOD seviyesinin stres grubuna göre TQ grubunda belirgin bir artma olduğu ve stres+timokinon grubunda anlamlı bir artış olduğu belirlenmiştir. Timokinon tedavisi uygulanan gruplarda var olan artmat tedavinin olumlu yanıt verdiği hatta timokinonun stres varlığında savaşçı rolü olduğunu gösterir.

Beyindeki stres uyarılarına karşı vücudun savaş ya da kaç tepkisinin oluşmasına sebep olarak salgılanan fizyolojik etkilerden biri olan kandaki epinefrin artışı vücudun stresle başa çıkma sürecinde temel rol oynar [89-91].

Hipokampüsün öğrenme ve bellekteki rolüne hipokampüste bulunan NMDA glutamat reseptörlerinin aracılık ettiği bilinmektedir. Ek olarak hipokampüsteki nörojenez de

öğrenme ve belleğin işlevleri için ciddi öneme sahiptir. Glutamat NMDA reseptörleri ve nörojenez, hipokampusta stres hormonları tarafından etkilenen yapıdadır. Bu sebeple, NMDA reseptörlerinin baskılanması, hipokampüsün morfolojik bozukluğu üzerindeki stres etkilerini sınırlar [5,6]. Birkaç çalışma, NMDA reseptörler antagonistlerinin, hayvan modellerinde stres kaynaklı depresyon ve kaygıyı engellediğini göstermiştir. Bu gerçekler göz önüne alındığında, kronik stresin öğrenme ve hafıza bozukluklarına neden olması şaşırtıcı değildir. Ancak stres sırasında NMDA reseptörlerinin bloke edilmesi durumunda öğrenme ve hafızada değişme olup olmayacağı literatürde belirtilmemiştir [5-7]. Maruz kalınan belirli stresörlerin oluşturduğu uzun süreli etkileri davranışsal ve biyokimyasal olarak incelemek ve araştırmak için hayvan çalışmaları insan çalışmalarına göre daha önceliklidir. NMDA, nöronal gelişim sürecinde uyarıcı bir nörotransmitter olup, sinaptik plastisite için glutamat reseptörlerinin kilit molekülüdür [6,7]. Önceki bir çalışmada, öğrenme ve bellek oluşumunda önemli bir rol oynayan NMDA reseptörlerini hedef alan stres faktörleri, özellikle korku koşullanması varlığında, hipokampüsün sinaptik plastisitesini olumsuz yönde etkileyerek sıçanlarda öğrenmeyi engellediği ve belleği etkilediğini ortaya çıkarmıştır [98]. Yapılan başka bir çalışmada stres sonucu hipokampüsün CA3 bölgesindeki dentirik dallanmanın azalması, LTP'nin baskılanması ile NMDA reseptörlerinde azalma olduğuna işaret etmektedir [99].

NMDA reseptörleri, özellikle öğrenme ve bellek mekanizmalarında kritik bir rol oynar. Stres, bu reseptörlerin aktivasyonunu etkileyerek, bireyin öğrenme ve hafıza yeteneklerini değiştirebilir. Bu, öğrenme ve hafıza süreçlerinin stresle nasıl etkilendiğini anlamak için önemlidir. Biyokimyasal bulgular incelendiğinde hayvanların hipokampus dokusundaki NMDA miktarı, stres grubuna nazaran timokinin grubunda ve stres+timokinin grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Timokinin hafızaya olumlu olarak etki eden NMDA reseptörlerini arttırması öğrenme ve belleğin oluşumunda önemli bir etkisi olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda stres grubundaki NMDA reseptörlerinin kontrol grubuna kıyasla az olması stres maruziyeti geçirmiş hayvanlarda öğrenme ve hafızaya olumsuz etkisi olduğunu gösterir. Stres+timokinin grubunda NMDA miktarında artış olması, akut stres durumlarında timokinin tedavisinin bu reseptörün aktivitesini artırabileceğini ve öğrenme ve bellek oluşumunda olumlu etkisi olabileceğini göstermektedir.

