

T. C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI BİLİM DALI

PERİNATAL DÖNEMDE OLUŞTURULAN DENEYSEL
HİPOTİROİDİ VE TİROTOKSİKOZUN NÖRAL PLASTİSİTE
VE ÖĞRENMEYE ETKİSİ

Dr. YUSUF ÖZKAN
YAN DAL UZMANLIK TEZİ

TEZ YÖNETİCİSİ
Doç. Dr. RAMİS ÇOLAK

2006
ELAZIĞ

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Özge ARDIÇOĞLU

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tez standartlarına uygun bulunmuştur.

Doç. Dr. Ramis ÇOLAK

Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı Başkanı

Tez tarafımdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Ramis ÇOLAK

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Ramis ÇOLAK

.....

Prof. Dr. Emir DÖNDER

.....

Prof. Dr. Hatice Sebile DÖKMETAS

.....

Prof. Dr. Ersin AKARSU

.....

Doç. Dr. Tevfik SABUNCU

.....

Bu tez Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) yönetim

birimi başkanlığı tarafından 1132 numaralı proje ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sürecinde ve tezimin hazırlanması esnasında benden yardım ve desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Ramis ÇOLAK, Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Gıyaseddin BAYDAŞ ve tüm fizyoloji çalışanlarına, İç Hastalıkları Anabilim Dalında görev yapan tüm değerli hocalarıma, asistan arkadaşlarıma, eşime ve **Elif Eslem**'ime teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ VE AMAÇ	5
4. GENEL BİLGİLER	7
4.1. Tiroid Bezi: Embriyoloji, Anatomi ve Fonksiyonları	7
4.2. Hipotalamo-Hipofizer-Tiroid Aksı	8
4.3. Gebelik ve Tiroid Hastalıkları	9
4.3.1. Gebelik ve Hipertiroidizm	10
4.3.2. Gebelik ve Hipotiroidizm	10
4.4. Ratlarda Tiroid Bezinin Gelişimi	11
4.5. Tiroid Hormonu ve Merkezi Sinir Sistemi Gelişimi	11
4.5.1. İnsan ve Deney Hayvanlarında Tiroid Bezi ve Merkezi Sinir Sisteminin Gelişimi	11
4.5.2. Merkezi Sinir Sisteminde Tiroid Hormon Reseptörlerinin Ontogenezi	14
4.5.3. Tiroid Hormonu Tarafından Beyin Gen Ekspresyonunun Düzenlenmesi	15
4.5.4. Tiroid Hormonu Tarafından Myelinasyonun Kontrolü	15
4.5.5. Tiroid Hormonu Tarafından Hücre Migrasyonunun (Göçünün) Kontrolü	16
4.5.6. Tiroid Hormonu Tarafından Nöral Hücre Farklılaşmasının Kontrolü	17
4.5.7. Tiroid Hormonu Tarafından Hücre Sinyalizasyonunun Regülasyonu	18
4.6. Hücre Adezyon Molekülleri	19
4.6.1. Sinir Hücresi Adezyon Moleküllerinin Yapısı ve Özellikleri	21
4.6.2. Öğrenme ve Hafızanın Şekillenmesinde Nöral Hücre Adezyon Moleküllerinin Rolü	23

4.7.	Sinaptik Plastisite	24
4.7.1.	Sinaptik Plastisite ve PSA-NCAM	25
4.7.2.	Sinaptik Plastisite ve LTP	26
4.8.	Hipokampus	27
4.9.	Öğrenme ve Bellek	28
5.	MATERYAL METOT	31
5.1.	Deney Hayvanları	31
5.2.	Deneysel Uygulamalar	31
5.3.	Morris Water Maze Testi (Su tankı testi)	32
5.4.	Hipokampus Örneklerinin Alınması	33
5.4.	Hipokampus Örneklerinin Hazırlanması	33
5.6.	Sds-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (Sds-Page)	33
5.7.	Hipokampus Örneklerinin SDS-PAGE İle Analizi	36
5.7.	Western Blot Yöntemi	37
5.9.	Hipokampus Örneklerinin Western Blot İle Analizi	38
5.9.	İstatistik	40
6.	BULGULAR	41
7.	TARTIŞMA	46
8.	KAYNAKLAR	52
9.	ÖZGEÇMİŞ	70

TABLO, ŞEKİL ve GRAFİKLER LİSTESİ

	Sayfa no
Şekil.4.1. Hipotalamo-hipofizer-tiroid aksı.	9
Şekil.4.2. Üç majör NCAM izotipinin genel yapıları.	22
Şekil.4.3. Homofilik NCAM moleküllerinin polisializasyonu, homofilik bağlanma ile PSA-NCAM kompleksinin oluşması.	23
Tablo.5.1. Deney hayvanlarına verilen yemin bileşimi	31
Tablo.6.1. Çalışma gruplarının tiroid hormon düzeyleri.	41
Tablo.6.2. Deney gruplarının ortalama vücut, total beyin ağırlıkları ve ortalama beyin hacimleri.	42
Tablo.6.3. Water Maze Testi: her üç grubun günlerdeki ortalama platformu bulma süreleri.	42
Grafik.6.1. Water Maze Testi: Her üç grubun günlerdeki ortalama platformu bulma süreleri.	43
Grafik.6.2. Deneklerin probe testte platformun olduğu kısımda kaldıkları süre.	43
Grafik.6.3. Hipokampusda NCAM moleküllerinin alt izoformlarının rölatif yoğunlukları.	44
Şekil.6.1. Western Blot yöntemi ile beyin dokusunda NCAM molekülünün alt izoformlarının ölçümü.	45

KISALTMALAR

TH	:Tiroid Hormonu
NCAM	:Neural Cell Adhesion Molecule
TSH	:Tiroid Stimulating Hormon
TRH	:Tirotropin Releasing Hormon
MSS	:Merkezi Sinir Sistemi
MAP	:Microtubule-Associated Proteinler
RC3	:Neurogranin

1. ÖZET

PERİNATAL DÖNEMDE OLUŞTURULAN DENEYSEL HİPOTİROİDİ VE TİROTOKSİKOZUN NÖRAL PLASTİSİTE VE ÖĞRENMEYE ETKİSİ

Tiroid hormonu santral sinir sistemi gelişiminde çok önemli rol oynamaktadır. Beyin gelişiminin kritik dönemlerinde tiroid hormonu yokluğu glial hücrelerin ve nöronların maturasyonunda gecikmeye neden olmaktadır. Maternal hipotiroidizmde psikomotor gelişme geriliği olduğu, çocukların IQ'lerinde belirgin bir gerilik olduğu bilinmektedir. Çalışmalar hücre adezyon moleküllerinin beyin gelişimi ve sinaptik plastisite de önemli görevlerinin olduğunu ortaya koymaktadır. Nöronal plastisitenin beyin fonksiyonlarından öğrenme ve hafıza formasyonunda önemli rolü vardır. Kortikal nöronların farklılaşması ve sinaptik plastisitenin aktivite artışı için sinir hücresi adezyon moleküllerinin güçlü bir şekilde salınımı gerekmektedir. Tiroid hormonu eksikliğinde adezyon moleküllerinin sentez ve salınımında anormallikler olduğu bildirilmektedir.

Maternal hipotiroidi, hipertiroididen daha sık karşılaşıldığı için araştırmalar hipotiroidi üzerine yoğunlaşmıştır. Ancak maternal hipotiroidinin hücre adezyon molekülleri üzerine etkisini araştıran çalışmalar çok azdır. Gebelik sırasında maternal tiroid hormonlarının artışı preeklampsi, erken doğum ve düşük doğum ağırlığı riskini artırmaktadır. Ancak hipertiroidinin nöral plastisite ve öğrenme üzerine etkisini araştıran yeterli sayıda çalışma yoktur.

Çalışmamızda gebeliğinin başlangıcından doğumdan sonraki iki haftaya kadar hipotiroidi ve tirotoksikoz oluşturulan ratların yavrularında annedeki tiroid disfonksiyonunun nöral plastisite ve öğrenmeye olan etkisini araştırmayı amaçladık.

Deneysel uygulama için; çalışmaya annesi deneysel olarak hipotiroidi (n:5), tirotoksikoz (n:5) oluşturulmuş yavru ratlar ile annesi normal olan 5 yavru rat alındı. Öğrenme için, farelerde yaygın olarak kullanılan ve kabul gören Morris Water Maze testi kullanıldı. Nöral hücre adezyon molekülleri ise Western Blot yöntemi ile çalışıldı.

Kontrol grubunda ve tirotoksikoz grubunda öğrenmenin 1. günden 5. güne doğru giderek arttığı gözlemlendi. Kontrol grubunda ve tirotoksikoz grubunda tüm deney hayvanları ilk günden itibaren platformu buldular. Hipotiroidi grubunda 1. ve 2. gün sadece bir deney hayvanı platformu buldu. 3. ve 4. günde 2 denek platformu buldu. 5. gün ise 3 denek platformu buldu. Zaman olarak değerlendirildiğinde günden güne yeterli öğrenmenin olmadığı gözlemlendi.

NCAM izoformlarının rölatif yoğunlukları (NCAM120, NCAM140, NCAM180), kontrol ve tirotoksikoz grubunda benzer oranda tespit edildi. NCAM120, NCAM140 düzeyleri hipotiroidi grubunda kontrol ve tirotoksikoz grubu ile benzer bir oranda tespit edilirken, NCAM180 hipotiroidi grubunda kontrol ve tirotoksikoz grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksekti.

Çalışmamızın sonuçları maternal TH yetersizliğinin santral sinir sisteminin maturasyonunu önlediği, öğrenme ve hafıza yetersizliğine neden olduğunu göstermektedir. Çalışmamız NCAM'ın izoformlarının ekspresyonunun değiştiğini ortaya koymaktadır. Annesi hipotiroidi olan yavru ratların beyin gelişiminde ciddi gerilik olduğu, öğrenme ve hafızayı pekiştirme fonksiyonlarının kontrol grubundan daha geri olduğu görülmektedir. Sonuç olarak annede mevcut olacak bir tiroid disfonksiyonunun yavruda ciddi bir şekilde psikomotor gelişimi etkileyeceği açıktır.

Anahtar kelimeler: Maternal tiroid disfonksiyonu, nöral plastisite, NCAM ve öğrenme

2. ABSTRACT

THE EFFECTS OF EXPERIMENTAL PERINATAL HYPOTHYROIDISM AND THYROTOXICOSIS ON NEURAL PLASTICITY AND MEMORY

Thyroid hormone has a crucial role at development of central nervous system. At the critical phase of brain development, absence of thyroid hormone leads to delay in maturation of glial cells and neurons. It is well known that at the presence of maternal hypothyroidism, psychomotor improvement of children and the level of IQ stay behind. Studies pointed out that cell adhesion molecules have very important roles on growing of brain and synaptic plasticity. Neural plasticity has important roles upon function of brain, learning, and formation of memory. For differentiation of cortical neurons and increasing the activities of synaptic plasticity, the powerful secretion of adhesion molecules of nerve cells are required. It is known that absence of thyroid hormone causes to abnormalities at synthesis and release of adhesion molecules.

Investigators have been focused upon maternal hypothyroid then hyperthyroid because hypothyroid is more common. However, studies investigating the effect of hypothyroidism upon neural cell adhesion molecules are scarce. At the period of pregnancy the increment in maternal thyroid hormones increases the risk of preeclampsia, pre-term delivery and low birth weight. But there aren't enough researches about the effect of hyperthyroidism on neural plasticity and learning.

In our study we aimed to point out the effects of maternal thyroid dysfunctions upon neural plasticity and learning of newborn animal during the whole period of pregnancy and two weeks after the term.

For experimental practising; fifteen newborn rats were taken; five mother with normal thyroid functions, five with hypothyroidism and five with thyrotoxicosis. For learning test, a widely used and accepted test, the Morris

Water Maze test, was used. Neural cell adhesion molecules were studied by the method of Western Blot.

At the control and thyrotoxicosis group it was seen that learning increases day by day from first day to fifth day. The control and thyrotoxicosis groups found the platform starting from the first day. In hypothyroid group, only one animal found the platform in first two days. In third and fourth day two animals found the platform and the fifth day three of animal found the platform. And it was understood that sufficient learning day by day was not realized.

Relative intensity of NCAM izoforms (NCAM120, NCAM140, and NCAM180) were comparable in control and thyrotoxicosis group. The rates of NCAM120, NCAM140 determined were similar in the entire group, but NCAM180's level determined was higher in the hypothyroid group then the others.

Results of our study show that the insufficiency of maternal thyroid hormone prevents the maturation of central neural system and causes the incapacities of learning and memory. Our study points out that the expressions of NCAM izoforms changed. The brain of young rats with a hypothyroid mother was not well developed, and learning and the enhancement of memory functions were worse then the control group. Finally it is obvious that the maternal thyroid effects the young animal's psychomotor developments badly.

Key words: Maternal thyroid dysfunctions, neural plasticity, NCAM and learning.

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Tiroid hormonu (TH:Triiyodotironin-T3 ve Tiroksin-T4) santral sinir sistemi gelişiminde çok önemli rol oynamaktadır (1-4). İnsanlarda şiddetli TH eksikliği kretinizm denen mental retardasyon ve nörolojik gelişim geriliği ile seyreden ciddi bir hastalığa yol açmaktadır (5). Beyin gelişiminin kritik dönemlerinde TH yokluğu glial hücrelerin ve nöronların maturasyonunda gecikmeye, dentritik çıkıntıların anormal dağılımına, sinaptik densitenin azalmasına, myelinizasyon defektine ve olfaktor bulbus ve hipokampusda hücrelerin sayı olarak azalmasına neden olmaktadır (6). Hipotiroid beyinde serebeller granül hücrelerinin migrasyonunda gecikme, Purkinje hücrelerinin lokalizasyonunda ve dallanmasında azalma ve serebral korteksin normal laminasyonunda değişiklikler meydana gelmektedir (1,7).

TH etkisini gen ekspresyonu yaparak göstermektedir. Etki ettiği reseptörler büyük bir gen ailesinin subgrubudur. Beyin genlerinin bir kısmının tiroid hormonları tarafından regüle edildiği gösterilmiştir. Bunlar majör myelin proteinlerinin, sitoskeletal ve mitokondrial proteinlerin, nörotrofinlerin ve diğer reseptörlerin kodlanmasını içermektedir (3,8). Son zamanlarda santral sinir sistemindeki hücre adezyonunda görev alan iki önemli molekülün ekspresyonundaki değişiklikler gösterildi. Bunlar sinir hücre adezyon molekülü (Neural Cell Adhesion Molecule-NCAM) ve tenascin-C'dir (9,10). Bu proteinler nöronal migrasyonda çok önemli görev almaktadırlar (11). NCAM'ın, yetişkin beyinlerinde, beyin gelişimi ve sinaptik plastisite esnasında beyin dokusu gelişimini düzenlediği bildirilmektedir (12-14).

Hipokampus, başta öğrenme ve bellek olmak üzere zihinsel süreçlere çok önemli bir şekilde katılır, yüksek düzeyde işlevsel ve yapısal plastisite gösterir (15). Plastisite sinir hücrelerinin içinde bulundukları patolojik duruma göre kendilerini ayarlamaları anlamına gelmektedir. Hipokampus, doğum sonrası ve yetişkin hipotiroidizmine seçici bir hassasiyet sergilemektedir. Sinaptik etkinliğe bağlı olarak gen ekspresyonu düzenlemesinin yetişkin hipo ve hipertiroid ratların hipokampusun da değişiklik oluşturduğu gösterilmiştir (16).

Maternal hipotiroidi, hipertiroididen daha sık karşılaşıldığı için araştırmalar hipotiroidi üzerine yoğunlaşmıştır (17,18). Gebelik sırasında maternal

tiroid hormonlarının artışı preeklampsi, erken doğum ve düşük doğum ağırlığı riskini artırmaktadır (19). Ancak hipertiroidinin nöral plastisite ve öğrenme üzerine etkisi fazla araştırılan bir konu değildir. Ratlarda yapılan çalışmalarda maternal hipertiroidinin fetoplasental ve neonatal büyümeyi stimüle ettiği bildirilmektedir (20). Fakat kronik hipertiroidinin rat beyin gelişimi üzerine etkisi çalışılmamıştır.

Biz araştırmamızda gebeliğinin başlangıcından doğumdan sonraki iki haftaya kadar hipotiroidi ve tirotoksikoz oluşturulan ratların yavrularında bu hastalıkların nöral plastisite ve öğrenmeye olan etkisini araştırmayı amaçladık.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Tiroid bezi: Embriyoloji, Anatomi ve Fonksiyonları

Tiroid bezi, intrauterin hayatta ilk gelişen endokrin bezdir. Fertilizasyondan yaklaşık 24 gün sonra ilkel farinks tabanında, median bir endoderm kalınlaşmasından oluşmaya başlar. Bu kalınlaşmadan kısa bir süre sonra küçük bir divertikülüm-tiroit divertikülü- oluşur. Embriyo ve dil büyürken tiroit bezi taslağı, gelişen hyoid ve larinks kıkırdaklarının ventralinden geçerek aşağıya iner. Başlangıçta tiroid divertikülünün içi boştur. Fakat kısa bir sürede gelişmekte olan 2. ve 3. trakea halkalarının önünde istmus ile birbirine bağlı sağ ve sol loblara ayrılmış, solit bir yapı halini alır. Gebeliğin 7. haftasında tiroid bezinin tam şeklini aldığı ve genellikle boyundaki erişkin konumuna ulaştığı tahmin edilmektedir. Gebeliğin 11. haftasında tiroid folikülleri görülmeye başlar ve iyot konsantrasyonu ve tiroid hormon sentezi gösterilebilir. Gebeliğin 12. haftasında fetal serumda tiroidi sitümüle edici hormon (TSH), T3 ve T4 tespit edilebilir (21-23).

Gebeliğin 12. haftasında fetal serumda TSH düzeyi 3-4 mU/L aralığındadır. İkinci ve 3. trimesterde yavaş yavaş artarak doğumda 6-8 mU/L düzeyine ulaşır. Eğer 2. veya 3. trimesterde anneye Tirotropin Releasing Hormon (TRH) verilecek olursa fetal dolaşımında TSH düzeylerinin arttığı görülür (24). Bu durum gebeliğin 25. haftasında gösterilebilir. Bu da bize gebeliğin 25. haftasından sonra hipotalamo-hipofizer aksın çalışmaya başladığını göstermektedir.

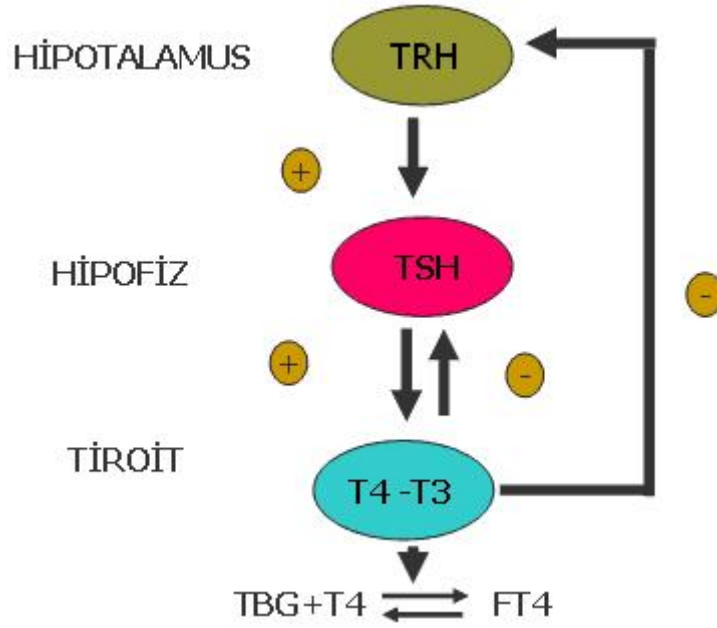
En erken organoid yapılanma intrauterin yaşamın 9. haftasında başlar. Bu yapılanma folliküler taslak hücrelerinin oluşturduğu kordon ve kümeler şeklindedir. Daha sonra 10. haftada başlayan lümen formasyonu, follikül hücrelerinin ortasında küçük boşluklar şeklindedir. Kolloidin follikül boşluğunda görülmesi ise gelişimin 12. haftasında meydana gelir. Tek sıralı olgun follikül hücreleri ile döşeli tiroglobulin içeren kolloidle dolu gelişmiş follikül yapılarından oluşan tiroid glandı morfolojisi gelişimin 14. haftasında meydana gelmiş olur. Erişkin dönemde normal bir tiroid glandını oluşturan folliküller oval yuvarlak şekilli olup yaklaşık 200 µm çapındadır. Follikül tek sıralı epitel hücreleriyle döşelidir (24,25).

Tiroid bezi, boynun ön kısmında, at nalı şeklinde iki yan lobu ve bunları birleştiren bir istmusu bulunan bir iç salgı bezidir. İstmus, krikoid kıkırdağının altında, tiroid kıkırdağı zirvesi ile jugulum ortasındadır. Larinks ve trakeanın kıkırdak dokularının ön ve yan kısımlarını örter, gevşek bir bağ dokusu ile bu yapılara bağlıdır. Normal bireylerde tiroidin ağırlığı yaş, vücut ağırlığı, diyetle alınan iyot miktarı gibi faktörlere bağlı olmakla birlikte, yaklaşık olarak 15-20 gramdır. Her bir lobun uzunluğu; 3.5-4.5 cm, genişliği; 1.5-2 cm, derinliği; 1-1.5 cm'dir (25).

Tiroid bezi insan vücudundaki endokrin organların en büyüğüdür. Başlıca fonksiyonu tiroid hormonlarının salgılanmasıdır. Tiroid bezinden salgılanan tiroid hormonlarının büyük bir kısmını L-tiroksin (T4) oluşturmaktadır. Ayrıca az miktarda 3,5,3'-triiodo-L-Troksin (T3) salgılanmaktadır. Esas etkili olan hormon T3'dür. T4'ün daha az aktif ve T3'ün bir prekürsörü olduğu kabul edilmektedir. Plazmada T3 ve T4 genellikle bir proteine bağlı olarak taşınırlar. Bu proteinler tiroksin bağlayan globülin (% 70'ini taşır), tiroksin bağlayan prealbümin (% 20'sini taşır) ve albümindir (% 10'unu taşır). Tiroid hormonları vücuttaki bir çok metabolik süreci etkilemektedir. Normal büyüme ve gelişmenin devam etmesi, enerji ve ısı üretimi başta olmak üzere çok çeşitli homeostatik mekanizmaların düzenlenmesinde rol alır (25).

