



**T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
DİSİPLİNLERARASI SİNİRBİLİMLERİ  
ANABİLİM DALI**

**FARKLI ORTAM KOŞULLARININ DENEYSEL  
SUBARAKNOİD KANAMA OLUŞTURULAN SIÇANLARDAKİ  
miR-132, miR-134 ve miR-138 SEVİYELERİ ÜZERİNE  
ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**FULYA BÜGE ERGEN**

**DANIŞMAN  
DOÇ. DR. DİDEM TURGUT COŞAN**

**2017**



**T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
DİSİPLİNLERARASI SİNİRBİLİMLERİ  
ANABİLİM DALI**

**FARKLI ORTAM KOŞULLARININ DENEYSEL  
SUBARAKNOİD KANAMA OLUŞTURULAN SIÇANLARDAKİ  
miR-132, miR-134 ve miR-138 SEVİYELERİ ÜZERİNE  
ETKİSİ**

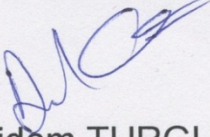
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

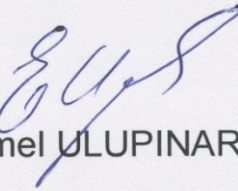
**FULYA BÜGE ERGEN**

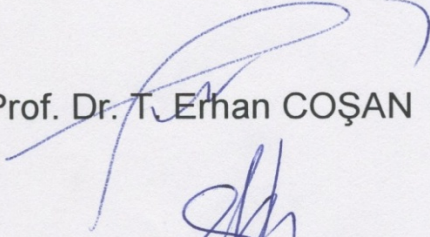
**DANIŞMAN  
DOÇ. DR. DİDEM TURGUT COŞAN**

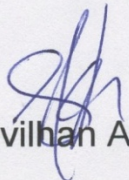
## KABUL VE ONAY SAYFASI

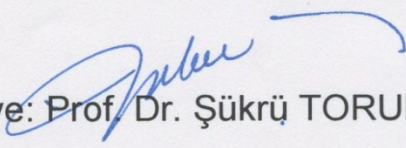
Fulya Bge ERGEN'in Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "Farklı Ortam Şartlarının Deneysel Subaraknoid Kanama Oluşturulan Sıçanlardaki miR-132, miR-134 ve miR-138 Seviyeleri zerine Etkisi" başlıklı bu alışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve ğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

  
ye: Doç. Dr. Didem TURGUT COŞAN 19.01.2017

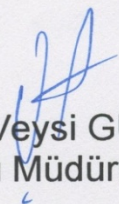
  
ye: Prof. Dr. Emel ULUPINAR 19.01.2017

  
ye: Prof. Dr. T. Erhan COŞAN 19.01.2017

  
ye: Prof. Dr. Sevilhan ARTAN 19.01.2017

  
ye: Prof. Dr. şukr TORUN 19.01.2017

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ...19.01.2017 tarih ve ...1117/5334.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

  
Prof. Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ  
Enstitü Müdürü

## ÖZET

Subaraknoid kanama (SAK) mortalite ve morbidite oranı yüksek olan bir inme çeşididir. SAK sonrası en çok karşılaşılan kognitif bozukluklar hafıza, yönetsel işlevler ve konuşma fonksiyonlarıyla ilgilidir. Bu işlevler genel olarak medial temporal lobun hipokampus kısmı ve frontal lob bölgeleri tarafından kontrol edilmektedir. SAK dışındaki durumlarda izole ortam koşullarının bu fonksiyonlar üzerine olumsuz, zenginleştirilmiş ortam koşullarının ise olumlu etkileri olduğu bilinmektedir. Günümüzde subaraknoid kanamalı hastalar izole ortam ile benzerlikleri bulunan koşullarda tutularak tedavi edilmektedir. Birçok mikroRNA sinaptik plastisiteye firekt ya da dolaylı yoldan etki yapmaktadır. Bu mikroRNA'ların başında miR-132, miR-134 ve miR-138 gelmektedir. Bu nedenle subaraknoid kanama sonrası farklı ortam koşullarında tutulan hayvanların dokularındaki miR-132, miR-134 ve miR-138 ekspresyon seviyelerinde farklılıklar olabileceği öngörülmektedir.

Deneyde sisterna magna içerisine çift enjeksiyon yöntemi ile subaraknoid kanama modeli oluşturulan sıçanlar 7 ve 14 günlük ayrı gruplar halinde farklı ortam koşullarında tutulduktan sonra plazma, frontal lob ve hipokampus örnekleri toplandı. Bu dokulardaki miR-132, miR-134 ve miR-138 seviyeleri, uygun primerler kullanılarak real-time PCR yöntemi ile belirlendi. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.

Kısa dönem ve uzun dönem farklı ortam koşulları ile SAK oluşumunun frontal lob, hipokampus ve plazma dokularında seçilen mikroRNA seviyeleri üzerinde farklı etkileri olduğu görüldü. SAK sonrası kısa dönemde alınan örneklerin hepsinde bütün mikroRNA seviyelerinin yükseldiği görülürken, uzun dönemde bu seviyelerin düştüğü tespit edildi. İstisna olarak hipokampus dokularındaki miR-134 ve miR-138 seviyelerinin uzun dönemle kısa dönem arasında farklılık göstermediği belirlendi. Frontal lob dokularında mikroRNA seviyeleri değişkenlik gösterdi. SAK sonrası kısa dönem zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanların frontal loblarında üç mikroRNA seviyesi de anlamlı ölçüde azalırken, uzun dönem zenginleştirilmiş ortamda bütün mikroRNA'ların seviyelerinin anlamlı ölçüde yükseldiği görüldü. SAK sonrası izole ortamda tutulan hayvanların frontal loblarında ise zenginleştirilmiş ortamın aksine kısa dönemde artış uzun dönemde düşüş görülmektedir. Frontal lobda SAK sonrası 7 günlük izole ortam koşullarında zengin ortama göre sinaptik yeniden yapılanmanın daha yoğun olduğu, buna karşın SAK sonrası 14 günlük zenginleştirilmiş ortam koşullarının izole ortam koşullarına göre sinaptik yeniden yapılanmaya ve iyileşmeye daha çok katkı sağladığı görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** SAK, Zenginleştirilmiş Ortam, İzole ortam, miR-132, miR-134, miR-138



## SUMMARY

Subarachnoid hemorrhage (SAH) is a stroke type with a high mortality and morbidity rate. The most common cognitive impairments after SAH are related to memory, executive and speech functions. These functions are generally controlled in the frontal lobe and hippocampal region of the medial temporal lobe. It is known that social isolation conditions affect negatively while enriched environment have positive effects on these functions in healthy individuals. Nowadays, after SAH patients receive treatment at the social isolation like environments during recovery period. Many microRNAs cause direct or indirect effects on synaptic plasticity. The most important of these microRNAs are miR-132, miR-134 and miR-138. In this thesis study, it was aimed to observe the changes of miR-132, miR-134 and miR-138 levels in the tissues of animals which were kept in various environmental conditions after subarachnoid hemorrhage.

Rats in control groups and cisterna magna double-hemorrhage model of subarachnoid hemorrhage group were kept in different environmental conditions for 7 and 14 days. Then, animals were sacrificed and blood, frontal lobe and hippocampus samples were collected. miR-132, miR-134 and miR-138 levels in these tissues were measured using specific primers for these microRNAs and real-time PCR. Statistical differences between different groups were determined by Student's two-tailed t-test.

It has been determined that living short term and long term in different environmental conditions and SAH formation have different effects on selected microRNA levels in frontal lobe, hippocampus and plasma tissues. All of the samples taken from the short term after SAH group showed that all the microRNA levels were increased, whereas those from the long term group were decreased. As an exception, miR-134 and miR-138 levels in hippocampal tissues do not differ between the long term and short term groups. The levels of microRNAs in the frontal lobe tissues are highly variable. While the levels of all three microRNAs in the frontal lobes of the animals who were maintained in the short term enriched environment after SAH were significantly reduced, microRNA levels of animals from the long term enriched environment group were significantly increased. However, in social isolated environment microRNA levels were increased in short-term and decreased in long-term conditions as opposite to the enriched environment. In the frontal lobe, it was observed that the synaptic reconstruction was more intense in the 7-day social isolation condition compare to the enriched environment. On the other hand, 14-days enriched environment conditions after SAH showed more positive effect on the synaptic reconstruction and healing compare to the isolated conditions.

**Key words:** SAH, enriched environment, social isolation environment, miR-132, miR-134, miR-138

## İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay Sayfası .....	ii
Özet.....	iii
Summary.....	iv
İçindekiler.....	v
Şekil dizini .....	vii
Tablo dizini .....	x
Simge ve Kısaltmalar dizini .....	xii
1. Giriş ve Amaç .....	1
2. Genel Bilgiler .....	4
2.1. Nöronlar ve Sinaptik Yapılar .....	4
2.1.1. Nöronlar ve Sinaptik İletim .....	4
2.1.2. Mikrotübüller ve Mikrotübül Bağlayıcı Proteinler (MAPs).....	5
2.1.3. Dendritik Dikensi Çıkıntılar .....	9
2.1.4. Dendritik Protein Sentezi .....	16
2.2. Subaraknoid Kanama (SAK).....	17
2.2.1. Subaraknoid Kanama Etiyolojisi ve Risk Faktörleri .....	17
2.2.2. Deneysel Subaraknoid Kanama Modelleri .....	18
2.2.3. SAK ve Vazospazm .....	19
2.2.4. SAK ve Kognitif Bozukluklar .....	20
2.2.5. SAK Sonrası Görülen Kognitif Bozuklukların Moleküler Temeli....	20
2.3. Hafıza ve Öğrenme Fonksiyonları ile İlişkili mikroRNA'lar.....	22
2.3.1. RNAi (RNA interferans mekanizması) .....	22
2.3.2. MikroRNA'lar .....	23
2.3.3. MikroRNA Biyogenezi ve Fonksiyonları .....	23
2.3.4. Sinaps mikroRNA'ları.....	25
2.3.5. miR-132 ve Sinaptik Plastisite Üzerine Etkileri .....	26
2.3.6. miR-134 ve Sinaptik Plastisite Üzerine Etkileri .....	27
2.3.7. miR-138 ve Sinaptik Plastisite Üzerine Etkileri .....	27
2.3.8. miR-132, miR-134 ve miR-138 Üzerine Genel Bakış.....	28
2.3.8.1. İskemik Durumlarda miR-132, miR-134 ve miR-138 Seviyeleri ve Etkileri .....	28
2.3.8.2. Dendritik Dikensi Çıkıntı Morfolojisi Üzerine miR-132, miR-134 ve miR-138'in Etkileri .....	29
2.4. Farklı Ortam Koşulları ve Kognitif Fonksiyonlar Üzerine Etkileri ....	30
3. Gereç ve Yöntemler .....	34
3.1. Deney Hayvanları .....	34
3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması .....	34
3.3. Sisterna Magnaya Çift Enjeksiyon Yöntemi ile SAK Modeli Oluşturma İşlemi .....	36
3.4. Farklı Ortam Koşulları İçin Kafeslerin Hazırlanması ve Deney Hayvanlarının Farklı Ortamlardaki Bakımı .....	37
3.5. Kan ve Beyin Dokusu Örneklerinin Toplanması ve Saklanması ....	39
3.5.1. Kan Örneklerinin Toplanması ve Saklanması .....	39

3.5.2. Frontal Lob ve Hipokampus Örneklerinin Toplanması ve Saklanması .....	39
3.6. Real-Time PCR Uygulaması ile Frontal lob, Hipokampus ve Plazma Örneklerinde miR-132, miR-134 ve miR-138 Seviyelerinin Belirlenmesi .....	41
3.6.1. Doku ve Plazma Örneklerinden Total RNA İzolasyonu.....	41
3.6.2. cDNA (Komplementer DNA) Eldesi .....	42
3.6.3. Real-Time PCR .....	42
3.7. İstatistiksel Değerlendirme .....	43
4. Bulgular .....	44
4.1. Kısa Dönemli (7 gün) Farklı Ortam Şartlarında Tutulan Hayvanların Farklı Dokularında Ölçülen miRNA Seviyelerinin İstatistiksel Olarak Karşılaştırılması .....	44
4.2. Uzun Dönemli (14 gün) Farklı Ortam Şartlarında Tutulan Hayvanların Farklı Dokularında Ölçülen miRNA Seviyelerinin İstatistiksel Olarak Karşılaştırılması .....	47
4.3. SAK Sonrası Kısa Dönem ve Uzun Dönem Standart Ortamda Tutulan Hayvanların Farklı Dokularında Ölçülen miRNA Seviyelerinin İstatistiksel Olarak Karşılaştırılması .....	50
4.4. SAK Sonrası Kısa Dönemli Farklı Ortam Koşullarında Tutulan Hayvanların Farklı Dokularında Ölçülen miRNA Seviyelerinin İstatistiksel Olarak Karşılaştırılması.....	53
4.5. SAK Sonrası Uzun Dönemli Farklı Ortam Koşullarında Tutulan Hayvanların Farklı Dokularında Ölçülen miRNA Seviyelerinin İstatistiksel Olarak Karşılaştırılması .....	58
5. Tartışma .....	63
5.1. Değişik ortam koşullarının farklı dokulardaki miR-132 seviyesi üzerine olan etkisi .....	64
5.2. SAK sonrası miR-132 seviyesinin farklı dokulardaki değişimi.....	65
5.3. SAK sonrası farklı ortam koşullarının miR-132 seviyesi üzerine olan etkisi.....	66
5.4. Değişik ortam koşullarının farklı dokulardaki miR-134 seviyesi üzerine olan etkisi .....	68
5.5. SAK sonrası miR-134 seviyesinin farklı dokulardaki değişimi.....	69
5.6. SAK sonrası farklı ortam koşullarının miR-134 seviyesi üzerine olan etkisi.....	69
5.7. Değişik ortam koşullarının farklı dokulardaki miR-138 seviyesi üzerine olan etkisi .....	70
5.8. SAK sonrası miR-138 seviyesinin farklı dokulardaki değişimi.....	72
5.9. SAK sonrası farklı ortam koşullarının miR-138 seviyesi üzerine olan etkisi.....	73
5.10. miR-132, miR-134 ve miR-138 arasındaki etkileşimler ve olası geri besleme mekanizmaları.....	74
6. Sonuç ve Öneriler.....	77
7. Kaynaklar dizini .....	79

## ŞEKİL DİZİNİ

		<b>Sayfa</b>
<b>Şekil 2.1.</b>	Nöron hücreleri ve sinaps bölgelerinin genel yapısı	4
<b>Şekil 2.2.</b>	Mikrotübüllerin polimerizasyonu ve depolimerizasyonunun şematik gösterimi	7
<b>Şekil 2.3.</b>	Akson ve dendritlerdeki MAP-2 ve tau proteinlerinin yerleşimi	8
<b>Şekil 2.4.</b>	TEM yöntemi kullanılarak belirlenmiş A $\beta$ indüksiyonu sonucu dendrit ve akson bölgelerinde görülen mikrotübül dejenerasyonu	9
<b>Şekil 2.5.</b>	Dendritler ve dendritik dikensi çıkıntılarının şematik gösterimi	10
<b>Şekil 2.6.</b>	Mantarımsı bir dendritik dikensi çıkıntının şematik çizimi	11
<b>Şekil 2.7.</b>	Değişik dendritik dikensi çıkıntı morfolojilerinin şematik olarak gösterimi	12
<b>Şekil 2.8.</b>	Hipokampusün CA1 bölgesindeki piramidal nöronların dendritlerindeki dendritik dikensi çıkıntı çeşitlerinin TEM ile çekilmiş fotoğrafları	12
<b>Şekil 2.9.</b>	BDNF indüksiyonunun sıçan hipokampal nöronlarındaki ve CREB indüksiyonunun lateral amigdala nöronlarındaki dendritik dikensi çıkıntılar üzerine etkisi	13
<b>Şekil 2.10.</b>	Dendritik dikensi çıkıntılarının hacminin aktin filamentlerinin polimerizasyonu sayesinde büyümesinin şematik olarak gösterimi	14
<b>Şekil 2.11.</b>	Amiloid $\beta$ ile muamele edilen hipokampal nöronlarda dendritik dikensi çıkıntı morfolojisindeki değişimler	15
<b>Şekil 2.12.</b>	Zenginleştirilmiş ortamda ve standart ortamda tutulan sıçanların parietal korteksinde görülen dendritik dallanma yoğunluğu ve dendritik dikensi çıkıntı morfolojisindeki farklılıklar	16



<b>Şekil 2.13.</b>	Dentante gyrus bölgesindeki granüler hücrelerde poliribozomların dağılımı	17
<b>Şekil 2.14.</b>	RNAi interferans mekanizması	22
<b>Şekil 2.15.</b>	miRNA biyogenezinin şematik olarak gösterimi	24
<b>Şekil 2.16.</b>	miRNA fonksiyonu	25
<b>Şekil 2.17.</b>	Hipokampal nöron kültürü hücrelerinin kesitlerinde CA1 bölgesindeki piramidal nöronların dendritlerinde miR-132 ekspresyonu ve p250GAP inhibisyonunun dendritik dikensi çıkıntılarının yoğunluğu üzerine etkisi	26
<b>Şekil 2.18.</b>	MiR-134'ün hipokampal nöron hücre kültüründeki dendritik dikensi çıkıntılarının morfolojileri üzerine etkileri	27
<b>Şekil 2.19.</b>	miR-138'in dendritik dikensi çıkıntı hacimleri üzerine etkisi	28
<b>Şekil 2.20.</b>	miR-132, miR-134 ve miR-138'in farklı yollar üzerinden dendritik dikensi çıkıntı hacimleri üzerine olan etkisinin şematik gösterimi	29
<b>Şekil 2.21.</b>	Zenginleştirilmiş ortamın çeşitli beyin fonksiyonlarına etkisinin şematik gösterimi	32
<b>Şekil 2.22.</b>	İzole ve zenginleştirilmiş ortam resimleri	33
<b>Şekil 3.1.</b>	Deney akış şeması	35
<b>Şekil 3.2.</b>	Sisterna magnaya enjeksiyon yolunun şematik olarak gösterimi	36
<b>Şekil 3.3.</b>	Çalışmada kullanılan İzole Ortam Kafesleri	37
<b>Şekil 3.4.</b>	Çalışmada kullanılan zenginleştirilmiş ortam kafesleri	38
<b>Şekil 3.5.</b>	Zenginleştirilmiş ortam resimleri	38
<b>Şekil 3.6.</b>	Beyin dokularının diseksiyonu ve SAK grubundaki hayvanların beynindeki SAK oluşumları	40
<b>Şekil 5.1.</b>	miR-132'nin nöritler ve dendritik dikensi çıkıntılar üzerine olan etkileri	64

<b>Şekil 5.2.</b>	miR-138 seviyesinin kortikal nöronların aksonlarının uzunluğu üzerine etkisi	71
<b>Şekil 5.3.</b>	mir-132 seviyesinin yükselmesinin kognitif kapasite üzerine etkisi	75
<b>Şekil 5.4.</b>	miR-132, miR-134 ve miR-138'in birbirlerinin ifade seviyesine etkilerinin şematik gösterimi	76

## TABLO DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 3.1:</b> Deney Grupları ve uygulanan işlemler	35
<b>Tablo 3.2:</b> Real-Time PCR işleminde kullanılan primerler	42
<b>Tablo 4.1:</b> SO7 ve İO7 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması	44
<b>Tablo 4.2:</b> SO7 ve ZO7 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması	45
<b>Tablo 4.3:</b> İO7 ve ZO7 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması	46
<b>Tablo 4.4:</b> SO14 ve İO14 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması	47
<b>Tablo 4.5:</b> SO14 ve ZO14 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması	48
<b>Tablo 4.6:</b> İO14 ve ZO14 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması	49
<b>Tablo 4.7:</b> SO7 ve SAK SO7 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması	50
<b>Tablo 4.8:</b> SO14 ve SAK SO14 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması	51
<b>Tablo 4.9:</b> SAK SO7 ve SAK SO14 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması	52
<b>Tablo 4.10:</b> SAK SO7 ve SAK İO7 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması	53
<b>Tablo 4.11:</b> SAK SO7 ve SAK ZO7 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması	54

<b>Tablo 4.12:</b> SAK İO7 ve SAK ZO7 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması	55
<b>Tablo 4.13:</b> SO7 ve SAK İO7 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması	56
<b>Tablo 4.14:</b> SO7 ve SAK ZO7 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması	57
<b>Tablo 4.15:</b> SAK SO14 ve SAK İO14 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması	58
<b>Tablo 4.16:</b> SAK SO14 ve SAK ZO14 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması	59
<b>Tablo 4.17:</b> SAK İO14 ve SAK ZO14 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması	60
<b>Tablo 4.18:</b> SO14 ve SAK İO14 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması	61
<b>Tablo 4.19:</b> SAK SO7 ve SAK İO7 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması	62



## SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

( $\alpha$ ) tübülün:	Alfa tübülün
( $\beta$ ) tübülün:	beta tübülün
A:	Angstrom
GDP:	Guanozindifosfat
GTP:	Guanozin trifosfat
MAP'lar(MAPs):	Mikrotübül ilişkili proteinler, mikrotübül bağlayıcı proteinler
MAP-1:	Mikrotübül ilişkili protein-1
MAP-2:	Mikrotübül ilişkili protein-2
MAP-4:	Mikrotübül ilişkili protein-4
A $\beta$ :	Amiloid $\beta$
TEM:	Transmisyon elektron mikroskobu
PSD:	post-sinaptik yoğunluk
LTP:	uzun süreli potansiyasyon
LTD:	uzun süreli depresyon
BDNF:	Beyin-Türevli Nörotrofik Faktör
SAK:	Subaraknoid Kanama
CA1:	Cornu Ammonis 1
AGO:	Argonaute
RISC:	RNA-uyartılı susturma kompleksi
mRNA:	Mesajcı RNA
CREB:	cAMP response element-binding protein
RNAi:	RNA interferans
pri-miRNA:	primary miRNA
Exp-5:	Exportin-5
pre-miRNA:	Prekürsor mikro RNA, intermediate precursor miRNA
piRNA:	piwi-interacting RNA
miRNA:	mikroRNA
siRNA:	small interfering RNA,Küçük Engelleme RNA
GluR1:	AMPA-selective glutamate receptor 1
mir-138:	MikroRNA-138
mir-134:	MikroRNA-134
mir-132:	MikroRNA-132
MBP:	Miyelin Basic Protein
AMPA:	$\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor
NR2A:	N-methyl D-aspartate receptor subtype 2A
NR2B:	N-methyl D-aspartate receptor subtype 2B
NMDA:	N-metil-d-aspartat
GAPDH:	Gliseraldehit-3-Fosfat Dehidrogenaz
EPSP:	Eksitator postsinaptik potansiyel
Tau:	microtubule-associated protein tau, MAPT

MWM:	Morris su tankı
EDTA:	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
DGCR8:	DiGeorgie syndrome critical region gene 8
PCR:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
KCI:	Potasyum klorit
GAP:	GTPaz aktive edici proteinler
p250GAP:	GTPase-activating protein p250GAP
Limk1:	LIM domain kinase 1
ShRNA:	short hairpin RNA
GAPDH:	Gliseraldehit-3-Fosfat Dehidrogenaz
MEPSCs:	minyatür uyarıcı sinaptik akımlar
Gα13:	heterotrimerik G proteininin α altbirimi
APT1:	Acyl-protein thioesterase
MeCP2:	methylCpG-binding protein 2
HSPA12B:	heat shock protein A12B
Bcl-2:	B-cell lymphoma 2
Lcn-2:	Lipocalin 2
RT-PCR:	Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu, Real Time-PCR
SIRT1:	Sirtüin-1
MMP-9:	metaloproteinaz-9
FOXO:	Forkhead box
FL:	Frontal lob
HK:	Hipokampüs
PL:	Plazma
SO:	Standart ortam
İO:	İzole ortam
ZO:	Zenginleştirilmiş ortam
SO7:	7 gün standart ortamda tutulan hayvan grubu
İO7:	7 gün izole ortamda tutulan hayvan grubu
ZO7:	7 gün zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvan grubu
SO14:	14 gün standart ortamda tutulan hayvan grubu
İO14:	14 gün izole ortamda tutulan hayvan grubu
ZO14:	14 gün zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvan grubu
SAK SO7:	SAK modeli uygulandıktan sonra 7 gün standart ortamda tutulan hayvan grubu
SAK İO7:	SAK modeli uygulandıktan sonra 7 gün izole ortamda tutulan hayvan grubu
SAK ZO7:	SAK modeli uygulandıktan sonra 7 gün zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvan grubu
SAK SO14:	SAK modeli uygulandıktan sonra 14 gün standart ortamda tutulan hayvan grubu
SAK İO14:	SAK modeli uygulandıktan sonra 14 gün izole ortamda tutulan hayvan grubu
SAK ZO14:	SAK modeli uygulandıktan sonra 14 gün zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvan grubu

# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Beyin, beyincik ve spinal kordun subaraknoid aralığı içerisine genellikle arteriel nedenlere bağlı olarak oluşan kanamaya subaraknoid kanama (SAK) denir. İnme vakalarının %10'u ve serebrovasküler ölümlerin %25'i SAK sonucu ortaya çıkmaktadır (Akdemir, 2005).

SAK oluşumunu ve sonrasında görülen sorunları inceleyebilmek amacıyla hayvanlar üzerinde oluşturulabilen çeşitli deneysel SAK modelleri geliştirilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız sisterna magna içerisine enjeksiyon modeli en sık kullanılan yöntemdir. Bu model seçilen miktarda otolog kanı sisterna magna aracılığı ile subaraknoid boşluğa enjekte ederek SAK oluşturma prensibine dayanmaktadır. Otolog kan bir defa enjekte edilebildiği gibi (tek kanama) genellikle 48 saat aralıklı olarak iki defa (çift kanama) da enjekte edilebilmektedir (Prunell, Mathiesen, & Svendgaard, 2002).

SAK sonrası en çok karşılaşılan kognitif bozukluklar hafıza, yönetici işlevler ve konuşma fonksiyonlarıyla ilgilidir. Bu işlevler genel olarak medial temporal lobun hipokampus ve frontal lob bölgelerinde kontrol edilmektedir ve bu işlevlerde görülen bozukluklar da bu bölgelerdeki fonksiyon bozukluğu ile ilişkilidir. SAK geçiren hastaların çoğunda depresyon, anksiyete, yorgunluk ve uyku bozuklukları gibi sorunlar da bildirilmiştir (Al-Khindi, Macdonald, & Schweizer, 2010). Çeşitli çalışmalar, SAK sonrası hipokampus aracılı öğrenme ve hafıza fonksiyonlarında bozukluk olduğunu göstermektedir (Han et al., 2014; Provencio et al., 2016; Silasi & Colbourne, 2009; Takata et al., 2008).

SAK sonrası görülebilen öğrenme ve hafıza bozukluklarının fizyopatolojisini anlayabilmek için yapılan birçok çalışma mevcuttur. LTP (uzun dönemli potansiyasyon) ile ilişkili olan moleküller, reseptör seviyeleri, sinaps miktarı, nöron sayısı gibi parametreler çeşitli araştırmalara konu edilmiştir. MikroRNA'lar (miRNA'lar) ile öğrenme ve hafıza bozuklukları da bu araştırmalara konu olmuştur.

Dendritler post-sinaptik bölgede uyarı alan bölgelerdir ve dendritlerin uzunluğu, dallanması gibi faktörler sinaptik plastisite açısından önemlidir. Bir nöronun dendritleri ne kadar çok alan kaplıyorsa o kadar çok uyarı almak için uygun yüzey alanına sahiptir. Nöronal aktivitenin fazla olduğu bölgelerdeki nöronların dendritleri daha çok dallanma gösterir ve daha uzundur (Y. Chen & Ghosh, 2005).

Dendritlerde bulunan dendritik dikensi çıkıntılar yüzey alanını genişleten yapılardır (Colonnier, 1968). Bu çıkıntılarda bulunan glutamat reseptörlerinin, aktin filamentlerinin dinamiğini etkileyen proteinlerin ve diğer post-sinaptik bölge proteinlerinin miktarı gibi faktörler dikensi çıkıntısının morfolojisini dolayısıyla sinaptik plastisiteyi etkilemektedir. Söz konusu proteinlerin sentezinin dendritik dikensi çıkıntılarının taban ve boyun

bölgelerinde yoğunlaştığını göz önüne alırsak miRNA etkili mRNA translasyonu baskılamasının da bu bölgelerde olması gerektiğini söyleyebiliriz. Özellikle glutamat reseptörlerinin seviyesini ve aktin filamentlerinin dinamiğini düzenleyen proteinlerin sentezinin regülasyonu açısından miRNA'lar sinaptik plastisite için çok önemlidir (Hering & Sheng, 2001; Matsuzaki, Honkura, Ellis-Davies, & Kasai, 2004; Okamoto, Nagai, Miyawaki, & Hayashi, 2004; G. Schratt, 2009; Shi et al., 1999; Zito, Knott, Shepherd, Shenolikar, & Svoboda, 2004).

miRNA'lar yaklaşık yirmi üç nükleotid uzunluğunda kısa çift iplikli ve kodlamayan bir RNA türüdür (Bartel, 2009). MikroRNA'ların görevi genel olarak komplementer mRNA moleküllerinin işlevini translasyonel seviyede regüle etmektir (Kim, 2005; Winter, Jung, Keller, Gregory, & Diederichs, 2009).

Birçok mikroRNA sinaptik plastisiteye direkt ya da dolaylı yoldan etki yapmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalardan çıkan sonuçlara göre dendrit morfolojisi, dendritik dikensi çıkıntılarının morfolojisi, dendritik dikensi çıkıntılarının yoğunluğu gibi önemli faktörleri en çok etkileyen mikroRNA'ların başında miR-132, miR-134 ve miR-138'in geldiği söylenebilir (Bicker, Lackinger, Weiss, & Schratt, 2014; Siegel, Saba, & Schratt, 2011).

Subaraknoid kanamada mikroRNA'lar şimdiye dek çok az çalışmaya konu edilmiştir. Farklı iskemi durumlarında miR-132 seviyesinin yükseldiği belirlenmekle birlikte bu mikroRNA'nın seviyesinin iskemik durumlarda nöroprotektif olarak yükseldiği düşünülmektedir (Keasey, Scott, Bantounas, Uney, & Kelly, 2016; Lei et al., 2015). miR-134 seviyesinin de iskemik durumlarda yükseldiği ve farklı yollar üzerinden hücre ölümü ve apoptozu indüklediği daha önce yapılan çalışmalar sonucunda bildirilmiştir (Chi et al., 2014). miR-138 seviyesi ise serebral iskemik durumlarda miR-132 ve miR-134'ün aksine düşmektedir. miR-138'in hedef proteinlerinden biri olan Lcn-2 (Lipocalin 2) proteininin nöronal hücre ölümü üzerine indükleyici etkisi vardır. Bu sebeple miR-138 seviyesindeki düşüş bu yolak üzerinden hücre ölümünü arttırmaktadır (Rathore et al., 2011; X. J. Tang et al., 2016).

Güncel araştırmalar beyin ve davranışsal plastisite oluşumları üzerinde ortam koşullarının insan ve hayvanlar üzerindeki etkisini ortaya koymaktadır (Cymerblit-Sabba et al., 2013; Leger et al., 2012; Moodie et al., 2013; Vazquez-Sanroman et al., 2013; Y. Y. Zhao et al., 2012).

Zenginleştirilmiş ortam; sosyal etkileşim, fiziksel egzersiz ve sürekli değişen materyallerin birleşiminden oluşan öğrenme ve hafızayı geliştirmeye yönelik özellikleri barındıran alan olarak tanımlanabilir. Hayvanlar üzerinde yapılan deneylerde genellikle daha büyük kafesler, sürekli değişen objeler, egzersiz için materyaller ve daha çok hayvanın bir arada tutulması gibi koşullar sağlanmaktadır. Deney hayvanlarının sosyal etkileşiminin ve fiziksel aktivitesinin kısıtlandığı, zenginleştirilmiş ortam ile karşılaştırmalar yapmak için kullanılan diğer bir yaşam ortamı ise izole ortam koşullarıdır (Franklin, Murphy, Myers, Clarke, & Currie, 2006; Volkens & Scherder, 2011) (Şekil 2.21, Şekil2.22).



Zenginleştirilmiş ortamın nörokimyasal değişikliklere yol açtığı ve bu ortamda tutulan hayvanların kortekslerinin daha yoğun olduğu bilinmektedir. Bu yoğunluk nöronal somaların genişlemesi, dendritlerin uzunluğunun ve sayılarının artması ve dendritik dikensi çıkıntılarının yoğunluğu ve büyüklüğündeki artışlara bağlıdır (Rosenzweig, 1984).

Zenginleştirilmiş ortam koşullarının nörodejeneratif hastalıklar ve iskemik durumlarda da olumlu etkileri vardır (Segovia, Yague, Garcia-Verdugo, & Mora, 2006; Steiner et al., 2006; Will, Galani, Kelche, & Rosenzweig, 2004).

Zenginleştirilmiş ortam koşulları hem hipokampus hem de korteks bölgelerindeki nöronların dendritlerinde bulunan dendritik dikensi çıkıntı yoğunluğu üzerinde olumlu etki yapmaktadır (Johansson & Belichenko, 2002; Jung & Herms, 2014; Rojas et al., 2013). İskemi modeli uygulanmış sıçanlarda bu çıkıntı sayılarının düştüğü fakat zenginleştirilmiş ortam koşullarının iskemi sonrası iyileşmeye katkısı olduğu ve dikensi çıkıntı miktarını yeniden arttırdığı gösterilmiştir (Johansson & Belichenko, 2002).

Hem farklı ortam koşullarının incelendiği hem de SAK modeli uygulanmış hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda miRNA'lara çok az değinilmiştir. Çalışmamızda hem farklı ortam koşullarının hem de SAK oluşumunun özellikle hafıza üzerine etkisi olduğu bilinen miRNA seviyeleri üzerine etkisi görülmek istenmiştir. Çalışmadan çıkan sonuçlar neticesinde SAK hastalarının farklı ortam koşullarında tutulmasının hafıza fonksiyonu açısından önemli bazı miRNA'lar üzerinde neden olduğu farklılıkları ortaya koymak amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

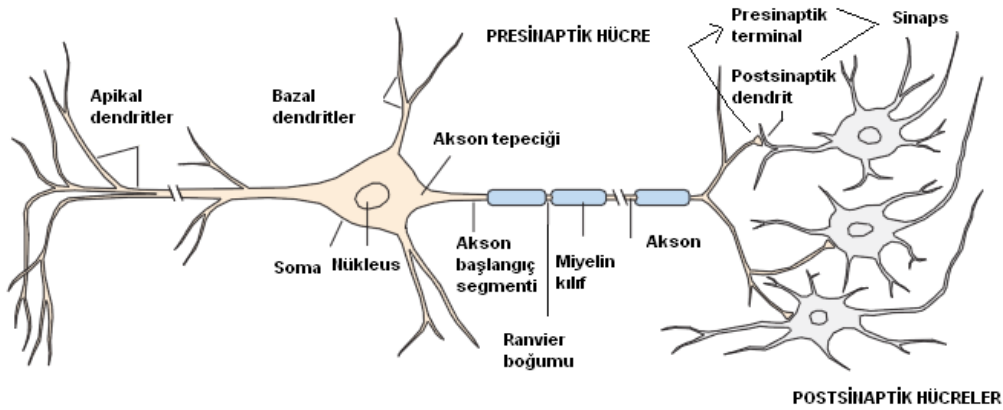
### 2.1. Nöronlar ve Sinaptik Yapılar

#### 2.1.1. Nöronlar ve Sinaptik İletim

Nöronlar, elektriksel ve kimyasal sinyalleri kullanarak aldıkları bilgiyi bir bölgeden başka bir bölgeye taşıma yeteneğine sahip hücrelerdir. Beyinde çok sayıda bulunan nöronların bilgileri en hızlı şekilde iletme özelliklerine uygun morfolojileri diğer hücre tiplerinden oldukça farklıdır. Diğer hücrelerle bilgi alışverişini sağlayan sinaps bölgeleri ve elektriksel uyarılma yeteneğine sahip olmaları bütün nöron tiplerinde görülen ortak özelliklerdir. Buna rağmen her nöron hücrelerini bir diğerinden ayırmaya yarayan farklı özellikleri de mevcuttur.

Bir nöron genel olarak 4 ana bölgeden oluşmaktadır. Soma adı da verilen hücre gövdesi nöron hücrelerinin metabolik merkezidir. Gen transkripsiyonunun ve protein sentezinin yürütüldüğü çekirdek hücre gövdesinde yer almaktadır. Soma aynı zamanda bilgi iletimini sağlayan iki temel birim olan akson ve dendritlerin çıktığı bölgedir.

Dendritler hücre gövdesinden çıkan ve ağaç dallarına benzer şekilde dallanan, diğer hücrelerden bilginin alınmasından sorumlu olan kısımlardır. Aksonlar ise dendritlere göre daha uzun yapılar olup, bilginin elektriksel sinyal biçiminde başka hücrelere iletilmesinden sorumlu olan uzantılardır. Bu elektriksel sinyaller, yaklaşık 1 milisaniyelik geçici ve hızlı uyarıların hep ya hiç yasasına uygun aksiyon potansiyeline dönüşmüş halleridir (Şekil 2.1).