TQ'nun kültüre nöral kök-progenitör hücrelerin çoğalması ve nöral farklılaşması ayrıca nörojenez ve hafıza üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, hücre sayısını

önemli ölçüde artırdığı gözlenmiştir. TQ uygulanan sıçanlardan alınan doku örneklerinde hipokampal mRNA ve BDNF seviyelerinde artış olduğu gözlenirken hipokampüste lipit peroksit ve reaktif oksijen türlerinin seviyelerini azaldığı gözlemlenmiştir [13]. Uzamsal hafızanın BDNF reseptörü tedavisiyle ilgili araştırma yapılan bir çalışmada hipokampüsdeki BDNF artışının kemirgenlerde mekansal belleği desteklediği rapor edilmiştir [100]. BDNF sinir sisteminde pek çok nöronun farklılaşmasında ve hayatta kalmasında rol oynayan stres varlığında en çok etkilenen ve miktarını azalan reseptörlerden biridir. BDNF artışı ile birlikte NMDA reseptör düzeylerinin arttığı buna bağlı olarak öğrenme ve bellek oluşumunda artış olduğu bilinmektedir [99]. Yaptığımız çalışmada hipokampüs dokusunda BDNF miktarı biyokimyasal analizlerle incelendi. Stres grubuna kıyasla timokinon tedavisi uygulanan stres grubunda BDNF miktarında anlamlı bir artış, TQ grubunda dastres grubuna göre belirgin bir artma olduğu gözlenmiştir. Stresle etkileşim halinde olan timokinonun BDNF miktarının artmasına sebep olduğu, bunun da NMDA miktarını artırarak öğrenme ve bellek üzerinde olumlu sonuçlar ortaya çıkardığı düşünülmektedir.

Beyindeki major inhibitörlerden biri olan GABA reseptörü stresi ve anksiyeteyi azaltma görevindedir [101]. Prenatal stresin mikrobiyolojik etkisinin araştırıldığı çalışmada, stresin prefrontal korteks ve hipokampüs de işaretlenmiş GABAerjik nöron sayılarını anlamlı düzeyde azalttığı, strese bağlı olarak GABAerjik nöronlarda meydana gelen değişikliklerin, hipokampusde dentrik dallanmayı azalttığı için gelişimsel bozukluklara yol açtığı ileri sürülmüştür [99]. HPA eksenin stres oluşumunda GABAerjik nöronların etkisinin incelendiği bir başka çalışmada, strese verilen psikojenik tepkilerin, bazal ön beyindeki GABAerjik nöron grupları tarafından kontrol edildiği ön görülmüştür [102]. GABA ara nöronlarındaki NMDA reseptörlerinin ilişkisinde olabilecek azalma, kortikal ağ sinyallerinde değişikliğe neden olur ve bilişsel işlevleri bozar [103].

Araştırmamızda hipokampal doku homejanatlarında GABA miktarlarına bakıldı. Hayvanlarda kontrol ve stres gruplarınkıyasla stres+timokinon grubunda anlamlı bir artış meydana gelmiştir. Yine kontrol ve stres gruplarına göre anlamlı olamasa da timokinon grubunda da GABA seviyesinde artma olduğu görülmektedir. Bunun sonucunda da timokinonun GABA düzeyini olumlu olarak arttırdığı böylece stres ve anksiyeteyi baskıladığı sonucuna varılmıştır.

Fareler üzerinde yapılan deneylerde NF- $\kappa$ B aktivasyonunun baskılanmasının hipokampal nöroinflamasyonu azalttığı bildirilmiştir [104]. NF- $\kappa$ B, stres varlığında ortaya çıkan ve stres indükleyici bir sinyal yolağıdır [105]. NF- $\kappa$ B ile ilgili önceki yapılan çalışmalarda nöroplastisite de önemli rol oynadığı dolayısıyla bellek ve öğrenmede etkili olduğu bulunmuştur [106]. Bizim çalışmamızda hipokampal dokudan elde edilen homejenatlarda NF- $\kappa$ B incelenmiş ve stres grubuna kıyasla timokinon tedavisi uygulanan gruplarda anlamlı bir fark olmasa da belirgin bir artma olduğu gözlenmiştir. Bu da NF- $\kappa$ B reseptörünün timokinon alan gruplarda daha etkin olduğu için bu gruplarda öğrenme ve bellek konusunda timokinonun koruyucu etkisi olduğu düşünülebilir.

CREB aktivasyonu sinaptik proteinlerin sentezini uyararak prefrontal korteksde anlık belleğin oluşumunu ve nöronal aktiviteyi sağlar [107, 108]. CREB özellikle hipokampusta sinaps oluşumu, nöron yenilenmesi, öğrenme ve hafıza oluşumunda görevli proteinleri düzenleyen, en önemli hedef geni BDNF olan transkripsiyon faktörüdür [75]. Yaptığımız araştırmada, anlamlı bir fark olmamasına karşın kontrol ve stres gruplarına kıyasla timokinon tedavisi gören gruplarda CREB miktarında artma olduğu görülmektedir. Hücrede CREB miktarının artması hafızayı güçlendiren etken olarak düşünüldüğünde timokinon tedavisinin CREB miktarını arttırdığı böylece öğrenme ve bellek üzerinde olumlu bir etki yarattığı çıkarımı yapılabilir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmanın gösterdiği gibi, TQ, stresin neden olduğu öğrenme ve bellek bozukluklarını iyileştirebilmekte ve NMDA reseptörlerinin ifade ve işlevindeki değişiklikleri modüle edebilmektedir. Bu etkiler, timokinonun nörolojik bozuklukların tedavisinde ve stresin olumsuz etkilerine karşı koruma sağlamada potansiyel bir bileşen olabileceğini işaret etmektedir.