4.2. Hipotalamo-hipofizer-tiroid aksı

Hayvan deneyleri ve insan çalışmalarında tiroid ile hipofiz ve hipotalamus arasında işlevsel olarak yakın bir ilişki olduğu ortaya konulmuştur. Hipotalamustaki supraoptik ve supventriküler nükleusdaki nöronlarca sentez edilip salgılanan TRH ön hipofize etki ederek TSH sentez ve salınımını stimüle etmektedir. TSH ise tiroid bezine etki ederek hücre büyümesi, tiroid hormonlarının sentez ve salınımını uyarmaktadır. Tiroid hormonları ise hipofizden TSH salınımını inhibe eder, ayrıca hipotalamusdan TRH sentez ve salınımı üzerine inhibitör etkileri vardır. TSH salınımı üzerine akut inhibitör etkisi olan hormon hipofiz içerisindeki serbest T3'tür. Bu serbest T3 dolaşımdaki serbest T3'ün hipofize girmesi yada hipofizde serbest T4'den dönüşüm yolu ile oluşmaktadır (26).



Şekil.4.1:Hipotalamo-hipofizer-tiroid aksı (26 no’lu kaynaktan uyarlanmıştır).

4.3. Gebelik ve Tiroid Hastalıkları

Üreme çağındaki kadınlarda, tiroid bezi hastalıklarına oldukça sık rastlanmaktadır. Gebelik sırasında oluşan hormonal değişiklikler, tiroid fonksiyon testlerini etkileyebilmektedir. Ayrıca gebelik sırasında görülen hipermetabolik durum klinik olarak tiroid bezi hastalıklarını taklit edebilmektedir. Gebeliğin tiroid bezi hastalıklarının gidişini etkileyebileceği gibi tiroid hastalıklarının da gebeliğin seyrini, fetüsü ve yeni doğanı etkileyebileceği bilinmektedir (6,7,27). Gebelik sırasında dört önemli değişiklik ortaya çıkmaktadır. Bunlar; 1) Tiroid bağlayan globülin düzeyinin artması, 2) Human koriyonik gonadotropinin artması sonucu tiroid bezinin uyarılması, 3) Plasenta kökenli enzimlerle tiroid hormonlarının periferik metabolizmalarının değişmesi, 4) Böbrek klirensinin artması ve fetüsün kullanımı nedeni ile plazma iyot düzeyinin azalmasıdır (27).

Plesanta anneden fetusa tiroid hormonlarının geçişi için kısmi engel oluşturmaktadır. TSH plesantaya geçemezken, iyot serbestçe geçebilmektedir. Yine TRH, antitiroid ilaçlar ve tiroid antikorları plesantadan geçebilmektedir

(25,27). Embriyo ile yapılan çalışmalarda fetusta tiroid bezi hormon sentez ve salınımına başlamadan önce anneden fetüse yeterli miktarda T3 ve T4 geçtiği gösterilmiştir. Fetüsün tiroid bezinin işlev görmediği gebeliğin erken dönemlerinde, özellikle fetüsün santral sinir sisteminin gelişmesinde, annenin tiroid hormonları çok önemli rol oynamaktadır (27).

4.3.1. Gebelik ve Hipertiroidizm

Gebelikte hipertiroidi, hipotiroidiye nazaran daha az görülmektedir. Gebelikte hipertiroidi görülme sıklığı % 0.2'dir (28). Hipertiroidinin en sık nedeni ise % 85-90 oranında Graves hastalığıdır (29). Diğer nedenler toksik multinodüler guatr, toksik adenom ve subakut tiroidit dir. Çok daha nadir olarak da hiperemesis gravidarum, mol hidatiform ve struma ovaridir (30-33). Uygun tedavi edilmeyen hipertiroidi hem anne hem de fetüs için risk oluşturmaktadır (34-36). Anne ile ilgili komplikasyonlar; düşük, plasenta ayrılması, erken doğumdur. Annede kalp yetmezliği, pre-eklampsi ve tiroid krizi gelişme riski artmıştır (19,37-39). Uygun tedavi edilmemiş olgularda, fetüs ve yeni doğanda da komplikasyonlar gelişebilmektedir. Bunlar; prematurelik, düşük doğum ağırlığı (40), yeni doğanın santral hipotiroidisi (41,42) ve yeni doğan hipertiroidisidir (43). Momotani ve Ito (44) tarafından spontan düşük (% 25.7) ve erken doğum (% 14.9) sıklığını konsepsiyonda hipertiroidisi olan annelerde, ötiroid olanlara göre daha yüksek olduğu (% 12.8 ve % 9.5) rapor edildi. Gebeliğinin üçüncü trimesterinde hipertiroidisi olan kadınlarda düşük doğum ağırlıklı bebek doğurma riski diğer faktörlerden bağımsız olarak 4.1 kat daha yüksek olduğu bildirilmiştir (38).

4.3.2. Gebelik ve Hipotiroidizm

Hipotiroidizmli kadınlarda anovulasyon sık görülen bir anormalliktir. Bu yüzden tedavi edilmemiş hipotiroidili kadınların gebe kalmasının az olduğu düşünülmektedir. Gebe kalanlarda ise düşük riski çok yüksektir. Hem klinik hem de subklinik hipotiroidi üreme çağındaki kadınlarda % 0,3 ile % 2,9 oranında görülmektedir (45-48). Tedavi edilmemiş hipotiroidili olgularda gebelikte çeşitli komplikasyonlar görülebilir. Bu komplikasyonlar; preeklampsi, erken plasenta ayrılması, düşük doğum ağırlığı, düşükler, ölü doğum, prenatal mortalite, konjenital malformasyonlar, gebeliğin indüklediği hipertiroidi, postpartum kanama ve fetal distres gibi ciddi problemlerdir (49-52). Bir çok çalışma annede

hipotiroidi olmasının ister klinik ister subklinik olsun çocuğun santral sinir sistemi gelişimini olumsuz yönde etkilediğini göstermiştir (53-55).

4.4. Ratlarda Tiroid Bezinin Gelişimi

Rat gebeliği yaklaşık 21 gün sürmektedir. Fetal hayatın 9.5-10. gününde tiroid divertikülümü görülmektedir (56-58). Bundan yaklaşık 5-5.5 gün sonra yani fetal hayatın 15-15.5. gününde dolaşımda TSH düzeyi artmaktadır. Bu günlerde iyodun fikse edildiği ve tiroidde hormon sentezinin başladığı tespit edilebilmektedir (59).

4.5. Tiroid Hormonu ve Merkezi Sinir Sistemi Gelişimi

4.5.1. İnsan ve Deney Hayvanlarında Tiroid Bezi ve Merkezi Sinir Sisteminin Gelişimi

Merkezi Sinir Sistemi (MSS) ile tiroid hormonu ilişkisinin en iyi çalışıldığı model sıçanlardır. Bu hayvan modellerinden geliştirilen kavramların pek çoğu insanlar için de uygulanabilir geçerliliği olduğu bu gün için kabul görmektedir. Bununla birlikte, ratların deneysel model olarak en önemli avantajı tam zamanında doğmuş bebeklerin aksine doğumda MSS'lerinin tiroid dokuları gibi tam gelişmemiş olup kısmen immatür olmasıdır. Bundan dolayı, insanda 3. gestasyon döneminin sonlarında gerçekleşen olaylar ratlarda doğumdan sonraki ilk 2-3 hafta boyunca olmaktadır. Bu iki tür arasında geçerli karşılaştırmalar yapabilmek için tiroid bezinin gelişimi ile tiroid fonksiyon gelişimi arasındaki farklılıkların dikkate alınması gerekmektedir (60).

Tiroid gelişimi ile dolaşımdaki tiroid hormonu bakımından insan ve ratlar arasındaki en büyük farklılık, ratlarda fetüs için tiroidin sadece maternal kaynaktan sağlandığı dönemin ratlarda nispeten daha uzun olmasıdır (60). Ratlarda tiroid fonksiyonu sadece doğumdan 4 gün öncesinde başlar, bundan önce yoktur. Ratlarda serebral nörojenesis ve migrasyonun tiroid hormonuna bağlı olan kısmının önemli bir bölümü maternal tiroid hormonunun etkisi altında gerçekleşir. Diğer taraftan, insanda nöronal diferansiyasyon ve sinaptogenezis ilk trimestirin sonunda gerçekleşir ve ratlarda çok daha geç olan miyelinogenezis de doğumda iyice ilerlemiştir. İnsan fetüsü daha uzun bir süre kendi kaynağına dayanacağı için, kongenital hipotiroidizmin etkileri bu iki tür arasında farklı olarak ortaya çıkacağı açıktır (60). TH bağımlı MSS gelişiminin kesin başlama

zamanı belirlenememekle beraber, nörogeneziste kritik bir dönem vardır. Bu dönemden sonra hipotiroidizmin giderilmesi beyin fonksiyonlarını normale döndüremez. Ratlarda bu dönem en azından gestasyonun 18-19. günlerindedir ancak 14-16. günlerde de görülebilir (2,61,62). İnsanlarda, kongenital hipotiroidizmli hastalarda yapılan çalışmalar normal veya normale yakın entellektüel gelişim neredeyse bütün infantlarda doğumdan hemen sonraki birkaç hafta içerisinde yeterli ve yeterince uzun süreli levotiroksin replasmanı ile sağlanabileceğini göstermiştir (61,63-66). Yukarıda da bahsedildiği gibi çok sayıda delil tiroid hormonunun, fetal tiroid bezi gelişimi başlamadan önce, erken gestasyonda MSS gelişiminde rol oynayabileceğini göstermektedir (67,68).

Hem fetal hem de maternal tiroid fonksiyonları yetersiz olduğundan dolayı endemik kretinizm, insan MSS'nde tiroid hormonu bağımlı olayları değerlendirmek için önemli bir klinik model teşkil eder. Tiroid hormon eksikliğine bağlı spesifik nörolojik bir sendrom olarak tanımlanmıştır. Bu sendromun esas özellikleri arasında mental bozukluk, sağırılık- mutizm, piramidal kanal bozukluğu, spastik dipleji veya quadripaleji ile seyreden ekstrapiramidal disfonksiyon ile tipik yürüyüş bozukluğu yer almaktadır. Bu bulgular Helpers ve Boyages (69,70) tarafından Çin ve Endonezya'da detaylı olarak tanımlanmıştır.

Piramidal disfonksiyonlar en sık olarak patellar reflekslerin artması şeklinde ortaya çıkmaktadır. Nörolojik endemik kretenizmin ekstrapiramidal bulguları arasında, rijidite, distonik postür ve bazal gangliyon lezyonlarını andıran diğer bulgulardır (53-55). Son manyetik rezonans görüntüleme çalışmalarında 3 Çinli endemik nörolojik kretenli hastada korpus striatum ve substansia nigra anormalliklerin gösterilmesi de bu bulguları desteklemektedir (70). Klinik özellikler bu bozuklukların tipik serebral palsiler olduğunu göstermektedir. DeLong (5) bu sistemlerde hasarın başlangıcını gestasyonun 14. haftasına bağlamış ve üçüncü trimestere kadar persistan olduğunu bildirmiştir. Bu bulgular Poharoah ve arkadaşlarının daha önceki bulguları ile uyumlu olup, iyotlanmış yağın hamileliğin 2. trimesterinden önce verilmesi durumunda kretenizmin nörolojik bulgularının ortaya çıkışını önleyebileceğini göstermiştir (71).

İkinci trimesterde tiroid hormonu bağımlı olayların bozukluğu, kochleada (gestasyonun 10-15. haftalarında gelişir) gözlenen anormallikleri, serebrokortikal

fonksiyon (gestasyonun 14-18. haftalarında gelişir) bozukluklarını ve bazal gangliyon (gestasyonun 12-18. haftalarında gelişir) bozukluklarını açıklayabilir (2,69). Maternal T4'ün kompanse edemediği konjenital hipotiroidili bebeklerde endemik kretinizm bulguları görülmemektedir. Bunlar ekstrapiramidal veya piramidal hastalık göstermezler ve görülse de çok daha nadir oranda ve çok daha hafif bir duyma bozukluğu şeklinde ortaya çıkar (72,74). Bu da kongenital atiroidik hipotiroidizmli infant örneğinde olduğu gibi, endemik kretinizmli infantlarda ortaya çıkan nörolojik bozuklukların maternal T4 ile önlenemediğine delil teşkil etmektedir. Postnatal tedaviye rağmen belirgin gelişme geriliği diğer maternal-fetal POU1F1 (eskiden Pit 1 olarak adlandırılan) yetersizliği (75) ve TSH reseptör engelleyici antikora meydana gelen kongenital hipotiroidizm (76) gibi diğer maternal-fetal hipotiroidizm modellerinde gösterilmiştir. Endemik kretinizmde gözlenen nörolojik anormalliklere benzer anormalliklerin diğer bozukluklarda da görülüp görülmediği ve ikinci trimestirden önce verilecek bir tedavinin kognitif bozuklukları normalleştirebileceği kesin olarak belli değildir.

Fetal tiroid anomalisi ile seyretmeyen maternal hipotiroidizm olgularında bile çocuğun psikomotor gelişim bozukluklarına yol açtığı, ilk defa Man ve ark. (77) tarafından fark edilmiştir. Haddow ve ark. (53) annesi hamileliğin ilk trimestirinde hipotiroidi olan 7-9 yaş arası çocuklarda 4 puanlık bir IQ düşüklüğü olduğunu tespit etmişlerdir. Bu bulgularla uyumlu olarak, Pop ve ark. (78) serbest T4 seviyeleri normalin % 10'u düzeylerinde düşük olan annelerin çocuklarında 10 aylıkken normal kişilere kıyasla ölçülebilir psikomotor bozukluklar olduğunu tespit etmişlerdir. Bu etki sadece gestasyonun 12 haftasında gözlenip 32 haftada gözlenmediğinden, araştırmacılar fetal tiroid fonksiyonunun henüz başlamadığı bu dönemde maternal tiroid hormonun gestasyonun ilk trimestirinde en önemli hormon olduğu kanaatine varmışlardır. Yukardaki iki çalışmanın aksine, Liu ve ark. (79) ikinci trimestirde hipotiroidisi düzeltilmiş olan hipotiroidili annelerin çocuklarında herhangi bir IQ bozukluğu olmadığını rapor etmişlerdir.

Sadece maternal hipotiroidizmin zayıf etkisi ile iyot yetmezliğine bağlı maternal-fetal yetmezlik kombinasyonu sonucu ortaya çıkan hipotiroidi komplikasyonları arasında fark oldukça belirgindir. Bu son durumda, ikinci trimestirden önce iyot verilmediği durumda meydana gelen etki erken dönemde

zayıf bir etki oluşurken tiroid bağımlı beyin gelişiminin çoğunun gestasyonun sonraki evrelerinde meydana geldiğine işaret etmektedir. İyot eksikliği olan popülasyonda iyot eksikliği olmayanlara göre hamilelik esnasında hipotiroidi insidansı yaklaşık 10 kat daha fazladır. Bu da bazı otörlerin bütün hamilelerde tercihen de ilk trimestirden önce rutin tiroid taraması yapılmasını tavsiye etmelerine dayanak teşkil etmektedir (80,81).

4.5.2 Merkezi Sinir Sisteminde Tiroid Hormon Reseptörlerinin Ontogenezi

Tiroid hormonunun klasik etkisi, T3'ün nükleer reseptör ile etkileşimi ile ortaya çıkar (82). Buna göre, tiroid hormonuna bağlı olayların zaman ve lokalizasyonu hakkında bilgi edinmek için MSS'de T3 reseptör ontogenezinin çalışılması kritik bir öneme sahiptir. İnsan fetüsü için çok kısıtlı miktarda bilgi mevcuttur. Spesifik nükleer T3 bağlanma proteinleri fetal beyinlerde gestasyonun 10. haftasında belirlenmiştir ve bu reseptörlerin düzeylerinde gestasyonun 10-18. haftalarında bir artış tespit edilmiştir (83). Bu reseptörlerle T3 arasında yüksek bir derecede saturasyon spesifik radioimmünassay ile gösterilmiştir (84). Daha yeni çalışmalar, 7-8 haftalarda alfa1, alfa 2 ve beta 1 izoformlarını kodlayan mRNA'ların varlığını göstermiştir. Reseptör proteinin varlığı ilk olarak en erken gebeliğin 7. haftasında gösterilmiş olup bu ekspresyon ikinci trimestirde artmaktadır (85).

Beyin hücrelerinde TH için önemli bir membran taşıyıcısı olan monokarboksilat transport 8 (MCT8) ilk kez 7. haftada salınır (85). Sıçanlarda fetal hayatın 13. gününde serebral kortekste T3 bağlayıcı nükleer proteinler saptanmıştır ve bu proteinler doğuma kadar artar. Bu dönemde T3 bağlama kapasitesinin yetişkinlerin yarısı kadar olduğu gösterilmiştir (86).

Tiroid hormonunun nükleer reseptörlerinin görüldüğü dönem nöroblast proliferasyonunun olduğu zamana denk gelmektedir. Deneysel çalışmalarda, bu hayvanlarda MSS gelişiminin 3. fazına girişte belirgin bir artış olduğu gösterilmiştir. Bu gelişmenin uygun bir örneği olup tiroid hormon reseptörlerinin etkisine işaret etmektedir. $\beta 1$ izoformlarındaki değişiklik serebellar purkinje hücrelerinde özellikle immünflöran çalışmalarda gösterilmiştir. Bu değişiklik neonatal yaşamda serebrokortikal hücrelerden nispeten daha geç yapılır. Bunlar

purkinje hücre genlerinden transkript edilen T3' ün spesifik etkileriyle korelasyon halindedir (87).

4.5.3. Tiroid Hormonu Tarafından Beyin Gen Ekspresyonunun Düzenlenmesi

TH'nun çekirdeğe etki ettiği yolağa göre, gelişim olayları üzerine olan etkileri gen ekspresyonunun kontrolü ile olmaktadır. Bu açıdan hayat boyunca en az 3 tane birbirinden farklı, kısmen birbirleriyle örtüşen dönemler ayırt edilir. Ratda fetal dönemde kesinlikle tiroid hormonunun etkisi altında olan birkaç gen tanımlanmıştır. Bu genlerin çoğunluğu fetal ve postnatal dönem arasında etkilidir. TH'u ile Reelin beyin korteksinde up regülasyona uğrar, Tenascin C ve L1 ise down regülasyona uğrar. Beyinin TH'una duyarlılığının klasik peryodu postnatal döneme kadar uzanır. Bu hipotiroidizmin nöral doku yapısı ve gen ekspresyonuna olan olumsuz etkilerinin tanımlandığı dönemdir. Bu dönem boyunca birkaç gen TH'u tarafından up regülasyona ve down regülasyona uğrar. Bu genlerden bazılarının da regülatuvar bölgelerinde TH'una duyarlı elemanlar tanımlanmıştır. Juvenil ve erişkin ratlarda postnatal dönemde düzenlenen genler TH'unun etkisine birkaç istisna dışında (RC3 ve NGF gibi, bunlar erişkin hayvanlarda TH'una bağımlıdır) postnatal 25 – 30. günden sonra duyarsız hale gelmektedir (88).

4.5.4. Tiroid Hormonu Tarafından Myelinasyonun Kontrolü

Beyinin gelişiminde TH'u ile regüle edilen işlemler içinde en iyi bilinen ve üzerinde genişçe çalışılan miyelinasyon'dur. Tüm genlerin ekspresyonu pratik olarak analiz edilmiştir. Yapısal proteinlerden proteolipid protein (% 50), myelin basic protein (% 30) ve myelin associated glikoprotein (% 1)'ini kodlayan genler en iyi tanımlanmıştır (88,89). Rat beyinde bu genlerin TH'una duyarlı oldukları dönem postnatal haftanın sonunda başlar, fakat regülasyonun zamanlaması kuvvetli bölgesel özelliklere sahiptir. Miyelinasyon dalgası kaudal bölgeden anterior bölgeye doğru ilerler, aynı şekilde TH'unun etkisi de aynı yolu izler. Bu yüzden, sıklıkla normal ve hipotiroid ratlar arasında myelin gen ekspresyonunun farklı olduğu farklı yaşlarda ve farklı bölgelerde daha belirgin hale gelir. Örneğin, hipotiroidik ratlarda normal ratlara göre postnatal yaklaşık 10 günde beyincik gibi kaudal bölgelerde miyelin mRNA ve proteinler azalır, korteks ve hipokampus gibi rostral bölgelerde farklılıklar postnatal 20 – 25. güne kadar devam eder (90). Tüm

vakalarda miyelin genlerin ekspresyonu tiroid hormon tedavisi yapılmassa da yaş ile normale gelmektedir. Myelin genleri erişkin bireylerde tiroid hormonlarına duyarsız hale gelirler. TH'nun myelinasyon işlemini nasıl hızlandırdığı tam olarak bilinmiyor ancak TH'unun primer etkisinin oligodendrosit farklılaşması üzerine olduğu bilinmektedir. TH'u in vivo ortamda diferansiye oligodendrositlerin birikimini desteklemektedir (91). Gerçekten TH'u in vitro ortamda oligodendrosit prekürsörlerinin farklılaşmasını proliferasyonu engelleyerek sağlar. Bu, oligodendrosit prekürsörlerinin farklılaşmasının kontrolü intrinsek zamanlama mekanizmasının ekstrasellüler regülasyonunun bir parçasıdır (92). Bu etki muhtemelen transkripsiyon faktör E2F1'in inhibisyonu ile olmaktadır (93). Her ne kadar TH'unun oligodendrosit farklılaşmasındaki kontrolünde TRbeta'nın önemli bir rolü olduğunu bildirilse de, en son çalışmalar TRa1- deficient hayvanlarda ilgili resptörün TRalfa1 olduğunu göstermektedir (94,95).

Bu verilerin ışığında TH'unun myelinasyon üzerindeki esas etkisinin oligodendrositlerin farklılaşması seviyesinde olduğu ortaya çıkmaktadır. Bu TH'unun in vivo ortamda da muhtemelen myelinasyon üzerine ek diğer etkilerinin olmadığı anlamına gelmez. Örneğin hipotiroidik ratlarda normale göre myelinize aksonların sayısı daha düşüktür, fakat myelinize hale gelmiş aksonların görünümü normal sayıda myelin tabakası olduğu şeklindedir. TH'u akson matürasyonunu ve akson çapını artırarak dolaylı olarak myelinize akson oranını artırmaktadır (95).