**Şekil 2.1:** Nöron hücreleri ve sinaps bölgelerinin genel yapısı (Kandel, 2013b)

Her bir nöron, bütün nöron hücrelerinde sentezlenen ortak molekülleri ve kendi nöron tipine bağlı olarak sentezlenen özel molekülleri karışık olarak sentezleyebilme yeteneğine sahiptir. Nöronlarda sentezlenen moleküller genel olarak enzimler, yapısal proteinler, hücre zarı bileşenleri ve salgı molekülleri. Bu moleküllerin ve yapısal kısımların farklılıkları

nöronları yapısal ve fonksiyonel olarak sınıflandırabilme olanağını vermektedir.

Nöronların morfolojisi; elektrofiziksel özellikler, nörotransmitter üretimi, diğer hücrelerden alınan uyarılara bağlı olarak gelişen anatomik farklılıklar ve polariteye göre değişkenlik göstermektedir.

Sinaptik iletişim, veziküller yardımıyla presinaptik bölgedeki akson terminallerinden salınan nörotransmitterler ile genellikle dendritler üzerinde bulunan postsinaptik bölgede gerçekleşen reseptör sentezi arasındaki ilişkiye bağlı olarak oluşmaktadır. Postsinaptik membran potansiyelindeki değişim eşik değerini geçecek düzeyde ise, aksiyon potansiyeli oluşarak nöron boyunca yayılıp bir sonraki hücreye sinyal gönderimi sağlanır.

Nörotransmitter ve reseptör etkileşiminin hücre zarı potansiyelini değiştirme durumuna göre sinapslar inhibitör veya eksitatör karakterde olabilmektedir. İnhibitör sinapslar postsinaptik bölgede aksiyon potansiyeli oluşma olasılığını azaltırken, eksitatör sinapslar ise postsinaptik bölgede aksiyon potansiyeli oluşma olasılığını artırma yeteneğine sahiptir (Kandel, 2013b).

### **2.1.2. Mikrotübüller ve Mikrotübül Bağlayıcı proteinler (MAPlar)**

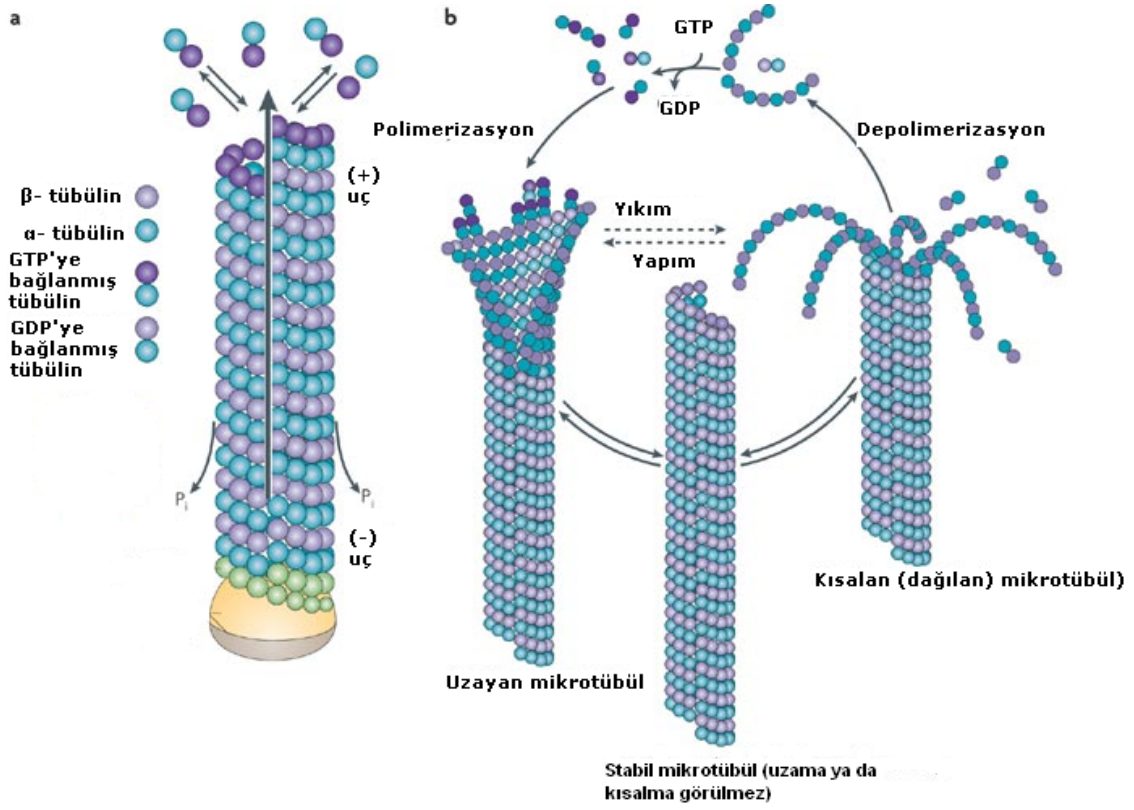
Ökaryotik hücrelerin çeşitli şekillere dönüşmesi ve hareketlerinin koordineli olarak yönlendirilmesi, sitoplazma içerisinde yaygın halde bulunan hücre iskeleti olarak adlandırılan kompleks bir protein ağı tarafından sağlanmaktadır. Kemiklerden oluşan vücut iskeletinden farklı olarak bu yapı, hücrenin şeklinin değişmesi, bölünmesi ve çevre uyarılarına cevap vermesi ile yeniden organize olabilmesini sağlayan oldukça dinamik bir oluşumdur.

Hücre iskeletinin yapısında bulunan mikrotübül adı verilen yapılar, yaklaşık iki yüz Angstrom(A) çapında ve birkaç mikron uzunluğunda olup, alfa ( $\alpha$ ) tübülün ve beta ( $\beta$ ) tübülün adı verilen proteinlerden oluşan on üç tane protofilamentin biraraya gelerek oluşturduğu içi boş silindir biçiminde yapılarıdır.  $\alpha$ -tübülün ve  $\beta$ -tübülün heterodimerlerinin  $\alpha$ - $\beta$ - $\alpha$ - $\beta$ - $\alpha$ - $\beta$  tübülün şeklinde ucuca eklenmesi sonucu mikrotübüllerde bir kutuplaşma ortaya çıkar. Mikrotübüller oldukça dinamik yapılar olup, rahatlıkla kısalıp uzayabilirler. Yapılan deneysel çalışmalar, mikrotübüllere yeni tübülün altbirimlerinin ilavesi veya alt birimlerin ayrılmasının, her iki uçta da olmakla birlikte, tercihen bir uçta daha fazla olduğu yönünde deliller ortaya koymuştur. Bu uç (+) uç olarak adlandırılır. Hızla büyüyen bir (+) uç ve yavaş büyüyen bir (-) uçtan kaynaklanan polarite mikrotübül boyunca hareketin yönünü belirlemede önemlidir. Bu hareketi sağlayan kinezin proteinleri (+) uca doğru hareket ederken, dinein proteinleri ise (-) uca doğru hareket ederler. Bu proteinler bir uçlarından mikrotübül yüzeyine diğer uçlarından taşınacak diğer hücresel elemanlara bağlanır ve mikrotübül üzerindeki yürümesi ile birlikte bu taşıdığı elemanların da taşınmasını sağlar. Tübülün dimerleri polimerleşebildikleri gibi ayrışabilirler ve hızlı bir yapılanma ve ayrışma döngüsüne girebilirler. Hem  $\alpha$ -tübülün hem de  $\beta$ -tübülün GTP (Guanozin trifosfat)'ye bağlanır.  $\beta$ -tübülüne bağlı

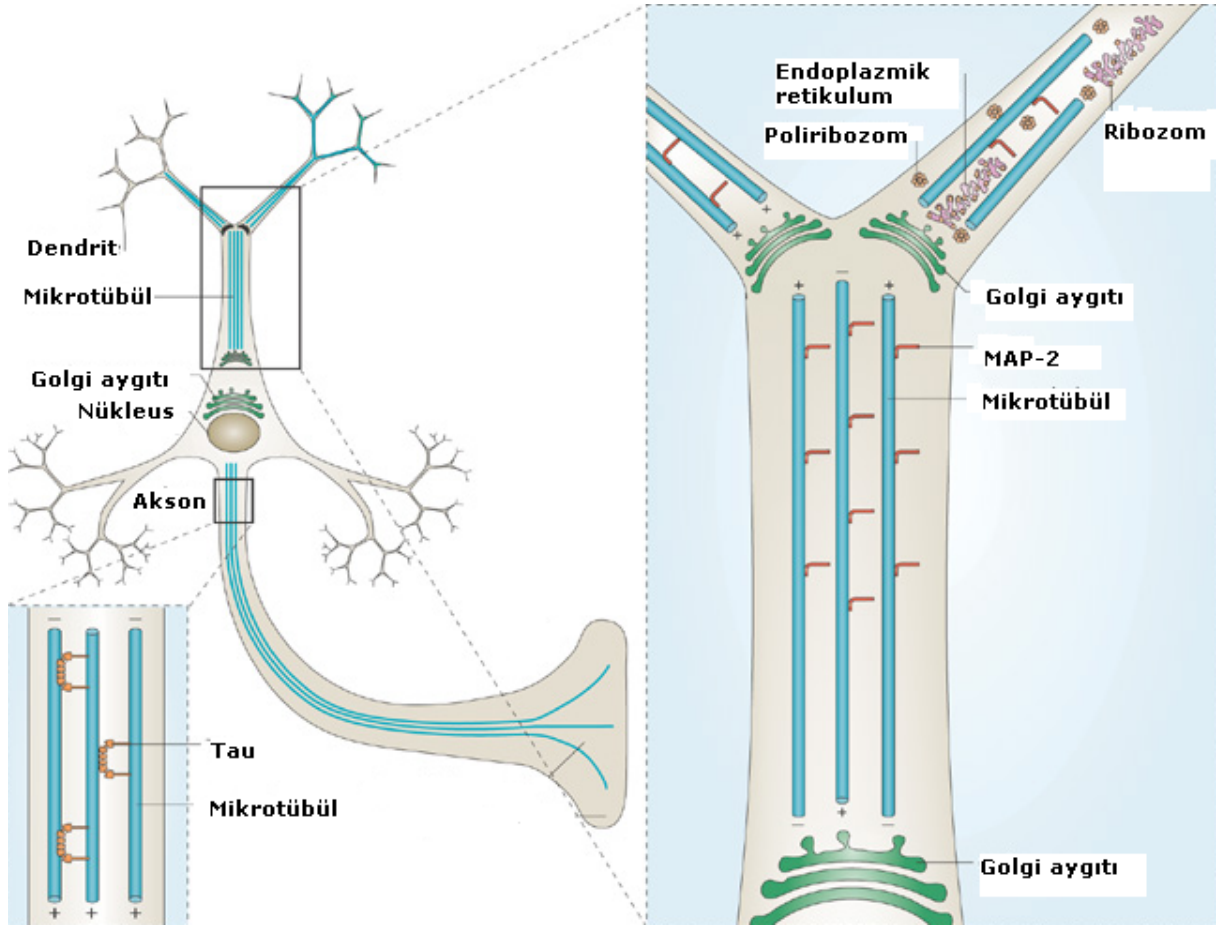
GTP polimerleşme sırasında ya da kısa bir süre sonra GDP (Guanozindifosfat)'ye hidrolize olur. Bu GTP hidrolizi tübülünün komşu moleküllere bağlanma eğilimini azaltır, böylece ayrışmaya yardımcı olur ve mikrotübüllerin dinamik değişkenliğini sağlar (Şekil 2.2). Genellikle bir uçları sentrozoma bağlı olup diğer uçları sitoplazmada serbest olarak bulunur. Mikrotübüllerin hizasında hareket eden motor proteinler ile ökaryotlardaki membran ile çevrili organellerin hücre içi lokalizasyonu sağlanır. Hücre iskeletini oluşturan elemanlardan biri olan mikrotübüllerin hücreye desteklik yapmak, hücre içi madde iletiminde rol almak, hücre bölünmesi sırasında kromozomların kutuplara çekilmesini sağlamak, sentriol, bazal cisim, sil ve flagellat gibi oluşumların yapısında bulunmak gibi önemli görevleri vardır (Conde & Caceres, 2009; Tekşen, 2006).

Doğal dinamik kararsızlıkları nedeniyle çoğu mikrotübül hücre içinde ayrılmış durumda bulunur. Bu dinamik davranış, ancak mikrotübüller başka proteinler ile etkileşime girerlerse değişebilir. Mikrotübül bağlayıcı proteinler (MAPlar) mikrotübüllere bağlanır ve onların kararlılık durumlarını belirler (Şekil 2.3). Bir MAP grubu, tübülün/GTP kompleksine bağlandıkları ve uzayan mikrotübülleri hücredeki spesifik yerleşimlerine doğru izledikleri için, artı uç izleyici proteinler olarak adlandırılır. Diğer MAP'lar mikrotübüllerin ya artı ya da eksi uçlarını kapatır. Bu gibi etkileşimler, mikrotübüllerin hücrede belli yerleşimlerde kararlı kalmasını sağlar ve hücre şeklinin ve polaritesinin belirlenmesinde önemli bir mekanizma oluşturur. Çok sayıda MAP tanımlanmıştır ve bunlar hücre tipine bağlı olarak çok farklı olabilirler. En iyi tanımlanmış olanlar, nöronal hücrelerden elde edilen MAP-1, MAP-2, tau ve nöronal olmayan tüm omurgalı hücrelerinde bulunan MAP-4'tür. MAP'ların aktiviteleri fosforillenme ile düzenlenir, bu da hücrenin mikrotübül kararlılığını kontrol etmesini sağlar. Sinir hücrelerinde akson ve dendritlerdeki mikrotübüllerin düzenlenişi farklıdır ve farklı MAP'lar ile bağlıdır. Aksonlarda mikrotübüllerin hepsi diğer hücre tiplerindeki mikrotübüllerin genel yönelimlerine benzer olarak, artı uçları ile hücre gövdesinden uzağa yönelmişlerdir. Bu mikrotübüllerin eksi uçları sentrozoma tutunmamış olup, hem artı hem eksi uçlar sitoplazmada sonlanmaktadır. Dendritlerde mikrotübüller her iki tarafa da yönelmiştir. Mikrotübül yapılanmasındaki bu fark ile MAP'lardaki farklılıklar paraleldir. Aksonlarda tau protein bulunurken MAP-2 bulunmaz, dendritlerde ise MAP-2 olduğu halde tau protein bulunmaz (Şekil 2.3) (Conde & Caceres, 2009; Güneş, 2013; Sakızlı, 2006).

Birbiriyle ilişkili bağıntılar ve ölçümler yoluyla elde edilen deneysel kanıtların birkaçı öğrenme ve bellek oluşturmanın mikrotübüllerin reorganizasyonu sonucu olduğunu desteklemektedir.

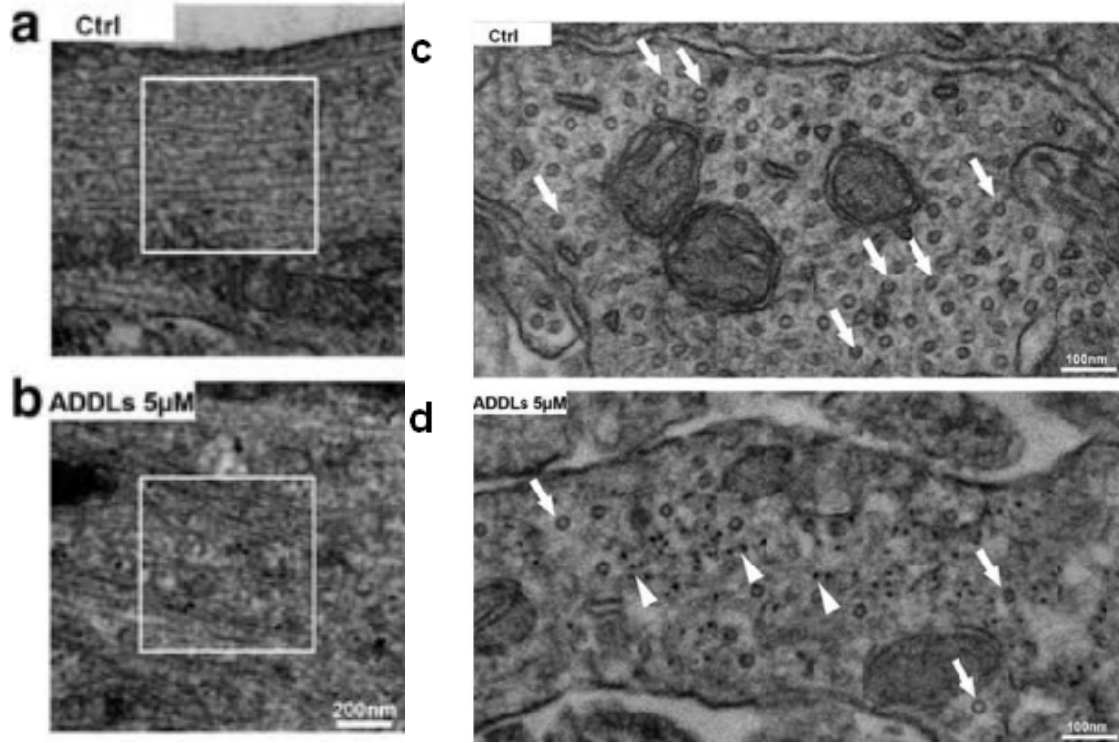


**Şekil 2.2:** Mikrotübüllerin polimerizasyonu ve depolimerizasyonunun şematik gösterimi. a- GTP ile bağlanan tübülün monomeleri uzayan (+) uca eklenerek polimerizasyonun devamını sağlar, b- Mikrotübüllerin polimerizasyon ve depolimerizasyon döngüsü (Conde & Caceres, 2009)



**Şekil 2.3:** Akson ve dendritlerdeki MAP-2 ve tau proteinlerinin yerleşimi (Conde & Caceres, 2009)

Amiloid  $\beta$  proteinleri Alzheimer gibi hafıza fonksiyonlarında bozulma görülen hastalıklarda seviyesinde normale göre değişiklik görülen proteinlerdir. Özellikle Alzheimer hastalığında bu proteinlerin birikip plak oluşturduğu bilinmektedir. Oluşan plakların nöronlar arasındaki bağlantıları etkilediği ve bu sebeple hafıza fonksiyonlarında azalma görüldüğü düşünülmektedir (Roberson & Mucke, 2006; Shankar et al., 2008). Amiloid  $\beta$  oligomerlerinin indüksiyonu sonucu tau proteinlerinin dendritlere yayılmasıyla mikrotübüllerin şekilsel bütünlüğünde bozulmalar görülmektedir (Zempel, Thies, & Mandelkow, 2010) (Şekil 2.4).



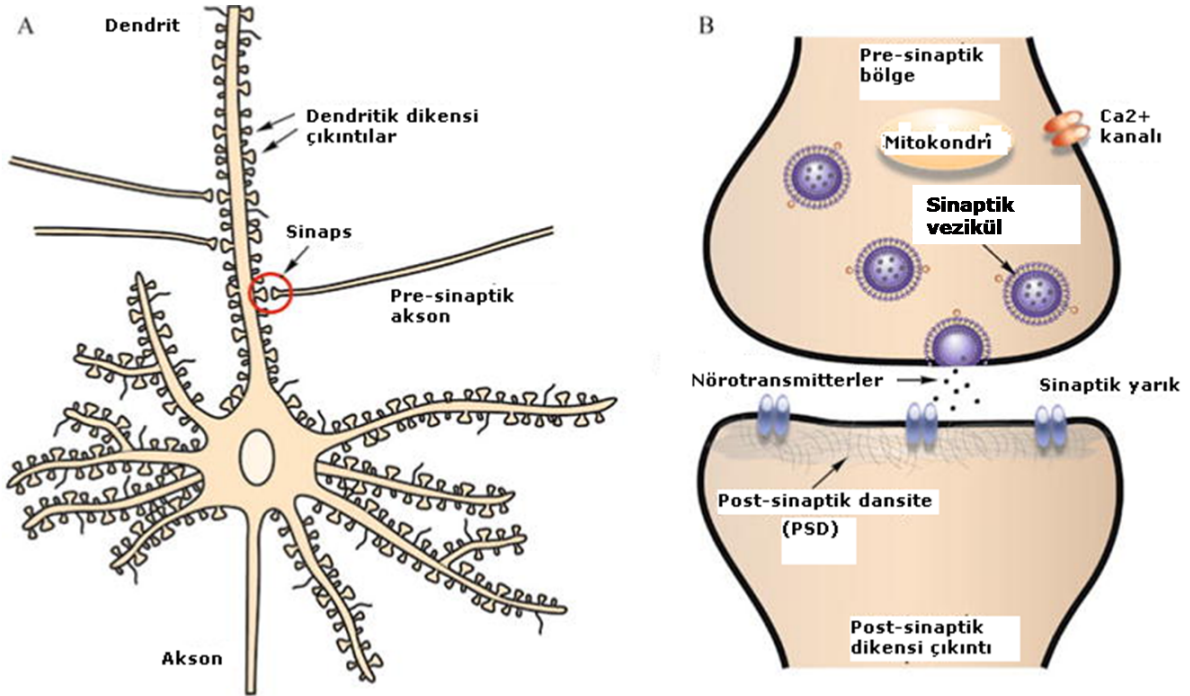
**Şekil 2.4:** TEM yöntemi kullanılarak belirlenmiş A $\beta$  indüksiyonu sonucu dendrit ve akson bölgelerinde görülen mikrotübül dejenerasyonu. a- Primer hipokampal nöron hücrelerinin akson bölgesindeki kontrol şartlarında görülen düzenli mikrotübül yapısı, b- A $\beta$  indüksiyonu sağlandıktan sonra mikrotübüllerin düzenli görünümünün bozulması ve serbest nörofilamentlerin dağılmış görünümü, c- Primer hipokampal nöronların dendrit bölgesinde kontrol şartlarında görülen mikrotübül yapısı. (Mikrotübüller oklarla gösterilmiştir) d- A $\beta$  indüksiyonu sonucu düzenli mikrotübül görünümünde bozulmalar görülmektedir. (Mikrotübüller yine oklarla, dağıntık nörofilamanlar ise üçgenler ile gösterilmiştir) (Zempel et al., 2010).

### 2.1.3. Dendritik Dikensi Çıkıntılar

Beyin aldığı bilgileri sinirler vasıtasıyla bir bölgeden bir diğer bölgeye elektrik sinyalleri şeklinde taşımaktadır. Bu sinyaller bir sinir hücresinin aksonundan post-sinaptik hücrenin membranına direkt olarak temas ile aktarılamaz. Arada bulunan sinaptik yarıktan bu elektriksel sinyallerin geçebilmesi için öncelikle kimyasal sinyale dönüştürülmesi gerekir. Pre-sinaptik bölgeden salınan bu kimyasal sinyaller nörotransmitter maddelerdir. Nörotransmitterler pre-sinaptik nöronun akson ucunda salgılanır ve uyarı geldiğinde veziküller içinde sinaptik yarığa bırakılır. Post-sinaptik bölgedeki reseptörler bu nörotransmitterler ile etkileşime girer ve kimyasal sinyaller yine elektriksel sinyale dönüştürülerek bir sonraki nörona iletilmek üzere akson ucuna gönderilir. Post-sinaptik membran üzerinde proteinden zengin PSD (post-sinaptik yoğunluk) bölgeleri bulunur. PSD reseptörler, yapısal proteinler, adezyon molekülleri ve hücre iskeleti elemanlarını içeren çeşitli proteinleri barındıran makromoleküler sinyal kompleksi olarak tanımlanabilir. Bu bölgenin görevinin nörotransmitterlerden alınan kimyasal uyarıyı elektriksel uyarıya

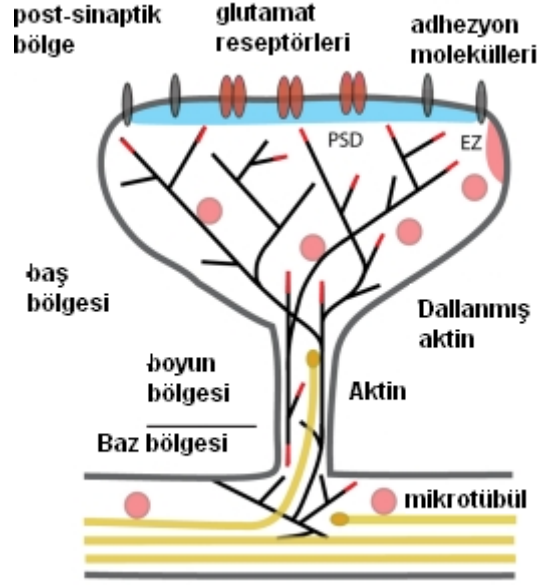
çevirmek ve iletimin devamlılığını sağlamak olduğu düşünülmektedir (X. Chen et al., 2008; Kennedy, 2000). Dendritik dikensi çıkıntı oluşumlarının bu PSD bölgelerine sahip olduğu ve PSD miktarının dikensi çıkıntılarının şeklinin değişmesini etkilediği bilinmektedir (Yuste & Bonhoeffer, 2001).

Dendritik dikensi çıkıntılar birçok nöronun dendritlerden çıkan ve bir ağacın dallarındaki yapraklar gibi dendrit kollarını saran küçük oluşumlardır (Şekil 2.5-A). Şekilleri ve büyüklükleri değişiklik gösterse de hepsinin yaklaşık  $1\mu\text{m}$  kalınlığında küçük bir baş bölgesi ve baş bölgesini dendrit koluna bağlayan yaklaşık  $0,2\mu\text{m}$  kalınlığında ve  $0,5\mu\text{m}$  uzunluğunda bir boyun bölgesi bulunmaktadır (Şekil 2.6). Dendritik dikensi çıkıntılar halkalı solucanlardan primatlara kadar birçok türde bulunmakla birlikte en bol gözlemlendikleri bölge omurgalıların merkezi sinir sistemindeki nöron hücreleridir (Yuste, 2010).



**Şekil 2.5:** Dendritler ve dendritik dikensi çıkıntılarının şematik gösterimi. A- Bir nöronun dendritik dikensi çıkıntılarının yerleşimi ve sinapsların genel görünümü. B- Dendritik dikensi çıkıntısı ve diğer nöronun akson ucu arasındaki sinaptik bölgelerin görünümü (Smrt & Zhao, 2010).



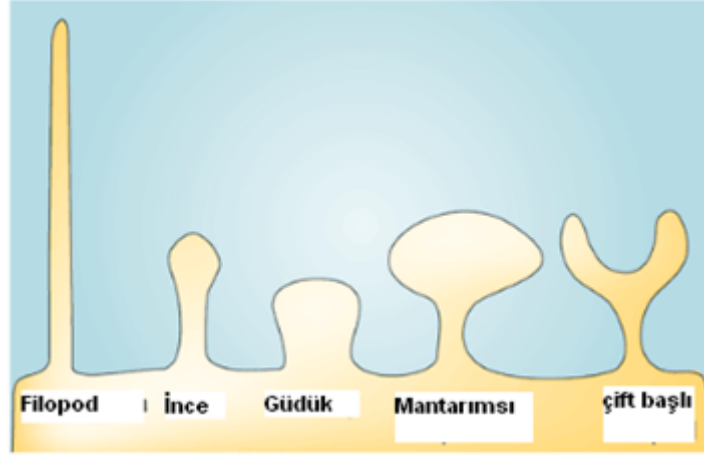


**Şekil 2.6:** Mantarimsı bir dendritik dikensi çıkıntının şematik çizimi (Hotulainen & Hoogenraad, 2010)

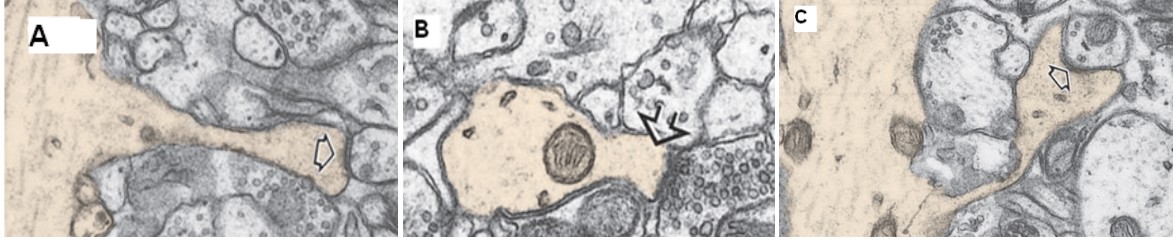
Bugün artık dendritik dikensi çıkıntılarının eksitator uyarılarının büyük kısmını alan yapılar olduğunu biliyoruz. Tüm dikensi çıkıntılarının baş bölümünde sinaps bölgesi bulunmaktadır (Arellano, Benavides-Piccione, DeFelipe, & Yuste, 2007) (Şekil 2.5). Dikensi çıkıntılar dendritlerin yüzey alanını arttırmakta ve böylece uyarı alabilmek için dendrit üzerinde daha fazla alan oluşmaktadır (Colonnier, 1968).

Dikensi çıkıntılar; PSD, glutamat reseptörleri, aktin filamentleri gibi yapılar barındırmaktadır. Bunun dışında endoplazmik retikulum, mitokondri, endozom gibi organelleri de içermektedir (Sheng & Hoogenraad, 2007).

Elektron mikroskopi çalışmaları dendritik dikensi çıkıntılarının morfolojisine göre 4 ana gruba ayrılabilceğini ortaya koymuştur. Bunlar filopodlar, ince ve filopod benzeri çıkıntılar (ince dendritik dikensi çıkıntılar), düzgün bir baş bölgesine sahip olmayan kısa çıkıntılar (güçük dendritik dikensi çıkıntılar) ve geniş bir baş bölgesine sahip dendritik dikensi çıkıntılar (mantarimsı dendritik dikensi çıkıntılar)'dır (Bourne & Harris, 2008) (Şekil 2.7, Şekil 2.8). Sinaptik bağlantının gücü gibi bazı etkenlerle, dendritik dikensi çıkıntılarının morfolojileri sürekli olarak değişmektedir. Dikensi çıkıntı dinamiklerinin nöronal aktivite ile birlikte değiştiği in vivo ve in vitro yöntemlerle gösterilmiştir (Holtmaat, Wilbrecht, Knott, Welker, & Svoboda, 2006; Matsuzaki et al., 2004; Roberts, Tschida, Klein, & Mooney, 2010).



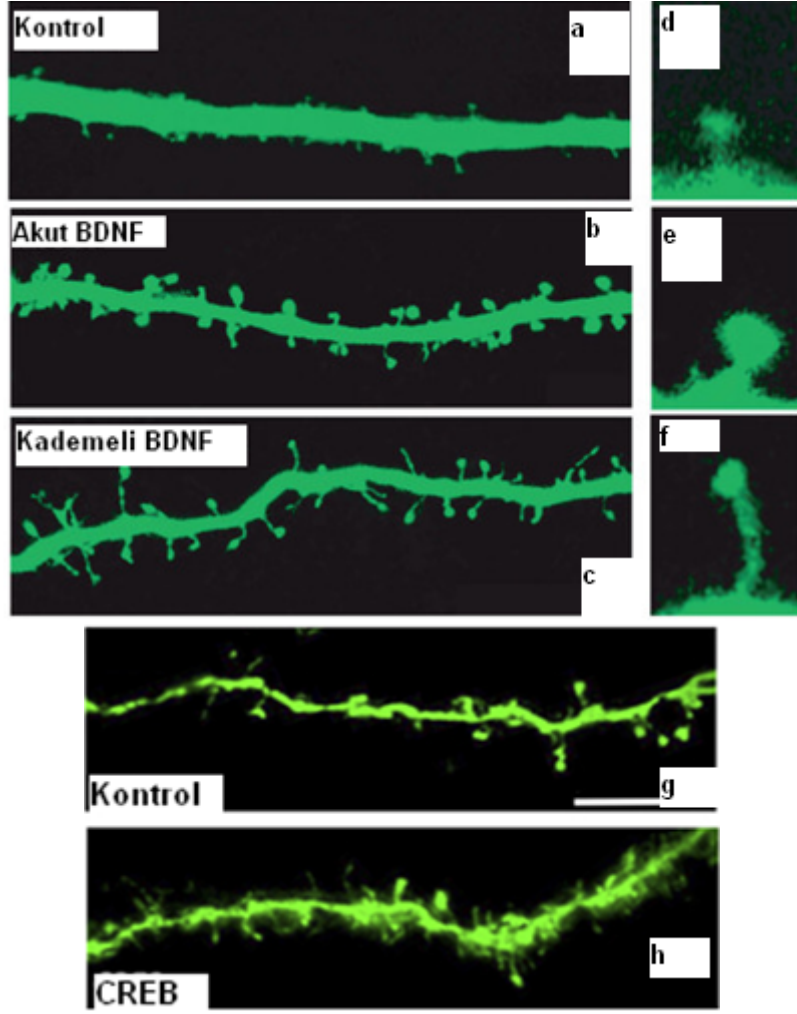
**Şekil 2.7:** Değişik dendritik dikensi çıkıntı morfolojilerinin şematik olarak gösterimi (Hering & Sheng, 2001)



**Şekil 2.8:** Hipokampüsün CA1 bölgesindeki piramidal nöronların dendritlerindeki dendritik dikensi çıkıntı çeşitlerinin TEM ile çekilmiş fotoğrafları. A- İnce dikensi çıkıntı, B- Gүdük dikensi çıkıntı, C- Mantarimsı dikensi çıkıntı (Kandel, 2013a)

Hafıza ve öğrenme fonksiyonlarında önemli role sahip olan LTP (uzun süreli potansiyasyon) indüksiyonu sonucunda dikensi çıkıntılarının baş bölgesinde genişleme görülmektedir. LTD (uzun süreli depresyon) indüksiyonu sonucunda ise dikensi çıkıntılarının baş bölgelerinin küçüldüğü gözlemlenmiştir (van Spronsen & Hoogenraad, 2010).

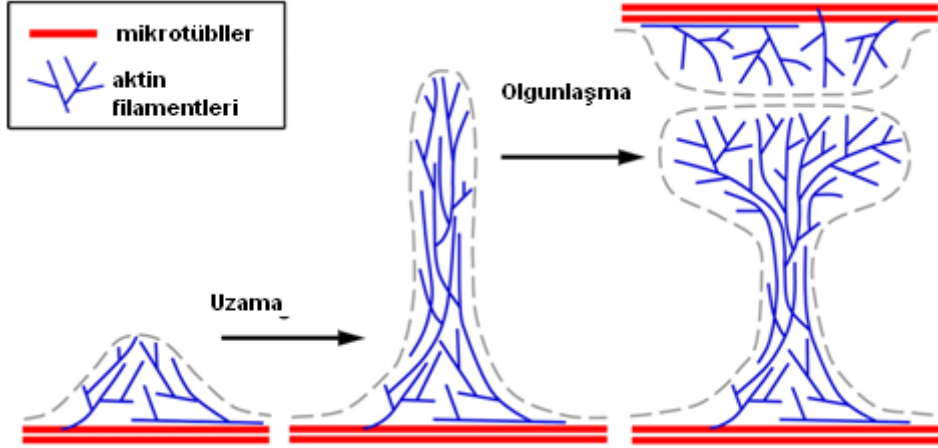
BDNF (Beyin-Türevli Nörotrofik Faktör) indüksiyonu sıçan hipokampal nöronlarının dendritlerinde dendritik dikensi çıkıntı miktarını arttırmaktadır. BDNF çıkıntılarının hem sayısına hem de morfolojisine etki etmektedir (Lu, Park, & Poo, 2014). BDNF gibi CREB (cAMP response element-binding protein) proteinlerinin miktarındaki artışın hafıza ve öğrenme ile doğrudan ilişkili olduğu bilinmektedir. Sıçanların amigdala nöronları üzerine yapılan bir çalışma sonucunda CREB indüksiyonunun da dendritik dikensi çıkıntı morfolojisi ve sayısı üzerine olumlu etki yaptığı görülmüştür (Sargin et al., 2013) (Şekil 2.9).



**Şekil 2.9:** BDNF indüksiyonunun sıçan hipokampal nöronlarındaki ve CREB indüksiyonunun lateral amigdala nöronlarındaki dendritik dikensi çıkıntılar üzerine etkisi. a- Kontrol şartlarında hipokampal nöron dendritlerinin örnek görüntüsü. b- Akut BDNF indüksiyonu sonucunda mantarimsı dikensi çıkıntılarının sayısının arttığı görülmektedir. c- Kademeli BDNF indüksiyonu sonucunda filopod benzeri ve ince dikensi çıkıntılarının miktarının arttığı görülmektedir. d,e,f- Sırasıyla ince, mantarimsı ve filopod yapısındaki dendritik dikensi çıkıntılarının görünümü. g- kontrol şartlarında amigdala nöronlarında dendrit görünümü. h- CREB proteinlerinin indüksiyonu sonucunda dendritik dikensi çıkıntı miktarında artış görülmektedir (Lu et al., 2014; Sargin et al., 2013).

