

18601

**T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**FARELERDE KAZANILMIŞ OLAN
DAVRANIŞIN KAYBEDİLMESİNDE OKSİTOSİN VE
FRAGMANLARININ ROLÜ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. A. Banu Ocakçioğlu

ANKARA - 1990

Her zaman yakın ilgi ve desteklerini gördüğüm ve huzurlu bir çalışma ortamı sağlayan Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Sema Yavuzer'e ve tezimin başlangıcından sonuna kadar fedakârca yakın destek, ilgi ve yardımlarını esirgemeyen ve tezimi yönlendiren Sayın Prof. Dr. Sülün Ayhan'a sonsuz minnet ve şükranlarımı arz ederim.

Ayrıca deneylerimizde kullandığımız oksitosin ve fragmanlarının yurt dışında üretimini sağlayan ve bize ulaştıran Medica İlaç A.Ş.'den Dr. Turan Kalelioğlu'na ve istatistiksel değerlendirmedeki yardımları için Prof. Dr. Ersöz Tüccar'a teşekkürlerimi sunarım.

Saygılarımla.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

- GİRİŞ	1
- GENEL BİLGİLER	2
DAVRANIŞ, TANIMLAR, TEMEL KAVRAMLAR	2
DAVRANIŞIN SINIFLANDIRILMASI	3
DAVRANIŞIN İNCELENMESİ VE DENEYSEL MODELLER	4
BELLEK	6
OKSİTOSİN	10
Morfolojik Özellikleri	11
Yapımı ve Sekresyonu	14
Oksitosin Reseptörleri	17
Oksitosin Salınımını Etkileyen Faktörler	18
Oksitosinin Vücuttaki Etkileri	20
- ÇALIŞMANIN AMACI	26
- ARAÇ, GEREÇ VE YÖNTEMLER	27
HAYVANLAR VE DENEY HAKKINDA GENEL BİLGİ	27
DENEYDE KULLANILAN ALET VE ÖZELLİKLERİ	27
DENEYDE UYGULANAN EĞİTİM VE TEST YÖNTEMLERİ	29
DENEYDE KULLANILAN MADDELER	31
DENEY GRUPLARI	32
İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	32
- BULGULAR	33
- TARTIŞMA	44
- ÖZET	50
- KAYNAKLAR	52

GİRİŞ

Organizma, çevresel koşullara adapte olmaya çalışırken, homeostazisi korumak, devam ettirmek için hem davranışsal hem de otonomik, endokrin ve metabolik olayları belli bir dengede tutmaya çalışır. Yaşam için gerekli olan davranışsal adaptasyon santral sinir sistemi (S.S.S.)'nin kontrolü altındadır. Direkt olarak (S.S.S.)'nin etkilediği kabul edilen hipofizer ve hipotalamik hormonların bu adaptasyonda önemli bir rol oynadıkları kabul edilmektedir. Bu hormonlar, çeşitli beyin fonksiyonlarını etkileyen, biyolojik olarak aktif fragmanların prekürsör molekülleridir. Bu fragmanlar, nöral etkileri ve kimyasal yapıları nedeniyle de nöral peptidler olarak nitelendirilmektedir. Bu hormonların ya da fragmanlarının (nöropeptidlerin) periferdeki klasik etkilerinden bağımsız, S.S.S.'i üzerinde de etkileri görülmektedir. Örneğin; dikkat, öğrenme, bellek ve motivasyon olaylarının düzenlenmesine katılmaktadır (13, 14).

Davranışsal adaptasyona katılan nöropeptidlerin prekürsör hormonlarına örnek olarak adrenokortikotropik hormonu (ACTH), melanin stimüle edici hormonu (MSH), vazopressini (VP), oksitosini (OXT), beta endorfini (β -endorfin) verebiliriz. Son on yıl içindeki daha ileri çalışmaların sonuçlarına göre hipofizer veya hipofiz dışı kaynaklı bu peptidler için beyin, bir hedef organ gibi kabul edilmektedir (14).

Son yıllarda, çeşitli yapıdaki nöropeptidlerin S.S.S.'de nörotransmitter ve/veya nöromodülatör olabilecekleri hakkında pek çok delil elde edilmiştir. Nitekim hipotalamik nükleuslarda sentezlenen OXT'nin de bir nöropeptid olarak fonksiyon yaptığı, anatomik olarak S.S.S.'deki geniş dağılımı nedeniyle çeşitli beyin fonksiyonlarını da

etkileyebileceği yönünde pek çok makaleye rastlamak mümkündür. OXT özellikle bellek işlevlerinin modülasyonuna katılmakta olup, karakteristik etki olarak amnezik aktivite göstermektedir (8, 11, 15, 21, 53, 54, 59). Hatta OXT'nin çeşitli peptid fragmanlarının da davranışsal aktivite üzerine etkili olabilecekleri belirtilmektedir (11, 15, 21, 43).

Çalışmamızda bu peptid ve fragmanlarının “daha önce kazanılmış davranışın özel bir tipi olan şartlı davranışa” etkileri, aralarındaki ilişkiler incelenmeye çalışılmıştır.

GENEL BİLGİLER

DAVRANIŞ, TANIMLAR VE TEMEL KAVRAMLAR:

Genel anlamda davranış, doğuştan sahip olunan özelliklerle çevresel faktörlerin etkileşimlerinin bir sonucu olarak ortaya çıkan ve gözlenebilen hareketlerdir. İnsanlarda, davranışın şekillenmesinde en önemli faktör öğrenmedir. Öğrenme, hayvanların ve insanların deneyimlerinin bir sonucu olarak davranışlarını değiştirebilmeleri, yönlendirebilmeleri şeklinde tanımlanabilir. Basitçe, uyarı (stimulus) - cevap ikilisinin davranışın temel ünitelerini oluşturduğu kabul edilmektedir. Öğrenmenin incelenmesi, normal ve anormal davranışın anlaşılmasında en önemli odağı teşkil etmektedir. Hatta bazı mental ve somatik hastalıkların nedenlerinin açıklanmasında da yararlı olmaktadır. Bu tip hastalıkların tedavisinde de laboratuvar çalışmaları sonucu elde edilen öğrenmeyle ilgili prensiplerden yararlanılmaktadır. Ayrıca, temeli öğrenmeye dayanan davranışsal teknikler, beyin lezyonlarının ve ilaçların etkilerinin değerlendirilmesinde de yaygın olarak kullanılmaktadır (38).

DAVRANIŞIN SINIFLANDIRILMASI:

Davranış uyarı-cevap bileşimi olarak kabul edildiğine göre, cevabın oluşum özelliği dikkate alındığında davranışın iki ayrı tipte olabileceği ortaya çıkar (49).

a) Uyarı ile ilk kez karşılaşıldığında ortaya çıkabilen davranışlar.

Bu tip davranışlar, koşulsuz (unconditioned) veya öğrenilmemiş davranışlar olarak adlandırılır (30, 49). Buna Babinski refleksi, patella refleksi v.s. örnek verebiliriz. Bu davranış tipleri kendiliğinden oluşan değil, oluşturulan ve istemsiz olarak ortaya çıkan davranışlardır. Bu sınıfa, bireysel karakter gösteren ve türden türe farklı olabilen “iç güdüsel” davranışlar da dahil edilebilir (49).

b) Belirli bir uyarı ile başlangıçta oluşmayan fakat uyarının tekrarlanması ile ortaya çıkabilen davranışlar.

Bu tip davranışlar, öğrenilmiş davranışlar olarak adlandırılır (30, 45, 49). İnsan yaşamında etkisini gösteren davranışlar bu gruba dahil olup, sınıflandırılmaları son derece güçtür.

Öğrenilmiş davranışların özel bir tipini koşullu (şartlı) davranışlar oluşturmaktadır. Şöyle ki belirli bir cevabı oluşturmada önce etkisiz olan uyarıların, cevabı kazandırabilecek uyarılarla birlikte tekrarlanan verilişleri sonunda, tek başlarına da aynı cevabı oluşturabilir duruma gelmeleri söz konusudur. İşte bu şekilde kazanılan davranışlar “koşullu (conditioned)” davranışlar olarak adlandırılmaktadır.

DAVRANIŞIN İNCELENMESİ VE DENEYSEL MODELLER:

Fizyoloji açısından daha çok ilgi toplayan ve üzerinde çalışılan davranışlar, öğrenilmemiş ve/veya koşullu yani eğitim ile ortaya çıkabilen davranışlardır.

Günümüzde metodolojik olarak koşullu refleksler veya koşullandırma iki tipte oluşturulabilmektedir. Bunlar:

- 1) Klasik Koşullandırma
- 2) Aletli Koşullandırma

Klasik koşullandırma, esas olarak doğuştan varolan reflekse koşullandırma amacı ile uyaran verilmesini kapsamakta olup, Pavlov'un adına izafeten buna Pavlov tipi koşullandırma da denilmektedir (49). Koşullandırmanın (şartlandırmanın) önemli prensiplerinden biri, kondisyone cevabın yerleştirilmesinden sonra, yani bireye bir davranış kazandırdıktan sonra, eğer kondisyone stimülüs, temel stimülüs olmadan uzun süre tekrarlanırsa, koşullu cevabın meydana gelme olasılığının ve yoğunluğunun azalmasıdır. Bu olay, unutmanın bir şekli olan extinction (sönme) olarak bilinmektedir. Bu husus, koşullandırmanın kendisi kadar önemlidir. Çünkü artık birey için bir anlam taşımayan stimülüs, kondisyone cevabı devam ettirmek için yeterli olmamaktadır (38). Nitekim biz de deneylerimizde bu kriteri temel aldık ve davranışın kaybına (sönme) amnezik bir peptid olarak kabul edilen OXT'nin ne yönde etkili olabileceği hususunu araştırdık.

Aletli koşullandırma ise, bireyin kendi eyleminin sonuçlarını tayin edebilmesi esasına dayanmaktadır (25, 45). Yani, deneysel ortamda bireyin

aksiyonuna veya manüplasyonuna dayanan bir davranışın kazanılmasıdır. Bu nedenle, bu tipe “operant davranış” adı da verilmektedir. Burada kazanılan davranış veya cevap, bireyin iradesi dahilinde ortaya çıkar ve birey davranışının sonucunu bilerek böyle bir davranışa yönelir (42, 49). Burada davranış, klasik koşullandırmada olduğu gibi reflekse bağlı bir davranış değil, istemli bir davranıştır.

İki tip koşullandırmada da, davranışın ortaya çıkabilmesi için güçlendirici faktörlere (reinforcer) gerek vardır. Klasik tipte güçlenme, pasif (conditioned) ve aktif (unconditioned) uyaran çiftinin (örneğin, zil ve besin) aynı zamanda veya birbiri peşisıra verilidir. Aletli koşullandırmada ise 2 tip güçlendirici kullanılır.

1- Pozitif Güçlendiriciler: Bir davranışın öğrenilmesi için ödül olarak sunulan, örneğin gıda, su v.s. uyaranlardır.

2- Negatif Güçlendiriciler: Bireyin bir davranışı öğrenebilmesi için uygulanan ve hoş gitmeyen, ceza niteliğindeki uyaranlardır. Örneğin; elektrik şoku (29).

Temel özelliklerini özetlediğimiz koşullu davranışlar, davranışla ilgili gerek fizyolojik, gerekse biyokimyasal deneylerde yıllardan beri kullanılmaktadır. Nitekim biz de deneylerimizde “aletli koşullandırma” yöntemini, negatif güçlendirici olarak da elektrik şokunu kullandık. Bireyin elektrik şokundan kaçışında, iki farklı kaçış davranışı gözlenebilir. Bu davranışlar, oluşumları farklı olduğu için ayrı ayrı adlandırılmaktadırlar. Buna göre şok esnasındaki kaçış “Escape” davranışı, şokun gelişini önleme amacı ile verilen cevap ise “Avoidance” davranışı olarak tanımlanmaktadır. Deneysel olarak koşullandırmaya uygun olan davranış tipini avoidance davranışı teşkil etmektedir. Escape ise rahatsız

edici uyarının bulunuşu ile kendini gösteren bir davranış olup, burada koşullanma söz konusu değildir. Bu nedenle koşullu kaçış cevabı terimi, “Avoidance” cevabını ifade etmektedir.

Kaçış cevabına koşullandırmada, klasik koşullandırmada olduğu gibi yine koşullandırıcı uyarılar (conditioned stimulus) kullanılmaktadır. Bunun da, günümüzde iki şekli vardır.

a) Sinyal ile oluşan kaçış (avoidance). Burada bir uyarıcı sinyali, örneğin ses ve /veya ışığı, rahatsız edici bir uyarı izlemektedir. Böylece, koşullandırıcı uyarılar olan sinyaller, bireye, rahatsız edici aktif uyarının (örneğin elektrik şokunun) geleceğini haber vermekte ve kaçmasını hatırlatmaktadır.

b) Sidman Avoidance: Burada uyarıcı sinyal yoktur. Elektrik şoku tespit edilen aralıklarla verilmektedir. Eğer iki elektrik şoku arasındaki dönemde cevap oluşursa, bu cevap bir sistemi aktive ederek, şokun gelmesini geciktirmektedir. Yani şoklar arasındaki süre, koşullandırıcı uyarı görevi yapmaktadır (42, 49).

Yukarıda tanımlanan yöntemlerin uygulanışıyla yapılan deneyler, öğrenme ile kazanılan davranışın incelenmesinde uygulanabilen ve çok önemli yararlar sağlayan çalışmaların temelini oluşturmaktadır.

BELLEK (HAFIZA):

Bireye kazandırılan, öğretilen davranış takiben, bir süre aradan sonra tekrar deney (test) uygulandığında daha önce elde edilen sonuca çok daha hızlı bir şekilde ulaşıldığı, avoidance cevabın kaybolmadığı yani kazanılan davranışın unutulmadığı ve bellekte saklandığı, gerektiğinde öğrenilen bilgilerin yeniden çağrılması (retrieval) halinde tekrar ortaya çıktığı görülmektedir.

Bu durum, koşullu davranışı kazandırdıktan sonra bir süre bekleyip, yeniden aynı koşulları uygulayarak yapılan deneylerin, belleğin incelenmesinde yararlı olabileceğini göstermektedir.

Bilindiği gibi bellek, öğrenilmiş bilgilerin depolanması ve tekrar kullanılmak üzere ortaya çıkarılmasıdır.