4.5.5. Tiroid Hormonu Tarafından Hücre Migrasyonunun (Göçünün) Kontrolü

TH'nun hücre göçünde önemli etkileri vardır. Başlıca etkileri beyin korteksinin ve beyinciğin gelişimidir. TH'unun eksikliğinde hücre migrasyonundaki bozukluklar sonucu beyin korteksinde kortikal tabakalar daha az belirginleşir. Berbel ve ark. (96) tarafından, korteksin gelişmesi esnasında oluşan nöronların hipotiroidide kaybolduğu gösterilmiştir. Kontrlaterale korteksin değişik tabakalarına yansıyan interhemisferik bağlantı olayı TH eksikliğine oldukça duyarlıdır. Çünkü embriyonik dönemin 12–15. günlerinde anne ratda geçici hipotiroidi oluşması fetusun 40. gününde araştırıldığı zaman audiojenik nöbet gibi hipokampus ve neokorteks hücrelerinde anlamlı kayba yol açtığı gösterilmiştir (96). Buna ek olarak, beyin korteks gelişiminin TH yokluğuna duyarlı olduğunu

göstermek için Auso ve ark. (97) tarafından yapılan çalışma maternal hormonların önemini somut olarak ortaya koymuştur.

Bu yüzden TH'u fetal dönemde beyin korteksinde ve postnatal dönemde beyincikte nöronal hücre migrasyonunu etkiler. Hangi mekanizmalar ile TH'unun migrasyonu etkilediği tam olarak bilinmemektedir. Ancak migrasyon için gerekli bazı moleküller TH'unun kontrolü altındadır. Maternal hipotiroidizmde radial glialının (neokorteks ve hipokampusta radial migrasyonun olduğu yol) olgunlaşması değişir (98). Migrasyonda görev alan moleküller arasında olan ve beyin ve beyincikte bulunan Reelin TH'unun kontrolü altındadır (11). Migrasyonda önemli rol oynayan Reelin, beyin korteks tabakası I ve hipokampustaki Cajal – Retzius hücreleri (99) ve beyincikteki granüler hücreleri tarafından salgılanan ekstrasellüler bir moleküldür. Başlıca görevi göç eden nöronlara ne zaman duracaklarının sinyalini vermektir. Reelinin aktivitesi, ventriküler tabakada yeni oluşan nöronların korteks yüzeyinde daha önceden oluşan hücreleri korteksin iç tabakasına yerleştirirken oluşan beyin korteks gelişiminin iç – dış şekli için gereklidir (99).

Diğer ekstrasellüler matriks proteinleri ve adezyon molekülleri TH'unun nöron migrasyonu üzerine olan bazı etkilerine aracılık edebilirler. Bunlar Tenascin C, laminin, L1, ve NCAM'dır. Bu proteinler TH'u ile down regülasyona uğrarlar, böylece hipotiroidik hayvanlarda konsantrasyonları artar. Genelde bu proteinler fetal nöral dokuda yüksek konsantrasyonda bulunurlar ve doğumdan sonra postnatal dönemde progresif olarak azalır. TH'unun yokluğunda bu proteinlerin konsantrasyonlarındaki azalma gecikir. TH'unun kontrolü sadece hücre migrasyonu ile sınırlı olmayabilir. Bu moleküller gelişen beyinin değişik süreçlerinde rol alıyor olabilirler (9,10,100).

4.5.6. Tiroid Hormonu Tarafından Nöral Hücre Farklılaşmasının

Kontrolü

TH'unun nöral hücre farklılaşması üzerine olan etkilerinin nükleer reseptör yoluyla olduğu düşünülmektedir, fakat cevap oluşturan genler tam olarak tanımlanmamıştır. TH'u terminal hücre diferasyonunda rolü olan birçok proteinlerin, hücre siklusunu ayarlayan proteinler, sitoskeletal proteinler,

nörotrofinler ve nörotrofin reseptörleri, ekstrasellüler matriks proteinleri gibi, ekspresyonunu kontrol eder (88).

Hücre siklusu regülatuarları arasında, TH'ü E2F1, p53, siklinler ve sikline bağımlı kinaz inhibitörlerinin ekspresyonunu düzenler, fakat in vivo regülasyonun bölgesel ve temporal formları sellüler tipler gibi bilinmemektedir (101).

Sitoskeleton, nöral hücrelerin şeklini belirler ve nöronlardaki mikrotübüller, mikroflamentler ve nörofilamentler veya nonnöral hücrelerdeki orta filamentler'den meydana gelir. TH'unun sitoskeleton komponentlerin ekspresyonu üzerine etkisi, hormonun morfolojik farklılaşma ve aksonal ve dendritik gelişme üzerine önemli bir mediatördür. TH'ü alfa1 ve alfa2 gibi down-regüle edilmiş ve beta4 gibi up-regüle edilmiş (102) kodlama proteinlerin ekspresyonunu düzenler. Bazı Microtubule-Associated Proteinler (MAP) de ayrıca TH'unun kontrolü altındadırlar, fakat bu posttranskripsiyonel seviyededir. Örneğin MAP2, Purkinje hücre dendritik ağacın protein dağılımı seviyesinde düzenlenmektedir (103).

Oligodendrositler haricinde glial hücrelerin farklılaşmasında TH'unun etkisi altındadır. TH'ü ayrıca mikrogial hücrelerin sayısını ve differansiyonunu artırır (104). Bu hücreler TR alfa1 ve TR beta1 izoformlarını ekspresse ederler, fakat ilginç olarak TRalfa2'i ekspresse etmezler. Astrositlerin in vivo ve in vitro differansiyonu TH'undan etkilenir, bu da beyinin çeşitli bölgelerinde glial fibriller asidik protein ve Vimentinin (105) ekspresyonunu ve beyincikte golgi epitelyal hücrelerin matürasyonunu (106) artırır. Yukarıda belirtildiği gibi TH'ü in vivo astroglial genlerin ekspresyonunu etkiler. Bu genler aksonal sinir paketlerinin ve nöronal migrasyon ve diferansiyonda ek rolü olan Tenascin C'yi (10), Laminin'i (100), ve L1'i (6) kodlar. TH'unun astroglial differasyon üzerine olan etkilerinin astrositlerdeki T3 nükleer reseptörler üzerinden olup olmadığı açık değildir, çünkü astroglial hücrelerde bu çeşit reseptörlerin mevcudiyeti tartışmalıdır (107).

4.5.7. Tiroid Hormonu Tarafından Hücre Sinyalizasyonunun Regülasyonu

TH'ü beyinde hücre sinyalizasyonunu birçok genin ekspresyonunu kontrol ederek sağlar. İntrasellüler sinyalizasyonda direkt rol alan bazı proteinler de TH'unun direkt kontrolü altındadırlar. Bu proteinlerden birisi de Neurogranin'dir

(RC3). RC3, protein kinaz C substratıdır ve calmodulin'e nonfosforile ortamda ve düşük Ca^{+2} konsantrasyonunda bağlanır. Bu biyokimyasal özellikler RC3'ü intrasellüler Ca^{+2} konsantrasyonu ve protein kinaz C (PKC) aktivitesindeki değişikliklere cevap olarak serbest calmodulin konsantrasyonlarını kontrol etmek için iyi bir aday yapmaktadır (88,108). RC3'ün postsinaptik nöronlardaki reseptörlere glutamatın bağlanmasıyla tetiklenen olaylarda rol oynadığı düşünülmektedir. Kalsiyumun hücre içine girmesi ve PKC'nin aktivasyonu RC3 fosforilasyonuna ve RC3'e bağlı calmodulin'in açığa çıkmasına neden olur. Serbest calmodulin, calmodulin hedeflerinin (calmodulin kinaz II, nitrik oksit sentetaz) aktivasyonu için daha yararlıdır. Hücre içi kalsiyumun artışına katkıda bulunan diğer mekanizmalar voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının aktivasyonu ve inositol trifosfat tarafından mitokondrial kalsiyumun açığa çıkmasıdır. RC3, moleküler mekanizmalara katkıda bulunur. Hafızanın fizyolojik substratlarından birisidir (109). Gelişmekte olan ratlarda, farelerde ve keçilerde RC3 mRNA ve protein TH'unun kontrolü altındadır. TH'u RC3 ekspresyonunun kısıtlı bölgesel kontrolünü sağlar. Bu yüzden, beyinin birçok alanında expresse edilmesine rağmen, TH'una sadece retrosplenial ve serebral korteksin 6. tabakasında, caudate ve dentat girus'da duyarlıdır. (110).

4.6. Hücre Adezyon Molekülleri

Hücre adezyon molekülleri (Cell adhesion molecules: CAM), birçok hücrenin yüzeyinden salınan glikoprotein moleküllerinden oluşan yapılardır. Bunlar hücrelerin birbirlerine, endotel hücrelerine veya ekstrasellüler matrikse bağlanmalarını sağlayan yüzey proteinleridir. Yapılan çalışmalar adezyon moleküllerinin homofilik ve heterofilik mekanizmalar ile hücre-hücre ve hücre-substrat gibi farklı bağlantılar oluşturduğunu göstermiştir (111). Moleküler biyoloji çalışmalarında transmembran düzeyinde birçok hücre adezyon molekülü bulunmuştur. Bunlar integrin, kadherin, selektin ve immünoglobülin süper ailesidir (112).

İntegrinler hücrel matriks proteinleriyle etkileşim halinde olan bir protein ailesidir. İntegrin fonksiyonunun bozulması erişkin ratlarda hipokampusun CA1 bölgesindeki Long Term Potentiation'nin (LTP) bozulmasına sebep olmaktadır (113). İntegrinler ayrıca motor sinir terminallerinde serbest kalan

nörotransmitterin artmasını uyaran güç demek olan kısa dönem sinaptik plastisitesine de katkıda bulunmaktadır (114). Son çalışmalarda tirozin kinaz sinyallerini etkilediği bulunan integrin-associated proteinin (IAP) ratlarda hafıza performansını etkilediği tespit edilmiştir (115,116).

Kadherinler hücre tanınmasında ve gelişme esnasındaki bağlantılarda önemli bir rol oynadığı bilinen protein ailesidir. Kadherinler erişkinlerde hipokampus ve ön beyinde eksprese edilirler ve sinaptik kısımlarda lokalize olurlar (117-120). Kadherinlerin sinaptik lokalizasyonda yer alması sinaptik plastisitede potansiyel bir rolünün olduğunu göstermektedir. Kadherin fonksiyonunun engellenmesi temel sinaptik özelliklere etki etmeksizin sadece LTP' yi etkilemektedir (121).

Aktive immünoglobülinler (Ig) yaklaşık olarak 100 aminoasit içeren iki beta tabakasından oluşmuştur. Ig homolog ünitesi; sabit (C1-set, C2-set), değişken (V-set) ile intermediate (I-set) kısımlardan oluşur (112,122). Bunlar hücre içindeki iskelet sistemine bağlanan tek geçişli transmembran glikoproteinlerdir.

Bazı çalışmalarda Ig familyasının hem sinaptogenez hem de sinaptik plastisiteye katıldığı bildirilmiştir (123,124). Ig süper ailesi üyeleri tarafından aracılık edilen hücre-hücre bağlantıları sadece nöronlar arasında değil aynı zamanda nöronlarla glialar arasında da bulunabilir. Nöronlarla glialar arasındaki bağlantılar sinaptik düzenlemelere de ayrıca katılabilmektedir (125,126).

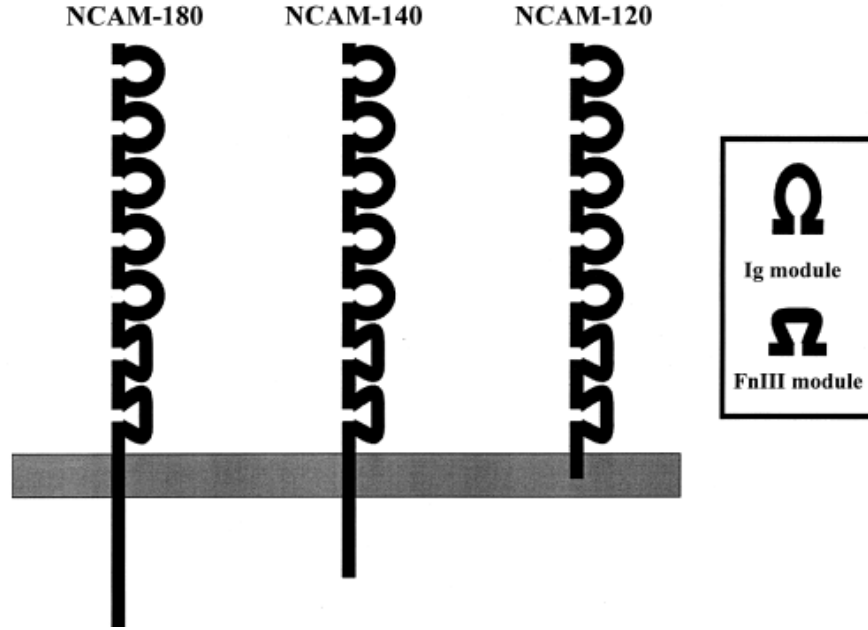
Hücre adezyon molekülleri hücre dışı matriks komponentlerinin yanı sıra hücrelerle diğer hücrelerin arasındaki bağlantılara aracılık ederler ve böylelikle sinaptik plastisitedeki değişiklikleri etkilerler. Hücre adezyon moleküllerinin nöron gelişmesinin dahil olduğu ilk etaptaki hücresel cevaplarda hücreler arası sinyal transdüksiyon akımını aktive ettiği de gözlemlenmiştir (127). Ayrıca belirli CAM'ların ekspresyonları nöronal aktiviteyle etkilenebilir (128). CAM'lar hücre içi ve dışı sinyallere aracılık ederler. CAM'ın gelişme esnasında nöronal bağlantıların formasyonu için önemli olduğu ve son zamanlarda yapılan çalışmalarla nöronal CAM'ın sinaptik plastisiteye katıldığı öne sürülmüştür (129-131).

Nöral hücre adezyon molekülleri (NCAM) iyi bilinen hücre adezyon moleküllerinden biridir (132). NCAM da immünoglobulin süper ailesi içinde yer

alan protein yapılarıdır. NCAM molekülü N terminaline özgü 5 adet C2 bölgesi içerir. NCAM yapılarının extrasellüler kısmına tutunmuş uçlarında 5 adet Ig bölgesi (Ig-I) ve 2 adet fibronektin homolog bölgesi (Fn-III) içermektedir (Şekil.4.2) (122). 5 Ig bölgesi de polisialik asit (PSA) içeren bölgelere sahiptir. Bu bölgeler hafıza ve öğrenmede önemli roller üstlenir. NCAM salınımı sadece sinir sisteminde değil, ayrıca beyin omurilik sıvısı (BOS), amniyon sıvısı, plazma, kalp kası ve çizgili kas gibi yapılarda da bulunur. NCAM ekspresyonunun kalbin innervasyonu ve morfogenezin dahil olduğu çoğu morfogenetik olayda önemli bir rol oynadığı tespit edilmiştir (133-135). NCAM'ın yüksek seviyeleri mizaç bozukluğu, şizofrenli hastaların beyin-omurilik sıvısında kimyasal beyin tahribi durumunda gözlemlenmiştir (14,136). Bu yüzden NCAM'ın beyin patolojisi ve plastisitesinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (137). Bu moleküller ayrıca hücrel göç, aksonal gelişme, sinaptik plastisite ve çevresel aksonların rejenerasyonuna katılırlar (138-141). NCAM sadece merkezi sinir sisteminde yapısal organizasyona katılmaz aynı zamanda erişkin beyinde sinaptik modifikasyonlara da katılır. Bunlara ek olarak periferel sinirlerin çıkarılmasından sonra NCAM ekspresyonunun yükseldiği gözlemlenmiş ve bu da NCAM'ın rejenerasyona katkıda bulunabildiği düşüncesini ortaya koymuştur (142-144).

4.6.1. Sinir Hücresi Adezyon Moleküllerinin Yapısı ve Özellikleri

NCAM nöronal plastisitede sinaps oluşumuna katılan moleküllerin başında gelir. NCAM'ın hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimleri ile nöron gelişmesini arttırmada düzenleyici olarak hareket eden yüzey glikoproteinleri olduğu bilinmektedir (145-148). Farklı bağlantılarla oluşmuş beyinde molekül ağırlıkları 120, 140, 180 kDa olan 3 major NCAM izoformu bulunmuştur (122,149). Bunlardan NCAM-180 ve NCAM-140 formları hücre dışından hücre içine doğru COOH zincirleri ile uzanmış transmembran proteinleri iken, NCAM-120 sadece hücre membranına kadar uzanır. NCAM-120 molekülü ise glikosilfosfatidil inositol (GFİ) vasıtasıyla membrana tutunurlar ve sitoplazmada ilerlerler. Aynı şekilde tüm NCAM yapılarının ekstrasellüler kısmına tutunmuş uçlarında 5 adet Ig bölgesi (Ig-I) ve 2 adet fibronektin homolog bölgesi (Fn-III) içermektedir (Şekil.4.2) (122).



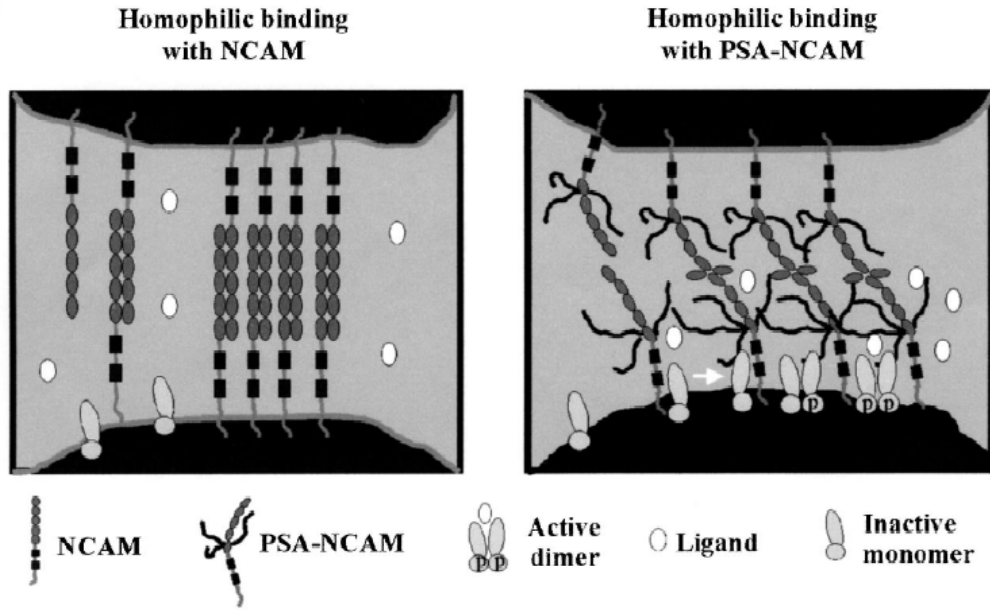
Şekil.4.2: Üç major NCAM izotipinin genel yapıları (122).

Bu protein yapılar güçlü bir şekilde sinir sisteminden bolca üretilirler (150). Aşırı NCAM ekspresyonu fonksiyonel değişiklik olmaksızın nöromusküler sinapsların yapı ve büyüklüğünde artışa neden olmaktadır (151). NCAM hücre membranına bağlandıktan sonra transmembran sinyalini ortaya çıkarır. Böylece NCAM'lar adezyonu diğer hücrelerle aracı olarak ve ekstrasellüler matrikste veya aktive intrasellüler sinyal yollarında görev alarak yaparlar (122,150). Kısaca hücrel cevaplarda hücreler arası sinyal transdüksiyon akımını aktive ederler.

Ekstrasellüler kısmıyla NCAM hem homofilik hem de heterofilik cis ve trans etkileşimlerine aracılık eder. Bu yapının NCAM tarafından transsellüler homofilik tanımayaya aracılık edebilen antiparalel dimerlerden şekillenen bir aksi form olabileceğini ifade etmektedir. Fakat molekül ekstrasellüler matriks sayısına ve heterofilik etkileşimler arasındaki diğer hücre adezyon moleküllerine bağlı olabilir (151).

Sonuç olarak NCAM homofilik ve heterofilik interaksyonlar ile hücre adezyonunu idare eder (122). Homofilik aktivasyon Ca^{+2} 'dan bağımsız bir mekanizma ile olurken, NCAM veya NCAM antikorlarının belli nöral hücrelerde intrasellüler Ca^{+2} artışına neden olduğu gösterilmiştir (122,152). Bu bağlanmada

iki NCAM molekülünün Ig5 modülü ve Ig3 modülü arasında resiprokal bir etkileşim olduğu düşünülmektedir (Şekil.4.3) (116).



Şekil.4.3: Homofilik NCAM moleküllerinin polisializasyonu, homofilik bağlanma ile PSA-NCAM kompleksinin oluşması (116).

NCAM ekspresyonu bazı önemli özel dokularda değişik şekillerde kendini gösterir. Tüm NCAM izoformları insanda 11., ratlarda 8. ve farede 9. kromozomda bulunan tek bir gen ile kodlanmaktadır. Fakat alternatif bağlantılar ve translasyon sonrası modifikasyonlarla farklı izoformları üretilebilir (153).

4.6.2. Öğrenme ve Hafızanın Şekillenmesinde Nöral Hücre Adezyon Moleküllerinin Rolü

Yapılan son çalışmalarda hipokampal mossy fiber sistemde NCAM ve PSA salınımının farelerde ayrıntılı analizinde, NCAM salınımı sadece nöronal regülasyon için önemli değil; ayrıca göç (migrasyon) gibi yapısal değişiklikler, aksonal büyüme ve fasikülasyon ile plastisite aktivitesi içinde gerekli olduğu gösterilmiştir (111).