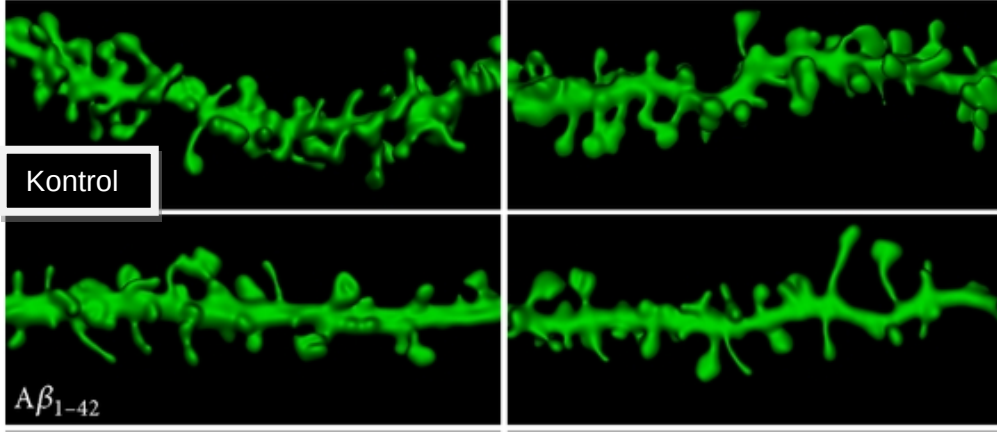
Dendritik dikensi çıkıntılarının içinde bulunan aktin filamentlerinin dinamiği çıkıntılarının şeklini belirlemektedir. Bu filamentlerin dallanması ve tekrar ayrışması sonucu dendritik dikensi çıkıntısının boyutu artmakta ya da azalmaktadır (Hotulainen & Hoogenraad, 2010) (Şekil 2.10). Dikensi çıkıntılarının içinde aktin filamentleri ile birlikte MAP-2 (Mikrotübül ilişkili protein-2) proteinlerinin kolokalize olduğu bilinmektedir. Ayrıca MAP-2 proteinleri dikensi çıkıntılarının PSD bölgesinde çok miktarda bulunmaktadır. Aktin filamentlerinin dallanmasını regüle eden asıl proteinin MAP-2 olduğu düşünülmektedir. Nitekim MAP-2 dendritler boyunca uzanan mikrotübüllerin şekilsel bütünlüğünü de korumakla görevli olan

proteinlerdir (Conde & Caceres, 2009; Morales & Fifkova, 1989). MAP-2 seviyesindeki azalmanın dendritik dikensi çıkıntı yoğunluğunun azalmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir (Shelton et al., 2015).



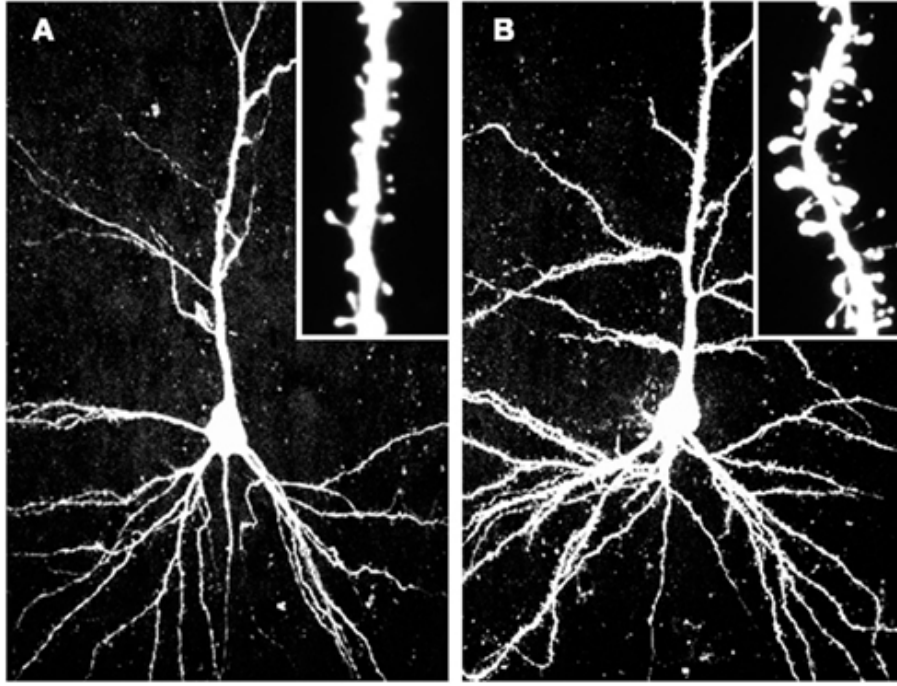
**Şekil 2.10:** Dendritik dikensi çıkıntılarının hacminin aktin filamentlerinin polimerizasyonu sayesinde büyümesinin şematik olarak gösterimi (Korobova & Svitkina, 2010).

Alzheimer hastalığı ile ilişkili olan amiloid  $\beta$  proteinlerinin seviyesindeki yükselme, hipokampüsün CA1 bölgesindeki dendritlerde dikensi çıkıntı yoğunluğunu azaltmaktadır (Chang, Boridy, McKinney, & Maysinger, 2013). Ayrıca amiloid  $\beta$  gibi intraselüler fosforile tau moleküllerinin Alzheimer hastalığında önemli rolleri vardır. Bu moleküllerin normalde akson bölgesinde olması gerekirken çeşitli etkenler sebebiyle dendrit bölgesine doğru yayılması sonucu dendritik dikensi çıkıntı miktarını azalttığı bilinmektedir. Amiloid  $\beta$  oligomerlerinin indüksiyonu sonucu tau proteinlerinin dendritlere yayılmasıyla hem mikrotübüllerde hem de dendritik dikensi çıkıntı morfolojisinde bozulmalar görülmektedir (Merino-Serrais et al., 2013; Zempel et al., 2010) (Şekil 2.11).



**Şekil 2.11:** Amiloid  $\beta$  ile muamele edilen hipokampal nöronlarda dendritik dikensi çıkıntı morfolojindeki değişimler. Amiloid  $\beta$  indüksiyonu sonrasında hem ince hem de mantarimsı çıkıntı sayısında anlamlı ölçüde azalma meydana gelmektedir (Chang et al., 2013).

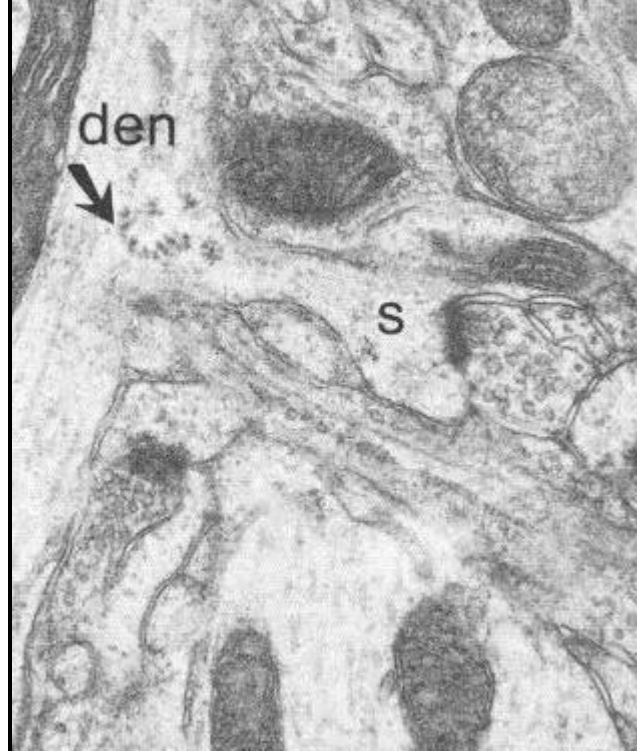
Zenginleştirilmiş ortam koşulları hem hipokampus hem de korteks bölgelerindeki nöronların dendritlerinde bulunan dendritik dikensi çıkıntı yoğunluğu üzerinde olumlu etki yapmaktadır (Johansson & Belichenko, 2002; Jung & Herms, 2014; Rojas et al., 2013). İskemi modeli uygulanmış sıçanlarda bu çıkıntı sayılarının düştüğü fakat zenginleştirilmiş ortam koşullarının iskemi sonrası iyileşmeye katkısı olduğu ve dikensi çıkıntı miktarını yeniden arttırdığı gösterilmiştir (Johansson & Belichenko, 2002) (Şekil 2.12).



**Şekil 2.12:** Zenginleştirilmiş ortamda ve standart ortamda tutulan sıçanların parietal korteksinde görülen dendritik dallanma yoğunluğu ve dendritik dikensi çıkıntı morfolojisindeki farklılıklar. A- standart ortamda tutulan sıçanların parietal korteksinden alınan bir piramidal nöron görüntüsü, B- Zenginleştirilmiş ortamda tutulan bir sıçanın parietal korteksinden bir piramidal nöron görüntüsü. zenginleştirilmiş ortam koşullarının dendritik dallanma ve dikensi çıkıntı morfolojisine olumlu etki yaptığı görülmektedir. Üst sağ bölgede büyütülmüş olarak tek bir dendritteki dikensi çıkıntılar karşılaştırılmıştır (Johansson & Belichenko, 2002).

#### **2.1.4. Dendritik protein sentezi**

Aktiviteye bağlı sinaptik kuvvet değişimleri yeni protein senteziyle birlikte dendritik protein kompozisyonunun değişimi sonucu ortaya çıkmaktadır. 1981 yılında Stewart ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalar dendritik proteinlerin sentezini yürüten mRNA'ların nöronların somasında değil dendritik dikensi çıkıntılarda translasyona uğradığını göstermiştir. Sıçanların dentate gyrus bölgelerinde bulunan granüler hücreler TEM ile incelendiğinde mRNA moleküllerinin translasyonundan sorumlu poliribozomların dendritik dikensi çıkıntılarının boyun kısmında bulunduğu gösterilmiştir (Steward & Levy, 1982) (Şekil 2.13).



**Şekil 2.13:** Dentante gyrus bölgesindeki granüler hücrelerde poliribozomların dağılımı. Somanın proksimalinde dendritik dikensi çıkıntılarının baz bölgesinde poliribozomların yerleşimi gösterilmiştir. Poliribozomlar ok ile, dikensi çıkıntının baş bölgesi ise S ile gösterilmiştir (Steward & Levy, 1982).

## 2.2. Subaraknoid Kanama (SAK)

### 2.2.1. Subaraknoid Kanama Etiyolojisi ve Risk Faktörleri

Beyin, beyincik ve spinal kordun subaraknoid aralık içerisine genellikle arteriel nedenlere bağlı olarak oluşan kanamaya subaraknoid kanama (SAK) denir. İnme vakalarının %10'u ve serebrovasküler ölümlerin %25'i SAK sonucu ortaya çıkmaktadır (Akdemir, 2005). Yapılan epidemiyolojik araştırmalar sonucunda hastaların %15'lik kısmının hastaneye getirilmeden, diğer %20'lik kısmının ise ilk 48 saat içinde öldüğü belirtilmiştir (Bonita & Thomson, 1985). Popülasyonlar üzerinde yapılan çalışmalar SAK geçirdikten 1 yıl sonra hastaların yarısının tamamen iyileşmiş olarak gündelik hayatına geri dönebildiğini göstermekle birlikte evine dönen birçok hastada genellikle kognitif olmak üzere birtakım sıkıntılar ileriki zamanlarda da sürmektedir (Nieuwkamp et al., 2009; Passier, Visser-Meily, Rinkel, Lindeman, & Post, 2011).

Diğer inme türleri ile karşılaştırıldığında SAK vakalarının daha erken yaşlarda ortaya çıkabildiği belirtilmiştir. SAK vakaları ortalama 55 yaş civarında daha sık görülmektedir (de Rooij, Linn, van der Plas, Algra, &

Rinkel, 2007; Nieuwkamp et al., 2009). Ayrıca SAK vakalarının ırklar arasında da oransal farklılık gösterdiği görülmüştür. Batı ülkelerinde her 100.000 insandan 9'unun SAK geçirdiği, Finlandiya ve Japonya'da 100.000 kişiden 20'sinde SAK görülürken, Güney Amerika ve Amerika'nın merkezinde bu sayının 100.000 kişide 4 olduğu görülmüştür (de Rooij et al., 2007). SAK üzerine 48 çalışma üzerinde yapılan bir meta-analiz araştırmasında SAK vakalarının kış mevsiminde özellikle de Ocak ayında daha çok görüldüğü saptanmıştır (de Steenhuijsen Piters, Algra, van den Broek, Dorhout Mees, & Rinkel, 2013).

Çeşitli çalışmalar SAK için en önemli risk faktörlerinin sigara kullanımı ve hipertansiyon olduğunu göstermektedir (Clarke, 2008; Rapsomaniki et al., 2014).

### **2.2.2. Deneysel Subaraknoid Kanama Modelleri**

Bir hastalığı ayrıntılı inceleyebilmek ve ileriki aşamalarda tedavi geliştirebilmek için hayvanlar üzerinde bu hastalığı oluşturabilmek ya da semptomlarını taklit edebilmek önemlidir. SAK modeli oluşturabilmek için şimdiye kadar fare, sıçan, tavşan, köpek ve maymun gibi birçok hayvan türünden yararlanılmıştır (Jeon et al., 2009).

Son zamanlarda SAK çalışmalarında çoğunlukla sıçan kullanılmaktadır. Vazospazm ve SAK sonrası görülen komplikasyonların bu modellerde ortaya çıkması sıçanları bu hastalıkla ilgili çalışmalar için avantajlı kılmaktadır. Ayrıca ucuz ve kolay elde edilebilir oluşları, sıçan biyolojisi ve davranışları hakkında çok sayıda literatür bilgisi bulunması bu hayvanları SAK çalışmaları için tercih sebebi yapmaktadır (Prunell et al., 2002).

SAK modeli uygulamasının dezavantajları ise modeli oluşturmak için teknik bilgi ve ekipman gereksinimi olmasıdır. Genellikle kullanılan 3 çeşit deneysel SAK modeli bulunmaktadır:

- Sisterna magna içerisine kan enjeksiyonu (tek ya da 1-2 gün aralıklı çift enjeksiyon)
- Prekiazmatik sisterna içerisine kan enjeksiyonu
- Endovasküler ya da transkraniyal yöntemler kullanılarak intrakraniyal arterin perforasyonu (Prunell, Mathiesen, Diemer, & Svendgaard, 2003).

Sisterna magna ve prekiazmatik sisternaya enjeksiyon modellerinin ortak prensibi subaraknoid aralık içerisine kan enjekte etmeye dayanmasıdır. Endovasükler perforasyon modeli ise SAK modelleri arasında tek non-kraniyotomik modeldir.

Sisterna magna içerisine enjeksiyon modeli sık kullanılan bir yöntemdir. Bu model seçilen miktarda otolog kanı sisterna magna aracılığı ile subaraknoid boşluğa enjekte ederek SAK oluşturma prensibine dayanmaktadır. Otolog kan bir defa enjekte edilebildiği gibi (tek kanama)



genellikle 48 saat aralıklı olarak iki defa (çift kanama) da enjekte edilebilmektedir (Prunell et al., 2002).

Fare, sıçan, tavşan ve köpeklerde en çok kullanılan SAK oluşturma yöntemidir. Çift enjeksiyon yöntemi daha büyük hayvanlarda tercih edilirken farelerde genellikle tek enjeksiyon yöntemi tercih edilmektedir (Jeon et al., 2009). Enjekte edilen kanın spinal boşluğa yayılabilmesinden dolayı SAK etkileri bazı hayvanlarda daha az gözlenebilmektedir. Bu sebeple ikinci enjeksiyonun yapılması daha sağlıklı sonuçlar için gereklidir (Lee, Sagher, Keep, Hua, & Xi, 2009; Prunell, Mathiesen, & Svendgaard, 2004).

### **2.2.3. SAK ve Vazospazm**

Vazospazm, anevrizmal SAK nedeniyle hastaneye başvuran hastalarda mortalite ve morbiditenin en önde gelen nedenidir (Kassell et al., 1990). SAK sonucu oluşan ve geç dönemde görülen daralmanın en önemli ve kritik özelliği mevcut tedavi yöntemlerine çok az veya hiç cevap vermemesidir (Kahyaoğlu, 2006).

Günümüzde genel olarak kabul edilen; subaraknoid mesafe içindeki arterlerin adventisyasına temas eden kan elemanlarının özellikle de oksihemoglobinin vazospazm nedeni olduğu ve kanamadan hemen sonra intrakraniyal basıncın arttığı, serebral kan akımının ve serebral perfüzyon basıncının aniden düştüğü ve kanamanın şiddetine göre bu değerlerin dakikalar ve saatler içinde normale döndüğüdür. Tekrarlayan kanamaların ise arter duvarında değişikliklere neden olarak damar duvarında kalınlaşmalar ve arter lümeninde daralma sonucu gelişen vaskülopati ile geç vazospazma yol açtığı gösterilmiştir. Arteriyel daralma, SAK sonrası ileri dönemde görülen nörolojik bozuklukların da sebebi olarak görülmektedir. Vazospazmın semptomları saatler günler boyunca yavaş gelişir. Büyük miktarda mortalite ve morbidite oranına sahip olmasının sebebi ise serebral vazospazm sonucu oluşan iskemidir. Oluşan geç dönemli serebral iskemi sonucunda uzun dönemli nörolojik bozukluklar oluşmaktadır (Kahyaoğlu, 2006).

SAK çalışmalarının büyük bölümünün vazospazm üzerine yoğunlaşmasına rağmen serebral iskemi ve nörolojik bozukluklara; vazospazma ilaveten artan intrakraniyal basınç, düşük serebral perfüzyon basıncı, subaraknoid kanama pıhtısı, akut hipertansiyon gibi başka faktörlerin de sebep olabileceği gösterilmiştir. Bu faktörlerin sebep olduğu tromboemboli, beyin ödemi ve apoptoza veya diğer mekanizmalara bağlı nöron ölümleri gibi sekonder etkiler de iskemi oluşmasında ve nörodejenerasyon üzerinde etkilidir (Jeon et al., 2009).

#### **2.2.4. SAK ve Kognitif Bozukluklar**

SAK sonrası en çok karşılaşılan kognitif bozukluklar hafıza, yönetici işlevler ve konuşma fonksiyonlarıyla ilgilidir. Bu işlevler genel olarak medial temporal lobun hipokampus ve frontal lob bölgelerinde kontrol edilmektedir ve bu işlevlerde görülen bozukluklar da bu bölgelerdeki fonksiyon bozukluğu ile ilişkilidir. SAK geçiren hastaların çoğunda depresyon, anksiyete, yorgunluk ve uyku bozuklukları gibi sorunlar da bildirilmiştir (Al-Khindi et al., 2010).

Morris su tankı (MWM), hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda kognitif kayıpları gözlemlemek için yapılabilecek testlere imkan sağlayan bir düzenektir. Hipokampus aracılı öğrenme ve hafıza fonksiyonlarını gözlemlemeyi mümkün kılmaktadır. Bu test için su dolu bir tank içerisine bir platform yerleştirilmektedir. Deneklerin bu platformun yerini öğrenmesi ve yerini bulup üstüne çıkması gerekmektedir. Birkaç denemeden sonra denekler platforma giden en kısa yolu bulmakta ve arama süreleri gittikçe kısalmaktadır (Morris, 1984).

SAK modeli uygulanmış hayvanların hem endovasküler perforasyon, hem preiazmatik sisternaya enjeksiyon, hem de sisterna magnaya çift enjeksiyon yöntemi uygulanmış farklı çalışmalardan çıkan sonuçlara göre platforma çıkış sürelerinin anlamlı ölçüde arttığı ve platformu bulmak için daha uzun bir yol katettikleri gözlemlenmiştir. Bu da SAK sonrası hipokampus aracılı öğrenme ve hafıza fonksiyonlarında bozukluk olduğunu göstermektedir (Han et al., 2014; Provencio et al., 2016; Silasi & Colbourne, 2009; Takata et al., 2008).

#### **2.2.5. SAK Sonrası Görülen Kognitif Bozuklukların Moleküler Temeli**

SAK sonrası öğrenme ve hafıza bozukluklarının fizyopatolojisini anlayabilmek için yapılan birçok çalışma mevcuttur. LTP ile ilişkili olan moleküller, reseptör seviyeleri, sinaps miktarı, nöron kaybı gibi potansiyel sebepler çeşitli araştırmalara konu edilmiştir.

Bir sinaptik plastisite formu olan LTP, EPSP (eksitator post-sinaptik potansiyel) amplitüdlерinin uzun dönemli yükselmesidir. LTP hafıza ve öğrenme fonksiyonlarının temeli olarak görülmektedir. LTP seviyesindeki yükselmeler hafıza ve öğrenme fonksiyonlarında iyileşmeye sebep olurken, LTP'nin kognitif bozuklukların görüldüğü durumlarda seviyesinin önemli ölçüde düştüğü yapılan çeşitli araştırmalarda gösterilmiştir (Kandel, 2013c). SAK sonrası özellikle hipokampus bölgesinde LTP kaybı görülmektedir (Tariq et al., 2010).

Sinaptik plastisitenin aktiviteye bağlı değişimine etki eden LTP indüksiyonu durumunda, iyonotropik glutamat reseptörlerinin bir çeşidi olan NMDA (N-metil-d-aspartat) reseptörlerinin arttığı gösterilmiştir (Fitzgerald, 2012). NR2B (N-metil D-aspartat reseptör altbirimi 2B), NMDA reseptörlerinin bir alt birimidir ve glutamat için agonist bağlanma

bölgesi olarak görev yapmaktadır. Sinaptik bölgelerde ve memelilerin yeni gelişen nöron hücrelerinde çok miktarda bulunduğu bilinmektedir (Mathur, Graybeal, Feyder, Davis, & Holmes, 2009). Sinaptik fonksiyonlar ve kognitif yeteneklerle ilişkili olduğu daha önce yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Guscott et al., 2003; Y. P. Tang et al., 1999; M. G. Zhao et al., 2005). Ayrıca yine sinaptik plastisite üzerinde etkili olduğu bilinen diğer bir glutamat reseptör çeşidi olan AMPA ( $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazole propiyonik asit) reseptörlerinin ve alt birimlerinin seviyesi de kognitif fonksiyonlar üzerinde etkili olmaktadır. SAK sonrası hem NMDA hem AMPA reseptör alt birimlerinin seviyelerinde değişiklikler olduğu farklı çalışmalar sonucunda gösterilmiştir (Bendel et al., 2005; G. Chen et al., 2013; Han et al., 2014).

MAP-2 dendritlerdeki mikrotübüllerin stabilizasyonundan sorumlu proteindir. Aksonlarda bulunmayıp sadece dendritlerde lokalize olması sebebiyle bir postsinaptik belirteç olarak da kullanılmaktadır. Ayrıca MAP-2 seviyesindeki düşüşe bağlı olarak dendritik dikensi çıkıntılarının miktarının azaldığı da bilinmektedir (Shelton et al., 2015). Farklı çalışmalarda SAK sonrası bu proteinin seviyesinin düştüğü bildirilmiştir (Han et al., 2014; Kooijman et al., 2014).

Beyaz madde kaybını yani aksonlardaki dejenerasyonu gözlemleyebilmek için ise aksonlarda bulunan MBP (Miyelin Basic Protein) proteinleri belirteç olarak kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalar SAK sonrası dendritlerdeki kadar kritik düzeyde olmasa da aksonlarda da bozulmalar olduğunu göstermektedir (Han et al., 2014; Kooijman et al., 2014). Ayrıca dendritlerdeki MAP-2 gibi aksonlarda tau proteinlerinin de mikrotübüllerin stabilizasyonundan sorumlu olduğu bilinmektedir. Bu proteinlerin yapısındaki bozukluklar ya da aşırı fosforillenmesi durumunda kognitif bozukluklar görüldüğü bilinmektedir. SAK hastalarında tau proteinlerinin seviyesinde normale göre farklılık bulunduğu ve bu farklılığın uzun dönemli kognitif fonksiyon kayıplarına sebep olabileceği gözlemlenmiştir (Cheng et al., 2014; Helbok et al., 2015; Stomrud, Hansson, Blennow, Minthon, & Londos, 2007).

Sinaptik plastisitede kritik öneme sahip olan BDNF seviyesinin sisterna magnaya çift enjeksiyon yöntemi ile SAK modeli uygulanmış olan sıçanlarda ölçülmesi sonucu bu moleküllerin seviyesinde önemli ölçüde düşüş olduğu gösterilmiştir. Ayrıca nöronal plastisitede yine BDNF gibi büyük öneme sahip olan fosforile CREB düzeyinde de SAK sonrası azalma olduğu bildirilmiştir (T. Li et al., 2016).

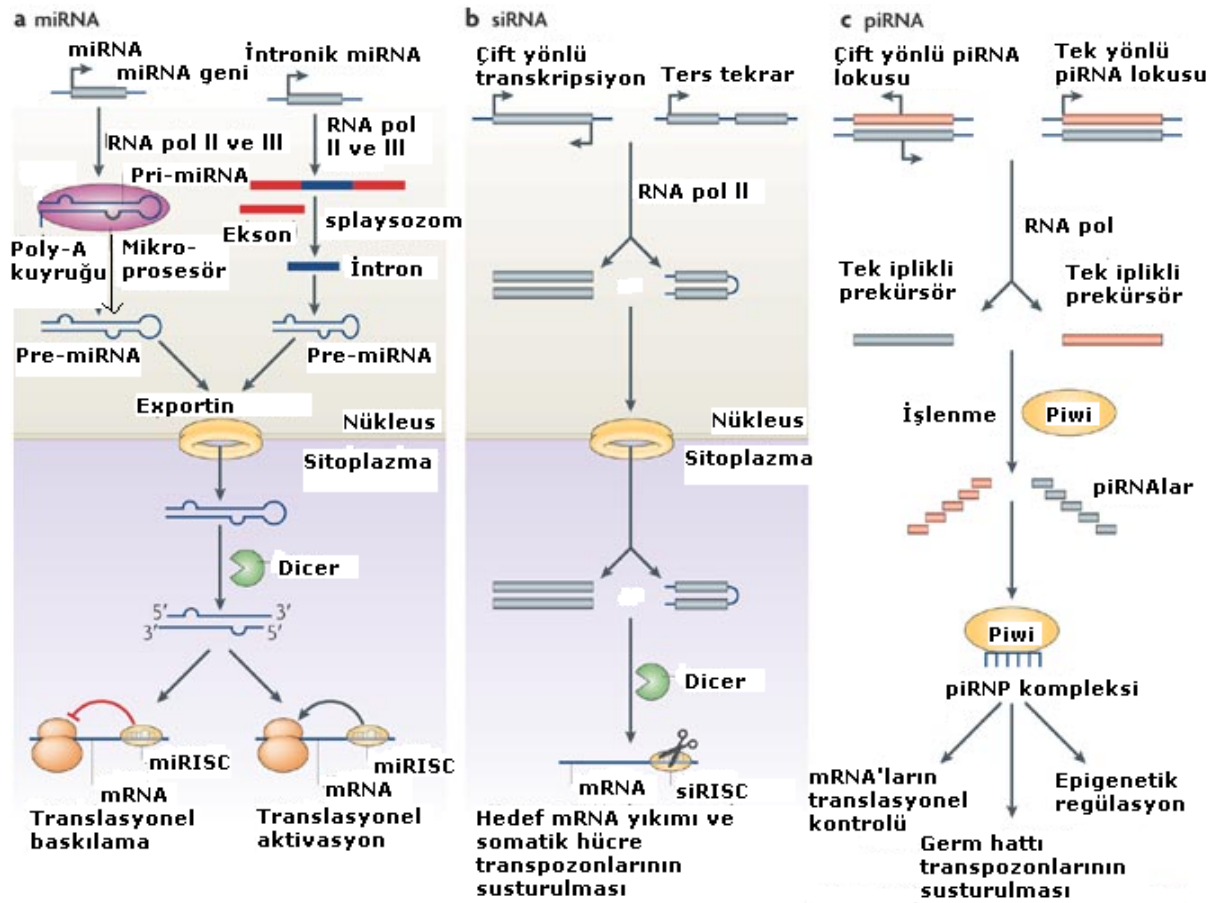
Subaraknoid kanamada mikroRNA'lar şimdiye dek çok az çalışmaya konu edilmiştir. Farklı iskemi durumlarında miR-132 seviyesinin yükseldiği belirlenmekle birlikte bu mikroRNA'nın seviyesinin iskemik durumlarda nöroprotektif olarak yükseldiği düşünülmektedir (Keasey et al., 2016; Lei et al., 2015). miR-132 seviyesindeki artışın SAK sonrası seviyelerinin düştüğü bilinen NR2B ve AMPA reseptör altbirimlerinden olan GluR1 (Glutamat reseptör 1) seviyelerini önemli ölçüde arttırdığı bilinmektedir (Kawashima et al., 2010).

## 2.3. Hafıza ve Öğrenme ile ilişkili MikroRNA'lar

### 2.3.1. RNAi (RNA İnterferans Mekanizması)

RNA interferans (RNAi), uygun çift zincirli RNA'nın hücreye girdiği zaman, endojenik komplementer mRNA dizisinin parçalanmasına yol açan, transkripsiyon sonrası gen susturma mekanizmasıdır (Gündoğdu & Çelik, 2009).

Ökaryotlarda RNAi mekanizmasını siRNA'lar (small interfering RNAs), mikroRNA'lar ve piRNA'lar (piwi-interacting RNAs) oluşturur. siRNA'lar komplementer nükleotid diziler olarak spesifik hedef genlerin ekspresyonunu baskımlarken, piRNA'lar germ hattı bütünlük ve fertilitiyi sürdüren aktif mobil elementlerin fonksiyonunu engellemektedir. MikroRNA'lar ise mRNA'ların yıkımından ya da translasyonunun inhibisyonundan sorumlu post-transkripsiyonel düzeyde gen ekspresyonu düzenleyicileridir (Hitit, Kurar, & Güzeloğlu, 2015) (Şekil 2.14).



**Şekil 2.14:** RNAi interferans mekanizması. a- mikroRNA yolağı, b-siRNA yolağı, c-piRNA yolağı (Gangaraju & Lin, 2009)

### **2.3.2. MikroRNA'lar**

mikroRNA'lar (miRNA'lar) yaklaşık yirmi üç nükleotid uzunluğunda kısa çift iplikli ve kodlamayan bir RNA türüdür (Bartel, 2009).

1993 yılında *Caenorhabditis elegans* ile çalışan Victor Ambros ve arkadaşları ilk mikroRNA'yı (*lin-4*) keşfetmişlerdir (Lee, 1993). 7 yıl sonra yine aynı canlıda yapılan çalışmalar sonucunda ikinci mikroRNA (*let-7*) da keşfedilmiştir (Reinhart et al., 2000).

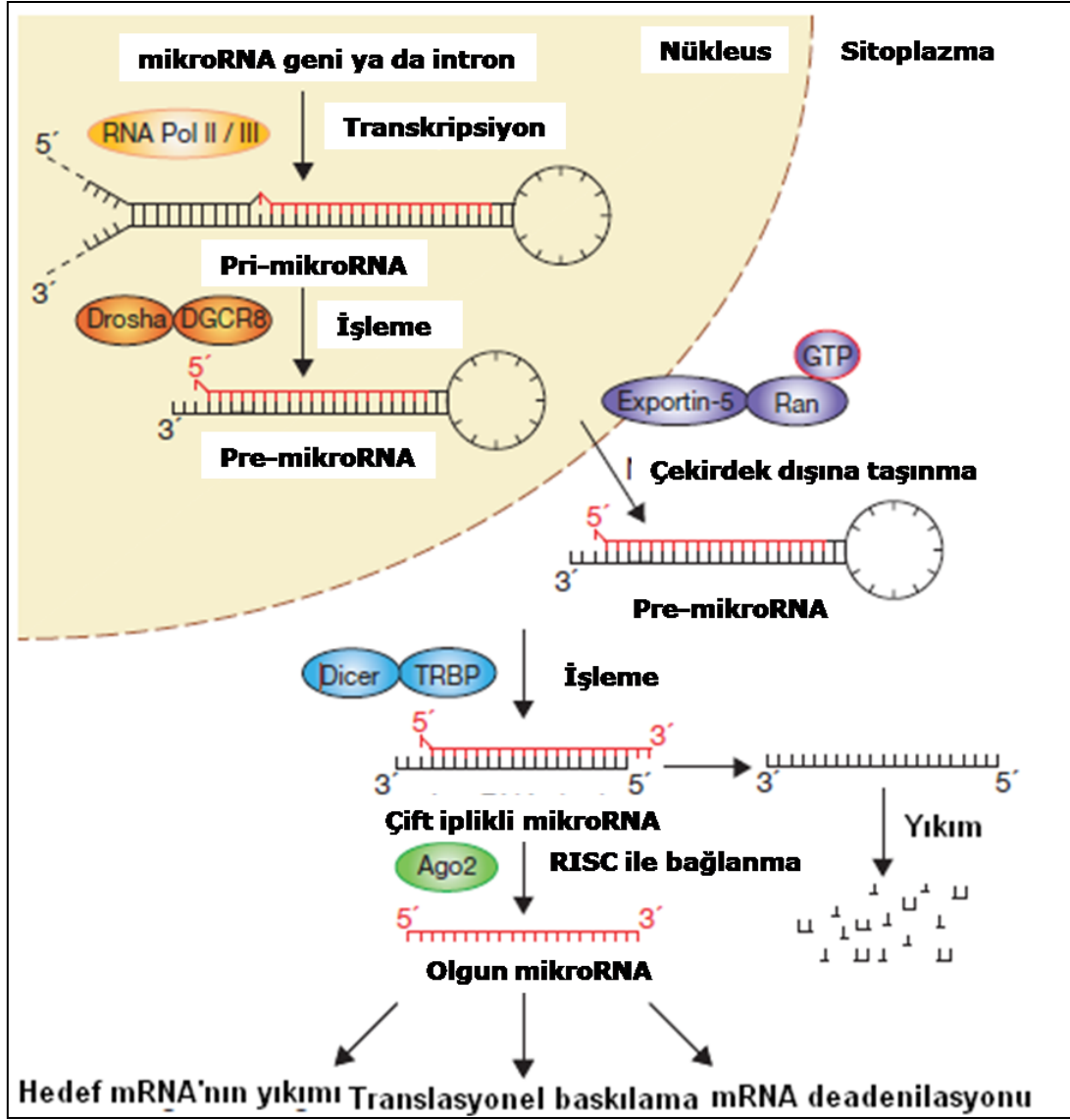
miRNA'lar tek hücreli ve çok hücreli tüm organizma çeşitlerinde bulunabilir ve protein kodlayan genlerin yaklaşık %30'unu regüle ederler. Yüksek ökaryotlarda genomun yaklaşık %1'ini oluşturdukları ve tür başına iki yüzden fazla çeşit miRNA olduğu ele alındığında miRNA'lar için en büyük gen ailelerinden biridir diyebiliriz (Bartel, 2004; Molnar, Schwach, Studholme, Thuenemann, & Baulcombe, 2007). Bugün sadece insanlarda tespit edilen 2000'den fazla mikroRNA bulunmaktadır (Mwangi, 2016).

### **2.3.3. MikroRNA Biyogenezi ve Fonksiyonları**

miRNA biyogenezi yolağı genellikle RNA polimeraz II enzimi tarafından başlatılan ve işlemin sonunda yüzlerce hatta binlerce nükleotidten oluşan pri-miRNA (primary miRNA) molekülünün oluşmasıyla son bulan bir transkripsiyon aşamasıyla başlar. Pri-miRNA molekülü çok sayıda nükleotid içermesinin yanı sıra 60-80 nükleotid uzunluğunda bir sap-ilmik (stem-loop) bölgesi bulundurur.

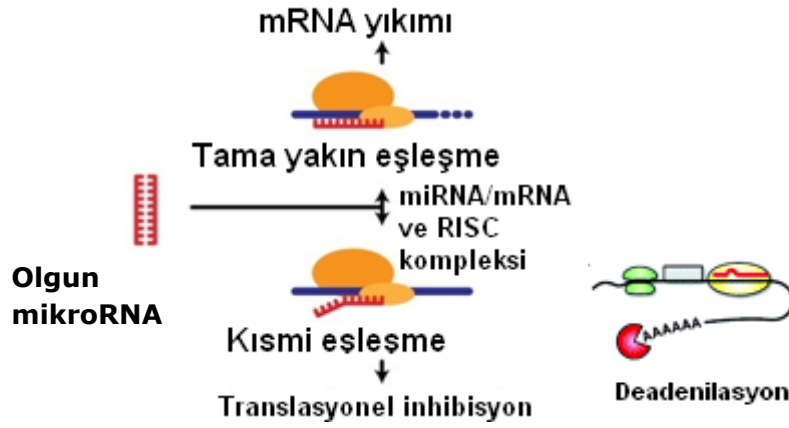
Nükleus içinde pri-miRNA'lar Rnaz III endonükleaz "Drosha" enzimi ve çift iplikçikli RNA bağlayıcı protein "Pasha" (DiGeorge syndrome critical region gene 8 (DGCR8)) adı verilen iki enzimden oluşan mikroprosesör adı verilen enzim kompleksi tarafından kesilir ve sap-ilmik bölgesi ayrılır. Bu işlem sonucunda pre-miRNA (intermediate precursor miRNA) molekülleri oluşur.