Belleğin fizyolojik ilkeleri henüz tam aydınlatılmamışsa da, patolojik gözlemler ve deneysel bulgular sayesinde belleğin oluşumunu açıklamak üzere bazı teoriler ileri sürülmektedir. Fizyologlar belleği farklı şekillerde tasnif etmektedirler. Bazıları kısa ve uzun süreli bellek olmak üzere ikiye ayırarak incelerken, diğerleri dörde ayırmaktadırlar. Erwin ve Anders modeline göre bellek (23, 46):

1. Duysal bellek
2. Primer bellek (kısa süreli bellek)
3. Sekonder bellek (uzun süreli bellek)
4. Tersiyer bellek (uzun süreli bellek)

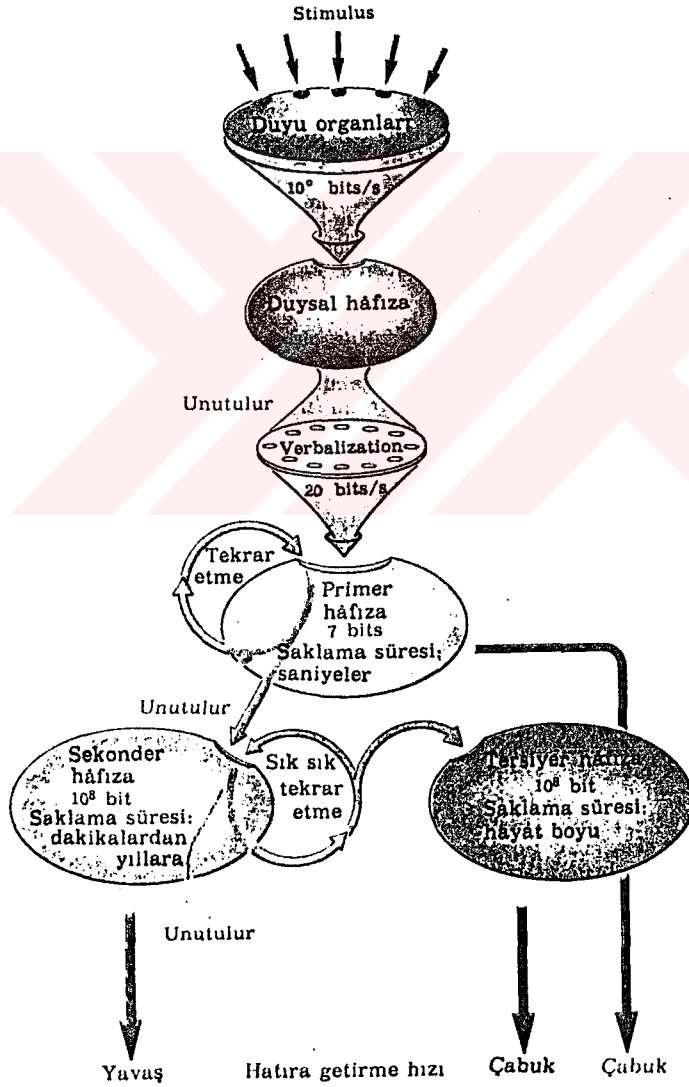
olarak incelenmektedir.

Duysal bellek; beynin, duysal sinyalleri, oluşumlarından sonra kısa bir süre daha duysal alanda tutabilme yeteneğidir. Bu belleğin başlangıç fazını oluşturur (25, 46).

Primer bellek; olayların, sözcüklerin, sayıların, harflerin ya da diğer bilgilerin her defasında birkaç saniyeden birkaç dakikaya kadar uzayan bir süre bellekte tutulmasıdır. Buradaki bilgiler, sekonder bellek deposuna geçirilmez ise unutulmaya mahkumdur. Diğer bir husus da, bir primer depoya yeni bilgi yerleştirilirken, eski bilginin yerini almasıdır (25, 46).

Sekonder bellek; beyindeki informasyonun uzun bir zaman içinde, saatler, günler, aylar ya da yıllar sonra bile hatırlanabilecek şekilde tutulmasıdır. Eğer anı çok derin yerleşmemişse, şahıs ancak birkaç saniye ya da dakika kadar belleği taradıktan sonra hatırlayabilir (25, 46).

Tersiyer bellek; bazı kişisel ve genel olarak önemli bilgiler, diğer bir tip uzun süreli bellekte saklanır. Bu durumda iz, hayat boyu saklanır ve tekrar hatırlama süresi de kısadır (Şekil 1) (46, 47).



Şekil 1: İnfomasyonun saklanması (bellek) (47).

Kısa süreli bellekten uzun süreli belleğe kademeli bir geçişin mi olduğu yoksa tamamen ayrı mekanizmaların mı görev yaptığı tartışmalıdır. Mekanizma ne olursa olsun, veriler önce kısa süreli belleğe buradan da, uzun süreli belleğe geçebilmektedir. Primer belleğin, sekonder belleğe çevrilmesine de pekiştirme (konsolidasyon) denmektedir (25).

Nörolojik bilimlerle uğraşanlar, birçok yıllar boyunca bilginin depolanmasında beynin hangi kısmının sorumlu olduğunu araştırmışlardır. Öğrenmede, spesifik nöral yolların bulunduğu ve öğrenilen bilginin özelliğine bağlı olarak bu yolların farklı olabileceği artık bilinen bir husustur. Bu nedenle de, depolanan bilgilerin, ayrı beyin bölgelerinde lokalize olabileceği, beynin tüm sahalarının bu iş için her zaman gerekli olmadığı anlaşılmaktadır. Şöyle ki; herhangi bir özel durumda değişiklik olduğu zaman, onunla ilgili olan yol etkilenir, öğrenme ile ilgili diğer yollar etkilenmez. Temporal lob, hipokampus ve talamusun dorsomedial nükleusu gibi diensefalik yapıların orta kısımlarının lezyonları yaygın anterograd amnezi ile sonuçlanır. Yani önceden depolanan bilgiler korunurken yeni bilgiyi depolama yeteneği (kıtsadan uzun süreli belleğe geçiş) bozulur, önemli bilgileri ayırma, kodlama, tekrarlama ve uzun süreli bellek deposunda pekiştirme yeteneği gösterilemez. Böylece şahıslar, entellektüel faaliyetin temelindeki uzun süreli belleği oluşturma yeteneğinden yoksun kalırlar (4, 25).

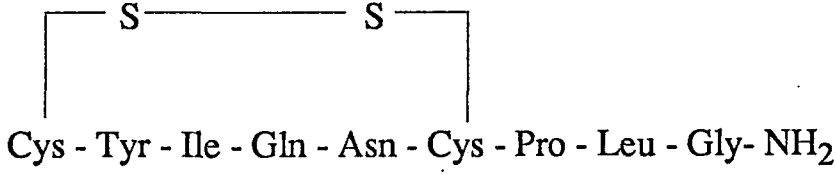
Yakın geçmişteki olaylarla ilgili bellek, bazı nörolojik bozukluklarda veya başka nedenlerle kolayca kaybolabilir. Uzak geçmişle ilgili bellek ise çok daha dayanıklıdır. Beyin travmalarından ve elektro şok tedavisinden sonra, yakın geçmişle ilgili belleğin kaybolabildiği görülür. Buna retrograd amnezi denir. Geçmişe ait anıları yani uzun süreli bellek

deposundaki anıların kaybı anlamına gelir. Retrograd amnezi geliştiği zaman yakın geçmişe ait olayların unutulma oranı, daha uzun geçmişteki olaylara göre çok daha büyüktür. Bunun nedeni de belki, eski anı elementlerinin çok fazla tekrar sonucu, beyindeki yaygın alanlarda depo edilmiş olmasıdır. Belleğin oluşumunda S.S.S.'nin monoaminerjik, kolinerjik, inhibe edici aminoasit sistemlerin ve ACTH, vazopressin, oksitosin, opioid peptidleri içeren peptid sistemlerinin de rolü olduğu belirtilmektedir (4, 25, 38). Bu sistemlerin etkileşimleri sonucu bellek, kuvvetlendirilebildiği gibi bozulabilmesi de söz konusudur. Bu sistemlere ek olarak, yeni bulgular ışığı altında belleğin, diğer bazı peptidlerle modüle edilebildiği belirtilmektedir. Bunlara örnek olarak, substance P, kolesistokinin, anjiyotensin II, somatostatin ve nöropeptid Y verilmektedir (40).

Bellek olayında rolü olan peptidlerden birinin oksitosin olması ve bu konuda halen yeterli çalışmaların bulunmaması nedeniyle çalışmamızı bu yönde planladık.

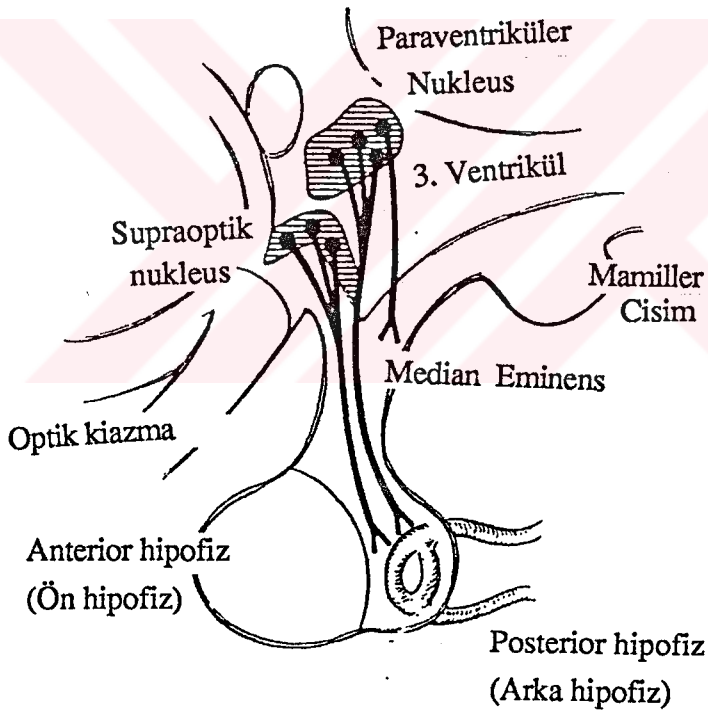
OKSİTOSİN:

Nörohipofiz hormonlarından olan oksitosin, ilk olarak 1954'te saptanmıştır. Du Vigneaud tarafından yapılan kimyasal sentezinin tarihsel anlamı vardır. Çünkü sentezi yapılan ilk biyolojik aktif peptid oksitosindir. Oksitosin (OXT) dokuz aminoasitten oluşan bir küçük peptid hormondur (Şekil 2). Bundan sonra OXT'nin fonksiyonları ile ilgili çalışmalar daha yoğunlaşmıştır (16).



Şekil 2: Yukarıda OXT'nin kimyasal yapısı görülmektedir. (5, 16, 22, 26).

Morfolojik Özellikleri



Şekil 3: Supraoptik ve paraventriküler nukleuslardan kaynaklanan aksonların nörohipofizde sonlanışlarını gösteren şematik şekil (Hipotalamohipofizeal yol) (16).

Oksitosin, hipotalamusun supraoptik ve paraventriküler nukleuslarındaki oksitosine özgü hipotalamik nöronlar tarafından sentezlenmektedir. Bu hücrelere, geniş çapları ve göze çarpan nukleusları

nedeniyle magnosellüler nöronlar da denmektedir (41). Bu nöronlara ait lifler, hipotalamustan, hipotalamohipofizer traktus yoluyla nörohipofize (posterior hipofize-PH) gelirler ve buradaki kan kapillerlerinde sonlanırlar (Şekil 3) (5, 9, 16, 19, 22, 24, 25). Oksitosin yapan hücrelerin özellikle daha çok hipotalamusun paraventriküler nukleusunda bulunduğu, supraoptik nukleusta ise oksitosin yapan nöronların, diğer nukleusa göre daha az yoğunlukta oldukları tespit edilmiştir (5, 26).

Posterior hipofiz, pituisit denenen hücreler içerir. Bu hücreler, sinir sisteminin nöroglialarına benzer özelliktedirler. Daha önceleri posterior lob hormonlarını sekrete ettikleri düşünülen ve yağ globulleri içeren bu hücrelerin, şimdi modifiye astroglia olduklarına inanılmaktadır (22). Pituisitlerin arasında, hipotalamustan kaynaklanan sekresyon yapan akson terminalleri bulunmaktadır. Nitekim histolojik olarak nörohipofizde oksitosin içeren paraventriküler ve supraoptik aksonların, kan damarlarıyla yakın ilişki içinde oldukları ve bunların terminallerinde genişlemeler (şişkinlikler-swellings) olduğu gösterilmiştir. Bu genişlemiş yapılara Herring cisimleri de denmektedir (5, 22). Terminal uçlar posterior hipofizdeki portal kapillerle, nörosekretuar, nörohemal bağlantılar oluşturmakta, böylece hormon, endotelyal hücreye endositozla ve fenestralı kapiller endotelyum'undan diffüzyonla geçerek sistemik kan akımına katılmaktadır (5, 16).

Liflerin Dağılımı

Oksitosine spesifik antiseraların kullanılması ve immunohistokimyasal tekniklerin gelişmesi ile S.S.S.'de OXT içeren sinir liflerini tanımak, dağılımlarını göstermek mümkün olmuştur. Son birkaç yıl içinde oksitosin,

klasik hipotalamohipofizeal yol dışında S.S.S.'nin çeşitli bölgelerinde belirlenmiştir (9, 16, 28, 51, 61).

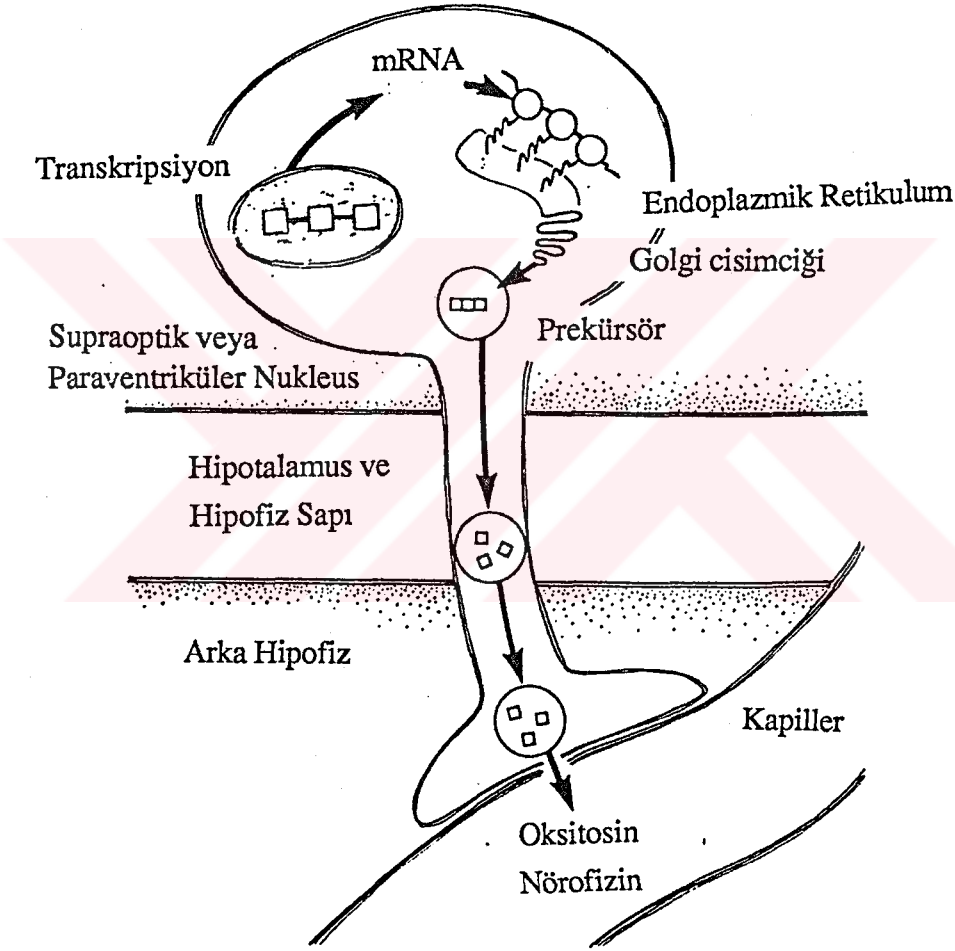
Oksitosin içeren aksonal uzantıların ulaştığı beyin bölgeleri olarak hipokampus, septum ve amigdala gibi limbik yapılar, suprakiazmatik nukleus, pineal bez, lokus seruleus'un katekolaminerjik dahil olmak üzere orta beyin nukleusları, nukleus traktus solitarius ve vagusun dorsal motor nukleusu gibi beyin sapını kapsadığı gösterilmiştir (16, 28, 51).