Öğrenme üzerine NCAM'ın katılımının daha fazla kanıtı NCAM antikorlarının intraventriküler enjeksiyonu ile ratlarda, enjeksiyondan 6-8 saat sonra öğrenme ve uzun dönem hafızaya zarar verdiği, 48 saat sonra yapılan pasif sakınma cevabı testi ile gösterilmiştir (154). Aynı deneysel çalışma tavuklarda da yapılmış ve hafıza kaybına neden olmuştur (155). Aynı şekilde NCAM'dan yoksun bırakılan farelerde uzaysal öğrenme ve bulma yeteneğinin bozulduğu,

Morris water maze testlerinde öğrenmelerinde geri kalmalar olduğu tespit edilmiştir (111,156). Bununla beraber öğrenmedeki bu yetersizliğin neden kaynaklandığı bilinmemektedir. NCAM'ın posttranslasyonel modifikasyonunda öğrenme ile ilgili değişiklikler gözlemlenmiştir.

NCAM sadece gelişme esnasında merkezi sinir sisteminin yapısal organizasyonuna katkıda bulunmaz, aynı zamanda beyindeki tahrip olmuş sinaptik modifikasyonlara da yardımcı olur. Bu nedenle NCAM salınımının, özellikle PSA-NCAM'ın öğrenmenin ve uzun dönem hafızanın oluşumunda önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir (157).

4.7. Sinaptik Plastisite

Plastisite sinir hücrelerinin içinde bulundukları patolojik duruma göre kendilerini ayarlamaları anlamına gelmektedir. Nöral plastisite; sinir hücrelerinin özelliklerinin değişim yeteneği örneğin yeni bir sinapsis yapması veya mevcut sinapslardaki uzunluğun değişimi gibi hadiseleri içermektedir.

Sinir sisteminin gelişmesi nöronal döngüyü oluşturmak için yol gösteren sinaptik bağların yeniden oluşmasının devam ettirilmesiyle karakterize edilir. Erişkinlerde sinaptik plastisite, öğrenme ve hafıza oluşumu gibi fizyolojik ve patolojik şartların tanımlanması ve nöronal döngünün tamamlanması şeklindedir (158). Nöral hücre adezyon molekülleri ve onun polisiale olmuş formunun (PSA-NCAM) nöronal plastisite ve sinapslarda önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (159).

Nöronal plastisite beyin fonksiyonlarından öğrenme ve hafıza formasyonunda önemli görevler alır (160). Kortikal nöronların farklılaşması ve iyileşme için, sinaptik plastisitenin aktivite artışı için PSA-NCAM'ın güçlü bir şekilde salınımı gereklidir. Kortikal haritaların yeniden organizasyonunun temelini oluşturan mekanizmaları fonksiyonel iyileşmeler ile birleştirirler. Burada NCAM ve PSA-NCAM gibi birçok molekül rol oynamaktadır (152).

Çözünebilen NCAM tipleri beyinde, beyin omurilik sıvısında ve plazmada bulunur (122,161). NCAM hücre migrasyonunu, nöron uzanımını ve fasikülasyonunu etkileyerek beyinde sinapsların oluşumunda olası rol oynarlar. Ayrıca NCAM'ın etkisinin bloke edildiği farelerde olfaktor bulbusun ve hipokampustaki mossy fiber sistemin gelişiminin geri kaldığı gösterilmiştir (122).

Bu nedenle NCAM molekülleri beyin gelişmesi esnasında Merkezi Sinir Sisteminin yapısal organizasyonuna girerken, olgun beyinde ise sinapsların yeniden oluşum ve düzenlenmesine katılmaktadırlar. Bu moleküllerin sinaptik plastisite dışında hücre göçü, aksonal büyüme, periferik aksonların yenilenmesinde de görev aldıkları düşünülmektedir (111).

4.7.1. Sinaptik Plastisite ve PSA-NCAM

NCAM formları içinde sinaptik plastisitede rol alan en önemli molekül PSA-NCAM'dır (122). PSA, alfa-2-8-linked sialik asit artıklarının uzun homopolimerazıdır (111). NCAM izoformlarının % 30'unu PSA oluşturmaktadır. Bu nedenle PSA-NCAM terimi sıklıkla kullanılmaktadır. PSA'nın buradaki rolü karşılıklı membranlar arasındaki adezyonların kolaylıkla yapılmasını sağlamaktır. Polisialize olmuş yapı NCAM'ın adheziv etkilerini artırmaktadır (111,162).

Sinaptik plastisite ve nöronal aktiviteye bağlı nörojenesis olayında önemli rol alan PSA-NCAM'ın, özellikle beyinin belli bölgelerinde düzeylerinin artmış olduğu gözlenmiştir. Bu bölgeler hipokampal formasyonda rol alan olfaktor sistem ve dentat girustur (163-166). Yaşa bağlı olarak ortaya çıkan hafıza bozuklukları hipokampal plastisitedeki azalma ile birliktedir. MSS'nin oluşumunda NCAM'ın polisialize olmamış hali rol alırken, gelişimi sırasında PSA-NCAM bolca sentezlenir. Kemirgenlerde hipokampal formasyonda, yeni oluşan nöronların farklılaşma ve matürasyonunda da PSA-NCAM salınımının aktif rol aldığı gösterilmiştir (145,165).

Kafa travması sonrası fonksiyonel iyileşme ve tamirde, nöronal bağlantıların yapı ve fonksiyonel plastisitesinde de PSA-NCAM görev alır (152). PSA-NCAM'ın güçlü bir şekilde salınımı beyin yapılarında göze çarpan doku reorganizasyonunda ve plastisitede önemli roller üstlenir. NCAM polisializasyonunun artışı yetişkin ratlarda, hem pasif kaçınma cevabının öğrenilmesinden sonra ve hem de Morris'in su tankı testinde (Morris water maze) uzaysal öğrenmeden sonra gösterilmiştir (167,168). Bu artış ratların dentat girusunun granül hücrelerinde tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada polisializasyondaki bu yükselme hipokampal oluşumda dişli granül hücrelerinin bulunduğu yerde ve öğrenmeye katılan kortikohipokampaldan şekillenebilen entorhinal kortekste nöronlarda lokalize olmuşlardır (111,169). NCAM

polisializasyonunun artışı aynı şekilde öğrenmeye katılan kortikohipokampal yolda PSA-NCAM salınımını da aktive etmektedir (167).

Genellikle uzun dönem hafızanın oluşmasındaki yapısal değişikliklerin nöronal bağlantılarla oluştuğuna inanılmaktadır. Uzun dönem hafızanın oluşmasında ve öğrenmede NCAM'ın rolü ile ilgili son zamanlarda ciddi çalışmalar yapılmıştır (157). Öğrenme ve hafızanın oluşumunda temel mekanizma olan sinaptik plastisiteye NCAM moleküllerinin aracılık ettikleri bilinmektedir (157,170). Öğrenme sürecinde nöronal bağlantılarda yapısal değişikliklerin oluşması uzun dönem hafızanın yerleşmesini sağlar. Bu nöronal bağlantı ve yeniden organizasyon işleminde NCAM molekülleri çok önemli görevler üstlenir (171). Kısaca; PSA-NCAM'ın artışı ile adhezyon hücrelerinde azalmaya ve nöron uyarılmasında artışa neden olmaktadır. Nörogenezisin indüklenmesi ile hipokampal formasyon artmakta, öğrenme ve hafıza işlemleri de olumlu etkilenmektedir. Sonuçta polisialize olmuş NCAM, uzun dönem hafızanın (depo hafızanın) kurulması esnasında nöronal bağlantıların yapısal modellerinin yeniden oluşumuna katkıda bulunurlar (172).

4.7.2. Sinaptik Plastisite ve LTP

LTP (Long Term Potentiation) ve LTD (Long Term Depression) gibi mekanizmalar kortikal reorganizasyon haritalarının temelini oluşturduğu kabul edilmektedir. Bunların beyinde bilgi depolamanın hücresel temelini oluşturduğuna inanılmaktadır (152). PSA-NCAM'ın presinaptik plastisiteye spesifik katkıları olduğu bilinmektedir, bu olay LTP olarak adlandırılır (111).

Yetişkinlerde öğrenme ve hafızaya alma olaylarında rol oynayan nöronal plastisitenin NCAM molekülleri tarafından sağlandığı artık bilinmektedir (172,173). Sinaptik plastisitenin bir ifadesi olan hafızanın oluşumunda NCAM'ın rolünü anlamak için hipokampusta mossy fiber sinapsta LTP uyarısı kullanılır (111). LTP in vivo ve in vitro şartlarda hipokampal sinir liflerinin yüksek sıklıktaki uyarıları ile uyarılabilen sinaptik geçişlerdeki uzun süren bir yükselmedir. LTP öğrenme ile çoğu özellikleri paylaşır. Hafıza ve öğrenmede sinaptik değişiklikleri kontrol ettiği sanılan moleküler mekanizmaları anlamada ve tespit etmede artık yaygın olarak LTP ölçümü kullanılmaktadır. Sinaptik plastisite ve LTP formasyonu hipokampal dilimde bulunan datalar ile hazırlanır (174).

Bir uygulamada in vitro şartlarda lokal NCAM antikorlarının ratların hipokampal kesitlerindeki CA1 bölgelerine enjeksiyonu ile LTP'nin devamlılığını ve uyarısını engellediği gösterilmiştir (174).

Sinir sisteminin gelişimi sırasında oluşan sinaptik değişiklikler, sinaptik plastisitenin de kapasitesinde değişikliklere neden olur. Tanımlanan bu kapasite hatırlama ve öğrenme yeteneğinde önemli rol oynar. Erişkinlerde bu olay öğrenme ve hafıza oluşumu gibi fizyolojik ve patolojik şartların tanımlanması ve nöronal döngünün tamamlanması şeklindedir (175).

4.8. Hipokampus

Hipokampus, serebral korteksin değişik bir tipinden oluşan uzunca bir yapıdır. Gerçekte, temporal lob korteksin bir bölümünün, yan ventrikülünün ventral yüzünü oluşturmak üzere içeriye doğru katlanmasından ibarettir. Hipokampusun bir ucu amigdaloid nükleuslara dayanır, kenarlarından biriyle de temporal lobun ventromedial korteksi olan parahipokampal girusla kaynaşır (176).

Hipokampusun, serebral korteks bölümlerinin çoğu ile olduğu kadar, limbik sistemin temel yapıları olan amigdaloid, hipotalamus, septum ve korpus mamillare ile de sayısız bağlantısı vardır. Hemen her tip duyuşsal algı, anında hipokampusun çeşitli bölümlerinin aktivasyonuna neden olur ve hipokampus bir çok çıkış sinyallerini, hipotalamus ve limbik sistemin öteki bölümlerine dağıtır, özellikle en büyük çıkış yollarından biri fornikse gider. Böylece hipokampus da, amigdaller gibi duyuşsal giriş sinyallerinin uygun limbik reaksiyonları doğuracak ek bir kanaldır (176).

Hipokampusun bir başka özelliği de, çok zayıf elektriksel uyarıların, stimülasyonu kesildikten sonra saniyelerce devam eden lokal epileptik nöbetler meydana getirmesidir. Bu durum, hipokampusun normal fonksiyon durumlarında bile uzun süren sinyaller verebileceğini düşündürmektedir (177). Hipokampal epilepsi sırasında kişi çeşitli psikosomatik etkiler algılamaktadır. Bunlar arasında; koklama, görme, işitme, dokunma ve başka tipte halüsinasyonlar bulunur. Kişi bilincini kaybetmese ve bu halüsinasyonların gerçek dışı olduğunu bilse bile, bunları bastıramaz, kontrol edemez. Hipokampusun bu aşırı duyarlılığının nedenlerinden biri belki de, beyin başka bölgelerindeki korteksten farklı olarak

altı tabaka yerine ancak üç normal tabakası olan bir korteks tipinde olmasıdır (176).

Hipokampus, epilepsinin tedavisi amacıyla birkaç vakada cerrahi olarak çıkarılmıştır. Bu şahıslar daha önce öğrenmiş oldukları aktivitelerin çoğunu yeterli bir şekilde yapabilirler. Bununla beraber hemen hemen yeniden hiçbir şey öğrenemezler. Gerçekten kendileriyle her gün birlikte olan kişilerin bile isimlerini veya yüzlerini öğrenemezler. Ancak bir an için ya da aktiviteleri sırasında ne olduğunu hatırlayabilirler. Böylece, yalnız kısa süreli primer bellekleri vardır. Bunlarda uzun süreli sekonder bellek oluşturma yetenekleri tamamen ya da büyük ölçüde ortadan kalkmıştır. Bu durum anterograd amnezi olarak isimlendirilmiştir. Hipokampusun bozulması, daha önce kazanılmış bellekte de bazı eksikliklere yol açar, yakın zamanlara ait bellek, uzak geçmişe göre biraz daha kuvvetlidir (177).

Hipokampusun, kısa süreli belleğin uzun süreli belleğe çevrilmesine neden olan dürtüyü sağladığı ileri sürülmüştür. Yani bazı tip sinyalleri kalıcı deponun yer aldığı uzun süreli belleğin depo alanlarına taşır. Mekanizma ne olursa olsun, hipokampus olmadan, uzun süreli belleğin pekiştirilmesi mümkün olmamaktadır (178).

Öğrenme ve hafıza, limbik sistemde dahil olmak üzere, merkezi sinir sisteminin birçok bölgeleri ile ilgili kompleks fonksiyonlardır. Yeni edinilen bilgilerin depolanmasında hipokampusun önemli rolü olduğu bilinmektedir. Hipokampus'u etkileyen lezyonu olan hastalarda kısa süreli hafızanın uzun süreli hafızaya dönüştürülmediği gözlenmiştir. Lezyonun sol hipokampusta olduğu durumlarda daha çok sözel hafıza etkilenirken, sağda olduğu durumlarda ise görsel hafıza etkilenmektedir (179). Her türlü duyuşsal algı, anında hipokampusun çeşitli bölümlerini aktive eder. Korteks ile alt sinirsel oluşumlar arasında algılama, limbik sistem, soyut düşünme ve algılama, öğrenme, hafıza (bilgi depolama), uzaysal hafıza gibi verilerin aktarılmasında hem köprü hem de kavşak rolü oynar (180).

4.9. Öğrenme ve Bellek

Hayvanlara ve özellikle insana ait bir niteliktir ve davranışını deneyimlere göre değiştirebilme yeteneğidir. Öğrenme bunu gerçekleştirebilmek için bilgi

kazanabilme, bellek bu bilgiyi koruma ve depolamadır. Açıkça görüleceği gibi bu iki olay birbiri ile yakından ilişkilidir ve her ikisinin birlikte ele alınması gerekir.

Fizyolojik bakış açısından bellek, net (eksplisit) ve gizli (implisit) olarak iki tipe ayrılabilir. Tanıma belleği veya deklaratif bellek olarak da adlandırılan net bellekte, bilinç eşleniktir ve hipokampus ile beyinin medial temporal loblarının diğer bölümlerinde depolamaya bağımlıdır. Olaylara (epizodik) ve sözcük, kural, dile ait (semantik) bellek olarak alt gruplara ayrılır. Gizli bellek uyanıklığı içermez ve buna varlığı anlaşılmayan veya refleksif bellek de denir. Bunun depolanması, en azından bazı durumlarda, hipokampusta işlemlemeyi içermez ve diğer şeylerin yanısıra, beceri, alışkanlık ve koşullu refleksleri kapsar. Öte yandan, bisiklet sürme gibi etkinlikler, tam olarak öğrenilinceye kadar başlangıçta tanıma belleği oluşturup daha sonra refleksif belleğe geçer (181).

Net bellek ile gizli belleğin çeşitli formları şunları içerir: 1) saniyeler ile dakikalar boyu süren, bu sırada hipotalamustaki veya başka yerlerdeki işlemlerin, kavşak etkinliğindeki uzun süreli değişikliğe dayandığı kısa süreli bellek, 2) belleğin yıllarca ve bazen yaşam boyu depolandığı uzun süreli bellek.

Kısa süreli bellek oluşumu sırasında anı kalıntıları travmalar ve çeşitli ilaçlarla bozulabilir, halbuki uzun süreli anı kalıntıları bozulmaya belirgin şekilde dirençlidir. Çalışan bellek, kişi bir bilgiye dayanan girişim planlarken bilgiyi hazır tutan kısa süreli bir bellek tipidir (181).

Gizli bellek, bir kez kazanıldıktan sonra bilinçsiz ve kendiliğinden gerçekleşir hale geçen beceri ve alışkanlıkları kapsar. Bu bellek, daha önce karşılaşmış olma sonucu sözcük veya cisimlerin tanınmasını kolaylaştıran durumu da içerir. Bunun bir örneği, ilk birkaç harfin söylenilmesi sonucu bir kelimenin daha kolay hatırlanmasıdır. Gizli belleğin diğer çeşitleri, asosiyatif olan ve olmayan formlara ayrılabilir. Asosiyatif olmayan öğrenmede organizma tek bir dürtü ile öğrenirken asosiyatif öğrenmede organizma bir dürtünün diğer dürtü ile olan ilişkisini öğrenir (181).

Alışkanlık (habitüasyon), nöral bir uyarının defalarca yinelandığı basit bir öğrenme şeklidir. Bir uyarı ilk kez uygulandığında, o canlı için yeni olup bir tepkime uyandırır. Bu uyarı yinelenecek olursa, giderek daha az elektriksel cevap oluşturur. En sonunda denek uyarana alışır ve buna aldırış etmez. Duyarlanma

(sensitizasyon) bir anlamda bunun tersi olan bir olaydır. Yinelenen uyaran, eğer hoş veya hoş olmayan bir başka uyaranla bir veya daha fazla birlikte verilirse daha büyük bir cevap meydana getirir. Uyaranların uyandırma değerinin benzeri yoğunlaşmasının insanda meydana geldiği bilinmektedir. Çeşitli tür gürültüler arasında uyuyan annenin bebeği ağlayınca hemen uyanması buna örnektir. Alışkanlık asosiyatif olmayan bir öğrenme örneğidir. Asosiyatif öğrenmenin klasik örneği koşullu reflekstir. Koşullu bir refleks, önceden cevap oluşturmayan veya çok hafif bir cevap oluşturan bir dürtüye karşı, bu dürtünün, bu cevabı normal olarak uyandıran bir diğer dürtüyle tekrar tekrar eşleştirilmesiyle kazanılan bir refleks cevaptır (181).

Bellekte kilit öge, seçilmiş kavşak bağlantıların gücünde değişiklik olmasıdır. En basit olanlar hariç bütün bellek biçimlerinde, bu değişiklik protein sentezini ve genlerin etkinleştirilmesini içerir. Bu olay, kısa süreli bellekten uzun süreli belleğe geçiş sırasında görülür. Hayvanlarda, her eğitim oturumunu izleyen beş dakika içinde anestezi uygulanır, elektroşok verilir veya protein sentezini bloke eden ilaç, antikör veya oligonükleotidler kullanılırsa, uzun süreli öğrenilmiş cevapların kazanılması önlenir. Bu girişimler, eğitim oturumlarından dört saat sonra yapılırsa kazanım üzerine herhangi bir etki görülmez. İnsanda bu olayların karşılığı, beyin sarsıntısı veya elektroşok tedavisinden hemen önce gerçekleşmiş olaylara ait belleğin yitimidir (181).

5. MATERYAL METOT

5.1. Deney Hayvanları

Deneylerde kullanılan Wistar-albino cinsi ratlar, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezinden temin edildi. Ratlar havalandırma sistemi bulunan bir ortamda özel olarak hazırlanmış ve her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Yemler, özel çelik kaplarda ve su da paslanmaz çelik bilyeli biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi. Deney hayvanları Elazığ Yem Fabrikasında özel olarak hazırlanan pelletler halindeki rat yemleriyle beslendi. Ratlara verilen yemin bileşiminde bulunan katkı maddeleri Tablo.5.1’de gösterilmiştir. Ratların deneysel uygulama yapılacak safhaya kadar bakımlarına bu şekilde devam edildi.

Tablo.5.1: Deney hayvanlarına verilen yemin bileşimi

Yem maddeleri	Yüzdesi (%)
Buğday	10
Mısır	21
Arpa	14
Kepek	8
Soya Küspesi	25
Balık Unu	8
E-Kemik unu	4
Melas	4
Tuz	4
*Vitamin Karması	1
**Mineral Karması	1

*Vitamin karması: Deney hayvanlarına verilen yemlerin vitamin karmasında A, D3, E, K, B1, B2, B6, B12 vitaminleri ile nikotinamid, folik asit, D-biotin ve kolin klorit bulunmaktadır.

**Mineral karması: Mangan, demir, çinko, bakır, iyot, kobalt, selenyum ve kalsiyumdan oluşmuştur.

5.2. Deneysel Uygulamalar

Deneysel çalışmalara başlamadan önce, çıkabilecek aksaklıkların asgariye indirilmesi amacıyla ön çalışma yapıldı. Deney hayvanlarının bulundukları

ortamın sıcaklığı 22-25 °C arasında sabit tutuldu ve hayvanlar 12 saat ışık altında ve 12 saatte karanlıkta takip edildi.

Çalışma için hipotiroidi, tirotoksikoz oluşturulacak olanlar ve kontrol grubu olarak 2 adet dişi rat seçildi. Anne adayı sıçanlar, on beş gün boyunca vajinal smear ile takip edilerek, ovulatuvar siklusları belirlendi. Siklus bozukluğu göstermeyen ratların ovulasyon zamanları tespit edilerek çiftleştirildi. Vajinal smear de sperm saptanan ratların gebe olacakları varsayılarak tedavileri başlandı.

Hipotiroidi oluşturmak için, annelerin gebeliğinin birinci gününden itibaren içme sularına 10 mg/kg/gün dozunda propylthiouracil (Sigma) katıldı (194), PTU gebelik boyunca ve doğumdan iki hafta sonrasına kadar verildi.

tirotoksikoz oluşturmak için anne ratlara gebeliğinin birinci gününden itibaren 10 µg/100 gr dozunda L-Thyroxin ampul intraperitoneal uygulandı (182). Bu uygulama gebelik boyunca ve doğumdan iki hafta sonrasına kadar devam etti.

Deneyisel uygulamaya annesi tirotoksikoz olan 5, hipotiroidik olan 5 ve normal (kontrol grubu) 5 yavru ratlar (iki aylık) alındı. Yavru ratlar doğumdan 2 ay sonrasına kadar anneleri ile birlikte aynı kafeste beslendi. İkinci ayın sonunda tüm gruplara Morris Water Maze öğrenme testi yapıldı.