Bir çekirdek zarı proteini olan exportin-5 (Exp-5) aracılığıyla sitozole aktarılan pre-miRNA'lar başka bir Rnaz III endonükleaz enzimi olan "Dicer"a bağlanır. Dicer, pre-miRNA sap-ilmliğini kestikten sonra, iki tamamlayıcı kısa RNA molekülü meydana gelir. Bunlardan biri Argonaute (AGO) taşıyan RNA-uyartılı susturma kompleksine (RISC) dahil olurken diğeri yolcu iplikçik olarak adlandırılır ve degrade edilir (Ha & Kim, 2014; Lund, Guttinger, Calado, Dahlberg, & Kutay, 2004; Winter et al., 2009) (Şekil 2.15).



**Şekil 2.15:** miRNA biyogenezinin şematik olarak gösterimi (Winter et al., 2009)

MikroRNA'ların görevi genel olarak komplementer mRNA moleküllerinin işlevini translasyonel seviyede regüle etmektir (Kim, 2005; Winter et al., 2009). Birçok mikro RNA hedef mRNA'sı ile neredeyse tam eşleşme gösterir ve hedef mRNA'nın yıkımını sağlar. Bazı mikroRNA'lar ise CCR4-NOT enzim kompleksi yardımı ile etkileşime girerek hedef mRNA'nın poli(A) kuyruğunun deadenile olmasını sağlar. Ökaryotik mRNA'ların kararlılığını koruyan ve Adenin bazlarının dizilmesiyle oluşan poly(A) kuyruğunun deadenile olmasıyla mRNA yıkıma hazır hale gelir ve diğer mekanizmalar tarafından degrade edilir (Garneau, Wilusz, & Wilusz, 2007). Diğer mikroRNA'lar ise hedef mikroRNA ile tam baz eşleşmesi göstermezler ve ribozomu inaktive etme, oluşan proteini degrade etme gibi yöntemlerle hedef mRNA'larının translasyonunu inhibe ederler (Filipowicz, Bhattacharyya, & Sonenberg, 2008; Ryan, Joilin, & Williams, 2015) (Şekil 2.16).



**Şekil 2.16:** miRNA fonksiyonu. Hedef mRNA ile miRNA arasında tama yakın eşleşme varsa reaksiyonun sonucunda hedef mRNA yıkımı görülürken, kısmi eşleşme görülmesi durumunda mRNA'nın translasyonu inhibe edilir. Bazı miRNAlar ise hedef mRNA'nın deasilasyonunu sağlarlar (Cordes & Srivastava, 2009; Ryan et al., 2015).

#### 2.3.4. Sinaps MikroRNA'ları

Dendritler post-sinaptik bölgede uyarı alan bölgelerdir ve dendritlerin uzunluğu, dallanması gibi faktörler sinaptik plastisite açısından önemlidir. Bir nöronun dendritleri ne kadar çok alan kaplıyorsa o kadar çok uyarı almak için uygun yüzey alanına sahiptir. Nöronal aktivitenin fazla olduğu bölgelerdeki nöronların dendritleri daha çok dallanma gösterir ve daha uzundur (Y. Chen & Ghosh, 2005).

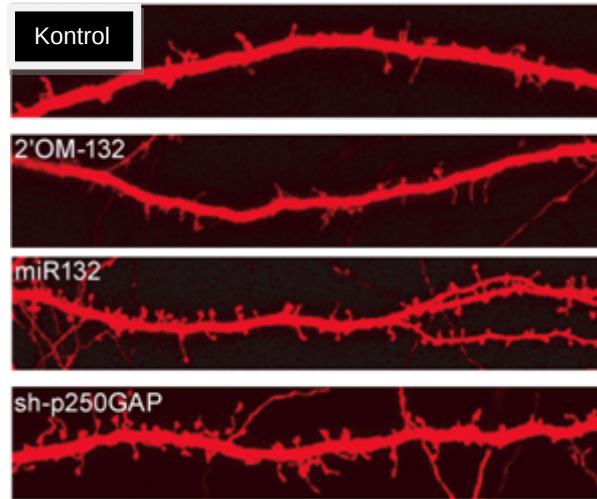
Dendritlerde bulunan dendritik dikensi çıkıntılar da dendritlerin yüzey alanını genişleten yapılardır (Colonnier, 1968). Bu çıkıntılarda bulunan glutamat reseptörlerinin, aktin filamentlerinin dinamiğini etkileyen proteinlerin ve diğer PSD proteinlerinin miktarı gibi faktörler dikensi çıkıntının morfolojisini dolayısıyla sinaptik plastisiteyi etkilemektedir. Söz konusu proteinlerin sentezinin dendritik dikensi çıkıntılarının taban ve boyun bölgelerinde yoğunlaştığını göz önüne alırsak miRNA etkili mRNA translasyonu baskılamasının da bu bölgelerde olması gerektiğini söyleyebiliriz. Özellikle glutamat reseptörlerinin seviyesini ve aktin filamentlerinin dinamiğini düzenleyen proteinlerin sentezinin regülasyonu açısından miRNA'lar sinaptik plastisite için çok önemlidir (Hering & Sheng, 2001; Matsuzaki et al., 2004; Okamoto et al., 2004; G. Schratt, 2009; Shi et al., 1999; Zito et al., 2004).

Birçok mikroRNA sinaptik plastisiteye direkt ya da dolaylı yoldan etki yapmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalardan çıkan sonuçlara göre dendrit morfolojisi, dendritik dikensi çıkıntılarının morfolojisi, dendritik dikensi çıkıntılarının yoğunluğu gibi önemli faktörleri en çok etkileyen mikroRNA'ların başında miR-132, miR-134 ve miR-138'in geldiğini söyleyebiliriz (Bicker et al., 2014; Siegel et al., 2011).

### 2.3.5. miR-132 ve Sinaptik Plastisite Üzerine Etkileri

miR-132 seviyesi sinaptogenez süresince CREB proteini tarafından regüle edilmektedir. Nörotropik faktörler ve nöronal aktivite gibi bileşenlerin oluşturduğu hücrel sinyaller, cAMP sinyallerini ve sonucunda CREB proteinlerinin aktivasyonunu sağlamaktadır. BDNF indüksiyonu sonucunda diğer önemli sinaptik mikroRNA'ların seviyesinde değişim görülmezken miR-132 seviyesi anlamlı ölçüde yükselmektedir (Kawashima et al., 2010).

miR-132 hedefleri arasında evrimsel açıdan iyi korunmuş bir protein olan GAP (GTPaz aktive edici proteinler)'ların Rac/Rho ailesinden p250GAP proteini (GTPase-activating protein p250GAP) özellikle sinaptik plastisite gelişiminde önemli rol oynamaktadır. P250GAP proteinleri dendritik dikensi çıkıntı morfolojisi üzerine pozitif yönde etki yapan Rac yolağının inhibisyonundan sorumludur. Rac proteinlerinin de aktin filamentlerinin polimerizasyonunu sağlayan kofilin proteinlerinin katalizörü olan Limk1 (LIM Domain Kinase 1) proteinleri üzerine eksitator etkisi bulunmaktadır. Ayrıca p250GAP seviyesi nörit yoğunluğunu ve uzunluğunu da arttırmaktadır (Vo et al., 2005). miR-132 p250GAP üzerinden etki ettiği Rac yolağını regüle ederek dendritik dikensi çıkıntı yoğunluğunu arttırmaktadır. Antimir uygulaması ile miR-132 seviyesi düşürüldüğünde ise dikensi çıkıntılarının yoğunluğu da azalmaktadır (Impey et al., 2010) (Şekil 2.17).

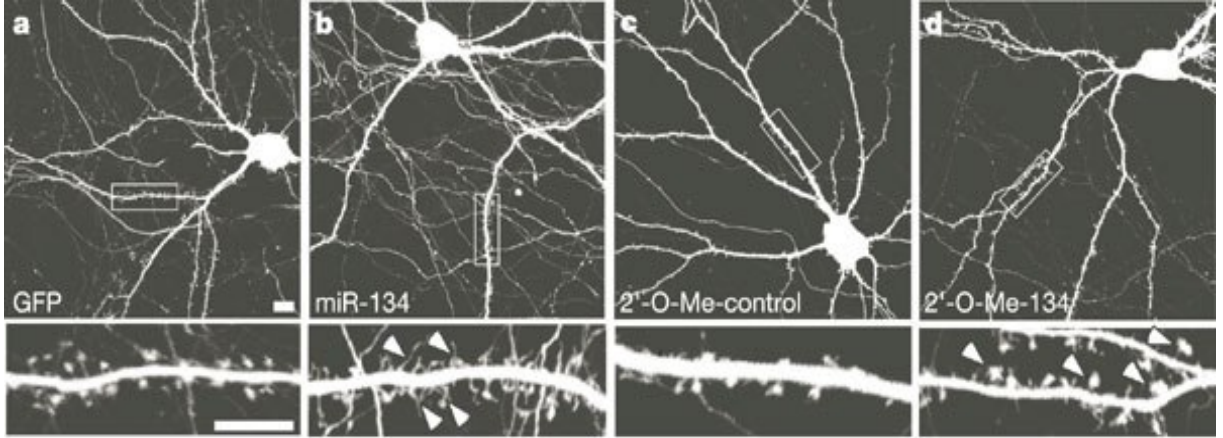


**Şekil 2.17:** Hipokampal nöron kültürü hücrelerinin kesitlerinde CA1 bölgesindeki piramidal nöronların dendritlerinde miR-132 ekspresyonu ve p250GAP inhibisyonunun dendritik dikensi çıkıntılarının yoğunluğu üzerine etkisi. miR-132 seviyesinin 2' O-methyl RNA kullanılarak inhibisyonu sonucu dendritik dikensi çıkıntı yoğunluğunda kontrol grubu nöronlarına göre daha az olduğu görülmektedir. miR-132 ekspresyonunun arttırıldığı ve p250GAP seviyesinin shRNA (short hairpin RNA) kullanılarak inhibe edildiği durumlarda ise birbirine benzer şekilde dendritik dikensi çıkıntı yoğunluğunda anlamlı ölçüde bir artış görülmektedir (Impey et al., 2010).



### 2.3.6. miR-134 ve Sinaptik Plastisite Üzerine Etkileri

Limk1 ADF/cofilin yolağının inhibisyonunu kontrol ederek aktin filamentlerinin dinamiğini regüle eden bir proteindir (Bamburg, 1999). miR-134'ün Limk1 seviyesini regüle ettiği ve bu proteinin seviyesi üzerinden dendritik dikensi çıkıntılarının hacmini etkilediği bilinmektedir. miR-134 seviyesinin yükseldiği durumlarda dikensi çıkıntılarının hacminde düşüş gözlenir ve ince dikensi çıkıntılarının sayısı artarken, miR-134 seviyesi çeşitli antimir uygulamaları ile düşürüldüğünde mantarimsı dikensi çıkıntılarının sayısının arttığı gözlemlenmiştir (G. M. Schratt et al., 2006) (Şekil 2.18).

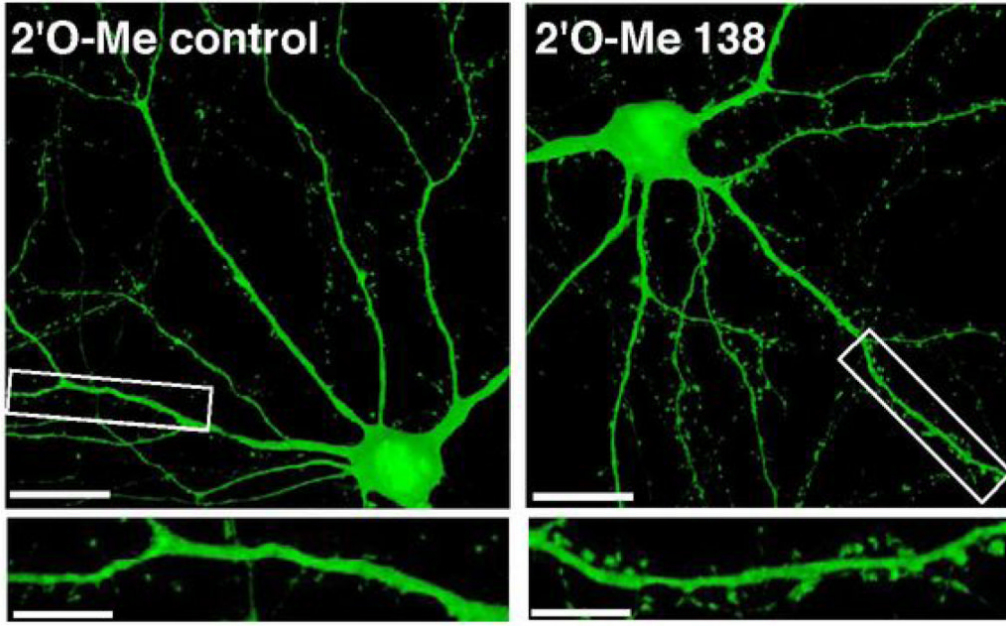


**Şekil 2.18:** miR-134'ün hipokampal nöron hücre kültüründeki dendritik dikensi çıkıntılarının morfolojileri üzerine etkileri. A- kontrol vektörü, B- miR-134 ekspresyon vektörü transfeksiyonu (ince dikensi çıkıntılar fazla sayıda), C- 2'-O-Me kontrol, D- 2'-O-Me-134 oligonükleotid transfeksiyonu (mantarimsı dikensi çıkıntılar fazla sayıda) (G. M. Schratt et al., 2006)

### 2.3.7. miR-138 ve Sinaptik Plastisite Üzerine Etkileri

miR-138 transfeksiyonu sonrasında minyatür uyarıcı sinaptik akımların (mEPSCs) ölçümü sonucunda kontrol hücrelerine göre miR-138 ekspresyonu yapılan hücrelerde mEPSCs amplitüdünün daha düşük olduğu bilinmektedir (Siegel et al., 2009).

Gα13 alt birimlerinin palmitoilasyonu plazma membranı geçirgenliği ve RhoA yolağının aktivasyonu için gereklidir (Bhattacharyya & Wedegaertner, 2000). APT1 (Acyl-protein thioesterase), Gα13 alt birimlerinin G proteini'ne depalmitoilasyonunu regüle eden proteindir ve miR-138'in hedef proteinlerinden biri olduğu bilinmektedir. RhoA yolağı aktomiyosin kontraksiyonu ve dendritik dikensi çıkıntı genişlemesini kontrol etmektedir. miR-138 APT1 üzerinden RhoA yolağına etki ederek dendritik dikensi çıkıntı hacimleri üzerine de etki etmektedir (Tada & Sheng, 2006) (Şekil 2.19). miR-138'in seviyesi antimir uygulaması ile azaltıldığında dikensi çıkıntı hacimlerinin anlamlı ölçüde arttığı görülmektedir (Siegel et al., 2009).



**Şekil 2.19:** miR-138'in dendritik dikensi çıkıntı hacimleri üzerine etkisi. miR-138 inhibitörleri (2'-O-methyl (2'O-me) modifiye antisens (AS) oligoribonükleotidler) ile muamele edilmiş sıçan hipokampal nöronları konfokal mikroskop altında incelenerek dendritik dikensi çıkıntılarının hacminin miR-138 inhibisyonu sonucu arttığı gösterilmiştir(Siegel et al., 2009).

### **2.3.8. miR-132, miR-134 ve miR-138 Üzerine Genel Bakış**

#### **2.3.8.1. İskemik durumlarda miR-132, miR-134 ve miR-138 seviyeleri ve etkileri**

İskemik durumlarda miR-132 seviyesinin ve miR-132 tarafından regüle edilen, nöronal gelişimi regüle eden bir protein olan MeCP2 (methyl CpG-binding protein 2) seviyesinin nöroprotektif etki gösterecek şekilde yükseldiği görülmektedir. Bu durumun iskemiye karşı toleransı sağladığı düşünülmektedir (Keasey et al., 2016; Lusardi et al., 2010).

miR-134 seviyesinin de iskemik durumlarda yükseldiği ama etkisinin miR-132'den farklı olduğu bilinmektedir. HSPA12B (heat shock protein A12B) proteini seviyesi serebral iskemik durumlarda düşmektedir. miR-134'ün hedef proteini olan HSPA12B seviyesinin düşmesiyle birlikte nöronal hücre ölümleri ve apoptoz indüklenmektedir. miR-134 seviyesindeki düşüşün de ters etki yaparak HSPA12B proteinlerinin seviyesini yükselttiği ve nöronal hücre ölümüyle apoptozu azalttığı görülmektedir (Chi et al., 2014). Ayrıca miR-134 seviyesinin yükselmesi CREB ve anti-apoptotik bir protein olan Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) seviyelerini düşürdüğü için bu yol üzerinden de nöronal hücre ölümünü indüklemektedir (Huang et al., 2015).

miR-138 seviyesi ise serebral iskemik durumlarda miR-132 ve miR-134'ün aksine düşmektedir. miR-138'in hedef proteinlerinden biri olan Lcn-2 (Lipocalin 2) proteininin nöronal hücre ölümü üzerine etkisi vardır. miR-138 seviyesinin düşmesiyle birlikte Lcn-2 seviyesi artışı görülmektedir. Omurilik hasarı sonrasında Lcn-2 geni kapalı olan farelerin lokomotor fonksiyonlarının daha kolay iyileştiği, nöronal ve doku hasarlarının daha az olduğu bilinmektedir (Rathore et al., 2011; X. J. Tang et al., 2016).

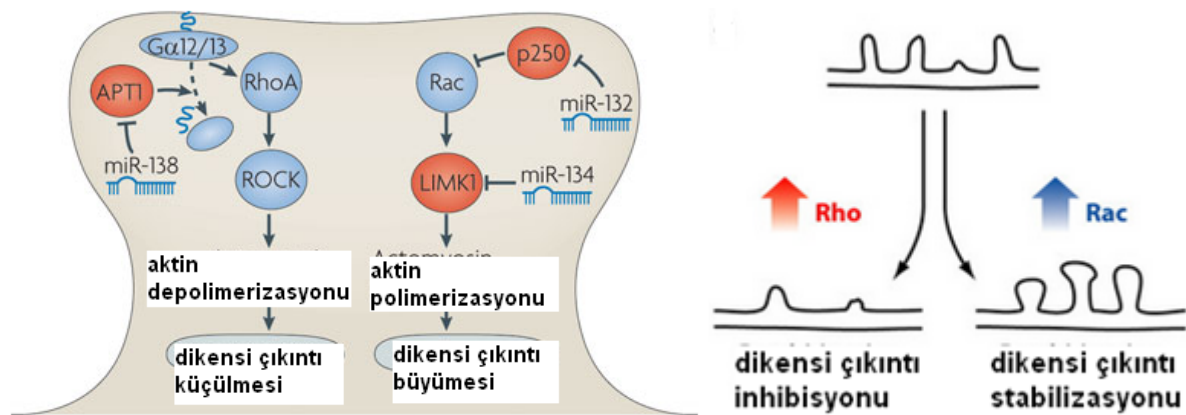
### 2.3.8.2. Dendritik dikensi çıkıntı morfolojisi üzerine miR-132, miR-134 ve miR-138'in etkileri

Dendritik dikensi çıkıntılarda bulunan aktin filamentlerinin polimerizasyonu sonucu çıkıntıların hacimlerinde artış görülürken, depolimerizasyonu sonucu ise çıkıntı hacimlerinde azalma meydana gelmektedir.

miR-132 ekspresyonu hedef molekül olan p250GAP seviyesini düşürür ve p250GAP'ın inhibe ettiği Rac yolağı üzerinde eksitator etki yapar. Rac yolağı aktin polimerizasyonunu indükleyerek dikensi çıkıntıların hacminin artmasına neden olur.

miR-134 ekspresyonu Limk1 proteinlerini inhibe eder. Limk1 proteinlerinin azalması sonucu aktin polimerizasyonu azalır ve buna bağlı olarak dikensi çıkıntı hacimlerinde azalma meydana gelir.

miR-138 ekspresyonu hedef protein olan APT1 seviyesini düşürmektedir. APT1'in Rho yolağı üzerinde eksitator etkisi bulunmaktadır. Dolayısıyla miR-138 seviyesinde görülen artış Rho yolağını inhibe ederek aktin depolimerizasyonu sonucunda dikensi çıkıntı hacimlerinde azalma meydana getirir (G. Schratt, 2009) (Şekil 2.20).



**Şekil 2.20:** miR-132, miR-134 ve miR-138'in farklı yollar üzerinden dendritik dikensi çıkıntı hacimleri üzerine olan etkisinin şematik gösterimi (G. Schratt, 2009)

## 2.4. Farklı Ortam Koşulları ve Kognitif Fonksiyonlar Üzerine Etkileri

Sinir sistemi plastisitesi ve kognitif fonksiyonlarda, yaşlanma ile birlikte bozulmalar görülmektedir. Medial temporal lob ve prefrontal kortekse bağlı öğrenme, hafıza ve yönetici fonksiyonlar gibi kognitif fonksiyonlarda yaşlanmaya bağlı olarak gerileme görüldüğü ve bu fonksiyonların yaşlanmaya karşı savunmasız olduğu bilinmektedir (Burke & Barnes, 2006).

Yaşlanmayla birlikte özellikle prefrontal ve parietal korteks bölgelerinde sinaptik plastisite azalmaktadır. Yaşam koşulları bu azalmaya etki etmektedir. Hipokampus ve korteks bölgelerinde nörojenesis oluşumu, glutamat, GABA (Gamma-aminobütirik asit), dopamin, asetilkolin gibi nörotransmitter madde seviyeleri üzerine ortam koşullarının zenginliğinin etkisi gözlenmektedir (Mora, Segovia, & del Arco, 2007).

Güncel araştırmalar beyin ve davranışsal plastisite oluşumları üzerinde ortam koşullarının insan ve hayvanlar üzerindeki etkisini ortaya koymaktadır (Cymerblit-Sabba et al., 2013; Leger et al., 2012; Moodie et al., 2013; Vazquez-Sanroman et al., 2013; Y. Y. Zhao et al., 2012).

Zenginleştirilmiş ortam; sosyal etkileşim, fiziksel egzersiz ve sürekli değişen materyallerin birleşiminden oluşan öğrenme ve hafızayı geliştirmeye yönelik özellikleri barındıran alan olarak tanımlanabilir. Hayvanlar üzerinde yapılan deneylerde genellikle daha büyük kafesler, sürekli değişen objeler, egzersiz için materyaller ve daha çok hayvanın bir arada tutulması gibi koşullar sağlanmaktadır. Deney hayvanlarının sosyal etkileşiminin ve fiziksel aktivitesinin kısıtlandığı, zenginleştirilmiş ortam ile karşılaştırmalar yapmak için kullanılan diğer bir yaşam ortamı ise izole ortam koşullarıdır (Franklin et al., 2006; Volkens & Scherder, 2011)(Şekil 2.21, Şekil 2.22).

Zenginleştirilmiş ortamın nörokimyasal değişikliklere yol açtığı ve bu ortamda tutulan hayvanların kortekslerinin daha yoğun olduğu bilinmektedir. Bu yoğunluk nöronal somaların genişlemesi, dendritlerin uzunluğunun ve sayılarının artması ve dendritik dikensi çıkıntılarının yoğunluğu ve büyüklüğündeki artışlara bağlıdır (Rosenzweig, 1984).

Sinaptik veziküllerde bulunan ve presinaptik belirteç olarak kullanılan, kognitif bozukluk görülen nöropatolojik birçok durumda ve yaşlanmayla birlikte seviyesinin düştüğü bilinen synaptophysin proteinlerinin seviyesi de zenginleştirilmiş ortamda tutulan farelerde artmaktadır (Frick & Fernandez, 2003; X. Liu, Erikson, & Brun, 1996).

Zenginleştirilmiş ortam koşullarının nörodejeneratif hastalıklar ve iskemik durumlarda da olumlu etkileri vardır. Parkinson hastalığı modeli uygulanmış hayvanlarda zenginleştirilmiş ortamın sinaptik güçlenmeyi arttırdığı belirtilmiştir (Steiner et al., 2006). Kafa travması ve beyin hasarı durumlarında nörotransmitter sentezinin zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanlarda iyileşme gösterdiği ve nöroprotektif görev yaptığı da bilinmektedir. Ayrıca periferik sinir zedelenmesi sonrası da sinir rejenerasyonunu sağladığı ve rehabilitasyona yardımcı olduğu

gösterilmiştir. Zenginleştirilmiş ortamın beyin lezyonları sebebiyle motor ve duysal fonksiyonlarda görülen bozukluklar üzerine de nöroprotektif etkisi vardır (Segovia et al., 2006; Will et al., 2004).

Uzun dönemli hafıza bilginin kodlanması, saklanması ve daha sonra özel beyin bölgelerinden bu bilgiyi çağırıp kullanmak esasına dayanmaktadır (Kessels, de Haan, Kappelle, & Postma, 2001; Kessels, Hendriks, Schouten, Van Asselen, & Postma, 2004). Ortamdaki objelerin yerini hatırlamak ve o objeye giden yolu bulabilmek uzun dönemli hafıza örneğidir. Bu fonksiyon özellikle hipokampal sistem tarafından sağlanmaktadır (Fortin, Agster, & Eichenbaum, 2002).

Birçok zenginleştirilmiş ortam çalışmasında uzun dönemli hafızaya yönelik ölçümlerde Morris su tankı (MWM) testi kullanılmıştır. Zenginleştirilmiş ortam koşullarında tutulmuş olan hayvanların Morris su tankında yapılan ölçümlerde standart ortamda tutulan hayvanlara göre platformu bulma sürelerinin daha kısa olduğu ve platformu bulana kadar katettikleri yolun daha kısa olduğu görülmektedir (Fares et al., 2013; Williams et al., 2001).

Zenginleştirilmiş ortam koşullarında tutulan hayvanların LTP seviyelerinde de yükselme görülmektedir. Hipokampüsün CA1 bölgesinde patch-clamp tekniği ile LTP ölçümü yapılmış ve 1-2 hafta gibi kısa dönem süren zenginleştirilmiş ortam şartlarının bile LTP amplitüdünü anlamlı ölçüde arttırdığı gözlemlenmiştir (Fares et al., 2013; Hu, Long, Piginio, Brady, & Lazarov, 2013).

Birçok çalışmada nöronal bağlantıları, aksonal büyümeyi, sinaptik plastisiteyi ve nörotransmitter salınımını kontrol ettiği bilinen BDNF proteinlerinin seviyesinin zenginleştirilmiş ortam koşullarında tutulan hayvanlarda standart ortamda tutulan hayvanlardan daha yüksek seviyede olduğu gösterilmiştir (Fares et al., 2013; Gobbo & O'Mara, 2004; Hu et al., 2013; Nithianantharajah & Hannan, 2006). Zenginleştirilmiş ortamın tersine izole ortamda tutulan sıçanlarda BDNF seviyesinde azalma olmaktadır (Franklin et al., 2006).

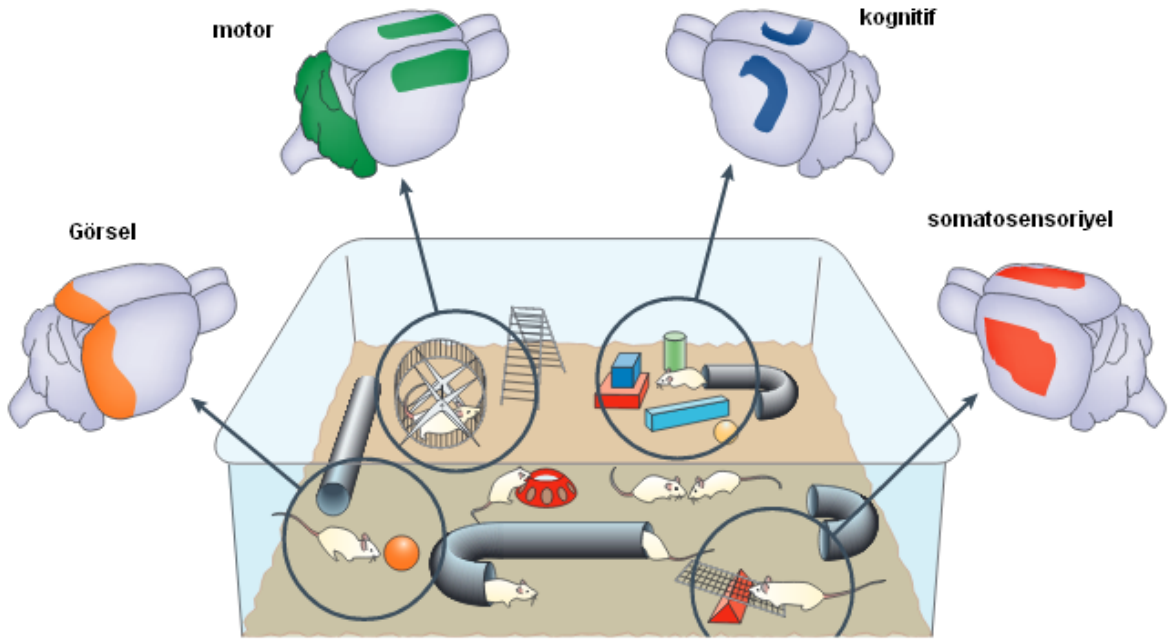
Sinaptik plastisitede glutamat reseptörleri büyük öneme sahiptir. Hipokampüs bölgesinde bu reseptörlerin NR2B, NR2A ve GluR1 altbirimlerinin protein seviyesinde zenginleştirilmiş ortam sonrası artış olmaktadır. Bu da hem NMDA hem de AMPA reseptör sayısında artış olduğunu göstermektedir (Y. P. Tang, Wang, Feng, Kyin, & Tsien, 2001).

Alzheimer hastalığı ile doğrudan ilişkili olan amiloid-beta proteinlerinin ve fosforile tau proteinlerinin patolojik durumlarda seviyelerinin yükseldiği bilinmektedir. Zenginleştirilmiş ortam koşullarının bu proteinlerin seviyelerini de düşürdüğü gözlemlenmiştir (Hu et al., 2013; Lazarov et al., 2005).

Postsinaptik belirteç olarak da kullanılan MAP-2 proteinleri dendritlerde mikrotübüllerin organizasyonunu regüle eden proteinlerdir. Bu proteinlerin seviyesi daha güçlü dendritik yapılanmayı göstermektedir. Zenginleştirilmiş ortam sonrası MAP-2 seviyesi dorsal ve ventral hipokampüs bölgelerinde anlamlı ölçüde yükselmektedir (Fares et al., 2013).

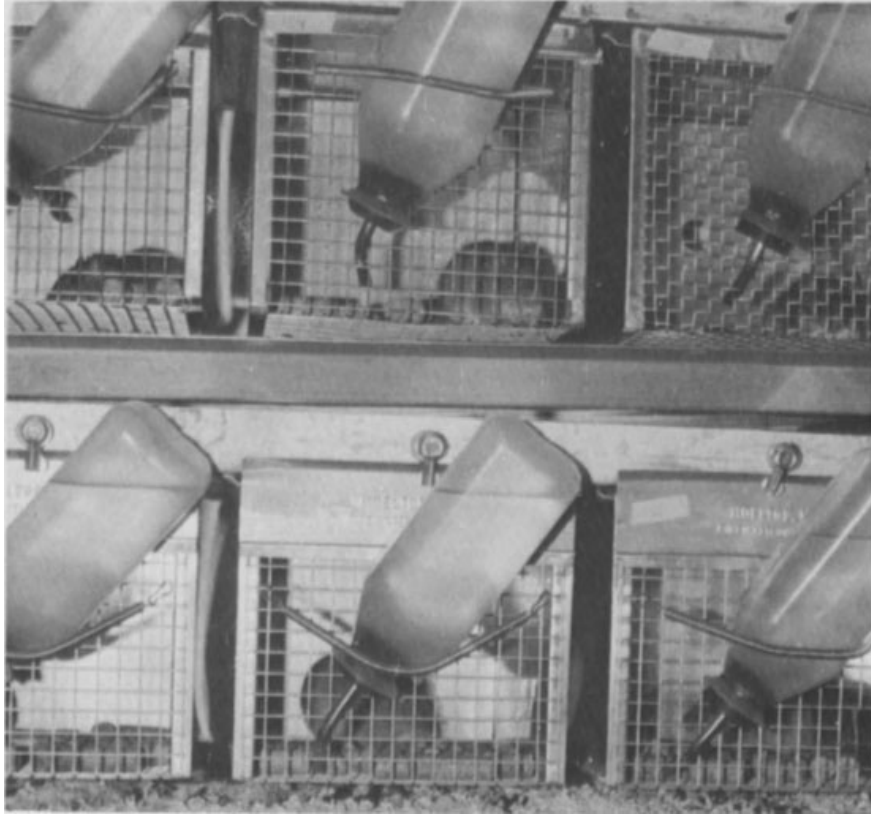
Ayrıca zenginleştirilmiş ortam koşullarının sinaptik plastisiteye etki eden mikroRNA'lardan olan miR-132'nin seviyesini arttırdığı, miR-134 seviyesini düşürdüğü de gösterilmiştir. MiR-132'nin seviyesindeki artış dendritik çıkıntılar üzerine olumlu etki yaparken miR-134'ün dendritik çıkıntılar üzerine negatif yönde etki yaptığı da bilinmektedir. Zenginleştirilmiş ortam sonrası miR-134 seviyesindeki düşüş de sinaptik plastisiteye olumlu etki yapmaktadır (Brenes et al., 2016; G. M. Schratt et al., 2006; Wayman et al., 2008).

Zenginleştirilmiş ortam koşulları hem hipokampus hem de korteks bölgelerindeki nöronların dendritlerinde bulunan dendritik dikensi çıkıntı yoğunluğu üzerinde olumlu etki yapmaktadır (Johansson & Belichenko, 2002; Jung & Herms, 2014; Rojas et al., 2013). İskemi modeli uygulanmış sıçanlarda bu çıkıntı sayılarının düştüğü fakat zenginleştirilmiş ortam koşullarının iskemi sonrası iyileşmeye katkısı olduğu ve dikensi çıkıntı miktarını yeniden arttırdığı gösterilmiştir (Johansson & Belichenko, 2002).



**Şekil 2.21:** Zenginleştirilmiş ortamın çeşitli beyin fonksiyonlarına etkisinin şematik gösterimi (Nithianantharajah & Hannan, 2006)





**Şekil 2.22:** İzole ve zenginleştirilmiş ortam resimleri. Yukarıdaki resimde izole ortam koşulları oluşturulmuş kafesler görülmektedir. Hayvanlar tek tek normalden daha küçük boyutlu kafeslerde tutulmaktadır. Aşağıdaki resimde ise fiziksel ve sosyal aktivitelerin mevcut olduğu zenginleştirilmiş ortam örneği gösterilmektedir (Renner & Rosenzweig, 1987).

## **3. GEREÇ VE YÖNTEMLER**

### **3.1. Deney Hayvanları**

Çalışmamızda Spraque-Dawley ırkından yaklaşık 3 aylık, 250-350 gram ağırlığında 122 adet dişi sıçan kullanıldı. Çalışmaya başlayana kadar hayvanlar standart kafeslerde, 5'erli gruplar halinde, 12 saat karanlık 12 saat aydınlık döngüsünde, sıcaklığı ( $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) kontrol edilen odada tutuldular. Deney boyunca hayvanlara su ya da yem kısıtlaması uygulanmadı.

Deneyler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi (TİCAM) bünyesinde yapıldı. Hayvanlara yapılacak uygulamalar için ESOGÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK)'nden tarihinde dosya numarası ile etik kurul onayı (439-1/2015) alındı.

### **3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması**

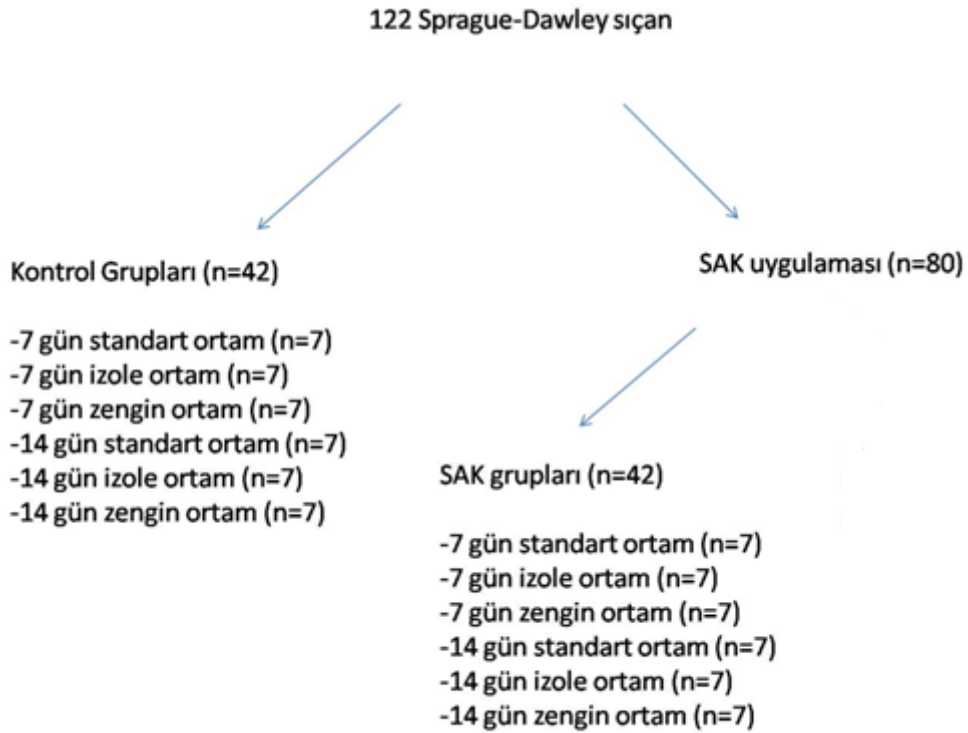
80 adet deney hayvanı üzerinde TİCAM bünyesindeki cerrahi operasyon odasında, sisterna magna bölgesine çift enjeksiyon yöntemi ile SAK modeli oluşturuldu. İkinci enjeksiyon birinci enjeksiyondan 48 saat sonra uygulandı. Cerrahi operasyon uygulanmış olan hayvanlardan 38'i operasyon sırasında ya da operasyon sonrası dönemde öldü. Kalan 42 hayvan farklı ortam koşullarına alınmadan önce 1 gün boyunca her kafeste 1 hayvan kalacak şekilde tutuldu. İzole, zenginleştirilmiş ve standart ortam şartlarını oluşturmak için değişik büyüklükte kafesler kullanıldı. Standart ortam (SO) için standart sıçan kafesleri kullanılırken, zenginleştirilmiş ortam (ZO) için daha büyük kafesler ve bu kafeslerin içine yerleştirilmiş çeşitli oyuncaklar temin edildi. İzole ortam (İO) oluşturmak için standart kafeslerden daha küçük olan fare kafesleri kullanıldı ve bu kafesler hayvanların dış ortamı ve birbirlerini göremeyecekleri şekilde alüminyum folyo kullanılarak kaplandı. İkinci operasyondan 1 gün sonra her grup için 7'şer hayvan farklı ortam koşulları için daha önceden hazırlanmış olan kafeslere alındı.