İmmunoreaktif oksitosin hücrelerinin, medial preoptik alanda (MPOA) da bulunduğu gösterilmiştir. Oksitosin içeren aksonların bazılarının, MPOA'ı lateral olarak terkedip paraventriküler nukleusa ve lateral hipotalamus üzerinden de mezensefalik ventral tegmental alana (VTA) projekte oldukları belirtilmektedir (31).

Oksitosin, düşük konsantrasyonlarda, korteks ve serebellumda da bulunmuştur (28, 51). Oksitosin içeren liflerin, medulla spinalisde de geniş bir yayılımı sahip olduğu gösterilmiştir (16, 28, 51). İmmunohistokimyasal çalışmalar, paraventriküler nukleustan gelen oksitosinerjik liflerin, servikalden koksigeal düzeylere kadar bütün spinal ilik boyunca arka boynuzun I-III laminasında bulunduğunu göstermiştir. Torasik ve üst lumbal düzeylerde bu lifler sempatik intermediolateral nukleusa geçmektedir. Bu nedenle paraventriküler nukleustan gelen oksitosinerjik liflerin, bazı duysal ve sempatik fonksiyonların modifikasyonuna katılabileceğini düşündürmektedir (28). Bunlar kardiyovasküler kontrol ile ilgili olabilirler (22). Oksitosin, köpeklerin cisterna magnasına enjekte edildiğinde arteriel kan basıncını değiştirebilmekte ve vertebral artere infüze edildiğinde hemorajiye karşı cevabı artırmaktadır (51).

Oksitosin Yapımı ve Sekresyonu

Diğer peptid hormonlar gibi oksitosin de daha geniş bir prekürsör molekülün bir parçası olarak sentez edilmektedir. Oksitosin'in prekürsörü preprooxyphysin'dir (10, 22).



Şekil 4: Nörohipofizeal hormonları sentezleyen ve sekrete eden bir magno-sellüler nöron (16).

Şekil 4'de nörohipofizeal peptid (NHP) sentezleyen bir magno-sellüler nöron şematize edilmektedir. Bütün hücrelerde olduğu gibi oksitosin geninin transkripsiyonu nukleusta olur ve somadaki düz endoplazmik

retikulumda m-RNA meydana gelir (10, 16). Düz endoplazmik retikulumda şekillenen, 20 000 Dalton ağırlığındaki glikopeptid yapısındaki inaktif büyük prekürsör protein, golgi cisimciğine taşınır ve daha sonra sekretuar granüllerde paketlenir. Granüller (100-150 nm. çapında) hipofiz sapındaki, oksitosin yapan nöronların aksonları boyunca taşınırlar (2 mm/saat) ve sinir son uçlarında depolanırlar (10, 16).

Oksitosin, salınıncaya kadar nörofizin I denen bir protein ile birlikte bulunur. Bu protein, 10 000 Dalton ağırlığında olup, oksitosine özgü taşıyıcı bir proteindir. Preprooksifizin, yapısal olarak incelendiğinde, molekül yapısı içinde oksitosin+nörofizin ve diğer yapısal maddeleri içerdiği görülmektedir (Şekil 5) (10, 16, 37).

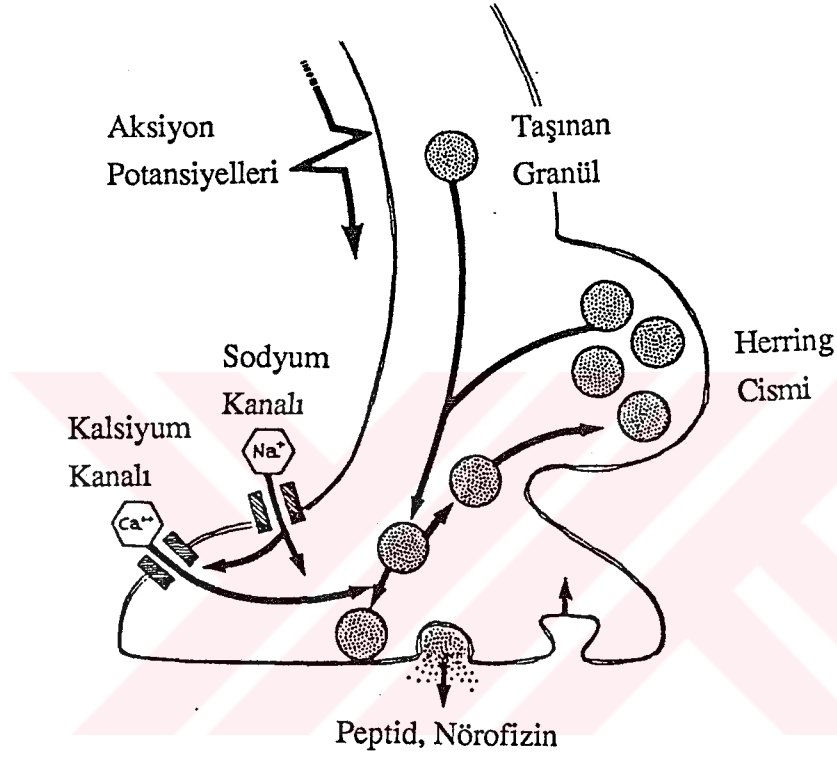


Şekil 5: Oksitosin'in prekürsörü preprooksifizin'den oksitosinin oluşumu (16).

Aksiyon akımının (oksitosin yapan hücreyi uyaran herhangi bir sinyal) doğmasıyla, vezikül içindeki enzimatik reaksiyonlar, oksitosinin taşıyıcıdan ayrılmasına ve birlikte kana geçmesine neden olur (Kandaki nörofizin I'ın fonksiyonu halen açık değildir) (5, 10, 22).

Merkezi sinir sistemi dışında oksitosin'in gonadlarda ve adrenal korteksde sentezlendiği, ayrıca timusda da oksitosin bulunduğu belirtilmektedir. Ancak bu organlardaki fonksiyonu bilinmemektedir (22).

Oksitosine özgü magnosellüler nöronlardaki sekresyonun mekanizması



Şekil 6: Bir magnosellüler nöronun sinir terminali ve sekresyon mekanizması

(16).

Aksiyon potansiyeli, akson terminalinde sodyum kanalları yoluyla hücre içine Na girişine neden olur. Bu daha sonra Ca²⁺ kanallarının açılmasına ve Ca²⁺ girişine yol açar. Ca²⁺ etkisiyle nörosekretuar granüllerin terminal membrana doğru hareketine, granüler membranın sinir terminalindeki membranla kaynaşmasına (füzyon) ve granüler içeriğin salınımına neden olur. Bu sırada veziküler membranın kayba uğramamasından sorumlu bir endositik mekanizmanın olduğu belirtilmektedir (Şekil 6). Tüm nöronların bu mekanizmaya sahip oldukları

görülyor. Bu husus, nöroanatomistler tarafından nöral yolları göstermek için horseradish peroxidase (HRP) kullanılarak gösterilmeye çalışılmıştır. HRP, sinir son ucunda kolayca alınıp somaya retrograd olarak taşınmakta ve posterior hipofizde yerleştğinde de supraoptik nukleus ve paraventrüküler nukleus somalarında tayin edilebilmektedir.

Sekresyon olayının sonlanması Ca^{2+} 'un sitoplazmadan uzaklaştırılması ile olur. Bu durum mikroveziküllere Ca^{2+} 'un tekrar geri alınmasıyla veya hücreden atılması (extrusion) ile meydana gelir. Terminalin repolarizasyonu esas olarak Na^+ , K^+ -ATP az'ın aracılığıyla Na^+ 'un dışarı K^+ 'un tekrar içeri girmesine bağlıdır (16).

Oksitosin Reseptörleri

Son zamanlarda oksitosin için spesifik reseptörlerin tanımlanması, tritium işaretli oksitosin ile mümkün olabilmektedir. Böylece sıçan ve insan uterusunda, emziren sıçanların meme bezlerinde ve beyin dokusunda oksitosinin bağlanma yerlerini lokalize etmek için tritium kullanılmış ve sıçan olfaktor nukleusunda, amigdaller, hipotalamik ventromedial nukleus, hipokampusun ventral subikulumunda ve PH'de nispeten yüksek konsantrasyonlarda oksitosin bağlanma yerleri saptanarak, bu reseptörleri göstermek mümkün olmuştur. Oksitosin bağlayan reseptör bölgelerin maksimal bağlanma kapasitelerinin düşük olması, beyin nukleuslarının çoğunun boyutlarının çok küçük olması sonucu daha kesin bir karakterizasyon engellenmektedir. Ancak otoradyografideki ilerlemeler, oksitosin reseptörlerinin daha ayrıntılı olarak incelenmesine yol açmıştır. [^{125}I] işaretli $d(CH_2)_5$ (Tyr(Me) 2 , Thr 4 , TYr-NH 9_2) OXT'nin selektif olarak sıçan ute-

rusu ve ventral hipokampal membran preparatlarına bağlandığı gösterilmiştir. Lateral septumda bağlanma bulunmamıştır] (18).

Meme miyoepitelyal hücreleri, en fazla laktasyon sırasında oksitosine duyarlıdır. Duyarlılıktaki artış, kontraktil filamentlerin sayıca artmasına ve oksitosin reseptör konsantrasyonlarının yükselmesine bağlanabilir. Örneğin, sıçanda meme miyoepitelyal hücreleri üzerindeki oksitosin reseptörlerinin, hamileliğin birinci günü ile laktasyonun sonu arasında yüz kat arttığı gösterilmiştir. Meme bezindeki oksitosin reseptörlerinin nasıl regüle edildiği bilinmemektedir. Meme bezi ve uterusdaki oksitosin reseptörleri için kontrol mekanizmalarının farklı olduğu düşünülmektedir (16). Şöyle ki sıçan ve tavşanda, uterusdaki oksitosin reseptör konsantrasyonlarının östrojen tarafından artırıldığı, progesteron tarafından azaltıldığı tesbit edilmiştir (19). Ancak östrojen ve progesteron oranının uterusda önemli olduğu gösterilirken, meme bezinde, reseptör sayıları üzerine steroidlerin etkisi gösterilememiştir (16).

Oksitosin ve reseptörü yakın zamanda insan ovaryumunda da bulunmuştur (5).

Oksitosin Salınımını Etkileyen Faktörler

Çeşitli araştırmalar, posterior hipofizde opioid reseptörlerinin bulunduğunu ve posterior hipofizden oksitosin sekresyonunun endojen opioid reseptörlerce module edildiğini göstermektedir. Bu reseptörlerin, nörosekretuar lifler üzerinde preterminal olarak lokalize oldukları sanılmakta, ayrıca opioid reseptörlerinin, nörohipofizde pituisitler üzerinde de bulunduğu belirtilmektedir (39, 57). Magnosellüler sinir terminalleri üzerindeki bu opioid reseptörlerin kappa reseptörleri olduğu ve

kappa opioid agonistleri kullanıldığında oksitosin sekresyonu üzerine inhibitor etki gösterdikleri belirtilmektedir. İzole nörosekretuar terminallerin direkt depolarizasyonu ile uyandırılan oksitosin sekresyonunun, selektif kappa agonisti U-50, 488H ve dynorphin A₁₋₁₃ tarafından inhibe edildiğini ve bu inhibisyonun muhtemelen depolarizasyona bağlı Ca²⁺ girişini inhibe ederek olduğunu ifade etmektedirler (60).

Oksitosin salan sinir uçlarında met-enkefalinin de bulunduğu (kolo-kalizasyon), beraber salındıkları ve sinir ucunda oksitosin salınımını inhibe ettiği belirtilmektedir (1, 32).

Morfin ve benzeri opioid ilaçlar da salgılamayı inhibe ederler (32, 54). Muhtemelen granüller iki peptidi sadece kana değil, komşu sinir terminallerini etkileyecek biçimde perikapiller sahalara da salıvermektedirler (1).

Morfolojik çalışmalar, bazı peptidlerin S.S.S.'deki bir sahada kendilerine ait hücre gövdelerinde sınırlandırılmış olduklarını, peptid içeren somalarının dağılımlarında farklar olduğunu ortaya koyarken, bazı peptidlerin aynı nükleus içinde birlikte olabileceğini ileri sürmektedir (Örneğin AVP, oksitosin ve anjiyotensinin hipotalamik supraoptik ve paraventriküler nükleuslarda dağılımları, keza VP, oksitosin anjiyotensin, kolesistokinin ve enkefalin gibi peptidlerin supraoptik nükleusta birlikte bulunmaları gibi.) (37).

Sıçan ve bovin hipotalamusunun supraoptik ve paraventriküler nükleuslarının magnosellüller nöronlarında, oksitosin ve kolesistokininin birlikte bulundukları görülmüş, bunun fonksiyonel anlamı henüz tanımlanmamıştır (31).

Katekolaminlerin de oksitosinin etkisini bloke edebildikleri, hipotalamustan gelen dopaminerjik sinirlerin, oksitosin salgılanmasının düzenlenmesinde bir role sahip olma ihtimali desteklenmektedir (5, 58).

Endojen oksitosinin kendi salınımı üzerine (+) feed-back etkisi bulunmaktadır. Bu, in vivo elektro-fizyolojik verilerle desteklenmiştir. Oksitosin salınımındaki oksitosine bağlı artışın, oksitosin antagonisti ile inhibe edilebilmesi, hormonun kendine özgü reseptörlere etki edebildiğini göstermektedir (41, 52).