Hipokampus, öğrenme ve bellek süreçleri için kritik bir beyin bölgesidir ve stres hormonlarına karşı yüksek duyarlılık göstermektedir. Tezde sunulan veriler, timokinonun hipokampal fonksiyonlar üzerindeki olumlu etkilerinin ve özellikle stres altında hipokampal plastisitenin ve hafızanın korunmasında timokinonun potansiyel rolünü ortaya koymaktadır.

Tezde sunulan bulgular, timokinonun öğrenme ve bellek süreçlerinde NMDA reseptörlerini modüle ederek bu süreçleri iyileştirebileceğini göstermektedir. Bu etkiler, NMDA reseptörlerinin aktivasyonu ve sinaptik plastisite düzeylerinin artışı yoluyla gerçekleşir. Ayrıca, timokinonun nöronları oksidatif stresten koruduğu ve genel beyin sağlığını ve işlevini geliştirdiği gözlemlenmiştir.

Bu tez, stresin öğrenme ve bellek üzerindeki etkileri, NMDA reseptörlerinin bu süreçlerdeki rolü ve timokinonun potansiyel nöroprotektif etkilerini kapsamlı bir şekilde incelemiştir. Elde edilen bulgular, nörobiyolojik mekanizmaların daha iyi anlaşılması ve stres kaynaklı bilişsel bozuklukların tedavisinde yeni yaklaşımların geliştirilmesi için önemlidir. Gelecekteki araştırmalar, timokinonun bu etkilerini daha derinlemesine incelemeli ve potansiyel terapötik uygulamalarını daha geniş bir çerçevede değerlendirmelidir.

## KAYNAKLAR

- [1] **Mohseni-Moghaddam, P., Dogani, M., Hatami, M., Roohollahi, S., Amiresmaeli, A. ve Askari, N.** (2022). A behavioral and molecular study; ameliorated anxiety-like behavior and cognitive dysfunction in a rat model of chronic unpredictable stress treated with oregano extract. *Brain and Behavior*,12(8), e2727.
- [2] **Johnson, A. C., Uhlig, F., Einwag, Z., Cataldo, N. ve Erdos, B.** (2022). The neuroendocrine stress response impairs hippocampal vascular function and memory in male and female rats. *Neurobiology of Disease*, 168, 105717.
- [3] **Pehlivan, E. ve Dellal, G.** (2014). Memeli çiftlik hayvanlarında stres, fizyolojive üretim ilişkileri. *Hayvansal Üretim*, 55(1), 25-34.
- [4] **Noushad, S., Ahmed, S., Ansari, B., Mustafa, U.-H., Saleem, Y. ve Hazrat, H.** (2021). Physiological biomarkers of chronic stress: A systematic review. *International journal of health sciences*, 15(5), 46.
- [5] **Iyaswamy, A., Kammella, A. K., Thavasimuthu, C., Wankupar, W., Dapkupar, W., Shanmugam, S., ve ark.** (2018). Oxidative stress evoked damages leading to attenuated memory and inhibition of NMDAR–CaMKII– ERK/CREB signalling on consumption of aspartame in rat model. *journal of food and drug analysis*, 26(2), 903-916.
- [6] **Hansen, K. B., Yi, F., Perszyk, R. E., Menniti, F. S. ve Traynelis, S. F.** (2017). NMDA receptors in the central nervous system. *NMDA receptors: Methods and protocols*, 1-80.
- [7] **Poorgholam, P., Yaghmaei, P. ve Hajebrahimi, Z.** (2018). Thymoquinone recovers learning function in a rat model of Alzheimer's disease. *Avicenna journal of phytomedicine*, 8(3), 188.
- [8] **Pottoo, F. H., Ibrahim, A. M., Alammar, A., Alsinan, R., Aleid, M., Alshehhi, A., ve ark.** (2022). Thymoquinone: Review of its potential in the treatment of neurological diseases. *Pharmaceuticals*, 15(4), 408.
- [9] **Güçlü, N.** (2001). Stres yönetimi. *Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 21(1).
- [10] **Sanguino-Gómez, J., Buurstedde, J. C., Abiega, O., Fitzsimons, C. P., Lucassen, P. J., Eggen, B. J., ve ark.** (2022). An emerging role for microglia in stress-effects on memory. *European Journal of Neuroscience*, 55(9-10), 2491-2518.
- [11] **Plieger, T. ve Reuter, M.** (2020). Stress & executive functioning: A review considering moderating factors. *Neurobiology of Learning and Memory*, 173, 107254.
- [12] **Selye, H. ve Fortier, C.** (1950). Adaptive reaction to stress. *Psychosomatic medicine*, 12(3), 149-157.
- [13] **Spiers, J. G., Chen, H.-J. C., Bourgognon, J.-M. ve Steinert, J. R.** (2019). Dysregulation of stress systems and nitric oxide signaling underlies neuronal dysfunction in Alzheimer's disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 134,468-483.
- [14] **Morena, M., Santori, A. ve Campolongo, P.** (2022). Circadian regulation of memory under stress: Endocannabinoids matter. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 104712.
- [15] **Kania, B. F., Ferdyn, K., Wojnar, T. ve Lonc, G.** (2019). Glutamate as a Neural Stress