5.3. Morris Water Maze Testi (Su tankı testi)

Morris Water Maze Testi sıçan ve farelerde yaygın olarak kullanılan bir öğrenme ve bellek testidir (183). Morris'in su tankı, sirküler bir tank olup, 120 cm çapında galvanizli ve 50 cm yüksekliğindedir. Su tankı 25 cm kadar su ile dolduruldu ve süt tozu ile boyanarak suyun 2 cm altına bırakılan 10x10 cm'lik platformun görünmesi engellendi. Suyun ısısı 24±2 C derecede sabit tutuldu. Tankın yerleştirildiği konum ve platform yeri deney süresince sabit tutuldu. Deneklerin, bulunduğu yerin uzaysal konumunu algılayabilmeleri için görsel bir işaret tank dışına yerleştirildi (visual cues).

Su tankı sanal olarak 4 kısma ayrıldı ve platform bu kadranslardan birinin ortasına yerleştirildi. Rat diğer 1/4 oranındaki alanlardan birine bırakıldı ve yüzerek 60 sn. içinde platformu bulması beklendi. Platformu bulunca 30 sn. orada dinlenmesine izin verildi, sonra alınıp ayrı bir kafeste 30 sn. bekletildi. Tekrar su tankına bırakılarak aynı işlem her hayvan için 4 kez tekrarlanıp platformu bulma süreleri kaydedildi. 60 sn içinde platformu bulamayan rat alınıp platforma

bırakıldı ve 30 sn dinlenmesine izin verildi. Her hayvan için 5 gün süreyle aynı denemeler yapıp süreler kaydedildi.

Belleğin pekiştirilme işlemini test etmek için, 5 günlük testten 24 saat sonra probe testi yapıldı. Bu testte, platform tanktan alındı ve denekler yüzdürüldü. Deneklerin doğal olarak platformun önceden bulunduğu tankın dörtte birlik kısmında daha çok arama yapması beklenir. Bu süre belleğin pekiştirilmesini ölçer. Deneklerin eski platformun bulunduğu dörtte birlik alanda yüzdükleri süre kaydedildi.

5.4. Hipokampus Örneklerinin Alınması

Deneyisel uygulamalar sonrasında etik kurulun aldığı kararlara uygun olarak dekapite edilen ratların total beyinleri alındı, hacimleri belirlendi ve beyinin hipokampus bölgesi ayrılarak kuru buzda hemen donduruldu. Örnekler darası alınmış olan eppendorf tüplere aktarıldı. Ağırlıkları hassas terazide tartılarak belirlendi ve analizler yapılincaya kadar -70°C 'de saklamaya alındı.

5.4. Hipokampus Örneklerinin Hazırlanması

Hipokampus örneklerinin hazırlanmasında Baydaş ve arkadaşları tarafından uygulanan homojenizasyon yöntemi kullanıldı (184). Taze veya dondurulmuş dokular 1:10 (w/v) oranında homojenizasyon solusyonunda [10mM Tris- HCl (pH=7.4), 0.1 mM NaCl, 0.1mM fenil metil sülfonil florid (PMSF), 5 μ M soybean (bir tripsin inhibitörü olarak)] cam bir homojenizatör yardımıyla soğuk ortamda homojenize edildi. Homojenatlar soğutmalı santrifüjde $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 60 dakika süreyle 60.000 x g'de santrifüj edildi. İlk süpernatantlar eppendorf tüplere alınarak LPO ve GSH analizleri yapılincaya kadar -70°C 'de saklandı. Pelletler eşit hacimde ilave edilen homojenizasyon solusyonunda [25 mM Tris- HCl (pH= 7.4), 0.1mM PMSF, % 2'lik TritonX –100 ve % 1'lik SDS] yeniden süspanse edildi. $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 2 saat inkübasyona bırakıldı ve homojenatlar soğutmalı santrifüjde $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 60 dakika süreyle 60.000 x g'de santrifüj edildi. Elde edilen 2. süpernatantlar eppendorf tüplere alınarak SDS-PAGE ve western blot analizleri için -70°C 'de saklandı.

5.6. SDS-Poliakrilamid Jel Elektrofrez (SDS-PAGE)

SDS-PAGE jel sisteminde akrilamid monomerlerinden yararlanılır. Amonyum persülfat (APS) gibi bir serbest radikal ile TEMED gibi stabilizatörü

sağlayıcı ortamda akrilamid monomerleri uzun zincirler oluşturacak şekilde polimerleşmekte ve daha sonra oluşan bu uzun zincirler arasında yanal bağlantılar oluşarak jel meydana gelmektedir. SDS-PAGE analizinde jelin yapısında yer alan sodyum dodesilsülfat (SDS) deterjanın bulunması ile proteinler kendilerini oluşturan monomer alt birimlerine ayrılmaktadır. Böylece protein agregasyonu önlenmektedir. SDS moleküllerine bağlanan denatüre polipeptidler negatif yük kazanırlar. SDS bağlantılı polipeptid kompleksleri, molekül ağırlıklarına bağlı olarak jel içerisinde hareket ederler. Hareket eden moleküllerin ağırlıkları; aynı jel üzerinde bulunan bir standartla karşılaştırılarak tespit edilir. Mutasyon geçirmiş veya çeşitli olumsuz çevre faktörleri sonucunda canlı organizmanın bir kısım proteinlerinden normale göre parça kopması veya parça ilavesi ya da bazı proteinlerin yeterince sentezlenmemesi gibi özellikler bu jel sisteminde tespit edilmeye çalışılır.

Protein moleküllerinin hareketi güç kaynağından gelen elektrik akımına göre negatif (-) kutuptan pozitif (+) kutuba doğru olur. İncelenecek protein molekülleri şayet 0-43 kDa aralığına tekabül ediyorsa akrilamidin konsantrasyonu %15, 40 kDa'dan yukarı ise akrilamidin konsantrasyonu %10 veya daha aşağı düşürülür. Diğer bir ifade ile molekülün ağırlığı arttıkça akrilamidin konsantrasyonu düşürülür. Akrilamid konsantrasyonunun artışı jel içerisindeki ara boşlukların daha sık olmasına sebep olmaktadır. Dolayısıyla protein moleküllerinin hareket hızı da azalmaktadır (185).

Kullanılan çözeltiler

- 1.5 M Tris-HCl (pH 8.8.)
- 0.5 M Tris-HCl (pH 6.8.)
- % 10 Sodyum dodesilsülfat çözeltisi (SDS)
- %30 Akrilamid/Bisakrilamid çözeltisi
- %10 Amonyum persülfat çözeltisi (APS)
- N, N, N', N', -tetrametil-etilendiamin (TEMED)
- Gliserin
- 2-β-merkaptoethanol
- %0,05 Bromofenol blue çözeltisi
- Boyama çözeltisi (Stain solusyon/100 ml):

%0.1 Coomassie blue R-250

%45 Metanol

%10 Glasiyal asetik asit

%45 Distile su

- Boya çıkarma çözeltisi (Destain solusyon/100ml):

%45 Metanol

%10 Glasiyal asetik asit

%45 Distile su

- Tank solusyonu (Running buffer, pH 8.3):

Tris base 9.0 gr, Glisin 43.0 gr, Distile su 600 ml.

SDS-PAGE için jellerin hazırlanması

Separating (ayırma) jelinin hazırlanması (%12)	Miktar
Distile su	3,35 ml
1,5 M Tris-HCl (pH 8.8)	2.5 ml
% 10 SDS	100 µl
Akrilamid /Bis (%30)	4.0 ml
Amonyum persülfat (%10)	50 µl
TEMED	5 µl
Toplam	10.0 ml.

Stacking jelin hazırlanması (%4)	Miktar
Distile su	6.1 ml
0.5 M Tris-HCl (pH 6.8)	2.5 ml.
SDS (%10)	100 µl
Akrilamid-Bis (%30)	1.3 ml
Amonyum persülfat (%10)	50 µl
TEMED	10 µl
Toplam	10.0 ml

Örnek solusyonların hazırlanması	Miktar	Son konsantrasyon
1 M Tris-HCl (pH6.8)	1.25 ml	0.125 M
% 10 SDS	1.6 ml	%4
%0.05 bromofenol blue	0.2 ml	%0.002
Gliserol	0.8 ml	% 20
2-β-merkaptoethanol	0.4 ml	%10
Distile su	3.75 ml	-
Toplam	8.0 ml	-

5.7. Hipokampus Örneklerinin SDS-PAGE ile Analizi

Serbest ve serbest olmayan protein örnekleri Laemmli tarafından belirtildiği şekilde hazırlanan SDS-PAGE ile incelendi (185).

Jel oluşturmak için uygun bir pozisyonda tutturulan iki cam arasına yerleştirilmek üzere 10 ml' lik separating jel solusyonu hazırlandı. Hazırlanan bu jel solusyonu iyice karıştırıldı ve uygun bir otomatik pipet yardımıyla belirli kısımlardan sıkıştırılarak kaset haline getirilen iki cam levha arasına aktarıldı. İki cam levha arasına jel ilave edilirken üst kısımda tarak dişlerinin yüksekliği kadar ($\approx 1\text{cm}$) bir boşluk bırakıldı. Hazırlanan kaset şeklindeki bu iki cam levha arasındaki jel yaklaşık olarak 30 dakika oda sıcaklığında bekletilerek aralarındaki akrilamid monomerlerinin polimerleşmesi sağlandı. Daha sonra iki cam levhanın üst kısmına örnek sayısına uygun sayıda dişe sahip tarak yerleştirildi.

Tarak dişlerinin aradolgu maddesi olarak ifade edilen stacking jel 10 ml kadar hazırlandı. Hazırlanan bu jel solusyonu iyice karıştırıldı ve uygun bir otomatik pipet yardımıyla, jel kasetine yerleştirilmiş olan tarak dişleri arasındaki boşluklar dolduruldu. Bu dolgu iki camın en üst seviyesine kadar tamamlandı. Stacking jel çok çabuk polimerize olduğundan işlemlerin kısa sürede yapılmasına dikkat edildi. 25-30 dakika oda sıcaklığında bekletilerek polimerleşme sağlandı. Tarak, polimerleşmesi tamamlanan jelden çıkarıldı. Bu işlem sırasında jel de meydana gelen ve örneklerin bırakılacağı yuvaların bozulmamasına dikkat edildi. Cam levhalardan oluşan kaset elektroforez tankına yerleştirildi. Protein çözücü solusyonu; 0,125 M Tris (pH 6.8), %2'lik SDS, %0.002 oranında Bromofenol

mavisi, %20'lik gliserol, %10'luk merkptoethanol şeklinde hazırlandı. Yaklaşık olarak 150 µl olarak alınan her bir protein örneğine eşit oranda çözücü solusyondan ilave edildi ve iyice karıştırıldı. Tarak dışının genişliğine bağlı olarak, hazırladığımız karışımdan 10-20 µl kadar transfer edildi. Tank içerisine yeterli miktarda tank solusyonu ilave edildi.

Güç kaynağından önce düşük bir voltajla (150 V) akım elektroforeze verildi. 5-10 dakika sonra voltaj değeri yükseltildi (180-200 V). Çıplak gözle izlenilebilen mavi boya bandı jelin alt kısmına gelince elektroforez cihazı kapatıldı.

Elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra kaseti oluşturan iki cam birbirinden ayrılarak aradaki jel çıkarıldı. Protein bantlarının görünür hale gelebilmesi için bu jel % 1.25'lik Coomassie blue boya ortamına alındı. Burada en az yarım saat en çok bir gece boyunca oda sıcaklığında bekletildi.

Boya solusyonundan alınan jel boyayı giderici solusyon (destain solusyon) ortamına alındı. Arasına çalkalanarak protein bantlarının dışındaki boya maddesi uzaklaştırıldı. Boya giderici solusyonda 5'er dakika bekletildi ve solusyon döküldü. Jel tekrar boya giderici ortama alındı ve bu işlem 2-3 kez tekrarlandı. Böylece jel üzerinde bulunan protein bantlarının dışındaki boya giderilmiş oldu. Jel üzerinde görünür hale gelen protein bantlarının fotoğrafları bir kamera yardımıyla çekildi.

5.7. Western Blot Yöntemi

Western blot yöntemi; elektroforez işlemiyle poliakrilamid jelde göç ettirilen proteinlerin, nitroselüloz membrana transferi ve membrandaki proteinlerin immünolojik metotlarla gösterilmesidir. Blotlama yapılmadan önce çalışılan örneklerdeki proteinler elektriksel ortamda poliakrilamid jel üzerinde göç ettirilmektedir. Proteinlerin elektroforezleri SDS-PAGE'de gerçekleştirilmektedir (186)

Western blot tekniği, elektroforez işlemini takip eden 4 aşamada gerçekleştirilir. Bunlar; jeldeki proteinlerin nitroselüloz membrana aktarımı (blotlama), spesifik olmayan reaksiyonları engellemek için nitroselüloz membranda protein bağlanmamış bölgelerin ilgisiz proteinlerle kaplanması

(bloklama), özgül antikorlarla tepkime ve en son aşamada ise proteinlerin görüntülenme aşamalarıdır (187,188).

Nitroselüloz membrana transfer sırasında jel ile nitroselüloz membran karşı karşıya getirilmekte ve bunlar filtre kağıtları arasına yerleştirilmektedir. Jelin büyüklüğü ile orantılı olarak belirli bir süre elektrik akımı uygulanıp proteinlerin transferi sağlanmaktadır. Nitroselüloz membranın özgül olmayan proteinlerle bloklanmasında albumin tercih edilmektedir (187).

Spesifik antikorlar olarak monoklonal ya da poliklonal antikorlar kullanılabilir. Monoklonal antikorların kullanımı, yalnızca tek bir epitopa özgül olmaları ve çok güçlü immünokimyasal köprüler oluşturmalarından dolayı avantaj sağlamaktadır. Bu nedenle, monoklonal antikorlar antijene spesifik bir bağlanma gösterir. Ancak, çalışılan proteinler arasında benzer epitop bölgeleri bulunmakta ise çapraz reaksiyonlar sonucunda yalancı pozitiflikler ortaya çıkabilmektedir. Poliklonal antikorların kullanılması durumunda aynı nedenden dolayı şekillenen yalancı pozitiflik ihtimalinin daha fazla olduğu bilinmektedir (186).

Western blotta monoklonal antikorların kullanımının en önemli dezavantajı, SDS-PAGE ve blotlama esnasında polipeptid yapılarıdaki epitopların ortadan kaldırılmasıdır. Belirlenmeye çalışılan epitopun ortadan kaldırılması durumunda ise monoklonal antikor-epitop bağlanması şekillenemez. Bu nedenden dolayı monoklonal antikor kullanıldığında, poliklonal antikorla çalışılmasına kıyasla, yalancı negatiflik ihtimali artmaktadır (187).

Özgül antikordlarda raportör madde olarak genellikle radyoaktif izotoplar veya enzimler kullanılmaktadır. Enzim olarak alkalen fosfataz ve peroksidaz enzimleri tercih edilmektedir. Bu enzimlerin substratları ve kromojen maddeleri birbirinden farklıdır. Son yıllarda enzimle işaretlemeye, testin duyarlılığını arttırmak amacıyla peroksidazla işaretli avidin biyotin sisteminin kullanımı yaygınlaşmıştır. Kullanılan kromojenlerin en önemli özelliği çözünmeyen renkli ürünler oluşturmalarıdır (187,188).

5.9. Hipokampus Örneklerinin Western Blot ile Analizi

Hipokampus örneklerinin western blot analizi Baydaş ve arkadaşları tarafından uygulanan metoda göre yapıldı (184).

Jeldeki proteinlerin nitroselüloz membrana aktarımı (blotlama): SDS-PAGE tamamlandıktan sonra poliakrilamid jel blotlanmak üzere alındı. Nitroselüloz membrana transferin gerçekleştirilmesi için poliakrilamid jel ile nitroselüloz membran (Schleicher and Schuell, Inc., USA) yüzeyleri arasında boşluk kalmayacak biçimde karşı karşıya getirildi ve bunlar filtre kağıtlarıyla sarılmış bir şekilde blotlama düzeneğine yerleştirilerek tampon solusyonuyla doyuruldu. Soğutulmuş tampon solusyonuyla doldurulmuş tanka yerleştirilen düzenek için 60 dakika boyunca 150 mA elektrik akımı uygulandı. Bu şekilde proteinlerin transferi sağlanmış oldu.

Spesifik olmayan reaksiyonları engellemek için nitroselüloz membranda protein bağlanmamış bölgelerin ilgisiz proteinlerle kaplanması (bloklama): Blotlama işlemi bittikten sonra petri kutularına alınan nitroselüloz membranlar tampon solusyonla $[\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.025 M), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (0.075 M), NaCl (1.45 M)] çalkalayıcı üzerinde 3 kez 5 dakika olacak şekilde yıkandı. Spesifik olmayan bağlanmalar, 100 mM NaCl, 20 mM Na_2HPO_4 , 20 mM NaH_2PO_4 (pH: 7.2) tamponunda % 1'lik taze sığır serum albumini ile 37 °C'de 90 dakikalık inkübasyonla bloklandı.

Özgül antikorlarla tepkime: Primer antikor olarak poliklonal rabbit anti-rat NCAM antikorı kullanıldı. NCAM primer antikorı % 0.05 oranında Tween-20 bulanan tamponda 1:2000 oranında hazırlanarak kullanıldı. Nitroselüloz membranlar NCAM antikorı ile +4 °C'de gece boyunca inkübasyona bırakıldı. Daha sonraki safhada nitroselüloz membranlar 5 kez 5 dakika tampon solusyonuyla yıkandı. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra nitroselüloz membranlar % 0.05 oranında Tween-20 bulanan tamponda 1:1000 oranında hazırlanan, peroksidazla konjuge edilmiş goat-anti-rabbit immünoglobulinle 37 °C'de 90 dakika süreyle inkübasyona bırakıldı. Sonraki aşamada nitroselüloz membranlar 5 kez 5 dakika tampon solusyonuyla yıkandı.

Bantların görüntülenmesi: Bantların görüntülenmesi için 1 M Tris (pH: 7.4) tamponunda % 0.03-0.05 oranında hazırlanmış diaminobenzidin (DAB) solusyonu kullanıldı. DAB'la reaksiyon sonucu nitroselüloz membranlar üzerindeki bantlar kısa bir süre sonra görünür hale geldi. 5-10 dakikalık bir reaksiyon süresi sonunda DAB'la renklendirilen bantlar net olarak görüldükten

sonra nitroselüloz membranlar iyice yıkandı. Nitroselüloz membranlar iyice kurutulduktan sonra, bantların rölatif yoğunlukları analiz edilmek üzere alındı. Bantların rölatif yoğunlukları Lab. Works 4.0 (Ultra Violet Products Ltd. Combridy, CD₄ 1TG UK) software programı kullanılarak analiz edildi.

5.9. İstatistik

Elde edilen veriler SPSS-11 bilgisayar paket programına yüklendi. İstatistiksel analizlerde; tiroid hormonlarının ve NCAM düzeylerinin gruplar arası anlamlığı Mann-Whitney U, Morris Water Maze  ğrenme testinin değerlendirilmesinde tekrarlayan ölçümlerde Varyans analizi kullanıldı. $P<0.05$ değerleri anlamlı kabul edildi.

6. BULGULAR

Çalışmanın başında 2 kontrol, 2 tirotoksikoz, 2 hipotiroidi oluşturulacak dişi rat seçildi. Kontrol grubu ve tirotoksikoz grubunda her iki dişi rat da gebelik oluştu. Hipotiroidi grubunda bir dişi rat da gebelik oluşmadı. Hipotiroidi grubu için bir dişi rat daha seçildi ve bunda gebelik oluştu. Ratların gebelikleri normal seyretti. Kontrol grubunda toplam 19 adet yavru elde edildi. Tirotoksikoz grubunda 18, hipotiroidi grubunda ise 16 yavru rat elde edildi.

Hipotiroidi grubunda yavru ratların diğerlerine kıyasla daha hareketsiz, çiltleri buruşuk, biraz daha tombul bir görüntüleri vardı. Anneleri tarafından diğer yavrulardan ayrılan ve genel durumu kötü olan 5 yavru rat dekapite edildi. Büyümeye bırakılan yavrulardan tirotoksikoz ve hipotiroidi grupdan birer yavru rat öldü.

Deneyssel uygulama için; çalışmaya annesi deneyssel olarak hipotiroidi (n:5), tirotoksikoz (n:5) oluşturulmuş yavru ratlar ile annesi normal olan 5 yavru rat alındı.

Çalışmaya alınan ratların tiroid hormon düzeylerine bakıldığında; hipotiroidi grubunda total ve serbest değerler kontrol ve tirotoksikoz grubuna göre daha düşüktü. Ancak sadece sT3 düzeyleri anlamlı idi ($p<0.05$). Tirotoksikoz grubunda tiroid hormon değerleri kontrol ve hipotiroidi grubuna göre daha yüksekti. Ancak sadece sT3 düzeyi hipotiroidi grubuna göre anlamlı idi ($p<0.05$). Kontrol grubuna göre anlam yoktu ($p>0.05$) (Tablo.6.1)

Tablo.6.1: Çalışma gruplarının tiroid hormon düzeyleri.

	Kontrol grubu	Hipotiroidi grubu	Tirotoksikoz grubu
TT3 (84-201) ng/dl	112.78±15.41	103.35±7.16	123.08±17.21
TT4 (5.1-13.5) ug/dl	8.71±1.65	7.63±1.15	9.07±1.76
ST3 (1.8-4.6) pg/ml	3.98±0.42	3.20±0.19*	3.91±0.76
ST4 (0.93-1.71) ng/dl	3.71±0.77	3.66±0.57	4.05±0.88

* $p<0.05$, hipotiroidi grubunda, tirotoksikoz ve kontrol grubuna göre.

Hipotiroidi grubunun vücut ağırlığı, kontrol ve tirotoksikoz grubuna göre daha fazla idi. Deney gruplarının ortalama vücut, total beyin ağırlıkları ve ortalama beyin hacimleri Tablo.6.2’de görülmektedir.

Tablo.6.2. Deney gruplarının ortalama vücut, total beyin ağırlıkları ve ortalama beyin hacimleri.