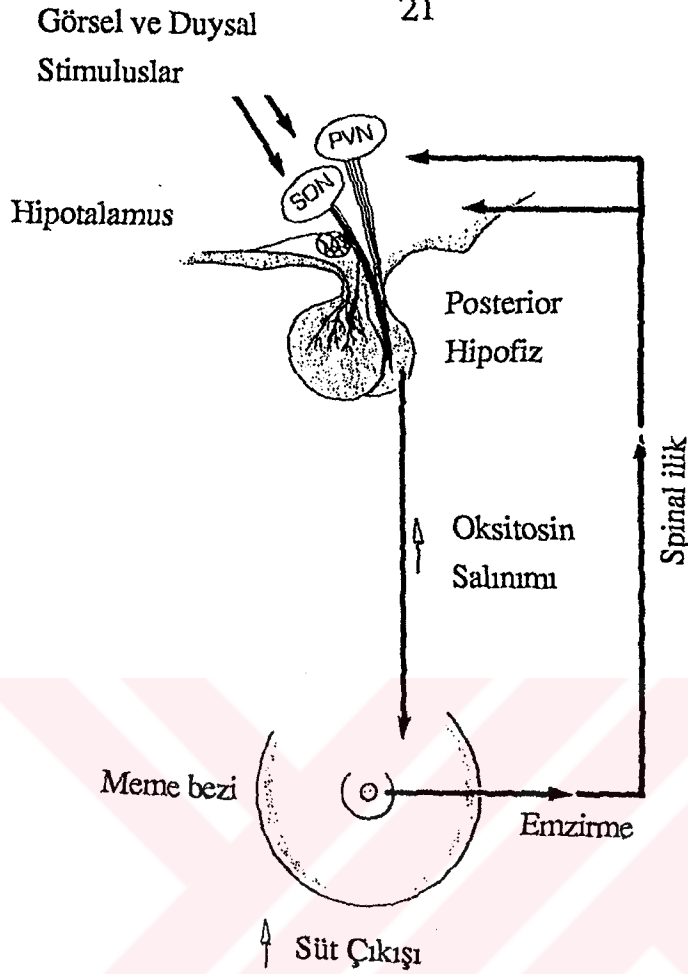
Oksitosinin Vücuttaki Etkileri

Miyometriyum ve meme bezinin miyoepitelyumu, oksitosin'in klasik bilinen hedef organlarıdır. Buna göre periferik etkilerini kısaca ele alacak olursak;

1- Süt Ejeksiyon Refleksine Etkileri:

Fizyolojik koşullarda, doğumdan sonra 24 saat içinde meme bezleri süt yapımına başlarlar. Emzirme, oksitosin salınımı için en etkin stimulus olup, sütün ejeksiyonunu sağlayan nöroendokrin refleksi başlatır (5, 22).

Emme ile, meme ucunda yoğun olarak bulunan reseptörlerin, mekanik olarak uyarılmaları sonucu buradan kaynaklanan nöral impulslar, medulla spinalis ve beyin sapı yoluyla hipotalamusa gelir. Supraoptik ve paraventriküler nükleuslardaki nöronları aktive ederek burada oksitosin sentezini uyarırlar ve posterior hipofizdeki oksitosin içeren sinir terminallerindeki veziküllerden kan akımına saniyeler içinde oksitosin salınımını tetikler, emzirme devam ettikçe de, oksitosin sentezi ve akson boyunca hormonun transportu stimule edilir (Şekil 7) (5).



Şekil 7: Süt salınımı ile ilgili yollar (48).

Nörohipofizer peptidlerin, hedef dokuları etkileyebilmeleri için gerekli miktarların çok üstünde bir düzeyde posterior hipofizde depolandıkları, örneğin; sıçan hipofizinde yaklaşık $1 \mu\text{g}$ oksitosin bulunduğu belirtilmektedir. Duruma göre, yeni sentez edilen peptid, sekrete edilebildiği gibi sekrete edilmeyen yeni sentezlenen hormon, Herring cisimlerinde depo edilmekte ve gerektiğinde serbestleştirilebilmektedir. Herring cisimlerinde granüller içinde lokalize olan hormon, kronik stimulasyonla sinir terminallerine tekrar geri dönebildiği gibi, lizozomal enzimlerle de degrade olabilir. Bir hücredeki 2×10^{10} nörosekretuar granüllerden sadece % 30'u akson terminallerinin sınırlar içinde, yaklaşık % 60 kadarı ise Herring cisimlerinde depolanmış durumda bulunmaktadır. Depo edilen hormo-

nun yaklaşık % 0.1'ini oluşturan 1 ng oksitosinin, intravenöz olarak verilışı derhal süt ejeksiyonunu başlatabilmektedir (48).

Oksitosin, göğüste, hedef hücre membranındaki spesifik reseptörleri ile birleşerek, meme bezinde alveolleri çevreleyen mioepitelyal hücrelerin kontraksiyonuna neden olur, bu da sütün alveollerden duktuslara ulaşmasına ve meme içi basıncın artmasına yol açar (19, 28, 34, 48).

Emziren kadında, genital stimölasyon ve emosyonel stimuluslar da oksitosin sekresyonunu oluşturabilir. Yani süt salınımı refleksi emzirme dışında bebeğin ağlaması gibi stimölasyonlarla da koşullandırılabilir. Bu da göstermektedir ki yüksek merkezler, oksitosin salınımının kontrolünde bir role sahiptirler. Bunun diğeri bir örneğı de soğuk, anksiyete, ağrı gibi stresli stimulusların, süt salınımını azaltmasıdır. Emzirme periodlarına ve koşullu bir stimölusa cevap olarak kanda oksitosin konsantrasyonlarının hızla yükselmesi de bu bulguları desteklemektedir (48). Buna ilaveten oksitosin, prolaktin salgılanmasını da inhibisyon dan kurtararak (disinhibisyon) salınımını artırır. Böylece oksitosin ve prolaktin birlikte süt bezlerine etki ederek hem süt bezlerinin süt yapımını hem de sütün ejeksiyonunu kolaylaştırır (6).

2- Oksitosinin Miyometriuma Etkisi:

Vajina ve serviksin mekanik uyarılması hipotalamustan oksitosin salınımının artmasına (Ferguson's refleksi) neden olan sinirsel afferent impulsların doğmasına ve uterusun düz kasının kontraksiyonuna neden olur (5, 19, 22, 26, 28, 34) . Çok düşük dozlarda bile miyometriumun ritmik kontraksiyonlarını stimüle eder. Bu uterus düz kasında membran depolarizasyonu için eşiğ in hafifçe düşürölmesine bağılıdır. Yüksek dozlar eşik

değerin daha da düşmesine neden olur ve devamlı tetanik kontraksiyonlara yol açar (5). Uterus kasının oksitosine duyarlılığı östrojen ile artırılırken progesteronla inhibe edilir. Düşük olayında da oksitosinin rolü olabileceği belirtilmektedir (5). Hamileliğin sonuna doğru, östrojenler miyometriumun özellikle oksitosine karşı duyarlılığını arttırırlar. Hamileliğin geç döneminde oksitosin reseptörlerinin sayısındaki artışla birlikte uterus, oksitosine çok duyarlı bir duruma gelir (22).

Hamileliğin yaklaşık 280. gününden sonra nörohipofizden salgılanan oksitosin en yüksek düzeyde olup östrojenle hassaslaştırılmış miyometriumun kontraksiyonlarını hafifçe arttırır ve fetusun serviks ve vajinaya doğru itilmesine neden olur. Bu dokuların gerilmesi buradaki mekanoreseptörleri uyarak hipotalamustaki oksitosin yapan hücrelere sinyal gitmesine ve oksitosin salınımına neden olur. Baskı arttıkça da daha fazla oksitosin salınımına sebep olur (27).

Doğum eylemi sırasında oksitosinin plazmadaki konsantrasyonu 0,8-0,9 mÜ/ml'dir (32).

Oksitosin, plasentanın atılmasından sonra, hemostazın sağlanmasına yardım eden devamlı postpartum kontraksiyonlarda da önemli bir rol oynayabilir (5).

3- Ferguson refleksinin, hamile olmayan kadında büyük bir önemi yoktur. Ancak koitus sırasında mekanik uyarı sonucu artan oksitosinin neden olduğu mikrokontraksiyonlar spermin döl yatağında ilerlemesini kolaylaştırarak döllenmeyi fasilite edici bir fonksiyona sahiptir. Şöyle ki vajinada sinirsel mekanizmalarla başlatılan ritmik kontraksiyonlar, vajinaya dökülen spermlerin, tuba uterinaların uzak ucuna ve overler yüzeyine doğru taşınmalarını, kısa sürede bu noktalara ulaşmalarını kolaylaştırmaktadır (22)

Erkeklerde hormonun plazma düzeyleri kadınlarınkine benzer olmasına karşın oksitosinin bir fonksiyonu olup olmadığı henüz bilinmiyor (5). Gebe olmayan kadınlarda ve erkeklerde oksitosinin plazma düzeyleri (3,2 μ IU/ml.) dir (50).

4- Oksitosinin, adipositler üzerinde insülin benzeri bir etki gösterdiğine de literatürde değinilmektedir (18).

5- Fonksiyonel çalışmalar, santral oksitosinin maternal davranışların başlamasını etkilediğini ve intraventriküler olarak uygulanan oksitosin antiserumunun maternal davranışları inhibe ettiğini göstermektedir (31-51).

Örneğin: Oksitosin uygulaması ile bakire sıçanlarda bile maternal davranışın ortaya çıktığı belirtilmektedir (17).

Bu çalışmalar, endojen oksitosinin, maternal davranışların başlamasında önemli rolü olabileceğini göstermektedir. Nitekim medial preoptik alanda, lateral hipotalamusta ve ventral tegmental alanda lezyon oluşturulduğunda maternal davranışların şiddetle inhibe edildiği görülmektedir (31).

6- Oksitosinin iyi bilinen periferik etkilerine ek olarak öğrenme ve bellek olaylarında da bir role sahip olduğu görülmektedir.

Hipotalamustan orijin alıp, ekstrapotalamik beyin alanlarına projekte olan ve oksitosin yapan nöronların, bu olaylarla ilgili mekanizmalara nörotransmitter ve/veya nöromodulatör olarak katılmaları söz konusudur.

Çeşitli çalışmalarla posterior hipofiz hormonlarının vazopressin, oksitosin ve bunların bazı fragmanlarının öğrenme ve belleğin temelindeki mekanizmaları etkileyebildikleri gösterilmiştir. Bu nöropeptidlerin S.S.S.'de bir denge içinde bulunmalarının, bu mekanizmaların işlerliği

bakımından büyük bir önem taşıdığı düşünülmektedir. Vazopressin ve oksitosinin etkileri arasındaki dengenin bozulması, davranışla ilgili değişikliklere yansiyarak, beyin fonksiyonlarında da değişmelere yol açmaktadır (53).

Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalar, belirli beyin alanlarının, dorsal hipokampal kompleks, amigdaller, rostral septal alan, parafasiküler nukleuslar dahil olmak üzere posterior talamik bölgelerin lezyonlarında ve çeşitli beyin bölgelerine nörohipofizeal hormonların lokal aplikasyonu yapıldığında nörohipofizeal hormonların, davranışla ilgili yerler olan orta-beyindeki limbik yapılara etki ettiklerini ortaya çıkarmıştır. Öğrenme periodları sırasında bu sınırlandırılmış beyin alanlarından hormon salınımının ölçülmesi zor olduğundan kan ve beyin omurilik sıvısındaki hormon miktarı tayini ve ekstrapotalamik nörosekretuar yollar tarafından innerve edilen yerlerin mikroklesileri yapılarak, beyin nukleuslarındaki konsantrasyonları saptanmıştır (53-54).

Davranışlar, depolama olayındaki değişikliklere bağlı olduğundan (bellek konsolidasyonu), etkinin esas yerinin dorsal septum, dorsal raphe ve hipokampusun dentate gyrus'unu kapsadığı belirtilmektedir. Bu bölgelerin genel olarak nörohipofizeal hormonları içeren ekstrapotalamik sinir liflerinin projeksiyonları ile uygunluk taşıdığı da görülmektedir (53).

ÇALIŞMANIN AMACI

Santral sinir sisteminde bulunan çeşitli nöropeptidlerin sadece kendileri değil bazı fragmanları da ana peptidlerinkine benzer veya farklı etkiler ortaya çıkarabilmektedirler. Çeşitli çalışmalarla posterior hipofiz hormonlarının, vazopressin, oksitosin ve bunların bazı fragmanlarının öğrenme ve belleğin temelindeki mekanizmaları etkileyebildikleri gösterilmiştir. Bellek olayında rolü olan peptidlerden birinin oksitosin olması ve bu konuda halen yeterli çalışmaların bulunmaması nedeniyle deneylerimiz, öğrenilmiş davranışın unutulması (sönme) üzerine amnezik bir peptid olarak kabul edilen oksitosinin ve fragmanlarının ne yönde etkili olabileceklerinin araştırılması amacıyla yapıldı.

ARAÇ-GEREÇ VE YÖNTEMLER

HAYVANLAR VE DENEY HAKKINDA GENEL BİLGİ:

Deneyler, ağırlıkları 25-40 gram arasında değişen erkek farelerde yapıldı. Hayvanlar, deney gününden önce toplu halde tutuldular, gıda ve su gereksinimleri kesintisiz olarak sağlandı. Deney günü, deneyden 1 saat önce, toplu halde bulundukları kafesten alınarak, tek başlarına birer kafese yerleştirildiler. Deneyler, daima günün aynı saatlerinde ve 9.30-17.00 arasında yapıldı.

DENEYLERDE KULLANILAN ALET VE ÖZELLİKLERİ:

Deneylerde, fareleri şartlandırmak amacı ile TTK otomatik “kaçışa şartlandırma” aleti (Takei and Co., Ltd. Japonya) kullanıldı. Bu alet 7 bölümden teşekkül etmiş olup, bu bölümler ve görevleri aşağıda özetlenmiştir:

- a) Uyaranların uygulama sürelerini ayarlamayı sağlayan zamanlama ünitesi
- b) Verilecek uyarıların cinsini ayarlamayı sağlayan ayırım ünitesi
- c) Elektrik şoku üreticisi (hayvanlara verilecek elektrik akımını sağlayan ve akım şiddetini ayarlamaya yarayan ünite)
- d) Test kutusu.

Bu bölüm, sistemin en önemli kısımlarından birini oluşturmaktadır. Üstten kapaklı ve ön tarafı, kafesin içinin görülebilmesi için şeffaf pleksiglastan yapılmış bir kafestir. Kafes, tam ortadan portatif bir bölme ile ikiye

ayrılarak eşit boyutlarda iki oda oluşturulmuştur. Bölmenin tabana dayanan kısmında ve tam ortada deney hayvanının bir bölümden diğerine geçebilmesini sağlayan 11x10 cm. boyutunda bir açıklık, yani kapı bulunmaktadır. Kafesin tabanı ince, paslanmaz çelik çubuklarla döşenmiş olup, her bölümün tabanını oluşturan çubuklar grubu, birbirine bağımlı olmaksızın, tahterevalli şeklinde harekete sahiptir. Bu çubuklar şok verici üniteye bağlı olup, bunlar vasıtası ile farelerin tabana temas eden vücut kısımlarına elektrik akımı verilmektedir. Fare, bu bölmeyi terkettiği zaman, çubuklar üzerindeki ağırlık kalkacağından, bu çubuklar tahterevalli tarzında yukarı doğru hareket ederek elektrik devresini kapatmakta ve akımı durdurmaktadır.