Factor in Humans and Animals. *Journal of Behavioral and Brain Science*, 9(2), 13-25.

- [16] **Bauduin, S.** (2022). Stressed-out stress systems: dysregulated stress-systems in the pathophysiology of stress-related disorders.
- [17] **Lazarus, R. S. ve Folkman, S.** (1984). *Stress, appraisal, and coping*. Springerpublishing company.
- [18] **Association, A. P.** (2011). Stress: The different kinds of stress. Retrieved from American Psychological Association website: <http://www.apa.org/helpcenter/stress-kinds.aspx>.
- [19] **McEwen, B. S.** (2005). Stressed or stressed out: what is the difference? *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 30(5), 315-318.
- [20] **Pehlivan, E. ve Dellal, G.** (2014). Memeli çiftlik hayvanlarında stres, fizyolojive üretim ilişkileri. *Hayvansal Üretim*, 55(1), 25-34.
- [21] **de Sousa Júnior, G. M., Vargas, H. D. Q., Barbosa, F. F. ve Galvão-Coelho, N. L.** (2021). Stress, memory, and implications for major depression. *Behavioural Brain Research*, 412, 113410.
- [22] **Saeedi, M. ve Rashidy-Pour, A.** (2021). Association between chronic stress and Alzheimer's disease: Therapeutic effects of Saffron. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 133, 110995.
- [23] **Ulrich-Lai, Y. M. ve Herman, J. P.** (2009). Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nature reviews neuroscience*, 10(6), 397-409.
- [24] **Dutton, M., Can, A. T., Lagopoulos, J. ve Hermens, D. F.** (2022). Stress, mental disorder and ketamine as a novel, rapid acting treatment. *European Neuropsychopharmacology*, 65, 15-29.
- [25] **Smith, S. M. ve Vale, W. W.** (2022). The role of the hypothalamic-pituitary- adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues in clinical neuroscience*.
- [26] **Keller-Wood, M. E. ve Dallman, M. F.** (1984). Corticosteroid inhibition of ACTH secretion. *Endocrine reviews*, 5(1), 1-24.
- [27] **Marketon, J. I. W. ve Sternberg, E. M.** (2010). The glucocorticoid receptor: a revisited target for toxins. *Toxins*, 2(6), 1357-1380.
- [28] **Bains, J. S. ve Oliet, S. H.** (2007). Glia: they make your memories stick! *Trends in neurosciences*, 30(8), 417-424.
- [29] **Potier, M., Georges, F., Brayda-Bruno, L., Ladépêche, L., Lamothe, V., AlAbed, A. S., ve ark.** (2016). Temporal memory and its enhancement by estradiol requires surface dynamics of hippocampal CA1 N-methyl-D- aspartate receptors. *Biological Psychiatry*, 79(9), 735-745.
- [30] **Pilly, P. K. ve Grossberg, S.** (2012). How do spatial learning and memory occur in the brain? Coordinated learning of entorhinal grid cells and hippocampal place cells. *Journal of cognitive neuroscience*, 24(5), 1031-1054.
- [31] **Morris, R. G., Garrud, P., Rawlins, J. a. ve O'Keefe, J.** (1982). Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, 297(5868), 681-683.