GRUPLAR	Vücut Ağırlığı (g)	Total Beyin Ağırlığı (g)	Beyin Hacmi (cc)
Kontrol	151.6	1.729	1,8
Tirotoksikoz	152	1.745	1,6
Hipotiroidi	194.8	1.710	1.7

Morris Water Maze öğrenme testinin sonuçları

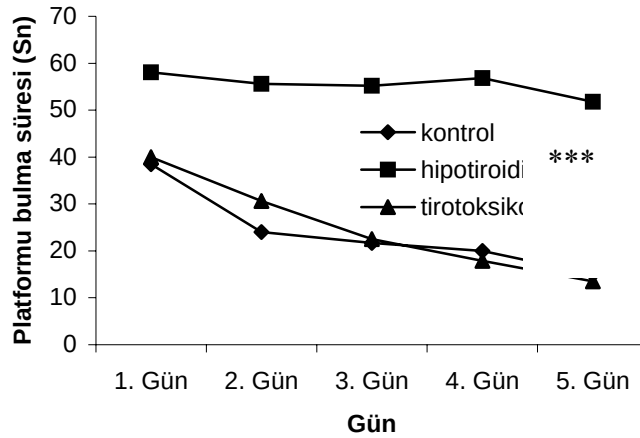
Kontrol grubunda ve tirotoksikoz grubunda öğrenme yeteneğinin 1. günden 5. güne doğru giderek arttığı gözlemlendi. (Kontrol Gün: $F=6.29$; $P=0.002$, Hipertiroidi, Gün: $F=5.726$; $P=0.003$). Hipotiroidi grubunda ise öğrenme yeteneğinde 1. günden 5. güne doğru bir artış olmadığı gözlemlendi. Beşinci günde ortalama platform bulma sürelerine bakıldığında kontrol grubunda ve tirotoksikoz grubunda, hipotiroidi grubuna göre oldukça düşük olduğu gözlemlendi (sürenin kısa olması öğrenmenin daha iyi olduğu anlamına gelmektedir, $p<0.001$).

Kontrol grubunda ve tirotoksikoz grubunda tüm deney hayvanları ilk günden itibaren platformu buldular. Hipotiroidi grubunda 1. ve 2. gün sadece bir deney hayvanı platformu buldu. 3. ve 4. günde 2 denek platformu buldu. 5. gün ise 3 denek platformu buldu. Zaman olarak değerlendirildiğinde günden güne yeterli öğrenmenin olmadığı gözlemlendi. Tablo.6.3 ve grafik.6.1’de deney gruplarının günlük ortalama platform bulma zamanları görülmektedir.

Tablo.6.3. Water Maze Testi: her üç grubun günlerdeki ortalama platform bulma süreleri (ortalama saniye olarak).

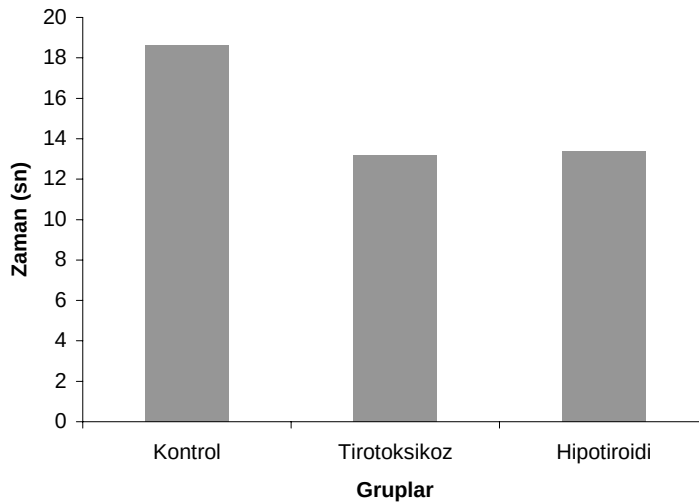
	1. Gün	2. Gün	3. Gün	4. Gün	5.Gün
Kontrol	38.5±7.6	24.2±4.8	21.7±3.8	20.0±3.9	15.1±3.0*
Tirotoksikoz	40.0±7.8	30.65±6.1	22.5±4.3	17.9±3.1	13.5±3.6*
Hipotiroidi	58.05±12	55.6±11.1	55.2±11	56.85±12	51.85±10

*5. günde ortalama platform bulma süreleri, kontrol ve tirotoksikoz grubunda hipotiroidi grubuna göre daha kısa idi, $p<0.001$.



Grafik.6.1: Water Maze Testi: Her üç grubun günlerdeki ortalama platformu bulma süreleri (ortalama saniye olarak Kontrol, Gün: $F=6.29$; $P=0.002$, Hipertiroidi, Gün: $F=5.726$; $P=0.003$).
 *** 5. günde ortalama platformu bulma süreleri, kontrol ve tirotoksikoz grubunda hipotiroidi grubuna göre daha kısa idi, $p<0.001$.

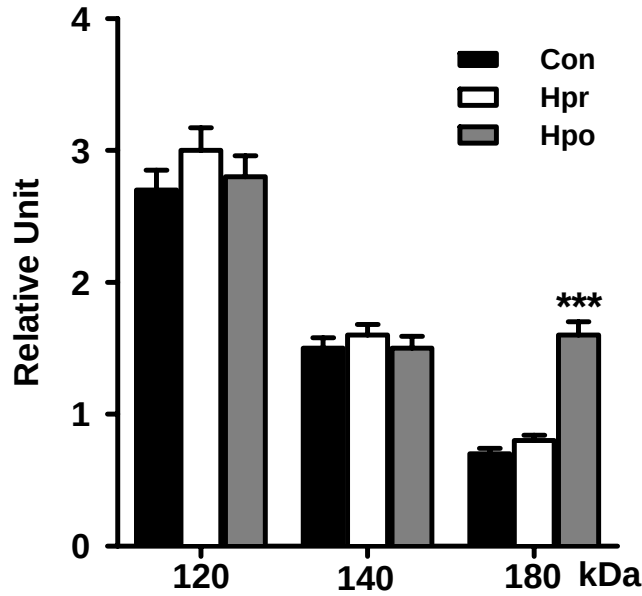
Probe test belleğin pekiştirilmesini test eden bir deneydir. Daha önce platformun bulunduğu alanda deneğin geçirdiği süre ölçülmektedir. Öğrenmenin pekiştirilmesini ölçen probe testi sonuçlarına göre hem hipotiroidi hem de tirotoksikoz grupta platformu arama süreleri kontrol grubundan daha azdı (kontrol grubu ortalama:18.6 sn, tirotoksikoz grubu ortalama:13.2 sn, hipotiroidi grubu ortalama:13.4 sn) (Grafik.6.2).



Grafik.6.2. Deneklerin probe testte platformun olduğu kısımda kaldıkları süre.

Hipokampusda NCAM düzeyleri

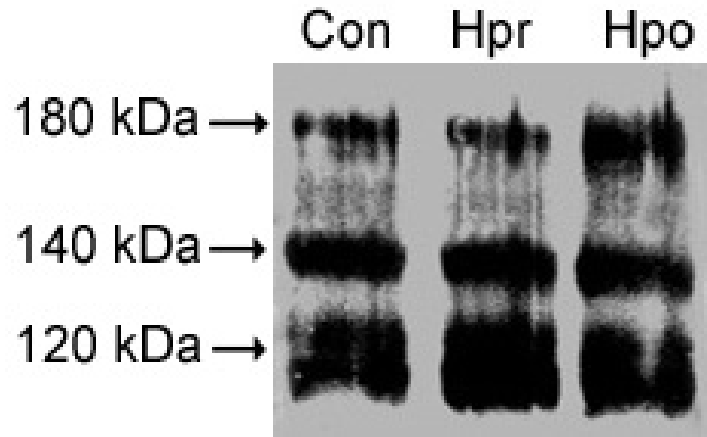
NCAM izoformlarının rölatif yoğunlukları (NCAM120, NCAM140, NCAM180), kontrol ve tirotoksikoz grubunda benzer oranda tespit edildi. NCAM120, NCAM140 düzeyleri hipotiroidi grubunda kontrol ve tirotoksikoz grubu ile benzer bir oranda tespit edilirken, NCAM180 hipotiroidi grubunda kontrol ve tirotoksikoz grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksekti ($p<0.01$) (Grafik.6.3, ve  ekil.6.1)



Grafik.6.3. Hipokampusda NCAM moleküllerinin alt izoformlarının rölatif yoğunlukları.

*** $p<0.01$ Kontrol grubu ile hipotiroidi grubu kıyaslandığında.

Con: kontrol grubu, **Hpr:** tirotoksikoz grubu, **Hpo:** hipotiroidi grubu.



Şekil.6.1. Western blot yöntemi ile beyin dokusunda NCAM molekülünün alt izoformlarının ölçümü.

Con: kontrol grubu, **Hpr:** tirotoksikoz grubu, **Hpo:** hipotiroidi grubu.

7. TARTIŞMA

Üreme çağındaki kadınlarda tiroid bezi hastalıkları sık görülmektedir. Gebelik sırasında oluşan hormonal ve metabolik değişiklikler tiroid bezi hastalıklarının gidişini etkileyebilmektedir. Bunun tersi olarak da gebelik sırasında mevcut olan hipertiroidi veya hipotiroidi gebeliğin seyrini, fetusu ve yeni doğanı olumsuz yönde etkileyebilmektedir (27).

Gebelikte hipertiroidi hipotiroidiye nazaran daha az oranda görülmektedir. Uygun tedavi edilmeyen hipertiroidi hem anne hem de fetus için risk oluşturmaktadır (34-36). Anne ile ilgili komplikasyonlar; düşük, plasenta ayrılması ve erken doğumdur. Annede kalp yetmezliği, pre-eklampsisi ve tiroid krizi gelişme riski artmıştır (19,37-39). Uygun tedavi edilmemiş olgularda, fetus ve yeni doğanda da komplikasyonlar gelişebilmektedir. Bunlar; prematürel, düşük doğum ağırlığı (40), yeni doğanın santral hipotiroidisi (41,42) ve yeni doğan hipertiroidisi (43).

Momotani ve Ito (44) spontan düşük (% 25.7) ve erken doğum (%14.9) sıklığını konsepsiyonda hipertiroidisi olan annelerde, tiroid olanlara göre daha yüksek olduğunu (% 12.8 ve % 9.5) rapor ettiler. Gebeliğinin üçüncü trimesterinde hipertiroidisi olan kadınlarda düşük doğum ağırlıklı bebek doğurma riski diğer faktörlerden bağımsız olarak 4.1 kat daha yüksek olduğu bildirilmiştir (38). Millar ve ark. (19) kontrolsüz hipertiroidili annelerde düşük doğum ağırlıklı bebek doğurma riskinin, kontrollü hipertiroidilere göre daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca aynı çalışmada şiddetli preeklampsisi riski kontrolsüz hipertiroidi de belirgin olarak daha yüksekti. Gebeliğin özellikle üçüncü trimesterinde hipertiroidinin gelişmesi yeni doğan ağırlığını etkilemektedir. Çünkü bebek kilolarının büyük kısmını üçüncü trimesterde almaktadır (190). İki yüz kırk dokuz hipertiroidili gebe kadını içeren bir çalışmada fetus ölümü, ölü doğum insidansı %5.6, fetus ve yeni doğan anormallikleri % 5 olarak bildirilmektedir (27). Casey ve ark. (191) yaklaşık 25765 gebede kadının tarandığı çalışmalarında 433 gebede (% 1.7) subklinik hipertiroidi tespit etmişler. Vakaların takibinde, hem anne hem de yeni doğanda diğer sağlıklı gebelerden farklı herhangi bir riskin olmadığı gözlemlendi. Çalışmamızda hipertiroidi oluşturulmak üzere seçilen iki anne denekte gebelik meydana geldi. Bu ratların gebelikleri

normal seyretti. Ancak kontrol grubuna göre daha az sayıda yavru elde edildi. Yavrulardan sadece bir tanesi doğumdan sonraki ilk hafta içerisinde bilmediğimiz bir nedenden dolayı öldü. Annede mevcut bir hipertiroidinin bebekte öğrenmeyi ne şekilde etkilediğine dair yeterli literatür bilgisine sahip değiliz. Çalışmamızda annesi tirotoksikoz olan ratların yavrularında öğrenmenin kontrol grubu ile benzer oranda olduğunu tespit ettik.

Hipotiroidili kadınlarda anovulasyon sık görülen bir durumdur. Bu yüzden hipotiroidili hastanın gebe kalma şansı daha azdır. Gebe kalan kadınlarda ise çok ciddi fetal psiko-nörolojik komplikasyonlar görülebilir. Çalışma grubumuzda hipotiroidi oluşturulan anne ratın birinde gebeliğin oluşmadığı görüldü. Başka bir dişi rat seçilip hipotiroidi oluşturuldu ve bunda gebelik meydana geldi. Anne ratların gebeliklerinin normal seyrettiği gözlemlendi. Ancak hipotiroidi grubunda kontrol ve hipertiroidi grubuna göre daha az sayıda yavru elde edildi. Yavruların genel durumu hipotiroidi grubunda diğerlerine nazaran daha kötü olduğu gözlemlendi.

Annedeki tiroid hormonlarının plasentadan geçerek fetüsün dolaşımına girdiği açıkça ortaya konulmuştur. Vulsma ve ark. (192) doğumda tiroid hormonu eksikliği olan fetüslerde dolaşımdaki tiroid hormonu konsantrasyonlarının, normal bebeklerdekinin yaklaşık % 25-50'si kadar olduğunu bildirmiştir. Bu konsantrasyonlar, doğumda konjenital hipotiroidizmin fenotipik ekspresyonunu önlemek ve fetüsün beyin gelişimini bir ölçüde korumak için yeterli görülmektedir (193). Tiroid disfonksiyonu olan gebe kadınlarda azalmış serbest T4 düzeyleri fetusün nörolojik gelişimi için çok önemli rol oynamaktadır. Özellikle de fetusun tiroid hormonu yapamadığı gebeliğin 16-20. haftasından önce bu eksikliğin olması ciddi nörolojik gelişim yetersizliği ile ilişkilidir. Benzer şekilde hayvan ve insan çalışmalarında yetersiz maternal tiroid fonksiyonunun fetal mental ve motor gelişim yetersizliği ile birlikte olduğunu göstermiştir. (194,196). Hollanda'da, gebeliğinin 12. haftasında serum serbest tiroksin (T4) konsantrasyonları düşük bulunan 220 annenin bebeklerinin incelendiği bir çalışmada, 10 aylıkken Bayley'in bebek gelişimi ölçeklerindeki psikomotor gelişim endeksinde yüzde 10'luk düzeyde ya da yüzde 10'luk düzeyin altında puan aldığı görüldü (78).

Bir başka çalışmada, gebelik sırasında serum TSH konsantrasyonları %98'in üzerinde olan 62 kadının çocukları, 124 eşleştirilmiş kontrole karşılaştırılmıştır. Anneleri hipotiroidli olan çocuklar, kontrollere kıyasla, 15 nöropsikolojik testin hepsinde daha kötü performans göstermişler ve çocuklar için olan Wechsler zekâ ölçeğinde, ortalama zekâ katsayısı puanları 4 puan daha düşük bulunmuştur (53). Bu çalışmada biyokimyasal hipotiroidili 62 kadından 48'i, gebelikte klinik olarak normal tiroid düzeylerine sahip oldukları için tedavi görmemişlerdir; bu alt gruptaki kadınların çocukları daha da kötü bir performans göstermişlerdir ve zekâ katsayıları, kontrollerden ortalama 7 puan daha düşük çıkmıştır. Bu çocukların % 19'u 85 ya da altında puan almıştır. İlginçtir, tedavi edilmiş ve tanı almamış tedavi edilmemiş kadınların, gebelik sırasındaki serum toplam T4 ve serbest T4 konsantrasyonları benzerdir. Bu çalışma, kadınlardaki subklinik hipotiroidizmin bebeklerinde nöropsikolojik kusurlarla sonuçlanabileceğini ve tiroksin takviyesinin, takviye yetersiz olduğunda bile, sonucu iyileştirebileceğini ortaya koymaktadır (53).

Gebe kadınlarda subklinik hipotiroidi sıklığının % 2-5 arasında olduğu tahmin edilmektedir (47,197). Orta derecede anne tiroid hormonu eksikliğinin embriyofetal beyin gelişimi üzerine zararlı etkilerinin olacağı bilinmektedir. Pop ve ark. (78) gebeliğin 12. haftasından önce anne sT4 düzeylerinin 10. persentilin altında olmasının çocuklarda Bayleyin psikomotor gelişim indeksinde (Bayley Psychomotor Developmental Index :BDI) anne sT4 düzeyleri normal olanlara göre belirgin bir düşüklük olduğunu gösterdiler. Casey ve ark. (198) 17298 gebe de yaptıkları taramada 404 gebe de subklinik hipotiroidi olduğunu tespit ettiler. Bu çalışmada erken doğum riskini normal gebelerden iki kat daha fazla olduğu (gebeliğin 34. haftasından önce doğum), erken plasenta ayrılması riskinin 3 kat daha fazla olduğu rapor edilmiştir.

Kanada'da yapılan başka çalışmada, annede subklinik otoimmün hipotiroidizmin, büyük olasılıkla annenin anti-tiroid antikorlarının plasentadan geçmesinin fetüs tiroid bezini bozması yoluyla, geçici konjenital hipotiroidizm görülme sıklığında yükselmeye ilişkin olabileceği öne sürülmüştür (199). Ratlarda ise, annede hipotiroidizmi bulunmasının yavrularda uzun vadede

biyokimyasal ve davranışsal işlev bozukluğuyla sonuçlandığı kesin olarak gösterilmiştir (199).

Hipotiroidizmli ratlarda serebral kortekste nöropil ve serebellar Purkinje hücrelerinin gelişiminde gecikme görülür. Nöron cisimleri daha küçük ve daha sıkıştır, dendrit dikenlerin dağılımı değişir, hücre çoğalması ve göçü gecikir (200). Serebral korteks, görsel ve işitsel korteks, hipokampus ve serebellumda, yani sinir gelişiminde gözlemlenen gecikmeyle ilgili bölgelerde, miyelinasyon eksikliği görülmüştür (201,202). Bu hücrelerin içindeki mikrotübüllerin sayısında belirgin bir azalma ve olgunlaşmasında gecikmeyle birlikte bu bulgular, tiroidin normal olduğu duruma kıyasla, merkezi sinir sisteminde daha belirgin patolojik değişikliklere işaret etmektedir (203). Ratlardaki tüm bu etkiler, tiroid takviyesiyle geri döndürülebilir, ancak bunun için tiroid takviyesine rahim dışındaki hayatın ikinci haftasının bitiminden önce başlanması gerekir. Tiroid replasmanında ne kadar gecikilirse, düzelme şansı o kadar azalır (203). Ratlardaki beyin gelişiminde doğum sonrası olgunlaşma, insan beyninde rahim içi yaşamın sonunda ortaya çıkan değişikliklere karşılık gelir. Propiltiourasil (PTU), tiroid hormonunun beyin gelişimindeki rolünü belirlemek üzere tasarlanmış çalışmalarda yaygın olarak kullanılmıştır (204). Gelişimsel PTU maruziyeti, hormon sentezini bloke ederek tiroid hormonunu tüketir ve büyümede gecikmeye, nörolojik defektlere ve çeşitli davranışsal öğrenme işlerinde performans bozukluklarına yol açmaktadır. Yavru rat üzerine PTU'nin etkisinin kontrol grubundan daha fazla olmadığı kabul edilmektedir (16,205).

Hipokampusun önemli görevlerinden birisi, primer belleğin (kısa süreli bellek) sekonder belleğe (uzun süreli, sabit bellek) çevrilmesine neden olan yapılanmayı sağlamadır. Bazı bilgileri kalıcı deponun yer aldığı uzun süreli belleğin depo alanlarına taşır. Mekanizması tam olarak bilinmese de hipokampus olmadan uzun süreli belleğin pekiştirilmesi mümkün olmamaktadır. Ayrıca sağ hipokampus görsel, sol hipokampus ise sözel hafıza ile ilgili fonksiyonlarda daha fazla aktivite göstermekte ve bu bölgelerin lezyonlarında da ilgili hafızalarda kayıp gelişmektedir (179,206). Çalışma grubumuzda annesi hipotiroidi olan ratların öğrenmelerinin kontrol ve tirotoksikoz grubuna göre çok daha geri seviyede olduğunu tespit ettik.

Öğrenme ve hafızanın oluşumunda temel mekanizma olan sinaptik plastisite oluşumunda NCAM moleküllerinin aracılık ettiği bilinmektedir (157). NCAM santral sinir siteminde gelişim ve plastisite oluşumu sırasında hücre-hücre etkileşiminde çok önemli bir rol almaktadır. Tiroid hormonu NCAM üzerine inhibitör etki oluşturmaktadır. Bu etkinin nasıl olduğu tam olarak bilinmemekle birlikte hipotiroidinin derecesi ile ilgili olduğu söylenebilir. Tiroid hormonunun eksikliğinde NCAM ekspresyonu artmaktadır ve tiroid hormonu replasmanı bu olayı düzeltebilir. Anormal yükselmiş NCAM sevipleri oligodentrisitlerde myelin kılıfı oluşumunda bir yetersizliğe sebep olabilmektedir. Belki de myelin proteinlerinin ekspresyonuna negatif yönde etki etmektedir (6).

NCAM molekülleri beyin gelişimi sırasında merkezi sinir sisteminin yapısal organizasyonlarına katkıda bulunduğu gibi, beyinde tahrip olmuş sinaptik modifikasyonların düzeltilmesine de yardımcı olmaktadır. NCAM'ın uzun dönem hafızanın oluşmasında önemli bir rolü olduğu bilinmektedir. NCAM antikorlarının intraventriküler enjeksiyonu ratlarda, enjeksiyondan 6-8 saat sonra öğrenme ve uzun dönem hafızaya zarar verdiği, pasif sakınma cevabı testi ile gösterilmiştir (131). NCAM'dan yoksun bırakılmış knock-out farelerde uzaysal öğrenme ve bulma yeteneğinin bozulduğu, Morris water maze testinde geri kalma olduğu tespit edilmiştir (155). Tüm bu bulgular bize NCAM'ın beyin gelişimi ve sinaptik plastisite de önemli bir yere sahip olduğunu göstermektedir. Alveroz-Dolado ve ark (6) Hipotiroidinin hücre adezyon moleküllerinin anormal ekspresyonuna neden olduğunu gösterdiler. Bu durumun myelinasyonun belki de hücre migrasyonunun bozulması yada gecikmesine sebep olabileceğini bildirdiler. Bizim çalışma grubumuzda NCAM izoformlarının rölatif yoğunlukları (NCAM120, NCAM140, NCAM180), kontrol ve tirotoksikoz grubunda benzer oranda tespit edildi. Ancak NCAM180 hipotiroidi grubunda kontrol ve tirotoksikoz grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksekti.