Her iki bölümün yan taraflarında beyaz camlı birer pencere ve bu pencerelerde kafesin içine ışık vermek üzere ayarlanabilir watt gücünde yerleştirilmiş birer ışık kaynağı (ampul) bulunmaktadır. Kafesin arka duvarında ise bir ses kaynağı (hoparlör) mevcuttur. Gerek ışık gerekse ses, deneylerde şartlandırıcı uyaranlar olarak kullanılmaktadır.

e) Programlama Ünitesi

Bu bölüm, denemeler (trialler) arası süreyi programlamaya yarayan bölümdür. Program, daire şeklindeki bir fotoğraf filmi üzerine belirli aralıklarda, 5x5 mm. boyutunda delikler açmak suretiyle hazırlanmaktadır. Bu delikleri ihtiva eden film, dairesel şekilde ve 10 mm/sn. hızda dönmesini sağlayan sistem üzerine yerleştirilmektedir. Dönüş esnasında film üzerindeki deliklerden herhangi biri, yine sistem üzerinde bulunan elektronik gözün (micro-switch) karşısına geldiği zaman dönme durmakta ve otomatik olarak uyarı ünitesi faaliyete geçerek belirlenen uyarıları vermeye başlamaktadır.

Deneylerimizde, yukarıda bahsedilen fotoğraf filmi, delikler arası mesafe 30 sn. olacak şekilde, tarafımızdan programlanmıştır.

f) Deneme (trial) sayılarını ve denemelerin birbirini takibini düzenleyen ünite:

Koşullandırma ile ilgili deneylerimizde bir deneme (trial), koşullandırıcı uyaranlar ve bunun hemen arkasından gelen ve hayvanın cevap vermesini sağlayan ceza (veya ödül) uyaranlarından (uyarı-cevap ikilinden) oluşmaktadır. Çalışmamızda bu ikili bir hayvana 20 kez uygulanacak şekilde programlanarak denemelerin kesintisiz olarak birbiri peşisıra devam etmesi sağlanmıştır.

g) Kayıt Ünitesi

Bu bölümde, koşullandırma nedeniyle verilen uyarılar, aynı zamanda kağıt üzerine de kaydedilmektedir.

DENEYDE UYGULANAN EĞİTİM VE TEST YÖNTEMLERİ:

Çalışmamızda dört yöntem kullanılarak deneyler gerçekleştirildi. Bunlar;

a) Koşullu cevap kazanma (acquisition) deneyi:

Deney günü, fare, test kutusu içine yerleştirilerek yeni çevreye alışması için 5 dakika beklendikten sonra deney başlatıldı. Deneylerde hayvanlara ilk olarak 4 sn. süre ile ışık uyarını (60 W) (koşullandırıcı uyaran-conditioned stimulus) uygulandı. Bu 4 saniye sürenin hemen bitiminde test kutusunda hayvanın bulunduğu taraftaki bölmenin tabanındaki çubuklara 4 saniye süre ile elektrik akımı (0,8 mA) verilecek şekilde programlandı. Sis-

tem, elektrik şokunun devamı sırasında fare bulunduğu bölmeden diğer bölmeye geçince (kaçış-escape cevabı) elektrik akımı aynı anda, eğer fare bulunduğu bölümü terk etmezse 4 saniyelik sürenin sonunda otomatik olarak kesilecek şekilde ayarlandı. Bu şekilde oluşan uyarı-cevap ikilileri (deneme-trialler) arasında geçen süre 30 saniye olarak programlandı ve bu 30 saniyelik süre içinde hayvana hiçbir uyarı tatbik edilmedi. Her sıçana yukarıda belirtilen düzende peşpeşe 20 deneme uygulandıktan sonra hayvan test kutusundan alındı. Tüm fareler aynı şekilde deneye tabi tutuldular.

Deney sonunda, her bir hayvanın 20 denemelik bir dönem sürecinde koşullu cevap kazanma durumu, yani bulunduğu bölümü elektrik şokunun mevcut olduğu sırada değil, koşullandırıcı uyarının (ışık) uygulanması sırasında terketmesi şeklinde oluşan cevaplar değerlendirildi. Bu cevap, koşullu kaçış cevabı (Conditioned Avoidance Response) olup, hayvanın ışık uyarını takiben “daha sonra elektrik şokunun geleceğini” öğrendiğini göstermektedir.

Bu yöntemin uygulandığı hayvanlara birbiri peşisıra 4 gün, 20 denemelik eğitim dönemleri uygulandı. Son deney günü elde edilen cevaplar incelenerek, bu hayvanların öğrenmesi gereken davranışı (koşullu kaçış cevabı-avoidance response) kazandıkları tespit edildi (2).

b) Koşullu cevapların saklanması:

Yukarıda (a) bendinde belirtilen dört günlük eğitimden sonra fareler, on gün normal koşullar altında bekletildikten sonra bu hayvanlara yeniden koşullu cevap kazanma deneyi (a bendinde açıklanan) aynen uygulandı, ve kazanılan cevabın saklanıp saklanmadığı (retrieval) değerlendirildi. Sonuçlar şekillerimizde Retansiyon (RET_1) olarak gösterildi.

c) Sönme deneyi:

Kazanılan cevabın saklanıp saklanmadığını anlamak için yapılan retansiyon testinden (yukarıda b bendinde belirtilen) 24 saat sonra sönme deneyine başlandı. Burada koşulsuz stimulus olan elektrik şoku kesildi, sadece koşullu stimulus olarak ışık uygulandı. Yani koşullandırıcı (kondisyone) stimulusun verilmesi sürdürüldü ancak temel stimulus kesildi. Deney sonunda kazanılan cevaplarda azalma (sönme) olup olmadığı incelendi. Sönme deneyi arka arkaya üç gün uygulandı ve hergün farelere deneyden bir saat önce planlanan enjeksiyon yapıldı (8-15-21).

d) Retansiyon 2 ve retansiyon 3 testleri:

Birbirini izleyen üç günlük sönme deneyinin tamamlanmasından ve enjeksiyonların kesilmesinden 48 saat sonra retansiyon 2 testi (RET₂) uygulandı. Retansiyon test 2’de sadece koşullu stimulus (ışık) verilirken, bundan 24 saat sonra yapılan retansiyon testinde (Retansiyon test 3) ise koşullu stimulusun ardından koşulsuz stimulus olan elektrik şoku uygulandı. Retansiyon test 2’de sönme deneyi aynen tekrarlandı. Elde edilen cevaplarda bir değişiklik olup olmadığına bakıldı. Retansiyon test 2’yi 24 saat sonra retansiyon testi 3 (RET₃) izledi. Burada b bendinde uygulanan yöntem (retansiyon testi) aynen Retansiyon 3’de uygulandı. Farelere (CS+US) birbirini izler şekilde uygulanarak cevapların durumu izlendi.

DENEYLERDE KULLANILAN MADDELER:

Fizyolojik tuzlu su (% 0,9 NaCl solüsyonu)

Oksitosin

Oksitosin (4-9) (pGlu⁴,Cyt⁶) Oxytocine (Organon)

Oksitosin (5-8) (Cyt⁶) Oxytocine (Organon)

DENEY GRUPLARI:

Tüm hayvanlar (92 tane) önce 4 günlük eğitim programına göre (a bendindeki gibi) eğitildiler. Eğitimleri bittikten sonra 4 ana gruba ayrıldılar. (Kontrol grubunda 12, diğerlerinde herbirinde 8 tane fare olacak şekilde) Her ilaç grubunda, doza göre alt gruplar düzenlendi.

Grup I: Kontrol-serum fizyolojik

Grup II: Oksitosin

- a) 25 µg/kg
- b) 50µg/kg
- c) 100 µg/kg
- d) 200 µg/kg

Grup III: Oksitosin (4-9)

- a) 25 µg/kg
- b) 50µg/kg
- c) 100 µg/kg
- d) 200 µg/kg

Grup IV: Oksitosin (5-8)

- a) 100 µg/kg
- b) 200 µg/kg

Enjeksiyonlar deneyin başlamasından 1 saat önce yapıldı. Deneylerimizde kullandığımız ilaçlar hayvanlara eşit hacim içinde (0,1 ml/10 gr) ve deri altı olarak verildi.

Oksitosin fragmanları (OXT 4-9 ve OXT 5-8) bir damla 10^{-5} N HCl içinde eritildikten sonra 0,9 % serum fizyolojik ile seyreltilti. (pH : 6,5-6,7)

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME:

İki yüzde arası farkın önem kontrolü “t testi” ve “Mann-Whitney U testi” kullanılmıştır.

BULGULAR

Tüm hayvanlar önce koşullu cevap kazanma (acquisition) deneyine tabi tutuldular. Bu yöntemin uygulandığı hayvanlara birbiri peşisıra 4 gün, 20 denemelik eğitim dönemleri uygulandı. Tüm deneyler sonunda, her bir hayvanın 20 denemelik bir dönemler sürecinde koşullu cevap kazanma (conditioned avoidance response) durumu değerlendirildi. Hayvanların dördüncü günlerinde ortalama olarak 20 deremenin (trialin) 9,66' sında (% 48,3) koşullu kaçış cevabı gösterdikleri yani şokun geleceğini öğrendikleri tesbit edildi (Şekil 8).

1) Koşullu cevapların saklanması:

Yukarıda bahsedilen, eğitimleri tamamlanmış (dört günlük deneme periodu sona eren hayvanlar 10 gün normal koşullar altında bekletildikten sonra, koşullu cevap kazanma deneyi aynen bir kere daha uygulandı. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde; 20 denemelik dönemlerde yine ortalama 9.08 koşullu kaçış cevabı gösterdikleri yani kazandıkları cevabı korudukları, unutmadıkları ve 10 gün önceye göre bir azalma olmadığı tesbit edildi. Şekillerimizde retansiyon (RET_1) olarak gösterilen bu sonuçlar, deneylerimizin bundan sonraki değerlendirilmesinde 9.08 ortalama cevap 100 kabul edildi ve değerlendirmeler bu cevaba göre "yüzde" değer olarak gösterildi.

2) Sönme deneyi:

Fizyolojik tuzlu su (SF) verilen kontrol grubu farelerin şartlı kaçış cevapları incelendiğinde, bunların birbirini izleyen 3 günlük deney dönemlerinde (I, II ve III. günler) devamlı olarak azaldığı tesbit edildi.

Ancak azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu 3 günü izleyen ilaçsız RET₂ deneme periyodunda da azalma devam etti, fakat azalma anlamlı bulunamadı (Şekil 9).

Deneyden 1 saat önce OXT ve fragmanlarını enjekte ettiğimiz hayvanların cevaplarını incelediğimizde ise şu sonuçları elde ettik.

OXT (25, 50, 100, 200 µg/kg) verilen farelerde, cevapların SF verilen kontrol grubuna göre daha düşük olduğu tesbit edildi (Şekil 9).

OXT (4-9) (25, 50, 100, 200 µg/kg) verilen hayvanların cevaplarının da kontrole göre daha düşük olduğu gösterildi (Şekil 10). 25 ve 50 µg/kg OXT (4-9) verilen gruplarda birbirini izleyen tüm günlerde azalmanın anlamlı olduğu bulundu. 200 µg/kg OXT (4-9) uygulanan grupta ise 2 ve 3 günlerdeki azalmanın istatistiksel olarak kontrole göre anlamlı olduğu tesbit edildi (Tablo 1). Bu durum kazanılan cevapların kontrole göre giderek kaybolduğunu (sönme) göstermektedir.

OXT (5-8) (100, 200 µg/kg) verilen hayvan gruplarında ise; 100 µg/kg OXT (5-8) enjekte edilenlerden elde edilen cevaplar kontrolden farklı bulunmadı ancak 200 µg/kg OXT (5-8) enjeksiyonu yapılanlarda cevaplar kontrolden daha düşüktü ve bu gruptaki cevapların, birbirini izleyen deney günlerinin hepsinde de istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı tesbit edildi (Şekil 11) (Tablo 1).

3) Retansiyon 2 ve retansiyon 3 testleri:

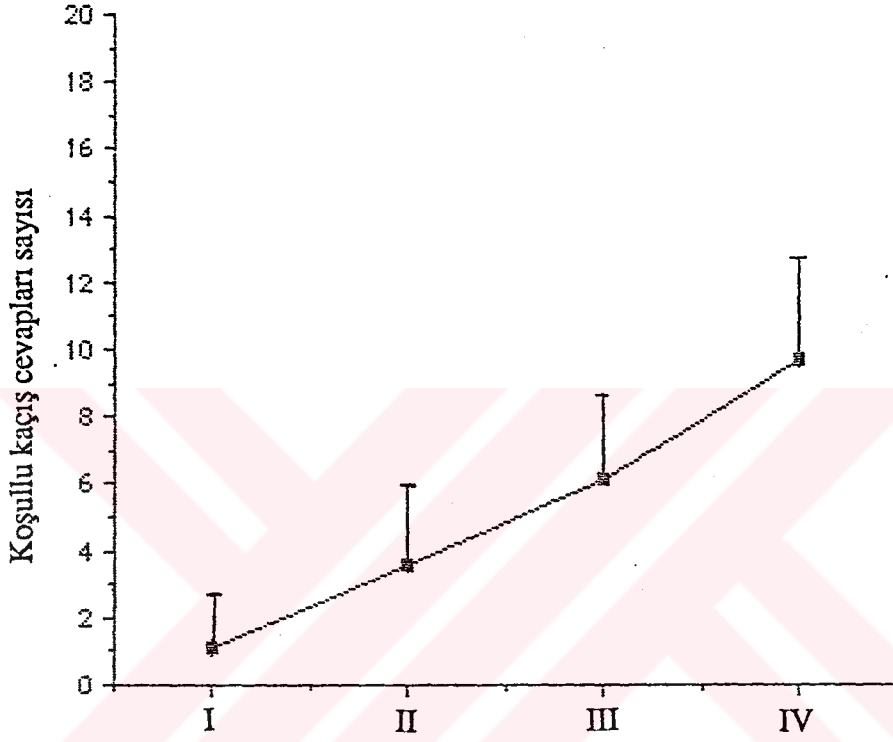
Sönme deneyini takiben (ilaç vermeden) kalan cevabın korunup korunmadığı da incelendi. Buna göre şu sonuçlar elde edildi.

RET₂-RET₃ gruplarında elde edilen cevaplar karşılaştırıldığında, SF verilen kontrol gruplarında cevabın istatistiksel olarak anlamlı ($P < 0.01$) bir şekilde arttığı tesbit edildi (Şekil; 12, 13 ve 14). İlaçlı diğer grupların cevapları incelendiğinde ise cevaplarda artma olmadığı, sönmenin devam ettiği bulundu.

OXT ve OXT (4-9) verilen hayvanlarda RET₃'ün tüm cevapları kontrole göre anlamlı olarak düşüktü (Şekil 12) ve (Şekil 13).