- [32] **Kılıç, F. S., Aydın, Ş. ve Yıldırım, C.** (2018). “Euterpe Olerecea” nın Antioksidan ve Öğrenme–Bellek Üzerindeki Etkileri. *Osmangazi Tıp Dergisi*,40(1), 116-120.
- [33] **Joëls, M., Pu, Z., Wiegert, O., Oitzl, M. S. ve Krugers, H. J.** (2006). Learning under stress: how does it work? *Trends in cognitive sciences*, 10(4), 152-158.
- [34] **Cowan, N.** (2008). What are the differences between long-term, short-term, and working memory? *Progress in brain research*, 169, 323-338.
- [35] **Squire, L. R. ve Zola-Morgan, S.** (1991). The medial temporal lobe memory system. *Science*, 253(5026), 1380-1386.
- [36] **Scoville, W. B. ve Milner, B.** (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 20(1), 11.
- [37] **Eichenbaum, H.** (2000). A cortical–hippocampal system for declarative memory. *Nature reviews neuroscience*, 1(1), 41-50.
- [38] **O'Keefe, J., Nadel, L. ve Willner, J.** (1979). Tuning out irrelevancy? Comments on Solomon's temporal mapping view of the hippocampus.
- [39] **Moser, E. I., Krobot, K. A., Moser, M.-B. ve Morris, R. G.** (1998). Impaired spatial learning after saturation of long-term potentiation. *Science*, 281(5385), 2038-2042.
- [40] **McEwen, B. S., Year editör^editörler.** Glucocorticoids and hippocampus: receptors in search of a function. Adrenal actions on brain; 1982: Springer; Published.
- [41] **Hayman, L. A., Fuller, G. N., Cavazos, J. E., Pflieger, M. J., Meyers, C. A. ve Jackson, E. F.** (1998). The hippocampus: normal anatomy and pathology. *AJR American journal of roentgenology*, 171(4), 1139-1146.
- [42] **Afrin, H. A.** (2021) *THE IMPACT OF SOCIAL ISOLATION (SI) AND SOCIAL ENRICHMENT (SE) ON RAT HIPPOCAMPAL INTERNEURONS: A LITERATURE REVIEW*: California State Polytechnic University, Pomona.
- [43] **McEWEN, B. S. ve Magarinos, A. M.** (1997). Stress effects on morphology and function of the hippocampus. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 821, 271-284.
- [44] **Baker, K. B. ve Kim, J. J.** (2002). Effects of stress and hippocampal NMDA receptor antagonism on recognition memory in rats. *Learning & memory*, 9(2), 58-65.
- [45] **Lupien, S. J. ve McEwen, B. S.** (1997). The acute effects of corticosteroids on cognition: integration of animal and human model studies. *Brain research reviews*, 24(1), 1-27.
- [46] **Diamond, D. M. ve Rose, G. M.** (1994). Stress impairs LTP and hippocampal-dependent memory. *Stress*.
- [47] **Luine, V., Villegas, M., Martinez, C. ve McEwen, B. S.** (1994). Repeated stress causes reversible impairments of spatial memory performance. *Brain research*, 639(1), 167-170.
- [48] **Bodnoff, S. R., Humphreys, A. G., Lehman, J. C., Diamond, D. M., Rose, G. M. ve Meaney, M. J.** (1995). Enduring effects of chronic corticosterone treatment on spatial learning, synaptic plasticity, and hippocampal neuropathology in young and mid-aged rats. *Journal of Neuroscience*, 15(1), 61-69.