Tiroid fonksiyonu ile nörodevelopmentel bozukluklar arasındaki ilişki yıllardan beri bilinmektedir. Çalışma grubumuzda da öğrenme yetersizliği ve hafıza performansındaki yetersizlik daha önceden belirtilen raporlarla genel anlamda uyumlu idi (53-55,207,208). Maternal hipotiroidizm öğrenme yeteneğini ve hafızada tutmayı genç bireylerde anlamlı derecede düşürdüğünü gözledik.

Fakat tirotoksikoz oluşturulan annelerin yavru ratlarında kontrol grubuna göre önemli bir farklılık gözlenmedi. Ancak probe test sonucu annesi hipotiroidi ve tirotoksikoz olan ratların birbirlerine benzer şekilde idi ve kontrol grubuna göre daha az süreyi içermekte idi. Bu bulgu annesi tirotoksikoz olan yavruların öğrenmeyi pekiştirmelerinin daha geri olabileceği şeklinde yorumlanabilir.

Bir bütün olarak düşünöldüğünde çalışmamızın sonuçları maternal TH yetersizliği SSS'nin maturasyonunu önlediği, öğrenme ve hafıza yetersizliğine neden olduğunu göstermektedir. Bu çalışma NCAM'ın izoformlarının ekspresyonunun değiştiğini ortaya koymaktadır. Annesi hipotiroidi olan yavrularda hipokampus NCAM 180 seviyesinin maternal hipotiroidizmde anlamlı derecede yükselmiş olduğu gözlendi. Annesi hipotiroidi olan yavru ratların beyin gelişiminde ciddi gerilik olduğu, öğrenme ve hafızayı pekiştirme fonksiyonlarının kontrol grubundan daha geri olduğu görölmektedir. Annesi tirotoksikoz olan ratların öğrenmelerinin kontrol grubuna göre fazla değişmediğini ancak öğrenmeyi pekiştirmenin kontrol grubundan geri olduğu gözledik.

Sonuç olarak annede mevcut olacak bir tiroid disfonksiyonunun yavruyu ciddi bir şekilde etkileyeceği açıktır. Bu yüzden gebeliği kesinleşen ya da gebelik düşönen annelerin tiroid disfonksiyonu yönünden değerlendirilmesi ve gerekli tedavinin yapılmasının yavruların sağlığı açısından önemli olduğu görölmektedir.

8. KAYNAKLAR

1. Dussault JH, and Ruel J. Thyroid hormones and brain development. *Annu Rev Physiol* 1987 ;49:321–334.
2. Porterfield S, and Hendrich C. The role of thyroid hormones in prenatal and neonatal neurological development. Current perspectives. *Endocr Rev* 1993;14: 94–106.
3. Oppenheimer J, and Schwartz H. Molecular basis of thyroid hormone-dependent brain development. *Endocr Rev*,1997;18:462–475.
4. Chan S, Kilby MD. Thyroid hormone and central nervous system development. *J Endocrinol*. 2000;165:1-8.
5. DeLong G. The effect of iodine deficiency on neuromuscular development. *IDD Newsl*. 1990;6:1–9.
6. Alvarez-Dolado M, Cuadrado A, Navarro-Yubero C, Sonderegger P, Furley AJ, Bernal J, Munoz A. Regulation of the L1 cell adhesion molecule by thyroid hormone in the developing. *Mol Cell Neurosci*. 2000;16:499-514.
7. Legrand J. Effects of thyroid hormones on central nervous system. In *Neurobehavioural Teratology* (J. Yanai, Ed.), Elsevier, Amsterdam. 1984:331–363.
8. Bernal J, and Guadano A. Thyroid hormone and the development of the brain. *Curr Opin Endocrinol* 1998;5:296–302.
9. Iglesias T, Caubin J, Stunnenberg H, Zaballos A, Bernal J and Munoz A. Thyroid hormone-dependent transcriptional repression of neural cell adhesion molecule during brain maturation. *EMBO J*. 1996;15:4307–4316.
10. Alvarez-Dolado M, Gonzalez-Sancho J, Bernal J, and Munoz A. Developmental expression of tenascin-C is altered by hypothyroidism in the rat brain. *Neuroscience* 1998;84:309–322.
11. Alvarez-Dolado M, Ruiz M, Del Rio JA, Alcantara S, Burgaya F, Sheldon M. et al. Thyroid hormone regulates reelin and dab1 expression during brain development. *J Neurosci* 1999;19:6979–6993.
12. Bastmeyer M, Schlosshauer B and Stuermer CA. The spatiotemporal distribution of N-CAM in the retinotectal pathway of adult goldfish detected by the monoclonal antibody D3. *Development* 1990;108:299–311.
13. Bernhardt RR, Tongiorgi E, Anzini P and Schachner M. Increased expression of specific recognition molecules by retinal ganglion cells and by optic pathway

- glia accompanies the successful regeneration of retinal axons in adult zebrafish. *Journal of Comparative Neurology* 1996;376:253–264.
14. Le Gall La Salle G, Rougon G and Valin A. The embryonic form of neural cell surface molecule (E-NCAM) in the rat hippocampus and its reexpression on glial cells following kainic acid-induced status epilepticus. *J of Neuroscience* 1992; 12:872–882.
 15. Gould E, Woolley CS, McEwen BS. The hippocampal formation: Morphological changes induced by thyroid, gonadal and adrenal hormones. *Psychoneuroendocrinology* 1991;16:67– 84.
 16. Madeira MD, Sousa N, Lima-Andrade MT, Calheiros F, Cadete-Leite, A.; Paula-Barbosa, M. M. Selective vulnerability of the hippocampal pyramidal neurons to hypothyroidism in male and female rats. *J Comp Neurol* 1992;322:501–518.
 17. Burrow G. Thyroid function and hyperfunction during gestation. *Endoc Rev* 1993;14:194–202.
 18. Glinoer D. The regulation of thyroid function in pregnancy: pathways of endocrine adaptation from physiology to pathology. *Endoc Rev* 1997;18:404–433.
 19. Millar LK, Wing DA, Leung AS, Koonings PP, Montoro MN, Mestman JH. Low birth weight and preeclampsia in pregnancies complicated by hyperthyroidism. *Obstetrics and Gynecology* 1994;84:946–949.
 20. Spencer GSG and Robinson GM. Stimulation of placental, fetal and neonatal growth by thyroxine administration to pregnant rats. *J of Endocrin* 1993;139 275–279.
 21. Costa A, Arisio R, Benedetto C, Bertino E, Fabris C, Giraudi G et al: Thyroid hormones in tissues from human embryos and fetuses. *J Endocrinol Invest* 1991;14:559-568.
 22. Thorpe-Beeston JG, Nicolaides KH, Felton CV, Butler J, McGregor AM. Maturation of the secretion of thyroid hormone and thyroid-stimulating hormone in the fetus. *N Eng J Med* 1991;324:532-536.
 23. Thorpe-Beeston JG, Nicolaides KH, McGregor AM: Fetal thyroid function. *Thyroid* 1992;2:207-217.
 24. Roti E, Gnudi A, Braverman LE. The placental transport, synthesis and metabolism of hormones and drugs which affect thyroid function. *Endocr Rev* 1983;4:131-49.

25. Koloğlu S, Erdoğan G. Genel Görüş ve bilgiler. Gürbüz Erdoğan (Editör). Endokrinoloji (Temel ve Klinik), 2. baskı, Ankara, MN Medikal & Nobel, 2005.
26. Maurice F. Scanlon. Thyrotropin-Releasing Hormone and Thyroid-Stimulating Hormone. Leslie J. DeGroot, J. Larry Jameson (Editors). Endocrinology. 4. baskı. Philadelphia, W.B Saunders Company, 2001.
27. Nuri Çakır. Gebelik ve tiroid hastalıkları. Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism. 2003;7:53-57.
28. Mestman J. Hyperthyroidism in Pregnancy. Clinical Obstetrics & Gynecology. 1997;40:45-64.
29. Momotani N, Noh J, Ishikawa N, Ito K. Relationship between silent thyroiditis and recurrent Graves' disease in the postpartum period. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1994;79:285–289.
30. Glioner D. Management of hypo- and hyperthyroidism during pregnancy. Growth Horm IGF Res. 2003;13 Suppl A:45-54.
31. Goodwin TM & Hershman JM. Hyperthyroidism due to inappropriate production of human chorionic gonadotropin. Clinical Obstetrics and Gynecology 1997;40: 32–44.
32. Caffrey T. Transient hyperthyroidism of hyperemesis gravidarum: a sheep in wolf's clothing. J Am Board Fam Pract. 2000;13:35-38.
33. Kung AWC, Ma JTC, Wang C & Young RTT. Hyperthyroidism during pregnancy due to coexistence of struma ovarii and Graves' disease. Postgraduate Medical Journal 1990;66:132–133.
34. Davis LE, Lucas MJ, Hankins GD, Roark ML, Cunningham FG. Thyrotoxicosis complicating pregnancy. American Journal of Obstetrics and Gynecology, 1989;160:63-70.
35. Hamberger JJ. Diagnosis and management of Graves' disease in pregnancy. Thyroid, 1992;2:219-224.
36. Mestman JH. Hyperthyroidism in pregnancy. Endocrinology and Metabolism Clinics of North America, 1998;27:127-149.
37. Davis LE, Lucas MJ, Hankins GD, Roark ML, Cunningham FG. Thyrotoxicosis complicating pregnancy. American Journal of Obstetrics and Gynecology 1988; 160:63–70.
38. Phoojaroenchanachai M, Sriussadaporn S, Peerapatdit T, Vannasaeng S, Nitiyanant W, Boonnamsiri V, Vichayanrat A. Effect of maternal

- hyperthyroidism during late pregnancy on the risk of neonatal low birth weight. *Clinical Endocrinology* 2001;54:365–370.
39. Easterling TR, Schmucker BC, Carlson KL, Millard SP, Benedetti TJ. Maternal hemodynamics in pregnancies complicated by hyperthyroidism. *Obstetrics and Gynecology* 1991;78:348–352.
 40. Mestman JH, Goodwin TM, Montoro MM. Thyroid disorders in pregnancy. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1995;24:41-71.
 41. Mandel SH, Hanna, LaFranci SH. Neonatal hypopituitary hypothyroidism associated with maternal thyrotoxicosis. *Journal of Pediatric Endocrinology* 1989;3:189–192.
 42. Kempers MJ, van Tijn DA, van Trotsenburg AS, de Vijlder JJ, Wiedijk BM, Vulsma T. Central congenital hypothyroidism due to gestational hyperthyroidism: detection where prevention failed. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003; 88:5851–5857.
 43. Heckel S, Favre R, Schlienger JL, Soskin P. Diagnosis and successful in utero treatment of a fetal goitrous hyperthyroidism caused by maternal Graves' disease. *Fetal Diagnosis and Therapy* 1997;12:54-58.
 44. Momotani N, Ito K. Treatment of pregnant patients with Basedow's disease. *Exp Clin Endocrinol.* 1991;97:268-274.
 45. Fukushima M, Honma K, Fujita K. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. *N Engl J Med.* 1999;341:2016.
 46. Glinoer D, de Nayer P, Bourdoux P, Lemone M, Robyn C, van Steiteghem A, Kinthaert J, Lejeune B. Regulation of maternal thyroid during pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;71:276-87.
 47. Klein RZ, Haddow JE, Faix JD, Brown RS, Hermos RJ, Pulkkinen A, Mitchell ML. Prevalence of thyroid deficiency in pregnant women. *Clin Endocrinol* 1991;35:41-46.
 48. Utiger RD. Maternal hypothyroidism and fetal development. *N Engl J Med.* 1999 Aug 19;341:601-602.
 49. Montoro MN. Management of hypothyroidism during pregnancy. *Clin Obstet Gynecol.* 1997;40:65-80.
 50. Davis LE, Leveno KJ, Cunningham FG. Hypothyroidism complicating pregnancy. *Obstet Gynecol.* 1988;72:108-112.

51. Smallridge RC, Ladenson PW. Hypothyroidism in pregnancy: consequences to neonatal health. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:2349-2353.
52. Wasserstrum N, Anania CA. Perinatal consequences of maternal hypothyroidism in early pregnancy and inadequate replacement. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1995;42:353-358.
53. Haddow JE, Palomaki GE, Allan WC, Williams JR, Knight GJ, Gagnon J et al. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. *N Engl J Med*. 1999;341:549-555.
54. Klein RZ, Mitchell ML. Maternal hypothyroidism and child development. *Horm Res* 1999;52:55-59.
55. Pop VJ, Brouwers EP, Vader HL, Vulsma T, van Baar AL, de Vijlder JJ. Maternal hypothyroxinaemia during early pregnancy and subsequent child development: a 3 year follow-up study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2003;59:282-288.
56. Lazzaro F, Price M, De Felice M, Di Lauro R. The transcription factor TTF-1 is expressed at the onset of thyroid and lung morphogenesis and in restricted regions of the foetal brain. *Development* 1991;113:1093.
57. Plachov D, Chowdhury K, Walther C, Simon D, Guenet JL, Gruss P. Pax8, a murine paired box gene expressed in the developing excretory system and thyroid gland. *Development*. 1990;110:643-561.
58. Kimura S. Thyroid-specific enhancer-binding protein. Role in thyroid function and organogenesis. *Trends Endocrinol Metab* 1996;7:247-252.
59. Rodriguez M, Santisteban P, Acebron A, Hernandez LC, Del Valle M, Jolin T. Expression of thyroglobulin gene in maternal and fetal thyroid in rats. *Endocrinology* 1992;131:415-422.
60. Anderson GW, Schoonover CM, Jones SA. Control of thyroid hormone action in the developing rat brain. *Thyroid*. 2003;13:1039-1056.
61. Hebert R, Langlois JM, Dussault JH. Permanent defects in rat peripheral auditory function following perinatal hypothyroidism: determination of a critical period. *Brain Res*. 1985;355:161-170.
62. Lavado-Autric R, Auso E, Garcia-Velasco JV, Arufe Mdel C, Escobar del Rey F, Berbel P, Morreale de Escobar G. Early maternal hypothyroxinemia alters histogenesis and cerebral cortex cytoarchitecture of the progeny. *J Clin Invest* 2003;111:1073-1082.
63. Delange F. Neonatal screening for congenital hypothyroidism: results and perspectives. *Horm Res* 1997;48:51.

64. Van Vliet G. Neonatal hypothyroidism: treatment and outcome. *Thyroid* 1999;9:79-84.
65. Bongers-Schokking JJ, Koot HM, Wiersma D, Verkerk PH, de Muinck Keizer-Schrama SM. Influence of timing and dose of thyroid hormone replacement on development in infants with congenital hypothyroidism. *J Pediatr*. 2000;136:292-297.
66. Salerno M, Militeri R, Bravaccio C, Micillo M, Capalbo D, Di MS, Tenore A. Effect of different starting doses of levothyroxine on growth and intellectual outcome at four years of age in congenital hypothyroidism. *Thyroid* 2002;12:45-52.
67. Morreale de Escobar G, Obregon MJ, Escobar del Rey F. Clinical Perspective: Is neuropsychological development related to maternal hypothyroidism or to maternal hypothyroxinemia? *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85:3975-3987.
68. Calvo RM, Jauniaux E, Gulbis B, Asuncion M, Gervy C, Contempré B, Morreale de Escobar G. Fetal tissues are exposed to biologically relevant free thyroxine concentrations during early phases of development. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:1768-1777.
69. Halpern JP, Boyages SC, Maberly GF. The neurology of endemic cretinism. A study of two endemias. *Brain* 1991;114:825-841.
70. Boyages SC, Halpern JP: Endemic cretinism: toward a unifying hypothesis. *Thyroid* 1993;3:59-69
71. Pharoah POD, Connolly KJ, Ekins RP, Harding AG. Maternal thyroid hormone levels in pregnancy and the subsequent cognitive and motor performance of the children. *Clin Endocrinol* 1984;21:265-270.
72. Glorieux J, Dussault J, Van Vliet G. Intellectual development at age 12 years of children with congenital hypothyroidism diagnosed by neonatal screening. *J Pediatr*. 1992;121:581-584.
73. Rovet J, Walker W, Bliss B, Buchanan L, Ehrlich R. Long-term sequelae of hearing impairment in congenital hypothyroidism. *J Pediatr* 1996;128:776-783.
74. Bellman SC, Davies A, Fuggle PW, Grant DB, Smith I. Mild impairment of neurootological function in early treated congenital hypothyroidism. *Arch Dis Child*. 1996;74:215-8.
75. De Zegher F, Pernasetti F, Vanhole C, Devlieger H, Van den Berghe G, Martial JA. The prenatal role of thyroid hormone evidenced by fetomaternal Pit-1 deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995;80:3127-30.

76. Matsuura N, Konishi J. Transient hypothyroidism in infants born to mothers with chronic thyroiditis--a nationwide study of twenty-three cases. The Transient Hypothyroidism Study Group. *Endocrinol Jpn.* 1990;37:369-379.
77. Man EB, Brown JF, Serunian SA. Maternal hypothyroxinemia: psychoneurological deficits of progeny. *Ann Clin Lab Sci.* 1991;21:227-39.
78. Pop VJ, Kuijpers JL, van Baar AL, Verkerk G, van Son MM, de Vijlder JJ, et al. Low maternal free thyroxine concentrations during early pregnancy are associated with impaired psychomotor development in infancy. *Clin Endocrinol* 1999;50:149-155.
79. Liu H, Momotani N, Noh JY, Ishikawa N, Takebe K, Ito K. Maternal hypothyroidism during early pregnancy and intellectual development of progeny. *Arch Intern Med.* 1994;154:785-787.
80. Pop VJ, van Baar AL, Vulsma T. should all pregnant women be screened for hypothyroidism? *Lancet.* 1999;354:1224-1225.
81. Brown RS, LaFranchi SH. The American Thyroid Association Public Health Committee Statement. Haddow Study of Maternal Hypothyroidism during pregnancy and subsequent childhood neuropsychological development. *Thyroid* 1999;9: 971.
82. Brent GA. The molecular basis of thyroid hormone action. *N Engl J Med* 1994;331:847-853.
83. Bernal J, Pekonen F: Ontogenesis of the nuclear 3,5,3'-triiodothyronine receptor in the human fetal brain. *Endocrinology* 1984;114:677-679.
84. Ferreira B, Bernal J, Goodyer CG, Branchard CL. Estimation of nuclear thyroid hormone receptor saturation in human fetal brain and lung during early gestation. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;67:853-856.
85. Chan SY, Franklyn JA, Kilby MD, Mark D. Maternal thyroid hormones and fetal brain development. *Curr Opin Endocrinol Diabetes* 2005;12:23-30.
86. Bradley DJ, Towle HC, Young WS 3rd. Alpha and beta thyroid hormone receptor (TR) gene expression during auditory neurogenesis: Evidence for TR isoform-specific transcriptional regulation in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:439-443
87. Bradley DJ, Towle HC, Young WS 3rd. Spatial and temporal expression of α - and β -thyroid hormone receptors mRNAs, including the β 2-subtype, in the developing mammalian central nervous system. *J Neurosci* 1992;12:2288-2302.

88. Bernal J. Thyroid hormones and brain development. *Vitam Horm* 2005;71:95-122.
89. Sutcliffe JG. The genes for myelin revisited. *Trends Genet.* 1988;4:211–213.
90. Ibarrola N, and Rodriguez Pena A. Hypothyroidism coordinately and transiently affects myelin protein gene expression in most rat brain regions during postnatal development. *Brain Res.* 1997;752:285–293.
91. Schoonover CM, Seibel MM, Jolson DM, Stack MJ, Rahman, RJ, Mariash CN, Anderson GW. Thyroid hormone regulates oligodendrocyte accumulation in developing rat brain white matter tracts. *Endocrinology* 2004;145:5013–5020.
92. Gao FB, Apperly J, RaV M. Cell-intrinsic timers and thyroid hormone regulate the probability of cell-cycle withdrawal and differentiation of oligodendrocyte precursor cells. *Dev Biol* 1998;197:54–66.
93. Nygard M, Wahlstrom GM, Gustafsson MV, Tokumoto YM, Bondesson M. Hormone-dependent repression of the E2F-1 gene by thyroid hormone receptors. *Mol. Endocrinol* 2003;17:79–92.
94. Billon N, Tokumoto Y, Forrest, D, Raff M. Role of thyroid hormone receptors in timing oligodendrocyte differentiation. *Dev Biol* 2001;235:110–120.
95. Guadano-Ferraz A, Escobar del Rey F, Morreale de Escobar G, Innocenti GM, Berbel P. The development of the anterior commissure in normal and hypothyroid rats. *Brain Res Dev Brain Res* 1994;81:293–308.
96. Berbel P, Auso E, Garcia-Velasco JV, Molina ML, Camacho M. Role of thyroid hormones in the maturation and organisation of rat barrel cortex. *Neuroscience* 2001;107:383–394.
97. Auso E, Lavado-Autric R, Cuevas E, Del Rey FE, Morreale De Escobar G, Berbel PA. Moderate and transient deficiency of maternal thyroid function at the beginning of fetal neocortico-genesis alters neuronal migration. *Endocrinology*, 2004;145:4037–4047.
98. Martinez-Galan JR, Pedraza P, Santacana M, Escobar del Ray F, Morreale de Escobar G, Ruiz-Marcos A. Early effects of iodine deficiency on radial glial cells of the hippocampus of the rat fetus. A model of neurological cretinism. *J. Clin. Invest* 1997;99:2701–2709.
99. Del Rio JA, Heimrich B, Borrell V, Forster E, Drakew A, Alcantara S et al. A role for Cajal-Retzius cells and reelin in the development of hippocampal connections. *Nature* 1997;385:70–74.