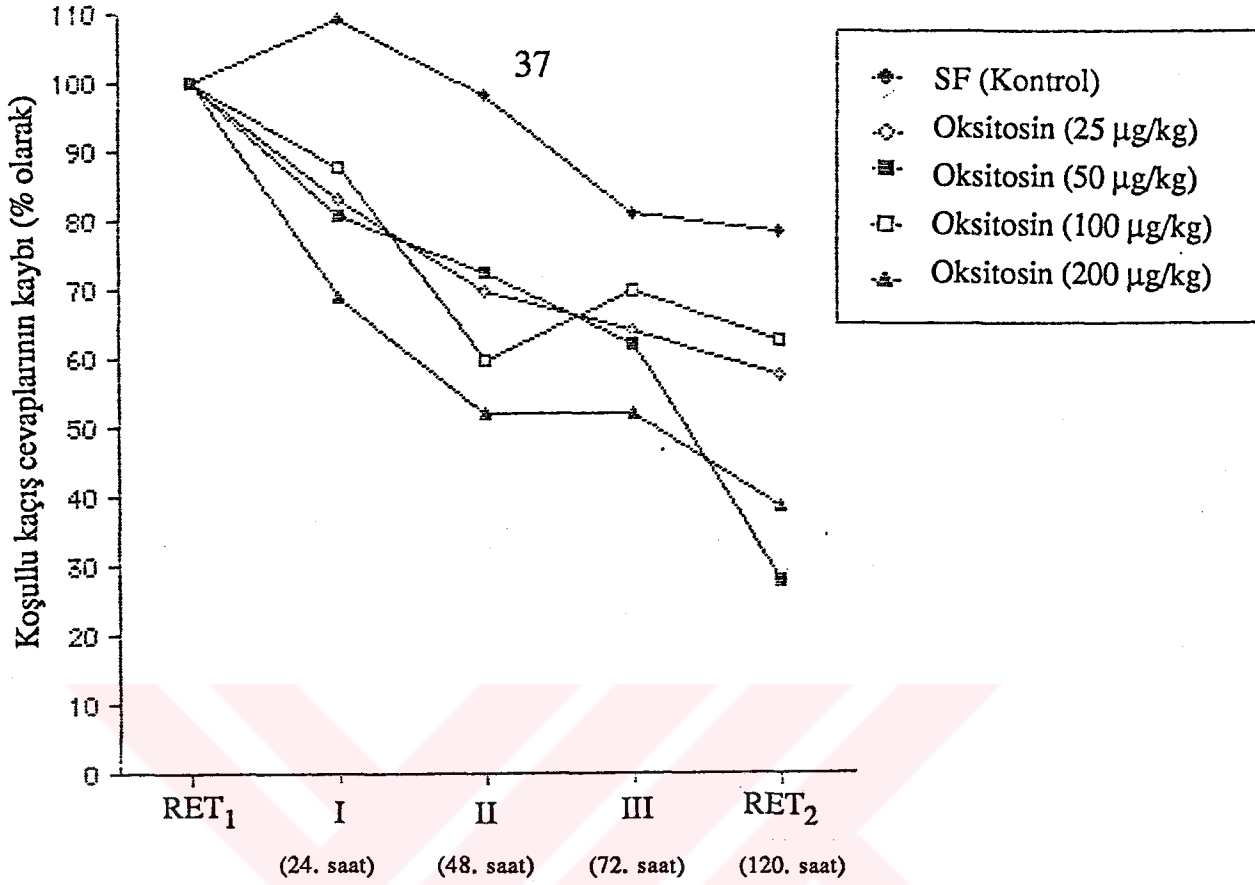
OXT (5-8)'de ise, sadece 200 µg/kg doz kullanılanlarda cevapta anlamlı ($P < 0,01$) bir azalma tesbit edildi (Şekil 14).

Tüm sonuçlarda, cevaplarda azalma tesbit edilmesine rağmen doz cevap ilişkisi lineer değildi.



Şekil 8: Koşullu kaçış cevaplarının öğrenilmesi

Yatay eksen I, II, III ve IV. sayıları birbirini takip eden eğitim günlerini ifade etmektedir. Her gün, 20 denemelik bir dönem uygulanmış olup, her değer 12 hayvanın ortalamasını temsil etmektedir. (Değerler üzerindeki dikey çizgiler ortalamaların standart sapmalarını göstermektedir.)



Şekil 9. Oksitosinin farklı dozlarının kazanılan davranışın kaybedilmesi (sönme,extinction) üzerine etkileri:

Yatay eksen:

(RET₁) Daha önce eğitilmiş olan tüm hayvanlar 10 gün sonra deneye alındılar ve kazanmış oldukları avoidance cevaplar tekrar değerlendirildi. (RET₁ bütün gruplarda 100 olarak alındı.)

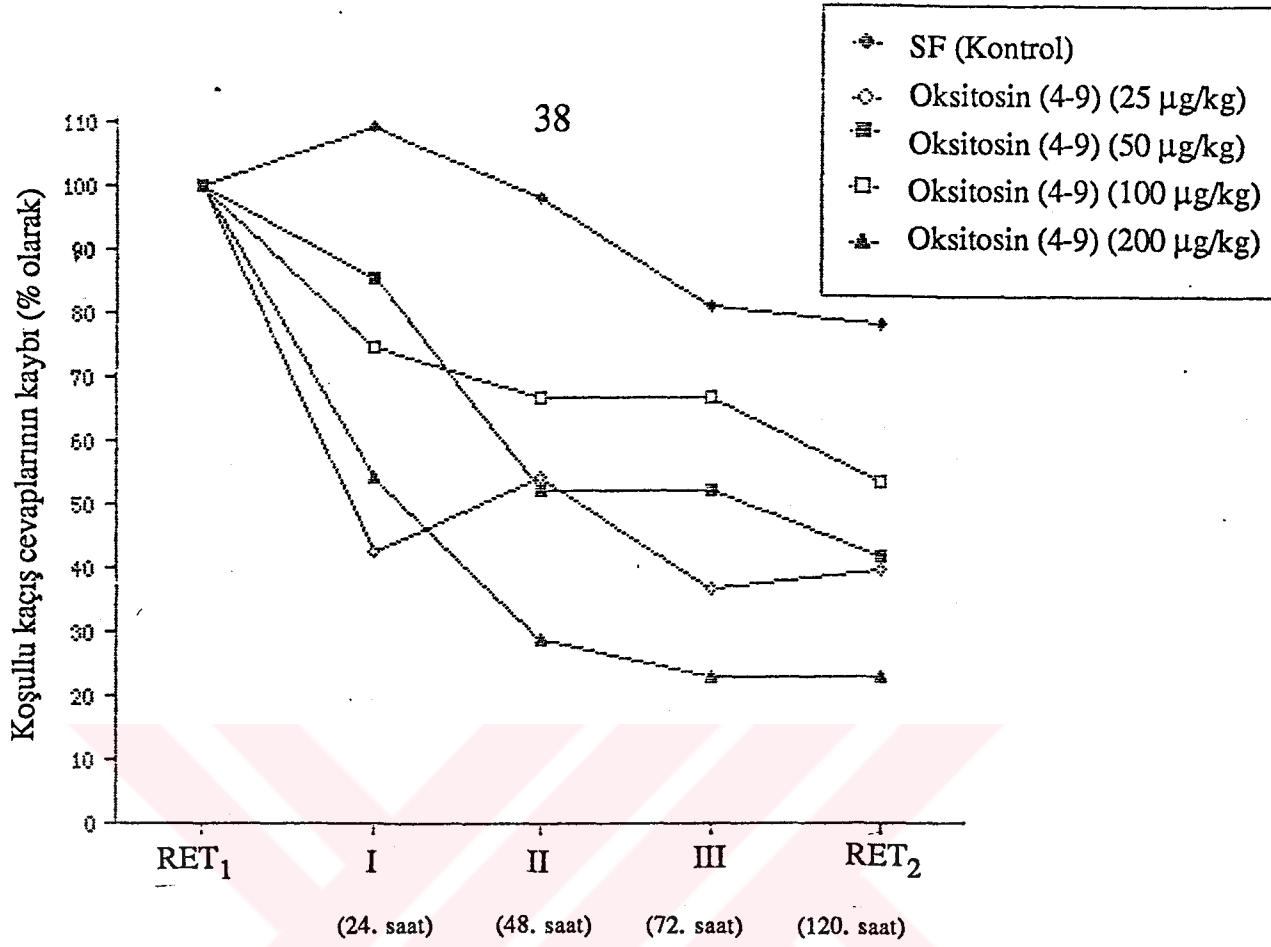
(I, II, III) Birbirini takip eden herbiri 20 deneme (trial) den oluşan deney gün ve saatlerini göstermektedir. Her deneyden 1 saat önce enjeksiyon yapıldı.

(RET₂) Hayvanlar, 48 saat bekletildikten sonra OXT verilmeden VI. gün tekrar deneye alındılar. Her cevap, 8 hayvanın verdikleri cevap ortalamasının yüzdesini temsil etmektedir.

Dikey eksen:

Şartlı kaçış cevaplarındaki azalma % olarak tesbit edildi.

İstatistiksel değerlendirme Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı ve Tablo 1'de "p" değerleri gösterildi.



Şekil 10. Oksitosinin farklı dozlarının kazanılan davranışın kaybedilmesi (sönme, extinction) üzerine etkileri:

Yatay eksen:

(RET₁) Daha önce eğitilmiş olan tüm hayvanlar 10 gün sonra deneye alındılar ve kazanmış oldukları avoidance cevaplar tekrar değerlendirildi. (RET₁ bütün gruplarda 100 olarak alındı.)

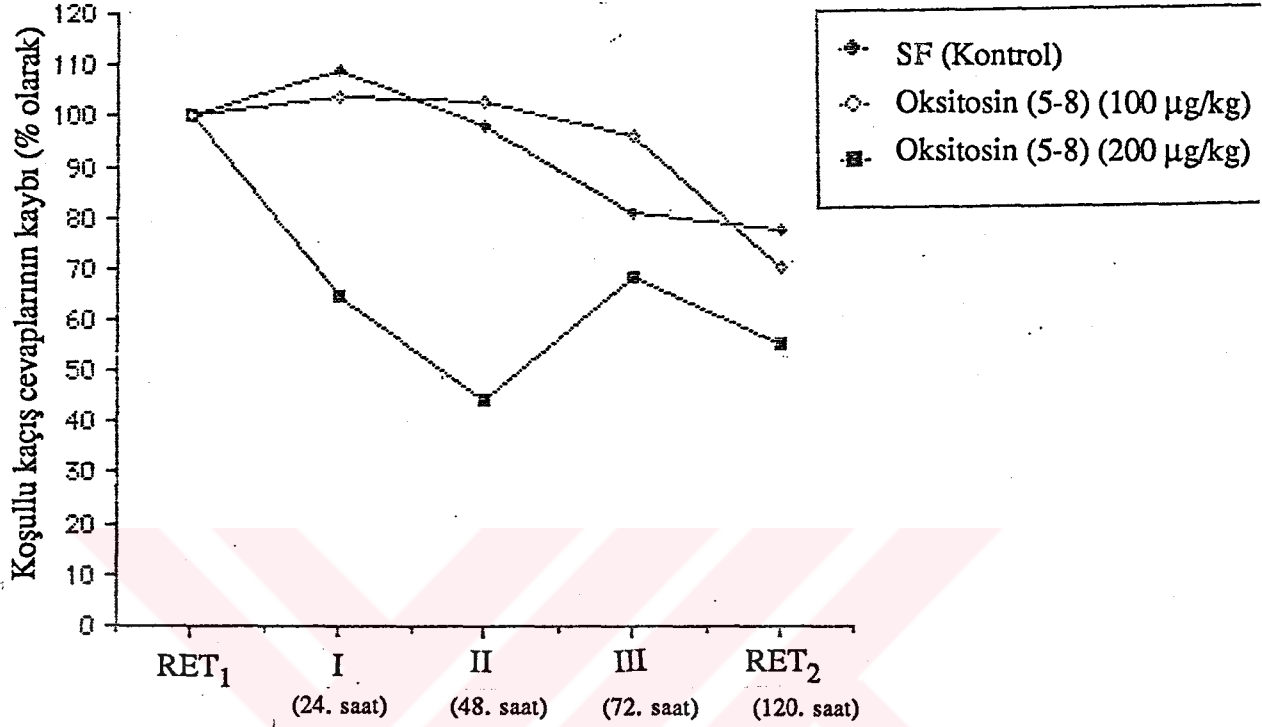
(I, II, III) Birbirini takip eden herbiri 20 deneme (trial) den oluşan deney gün ve saatlerini göstermektedir. Her deneyden 1 saat önce enjeksiyon yapıldı.

(RET₂) Hayvanlar, 48 saat bekletildikten sonra OXT verilmeden VI. gün tekrar deneye alındılar. Her cevap, 8 hayvanın verdikleri cevap ortalamasının yüzdesini temsil etmektedir.

Dikey eksen:

Şartlı kaçış cevaplarındaki azalma % olarak tesbit edildi.

İstatistiksel değerlendirme Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı ve Tablo 1'de "p" değerleri gösterildi.



Şekil 11. Oksitosinin farklı dozlarının kazanılan davranışın kaybedilmesi (sönme, extinction) üzerine etkileri:

Yatay eksen:

(RET₁) Daha önce eğitilmiş olan tüm hayvanlar 10 gün sonra deneye alındılar ve kazanmış oldukları avoidance cevaplar tekrar değerlendirildi. (RET₁ bütün gruplarda 100 olarak alındı.)

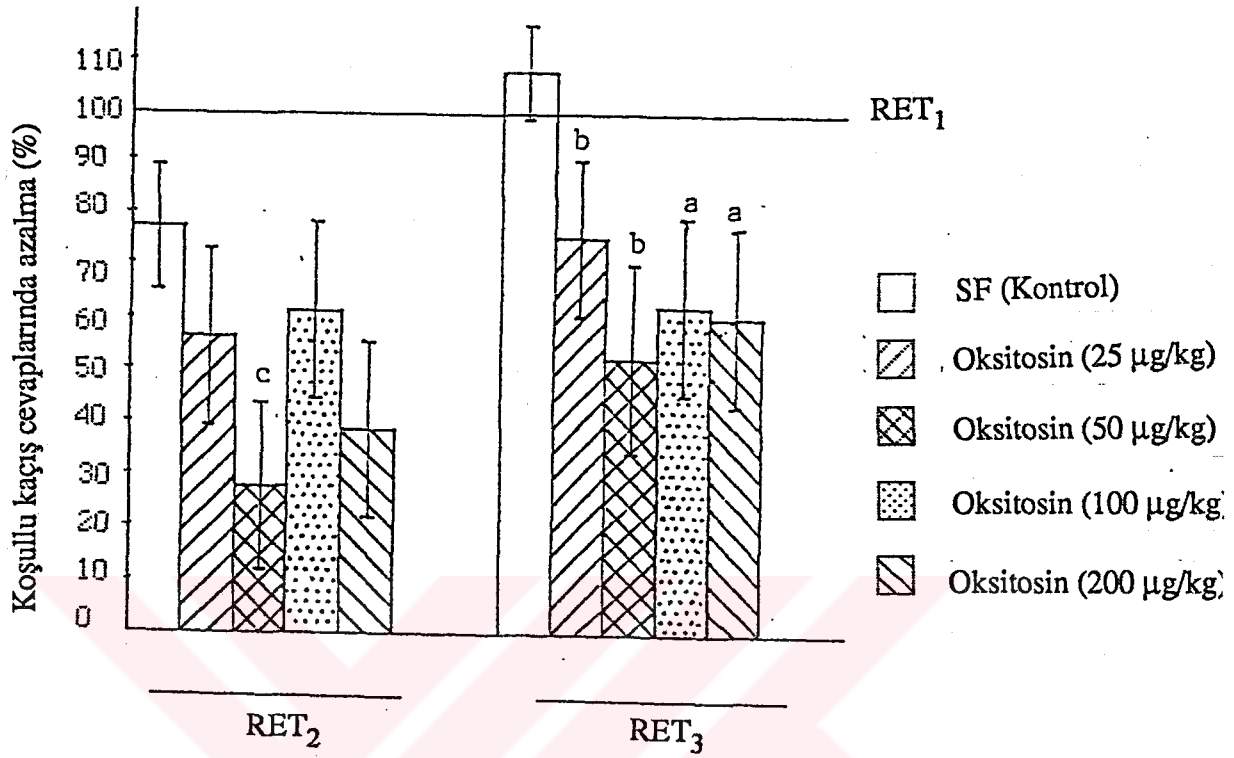
(I, II, III) Birbirini takip eden herbiri 20 deneme (trial) den oluşan deney gün ve saatlerini göstermektedir. Her deneyden 1 saat önce enjeksiyon yapıldı.