- [49] **de Quervain, D. J.-F., Roozendaal, B. ve McGaugh, J. L.** (1998). Stress and glucocorticoids impair retrieval of long-term spatial memory. *Nature*, 394(6695), 787-790.
- [50] **Diamond, D. M., Park, C. R., Heman, K. L. ve Rose, G. M.** (1999). Exposing rats to a predator impairs spatial working memory in the radial arm water maze. *Hippocampus*, 9(5), 542-552.
- [51] **Nishimura, J.-I., Endo, Y. ve Kimura, F.** (1999). A long-term stress exposure impairs maze learning performance in rats. *Neuroscience letters*, 273(2), 125-128.
- [52] **Abulfadl, Y., El-Maraghy, N., Ahmed, A. E., Nofal, S., Abdel-Mottaleb, Y. ve Badary, O. A.** (2018). Thymoquinone alleviates the experimentally induced Alzheimer's disease inflammation by modulation of TLRs signaling. *Human & experimental toxicology*, 37(10), 1092-1104.
- [53] **Bliss, T. V. ve Collingridge, G. L.** (1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361(6407), 31-39.
- [54] **Bliss, T. V. ve Gardner-Medwin, A.** (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of physiology*, 232(2), 357.
- [55] **Teyler, T. J. ve DiScenna, P.** (1987). Long-term potentiation. *Annual review of neuroscience*, 10(1), 131-161.
- [56] **Martin, S. J., Grimwood, P. D. ve Morris, R. G.** (2000). Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annual review of neuroscience*, 23(1), 649-711.
- [57] **Beylin, A. V. ve Shors, T. J.** (1998). Stress enhances excitatory trace eyeblink conditioning and opposes acquisition of inhibitory conditioning. *Behavioral neuroscience*, 112(6), 1327.
- [58] **Conrad, C. D.** (2008). Chronic stress-induced hippocampal vulnerability: the glucocorticoid vulnerability hypothesis. *Reviews in the Neurosciences*, 19(6), 395-412.
- [59] **De Kloet, E. R., Joëls, M. ve Holsboer, F.** (2005). Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nature reviews neuroscience*, 6(6), 463-475.
- [60] **McEwen, B. S., Bowles, N. P., Gray, J. D., Hill, M. N., Hunter, R. G., Karatsoreos, I. N., ve ark.** (2015). Mechanisms of stress in the brain. *Nature neuroscience*, 18(10), 1353-1363.
- [61] **Danysz, W. ve Parsons, C. G.** (2003). The NMDA receptor antagonist memantine as a symptomatological and neuroprotective treatment for Alzheimer's disease: preclinical evidence. *International journal of geriatric psychiatry*, 18(S1), S23-S32.
- [62] **Shapiro, M. L. ve Caramanos, Z.** (1990). NMDA antagonist MK-801 impairs acquisition but not performance of spatial working and reference memory. *Psychobiology*, 18(2), 231-243.
- [63] **Tse, Y. C., Bagot, R. C., Hutter, J. A., Wong, A. S. ve Wong, T. P.** (2011). Modulation of synaptic plasticity by stress hormone associates with plastic alteration of synaptic NMDA receptor in the adult hippocampus. *PLoS One*, 6(11), e27215.
- [64] **BAHADIR, A.** (2020). Radyofrekans/Mikrodalga Elektromanyetik Radyasyonun Anksiyete ve Depresyon Üzerine Etkileri: Deneysel Hayvan Modellerine Dayalı Çalışmalara Ait Literatür Taraması. *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10(3), 382-403.

- [65] **Al-Majed, A. A., Al-Omar, F. A. ve Nagi, M. N.** (2006). Neuroprotective effects of thymoquinone against transient forebrain ischemia in the rat hippocampus. *European journal of pharmacology*, 543(1-3), 40-47.
- [66] **Giese, K. P. ve Mizuno, K.** (2013). The roles of protein kinases in learning and memory. *Learning & memory*, 20(10), 540-552.
- [67] **Halliwell, B.** (1994). Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *The lancet*, 344(8924), 721-724.
- [68] **Betteridge, D. J.** (2000). What is oxidative stress? *Metabolism*, 49(2), 3-8.
- [69] **Li, J., O, W., Li, W., Jiang, Z.-G. ve Ghanbari, H. A.** (2013). Oxidative stress and neurodegenerative disorders. *International journal of molecular sciences*, 14(12), 24438-24475.
- [70] **Bisht, K., Sharma, K. ve Tremblay, M.-È.** (2018). Chronic stress as a risk factor for Alzheimer's disease: roles of microglia-mediated synaptic remodeling, inflammation, and oxidative stress. *Neurobiology of stress*, 9, 9- 21.
- [71] **Rothman, S. M. ve Mattson, M. P.** (2010). Adverse stress, hippocampal networks, and Alzheimer's disease. *Neuromolecular medicine*, 12, 56-70.
- [72] **Marefati, N., Beheshti, F., Mokhtari-Zaer, A., Shafei, M. N., Salmani, H., Sadeghnia, H. R., ve ark.** (2022). The effects of Olibanum on oxidative stress indicators, cytokines, brain derived neurotrophic factor and memory in lipopolysaccharide challenged rats. *Toxin Reviews*, 41(1), 129-142.
- [73] **Miranda, M., Morici, J. F., Zanoni, M. B. ve Bekinschtein, P.** (2019). Brain-derived neurotrophic factor: a key molecule for memory in the healthy and the pathological brain. *Frontiers in cellular neuroscience*, 363.
- [74] **ÖZOCAK, O., BAŞÇIL, S. G. ve GÖLGELİ, A.** (2019). Egzersiz ve nöroplastisite. *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(1), 31-38.
- [75] **ALTUĞ, B., TURAN, İ., ÖZAÇMAK, H. S. ve ÖZAÇMAK, V. H.** (2021). Deneysel Diyabetin Serebellar CREB/BDNF Yolağı, Oksidatif Stres ve Motor Fonksiyona Etkisi. *Türkiye Diyabet ve Obezite Dergisi*, 5(3), 248-255.
- [76] **Dubick, M. A.** (1986). Historical perspectives on the use of herbal preparations to promote health. *The Journal of Nutrition*, 116(7), 1348-1354.
- [77] **İŞİK, S., KARTAL, M. ve ASLAN ERDEM, S.** Quantitative analysis of thymoquinone in *Nigella sativa* L. (black cumin) seeds and commercial seed oils and seed oil capsules from Turkey.
- [78] **Fouad, I. A., Sharaf, N. M., Abdelghany, R. M. ve El Sayed, N. S. E. D.** (2018). Neuromodulatory effect of thymoquinone in attenuating glutamate-mediated neurotoxicity targeting the amyloidogenic and apoptotic pathways. *Frontiers in Neurology*, 9, 236.
- [79] **Hajipour, S., Farbood, Y., Dianat, M., Rashno, M., Khorsandi, L. S. ve Sarkaki, A.** (2021). Thymoquinone improves cognitive and hippocampal long-term potentiation deficits due to hepatic encephalopathy in rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 24(7), 881.
- [80] **Martin, L. J., Zurek, A. A., MacDonald, J. F., Roder, J. C., Jackson, M. F. ve Orser, B. A.** (2010).  $\alpha$ 5GABAA receptor activity sets the threshold for long-term potentiation and constrains hippocampus-dependent memory. *Journal of Neuroscience*, 30(15), 5269-5282.
- [81] **Fanoudi, S., Alavi, M. S., Hosseini, M. ve Sadeghnia, H. R.** (2019). *Nigella sativa* and