100. Farwell AP, Dubord-Tomasetti SA. Thyroid hormone regulates the expression of laminin in the developing rat cerebellum. *Endocrinology* 1999; 140: 4221–4227.
101. Perez-Juste G, Aranda A. The cyclin-dependent kinase inhibitor p27(Kip1) is involved in thyroid hormone mediated neuronal differentiation. *J. Biol. Chem* 1999;274:5026–5031.
102. Lorenzo PI, Menard C, Miller FD, Bernal J. Thyroid hormone-dependent regulation of α 1 alpha-tubulin during brain development. *Mol Cell Neurosci* 2002;19:333–343.
103. Silva JE, Rudas P. Effects of congenital hypothyroidism on microtubule associated protein-2 expression in the cerebellum of the rat. *Endocrinology* 1990;126:1276–1282.
104. Lima FR, Gervais A, Colin C, Izembart M, Neto VM, Mallat M. Regulation of microglial development: A novel role for thyroid hormone. *J. Neurosci* 2001; 21:2028–2038.
105. Lima FR, Goncalves N, Gomes FC, de Freitas MS, Moura Neto V. Thyroid hormone action on astroglial cells from distinct brain regions during development. *Int. J. Dev. Neurosci* 1998;16:19–27.
106. Clos J, Legrand C, Legrand J. Effects of thyroid state on the formation and early morphological development of Bergmann glia in the developing rat cerebellum. *Dev. Neurosci* 1980;3:199–208.
107. Carlson DJ, Strait KA, Schwartz HL, Oppenheimer JH. Thyroid hormone receptor isoform content in cultured type 1 and type 2 astrocytes. *Endocrinology* 1996;137:911–917.
108. Gerendasy DD, Sutcliffe JG. RC3/neurogranin, a postsynaptic calpacitin for setting the response threshold to calcium influxes. *Mol Neurobiol* 1997;15:131–163.
109. Miyakawa T, Yared E, Pak JH, Huang FL, Huang KP, Crawley JN. Neurogranin null mutant mice display performance deficits on spatial learning tasks with anxiety related components. *Hippocampus* 2001;11:763–775.
110. Iniguez MA, De Lecea L, Guadano-Ferraz A, Morte B, Gerendasy D, Sutcliffe JG, Bernal J. Cell-specific effects of thyroid hormone on RC3/neurogranin expression in rat brain. *Endocrinology* 1996;137:1032–1041.

111. Cremer H, Chazal G, Lledo PM, Rougon G, Montaron, MF, Mayo, W et al. PSA-NCAM: an important regulator of hippocampal plasticity. *J Devl Neuroscience* 2000;18:213-220.
112. Thomsen NK, Soroka V, Jensen PH, Berezin V, Kiselyov VV, Bock E. The three-dimensional structure of the first domain of neural cell adhesion molecule. *Nature Structural Biology* 1996;3:581-585.
113. Xiao P, Bahr BA, Staubli U, Vanderklsih PW, Lynch G. Evidence that matrix recognition contributes to the stabilization but not the induction of LTP. *Neuroreport* 1991;2:461-464.
114. Chen BM, Grinnell AD. Kinetics, Ca^{2+} dependence, and biophysical properties of integrin-mediated mechanical modulation of transmitter release from frog motor nerve terminals. *J Neurosci* 1997;17:904-916.
115. Jiang P, Lagenaur CF, Narayanan V. Integrin-associated protein is a ligand for the p84 neural adhesion molecule. *J Biol Chem* 1999;274: 559-562.
116. Huang AM, Wang HL, Tang YP, Lee EH. Expression of integrin associated protein gene associated with memory formation in rats, *J Neurosci* 1998;18:4305-4313.
117. Yamagata M, Hermann JP, Sanes JR. Laminin-specific expression of adhesion molecules in developing chick optic tectum, *J Neurosci* 1995;15:4556-4571.
118. Fannon AM, Colman DR. A model for central synaptic junctional complex formation based on the differential adhesive specificities of the cadherins. *Neuron* 1996;17:423-434.
119. Takeichi M. Morphogenetic roles of classic cadherins. *Curr Opin Cell Biol* 1995;7:619-627.
120. Beesley PW, Mummery R, Tibaldi J. N-cadherin is a major glycoprotein of isolated rat brain postsynaptic densities, *Journal of Neurochemistry* 1995;64: 2288-2294.
121. Tang L, Hung CP, Schuman EM. A role for the cadherin family of cell adhesion molecules in hippocampal long-term potentiation, *Neuron* 1998;20: 1165-1175.
122. Ronn LCB, Hartz BP, Bock E. The neural cell adhesion molecule (NCAM) in development and plasticity of the nervous system, *Experimental Gerontology* 1998;33:853-864.

123. Cremer H, Chazal G, Goridis C, Represa A. NCAM is essential for axonal growth and fasciculation in the hippocampus, *Molecular Cell Neuroscience* 1997;8:323-335.
124. Cremer H, Chazal G, Carleton A, Goridis C, Vincent JD, Lledo PM. Long-term but not short-term plasticity at mossy fiber synapses is impaired in neural cell adhesion molecule-deficient mice, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 1998;95:13242-13247.
125. Murase S, Schuman EM. The role of cell adhesion molecules in synaptic plasticity and memory. *Curr Opin Cell Biol* 1999;11:549-553.
126. Luthi A, Mohajeri H, Schachner M, Laurent JP. Reduction of hippocampal long-term potentiation in transgenic mice ectopically expressing the neural cell adhesion molecule L1 in astrocytes. *J Neurosci Res.* 1996;46:1-6.
127. Doherty P, Walsh FS. CAM- FGF receptor interactions: a model for axonal growth *Mol Cell Neurosci.* 1996;8:99-111.
128. Holst BD, Vanderklish PW, Krushel LA, Zhou W, Langdon RB, McWhirter et al. Allosteric modulation of AMPA-type glutamate receptors increases activity of the promoter for the neural cell adhesion molecule. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95:2597-2602.
129. Edelman GM. Crossin KL. Cell adhesion molecules implications for a molecular histology. *Ann Rev Biochem* 1991;60:155- 159.
130. Doyle E, Nolan PM, Bell R, Regan CM. Doyle E, Nolan PM, Bell R, Regan CM. Hippocampal NCAM180 transiently increases sialylation during the acquisition and consolidation of a passive avoidance response in the adult rat. *J Neurosci Res.* 1992;31:513-523.
131. Doyle E, Nolan PM, Bell R, Regan CM. Intraventricular infusions of anti-neural cell adhesion molecules in a discrete posttraining period impair consolidation of a passive avoidance response in the rat. *J Neurochem.* 1992;59:1570-1573.
132. Chuong CM, Edelman GM. 1984. Alterations in neural cell adhesion molecules during development of the nervous system. *J Neurosci* 1984;4:2354-2368.
133. Gaardsvoll H, Krog L, Zhernosekov D, Andersson AM, Edvardsen K, Olsen M, et al. Age-related changes in expression of neural cell adhesion molecule (NCAM) in heart: a comparative study of newborn, adult and aged rats. *Eur J Cell Biol.* 1993;61:100-107.

134. Hoffman S, Grumet H, Edelman GM. Cell adhesion molecules in the histogenesis of nerve and muscle, In: Ferrans VJ, Rosenuist G, Weinstein(eds): Cardiac Morphogenesis. Elsevier Science Publishers. New York, 1985;36-43.
135. Wharton J, Gordon L, Walsh FS, Flanigan TP, Moore SE, Polak JM. Neural cell adhesion molecule (N-CAM) expression during cardiac development in the rat. *Brain Res.* 1989;483:170-176.
136. Poltorak M, Frye MA, Wright R, Hemperly JJ, George MS, Pazzaglia PJ, et al. Increased neural cell adhesion molecule in the CSF of patients with mood disorder. *J Neurochem.* 1996;66:1532-1538.
137. Cotman CW, Hailer NP, Pfister KK, Soltesz I, Schachner M. Cell adhesion molecules in neural plasticity and pathology: similar mechanisms, distinct organizations? *Prog Neurobiol.* 1998;55:659-669.
138. Davis GW, Schuster CM, Goodman CS. Genetic dissection of structural and functional components of synaptic plasticity. III. CREB is necessary for presynaptic functional plasticity. *Neuron.* 1996;17:669-679.
139. Doherty P, Walsh FS. Signal transduction events underlying neurite outgrowth stimulated by cell adhesion molecules. *Curr Opin Neurobiol.* 1994;4:49-55.
140. Frei T, von Bohlen und Halbach F, Wille W, Schachner M. Different extracellular domains of the neural cell adhesion molecule (N-CAM) are involved in different functions. *J Cell Biol.* 1992;118:177-194.
141. Thiery JP, Duband JL, Rutishauser U, Edelman GM. Cell adhesion molecules in early chicken embryogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1982;79:6737-6741.
142. Maier CE, Watanabe M, Singer M, McQuarrie IG, Sunshine J, Rutishauser U. Expression and function of neural cell adhesion molecule during limb regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1986;83:8395-8399.
143. Martini R, Schachner M. Immunoelectron microscopic localization of neural cell adhesion molecules (L1, N-CAM, and myelin-associated glycoprotein) in regenerating adult mouse sciatic nerve. *J Cell Biol.* 1988;106:1735-46.
144. Nieke J, Schachner M. Expression of the neural cell adhesion molecules L1 and NCAM and their common carbohydrate epitope L/HNK-1 during development and after transection of mouse static nerve. *Differentiation.* 1985;30:141-151.
145. Stefano ME, Leone L, Paggi P. Polysialylated neural cell adhesion molecule is involved in the neuroplasticity induced by axonal injury in the avian ciliary ganglion. *Neurosci* 2001;103:1093-1104.

146. Tzeng SF, Cheng H, Lee YS, Wu JP, Hoffer BJ, Kuo JS. Expression of neural cell adhesion molecule in spinal cords following a complete transaction. *Life Science* 2001;19:1005-1012.
147. Dityatev A, Dityateva G, Schachner M. Synaptic strength as a function of post-versus presynaptic expression of the neural cell adhesion molecule NCAM, *Neuron* 2000;26:207-217.
148. Andersson AM, Olsen M, Zhernosekov D, Gaardsvoll H, Krog L, Linnemann D, Bock E. Age-related changes in expression of the neural cell adhesion molecule in skeletal muscle: a comparative study of newborn, adult and aged rats. *Biochem J.* 1993;290:641-648.
149. Murray BA, Hemperly JJ, Prediger EA, Edelman GM, Cunningham BA., Alternatively spliced mRNAs code for different polypeptide chains of the chicken neural cell adhesion molecule (NCAM). *J Cell Biol* 1986;102:189-193.
150. Nybroe O, Albrechtsen M, Dahlin J, Linnemann D, Lyles JM, Moller CJ, Bock E. Biosynthesis of the neural cell adhesion molecule: Characterization of polypeptide C. *J Cell Biol* 1985;101:2310-2315.
151. Rafuse VF, Polo-Parada L, Landmesser LT., Structural and functional alterations of neuromuscular junctions in NCAM-deficient mice. *J Neurosci*, 2001;20:6529-6539.
152. Kiss JZ. A role of adhesion molecules in neural plasticity. *Mol Cell Endocrinol.* 1998;140:89-94.
153. Kiss JZ, Troncoso E, Djebbara Z, Vutskits L, Muller D., The role of neural cell adhesion molecules in plasticity and repair. *Brain Res Brain Res Rev.* 2001;36:175-184.
154. Scholey AB, Rose SPR, Zamani MR, Bock E, Schachner M. A role for the neural cell adhesion molecule in a late, consolidating phase of glycoprotein synthesis 6 h following passive avoidance training of the young chick. *Neurosci* 1993;55:499-509.
155. Cremer H, Lange R, Christoph A, Plomann M, Vopper G, Roes J, et al. Inactivation of the NCAM gene in mice result in size reduction of the olfactory bulb and deficits in spatial learning. *Nature* 1994;367:455-459.
156. Baydas G, Reiter RJ, Nedzvetskii VS, Yasar A, Tuzcu M, Ozveren F, Canatan H. Melatonin protects the central nervous system of rats against toluene-containing thinner intoxication by reducing reactive gliosis. *Toxicology Letter* 2003;137:169-174.

157. Fields RD, Itoh K. Neural cell adhesion molecules in activity-dependent development and synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 1996;19:473-480.
158. Crossin KL, Krushel LA. Cellular signalling by neural cell adhesion molecules of the immunoglobulin superfamily. *Developmental Dynamics* 2001;218:260-279.
159. Schachner M. Neural recognition and synaptic plasticity. *Curr Opin Cell Biol.* 1997;9:627-634.
160. Linnemann D, Skarsfelt T. Regional changes in expression of NCAM, GFAP, and S100 in aging rat brain *Neurobiology of Aging* 1994;5:651-655.
161. Baydas G, Nedzvetskii VS, Nerush PA, Kirichenko SV, Yoldas T. Altered expression of NCAM in hippocampus and cortex may underlie memory and learning deficits in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Life Sciences* 2003;73:1907-1916.
162. Escames G, Guerrero JM, Reiter RJ, Garcia JJ, Munoz-Hoyos A, Ortiz GG, Oh CS. Melatonin and vitamin E limit nitric oxide-induced lipid peroxidation in rat brain homogenates *Neuroscience Letters* 1997;230:147-150.
163. Kiss JZ, Rougon G. Cell biology of polysialic acid. *Curr Opin Neurobiology* 1997;7:640-646.
164. Fukui K, Onodera K, Shinkai T, Suzuki S, Urano S. Impairment of learning and memory in rats caused by oxidative stress and aging, and changes in antioxidative defense systems. *Ann N Y Acad Sci.* 2001;928:168-175.
165. Carneiro RC, Reiter RJ. Melatonin protects against lipid peroxidation induced by delta-aminolevulinic acid in rat cerebellum, cortex and hippocampus. *Neuroscience* 1998;82:293-299.
166. Krog L, Olsen M, Dalseg AM, Roth J, Bock E. Characterization of soluble neural cell adhesion molecule in rat brain, CSF, and plasma. *J Neurochem* 1992;59:838-847.
167. Fox GB, O'Connell AW, Murphy KJ, Regan CM. Memory consolidation induces a transient and time-dependent increase in the frequency of neural cell adhesion molecule polysialylated cells in the adult rat hippocampus. *J Neurochem* 1995;65:2796-2799.
168. D'hooge R, De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Research Review* 2001;36:60-90.
169. Nothias F, Vernier P, Von Boxberg Y, Mirman S, Vincent JD. Modulation of NCAM polysialylation is associated with morphofunctional modifications in the

- hypothalamo-neurohypophysial system during lactation, *E J Neurosci* 1997;9: 1553-1565.
170. Ronn LC, Berezin V, Bock E. The neural cell adhesion molecule in synaptic plasticity and ageing. *Int J Dev Neurosci*. 2000;18:193-199.
171. Kadmon G, Kowitz A, Altevogt P, Schachner M., The neural cell adhesion molecule N-CAM enhances L1-dependent cell-cell interactions. *J C Biol* 1990;110:193-208.
172. Regan CM, Fox GB. Polysialylation as a regulator of neural plasticity in rodent learning and aging. *Neuro Res* 1995;20:593-598.
173. Abrous DN, Montaron MF, Petry KG, Rougon G, Darnaudery M, Moal ML, Mayo W. Decrease in highly polysialylated neuronal cell adhesion molecules and in special learning during ageing are not correlated. *Brain Res* 1997;744:285-292.
174. Ronn LC, Bock E, Linnemann D, Jahnsen H. NCAM-antibodies modulate induction of long-term potentiation in rat hippocampal CA1. *Brain Res* 1995;677:145-151.
175. Bailey CH, Kandel ER. Structural changes accompanying memory storage. *A Rev Physiol* 1993;55:397-426.
176. Barry M, Bannister LH, Standring SM. Nervous System. In: Williams PL, (editor). *Gray's Anatomy*. (38th Edition). London: Churchill Livingstone, 1995: 1121-1125.
177. Wieraszko A, Ball GF. Long-term potentiation in the avian hippocampus does not require activation of the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor. *Synapse* 1993;13:173-178.
178. Guyton AC, Hall JE. *Tıbbi Fizyoloji*. 9. baskı. Editör: Çavuşoğlu H, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul. 1996;57:733-734.
179. Taner D. Fonksiyonel Anatomi, ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş.-Metu Press-Yayınları, Ankara 1998;231-232.
180. Muller D, Djebbara-Hannas Z, Jourdain P, Vutskits L, Durbec P, Rougon G, Kiss JZ. Brain-derived neurotrophic factor restores long-term potentiation in polysialic acid-neural cell adhesion molecule-deficient hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:4315-4320.
181. Ganong WF. *Tıbbi Fizyoloji*, Nobel Tıp Kitabevleri, 20. baskı. İstanbul. 2002, Bölüm: 16, 259-263.

182. Rettori V, Pazos-Moura CC, Moura EG, Polak J, McCann SM. Role of neuromedin B in control of the release of thyrotropin in hypothyroid and hyperthyroid rats. *Physiology* 1992; 89:3035-39.
183. Morris RG, Garrud P, Rawlins JN, O'Keefe J. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature* 1982;29:681–683.
184. Baydas G, Nedzvetsky VS, Nerush PA, Kirichenko SV, Demchenko, HM, Reiter RJ. A novel role for melatonin: regulation of the expression of cell adhesion molecules in the rat hippocampus and cortex. *Neuroscience Letters* 2002;326:109-112.
185. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature* 1970;227:680–685.
186. Harlow E, Lane D. *Antibodies*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1988, 635-656.
187. Burnette WN. "Western blotting": electrophoretic transfer of proteins from sodium dodecyl sulfate--polyacrylamide gels to unmodified nitrocellulose and radiographic detection with antibody and radioiodinated protein A. *Analytical Biochemistry* 1981;112:195-203.
188. Harlow E, Lane D. *Antibodies*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York 1988;471-504.
189. Fowler SJ. Use of monoclonal antibodies for western blotting with enhanced chemiluminescent detection, In: Davis, WC., (ed). *Monoclonal Antibody Protocols*, Humana Press, New Jersey 1995;115-127.
190. MacGillivray M. Disorder of growth and development. In: *Endocrinology and Metabolism* (eds P. Felig, J. Baxter & L. Frohman), McGraw-Hill, New York 1995;1619-1673.
191. Casey BM, Dashe JS, Wells CE, McIntire DD, Leveno KJ, Cunningham FG. Subclinical hyperthyroidism and pregnancy outcomes. *Obstet Gynecol.* 2006;107:337-341.
192. Vulsma T, Gons M, de Vijlder JM. Maternal-fetal transfer of thyroxine in congenital hypothyroidism due to a total organification defect or thyroid dysgenesis. *New England Journal of Medicine* 1989;321:12–16.
193. Illig R. Congenital hypothyroidism. *Clin Endocrinol Metab* 1979;8:49–62.
194. Emerson CH. Thyroid disease during and after pregnancy. In *The Thyroid* (eds. L.E. Braverman & R.D. Utiger), 7th edn Lippincott Raven, Philadelphia 1996;1021–1031.

195. Fisher DA. Thyroid physiology in the perinatal period and during childhood. In *The Thyroid* (eds L.E. Braverman & R.D. Utiger) 7th edn. Lippincott Raven, Philadelphia 1996;974–983.
196. Morreale de Escobar G, Calvo R, Obregon MJ, Escobar del Rey F.) Contribution of maternal thyroxine to fetal thyroxine pools in normal rats near term. *Endocrinol* 1990;126:2765–2772
197. Woeber KA. Subclinical thyroid dysfunction. *Arch Intern Med* 1997;157: 1065–1068.
198. Casey BM, Dashe JS, Wells CE, McIntire DD, Byrd W, Leveno KJ, Cunningham FG. Subclinical hypothyroidism and pregnancy outcomes. *Obstet Gynecol* 2005;105:239-245.
199. Pickard M, Evans I, Bandopadhyay R, Leonard A, Sinha A, Ekins R. Thyroid hormone action in rat brain from fetal to adult life. *Recent Research Developments in Neuroendocrinology – Thyroid hormone and brain maturation*, 1997; 15–29.
200. Nicholson JL, Altman J. The effects of early hypo- and hyperthyroidism on the development of the rat cerebellar cortex. I. Cell proliferation and differentiation. *Brain Res* 1972;44:13–23.
201. Balazs R, Kovacs S, Cocks WA, Johnson AL, Eayrs JT. Effect of thyroid hormone on the biochemical maturation of rat brain: postnatal cell formation. *Brain Res* 1971;25:555–570.
202. Rosman NP, Malone MJ, Helfenstein M, Kraft E. The effect of thyroid deficiency on myelination of brain. *Neurology* 1972;22:99–106.
203. Faivre C, Legrand C, Rabie A. In Purkinje cell dendrites of the young rat, thyroid hormone controls the resistance of microtubules to fixation at low temperature. *I J Develop Neurosci* 1984;2:427–436.
204. Madeira MD, Cadete-Leite A., Andrade JP, Paula-Barbosa MM. Effects of hypothyroidism upon the granule layer of the dentate gyrus in male and female adult rats: A morphometric study. *J. Comp. Neurol* 1991;313:171–186.
205. Akaike M, Kato N, Ohno H, Kobayashi T. Hyperactivity and spatial maze learning impairment of adult rats with temporary neonatal hypothyroidism. *Neurotoxicol Teratol* 1991;13:317–322.
206. Songur A, Özen OA, Sarsılmaz M. Hipokampus Türkiye Klinikleri *J Med Sci* 2001;21:427-431.

207. Darbra S, Balada F, Garau A, Gatell P, Sala J, Marti-Carbonell MA. Perinatal alterations of thyroid hormones and behaviour in adult rats. *Behav Brain Res.* 1995;68:159-164.
208. Goldey ES, Kehn LS, Rehnberg GL, Crofton KM. Effects of developmental hypothyroidism on auditory and motor function in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1995;135:67-76.

9. ÖZGEÇMİŞ

1969 yılında Düziçi/Osmaniye’de Doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Düziçi’nde tamamladım. 1992 yılında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesinden mezun oldum. Çorum Boğazkale Merkez sağlık ocağında mecburi hizmetimi, Merzifon Hava Hastanesi’nde askerlik hizmetimi yaptım. 1995 yılında Fırat Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalında ihtisasa başladım ve Ağustos 1999’da iç hastalıkları uzmanı oldum. 2000 yılında aynı bilim dalında Öğretim üyesi oldum. Mart 2003 yılında Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalında yan dal ihtisasına başladım. Halen Fırat Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalında görev yapmaktayım. Evli ve bir kız çocuğu babasıyım.