42 deney hayvanı kontrol gruplarının oluşturulması için cerrahi operasyon uygulanmadan her grupta 7 hayvan olacak şekilde farklı ortam koşulları için hazırlanmış kafeslere alındı. Farklı ortam koşullarının SAK modeli uygulanmış sıçanlardaki iyileşme sürecine etkisi hem kısa dönemli hem de uzun dönemli incelendi. Farklı ortam koşullarının kısa dönemli etkilerini gözlemleyebilmek için hayvanlar farklı ortam koşullarında 7 gün, uzun dönemli etkileri gözlemleyebilmek için ise 14 gün tutuldu. Deney gruplarının listesi ve deney gruplarının oluşturulma süreci Tablo 3.1 ve Şekil 3.1'de belirtilmiştir.



**Tablo 3.1:** Deney Grupları ve uygulanan işlemler

Gruplar	İşlemler
1. Grup	Kontrol+ 7 gün STANDART ortam
2. Grup	Kontrol+ 7 gün İZOLE ortam
3. Grup	Kontrol+ 7 gün ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ ortam
4. Grup	SAK+ 7 gün STANDART ortam
5. Grup	SAK+ 7 gün İZOLE ortam
6. Grup	SAK+ 7 gün ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ ortam
7. Grup	Kontrol+ 14 gün STANDART ortam
8. Grup	Kontrol+ 14 gün İZOLE ortam
9. Grup	Kontrol+ 14 gün ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ ortam
10. Grup	SAK+ 14 gün STANDART ortam
11. Grup	SAK+ 14 gün İZOLE ortam
12. Grup	SAK+ 14 gün ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ ortam

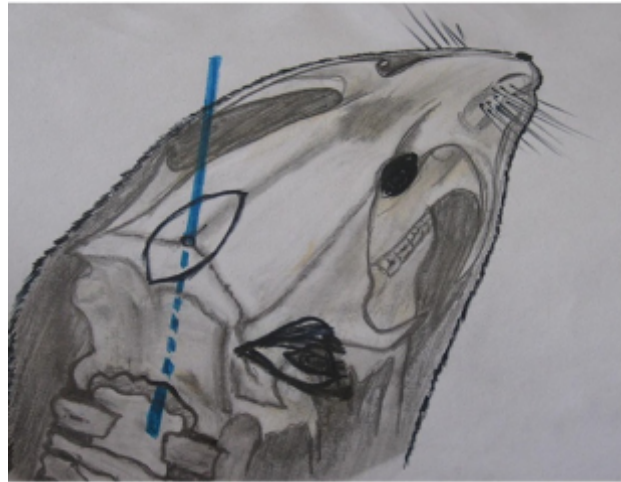


**Şekil 3.1:** Deney akış şeması

### 3.3. Sisterna Magnaya Çift Enjeksiyon Yöntemi ile SAK Modeli Oluşturma İşlemi

Cerrahi operasyon uygulanacak olan sıçanlara intramüsküler 0,1cc xylazine ve 0,2cc ketamin hidroklorid enjeksiyonu yapılarak anestezi sağlandı. Anestezi uygulanmış olan sıçanlar başları fleksiyona gelecek şekilde yüzüstü yatırıldı. Oksipitoservikal bölgeleri traşlandıktan sonra povidon iyot ile bölge temizliği sağlandı. Vertikal ve subokspital cilt dokuları cilt insizyonu ile geçildi ve kaslar ayrılarak atlanto-oksipital membrana ulaşıldı. Steril insülin iğnesiyle sıçanın kuyruk arterinden yaklaşık 0,5ml kan çekildi. İğneyle atlanto-oksipital membrandan girildikten sonra (Şekil 3.2) otolog kan enjekte edilmeden önce hafif negatif basınç uygulanarak BOS geldiği görüldü. Çekilen otolog kan sisterna magnaya yavaşça (yaklaşık 10 saniye) enjekte edildi. Anatomik katlar dikişle kapatıldı ve hayvanlar yaklaşık 15 dakika boyunca tredelenburg pozisyonunda yatırıldı.

Operasyon sonrası 48 saat boyunca tekli kafeslerde tutulan sıçanlar 48 saatin sonunda ikinci enjeksiyona maruz bırakıldı. Tekrar 48 saat tekli kafeslerde tutulan sıçanlar 48 saatin sonunda farklı ortam koşullarına alınmak üzere ayrıldı.



**Şekil 3.2:** Sisterna magnaya enjeksiyon yolunun şematik olarak gösterimi (Raslan, 2012)

### 3.4. Farklı Ortam Koşulları İçin Kafeslerin Hazırlanması ve Deney Hayvanlarının Farklı Ortamlardaki Bakımı

SO gruplarındaki hayvanlar için TİCAM bünyesindeki standart sıçan kafesleri kullanıldı. Her kafeste 3-4 hayvan birlikte tutuldu. Hayvanların yem ve suya gün boyu erişimi sağlandı ( $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) ve 12 saatlik gece-gündüz döngüsü şartları sağlandı.

İO gruplarındaki hayvanlar için TİCAM bünyesindeki standart sıçan kafeslerinden daha küçük boyutlu olan fare kafesleri kullanıldı. Kafeslerin dış tarafı alüminyum folyo kullanılarak kapatıldı (Şekil 3.3). Her kafese 1 hayvan yerleştirildi. Hayvanların yem ve suya gün boyu erişimi sağlandı. ( $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) ve 12 saatlik gece-gündüz döngüsü şartları sağlandı.



**Şekil 3.3:** Çalışmada kullanılan İzole Ortam Kafesleri

ZO gruplarındaki hayvanlar için özel zenginleştirilmiş ortam kafesleri hazırlandı (Şekil 3.5). Her kafese 7 hayvan yerleştirildi. Standart sıçan kafeslerinden daha büyük boyutlu olacak şekilde dizayn edilen kafesler iki katlı olacak ve hayvanların ortadan merdivenle üst katına çıkabileceği şekilde yapıldı. Çeşitli oyuncaklar kafesin içine bırakıldı ve oyuncaklar 48 saatte 1 değiştirildi. Her gün 19.00-20.00 saatleri arasında hayvanlara rahatsız olmayacakları şekilde kısık sesli klasik müzik dinletildi. Hayvanların yem ve suya gün boyu erişimi sağlandı ( $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) ve 12 saatlik gece-gündüz döngüsü şartları sağlandı.





**Şekil 3.4:** Çalışmada kullanılan zenginleştirilmiş ortam kafesleri



**Şekil 3.5:** Zenginleştirilmiş ortam resimler

### **3.5. Kan ve Beyin Dokusu Örneklerinin Toplanması ve Saklanması**

Farklı ortam koşullarının kısa dönemli etkilerinin izlendiği hayvanlara ortama alındıktan 7 gün sonra, uzun dönemli etkilerin gözlemleneceği hayvanlara ise 14. günün sonunda anestezi uygulandı.

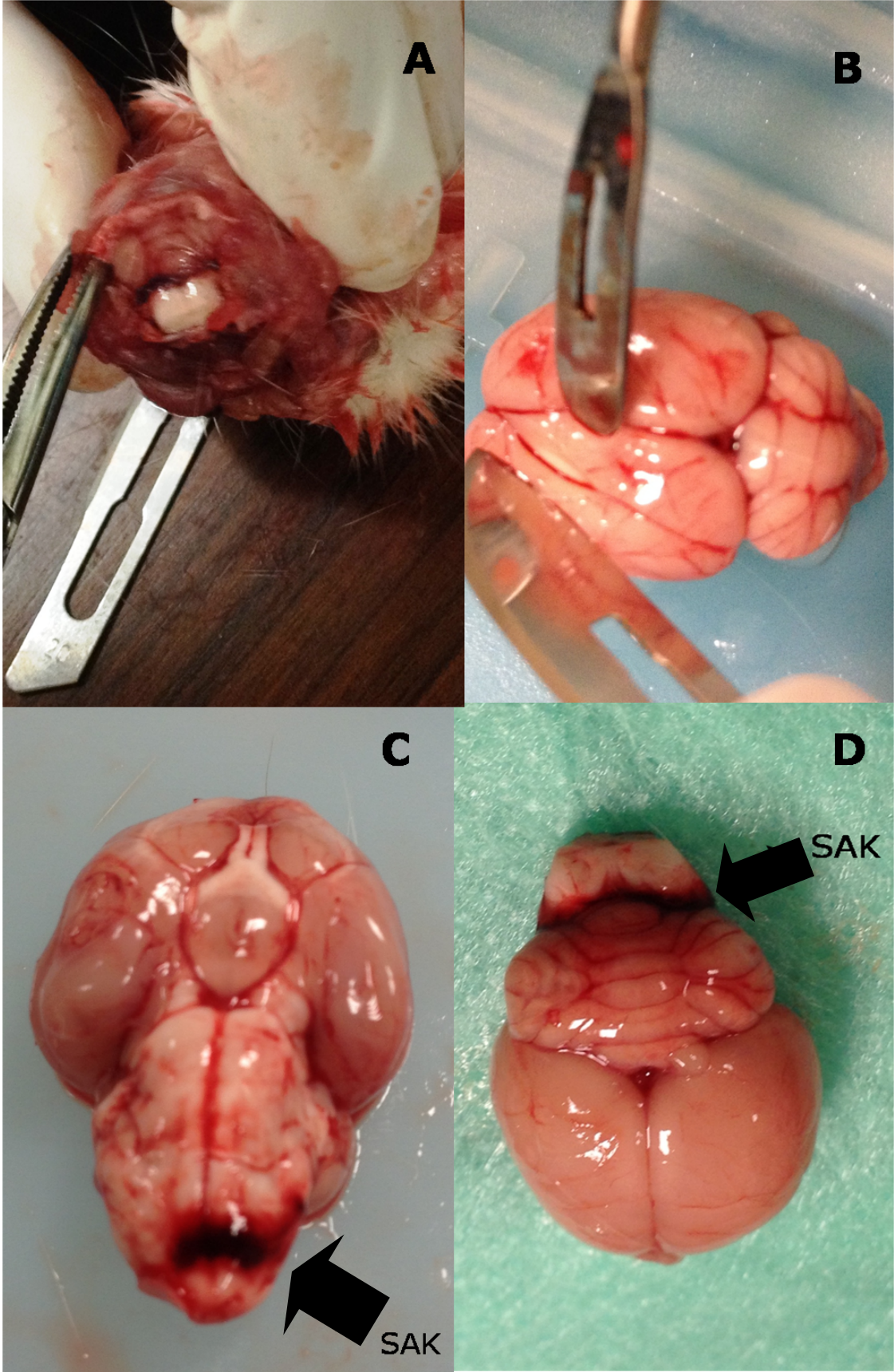
#### ***3.5.1. Kan Örneklerinin toplanması ve saklanması***

Anestezi uygulanan hayvanlardan torakotomi sonrası kalbin sol ventrikülünden yaklaşık 10ml kan çekildi. Plazma elde etmek için çekilen kandan 5ml EDTA'lı (etilendiamin tetra asetik asit) tüplere alındı. 2500 rpm ve 4°C şartları kullanılarak santrifüj edilen kan örneklerinin süpernatantları alınarak önceden hazırlanmış eppendorf tüplere aktarıldı. Eppendorf tüpler ölçüm aşamalarına kadar -80°C'de saklandı.

#### ***3.5.2. Frontal lob ve hipokampus örneklerinin toplanması ve saklanması***

Kan alımını takiben oksipital kemikten başlayarak kraniektomi yapıldı ve zarar vermeden beyin bütün olarak çıkarılarak buz üstüne alındı (Şekil 3.6). Sol hipokampus ile sol frontal lob bölgelerinin diseksiyonu yapıldı ve içinde RNA later (RNAlater® Stabilization Solution, Ambion) solüsyonu olan eppendorf tüplere ayrı ayrı konularak -80°C'de saklandı.





**Şekil 3.6:** Beyin dokularının diseksiyonu ve SAK grubundaki hayvanların beynindeki SAK oluşumları. A,B- Beyin ve beyin dokularının diseksiyonu, C-D- SAK grubundaki hayvanların beyninde oluşan SAK görüntüleri.

### **3.6. Real-Time PCR Uygulaması ile Frontal Lob, Hipokampus ve Plazma Örneklerinde miR-132, miR-134 ve miR-138 Seviyelerinin Belirlenmesi**

#### ***3.6.1. Doku ve plazma örneklerinden total RNA izolasyonu***

1. Frontal lob ve hipokampus dokularının total RNA izolasyonu işlemi için 30-50mg frontal lob veya hipokampus dokusu 1.5ml'lik tüp içine alındı ve tüpün içine 3-4 boncuk eklendi.
2. Tüplerin içine 400µl Tissue Lysis Buffer(1) solüsyonu eklendi.
3. Örnekler homojenizatör (BİOPREP24, ALLSHENG) kullanılarak 1 dakika boyunca homojenize edildi.
4. Tüplerin içine 200µl Tissue Lysis Buffer(2) solüsyonu eklendi ve 15 saniye vorteks yapıldı.
5. Örnekler 5 dakika boyunca buz üzerinde inkübasyona bırakıldı.
6. Tüpler 12.000rpm ve +4°C şartlarında 15 dakika santrifüj edildi.
7. Süpernatant kısmından alınan 200 µl'lik sıvı DNA/RNA Kiti'nin (BİONEER) 1 numaralı kartuşunun örnek gözüne aktarıldı.
8. Plazma örneklerinin izolasyonu için daha önceki adımlar atlanarak 200 µl'lik örnek DNA/RNA Kiti'nin (BİONEER) 1 numaralı kartuşunun örnek gözüne aktarıldı.
9. Kartuşlar ekstraksiyon robotu (Bioneer Exiprep 16 Plus) içerisindeki yerlerine yerleştirildikten sonra uygun protokol numarası seçilerek RNA izolasyonu işlemi yapıldı.
10. İşlem sonucunda elde edilen RNA miktarı spektrofotometre (DENOVI, DS-11+) kullanılarak 260 nm'de ölçüldü.

### **3.6.2. cDNA (Komplementer DNA) eldesi**

1. RNA izolasyonu işleminde elde edilen total RNA'lardan her örnek için ayrı tüplere 10µl alındı.
2. Total RNA'ların bulunduğu tüplere 3µl primer (Bioneer, Reverse Primer GAPDH) eklendi.
3. 13 µl'lik karışım 70°C'de 5 dakika inkübasyon edildi ve buz kalıplarına alındı.
4. 13µl'lik karışıma 37µl deiyonize steril su eklendi ve elde edilen 50µl'lik karışım kit tüplerine (Bioneer, AccuPower® Dual-HotStart™ RT-qPCR PreMix, K-6704) aktarıldı.
5. 50°C'de 20 dakika termal inkübasyon sonucu komplementer DNA'lar elde edildi.
6. İşlem sonucunda elde edilen cDNA miktarı spektrofotometre (DENOVIX, DS-11+) kullanılarak 260 nm'de ölçüldü.

### **3.6.3. Real-Time PCR**

1. Her örnek için 5 µl cDNA, 1 µl forward primer, 1 µl reverse primer ve 13 µl deiyonize steril su kullanılarak 20 µl PCR karışımı hazırlandı. Kullanılan primerlerin listesi Tablo 3.2'de verilmiştir.
2. Elde edilen PCR karışımı GreenStar™ qPCR PreMix (AccuPower GreenStar™ qPCR PreMix, Bioneer) tüplerine alındı.
3. Tüpler 3000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi.
4. RT-PCR aşamasında ilk önce 95°C'de 1 dakika tutuldu, daha sonraki aşamada 95°C'de 5 saniye ve daha sonra 55°C'de 40 saniye tutuldu. Tarama aşamasından sonra bir sonraki döngüye geçildi. Toplamda her örnek için 40 döngü yapıldı. Real-Time PCR işlemi için Real Time PCR cihazı (ExiCycler 96, Bioneer) kullanılmıştır.
5. 40 döngü sonunda çıkan sonuçlar alınarak işlem sonlandırıldı.



**Tablo 3.2:** Real-Time PCR işleminde kullanılan primerler

miRNA	Reverse/forward primer	Primer dizisi
miR-132	reverse	5'- CCGCGTCTCCAGGGCAAC-3'
miR-132	forward	5'-CCTCCGGTCCCACAGTAACAA-3'
miR-134	reverse	5'-GGGTTGGTGACTAGGTGGCC-3'
miR-134	forward	5'-GGGTGTGTGACTGGTTGACCA-3'
miR-138	reverse	5'- CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGCAA TTCAGTTGAGCGGCCTGAT-3'
miR-138	forward	5'- ACACTCCAGCTGGGAGCTGGTGTG- 3'
GAPDH	reverse	5'-AGCCCAGGATGCCCTTTAGT-3'
GAPDH	forward	5'-GACATGCCGCCTGGAGAAAC-3'

### 3.7. İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmada Real-Time PCR sonucunda elde edilen CT değerleri kullanılarak değişim katsayısı ( $2^{\Delta\Delta CT}$ ) değerleri hesaplandı. Farklı grupların değişim katsayısı değerleri t testi ile analiz edildi ve ortalama  $\pm$  standart sapma ( $ort \pm ss$ ) şeklinde gösterildi. Analizler için SPSS 21.0 programı (IL, Chicago, USA) kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi olarak  $p < 0.05$  değeri alındı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Kısa dönemli (7 gün) farklı ortam şartlarında tutulan hayvanların farklı dokularında ölçülen miRNA seviyelerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması

**Tablo 4.1:** S07 ve İ07 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması

	S07 (n=7)	İ07 (n=8)	P
	ort±ss	ort±ss	
FL miR-132	1,03±0,28	2,59±1,79	<b>0,045</b>
HK miR-132	1,07±0,41	5,73±3,22	<b>0,009</b>
PL miR-132	1,02±0,24	7,72±3,14	<b>0,001</b>
FL miR-134	1,16±0,61	4,99±3,99	<b>0,030</b>
HK miR-134	1,12±0,56	3,15±2,41	<b>0,049</b>
PL miR-134	1,02±0,24	18,78±9,33	<b>0,001</b>
FL miR-138	1,14±0,68	0,92±0,61	0,523
HK miR-138	1,06±0,41	6,42±2,21	<b>0,000</b>
PL miR-138	1,19±0,71	10,81±5,94	<b>0,002</b>

ort±ss: ortalama± standart sapma

FL: Frontal lob

HK: Hipokampüs

PL: Plazma

S07: 7 gün standart ortamda tutulan hayvanlar

İ07: 7 gün izole ortamda tutulan hayvanlar

Kısa dönem izole ortam koşullarına bırakılan hayvanlarda, standart ortamdakilere göre, FL miR-138 değerleri açısından istatistiksel olarak fark görülmezken ( $p>0,05$ ), FL miR-132, FL miR-134, HK miR-134 ( $p<0,05$ ), HK miR-132, PL miR-132, PL miR-134, PL miR-138 ( $p<0,01$ ) ve HK miR-138 ( $p<0,001$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.1).

**Tablo 4.2:** S07 ve Z07 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması

	S07 (n=7)	Z07 (n=7)	P
	ort±ss	ort±ss	
FL miR-132	1,03±0,28	4,43±1,28	<b>0,000</b>
HK miR-132	1,07±0,41	2,66±1,06	<b>0,001</b>
PL miR-132	1,02±0,24	2,18±1,16	<b>0,018</b>
FL miR-134	1,16±0,61	20,16±5,57	<b>0,000</b>
HK miR-134	1,12±0,56	1,57±0,67	0,166
PL miR-134	1,02±0,24	5,76±3,72	<b>0,005</b>
FL miR-138	1,14±0,68	8,17±3,75	<b>0,001</b>
HK miR-138	1,06±0,41	1,24±0,64	0,537
PL miR-138	1,19±0,71	21,19±9,85	<b>0,000</b>

ort±ss: ortalama± standart sapma

FL: Frontal lob

HK: Hipokampüs

PL: Plazma

S07: 7 gün standart ortamda tutulan hayvanlar

Z07: 7 gün zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanlar

Kısa dönem zenginleştirilmiş ortam koşullarına bırakılan hayvanlarda, standart ortamdakilere göre, HK miR-134, HK miR-138 değerleri açısından istatistiksel olarak fark görülmezken ( $p>0,05$ ); PL miR-132 ( $p<0,05$ ); PL miR-134, FL miR-138 ve HK miR-132 ( $p<0,01$ ); PL miR-138, FL miR-132 ve FL miR-134 ( $p<0,001$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.2).

**Tablo 4.3:** İO7 ve ZO7 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması

	İO7 (n=7)	ZO7 (n=7)	P
	ort±ss	ort±ss	
FL miR-132	2,59±1,79	4,43±1,28	<b>0,035</b>
HK miR-132	5,73±3,22	2,66±1,06	<b>0,024</b>
PL miR-132	7,72±3,14	2,18±1,16	<b>0,001</b>
FL miR-134	4,99±3,99	20,16±5,57	<b>0,000</b>
HK miR-134	3,15±2,41	1,57±0,67	0,109
PL miR-134	18,78±9,33	5,76±3,72	<b>0,005</b>
FL miR-138	0,92±0,61	8,17±3,75	<b>0,001</b>
HK miR-138	6,42±2,21	1,24±0,64	<b>0,000</b>
PL miR-138	10,81±5,94	21,19±9,85	<b>0,021</b>

ort±ss: ortalama± standart sapma

FL: Frontal lob

HK: Hipokampüs

PL: Plazma

İO7: 7 gün izole ortamda tutulan hayvanlar

ZO7: 7 gün zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanlar

Kısa dönem zenginleştirilmiş ortam koşullarına bırakılan hayvanlarda, izole ortamdakilere göre, HK miR-134 değerleri açısından istatistiksel olarak fark görülmezken ( $p>0,05$ ); FL miR-132, PL miR-138 ( $p<0,05$ ), FL miR-138 ( $p<0,01$ ); FL miR-134 değerlerinde ( $p<0,001$ ) istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu; HK miR-132 ( $p<0,05$ ), PL miR-132, PL miR-134 ( $p<0,01$ ) ve HK miR-138 ( $p<0,001$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.3).

## 4.2. Uzun dönemli (14 gün) farklı ortam şartlarında tutulan hayvanların farklı dokularında ölçülen miRNA seviyelerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması

**Tablo 4.4:** SO14 ve İO14 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması

	SO14 (n=7)	İO14 (n=7)	P
	ort±ss	ort±ss	
FL miR-132	4,11±1,68	2,61±1,85	0,140
HK miR-132	6,85±0,51	9,04±2,21	<b>0,039</b>
PL miR-132	0,46±0,16	2,79±2,29	<b>0,024</b>
FL miR-134	0,66±0,31	1,77±1,88	0,172
HK miR-134	2,57±1,56	0,51±0,55	<b>0,012</b>
PL miR-134	1,11±0,68	24,51±13,39	<b>0,002</b>
FL miR-138	4,86±3,39	4,06±4,25	0,704
HK miR-138	3,43±1,07	0,75±0,56	<b>0,000</b>
PL miR-138	71,52±9,92	54,36±27,92	0,137

ort±ss: ortalama± standart sapma

FL: Frontal lob

HK: Hipokampus

PL: Plazma

SO14: 14 gün standart ortamda tutulan hayvanlar

İO14: 14 gün izole ortamda tutulan hayvanlar

Uzun dönem izole ortam koşullarına bırakılan hayvanlarda, standart ortamdakilere göre, FL miR-132, FL miR-134, FL miR-138 ve PL miR-138 değerleri açısından istatistiksel olarak fark görülmezken ( $p>0,05$ ); HK miR-132 ve PL miR-132 ( $p<0,05$ ), PL miR-134 ( $p<0,01$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu; HK miR-134 ( $p<0,05$ ), HK miR-138 ( $p<0,001$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.4).

**Tablo 4.5:** SO14 ve ZO14 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması

	SO14 (n=7)	ZO14 (n=7)	P
	ort±ss	ort±ss	
FL miR-132	4,11±1,68	5,89±3,15	0,205
HK miR-132	6,85±0,51	31,04±9,15	<b>0,000</b>
PL miR-132	0,46±0,16	5,41±3,71	<b>0,007</b>
FL miR-134	0,66±0,31	2,79±1,44	<b>0,004</b>
HK miR-134	2,57±1,56	10,14±7,76	<b>0,042</b>
PL miR-134	1,11±0,68	8,58±3,17	<b>0,000</b>
FL miR-138	4,86±3,39	4,96±4,46	0,960
HK miR-138	3,43±1,07	2,21±1,73	0,141
PL miR-138	71,52±9,92	594,48±214,38	<b>0,000</b>

ort±ss: ortalama± standart sapma

FL: Frontal lob

HK: Hipokampüs

PL: Plazma

SO14: 14 gün standart ortamda tutulan hayvanlar

ZO14: 14 gün zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanlar

Uzun dönem zenginleştirilmiş ortam koşullarına bırakılan hayvanlarda, standart ortamdakilere göre, FL miR-132, FL miR-138 ve HK miR-138 değerleri açısından istatistiksel olarak fark görülmezken ( $p>0,05$ ); HK miR-134 ( $p<0,05$ ), PL miR-132, FL miR-134 ( $p<0,01$ ), HK miR-132, PL miR-134 ve PL miR-138 ( $p<0,001$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.5).

**Tablo 4.6:** İO14 ve ZO14 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması

	İO14 (n=7)	ZO14 (n=7)	P
	ort±ss	ort±ss	
FL miR-132	2,61±1,85	5,89±3,15	<b>0,032</b>
HK miR-132	9,04±2,21	31,04±9,15	<b>0,001</b>
PL miR-132	2,79±2,29	5,41±3,71	0,114
FL miR-134	1,77±1,88	2,79±1,44	0,256
HK miR-134	0,51±0,55	10,14±7,76	<b>0,017</b>
PL miR-134	24,51±13,39	8,58±3,17	<b>0,006</b>
FL miR-138	4,06±4,25	4,96±4,46	0,695
HK miR-138	0,75±0,56	2,21±1,73	0,070
PL miR-138	54,36±27,92	594,48±214,38	<b>0,000</b>

ort±ss: ortalama± standart sapma

FL: Frontal lob

HK: Hipokampüs

PL: Plazma

İO14: 14 gün izole ortamda tutulan hayvanlar

ZO14: 14 gün zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanlar

Uzun dönem zenginleştirilmiş ortam koşullarına bırakılan hayvanlarda, izole ortamdakilere göre, PL miR-132, FL miR-134, FL miR-138 ve HK miR-138 değerleri açısından istatistiksel olarak fark görülmezken ( $p>0,05$ ); FL miR-132, HK miR-134 ( $p<0,05$ ), HK miR-132 ( $p<0,01$ ), PL miR-138 ( $p<0,001$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu; PL miR-134 ( $p<0,01$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.6).

### 4.3. SAK sonrası kısa dönem ve uzun dönem standart ortamda tutulan hayvanların farklı dokularında ölçülen miRNA seviyelerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması

**Tablo 4.7:** SO7 ve SAK SO7 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması

	SO7 (n=7)	SAK SO7 (n=7)	P
	ort±ss	ort±ss	
FL miR-132	1,03±0,28	119,88±74,65	<b>0,006</b>
HK miR-132	1,07±0,41	17,12±9,57	<b>0,004</b>
PL miR-132	1,02±0,24	2,14±1,34	0,071
FL miR-134	1,16±0,61	632,41±141,59	<b>0,000</b>
HK miR-134	1,12±0,56	0,48±0,33	<b>0,021</b>
PL miR-134	1,02±0,24	36,66±17,66	<b>0,002</b>
FL miR-138	1,14±0,68	5817,29±3001,28	<b>0,002</b>
HK miR-138	1,06±0,41	1,09±1,26	0,952
PL miR-138	1,19±0,71	26,23±12,81	<b>0,002</b>

ort±ss: ortalama± standart sapma

FL: Frontal lob

HK: Hipokampus

PL: Plazma

SO7: 7 gün standart ortamda tutulan hayvanlar

SAK SO7: SAK sonrası 7 gün standart ortamda tutulan hayvanlar

SAK sonrası kısa dönem standart ortam koşullarına bırakılan hayvanlarda, standart ortamdakilere göre, PL miR-132, HK miR-138 değerleri açısından istatistiksel olarak fark görülmezken ( $p>0,05$ ); FL miR-132, HK miR-132, PL miR-134, FL miR-138, PL miR-138 ( $p<0,01$ ) ve FL miR-134 ( $p<0,001$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu; HK miR-134 ( $p<0,05$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.7).



**Tablo 4.8:** SO14 ve SAK SO14 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması

	SO14 (n=7) ort±ss	SAK SO14 (n=7) ort±ss	P
FL miR-132	4,11±1,68	2,78±2,96	0,318
HK miR-132	6,85±0,51	7,03±2,09	0,820
PL miR-132	0,46±0,16	1,72±0,68	<b>0,006</b>
FL miR-134	0,66±0,31	7,56±4,72	<b>0,008</b>
HK miR-134	2,57±1,56	0,89±0,71	<b>0,030</b>
PL miR-134	1,11±0,68	3,03±2,72	0,146
FL miR-138	4,86±3,39	2,71±1,88	0,147
HK miR-138	3,43±1,07	3,15±3,53	0,843
PL miR-138	71,52±9,92	172,55±101,67	0,059

ort±ss: ortalama± standart sapma

FL: Frontal lob

HK: Hipokampüs

PL: Plazma

SO14: 14 gün standart ortamda tutulan hayvanlar

SAK SO14: SAK sonrası 14 gün standart ortamda tutulan hayvanlar

SAK sonrası uzun dönem standart ortam koşullarına bırakılan hayvanlarda, standart ortamdakilere göre, FL miR-132, HK miR-132, PL miR-134, FL miR-138, HK miR-138 ve PL miR-138 değerleri açısından istatistiksel olarak fark görülmezken ( $p>0,05$ ); PL miR-132, FL miR-134 ( $p<0,01$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu; HK miR-134 ( $p<0,05$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.8).

**Tablo 4.9:** SAK SO7 ve SAK SO14 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması

	SAK SO7 (n=7)	SAK SO14 (n=7)	P
	ort±ss	ort±ss	
FL miR-132	119,88±74,65	2,78±2,96	<b>0,006</b>
HK miR-132	17,12±9,57	7,03±2,09	<b>0,031</b>
PL miR-132	2,14±1,34	1,72±0,68	0,505
FL miR-134	632,41±141,59	7,56±4,72	<b>0,000</b>
HK miR-134	0,48±0,33	0,89±0,71	0,167
PL miR-134	36,66±17,66	3,03±2,72	<b>0,002</b>
FL miR-138	5817,29±3001,28	2,71±1,88	<b>0,002</b>
HK miR-138	1,09±1,26	3,15±3,53	0,170
PL miR-138	26,23±12,81	172,55±101,67	<b>0,017</b>

ort±ss: ortalama± standart sapma

FL: Frontal lob

HK: Hipokampüs

PL: Plazma

SAK SO7: SAK sonrası 7 gün standart ortamda tutulan hayvanlar

SAK SO14: SAK sonrası 14 gün standart ortamda tutulan hayvanlar

SAK sonrası uzun dönem standart ortam koşullarına bırakılan hayvanlarda, SAK sonrası kısa dönem standart ortamdakilere göre, PL miR-132, HK miR-134 ve HK miR-138 değerleri açısından istatistiksel olarak fark görülmezken ( $p>0,05$ ); PL miR-138 ( $p<0,05$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu; HK miR-132 ( $p<0,05$ ), FL miR-132, PL miR-134 ve FL miR-138 ( $p<0,01$ ), FL miR-134 ( $p<0,001$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.9).

#### 4.4. SAK sonrası kısa dönemli farklı ortam koşullarında tutulan hayvanların farklı dokularında ölçülen miRNA seviyelerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması

**Tablo 4.10:** SAK S07 ve SAK İ07 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması

	SAK S07 (n=7)	SAK İ07 (n=7)	P
	ort±ss	ort±ss	
FL miR-132	119,88±74,65	2167,95±850,52	<b>0,001</b>
HK miR-132	17,12±9,57	31,28±9,63	<b>0,017</b>
PL miR-132	2,14±1,34	47,15±25,38	<b>0,007</b>
FL miR-134	632,41±141,59	66,53±48,42	<b>0,000</b>
HK miR-134	0,48±0,33	3,55±2,91	<b>0,032</b>
PL miR-134	36,66±17,66	19,41±10,18	0,059
FL miR-138	5817,29±3001,28	3230,31±3406,22	0,158
HK miR-138	1,09±1,26	3,36±2,01	<b>0,026</b>
PL miR-138	26,23±12,81	3553,31±1697,47	<b>0,004</b>

ort±ss: ortalama± standart sapma

FL: Frontal lob

HK: Hipokampus

PL: Plazma

SAK S07: SAK sonrası 7 gün standart ortamda tutulan hayvanlar

SAK İ07: SAK sonrası 7 gün izole ortamda tutulan hayvanlar

SAK sonrası kısa dönem izole ortam koşullarına bırakılan hayvanlarda, SAK sonrası kısa dönem standart ortamdakilere göre, PL miR-134 ve FL miR-138 değerleri açısından istatistiksel olarak fark görülmezken ( $p>0,05$ ); HK miR-132, HK miR-134, HK miR-138 ( $p<0,05$ ), FL miR-132, PL miR-132, PL miR-138 ( $p<0,01$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu; FL miR-134 değerlerinde ( $p<0,001$ ) istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.10).

**Tablo 4.11:** SAK SO7 ve SAK ZO7 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması

	SAK SO7 (n=7)	SAK ZO7 (n=7)	P
	ort±ss	ort±ss	
FL miR-132	119,88±74,65	0,63±0,51	<b>0,006</b>
HK miR-132	17,12±9,57	4,48±1,68	<b>0,013</b>
PL miR-132	2,14±1,34	4,26±3,81	0,204
FL miR-134	632,41±141,59	2,05±2,05	<b>0,000</b>
HK miR-134	0,48±0,33	2,11±1,95	0,070
PL miR-134	36,66±17,66	12,97±11,69	<b>0,012</b>
FL miR-138	5817,29±3001,28	0,14±0,08	<b>0,002</b>
HK miR-138	1,09±1,26	3,04±2,52	0,102
PL miR-138	26,23±12,81	633,01±264,34	<b>0,001</b>

ort±ss: ortalama± standart sapma

FL: Frontal lob

HK: Hipokampüs

PL: Plazma

SAK SO7: SAK sonrası 7 gün standart ortamda tutulan hayvanlar

SAK ZO7: SAK sonrası 7 gün zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanlar

SAK sonrası kısa dönem zenginleştirilmiş ortam koşullarına bırakılan hayvanlarda, SAK sonrası kısa dönem standart ortamdakilere göre, PL miR-132, HK miR-134 ve HK miR-138 değerleri açısından istatistiksel olarak fark görülmezken ( $p>0,05$ ); PL miR-138 ( $p<0,01$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu; HK miR-132, PL miR-134 ( $p<0,05$ ), FL miR-132, FL miR-138 ( $p<0,01$ ), FL miR-134 ( $p<0,001$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.11).