thymoquinone attenuate oxidative stress and cognitive impairment following cerebral hypoperfusion in rats. *Metabolic Brain Disease*, 34, 1001- 1010.

- [82] **Aydin, S., Yazici, Z. G., Kilic, C., Ozozturk, B. E. ve Kilic, F. S.** (2021). Anoverview of the behavioral, neurobiological and morphological effects oftopiramate in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. *European Journal of Pharmacology*, 912, 174578.
- [83] **Russell, A. L., Tasker, J. G., Lucion, A. B., Fiedler, J., Munhoz, C. D., Wu, T. y. J., ve ark.** (2018). Factors promoting vulnerability to dysregulated stressreactivity and stress-related disease. *Journal of Neuroendocrinology*, 30(10), e12641.
- [84] **Hu, P., Li, K., Peng, X.-X., Kan, Y., Yao, T.-J., Wang, Z.-Y., ve ark.** (2023).Curcumin derived from medicinal homologous foods: its main signals in immunoregulation of oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Frontiersin Immunology*, 14.
- [85] **Richardson, R., Cowan, C. S., Callaghan, B. L. ve Kan, J. M.** (2016). Effects of early-life stress on fear memory in the developing rat. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 7, 15-20.
- [86] **Aslankoç, R., Demirci, D., Ümmahan, İ., YILDIZ, M., Öztürk, A., Çetin, M., ve ark.** (2019). Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü- Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX). *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(3), 362-369.
- [87] **Konaç, A. ve Ünal, Ç. T.** (2022). Çoklu Bellek Sistemleri Bakış Açısı ile Nörogelişimsel Bozuklukların, Stres ve Ergenlik Dönemi ile İlişkili Psikopatolojilerin İncelenmesi: Bir Derleme Çalışması. *AYNA Klinik PsikolojiDergisi*, 9(1), 34-55.
- [88] **ÖZDEK, E. ve Sevtap, H.** (2023). BEYİN YAŞLANMASINDA MOLEKÜLER MEKANİZMALAR. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 47(1), 284-294.
- [89] **ÖZDİN, M. ve MUNDAN, D.** (2018). Hayvan ve İnsan Davranışlarının Biyokimyasal, Endokrinolojik ve Hematolojik Parametreler Açısından Değerlendirilmesi. *Adıyaman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 4(3), 1126-1139.
- [90] **AKDOĞAN, C. ve BAYINDIR, F.** Kronik Psikolojik Stresin Osteoporoz Patogenezindeki Rolü: İlişkili Mekanizmalar ve Potansiyel Biyobelirteçler. *Geriatric Bilimler Dergisi*, 6(1), 40-51.
- [91] **CİVAN, A., ÖZDEMİR, İ., GENCER, Y. G. ve DURMAZ, M.** (2018). Egzersiz ve stres hormonları. *Türkiye Spor Bilimleri Dergisi*, 2(1), 1-14.
- [92] **Mira, R. G., Tapia-Rojas, C., Pérez, M. J., Jara, C., Vergara, E. H., Quintanilla, R. A., ve ark.** (2019). Alcohol impairs hippocampal function: From NMDA receptor synaptic transmission to mitochondrial function. *Drug and Alcohol Dependence*, 205, 107628.
- [93] **Kocahan, S., Akıllıoğlu, K., Melik, E. ve Melik, E.** (2011). BEYİN VE DAVRANIŞLAR ÜZERİNE SOSYAL ÇEVRENİN ETKİLERİ. *Journal of Istanbul Faculty of Medicine*, 73(4), 108-112.
- [94] **Terranova, J. I., Ogawa, S. K. ve Kitamura, T.** (2019). Adult hippocampal neurogenesis for systems consolidation of memory. *Behavioural brain research*, 372, 112035.
- [95] **Li, A., Yau, S.-y., Machado, S., Wang, P., Yuan, T.-F. ve So, K.-F.** (2019).Enhancement of hippocampal plasticity by physical exercise as a polypill for stress and depression: a review. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*, 18(4), 294-306.
- [96] **Hayashi, Y.** (2022). Molecular mechanism of hippocampal long-term potentiation–Towards multiscale understanding of learning and memory. *Neuroscience Research*, 175,