(RET₂) Hayvanlar, 48 saat bekletildikten sonra OXT verilmeden VI. gün tekrar deneye alındılar. Her cevap, 8 hayvanın verdikleri cevap ortalamasının yüzdesini temsil etmektedir.

Dikey eksen:

Şartlı kaçış cevaplarındaki azalma % olarak tesbit edildi.

İstatistiksel değerlendirme Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı ve Tablo 1'de "p" değerleri gösterildi.



Şekil 12: Sönme deneyini takiben kalan cevabın saklanması

Yatay eksen:

(RET₁) Eğitilmiş (öğrenmiş) hayvanların cevap ortalamaları yüz olarak kabul edilip, şekilde yatay bir çizgiyle gösterilmiştir.

(RET₂) OXT nin farklı dozları verilerek 3 gün sönme deneyine tabi tutulan hayvanların ilaçları kesildikten ve 48 saat ara verildikten sonra, ilaçsız olarak, yapılan deneyin sonuçlarını göstermektedir.

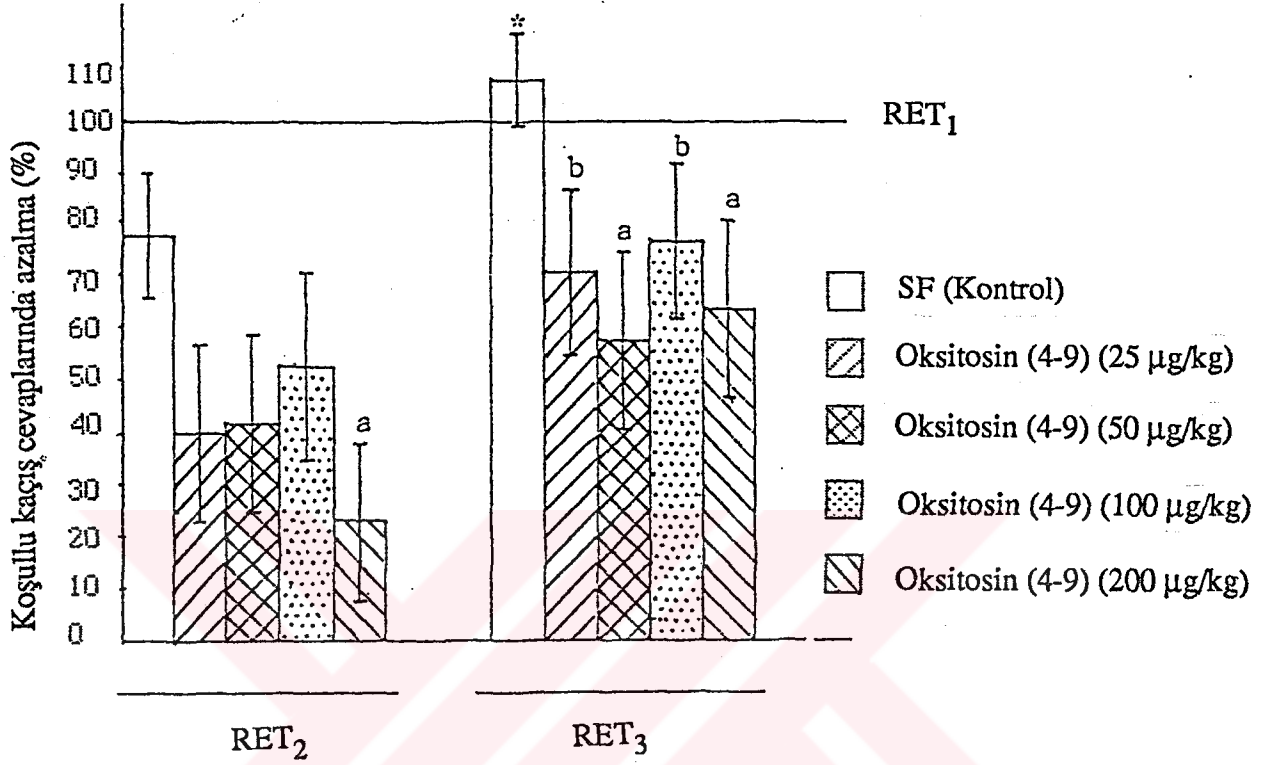
(RET₃) 24. saat sonra şartlı kaçış cevaplarının (avoidance) öğretilmesinde kullanılan ışık (cs- conditioned stimulus) ve elektrik şoku (us- unconditioned stimulus) ikilisi uygulanarak ilaç kullanılmadan yapılan deneyin sonuçlarını göstermektedir.

- İstatistiksel değerlendirme, yüzdeler arası farkın önem kontrolüne göre "t testi" ile yapıldı.

- (a) $P < 0,01$
- (b) $P < 0,02$
- (c) $P < 0,05$

- Kolonlar üzerinde standard hataları dikey çizgiler olarak verilmiştir.

- (*) RET₂ ve RET₃ mukayesesi yapıldığında anlamlı artma ($P < 0,01$) olanlar.



Şekil 13: Sönme deneyini takiben kalan cevabın saklanması

Yatay eksen:

(RET₁) Eğitilmiş (öğrenmiş) hayvanların cevap ortalamaları yüz olarak kabul edilip, şekilde yatay bir çizgiyle gösterilmiştir.

(RET₂) OXT (4-9)'un farklı dozları verilerek 3 gün sönme deneyine tabi tutulan hayvanların ilaçları kesildikten ve 48 saat ara verildikten sonra, ilaçsız olarak yapılan, deneyin sonuçlarını göstermektedir.

(RET₃) 24. saat sonra şartlı kaçış cevaplarının (avoidance) öğretilmesinde kullanılan ışık (cs-conditioned stimulus) ve elektrik şoku (us-unconditioned stimulus) ikilisi uygulanarak ilaç kullanılmadan yapılan deneyin sonuçlarını göstermektedir.

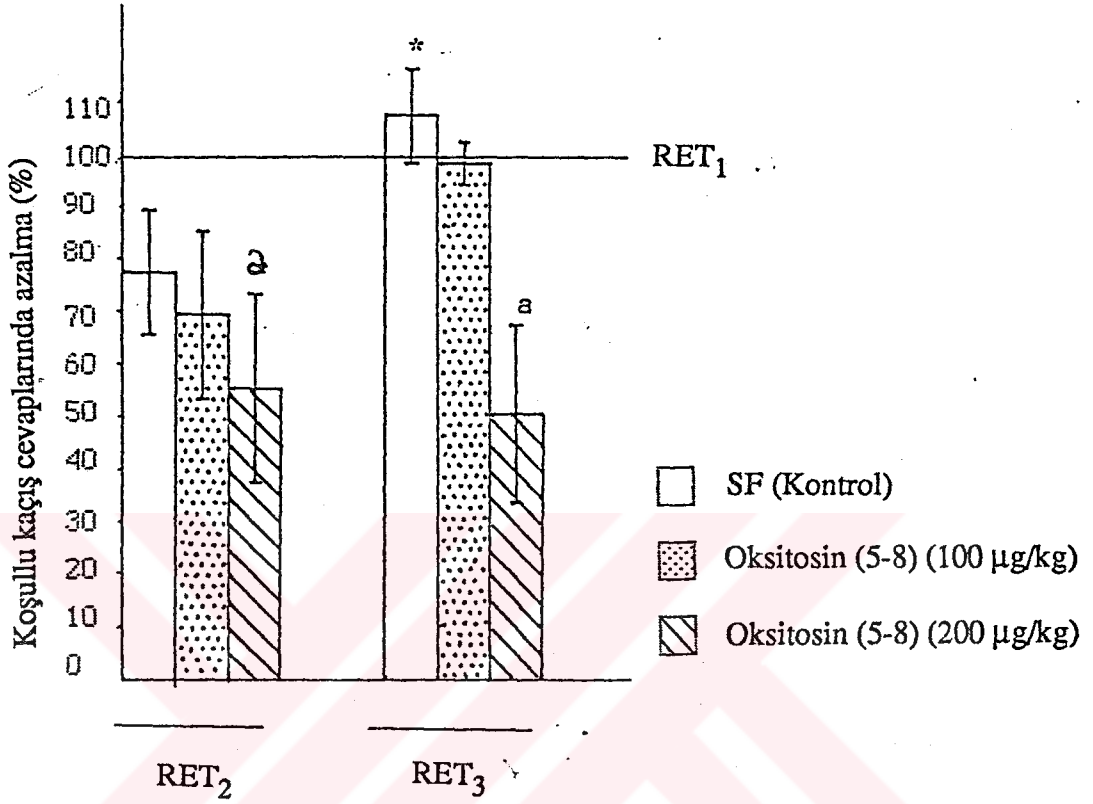
- İstatistiksel değerlendirme, yüzdeler arası farkın önem kontrolüne göre "t testi" ile yapıldı.

(a) $P < 0,01$

(b) $P < 0,02$

- Kolonlar üzerinde standard hataları dikey çizgiler olarak verilmiştir.

- (*) RET₂ ve RET₃ mukayesesi yapıldığında anlamlı artışa ($P < 0,01$) olanlar.



Şekil 14: Sönme deneyini takiben kalan cevabın saklanması

Yatay eksen:

(RET₁) Eğitilmiş (öğrenmiş) hayvanların cevap ortalamaları yüz olarak kabul edilip, şekilde yatay bir çizgiyle gösterilmiştir.

(RET₂) OXT (5-8)'in farklı dozları verilerek 3 gün sönme deneyine tabi tutulan hayvanların ilaçları kesildikten ve 48 saat ara verildikten sonra, ilaçsız olarak yapılan, deneyin sonuçlarını göstermektedir.

(RET₃) 24. saat sonra şartlı kaçış cevaplarının (avoidance) öğretilmesinde kullanılan ışık (cs-conditioned stimulus) ve elektrik şoku (us-unconditioned stimulus) ikilisi uygulanarak ilaç kullanılmadan yapılan deneyin sonuçlarını göstermektedir.

- İstatistiksel değerlendirme, yüzdeler arası farkın önem kontrolüne göre "t testi" ile yapıldı.

(a) $P < 0,01$

- Kolonlar üzerinde standard hataları dikey çizgiler olarak verilmiştir.

- (*) RET₂ ve RET₃ mukayesesi yapıldığında anlamlı artma ($P < 0,01$) olanlar.

TABLO 1: Oksitosin ve fragmanlarının farklı dozlarının sönme üzerine etkileri
(ortalama $\pm$ standart sapma)

Maddeler	Dozları	*Sönmenin I. gün sonuçları (24 saat)	*Sönmenin II. gün sonuçları (48 saat)	*Sönmenin III. gün sonuçları (72 saat)	* RET 2 (120 saat)
Serum Fizyolojik (SF)		9,917 $\pm$ 5.931	8.917 $\pm$ 5.195	7.333 $\pm$ 4.735	7.083 $\pm$ 5.884
Oksitosin	25 μ g/kg	9.290 $\pm$ 5.392	7.750 $\pm$ 6.430	7.125 $\pm$ 7.472	6.375 $\pm$ 5.951
	50 μ g/kg	10.625 $\pm$ 4.470	9.500 $\pm$ 5.656	8.125 $\pm$ 5.194	3.625 $\pm$ 3.662
	100 μ g/kg	9 $\pm$ 6.347	6.125 $\pm$ 4.051	7.125 $\pm$ 5.357	6.375 $\pm$ 5.290
	200 μ g/kg	9.125 $\pm$ 5.194	6.875 $\pm$ 5.083	6.875 $\pm$ 4.94	5.125 $\pm$ 2.800
Oksitosin (4-9)	25 μ g/kg	3.625 $\pm$ 4.104 ^b	4.625 $\pm$ 3.962 ^c	3.125 $\pm$ 3.4 ^b	3.375 $\pm$ 4.069
	50 μ g/kg	5.125 $\pm$ 3.226 ^b	3.125 $\pm$ 2.295 ^a	3.125 $\pm$ 3.563 ^b	2.5 $\pm$ 2.507 ^b
	100 μ g/kg	8.375 $\pm$ 5.344	7.5 $\pm$ 7.290	7.5 $\pm$ 5.425	6.0 $\pm$ 6.525
	200 μ g/kg	5.875 $\pm$ 6.813	3.125 $\pm$ 2.748 ^b	2.5 $\pm$ 2.070 ^a	2.5 $\pm$ 2.268
Oksitosin (5-8)	100 μ g/kg	9.625 $\pm$ 5.097	9.5 $\pm$ 6.782	8.875 $\pm$ 3.907	6.5 $\pm$ 3.220
	200 μ g/kg	4.375 $\pm$ 3.503 ^b	3.0 $\pm$ 2.619 ^b	4.625 $\pm$ 3.543 ^d	3.75 $\pm$ 3.808 ^d

* Deneyden 1 saat önce enjeksiyon yapıldı.

• 48 Saat bekletildikten sonra ilaç verilmeden deneye alındılar.

Serum fizyolojikle (S.F.) karşılaştırılan değerlerin anlamlılık dereceleri:

a $p < 0.001$

b $p < 0.01$

c $p < 0.02$

d $p < 0.05$

İstatistiksel değerlendirme Mann-Whitney U-testi ile yapıldı.