**Tablo 4.12:** SAK İ07 ve SAK Z07 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması

	SAK İ07 (n=7)	SAK Z07 (n=7)	P
	ort±ss	ort±ss	
FL miR-132	2167,95±850,52	0,63±0,51	<b>0,001</b>
HK miR-132	31,28±9,63	4,48±1,68	<b>0,000</b>
PL miR-132	47,15±25,38	4,26±3,81	<b>0,009</b>
FL miR-134	66,53±48,42	2,05±2,05	<b>0,012</b>
HK miR-134	3,55±2,91	2,11±1,95	0,299
PL miR-134	19,41±10,18	12,97±11,69	0,317
FL miR-138	3230,31±3406,22	0,14±0,08	<b>0,046</b>
HK miR-138	3,36±2,01	3,04±2,52	0,795
PL miR-138	3553,31±1697,47	633,01±264,34	<b>0,008</b>

ort±ss: ortalama± standart sapma

FL: Frontal lob

HK: Hipokampüs

PL: Plazma

SAK İ07: SAK sonrası 7 gün izole ortamda tutulan hayvanlar

SAK Z07: SAK sonrası 7 gün zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanlar

SAK sonrası kısa dönem zenginleştirilmiş ortam koşullarına bırakılan hayvanlarda, SAK sonrası kısa dönem izole ortamdakilere göre, HK miR-134, PL miR-134 ve HK miR-138 değerleri açısından istatistiksel olarak fark görülmezken ( $p>0,05$ ); FL miR-134, FL miR-138 ( $p<0,05$ ), FL miR-132, PL miR-132, PL miR-138 ( $p<0,01$ ) ve HK miR-132 ( $p<0,001$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.12).

**Tablo 4.13:** SO7 ve SAK İO7 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması

	SO7 (n=7)	SAK İO7 (n=7)	P
	ort±ss	ort±ss	
FL miR-132	1,03±0,28	2167,95±850,52	<b>0,001</b>
HK miR-132	1,07±0,41	31,28±9,63	<b>0,000</b>
PL miR-132	1,02±0,24	47,15±25,38	<b>0,007</b>
FL miR-134	1,16±0,61	66,53±48,42	<b>0,012</b>
HK miR-134	1,12±0,56	3,55±2,91	0,070
PL miR-134	1,02±0,24	19,41±10,18	<b>0,007</b>
FL miR-138	1,14±0,68	3230,31±3406,22	<b>0,046</b>
HK miR-138	1,06±0,41	3,36±2,01	<b>0,023</b>
PL miR-138	1,19±0,71	3553,31±1697,47	<b>0,004</b>

ort±ss: ortalama± standart sapma

FL: Frontal lob

HK: Hipokampüs

PL: Plazma

SO7: 7 gün standart ortamda tutulan hayvanlar

SAK İO7: SAK sonrası 7 gün izole ortamda tutulan hayvanlar

SAK sonrası kısa dönem izole ortam koşullarına bırakılan hayvanlarda, kısa dönem standart ortamdakilere göre, HK miR-134 değerleri açısından istatistiksel olarak fark görülmezken ( $p>0,05$ ); FL miR-134, FL miR-138, HK miR-138 ( $p<0,05$ ), FL miR-132, PL miR-132, PL miR-134, PL miR-138 değerlerinde ( $p<0,01$ ) ve HK miR-132 ( $p<0,001$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.13).

**Tablo 4.14:** S07 ve SAK Z07 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması

	S07 (n=7)	SAK Z07 (n=7)	P
	ort±ss	ort±ss	
FL miR-132	1,03±0,28	0,63±0,51	0,099
HK miR-132	1,07±0,41	4,48±1,68	<b>0,001</b>
PL miR-132	1,02±0,24	4,26±3,81	0,065
FL miR-134	1,16±0,61	2,05±2,05	0,305
HK miR-134	1,12±0,56	2,11±1,95	0,190
PL miR-134	1,02±0,24	12,97±11,69	<b>0,036</b>
FL miR-138	1,14±0,68	0,14±0,08	<b>0,008</b>
HK miR-138	1,06±0,41	3,04±2,52	0,085
PL miR-138	1,19±0,71	633,01±264,34	<b>0,001</b>

ort±ss: ortalama± standart sapma

FL: Frontal lob

HK: Hipokampus

PL: Plazma

S07: 7 gün standart ortamda tutulan hayvanlar

SAK Z07: SAK sonrası 7 gün zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanlar

SAK sonrası kısa dönem zenginleştirilmiş ortam koşullarına bırakılan hayvanlarda, kısa dönem standart ortamdakilere göre, FL miR-132, PL miR-132, FL miR-134, HK miR-134 ve HK miR-138 değerleri açısından istatistiksel olarak fark görülmezken ( $p>0,05$ ); PL miR-134 ( $p<0,05$ ), HK miR-132 ve PL miR-138 ( $p<0,01$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu; FL miR-138 ( $p<0,01$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.14).

#### 4.5. SAK sonrası uzun dönemli farklı ortam koşullarında tutulan hayvanların farklı dokularında ölçülen miRNA seviyelerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması

**Tablo 4.15:** SAK SO14 ve SAK İO14 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması

	SAK SO14 (n=7)	SAK İO14 (n=7)	P
	ort±ss	ort±ss	
FL miR-132	2,78±2,96	0,81±0,81	0,111
HK miR-132	7,03±2,09	19,32±18,66	0,086
PL miR-132	1,72±0,68	6,7943±4,77	<b>0,031</b>
FL miR-134	7,56±4,72	1,1186±1,67	<b>0,010</b>
HK miR-134	0,89±0,71	4,3700±5,17	0,127
PL miR-134	3,03±2,72	10,5418±6,41	<b>0,022</b>
FL miR-138	2,71±1,88	1,2567±1,14	0,121
HK miR-138	3,15±3,53	2,0328±2,18	0,482
PL miR-138	172,55±101,67	91,7214±45,39	0,117

ort±ss: ortalama± standart sapma

FL: Frontal lob

HK: Hipokampus

PL: Plazma

SAK SO14: SAK sonrası 14 gün standart ortamda tutulan hayvanlar

SAK İO14: SAK sonrası 14 gün izole ortamda tutulan hayvanlar

SAK sonrası uzun dönem izole ortam koşullarına bırakılan hayvanlarda, SAK sonrası uzun dönem standart ortamdakilere göre, FL miR-132, HK miR-132, HK miR-134, FL miR-138, HK miR-138 ve PL miR-138 değerleri açısından istatistiksel olarak fark görülmezken ( $p>0,05$ ); PL miR-132 ve PL miR-134 ( $p<0,05$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu; FL miR-134 ( $p<0,05$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.15).



**Tablo 4.16:** SAK SO14 ve SAK ZO14 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması

	SAK SO14 (n=7)	SAK ZO14 (n=7)	P
	ort±ss	ort±ss	
FL miR-132	2,78±2,96	439,98±231,56	<b>0,002</b>
HK miR-132	7,03±2,09	9,08±6,15	0,390
PL miR-132	1,72±0,68	2,29±1,75	0,470
FL miR-134	7,56±4,72	370,71±164,81	<b>0,001</b>
HK miR-134	0,89±0,71	1,39±0,86	0,241
PL miR-134	3,03±2,72	76,96±28,29	<b>0,000</b>
FL miR-138	2,71±1,88	23485,91±16598,93	<b>0,010</b>
HK miR-138	3,15±3,53	0,06±0,11	<b>0,043</b>
PL miR-138	172,55±101,67	14,54±5,16	<b>0,012</b>

ort±ss: ortalama± standart sapma

FL: Frontal lob

HK: Hipokampus

PL: Plazma

SAK SO14: SAK sonrası 14 gün standart ortamda tutulan hayvanlar

SAK ZO14: SAK sonrası 14 gün zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanlar

SAK sonrası uzun dönem zenginleştirilmiş ortam koşullarına bırakılan hayvanlarda, SAK sonrası uzun dönem standart ortamdakilere göre, HK miR-132, PL miR-132 ve HK miR-134 değerleri açısından istatistiksel olarak fark görülmezken ( $p>0,05$ ); FL miR-138 ( $p<0,05$ ), FL miR-132, FL miR-134 ( $p<0,01$ ) ve PL miR-134 ( $p<0,001$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu; HK miR-138 ve PL miR-138 ( $p<0,05$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.16).

**Tablo 4.17:** SAK İO14 ve SAK ZO14 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması

	SAK İO14 (n=7)	SAK ZO14 (n=7)	P
	ort±ss	ort±ss	
FL miR-132	0,81±0,81	439,98±231,56	<b>0,002</b>
HK miR-132	19,32±18,66	9,08±6,15	0,193
PL miR-132	6,7943±4,77	2,29±1,75	<b>0,049</b>
FL miR-134	1,1186±1,67	370,71±164,81	<b>0,001</b>
HK miR-134	4,3700±5,17	1,39±0,86	0,181
PL miR-134	10,5418±6,41	76,96±28,29	<b>0,001</b>
FL miR-138	1,2567±1,14	23485,91±16598,93	<b>0,010</b>
HK miR-138	2,0328±2,18	0,06±0,11	0,054
PL miR-138	91,7214±45,39	14,54±5,16	<b>0,004</b>

ort±ss: ortalama± standart sapma

FL: Frontal lob

HK: Hipokampus

PL: Plazma

SAK İO14: SAK sonrası 14 gün izole ortamda tutulan hayvanlar

SAK ZO14: SAK sonrası 14 gün zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanlar

SAK sonrası uzun dönem zenginleştirilmiş ortam koşullarına bırakılan hayvanlarda, SAK sonrası uzun dönem izole ortamdakilere göre, HK miR-132, HK miR-134 ve HK miR-138 değerleri açısından istatistiksel olarak fark görülmezken ( $p>0,05$ ); FL miR-138 ( $p<0,05$ ), FL miR-132, FL miR-134 ve PL miR-134 ( $p<0,01$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu; PL miR-132 ( $p<0,05$ ) ve PL miR-138 ( $p<0,01$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.17).

**Tablo 4.18:** SO14 ve SAK İO14 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması

	SO14 (n=7)	SAK İO14 (n=7)	P
	ort±ss	ort±ss	
FL miR-132	4,11±1,68	0,81±0,81	<b>0,001</b>
HK miR-132	6,85±0,51	19,32±18,66	0,128
PL miR-132	0,46±0,16	6,7943±4,77	<b>0,013</b>
FL miR-134	0,66±0,31	1,1186±1,67	0,490
HK miR-134	2,57±1,56	4,3700±5,17	0,408
PL miR-134	1,11±0,68	10,5418±6,41	<b>0,008</b>
FL miR-138	4,86±3,39	1,2567±1,14	<b>0,031</b>
HK miR-138	3,43±1,07	2,0328±2,18	0,163
PL miR-138	71,52±9,92	91,7214±45,39	0,290

ort±ss: ortalama± standart sapma

FL: Frontal lob

HK: Hipokampüs

PL: Plazma

SO14: 14 gün standart ortamda tutulan hayvanlar

SAK İO14: SAK sonrası 14 gün izole ortamda tutulan hayvanlar

SAK sonrası uzun dönem izole ortam koşullarına bırakılan hayvanlarda, uzun dönem standart ortamdakilere göre, HK miR-132, FL miR-134, HK miR-134, HK miR-138 ve PL miR-138 değerlerinde istatistiksel olarak fark görülmezken ( $p>0,05$ ); PL miR-132 ( $p<0,05$ ) ve PL miR-134 ( $p<0,01$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu; FL miR-138 ( $p<0,05$ ) ve FL miR-132 ( $p<0,01$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.18).

**Tablo 4.19:** SAK SO7 ve SAK İO7 gruplarının miRNA seviyelerinin karşılaştırılması

	SO14 (n=7)	SAK ZO14 (n=7)	P
	ort±ss	ort±ss	
FL miR-132	4,11±1,68	439,98±231,56	<b>0,003</b>
HK miR-132	6,85±0,51	9,08±6,15	0,376
PL miR-132	0,46±0,16	2,29±1,75	<b>0,033</b>
FL miR-134	0,66±0,31	370,71±164,81	<b>0,001</b>
HK miR-134	2,57±1,56	1,39±0,86	0,105
PL miR-134	1,11±0,68	76,96±28,29	<b>0,000</b>
FL miR-138	4,86±3,39	23485,91±16598,93	<b>0,010</b>
HK miR-138	3,43±1,07	0,06±0,11	<b>0,000</b>
PL miR-138	71,52±9,92	14,54±5,16	<b>0,000</b>

ort±ss: ortalama± standart sapma

FL: Frontal lob

HK: Hipokampus

PL: Plazma

SO14: 14 gün standart ortamda tutulan hayvanlar

SAK ZO14: SAK sonrası 14 gün zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanlar

SAK sonrası uzun dönem zenginleştirilmiş ortam koşullarına bırakılan hayvanlarda, uzun dönem standart ortamdakilere göre, HK miR-132 ve HK miR-134 değerleri açısından istatistiksel olarak fark görülmezken ( $p>0,05$ ); PL miR-132, FL miR-138 ( $p<0,05$ ), FL miR-132, FL miR-134 ( $p<0,01$ ), PL miR-134 ( $p<0,001$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu; HK miR-138 ve PL miR-138 ( $p<0,001$ ) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.19).

## 5. TARTIŞMA

Subaraknoid kanamalar ve miRNA'ların ilişkisine literatürde çok az değinilmiştir. Çalışmamızda ekspresyon düzeyleri açısından araştırılan miR-132, miR-134 ve miR-138'nin hafıza, öğrenme gibi fonksiyonların yanında bazı nöropatolojik durumlarla ilgisi hakkında çeşitli bilgilere rastlanmakla birlikte, subaraknoid kanama ve subaraknoid kanama sonrası farklı ortam koşullarında etkileri hakkında yapılmış bir araştırma henüz mevcut değildir.

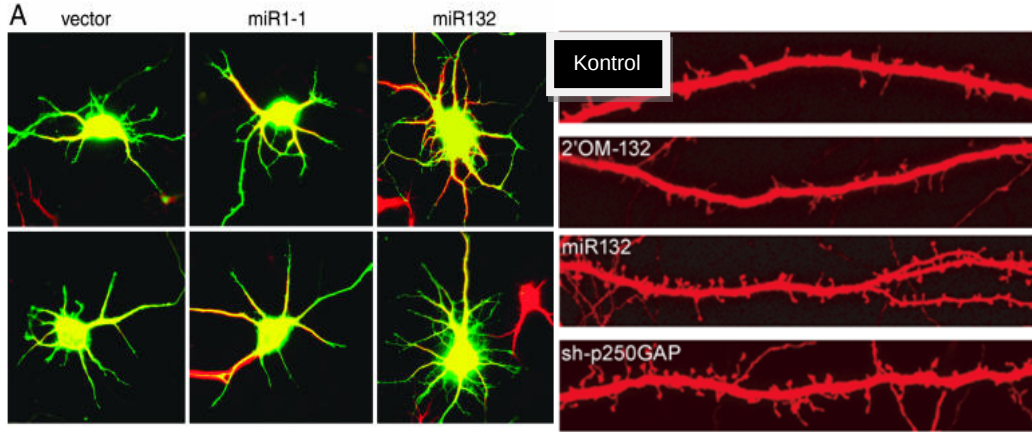
Bu çalışmanın sonucunda subaraknoid kanama sonrası farklı ortam koşullarında tutulan hayvanların çeşitli dokularında ilgili miRNA ekspresyonlarının farklılık gösterdiği gözlenmiştir. Bu bölümde literatürde rastlanan çeşitli çalışmaların sonuçları ile çalışmamızdan elde edilen sonuçlar başlıklar halinde tartışılarak verilmektedir.

### 5.1. Değişik Ortam Koşullarının Farklı Dokulardaki miR-132 Seviyesi Üzerine Olan Etkisi

BDNF uyarını karşısında kortikal nöronların CREB proteinleri aktive olmakta ve bununla birlikte miR-132 ekspresyonu da yükselmektedir. miR-132 seviyesi yükseltilmiş kortikal nöronlarda nörit büyümesinin arttığı ve 2' O-methyl RNA inhibitörleri yardımıyla miR-132 seviyesi inhibe edildiğinde ise nörit büyümesinin önemli ölçüde azaldığı daha önce gösterilmiştir (Vo et al., 2005).

miR-132 hedefleri arasında evrimsel açıdan iyi korunmuş bir protein olan GAP (GTPaz aktive edici proteinler)'ların Rac/Rho ailesinden p250GAP proteini (GTPase-activating protein p250GAP) özellikle sinaptik plastisite gelişiminde önemli rol oynamaktadır. P250GAP proteinleri dendritik dikensi çıkıntı morfolojisi üzerine pozitif yönde etki yapan Rac yolağının inhibisyonundan sorumludur. Rac proteinlerinin de aktin filamentlerinin polimerizasyonunu sağlayan kofilin proteinlerinin katalizörü olan Limk1 proteinleri üzerine eksitator etkisi bulunmaktadır (Impey et al., 2010; Lin & DeFea, 2010; Vo et al., 2005).

Vo ve arkadaşlarının çalışmaları sonucunda miR-132'nin p250GAP seviyesinin regülasyonunu sağlayarak nöron uzantılarının büyüklüğünü doğrudan etkilediği görülmektedir (Şekil 5.1-A) (Vo et al., 2005). miR-132 seviyesinin 2' O-methyl RNA kullanılarak inhibisyonu sonucu dendritik dikensi çıkıntı yoğunluğunda kontrol grubu nöronlarına göre daha az olduğu görülmektedir. miR-132 ekspresyonunun arttırıldığı ve p250GAP seviyesinin shRNA kullanılarak inhibe edildiği durumlarda ise birbirine benzer şekilde dendritik dikensi çıkıntı yoğunluğunda anlamlı ölçüde bir artış görülmektedir (Şekil 5.1-B)(Impey et al., 2010).



**Şekil 5.1:** miR-132'nin nöritler ve dendritik dikensi çıkıntılar üzerine olan etkileri A- Neonatal kortikal nöronların GFP ile etkileşime sokulduktan sonra kontrol, miR-1-1 ve miR-132 ile transfekte edildikten sonraki konfokal mikroskop görüntüleri. B- Hipokampal nöron kültürü hücrelerinin kesitlerinde CA1 bölgesindeki piramidal nöronların dendritlerinde miR-132 ekspresyonu ve p250GAP inhibisyonunun dendritik dikensi çıkıntılarının yoğunluğu üzerine etkisi (Vo, 2005; Impey, 2010)

Zenginleştirilmiş ortam koşullarının BDNF seviyesini yükselttiği bilinmektedir (Kuzumaki et al.). Çalışmamızın sonuçlarına benzer olarak daha önce sadece hipokampus bölgesini de içeren beyin kesitleri kullanılarak real-time PCR ölçümü yapılmış bir başka çalışma sonucunda da miR-132 seviyesinin zenginleştirilmiş ortamda bulunan hayvanlarda kontrol grupları ile karşılaştırıldığında yükseldiği görülmüştür (Brenes et al., 2016). Bu bilgiler ışığında zenginleştirilmiş ortam koşullarının miR-132 seviyesine etki ederek kısmen de olsa sinaptik plastisite ve dendritik çıkıntı morfogenezini regüle ettiği söylenebilir.

Çalışmamızda miR-132 seviyesinin kontrol grupları ile karşılaştırıldığında hem kısa dönem izole ortam hem de kısa dönem zengin ortamda tutulan hayvanlarda arttığı görülmüştür. Hipokampus ve plazma dokularında yapılan ölçümler sonucunda kısa dönem zengin ortam şartlarında tutulan hayvanlarda kısa dönem izole ortam şartlarında tutulan hayvanlarla kıyaslandığında miR-132 seviyesinin daha düşük olduğu görülmektedir. Yalnız 7 gün zengin ortamda tutulan hayvanların frontal lob örneklerinde 7 gün izole ortamda tutulan hayvanlarla karşılaştırıldığında daha yüksek seviyede miR-132 olduğu görülmektedir.

Zengin ortam koşullarının nöronal aktivasyon sağladığı ve bunun sonucunda BDNF artışına bağlı olarak hafıza ve öğrenme fonksiyonlarına olumlu etki yaptığı daha önce yapılan çalışmalar sonucunda bilinmektedir. miR-132 seviyesinin bu hayvanlarda artması da beklenen bir sonuçtur.

İzole ortam koşullarının anksiyete benzeri duruma yol açtığı ve BDNF seviyesini yükselttiği bilinmektedir. Bu hayvanların plazma ve hipokampus dokularında miR-132 seviyesinin 7 gün ve 14 gün sonunda arttığı görülmektedir. Frontal lob dokularında yapılan ölçümlerde 7 gün izole ortamda tutulan hayvanların miR-132 seviyesinde artış görülürken 14 gün izole ortamda tutulan hayvanlardan alınan örneklerde miR-132

seviyesinin düştüğü görülmektedir. İzole ortamın frontal lob dokularında miR-132 seviyesine kısa dönemde indükleyici etkisi olmasına karşın uzun dönemde bu etkinin kaybolduğu ve hatta miR-132 seviyesinin kontrol değerlerinin de altına düştüğü görülmüştür. Benzer şekilde uzun dönem zengin ortamda tutulan hayvanların frontal loblarındaki miR-132 seviyesi neredeyse kontrol seviyesine düşmektedir.

## **5.2. SAK Sonrası miR-132 Seviyesinin Farklı Dokulardaki Değişimi**

SAK sonrası vazospazm ve apoptoz ile ilgili olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiş olan p53 proteini aynı zamanda kan beyin bariyerinin stabilitesini olumsuz yönde etkileyen MMP-9 (metaloproteinaz-9) moleküllerinin ekspresyon ve aktivite seviyesini de yükseltmektedir (Park et al., 2004; Yan et al., 2008; Zhou, Yamaguchi M Fau - Colohan, Colohan Ar Fau - Zhang, & Zhang). p53 proteinlerinin transkripsiyonel aktivitesinin yükselmesi için asetillenmesi gerekmektedir. SIRT1 moleküllerinin deasetilasyon mekanizmasıyla p53 aktivitesini regüle ettiği bilinmektedir (Hasegawa & Yoshikawa, 2008). Ayrıca sirtuin ailesinden olan SIRT1 proteinleri p53 gibi başka apoptoz ve hücre proliferasyonu ile ilgili moleküllerin seviyesini de regüle etmektedir. Forkhead box O (FOXO) ailesi özellikle SIRT1 tarafından deasetilasyon ile regüle edilen bir başka önemli gen ailesidir (Brunet et al., 2004). SIRT1 proteinlerinin korteks, hipokampus, hipotalamus ve striatum bölgelerinde bulunduğu gösterilmiştir. Alzheimer, Parkinson, Amniyotropik lateral skleroz, multiple skleroz, aksonal zedelenme, travmatik beyin hasarı ve serebral iskemi gibi birçok akut ve kronik nörolojik bozukluklarda nöroprotektif rol oynadığı bilinmektedir (Y. Li et al., 2011).

Zhou ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları çalışmaların sonuçlarına göre SAK modeli uygulanmış sıçanların kan enjeksiyonundan 24 saat sonra beyin dokularındaki SIRT1 seviyesi kontrol grubuna göre yükselmekte olduğu görülmüştür. Bununla birlikte SAK gruplarında MMP-9 ve p53 seviyesinin de kontrol grupları ile karşılaştırıldığında yükseldiği görülmüştür. SIRT1 inhibitörü olan sirtinol kullanılarak SIRT1 seviyesi inhibe edildiğinde MMP-9 ve p53 seviyesinin SAK gruplarında daha da fazla yükseldiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar da SIRT1 proteinlerinin p53 ve MMP-9 seviyelerini regüle ettiğini doğrulamaktadır. SAK sonrası SIRT1 seviyesi nöroprotektif olarak yükselmekte ve hücre proliferasyonu ile ilgili molekülleri regüle etmektedir.

MMP-9 proteinlerinin SAK sonrası 3. günde en yüksek seviyesine eriştiği ve sonrasında kademeli olarak seviyesinin düştüğü gösterilmiştir. SAK sonrası 3. Gün serebral vazospazmın ve SAK sonrası erken dönemde beyin hasarının da en yoğun geliştiği gün olmakla birlikte vazospazmın ve erken dönem beyin hasarının MMP-9 seviyesinin yükselmesiyle bağlantılı olduğu söylenebilir. SAK sonrası 14. Gün yapılan ölçümlerde MMP-9

seviyesi neredeyse kontrol seviyesine dönmektedir (Guo et al., 2010; Wang et al., 2012).

SIRT1 ve MMP-9 aynı zamanda miR-132'nin de hedef molekülleridir. MMP-9 mRNA'larının nöronal stimülasyon sonucunda devreye giren lokal translasyon mekanizması direkt olarak miR-132 kontrolündedir. Bununla birlikte MMP-9 proteazlarının dendritik dikensi çıkıntı morfolojisi üzerinde pozitif yönde kritik rolü olduğu gösterilmiştir (Jasinska et al., 2015). MMP-9'un nörolojik hasar görülen durumlarda da seviyesinin artması sonucunda normal aktivitesine zıt olarak dendritik dikensi çıkıntı ve sinaptik bağlantı kayıplarına yol açtığı da gösterilmiştir (Stawarski, Stefaniuk, & Wlodarczyk, 2014). Zhang ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptığı çalışmaların sonucunda SIRT1 mRNA'larının da miR-132'nin direkt olarak hedef molekülü olduğu görülmüştür (Zhang et al., 2014).

Çalışmamızın sonuçlarında bütün bu verilere paralel olarak SAK sonrası miR-132 seviyesinin hipokampus ve frontal lob dokularında kısa dönemde (7.gün) seviyesinin arttığı görülmüştür. 14. günde alınan örneklerde kısa dönem sonuçları ile karşılaştırıldığında miR-132 seviyelerinin hipokampus ve frontal lob örneklerinde düşmüş olduğu görülmektedir. Plazma örneklerinde ise uzun dönem sonunda miR-132 seviyesinin kısa döneme göre daha düşük olmakla birlikte kontrol grubu seviyesinden yüksek olduğu görülmüştür.

Bu bilgilerin ışığında, miR-132 seviyesinin SAK sonrasında SIRT1 VE MMP-9 gibi hedef moleküllerinin seviyesinin artmasıyla birlikte olası geri besleme mekanizmalarının devreye girmesiyle yükseldiği ve uzun dönemde hedef moleküllerin seviyesinin normale dönmesiyle birlikte miR-132 seviyesinin de azaldığı söylenebilir.

### **5.3. SAK Sonrası Farklı Ortam Koşullarının miR-132 Seviyesi Üzerine Olan Etkisi**

Nörolojik hasar sonrası sosyal izolasyon şartlarında tutulan hayvanların standart ortamdaki hayvanlara göre daha zor iyileşme gösterdiği ve motor hareketlerinin daha zayıf olduğu bilinmektedir. Öğrenme ve hafıza fonksiyonlarında da yine izole ortamdaki hayvanların daha zayıf olduğu ve sinaptik plastisite ile ilgili bazı faktörlerin bu hayvanların beyin dokularında daha düşük seviyede bulunduğu da literatürde yer almaktadır. Öğrenme ve hafıza ile ilgili fonksiyon kayıplarının 14. günde hala yüksek seviyedeysen 3-4 hafta sonra yapılan ölçümlerde bu seviyenin normale döndüğü görülmektedir (Verma et al., 2016).

Bizim yaptığımız ölçümlerde miR-132 seviyesinin SAK sonrası kısa dönem izole ortam şartlarında tutulan hayvanların hipokampus, frontal lob ve plazma örneklerinde hem kontrol gruplarına hem de SAK sonrası standart ortamda tutulan hayvanların değerlerine göre yüksek seviyede



olduğu görülmüştür. SAK sonrası uzun dönem izole ortamda tutulan hayvanların hipokampus bölgesinde ise miR-132 seviyesinin düştüğü, kontrol ve SAK sonrası standart ortamda tutulan hayvanların hipokampuslerindeki miR-132 değerlerine yaklaştığı görülmektedir. Frontal lob örneklerinde ise hipokampus örneklerinde olduğu gibi miR-132 seviyesi kontrol grubu ve SAK sonrası uzun dönem standart ortamda tutulan hayvanlarla karşılaştırıldığında düşmektedir. Özellikle kontrol grubuyla karşılaştırıldığında miR-132 seviyesinin kontrol değerlerinin altına düştüğü görülmektedir. SAK sonrası uzun dönem izole ortam koşullarında tutulan hayvanların plazma örneklerinde miR-132 seviyesinin frontal lob ve hipokampus örneklerinden farklı olarak hala kontrol grubu ve SAK sonrası standart ortamda tutulan hayvanların plazma örneklerinden yüksek olduğu görülmüştür.

miR-132 seviyesinin nörolojik hasar durumlarında nöroprotektif olarak arttığını ve izole ortam şartlarının da bu mikroRNA'nın seviyesini arttırdığı düşünüldüğünde SAK sonrası izole ortamda tutulan hayvanlarda miR-132 seviyesinin yükselmesi beklenen bir sonuçtur. Daha önceki benzer çalışmaların sonuçları da göz önüne alındığında SAK sonrası izole ortamda tutulan hayvanların kısa dönemde hafıza ve öğrenme fonksiyonlarında azalma olduğu, bu dönemde nöroprotektif etkisi olduğu bilinen miR-132 seviyesinin yükseldiği söylenebilir. 14. gün sonunda yapılan ölçümlerde miR-132 seviyesinin kontrol değerlerine yaklaşması da Verma ve arkadaşlarının inme sonrası uzun dönemli sosyal izolasyon çalışmalarının sonuçlarına benzerlik göstermektedir (Verma 2016).

SAK sonrası kısa dönem zengin ortamda tutulan hayvanların frontal lob dokularında miR-132 seviyesinin SAK sonrası standart ortamda tutulan hayvanlardan alınan örneklerdeki miR-132 seviyesinden düşük olduğu, uzun dönem (14 gün) zengin ortam şartlarında tutulan hayvanların frontal lob dokularında ise SAK sonrası standart ortamda tutulan hayvanlar ile karşılaştırıldığında miR-132 seviyesinin yükseldiği görülmektedir. miR-134 ve miR-138 seviyeleri ile benzerlik gösteren bu durum ortak hedef moleküller ve olası geri besleme mekanizmalarından kaynaklanıyor olabilir.

Plazma dokularında yapılan miR-132 ölçümleri sonucunda SAK sonrası kısa dönem zenginleştirilmiş ortamın miR-132 seviyesine herhangi bir etkisi olmadığı görülmüştür. Uzun dönem zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanlarda ise kontrol değerlerinden daha yüksek miR-132 seviyesi görülmesine rağmen, SAK sonrası standart ortamda tutulan hayvanlar ile karşılaştırıldığında değerler arasında farklılık olmadığı görülmüştür.

SAK sonrası zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanların hipokampus dokularında yapılan miR-132 ölçümleri sonucunda kısa dönem zenginleştirilmiş ortamın miR-132 değerlerini kontrol gruplarına göre yükselttiği görülmüştür. Bunun yanında SAK sonrası standart ortamda kısa dönem tutulan hayvanlarda yükseldiği görülen miR-132 seviyesinin zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanlarda daha düşük olduğu gözlemlenmiştir.

Bu değerlerinin kalıcı veya geçici olarak değişmesi konusunda sadece iki zaman aralığındaki verileri kullanarak yorum yapmak yanıltıcı olabilir. Bu sebeple ileriki çalışmalarda SAK sonrası izole ve zenginleştirilmiş ortama alınmiş hayvanların daha farklı günlerdeki değerleri de lmlerek kıyaslama yapılmalıdır.

#### **5.4. Değişik Ortam Koşullarının Farklı Dokulardaki miR-134 Seviyesi zerine Olan Etkisi**

Hem izole ortamda hem de zengin ortamda tutulan hayvanların plazma örneklerinde yapılan miR-134 ölümleri sonucunda kontrol ortamlarına kıyasla miR-134 seviyesinin kısa dönemde yükseldiği görülmüştür. Sadece kısa dönem zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanların hipokampüslerinde artış görülmemiştir. Zengin ortamda tutulan hayvanların plazmasındaki miR-132 seviyesinin izole ortamdakiler ile karşılaştırıldığında daha düşük olduğu görülmektedir.

Hipokampüs dokularında yapılan ölümler sonucunda zengin ortamda kısa dönem tutulan hayvanların miR-134 seviyesinde henüz bir değişim gözlemlenmezken uzun dönem zengin ortam şartlarının miR-134 seviyesini kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında yükselttiği görülmüştür. İzole ortam şartlarında ise kısa dönemde miR-134 seviyesinde yükselme görülürken uzun dönem izole ortam şartları miR-134 seviyesini kontrol grubu değerlerinin de altına düşürmektedir.

Frontal lob dokularında yapılan miR-134 ölümleri sonucunda hem izole hem zengin ortam koşullarında tutulan hayvanların miR-134 seviyesinin kontrol gruplarına göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Sadece uzun dönem izole ortamda tutulan hayvanların miR-134 seviyesinde artış görülmemiştir. Zengin ortam şartlarında tutulan hayvanların miR-134 seviyesi hem kısa dönem hem de uzun dönemde izole ortam şartlarında tutulan hayvanların miR-134 seviyesinden daha fazla yükselmiştir.

miR-134 seviyesindeki değişimlerin sinaptik plastisiteye iki önemli etkisi vardır. Bu farklı etkiler farklı hedef moleküller üzerinden farklı yollara etkisinden kaynaklanmaktadır. İlk olarak miR-134 Pum-2 molekülleri üzerindeki inhibe edici etkisi ile dendritik dallanmaya olumlu yönde etki etmektedir. Ayrıca Limk1 molekülleri üzerindeki baskılayıcı etkisi ile de dendritler üzerinde bulunan dikensi ıkıntılıların hacminin azalmasına da etki etmektedir. BDNF tarafından da bu iki farklı etkiyle alakalı olarak iki farklı yönde de regüle edilebilmektedir. BDNF miR-134 seviyesine hem inhibe edici hem de uyarıcı etkiye sahiptir. Bu sebeplerle bölgesel olarak miR-134 seviyesinin regülasyonu nöronal aktivasyon durumunda farklılık göstermektedir (Schratt, 2006). Çalışmamızın sonuçlarına bakıldığında farklı ortam koşullarında ve farklı zaman aralıklarında yapılan ölümlerde miR-134 seviyesinin çok değişkenlik gösterdiği görülmüştür. İleride yapılacak olan çalışmalarda daha farklı

zaman aralıklarında yapılacak ölçümler daha net yorum yapılabilme şansını verecektir.

## **5.5. SAK Sonrası miR-134 Seviyesinin Farklı Dokulardaki Değişimi**

miR-134 seviyesi iskemik beyin hasarı sonrası nöron hücrelerinde 7 güne kadar artmakta ve apoptozdan sorumlu olan heat shock protein A12B (HSPA12B) seviyesini azaltarak hücre ölümünü engellemektedir (Chi 2014).

SAK sonrası frontal lob dokuları üzerinde yaptığımız miR-134 ölçümleri sonucunda bu çalışmanın sonuçlarına benzer olarak SAK sonrası kısa dönemde (7 gün) miR-134 seviyesinin yükseldiği ve uzun dönemde hala yüksek olmasına rağmen bu seviyenin kontrol değerlerine doğru düştüğü gözlemlenmiştir.

Hipokampus dokularında yapılan ölçümlerde hem kısa dönemde hem uzun dönemde alınan örneklerde miR-134 seviyesinin frontal lob sonuçlarının tersine düşük seviyede olduğu görülmüştür.

Plazma örneklerinde ise SAK sonrası kısa dönemde miR-134 seviyesinin yükseldiği fakat uzun dönemde bu seviyenin düştüğü ve kontrol grupları ile farkı kalmadığı görülmektedir.

## **5.6. SAK Sonrası Farklı Ortam Koşullarının miR-134 Seviyesi Üzerine Olan Etkisi**

SAK modeli uygulanmış sıçanların frontal lob doku örneklerinde yapılan ölçümler sonucunda miR-134 seviyesinin kontrol gruplarına göre yükseldiği görülmüştür. SAK sonrası kısa dönem izole ortamda tutulan hayvanlarda bu seviyenin standart ortamda tutulan hayvanların değerlerine göre daha düşük olduğu görülmüştür. SAK sonrası uzun dönem izole ortamda tutulan hayvanların frontal loblarında miR-134 seviyesi kontrol gruplarının (S014) değerlerine kadar düşmektedir. SAK sonrası kısa dönem zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanların frontal loblarında ise miR-134 seviyesinin kontrol grubu (S07) değerine yakın değerde olduğu gözlemlenmiştir. Bu değer SAK sonrası standart ortamda tutulan hayvanların miR-134 değerinden ise düşük olduğu görülmüştür. SAK sonrası uzun dönem zengin ortamda tutulan hayvanların frontal loblarındaki miR-132 seviyesinde yükselme görülmektedir. SAK sonrası kısa dönemli zengin ortam şartlarında miR-134 seviyesinin, uzun dönemde ise izole ortamda tutulan hayvanlarda miR-134 seviyesinin düşük seviyede olması; aynı şekilde kısa dönem izole ortamda tutulan hayvanların miR-134 seviyesi yükselirken uzun dönem zengin ortamda tutulan hayvanların miR-134 seviyesinin yüksek seviyede ölçülmesi bu iki farklı ortam şartının frontal lobdaki miR-134 seviyesine ters yönde etki yaptığını göstermektedir. Aynı ters değerler miR-132 ve miR-138 ölçümlerinde de

elde edilmiştir. Konu hakkında bildirilmiş bir araştırma sonucu bulunmadığından ileride yapılacak daha kapsamlı ölçümler bu konuda daha ayrıntılı yorum yapabilme olanağını sağlayacaktır.