3-15.

- [97] **Yücel, N. T. ve Can, Ö. D.** (2019). Huperzin A: Gölgede Kalmış Bir Nootropik Ajan. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, 44(2), 133-146.
- [98] **İlhan, Ç. F. ve KIŞLAL, S.** (2023). Travma Sonrası Stres Bozukluğunun Önlenmesine Yönelik Korku Belleği Üzerine Yapılan Müdahaleler. *AYNA Klinik Psikoloji Dergisi*, 10(3), 396-412.
- [99] **ÇORUMLU, E. ve ULUPINAR, E.** (2016). Prenatal stres maruziyetinin nörobiyolojik etkileri/neurobiological effects of prenatal stress exposure. *Osmangazi Tıp Dergisi*, 38(1).
- [100] **Ozawa, T., Yamada, K. ve Ichitani, Y.** (2014). Hippocampal BDNF treatment facilitates consolidation of spatial memory in spontaneous place recognition in rats. *Behavioural brain research*, 263, 210-216.
- [101] **KESKİN, M. ve Derya, Ö.** Afetlerle Tetiklenen Belirsizlik ve Stres Sürecinin Nöroanatomi ve Kontrolü. *İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 8(2), 741-747.
- [102] **Herman, J. P., Mueller, N. K. ve Figueiredo, H.** (2004). Role of GABA and glutamate circuitry in hypothalamo-pituitary-adrenocortical stress integration. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1018(1), 35-45.
- [103] **AKILLIOĞLU, K., Çiçek, Z. ve Dönmez, M.** (2019). Şizofreni ve Adenozin Reseptörleri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 28(4), 275-284.
- [104] **Özden, T. ve YAĞMURTAŞAN, R.** (2023). Alzheimer Hastalığı ve Anti- Alzheimer Etkili Bileşiklerin Yapılarının Araştırılması. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, 43(2), 149-172.
- [105] **Mercurio, F. ve Manning, A. M.** (1999). NF-κB as a primary regulator of the stress response. *Oncogene*, 18(45), 6163-6171.
- [106] **Yağmur, E. N., Yıldız, N., Adıgüzel, S., Femir, B., Şenyer, S., Şen, M., ve ark.** (2017). Nöronal Plastisite ve Nörodejeneratif Hastalıklarda NF-κB'nin Rolü. *Deneyel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 7(13), 71-85.
- [107] **YARIM, G. ve KAZAK, F.** (2015). Beyin kaynaklı nörotrofik faktör. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 10(2), 120-129.
- [108] **MERAY, J. ve YENİCE, I.** (2018). Brain and Exercise. *Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Bilimleri Dergisi*, 21(2).
- [109] **KOCATÜRK, T., et al.,** *Deneyel Alerjik Konjonktivit Modelinde Çörek Otu Bileşenlerinden Timokinon'un Etkisi*. Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 2020. 6(1): p. 17-22.

## **EKLER**

**EK A:** Etik Kurul Kararı

**EK B:** Cv



## EK A

Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Kararları/Tarih ve Sayı: 14.09.2022-E.77256



Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.Evrak sorgulaması  
<https://turkiye.gov.tr/ebd?eK=5394&eD=BSD4EK1FFP&eS=77256> adresinden yapılabilir.

**EK B:**

## **ÖZGEÇMİŞ**

**Ad-Soyad** : Eda ALTUNTAŞ

**Doğum Tarihi ve Yeri** :

**E-posta** :

### **ÖĞRENİM DURUMU:**

- **Lisans** : 2016-2021, İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji
- **Yükseklisans** : 2021-Devam Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sınır Bilimi Anabilim Dalı, Sınır Bilimi Yüksek lisans

### **MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:**

- 2021-2022 Özel Haznedar Sınav Kişisel Gelişim Kursu
- 2023- Özel Bakırköy Hocalara Geldik Özel Öğretim Kursu