SAK sonrası izole ortamda tutulan hayvanların hipokampus dokularında yapılan ölçümler sonucunda kısa dönemde ve uzun dönemde miR-134 seviyesinin SAK sonrası standart ortamda tutulan hayvanların değerlerine göre yükselirken uzun dönemde bu artışın önemli olmadığı görülmektedir. Bu grubun değerleri kontrol gruplarının (S07,S014) değerlerine yaklaşmıştır. SAK sonrası zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanların hem kısa dönemde hem de uzun dönemde alınan hipokampus örneklerinde yapılan miR-134 ölçümleri sonucunda bu gruplarının değerlerinin kontrol gruplarından da SAK sonrası standart ortamda tutulan hayvan gruplarından da farklılık göstermediği gözlemlenmiştir.

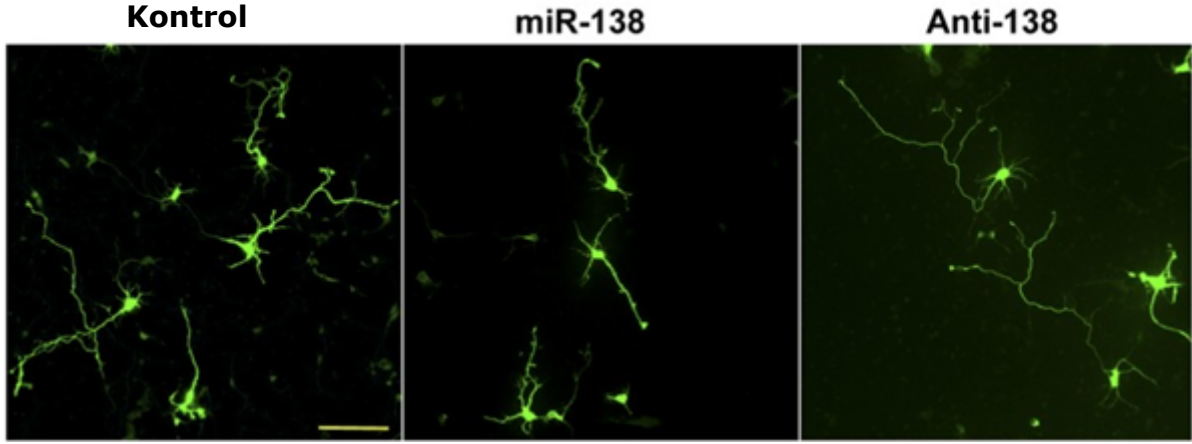
SAK sonrası kısa dönemli izole ortamda tutulan hayvanların plazmasında miR-134 seviyesinin SAK sonrası standart ortamda tutulanlara göre farklı olmadığı, uzun dönem izole ortamda tutulan hayvanlarda ise miR-134 seviyesinin standart ortama ve kontrol grubuna göre yükseldiği görülmektedir. SAK sonrası kısa dönemli zengin ortamda tutulan hayvanların miR-134 seviyesinin izole ortamdaki hayvanların değerlerinden de düşük olduğu ama uzun dönem zengin ortamda tutulan hayvanlarda miR-134 seviyesinin standart ve izole ortama göre oldukça yükseldiği görülmektedir.

## **5.7. Değişik Ortam Koşullarının Farklı Dokulardaki miR-138 Seviyesi Üzerine Olan Etkisi**

Lo Iacono ve arkadaşları 2015 yılında izole ortamda tuttukları farelerin hem kan hem de beyin dokularında SIRT1 seviyesinin düştüğünü belirtmişlerdir. miR-138 ve SIRT1 arasındaki geri besleme mekanizması göz önüne alındığında izole ortamda tutulan hayvanların miR-138 seviyesinin yükselmesi beklenmektedir.

miR-138 seviyesinin izole ortam ya da zengin ortam ile ilişkisi hakkında kesin bir fikir verebilecek herhangi bir bilgi henüz literatürde yer almamaktadır. miR-138'in miR-134 gibi Limk1 molekülleri üzerinde baskılayıcı etkisi olduğu, ayrıca palmitolasyon ve sinaptik proteinlerin membran lokalizasyonunu düzenleyen Apt1 proteinlerinin transkripsiyonunu baskıladığı ve bu iki yolak üzerinden de dendritik dikensi çıkıntılarının hacmi üzerinde negatif etki yaptığı bilinmektedir (Siegel et al., 2009; Tan et al., 2016). Dendritik dikensi çıkıntılarının hacminde azalma olması tanıma hafızası (recognition memory) açısından olumlu görülmektedir. Nitekim tanıma hafızası üzerinde miR-138 seviyesindeki artışın olumlu, dendritik dikensi çıkıntılarının hacmini arttırdığı bilinen miR-132 seviyesindeki artışın olumsuz etki yaptığı daha önce belirtilmiştir (Hansen, Sakamoto K Fau - Wayman, Wayman Ga Fau - Impey, Impey S Fau - Obrietan, & Obrietan, 2010; Tatro et al., 2013). miR-138 ekspresyonu sonrasında akson uzunluğunda kontrol grubuna göre azalma görülürken miR-138

inhibisyonundan sonra akson uzunluklarında artış görüldüğü de daha önce gösterilmiştir (Şekil 5.2) (C. M. Liu et al., 2013).



**Şekil 5.2:** mir-138 seviyesinin kortikal nöronların aksonlarının uzunluğu üzerine etkisi (Liu, 2013).

Çalışmamızda plazma dokularında yapılan miR-138 ölçümü sonucunda zengin ortamda tutulan hayvanlarda miR-138 seviyesinin hem kısa dönemde hem de uzun dönemde arttığı görülmüştür. İzole ortada tutulan hayvanlarda ise kısa dönemde miR-138 seviyesinde artış görülürken uzun dönemde miR-138 seviyesinin kontrol değeri seviyesine düştüğü gözlemlenmiştir. Kısa dönem izole ortam şartları sonucunda görülen mir-138 seviyesindeki artış nöroprotektif etkili SIRT1 seviyesinin azalması ile bağlantılı olabilir. Bilindiği üzere SIRT1 ile miR-138 birbirlerini regüle eden iki moleküldür. Zengin ortamda tutulan hayvanların plazmasındaki miR-138 artışının sebepleri hedef moleküllerinin ilişkisinin de inceleneceği ileride yapılacak olan çalışmalar sonucunda daha net bir şekilde yorumlanabilecektir.

KCI (potasyum klorit) enjeksiyonu ve elektrokonvülsiv şok uygulanarak nöronal aktivite stimülasyonu uygulanan iki ayrı çalışmada hipokampüste miR-138 seviyesinin düştüğü belirtilmiştir (Eacker, Keuss Mj Fau - Berezikov, Berezikov E Fau - Dawson, Dawson VI Fau - Dawson, & Dawson, 2011; Siegel et al., 2009). Bilindiği gibi zenginleştirilmiş ortam şartları da nöronal aktivasyon sağlamaktadır. Bu sonuçlara benzer olarak çalışmamızda zengin ortamda tutulan hayvanların hipokampus dokularında yapılan miR-138 ölçümleri sonucunda kısa dönemde miR-138 seviyesinin kontrol değeriyle herhangi bir farklılık göstermezken uzun dönemde miR-138 seviyesinin düştüğü gözlemlenmiştir. İzole ortamda tutulan hayvanların hipokampuslerinde yapılan ölçümlerin sonuçları ise plazma ölçümlerine benzerlik göstermektedir. Kısa dönem izole ortamda tutulan hayvanların hipokampusünde miR-138 seviyesi yükselirken uzun dönemde miR-138 seviyesi kontrol değerlerinin de altına düşmektedir. Kısa dönem izole ortamda tutulan hayvanların hipokampuslerindeki miR-138 seviyesi zengin ortamdakilere göre daha yüksekken, uzun dönem izole ortamda

tutulan hayvanların hipokampüslerindeki miR-138 seviyesinin zengin ortamda tutulan hayvanlardan daha düşük olduğu görülmüştür.

Frontal lob dokularında yapılan ölçümlerde kısa dönem ve uzun dönem izole ortamda tutulan hayvanların miR-138 seviyesinin kontrol değerlerinden farklılık göstermediği, buna karşın kısa dönem zengin ortamda tutulan hayvanların frontal lob dokularında miR-138 seviyesinin yükselmekte olduğu ve uzun dönemde bu seviyenin tekrar kontrol değerlerine dönmekte olduğu da gözlemlenmiştir. Kısa dönemde de uzun dönemde de yapılan ölçümler sonucunda zengin ortamda tutulan hayvanların frontal lob dokularında izole ortamda tutulan hayvanların değerleri ile karşılaştırıldığında daha yüksek seviyede miR-138 olduğu görülmüştür.

## **5.8. SAK Sonrası miR-138 Seviyesinin Farklı Dokulardaki Değişimi**

Serebral iskemi modeli uygulanmış sıçanların beyin dokularında miR-138 seviyesinin düştüğü ve buna bağlı olarak miR-138'in hedef moleküllerinden biri olan ve apoptozu regüle ettiği bilinen Lcn-2 (Lipocalin 2) proteinlerinin seviyesinin iskemiye karşı sistemik bir cevap olarak yükseldiği Tang ve arkadaşları tarafından 2016 yılında yapılan çalışmalar sonucunda gösterilmiştir.

Tang ve arkadaşlarının serebral iskemi modelinde buldukları sonuçlarından farklı olarak SAK modeli uygulanmış hayvanların hipokampüs bölgelerinde yaptığımız ölçümler sonucunda miR-138 seviyesinin kontrole göre farklılık göstermediği gözlemlenmiştir. Buna karşın frontal lob ve plazma örneklerinde yapılan ölçümler sonucunda SAK sonrası kısa dönemde miR-138 seviyesinin kontrole göre yükseldiği ve uzun dönemde bu değerlerin kontrol değerlerine yaklaştığı gözlemlenmiştir.

SAK sonrası kısa dönem (7.gün) sonunda alınan plazma ve frontal lob örneklerindeki yüksek miR-138 seviyesi hedef moleküllerin de ele alınacağı ileride yapılacak çalışmalar sonucunda daha sağlıklı bir şekilde yorumlanabilecektir. Tang ve arkadaşlarının farklı sonuçlara ulaşması farklı modeller kullanılmasından ve bütün beyin dokusu kullanmalarına karşılık bizim farklı olarak hipokampüs, plazma ve frontal lob örneklerinde ayrı ayrı ölçümler yapmamızdan kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca SAK modeli uygulamasından sonra miR-138 seviyesinin ölçüldüğü herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

## 5.9. SAK Sonrası Farklı Ortam Koşullarının miR-138 Seviyesi Üzerine Olan Etkisi

SAK sonrası 7.gün sonra sıçanlardan alınan plazma örneklerinde miR-138 seviyesinin kontrol değerlerine göre yükseldiği görülmektedir. SAK sonrası kısa dönem izole ortama alınan hayvanlarda miR-138 seviyesinin standart ortamda tutulan hayvanların miR-138 değerlerinden yüksek olduğu, SAK sonrası kısa dönem zengin ortamda tutulan hayvanlarda ise miR-138 seviyesinin izole ortam ve standart ortam seviyelerinin arasında olduğu gözlemlenmiştir. SAK sonrası uzun dönem izole ortamda tutulan hayvanların miR-138 seviyesi kontrol değerlerine yaklaşmaktadır. SAK sonrası uzun dönem zengin ortamda tutulan hayvanların miR-138 seviyesi ise kontrol değerlerinin altına düşmektedir. Özellikle SAK sonrası zengin ortamda tutulan hayvanların plazmalarında miR-138 seviyesinin diğer gruplar ile karşılaştırıldığında çok düşük olduğu görülmüştür. SAK uygulanmamış olan ve 14 gün zengin ortamda tutulan hayvanların plazmasında miR-138 seviyesi yükselirken, SAK sonrası miR-138 seviyesinin düşmesi SAK sonrası seviyesinin değiştiği bilinen ve miR-138'in hedef molekülü olan SIRT1 seviyesiyle ilişkili olabilir.

SAK sonrası kısa dönemde frontal lob doku örneklerinde miR-138 seviyesinin yükseldiği görülmüştür. SAK sonrası kısa dönem izole ortamda tutulan hayvanların miR-138 seviyesinin standart ortamda tutulan hayvanların değerleri gibi kontrol değerlerinden yüksek olduğu gözlemlenmiştir. SAK sonrası kısa dönem zengin ortamda tutulan hayvanların frontal loblarında şaşırtıcı olarak miR-138 seviyesinin kontrol değerlerinin de altına indiği görülmektedir. miR-138'in hedef molekülü olan SIRT1 seviyesinin değişmesi bu etkiye sebep olabilir. Nitekim SAK sonrası uzun dönem standart ve izole ortamlarda tutulan hayvanlarda miR-138 seviyesinin kontrol değerlerinin de altına düştüğü gözlenirken, zengin ortamda yükseldiği görülmüştür. Kısa ve uzun dönem izole ortamda tutulan hayvanların frontal lob örneklerinde ve yine kısa ve uzun dönem zengin ortamda tutulan hayvanların frontal lob örneklerindeki miR-138 seviyesinin bu şekilde birbirine ters olacak şekilde değişmesi bu iki zaman aralığında farklı moleküllerin iyileşme sürecinde rol oynadığını ve farklı ortam koşullarının birbirine zıt etkili olabileceğini göstermektedir. Bu zıt etkinin miR-132 ve miR-134 seviyelerinde de görülmesi bu miRNA'lar arasındaki etkileşim ve ortak hedef moleküller aracılığıyla geri besleme mekanizmalarının işleyişi sonucu olabilir.

SAK sonrası hipokampüs dokularında miR-138 seviyesi az da olsa düşmektedir. Bu durum SAK sonrası seviyesi yükseldiği bilinen miR-138'in bir hedef molekülü olan SIRT1 seviyesiyle alakalı olabilir. SAK sonrası kısa dönem izole ortamda tutulan hayvanların hipokampüs dokularında standart ortamın aksine miR-138 seviyesinin yükseldiği görülmektedir. Bununla birlikte SAK sonrası kısa dönem zengin ortamda tutulan hayvanların hipokampüslerinde ölçülen miR-138 değerleri standart ortamla benzer olarak farklılık göstermemektedir. Uzun dönemde ise SAK sonrası zengin ortamda tutulan hayvanların değerlerinin standart ortamda

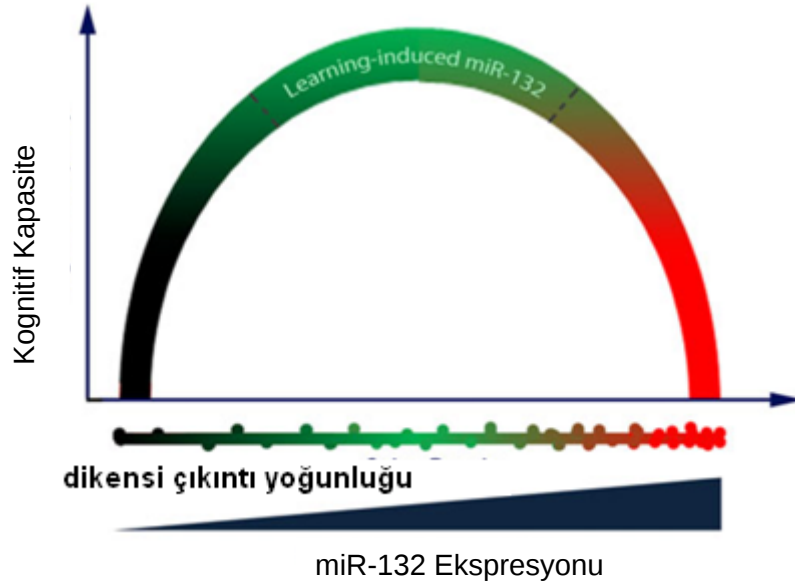
tutulan hayvanlara ve kontrol değerlerine göre anlamlı derecede düşük olduğu gözlemlenmiştir. SAK sonrası uzun dönem izole ortamda tutulan hayvanların hipokampüslerinde ise miR-138 seviyesinin kontrol değerlerine yaklaşmakta olduğu gözlemlenmiştir. Plazmada ve hipokampüste SAK sonrası uzun dönem zengin ortamda tutulan hayvanların mir-138 seviyesinin düşmesinin SIRT1 seviyesi ile ilişkisi incelenmelidir. Bu proteinin nörolojik fonksiyonlara olumlu etkisi olduğu bilinmektedir. SAK sonrası miR-138'in seviyesinin düşmesi iyileşme süreciyle bağlantılı olabilir.

### **5.10. miR-132, miR-134 ve miR-138 Arasındaki Etkileşimler ve Olası Geri Besleme Mekanizmaları**

Hafıza ve öğrenme fonksiyonlarına etkisi olduğu düşünülen ve sinaptik plastisitede önemli görevleri olan miR-132, miR-134 ve miR-138'in birçok yolak üzerinden ortak ya da birbirini tamamlayıcı görev yaptığı bilinmektedir. Ortak hedef moleküller ya da farklı hedef moleküller üzerinden kendi sentezleri üzerine etki edebildikleri gibi birbirlerinin sentezlerini de etkilemektedirler.

miR-132'nin organizmada normal seviyede sentez edildiği durumlarda bu mikroRNA sinaptik plastisiteye olumlu yönde etki etmektedir. Öğrenme ve hafıza fonksiyonlarının aktif çalıştığı dönemlerde bu mikroRNA'nın seviyesinin belirli düzeyde arttığı daha önce gösterilmiştir. miR-132'nin aşırı sentezlenmesi durumunda ise bu etkilere ters olarak hafıza ve öğrenme fonksiyonlarına toksik etki yaptığı ve öğrenmeyi engellediği Hansen ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Hansen ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmalarda miR-132'nin aşırı ekspresyonu durumunda farelerin hipokampal nöronlarında MeCP2 ekspresyonunun düştüğü ve dendritik dikensi çıkıntı yoğunluğunun arttığı gösterilmiştir. Buna karşılık bu farelerin yeni obje tanıma konusunda sıkıntı çektiği gözlemlenmiştir. Düşük miR-132 seviyesinde öğrenme yeteneğinde çok büyük artış görülürken, fizyolojik düzeyinden yüksek miR-132 seviyesinin öğrenmeyi engellediği görülmüştür. Bu veriler baz alındığında miR-132 seviyesinin hafıza ve öğrenme fonksiyonları üzerinde limitleyici etkiye sahip olduğu söylenebilir (Şekil 5.3) (Hansen et al., 2013) (Hansen et al., 2010).





**Şekil 5.3:** miR-132 seviyesinin yükselmesinin kognitif kapasite üzerine etkisi. miR-132 seviyesinin belirli bir seviyeye kadar dendritik dikensi çıkıntı yoğunluğu üzerine olumlu etkisi olmaktadır. Dendritik dikensi çıkıntıların artışı bir yerden sonra kognitif kapasiteye limitleyici etki yapmaktadır (Hansen, 2013)

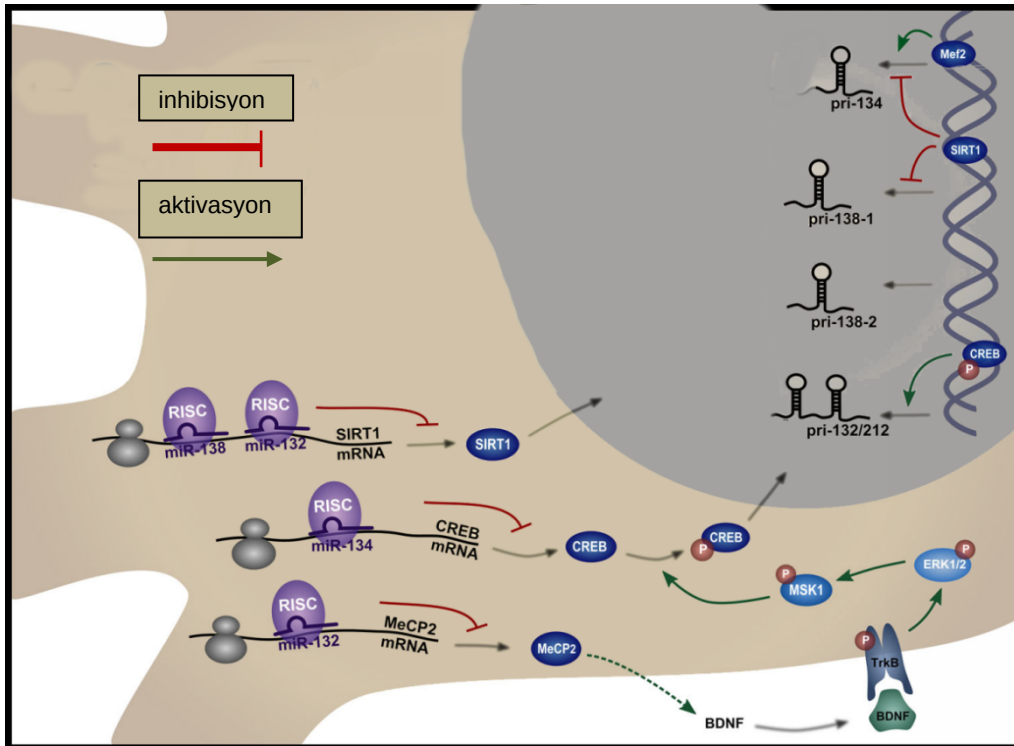
Farklı ifade seviyelerinin farklı etkiler yaptığı düşünülecek olursa bu miRNA'nın seviyesinin aktiviteye bağlı olarak düzenlenmesi gerekmektedir. Nitekim miR-132'nin kendi aktivatörü olan MeCP2 ve BDNF molekülleri üzerinde inhibe edici etkisi bulunmaktadır. Ayrıca yine bir miR-132 aktivatörü olan CREB molekülleri üzerinde miR-134'ün inhibe edici etkisi vardır. Yani miR-132 seviyesi hem kendi üzerindeki geri besleme mekanizması hem de miR-134 seviyesine bağlı olarak regüle edilmektedir.

miR-134 daha önce de belirtildiği gibi sinaptik plastisite oluşumunda farklı iki etkiye sahip olan bir miRNA'dır. miR-134 seviyesindeki artış hem dendritik dallanma oluşumuna pozitif yönde etki yaparak sinaptik plastisiteye olumlu etki ederken, hem de dendritik dikensi çıkıntı hacimlerini azaltarak sinaptik plastisiteye olumsuz yönde de etki etmektedir. miR-134'ün aktiviteye bağlı olarak farklı bölgelerdeki farklı ifade seviyesini düzenlemek için de farklı etkileşimler bulunmaktadır. Buna örnek olarak miR-134 transkripsiyonu üzerinde inhibe edici etkisi bulunan SIRT1 molekülleri miR-132 ve miR-138 tarafından regüle edilmektedir. miR-132 ve miR-134'ün birbirlerinin sentezine etki etmeleri söz konusudur (Şekil 5.4).

Hafıza ve öğrenme fonksiyonlarına etki eden üçüncü önemli miRNA olan miR-138 seviyesi SIRT1 molekülleri tarafından regüle edilmektedir. miR-138'in de SIRT1 molekülleri üzerinde direkt olarak inhibe edici etkisi bulunmaktadır. Bu geri besleme mekanizması sayesinde miR-138 seviyesi aktiviteye bağlı olarak regüle edilmektedir.

Çalışmamızda ele aldığımız üç mikroRNA'nın da direkt ya da dolaylı yoldan SIRT1 ve BDNF molekülleri ile ortak ilişkileri vardır. Özellikle SIRT1 moleküllerinin SAK sonrası seviyesinin değiştiğinin bilinmesi bu moleküllerin SAK sonrası hafıza ve öğrenme fonksiyonlarındaki kayıplara da etki ettiğini düşündürmektedir. Bu mikroRNA'ların SAK sonrasında ve farklı ortam koşullarında daha çeşitli zaman aralıklarında alınacak olan seviye ölçümleri ileride daha kesin yorum yapma olanağı sağlayacaktır.

Beyin hasarı sonrasında hasar gören ve uyarı almayan bölgelerindeki dendritik yapıların yıkıma uğradığı ve başka bölgelerdeki dendritik yapıların güçlenmeye başladığı literatürde yer almaktadır. Özellikle frontal lob bölgesinde SAK sonrası kısa dönem izole ortamda ve uzun dönem zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanların miR-132, miR-134 ve miR-138 seviyelerinin yükselmesinin sebebi artık kullanılmayan bağlantılar yıkıma uğrarken yeni bağlantıların oluşması olabilir. Bilindiği gibi miR-132 dendritik dikensi çıkıntıların genişlemesine, miR-134 ve miR-138 ise hacimlerinin azalmasına sebep olmaktadır. Ayrıca miR-132 ve miR-134'ün dendritik dallanmaya pozitif, miR-138'in nörit uzunluklarına negatif etkisi olduğu da bilinmektedir. miR-132 seviyesinin artması yeni dendrit dallarının ve dikensi çıkıntıların oluşmasını, artan miR-134 seviyesi hasar gören bölgelerdeki sinaptik yapıların yıkılmasını ve yeni dendrit dallarının oluşmasını, artan miR-138 seviyesi de hem kaybedilen sinaps bölgelerindeki dendritik dikensi çıkıntıların azalmasını hem de bu bölgelerdeki nöritlerin yıkıma uğramasından kaynaklanıyor olabilir (Perederiy and Westbrook, 2013).



**Şekil 5.4:** miR-132, miR-134 ve miR-138'in birbirlerinin ifade seviyesine etkilerinin şematik gösterimi (Bicker, 2014)

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın sonucunda, subaraknoid kanama sonrası farklı ortam koşullarında tutulan hayvanların çeşitli dokularında ilgili miRNA ekspresyonlarının farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca subaraknoid kanama modeli oluşturulmayan hayvanlarda da miRNA'ların ekspresyon düzeylerinin farklı ortam şartlarında değişebileceği gösterilmiştir. Bununla birlikte subaraknoid kanama sonrası geçen sürelerde de farklılıkların olduğu görülmüştür.

Elde edilen tüm sonuçlar özetlendiğinde;

1. Hem izole ortamda hem zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanların frontal loblarındaki miRNA seviyelerindeki değişimlerin daha çok 7. günün sonunda görüldüğü, 14. gün sonunda bu etkilerin azaldığı belirlendi.
2. SAK modeli oluşturulduktan 7 gün sonra frontal lobda miR-132, miR-134 ve miR-138 seviyelerinin yükseldiği, 14. gün sonunda düştüğü gözlemlendi.
3. SAK sonrası izole ortama alınan hayvanların frontal lob bölgelerinde 7. gün sonunda ölçülen miR-132, miR-134 ve miR-138 seviyeleri yükselirken, 14. gün sonunda bu artan seviyelerin kontrol grubu değerlerine yaklaşacak şekilde düştüğü görüldü. SAK sonrası zenginleştirilmiş ortama alınan hayvanların frontal loblarında ise izole ortamın aksine 7. günün sonunda miRNA seviyelerinin kontrol grubuna yaklaşacak şekilde düştüğü, 14. günde ise arttığı gözlemlendi.
4. miR-132 seviyesinin frontal lob, hipokampus ve plazma dokularında hem 7 gün hem de 14 gün zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanlarda arttığı belirlendi.
5. SAK modeli oluşturulduktan 7 gün sonra frontal lob ve hipokampus bölgelerinde kontrole göre artan miR-132 değerlerinin, SAK sonrası izole ortamda tutulan hayvanlarda da benzer şekilde arttığı gözlemlendi. Zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanlarda hipokampus değerleri artarken frontal lob değerlerinin kontrole yaklaşacak şekilde düştüğü gözlemlendi.
6. SAK sonrası 14. günde frontal lob ve hipokampüste standart kontrole göre farklı görülmeyen miR-132 değerinin, SAK sonrası izole ortamda tutulan hayvanların frontal loblarında standart kontrole göre düşük olduğu tespit edildi.
7. SAK sonrası 7. günde miR-134 değeri frontal lob dokularında artarken hipokampüste azalmıştır. SAK sonrası izole ortama alınan

hayvanlarda da benzer olan bu değerlerin zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanlarda kontrol değerlerine yaklaştığı gözlemlendi.

8. SAK modeli oluşturulduktan 14 gün sonra miR-134 değerlerinin frontal lob bölgesinde arttığı, hipokampüste ise azaldığı görüldü. İzole ortamda tutulan hayvanlarda hipokampus ve frontal lob bölgelerindeki miR-134 değerlerinin kontrol grubuna yakın olduğu, zenginleştirilmiş ortamda hipokampus değerlerinin izole ortam değerleri gibi kontrole yakın ancak frontal lob değerlerinin yüksek olduğu tespit edildi.
9. SAK sonrası 7. günde frontal lob bölgesinde artan miR-138 değerlerinin izole ortamda da benzer şekilde arttığı, zenginleştirilmiş ortamda ise azaldığı görüldü.
10. SAK oluşturulduktan 14 gün sonra frontal lob ve hipokampüsteki miR-138 değerlerinin kontrol grubuna göre değişmediği belirlendi. SAK sonrası izole ortama alınan hayvanlarda hipokampus değerinin benzer şekilde değişmediği, bununla birlikte frontal lobda düştüğü görüldü. Zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanlarda ise hipokampüsteki miR-138 değerleri düşerken frontal lob değerlerinin yükseldiği belirlendi.
11. Plazma örneklerindeki miRNA değerlerinin frontal lob ve hipokampus değerleri ile uyumlu olmadığı ve farklılıklar gösterdiği tespit edildi.

SAK sonrası kısa dönem izole ortamda ve SAK sonrası uzun dönem zenginleştirilmiş ortamda tutulan hayvanların frontal loblarında miR-132, miR-134 ve miR-138 seviyelerinin yükselmiş olduğu belirlendi. Bu mikroRNA'ların sinaptik yapılanmaya ters yönde etkileri bulunmaktadır. Nörolojik hasar sonucu zarar gören bölgelerdeki sinaptik bölgelerin yıkıma uğrayarak yeni sinaps bölgelerini oluşturduğu bilgisini ele alırsak, miRNA seviyelerinin yükselmesi frontal lobdaki iyileşme ve sinaptik yapıların yeniden düzenlenmesinden kaynaklanıyor olabilir. Bu durumda frontal lobda SAK sonrası 7 günlük izole ortam koşullarında zengin ortama göre sinaptik yeniden yapılanmanın daha yoğun olduğu, buna karşın SAK sonrası 14 günlük zenginleştirilmiş ortam koşullarının izole ortam koşullarına göre sinaptik yeniden yapılanmaya ve iyileşmeye daha çok katkı sağladığı sonucuna ulaşılabilir.

## 7. KAYNAKLAR DİZİNİ

- Akdemir, H. (2005). Subaraknoid kanamalar *Temel Nöroşirürji* (pp. 441-447). Ankara: Türk Nöroşirürji derneği yayınları.
- Al-Khindi, T., Macdonald, R. L., & Schweizer, T. A. (2010). Cognitive and functional outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*, *41*(8), e519-536. doi:10.1161/STROKEAHA.110.581975
- Arellano, J. I., Benavides-Piccione, R., DeFelipe, J., & Yuste, R. (2007). Ultrastructure of Dendritic Spines: Correlation Between Synaptic and Spine Morphologies. *Frontiers in Neuroscience*, *1*(1), 131-143. doi:10.3389/neuro.01.1.1.010.2007
- Bamburg, J. R. (1999). Proteins of the ADF/cofilin family: essential regulators of actin dynamics. *Annu Rev Cell Dev Biol*, *15*, 185-230. doi:10.1146/annurev.cellbio.15.1.185
- Bartel, D. P. (2004). MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, *116*(2), 281-297.
- Bartel, D. P. (2009). MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*, *136*(2), 215-233. doi:10.1016/j.cell.2009.01.002
- Bendel, O., Prunell, G., Stenqvist, A., Mathiesen, T., Holmin, S., Svendgaard, N. A., & Euler, G. (2005). Experimental subarachnoid hemorrhage induces changes in the levels of hippocampal NMDA receptor subunit mRNA. *Brain Res Mol Brain Res*, *137*(1-2), 119-125. doi:10.1016/j.molbrainres.2005.02.023
- Bhattacharyya, R., & Wedegaertner, P. B. (2000). Galpha 13 requires palmitoylation for plasma membrane localization, Rho-dependent signaling, and promotion of p115-RhoGEF membrane binding. *J Biol Chem*, *275*(20), 14992-14999. doi:10.1074/jbc.M000415200
- Bicker, S., Lackinger, M., Weiss, K., & Schratt, G. (2014). MicroRNA-132, -134, and -138: a microRNA troika rules in neuronal dendrites. *Cell Mol Life Sci*, *71*(20), 3987-4005. doi:10.1007/s00018-014-1671-7
- Bonita, R., & Thomson, S. (1985). Subarachnoid hemorrhage: epidemiology, diagnosis, management, and outcome. *Stroke*, *16*(4), 591-594.
- Bourne, J. N., & Harris, K. M. (2008). Balancing structure and function at hippocampal dendritic spines. *Annu Rev Neurosci*, *31*, 47-67. doi:10.1146/annurev.neuro.31.060407.125646

- Brenes, J. C., Lackinger, M., Hoglinger, G. U., Schratt, G., Schwarting, R. K., & Wöhr, M. (2016). Differential effects of social and physical environmental enrichment on brain plasticity, cognition, and ultrasonic communication in rats. *J Comp Neurol*, *524*(8), 1586-1607. doi:10.1002/cne.23842
- Brunet, A., Sweeney Lb Fau - Sturgill, J. F., Sturgill Jf Fau - Chua, K. F., Chua Kf Fau - Greer, P. L., Greer Pl Fau - Lin, Y., Lin Y Fau - Tran, H., . . . Greenberg, M. E. (2004). Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase. (1095-9203 (Electronic)).
- Burke, S. N., & Barnes, C. A. (2006). Neural plasticity in the ageing brain. *Nat Rev Neurosci*, *7*(1), 30-40. doi:10.1038/nrn1809
- Chang, P. K., Boridy, S., McKinney, R. A., & Maysinger, D. (2013). Letrozole Potentiates Mitochondrial and Dendritic Spine Impairments Induced by beta Amyloid. *J Aging Res*, *2013*, 538979. doi:10.1155/2013/538979
- Chen, G., Li, Q., Feng, D., Hu, T., Fang, Q., & Wang, Z. (2013). Expression of NR2B in different brain regions and effect of NR2B antagonism on learning deficits after experimental subarachnoid hemorrhage. *Neuroscience*, *231*, 136-144. doi:10.1016/j.neuroscience.2012.11.024
- Chen, X., Winters, C., Azzam, R., Li, X., Galbraith, J. A., Leapman, R. D., & Reese, T. S. (2008). Organization of the core structure of the postsynaptic density. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(11), 4453-4458. doi:10.1073/pnas.0800897105
- Chen, Y., & Ghosh, A. (2005). Regulation of dendritic development by neuronal activity. *J Neurobiol*, *64*(1), 4-10. doi:10.1002/neu.20150
- Cheng, J. S., Craft, R., Yu, G. Q., Ho, K., Wang, X., Mohan, G., . . . Mucke, L. (2014). Tau reduction diminishes spatial learning and memory deficits after mild repetitive traumatic brain injury in mice. *PLoS One*, *9*(12), e115765. doi:10.1371/journal.pone.0115765
- Chi, W., Meng, F., Li, Y., Li, P., Wang, G., Cheng, H., . . . Li, J. (2014). Impact of microRNA-134 on neural cell survival against ischemic injury in primary cultured neuronal cells and mouse brain with ischemic stroke by targeting HSPA12B. *Brain Res*, *1592*, 22-33. doi:10.1016/j.brainres.2014.09.072

- Clarke, M. (2008). Systematic review of reviews of risk factors for intracranial aneurysms. *Neuroradiology*, *50*(8), 653-664. doi:10.1007/s00234-008-0411-9
- Colonnier, M. (1968). Synaptic patterns on different cell types in the different laminae of the cat visual cortex. An electron microscope study. *Brain Res*, *9*(2), 268-287.
- Conde, C., & Caceres, A. (2009). Microtubule assembly, organization and dynamics in axons and dendrites. *Nat Rev Neurosci*, *10*(5), 319-332. doi:10.1038/nrn2631
- Cordes, K. R., & Srivastava, D. (2009). MicroRNA regulation of cardiovascular development. *Circ Res*, *104*(6), 724-732. doi:10.1161/circresaha.108.192872
- Cymerblit-Sabba, A., Lasri, T., Gruper, M., Aga-Mizrachi, S., Zubedat, S., & Avital, A. (2013). Prenatal Enriched Environment improves emotional and attentional reactivity to adulthood stress. *Behav Brain Res*, *241*, 185-190. doi:10.1016/j.bbr.2012.12.019
- de Rooij, N. K., Linn, F. H., van der Plas, J. A., Algra, A., & Rinkel, G. J. (2007). Incidence of subarachnoid haemorrhage: a systematic review with emphasis on region, age, gender and time trends. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, *78*(12), 1365-1372. doi:10.1136/jnnp.2007.117655
- de Steenhuijsen Piters, W. A., Algra, A., van den Broek, M. F., Dorhout Mees, S. M., & Rinkel, G. J. (2013). Seasonal and meteorological determinants of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol*, *260*(2), 614-619. doi:10.1007/s00415-012-6687-z
- Eacker, S. M., Keuss Mj Fau - Berezikov, E., Berezikov E Fau - Dawson, V. L., Dawson VI Fau - Dawson, T. M., & Dawson, T. M. (2011). Neuronal activity regulates hippocampal miRNA expression. (1932-6203 (Electronic)). doi:D - NLM: PMC3184962 EDAT- 2011/10/11 06:00 MHDA- 2012/01/31 06:00 CRDT- 2011/10/11 06:00 PHST- 2011/04/15 [received] PHST- 2011/08/25 [accepted] AID - 10.1371/journal.pone.0025068 [doi] AID - PONE-D-11-06897 [pii] PST - ppublish
- Fares, R. P., Belmeguenai, A., Sanchez, P. E., Kouchi, H. Y., Bodennec, J., Morales, A., . . . Bezin, L. (2013). Standardized environmental enrichment supports enhanced brain plasticity in healthy rats and prevents cognitive impairment in epileptic rats. *PLoS One*, *8*(1), e53888. doi:10.1371/journal.pone.0053888

- Filipowicz, W., Bhattacharyya, S. N., & Sonenberg, N. (2008). Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nat Rev Genet*, 9(2), 102-114. doi:10.1038/nrg2290
- Fitzgerald, P. J. (2012). The NMDA receptor may participate in widespread suppression of circuit level neural activity, in addition to a similarly prominent role in circuit level activation. *Behav Brain Res*, 230(1), 291-298. doi:10.1016/j.bbr.2012.01.057
- Fortin, N. J., Agster, K. L., & Eichenbaum, H. B. (2002). Critical role of the hippocampus in memory for sequences of events. *Nat Neurosci*, 5(5), 458-462. doi:10.1038/nn834
- Franklin, T. B., Murphy, J. A., Myers, T. L., Clarke, D. B., & Currie, R. W. (2006). Enriched environment during adolescence changes brain-derived neurotrophic factor and TrkB levels in the rat visual system but does not offer neuroprotection to retinal ganglion cells following axotomy. *Brain Res*, 1095(1), 1-11. doi:10.1016/j.brainres.2006.04.025
- Frick, K. M., & Fernandez, S. M. (2003). Enrichment enhances spatial memory and increases synaptophysin levels in aged female mice. *Neurobiol Aging*, 24(4), 615-626.
- Gangaraju, V. K., & Lin, H. (2009). MicroRNAs: key regulators of stem cells. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 10(2), 116-125.
- Garneau, N. L., Wilusz, J., & Wilusz, C. J. (2007). The highways and byways of mRNA decay. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 8(2), 113-126.
- Gobbo, O. L., & O'Mara, S. M. (2004). Impact of enriched-environment housing on brain-derived neurotrophic factor and on cognitive performance after a transient global ischemia. *Behav Brain Res*, 152(2), 231-241. doi:10.1016/j.bbr.2003.10.017
- Guo, J., Xue P Fau - Yang, X.-N., Yang Xn Fau - Liu, X.-B., Liu Xb Fau - Huang, W., Huang W Fau - Xia, Q., & Xia, Q. (2010). Serum matrix metalloproteinase-9 is an early marker of pancreatic necrosis in patients with severe acute pancreatitis. (0172-6390 (Print)).
- Guscott, M. R., Clarke, H. F., Murray, F., Grimwood, S., Bristow, L. J., & Hutson, P. H. (2003). The effect of (+/-)-CP-101,606, an NMDA receptor NR2B subunit selective antagonist, in the Morris watermaze. *Eur J Pharmacol*, 476(3), 193-199.
- Gündoğdu, R., & Çelik, V. (2009). RNA interferans (RNAi) *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 25 (1-2), 34 - 47.



- Güneş, H. V. (2013). Moleküler Hücre Biyolojisi (Vol. 3, pp. 81-89). İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi.
- Ha, M., & Kim, V. N. (2014). Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 15(8), 509-524. doi:10.1038/nrm3838
- Han, S. M., Wan, H., Kudo, G., Foltz, W. D., Vines, D. C., Green, D. E., . . . Macdonald, R. L. (2014). Molecular alterations in the hippocampus after experimental subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab*, 34(1), 108-117. doi:10.1038/jcbfm.2013.170
- Hansen, K. F., Karelina K Fau - Sakamoto, K., Sakamoto K Fau - Wayman, G. A., Wayman Ga Fau - Impey, S., Impey S Fau - Obrietan, K., & Obrietan, K. (2013). miRNA-132: a dynamic regulator of cognitive capacity. (1863-2661 (Electronic)). doi:D - NLM: NIHMS398319 D - NLM: PMC3508255 EDAT- 2012/06/19 06:00 MHDA- 2013/11/14 06:00 CRDT- 2012/06/19 06:00 PHST- 2012/01/21 [received] PHST- 2012/05/12 [accepted] AID - 10.1007/s00429-012-0431-4 [doi] PST - ppublish
- Hansen, K. F., Sakamoto K Fau - Wayman, G. A., Wayman Ga Fau - Impey, S., Impey S Fau - Obrietan, K., & Obrietan, K. (2010). Transgenic miR132 alters neuronal spine density and impairs novel object recognition memory. (1932-6203 (Electronic)). doi:D - NLM: PMC2993964 EDAT- 2010/12/03 06:00 MHDA- 2011/04/28 06:00 CRDT- 2010/12/03 06:00 PHST- 2010/08/12 [received] PHST- 2010/10/03 [accepted] AID - 10.1371/journal.pone.0015497 [doi] PST - epubli sh
- Hasegawa, K., & Yoshikawa, K. (2008). Necdin regulates p53 acetylation via Sirtuin1 to modulate DNA damage response in cortical neurons. (1529-2401 (Electronic)).
- Helbok, R., Schiefecker, A., Delazer, M., Beer, R., Bodner, T., Pfausler, B., . . . Schmutzhard, E. (2015). Cerebral tau is elevated after aneurysmal subarachnoid haemorrhage and associated with brain metabolic distress and poor functional and cognitive long-term outcome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 86(1), 79-86. doi:10.1136/jnnp-2013-307326
- Hering, H., & Sheng, M. (2001). Dendritic spines: structure, dynamics and regulation. *Nat Rev Neurosci*, 2(12), 880-888. doi:10.1038/35104061
- Hitit, M., Kurar, E., & Güzeloğlu, A. (2015). MikroRNA Biyogenezi. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 10(3), 211-218.

- Holtmaat, A., Wilbrecht, L., Knott, G. W., Welker, E., & Svoboda, K. (2006). Experience-dependent and cell-type-specific spine growth in the neocortex. *Nature*, *441*(7096), 979-983. doi:10.1038/nature04783
- Hotulainen, P., & Hoogenraad, C. C. (2010). Actin in dendritic spines: connecting dynamics to function. *J Cell Biol*, *189*(4), 619-629. doi:10.1083/jcb.201003008
- Hu, Y. S., Long, N., Pigino, G., Brady, S. T., & Lazarov, O. (2013). Molecular mechanisms of environmental enrichment: impairments in Akt/GSK3beta, neurotrophin-3 and CREB signaling. *PLoS One*, *8*(5), e64460. doi:10.1371/journal.pone.0064460
- Huang, W., Liu, X., Cao, J., Meng, F., Li, M., Chen, B., & Zhang, J. (2015). miR-134 regulates ischemia/reperfusion injury-induced neuronal cell death by regulating CREB signaling. *J Mol Neurosci*, *55*(4), 821-829. doi:10.1007/s12031-014-0434-0
- Impey, S., Davare, M., Lesiak, A., Fortin, D., Ando, H., Varlamova, O., . . . Wayman, G. A. (2010). An activity-induced microRNA controls dendritic spine formation by regulating Rac1-PAK signaling. *Mol Cell Neurosci*, *43*(1), 146-156. doi:10.1016/j.mcn.2009.10.005
- Jasinska, M., Milek, J., Cymerman, I. A., Leski, S., Kaczmarek, L., & Dziembowska, M. (2015). miR-132 Regulates Dendritic Spine Structure by Direct Targeting of Matrix Metalloproteinase 9 mRNA. (1559-1182 (Electronic)). doi:D -.nlm: PMC4965491 OTO - NOTNLM
- Jeon, H., Ai, J., Sabri, M., Tariq, A., Shang, X., Chen, G., & Macdonald, R. L. (2009). Neurological and neurobehavioral assessment of experimental subarachnoid hemorrhage. *BMC Neurosci*, *10*, 103. doi:10.1186/1471-2202-10-103
- Johansson, B. B., & Belichenko, P. V. (2002). Neuronal plasticity and dendritic spines: effect of environmental enrichment on intact and postischemic rat brain. *J Cereb Blood Flow Metab*, *22*(1), 89-96. doi:10.1097/00004647-200201000-00011
- Jung, C. K., & Herms, J. (2014). Structural dynamics of dendritic spines are influenced by an environmental enrichment: an in vivo imaging study. *Cereb Cortex*, *24*(2), 377-384. doi:10.1093/cercor/bhs317
- Kahyaoğlu, O. (2006). *ANEVRİZMAL SUBARAKNOİD KANAMA SONRASI GÖRÜLEN SEREBRAL VAZOSPAZMIN SAPTANMASI VE TAKİBİNDE TRANSKRANYAL DOPPLER ULTRASONOGRAFİNİN YERİ*. (Uzmanlık Tezi), Şişli Etfal Hastanesi Nöroşirürji Kliniği, İstanbul.

- Kandel, E. R. (2013a). Principles of Neural Science, Fifth Edition. In J. H. S. Eric R. Kandel, Thomas M. Jessell, Steven A. Siegelbaum, A.J. Hudspeth (Ed.), (5th ed., pp. 71-100). USA: McGraw-Hill Companies.
- Kandel, E. R. (2013b). Principles of Neural Science, Fifth Edition. In J. H. S. Eric R. Kandel, Thomas M. Jessell, Steven A. Siegelbaum, A.J. Hudspeth (Ed.), (5th ed., pp. 21-39). USA: McGraw-Hill Companies.
- Kandel, E. R. (2013c). Principles of Neural Science, Fifth Edition. In J. H. S. Eric R. Kandel, Thomas M. Jessell, Steven A. Siegelbaum, A.J. Hudspeth (Ed.), (5th ed., pp. 1441-1520). USA: McGraw-Hill Companies.
- Kassell, N. F., Torner, J. C., Haley, E. C., Jr., Jane, J. A., Adams, H. P., & Kongable, G. L. (1990). The International Cooperative Study on the Timing of Aneurysm Surgery. Part 1: Overall management results. *J Neurosurg*, *73*(1), 18-36. doi:10.3171/jns.1990.73.1.0018
- Kawashima, H., Numakawa, T., Kumamaru, E., Adachi, N., Mizuno, H., Ninomiya, M., . . . Hashido, K. (2010). Glucocorticoid attenuates brain-derived neurotrophic factor-dependent upregulation of glutamate receptors via the suppression of microRNA-132 expression. *Neuroscience*, *165*(4), 1301-1311. doi:10.1016/j.neuroscience.2009.11.057
- Keasey, M. P., Scott, H. L., Bantounas, I., Uney, J. B., & Kelly, S. (2016). MiR-132 Is Upregulated by Ischemic Preconditioning of Cultured Hippocampal Neurons and Protects them from Subsequent OGD Toxicity. *J Mol Neurosci*. doi:10.1007/s12031-016-0740-9
- Kennedy, M. B. (2000). Signal-processing machines at the postsynaptic density. *Science*, *290*(5492), 750-754.
- Kessels, R. P., de Haan, E. H., Kappelle, L. J., & Postma, A. (2001). Varieties of human spatial memory: a meta-analysis on the effects of hippocampal lesions. *Brain Res Brain Res Rev*, *35*(3), 295-303.
- Kessels, R. P., Hendriks, M., Schouten, J., Van Asselen, M., & Postma, A. (2004). Spatial memory deficits in patients after unilateral selective amygdalohippocampectomy. *J Int Neuropsychol Soc*, *10*(6), 907-912.
- Kim, V. N. (2005). Small RNAs: classification, biogenesis, and function. *Mol Cells*, *19*(1), 1-15.
- Kooijman, E., Nijboer, C. H., van Velthoven, C. T., Mol, W., Dijkhuizen, R. M., Kesecioglu, J., & Heijnen, C. J. (2014). Long-term functional

consequences and ongoing cerebral inflammation after subarachnoid hemorrhage in the rat. *PLoS One*, 9(6), e90584. doi:10.1371/journal.pone.0090584

Korobova, F., & Svitkina, T. (2010). Molecular architecture of synaptic actin cytoskeleton in hippocampal neurons reveals a mechanism of dendritic spine morphogenesis. *Mol Biol Cell*, 21(1), 165-176. doi:10.1091/mbc.E09-07-0596

Kuzumaki, N., Ikegami D Fau - Tamura, R., Tamura R Fau - Hareyama, N., Hareyama N Fau - Imai, S., Imai S Fau - Narita, M., Narita M Fau - Torigoe, K., . . . Narita, M. Hippocampal epigenetic modification at the brain-derived neurotrophic factor gene induced by an enriched environment. (1098-1063 (Electronic)).

Lazarov, O., Robinson, J., Tang, Y. P., Hairston, I. S., Korade-Mirnic, Z., Lee, V. M., . . . Sisodia, S. S. (2005). Environmental enrichment reduces Abeta levels and amyloid deposition in transgenic mice. *Cell*, 120(5), 701-713. doi:10.1016/j.cell.2005.01.015

Lee, J. Y., Sagher, O., Keep, R., Hua, Y., & Xi, G. (2009). Comparison of experimental rat models of early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*, 65(2), 331-343; discussion 343. doi:10.1227/01.neu.0000345649.78556.26

Leger, M., Bouet, V., Freret, T., Darmaillacq, A. S., Dacher, M., Dauphin, F., . . . Schumann-Bard, P. (2012). Environmental enrichment improves recent but not remote memory in association with a modified brain metabolic activation profile in adult mice. *Behav Brain Res*, 228(1), 22-29. doi:10.1016/j.bbr.2011.11.022

Lei, Z., van Mil, A., Brandt, M. M., Grundmann, S., Hofer, I., Smits, M., . . . Sluiter, J. P. (2015). MicroRNA-132/212 family enhances arteriogenesis after hindlimb ischaemia through modulation of the Ras-MAPK pathway. *J Cell Mol Med*, 19(8), 1994-2005. doi:10.1111/jcmm.12586

Li, T., Liu, H., Xue, H., Zhang, J., Han, X., Yan, S., . . . Wang, Z. (2016). Neuroprotective effects of hydrogen sulfide against early brain injury and secondary cognitive deficits following subarachnoid hemorrhage. *Brain Pathol*. doi:10.1111/bpa.12361

Li, Y., Xu S Fau - Giles, A., Giles A Fau - Nakamura, K., Nakamura K Fau - Lee, J. W., Lee Jw Fau - Hou, X., Hou X Fau - Donmez, G., . . . Zang, M. (2011). Hepatic overexpression of SIRT1 in mice attenuates endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in the liver. (1530-6860 (Electronic)). doi:D - NLM: PMC3079300 EDAT- 2011/02/16 06:00 MHDA- 2011/06/29 06:00 CRDT-

- Lin, A., & DeFea, K. (2010). Inhibition of LIMK activity by  $\beta$ -arrestins: A mechanism for cofilin activation. *The FASEB Journal*, 24(1 Supplement), 586.581.
- Liu, C. M., Wang, R. Y. F. A. U. S., Saijilafu Fau - Jiao, Z.-X., Jiao Zx Fau - Zhang, B.-Y., Zhang By Fau - Zhou, F.-Q., & Zhou, F. Q. (2013). MicroRNA-138 and SIRT1 form a mutual negative feedback loop to regulate mammalian axon regeneration. (1549-5477 (Electronic)). doi:D - NLM: PMC3713428 OTO - NOTNLM
- Liu, X., Erikson, C., & Brun, A. (1996). Cortical synaptic changes and gliosis in normal aging, Alzheimer's disease and frontal lobe degeneration. *Dementia*, 7(3), 128-134.
- Lu, H., Park, H., & Poo, M. M. (2014). Spike-timing-dependent BDNF secretion and synaptic plasticity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 369(1633), 20130132. doi:10.1098/rstb.2013.0132
- Lund, E., Guttinger, S., Calado, A., Dahlberg, J. E., & Kutay, U. (2004). Nuclear export of microRNA precursors. *Science*, 303(5654), 95-98. doi:10.1126/science.1090599
- Lusardi, T. A., Farr, C. D., Faulkner, C. L., Pignataro, G., Yang, T., Lan, J., . . . Saugstad, J. A. (2010). Ischemic preconditioning regulates expression of microRNAs and a predicted target, MeCP2, in mouse cortex. *J Cereb Blood Flow Metab*, 30(4), 744-756. doi:10.1038/jcbfm.2009.253
- Mathur, P., Graybeal, C., Feyder, M., Davis, M. I., & Holmes, A. (2009). Fear memory impairing effects of systemic treatment with the NMDA NR2B subunit antagonist, Ro 25-6981, in mice: attenuation with ageing. *Pharmacol Biochem Behav*, 91(3), 453-460. doi:10.1016/j.pbb.2008.08.028
- Matsuzaki, M., Honkura, N., Ellis-Davies, G. C., & Kasai, H. (2004). Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature*, 429(6993), 761-766. doi:10.1038/nature02617
- Merino-Serrais, P., Benavides-Piccione, R., Blazquez-Llorca, L., Kastanauskaite, A., Rabano, A., Avila, J., & DeFelipe, J. (2013). The influence of phospho-tau on dendritic spines of cortical pyramidal neurons in patients with Alzheimer's disease. *Brain*, 136(Pt 6), 1913-1928. doi:10.1093/brain/awt088

- Molnar, A., Schwach, F., Studholme, D. J., Thuenemann, E. C., & Baulcombe, D. C. (2007). miRNAs control gene expression in the single-cell alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Nature*, *447*(7148), 1126-1129. doi:10.1038/nature05903
- Moodie, S., Ialongo, N., Lopez, P., Rosado, J., Garcia-Vargas, G., Ronquillo, D., & Kordas, K. (2013). The conjoint influence of home enriched environment and lead exposure on children's cognition and behaviour in a Mexican lead smelter community. *Neurotoxicology*, *34*, 33-41. doi:10.1016/j.neuro.2012.10.004
- Mora, F., Segovia, G., & del Arco, A. (2007). Aging, plasticity and environmental enrichment: structural changes and neurotransmitter dynamics in several areas of the brain. *Brain Res Rev*, *55*(1), 78-88. doi:10.1016/j.brainresrev.2007.03.011
- Morales, M., & Fifkova, E. (1989). Distribution of MAP2 in dendritic spines and its colocalization with actin. An immunogold electron-microscope study. *Cell Tissue Res*, *256*(3), 447-456.
- Morris, R. (1984). Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods*, *11*(1), 47-60.
- Mwangi, J. (2016). High Percentage of Isomeric Human MicroRNA and Their Analytical Challenges. *Non-coding RNA*, *2*, 13.
- Nieuwkamp, D. J., Setz, L. E., Algra, A., Linn, F. H., de Rooij, N. K., & Rinkel, G. J. (2009). Changes in case fatality of aneurysmal subarachnoid haemorrhage over time, according to age, sex, and region: a meta-analysis. *Lancet Neurol*, *8*(7), 635-642. doi:10.1016/s1474-4422(09)70126-7
- Nithianantharajah, J., & Hannan, A. J. (2006). Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. *Nat Rev Neurosci*, *7*(9), 697-709. doi:10.1038/nrn1970
- Okamoto, K., Nagai, T., Miyawaki, A., & Hayashi, Y. (2004). Rapid and persistent modulation of actin dynamics regulates postsynaptic reorganization underlying bidirectional plasticity. *Nat Neurosci*, *7*(10), 1104-1112. doi:10.1038/nn1311
- Park, S., Yamaguchi M Fau - Zhou, C., Zhou C Fau - Calvert, J. W., Calvert Jw Fau - Tang, J., Tang J Fau - Zhang, J. H., & Zhang, J. H. (2004). Neurovascular protection reduces early brain injury after subarachnoid hemorrhage. (1524-4628 (Electronic)).
- Passier, P. E., Visser-Meily, J. M., Rinkel, G. J., Lindeman, E., & Post, M. W. (2011). Life satisfaction and return to work after aneurysmal

- subarachnoid hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 20(4), 324-329. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2010.02.001
- Perederiy J., Westbrook G. (2012). Structural plasticity in the dentate gyrus- revisiting a classic injury model. doi: 10.3389/fncir.2013.00017 PMID: PMC3575076
- Provencio, J. J., Swank, V., Lu, H., Brunet, S., Baltan, S., Khapre, R. V., . . . Ransohoff, R. M. (2016). Neutrophil depletion after subarachnoid hemorrhage improves memory via NMDA receptors. *Brain Behav Immun*, 54, 233-242. doi:10.1016/j.bbi.2016.02.007
- Prunell, G. F., Mathiesen, T., Diemer, N. H., & Svendgaard, N. A. (2003). Experimental subarachnoid hemorrhage: subarachnoid blood volume, mortality rate, neuronal death, cerebral blood flow, and perfusion pressure in three different rat models. *Neurosurgery*, 52(1), 165-175; discussion 175-166.
- Prunell, G. F., Mathiesen, T., & Svendgaard, N. A. (2002). A new experimental model in rats for study of the pathophysiology of subarachnoid hemorrhage. *Neuroreport*, 13(18), 2553-2556. doi:10.1097/01.wnr.0000052320.62862.37
- Prunell, G. F., Mathiesen, T., & Svendgaard, N. A. (2004). Experimental subarachnoid hemorrhage: cerebral blood flow and brain metabolism during the acute phase in three different models in the rat. *Neurosurgery*, 54(2), 426-436; discussion 436-427.
- Rapsomaniki, E., Timmis, A., George, J., Pujades-Rodriguez, M., Shah, A. D., Denaxas, S., . . . Hemingway, H. (2014). Blood pressure and incidence of twelve cardiovascular diseases: lifetime risks, healthy life-years lost, and age-specific associations in 1.25 million people. *Lancet*, 383(9932), 1899-1911. doi:10.1016/s0140-6736(14)60685-1
- Raslan, F. (2012). A modified double injection model of cisterna magna for the study of delayed cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage in rats. *Exp Transl Stroke Med*, 4: 23
- Rathore, K. I., Berard, J. L., Redensek, A., Chierzi, S., Lopez-Vales, R., Santos, M., . . . David, S. (2011). Lipocalin 2 plays an immunomodulatory role and has detrimental effects after spinal cord injury. *J Neurosci*, 31(38), 13412-13419. doi:10.1523/jneurosci.0116-11.2011
- Reinhart, B. J., Slack, F. J., Basson, M., Pasquinelli, A. E., Bettinger, J. C., Rougvie, A. E., . . . Ruvkun, G. (2000). The 21-nucleotide let-7 RNA

- regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 403(6772), 901-906. doi:10.1038/35002607
- Renner, M. J., & Rosenzweig, M. R. (1987). *Enriched and Impoverished Environments*. New York: Springer New York.
- Roberson, E. D., & Mucke, L. (2006). 100 years and counting: prospects for defeating Alzheimer's disease. *Science*, 314(5800), 781-784. doi:10.1126/science.1132813
- Roberts, T. F., Tschida, K. A., Klein, M. E., & Mooney, R. (2010). Rapid spine stabilization and synaptic enhancement at the onset of behavioural learning. *Nature*, 463(7283), 948-952. doi:10.1038/nature08759
- Rojas, J. J., Deniz, B. F., Miguel, P. M., Diaz, R., Hermel Edo, E., Achaval, M., . . . Pereira, L. O. (2013). Effects of daily environmental enrichment on behavior and dendritic spine density in hippocampus following neonatal hypoxia-ischemia in the rat. *Exp Neurol*, 241, 25-33. doi:10.1016/j.expneurol.2012.11.026
- Rosenzweig, M. (1984). Experience, memory, and the brain. *American Psychologist*, 39(4), 365-376.
- Ryan, B., Joilin, G., & Williams, J. M. (2015). Plasticity-related microRNA and their potential contribution to the maintenance of long-term potentiation. *Front Mol Neurosci*, 8, 4. doi:10.3389/fnmol.2015.00004
- Sakızlı, M. (2006). *Hücre, Moleküler Yaklaşım* (Vol. 3, pp. 462-474). İzmir: İzmir Tıp Kitabevi.
- Sargin, D., Mercaldo, V., Yiu, A. P., Higgs, G., Han, J. H., Frankland, P. W., & Josselyn, S. A. (2013). CREB regulates spine density of lateral amygdala neurons: implications for memory allocation. *Front Behav Neurosci*, 7, 209. doi:10.3389/fnbeh.2013.00209
- Schratt, G. (2009). microRNAs at the synapse. *Nat Rev Neurosci*, 10(12), 842-849. doi:10.1038/nrn2763
- Schratt, G. M., Tuebing, F., Nigh, E. A., Kane, C. G., Sabatini, M. E., Kiebler, M., & Greenberg, M. E. (2006). A brain-specific microRNA regulates dendritic spine development. *Nature*, 439(7074), 283-289. doi:10.1038/nature04367
- Segovia, G., Yague, A. G., Garcia-Verdugo, J. M., & Mora, F. (2006). Environmental enrichment promotes neurogenesis and changes the extracellular concentrations of glutamate and GABA in the



- hippocampus of aged rats. *Brain Res Bull*, 70(1), 8-14. doi:10.1016/j.brainresbull.2005.11.005
- Shankar, G. M., Li, S., Mehta, T. H., Garcia-Munoz, A., Shepardson, N. E., Smith, I., . . . Selkoe, D. J. (2008). Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. *Nat Med*, 14(8), 837-842. doi:10.1038/nm1782
- Shelton, M. A., Newman, J. T., Gu, H., Sampson, A. R., Fish, K. N., MacDonald, M. L., . . . Sweet, R. A. (2015). Loss of Microtubule-Associated Protein 2 Immunoreactivity Linked to Dendritic Spine Loss in Schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 78(6), 374-385. doi:10.1016/j.biopsych.2014.12.029
- Sheng, M., & Hoogenraad, C. C. (2007). The Postsynaptic Architecture of Excitatory Synapses: A More Quantitative View. *Annual Review of Biochemistry*, 76(1), 823-847. doi:doi:10.1146/annurev.biochem.76.060805.160029
- Shi, S. H., Hayashi, Y., Petralia, R. S., Zaman, S. H., Wenthold, R. J., Svoboda, K., & Malinow, R. (1999). Rapid spine delivery and redistribution of AMPA receptors after synaptic NMDA receptor activation. *Science*, 284(5421), 1811-1816.
- Siegel, G., Obernosterer, G., Fiore, R., Oehmen, M., Bicker, S., Christensen, M., . . . Schratt, G. M. (2009). A functional screen implicates microRNA-138-dependent regulation of the depalmitoylation enzyme APT1 in dendritic spine morphogenesis. *Nat Cell Biol*, 11(6), 705-716. doi:10.1038/ncb1876
- Siegel, G., Saba, R., & Schratt, G. (2011). microRNAs in neurons: manifold regulatory roles at the synapse. *Curr Opin Genet Dev*, 21(4), 491-497. doi:10.1016/j.gde.2011.04.008
- Silasi, G., & Colbourne, F. (2009). Long-term assessment of motor and cognitive behaviours in the intraluminal perforation model of subarachnoid hemorrhage in rats. *Behav Brain Res*, 198(2), 380-387. doi:10.1016/j.bbr.2008.11.019
- Smrt, R. D., & Zhao, X. (2010). Epigenetic regulation of neuronal dendrite and dendritic spine development. *Frontiers in biology*, 5(4), 304-323. doi:10.1007/s11515-010-0650-0
- Stawarski, M., Stefaniuk, M., & Wlodarczyk, J. (2014). Matrix metalloproteinase-9 involvement in the structural plasticity of dendritic spines. (1662-5129 (Linking)). doi:D - NLM: PMC4091410  
OTO - NOTNLM

- Steiner, B., Winter, C., Hosman, K., Siebert, E., Kempermann, G., Petrus, D. S., & Kupsch, A. (2006). Enriched environment induces cellular plasticity in the adult substantia nigra and improves motor behavior function in the 6-OHDA rat model of Parkinson's disease. *Exp Neurol*, *199*(2), 291-300. doi:10.1016/j.expneurol.2005.11.004
- Steward, O., & Levy, W. B. (1982). Preferential localization of polyribosomes under the base of dendritic spines in granule cells of the dentate gyrus. *J Neurosci*, *2*(3), 284-291.
- Stomrud, E., Hansson, O., Blennow, K., Minthon, L., & Londos, E. (2007). Cerebrospinal fluid biomarkers predict decline in subjective cognitive function over 3 years in healthy elderly. *Dement Geriatr Cogn Disord*, *24*(2), 118-124. doi:10.1159/000105017
- Tada, T., & Sheng, M. (2006). Molecular mechanisms of dendritic spine morphogenesis. *Curr Opin Neurobiol*, *16*(1), 95-101. doi:10.1016/j.conb.2005.12.001
- Takata, K., Sheng, H., Borel, C. O., Laskowitz, D. T., Warner, D. S., & Lombard, F. W. (2008). Long-term cognitive dysfunction following experimental subarachnoid hemorrhage: new perspectives. *Exp Neurol*, *213*(2), 336-344. doi:10.1016/j.expneurol.2008.06.009
- Tan, Y., Hu, H., Tan, W., Jin, L., Liu, J., & Zhou, H. (2016). MicroRNA-138 inhibits migration and invasion of non-small cell lung cancer cells by targeting LIMK1. (1791-3004 (Electronic)).
- Tang, X. J., Yang, M. H., Cao, G., Lu, J. T., Luo, J., Dai, L. J., . . . Zhang, L. I. (2016). Protective effect of microRNA-138 against cerebral ischemia/reperfusion injury in rats. *Exp Ther Med*, *11*(3), 1045-1050. doi:10.3892/etm.2016.3021
- Tang, Y. P., Shimizu, E., Dube, G. R., Rampon, C., Kerchner, G. A., Zhuo, M., . . . Tsien, J. Z. (1999). Genetic enhancement of learning and memory in mice. *Nature*, *401*(6748), 63-69. doi:10.1038/43432
- Tang, Y. P., Wang, H., Feng, R., Kyin, M., & Tsien, J. Z. (2001). Differential effects of enrichment on learning and memory function in NR2B transgenic mice. *Neuropharmacology*, *41*(6), 779-790.
- Tariq, A., Ai, J., Chen, G., Sabri, M., Jeon, H., Shang, X., & Macdonald, R. L. (2010). Loss of long-term potentiation in the hippocampus after experimental subarachnoid hemorrhage in rats. *Neuroscience*, *165*(2), 418-426. doi:10.1016/j.neuroscience.2009.10.040
- Tatro, E. T., Risbrough V Fau - Soontornniyomkij, B., Soontornniyomkij B Fau - Young, J., Young J Fau - Shumaker-Armstrong, S., Shumaker-

- Armstrong S Fau - Jeste, D. V., Jeste Dv Fau - Achim, C. L., & Achim, C. L. (2013). Short-term recognition memory correlates with regional CNS expression of microRNA-138 in mice. (1545-7214 (Electronic)). doi:D - NLM: NIHMS457698D - NLM: PMC3660985 EDAT- 2013/04/11 06:00 MHDA- 2014/10/10 06:00 CRDT- 2013/04/11 06:00 PHST- 2011/12/22 [received] PHST- 2012/08/24 [revised] PHST- 2012/09/26 [accepted] AID - S1064-7481(12)00048-6 [pii] AID - 10.1016/j.jagp.2012.09.005 [doi] PST - ppublish
- Tekşen, F. (2006). Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ders Kitabı (pp. 200-261). Ankara: A.Ü Basımevi.
- van Spronsen, M., & Hoogenraad, C. C. (2010). Synapse pathology in psychiatric and neurologic disease. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 10(3), 207-214. doi:10.1007/s11910-010-0104-8
- Vazquez-Sanroman, D., Sanchis-Segura, C., Toledo, R., Hernandez, M. E., Manzo, J., & Miquel, M. (2013). The effects of enriched environment on BDNF expression in the mouse cerebellum depending on the length of exposure. *Behav Brain Res*, 243, 118-128. doi:10.1016/j.bbr.2012.12.047
- Verma, R., Harris, N. M., Friedler, B. D., Crapser, J., Patel, A. R., Venna, V., & McCullough, L. D. (2016). Reversal of the Detrimental Effects of Post-Stroke Social Isolation by Pair-Housing is Mediated by Activation of BDNF-MAPK/ERK in Aged Mice. (2045-2322 (Electronic)). doi:D - NLM: PMC4850427 EDAT- 2016/04/30 06:00 MHDA- 2016/04/30 06:00 CRDT- 2016/04/30 06:00 PHST- 2016/01/11 [received] PHST- 2016/04/11 [accepted] AID - srep25176 [pii] AID - 10.1038/srep25176 [doi] PST - epubli
- Vo, N., Klein, M. E., Varlamova, O., Keller, D. M., Yamamoto, T., Goodman, R. H., & Impey, S. (2005). A cAMP-response element binding protein-induced microRNA regulates neuronal morphogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(45), 16426-16431. doi:10.1073/pnas.0508448102
- Volkers, K. M., & Scherder, E. J. (2011). Impoverished environment, cognition, aging and dementia. *Rev Neurosci*, 22(3), 259-266. doi:10.1515/rns.2011.026
- Wang, Z., Fang Q Fau - Dang, B.-Q., Dang Bq Fau - Shen, X.-M., Shen Xm Fau - Shu, Z., Shu Z Fau - Zuo, G., Zuo G Fau - He, W.-C., . . . Chen, G. (2012). Potential contribution of matrix metalloproteinase-9 (mmp-9) to cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage in rats. (1550-8080 (Electronic)).

- Wayman, G. A., Davare, M., Ando, H., Fortin, D., Varlamova, O., Cheng, H. Y., . . . Impey, S. (2008). An activity-regulated microRNA controls dendritic plasticity by down-regulating p250GAP. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *105*(26), 9093-9098. doi:10.1073/pnas.0803072105
- Will, B., Galani, R., Kelche, C., & Rosenzweig, M. R. (2004). Recovery from brain injury in animals: relative efficacy of environmental enrichment, physical exercise or formal training (1990-2002). *Prog Neurobiol*, *72*(3), 167-182. doi:10.1016/j.pneurobio.2004.03.001
- Williams, B. M., Luo, Y., Ward, C., Redd, K., Gibson, R., Kuczaj, S. A., & McCoy, J. G. (2001). Environmental enrichment: effects on spatial memory and hippocampal CREB immunoreactivity. *Physiol Behav*, *73*(4), 649-658.
- Winter, J., Jung, S., Keller, S., Gregory, R. I., & Diederichs, S. (2009). Many roads to maturity: microRNA biogenesis pathways and their regulation. *Nat Cell Biol*, *11*(3), 228-234. doi:10.1038/ncb0309-228
- Yan, J., Chen C Fau - Hu, Q., Hu Q Fau - Yang, X., Yang X Fau - Lei, J., Lei J Fau - Yang, L., Yang L Fau - Wang, K., . . . Zhou, C. (2008). The role of p53 in brain edema after 24 h of experimental subarachnoid hemorrhage in a rat model. (1090-2430 (Electronic)).
- Yuste, R. (2010). *Dendritic Spines*. USA: Massachusetts Institute of Technology.
- Yuste, R., & Bonhoeffer, T. (2001). MORPHOLOGICAL CHANGES IN DENDRITIC SPINES ASSOCIATED WITH LONG-TERM SYNAPTIC PLASTICITY. *Annual Review of Neuroscience*, *24*(1), 1071-1089. doi:doi:10.1146/annurev.neuro.24.1.1071
- Zempel, H., Thies, E., & Mandelkow, E. M. (2010). Abeta oligomers cause localized Ca(2+) elevation, missorting of endogenous Tau into dendrites, Tau phosphorylation, and destruction of microtubules and spines. *J Neurosci*, *30*(36), 11938-11950. doi:10.1523/jneurosci.2357-10.2010
- Zhang, L., Huang D Fau - Wang, Q., Wang Q Fau - Shen, D., Shen D Fau - Wang, Y., Wang Y Fau - Chen, B., Chen B Fau - Zhang, J., . . . Gai, L. (2014). MiR-132 inhibits expression of SIRT1 and induces pro-inflammatory processes of vascular endothelial inflammation through blockade of the SREBP-1c metabolic pathway. (1573-7241 (Electronic)).
- Zhao, M. G., Toyoda, H., Lee, Y. S., Wu, L. J., Ko, S. W., Zhang, X. H., . . . Zhuo, M. (2005). Roles of NMDA NR2B subtype receptor in

prefrontal long-term potentiation and contextual fear memory. *Neuron*, 47(6), 859-872. doi:10.1016/j.neuron.2005.08.014

Zhao, Y. Y., Shi, X. Y., Qiu, X., Lu, W., Yang, S., Li, C., . . . Tang, Y. (2012). Enriched environment increases the myelinated nerve fibers of aged rat corpus callosum. *Anat Rec (Hoboken)*, 295(6), 999-1005. doi:10.1002/ar.22446

Zhou, C., Yamaguchi M Fau - Colohan, A. R. T., Colohan Ar Fau - Zhang, J. H., & Zhang, J. H. Role of p53 and apoptosis in cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage. (0271-678X (Print)).

Zito, K., Knott, G., Shepherd, G. M., Shenolikar, S., & Svoboda, K. (2004). Induction of spine growth and synapse formation by regulation of the spine actin cytoskeleton. *Neuron*, 44(2), 321-334. doi:10.1016/j.neuron.2004.09.022