TARTIŞMA

Organizmanın homeostatik fonksiyonlarında hipofiz hormonlarının önemli bir role sahip oldukları yıllardan beri bilinmektedir. Bu hormonların periferik hedef dokular ile etkileşerek çeşitli endokrin aktiviteleri kontrol edebilmelerine ilave olarak, günümüzde yapılan çeşitli çalışmalarda gerek bu hormonların gerekse hipofiz hormonlarını kontrol eden hipotalamik nörohormonların çeşitli beyin bölgelerinde de bulundukları gösterilmiştir. Beyinde dağılımları, nöronal ve nöron dışı sentezlenmeleri, salınımları ve etkiledikleri reseptörlerin yoğun olarak araştırıldığı bu hipotalamik ve hipofizer hormonların çeşitli beyin fonksiyonlarını modüle edici rolleri üzerinde de son yıllarda önemle durulmakta ve bu konuda pek çok araştırma yapılmaktadır (11, 28, 51, 52, 54, 61).

Bilindiği gibi, öğrenme, öğrenilen bilgilerin bellekte saklanması ve gerektiğinde bunların yeniden kullanılmak üzere hatırlanma olayları, santral sinir sisteminin en önemli ve en karmaşık fonksiyonlarından birisi olup bu olayları düzenleyen fizyolojik mekanizmaların nasıl işlediği yapılan yoğun çalışmalara rağmen halen aydınlatılabilmiş değildir. Literatürde santral sinir sisteminde bulunan pek çok nörotransmitter ve/veya nöromodülatör maddenin bu olaylara katılabilmesi ile ilgili bir çok yayınlanmış bulgu mevcuttur. Örneğin katekolaminler, serotonin, histamin, asetilkolin gibi amin yapıda nörotransmitterlere ek olarak opioidler, ACTH, P maddesi, nöropeptid Y ve diğer peptidler ile, amino asit yapıda nörotransmitterlerin belirtilen olaylara katkısı ile ilgili çeşitli çalışmalar ve bulgular mevcuttur (40).

Son yıllarda nörohipofizden salgılanan ve periferik yapılardaki fizyolojik rolleri iyi bilinen vazopressin ve oksitosinin de bellek olayının düzenlenmesine katıldığı ve bu olayları modüle edebildiği hususu yoğun bir şekilde araştırılmakta ve bu konuda pek çok bulgu yayınlanmaktadır (7, 8, 11, 12, 15, 20, 21, 33, 35, 36, 43, 52, 53, 54, 56, 59). Gerek oksitosin gerekse vazopressin peptid yapıda maddeler olup, bunların nörohipofiz dışında beynin çeşitli bölgelerinde çeşitli nöronal yollarda sentezlenebildikleri ve buralardan salıverildikleri gösterilmiştir (28, 51, 61). İmmunohistokimyasal çalışmalar, oksitosinerjik yolların daha önce bilenenenden daha kompleks ve geniş olduğunu göstermiştir. Bu hormonu genel dolaşıma salgılayan klasik magnosellüler hipotalamonörohipofizeal sistem dışında esas olarak hipotalamusta bulunan ve aksonların posterior hipofiz bezinden başka yerlere de gönderen oksitosin üreten nöronlar bulunmaktadır. Bu nöronların bazıları median eminense nörosekresyon yapmakta ve diğerleri önbeyin, beyin sapı ve spinal ilik gibi ekstrapitotalamik yerlerdeki diğer nöronlarla bağlantı yapmaktadırlar. Paraventriküler nukleustan çıkan lifler ön beyinde, (korteks, medial septal alan, medial amigdala, santral, lateral, bazal talamus ve ventral hipokampusta), beyin sapında (substantia nigra, mezensefalik gri madde, dorsal raphe, parabrakial nukleus, raphe magnus, tractus solitarius, dorsal motor vagus, ambiguus) spinal ilikte (arka boynuz, lamina I, lamina X ve intermediolateral gri maddede) sonlanmaktadırlar (61).

Oksitosinin “avoidance behavior” ve dolayısıyla öğrenme üzerine etkileri ile ilgili birbirini tutmayan bulgular bildirilmiştir. Örneğin, Oksitosinin avoidance behavior’u etkilemediğini bildiren çalışmalar olduğu gibi (8, 12) sönmeyi inhibe edebildiğini gösteren (20) sönmeyi

hızlandırabildiğini gösteren (54) veya iki yönlü etki gösterdiğini bildiren (8, 21) çalışmalar da mevcuttur. Bulgulardaki bu farklılıklar oksitosinin verilen dozuna, veriliş şekline, deneylerde uygulanan test yöntemlerine bağlı olarak ortaya çıkabilir (21).

Bununla beraber, literatür verilerin tümü birlikte değerlendirildiğinde oksitosinin amnezik bir nöropeptid olduğu varsayımı daha önemle vurgulanmakta ve daha geçerli kabul edilmektedir (8, 11, 15, 21, 53, 54, 59). Bizim bulgularımız da bu hususu desteklemektedir. Gerçekten farklı dozlarda (25, 50, 100, 200 µg/kg) verilen oksitosinin doza bağımlı olmasa bile serum fizyolojik verilen kontrol grubuna oranla sönmeyi anlamlı bir şekilde hızlandırabildiği bulunmuştur. Buna ilaveten sönme deneyi uygulanan farelerin 3 gün sonra yeniden teste tabi tutulmaları halinde kontrol grubunda hatırlamanın (retrieval) düzelebilmesine karşılık oksitosin verilen grupta cevapların değişmediği, yani hatırlamanın da bozulduğu gözlenmiştir. Bu bulgular oksitosinin bellekte saklama ve pekiştirme olaylarını inhibe edebildiğini diğer bir deyimle amnezi oluşturabildiğini göstermektedir.

Santral sinir sisteminde bulunan çeşitli nöropeptidlerin sadece kendilerinin değil bazı fragmanlarının da ana peptidlerinkine benzer etkiler ortaya çıkarabildikleri gösterilmiştir. Çeşitli peptidlerin farklı fragmanlarının pek çoğu ana hormonun endokrin aktivitesini göstermemekle beraber, ana hormonunkinden farklı intrinsek aktivitelere de sahiptirler. Buna ilave olarak çeşitli fragmanlar ana hormonun endokrin etkiler dışındaki diğer etkilerini de paylaşabilmektedirler. Doğal yapısı 9 aminoasitli bir nonapeptid olan oksitosinin çeşitli peptid fragmanlarının da davranış üzerinde çeşitli etkiler oluşturabildikleri gösterilmiştir (11, 15,

21). Oksitosinin son 3 aminoasitini teşkil eden bir tripeptidin (H-Pro-Leu-Gly-NH₂) gerek davranış gerekse diğer santral sinir sistemi fonksiyonları (örneğin melanosit stimule edici hormon salgılanışı, inhibisyonu) üzerinde yoğun bulgular mevcuttur (9, 21, 55). Bunun dışındaki daha uzun zincirli diğer oksitosin fragmanları ile yapılan çeşitli çalışmalarda da gerek oksitosinin benzeri, gerekse fragmana özgü çeşitli santral etkiler tesbit edilebilmektedir. Avoidance davranışın çeşitli modelleri kullanılarak yapılan değişik öğrenme ve bellek fonksiyonu deneylerinde de bu farklı fragmanların bazılarının oksitosine benzer bazılarının ise oksitosinden farklı cevaplar oluşturabildikleri tesbit edilebilmektedir (11, 15, 21).

Diğer taraftan, santral sinir sisteminin çeşitli bölgelerinde bulunan peptidazların ana nonapeptid oksitosini, zincirin farklı yerlerinden parçalayarak çeşitli fragmanların lokal olarak oluşabilmelerine yol açabildiği de gösterilmiştir (11, 15). Bu durumda santral sinir sisteminden komplike fonksiyonların modülasyonunda oksitosinin tek başına ortaya çıkaracağı daha kaba ve çeşitli farklı etkinliklerin toplamının bir sonucu olan etkiden ziyade daha spesifik ve potent etkili küçük moleküllerin katkıda bulunabilmesi ihtimali gerçeğe daha yakın görülmektedir. Bununla beraber çeşitli oksitosin fragmanları ile yapılan deneyler "avoidance behavior"un çeşitli tipleri üzerinde her zaman aynı sonucu vermemektedir. Örneğin OXT (1-8), OXT (4-9), OXT (4-8), OXT (5-8), OXT (5-9) fragmanlarının öğrenme periyodundan sonra verilişleri ile "pasif avoidance" konsolidasyon ve hatırlama cevaplarının oksitosin ile ortaya çıkan cevaplara benzer şekilde azaldıkları tesbit edilmiştir (11, 15, 21). Buna karşılık aktif avoidance modeli kullanıldığında ise OXT (4-9), OXT

(5-9) fragmanlarının yüksek dozlarda sönmeyi inhibe ettikleri küçük dozlarda ise hızlandırdıkları gösterilmiştir (21). Bizim bulgularımız da yukarıdaki çalışmalarda elde edilen sonuçları kısmen desteklemektedir. Bulgular bölümünde gözlenebileceği gibi OXT (4-9) fragmanı bütün dozlarda sönme (extinction) deneylerinde gözlenen sönmeyi anlamlı olarak artırmaktadır. İlaveten hatırlamanın test edildiği RET₃ deneylerinde de cevapların SF kontrollerine göre anlamlı olarak düşük bulunuşu hatırlama fonksiyonunun da bozulmuş olduğunu göstermektedir. Buna karşılık OXT (5-8)'in kullanıldığı deneylerde bizim kullandığımız 100 µg/kg dozlarında sönmede herhangi bir hızlanma oluşmamış, buna karşılık hatırlamanın da bozulmamış olduğu tesbit edilmiştir. OXT (5-8)'in, yüksek dozda (200 µg/kg) kullanılmasında ise cevapların diğer fragmana (OXT 4-9) benzer şekilde oluştuğunun görülmesi oksitosinin belirtilen etkisinin güçlenmesinde 9 numaralı amino asitin oldukça önemli bir rolü olabileceğini göstermektedir. Diğer bir deyimle 9 numaralı amino asidin (Glisin) kaldırılması etki gücünün azalmasına yol açmaktadır (21).

Deneylerimizde ölçtüğümüz parametrelere ait etkilerin santral sinir sistemine ait etkiler oluşları cilt altı yolu ile verdiğimiz peptidlerin beyine geçip geçmediği sorusunu da akla getirebilir. Kan-beyin engeli çeşitli maddelerin periferik dolaşımdaki ve beyindeki seviyeleri arasındaki ilişkiyi tayinde çok önemli bir rol oynamaktadır. Çeşitli peptidlerin kan-beyin engelini doyurulabilir taşıma sistemleri ile geçebilmeleri muhtemeldir (3). Gerek oksitosinin gerekse daha küçük fragmanların bugün henüz tanımlanamamış mekanizmalar ile beyine taşınabildikleri gösterilmiştir (3). Bununla beraber peptid taşıyıcı sistemlerin tam bir selektivite gösterememeleri, muhtelif peptidlerin taşıyıcı sistem için birbirleri ile yarışmalarının muhtemel olduğunu da düşündürmektedir. Bu durum

peptidlerin beyinde ulaştıkları düzeylerin periferik dolaşımdaki düzeyleri ile tam paralel olmamasına yol açabilmekte ve bizim deneylerimizde de ortaya çıkan doza bağımsız cevapların görülmesine yol açabilmektedir (3).

Öğrenme ve bellek olaylarının santral sinir sisteminde pek çok nörotransmitter ve/veya nöromodülatör bileşiğinin kontrolü altında bulunduğu bilinmektedir. Bu durumda belirtilen olayların fizyolojik kontrolünde tek bir maddenin tek başına rolü olduğunu söyleyebilmek mümkün değildir. Bu fonksiyonların düzenlenmesinde pek çok nöronal yol ve nöronal aracı integre bir şekilde çalışmaktadır. Oksitosin ve/veya fragmanlarının da tek başlarına değil diğer nöral bileşiklerle etkileştikleri muhakkaktır. Bu tür etkileşimler oksitosin için çok iyi incelenmemiş olmakla beraber oksitosinin yüksek dozlarda vazopressin V_1 reseptörlerini de uyarabildikleri, oksitosin taşıyan nöronların terminallerinde opioid kappa reseptörlerinin bulunabildiği oksitosin etkilerinin opioidler ile modüle edilebileceğini, veya oksitosinin vazopressinin etkilerini modüle edebileceğini göstermektedir. Özellikle opioidderjik sistemlerin katekolaminerjik ve kolinerjik sistemleri de modüle edebileceği dikkate alındığında oksitosin ile elde edilen sonuçların karmaşıklığı ve neden her zaman sabit bulgular elde edilemeyişi daha kolay anlaşılabilir (39, 57, 60).

Sonuç olarak; bizim bulgularımız, oksitosin kullandığımız deneysel modellerde amnezi oluşturabildiğini, aynı etkinin OXT (4-9) fragmanında daha güçlü ve OXT (5-8) fragmanında daha zayıf olarak bulunduğunu göstermiştir. Bu husus oksitosine ait ve beyinde de doğal olarak bulunduğu tesbit edilen fragmanların fizyolojik kontrolden daha çok sorumlu olabileceklerini ve oksitosin reseptörleri ile etkileşerek sonuç cevabın oluşturulmasında 9 numaralı amino asit olan “glisinamid” terminalinin çok önemli olduğunu telkin etmektedir.

ÖZET

Oksitosinin iyi bilinen periferik etkilerine ek olarak öğrenme ve bellek olaylarında da bir role sahip olduğu görülmektedir. Hipotalamustan orijin alıp ekstrapotalamik beyin alanlarına projekte olan ve oksitosin yapan nöronların bu olaylarla ilgili mekanizmalara nörotransmitter ve/veya nöromodülatör olarak katılmaları söz konusudur. Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalar, nörohipofizeal hormonların davranışla ilgili yerler olan limbik yapılara etki ettiklerini ortaya çıkarmıştır.

Ayrıca santral sinir sisteminde bulunan çeşitli nöropeptidlerin bazı fragmanlarının da ana peptidlerine benzer veya farklı etkiler ortaya çıkarabildikleri gösterilmiştir. Doğal yapısı 9 aminoasitli bir nonapeptid olan oksitosinin de çeşitli fragmanlarının davranış üzerinde etkiler oluşturabildikleri gösterilmiştir.

Deneylerimiz, öğrenilmiş davranışın unutulması (sönme) üzerine amnezik bir peptid olarak kabul edilen oksitosinin ve fragmanlarının ne yönde etkili olabileceği araştırılmak amacıyla yapılmıştır.

Bizim bulgularımız da oksitosinin amnezik bir nöropeptid olduğu varsayımını desteklemektedir. Deneylerimizde 25-50-100-200 µg/kg dozlarda verilen oksitosin ve fragmanları serum fizyolojik verilen kontrol grubuna oranla sönmeyi anlamlı bir şekilde hızlandırmıştır. Ayrıca sönme deneyi uygulanan fareler 3 gün sonra US+CS uygulanarak tekrar test edildiklerinde (RET₃) kontrol grubunda hatırlamanın düzelebilmesine karşılık oksitosin verilen grupta hatırlamanın da bozulduğu gözlenmiştir.

Oksitosin (4-9) fragmanı bütün dozlarda sönmeyi anlamlı olarak artırmıştır. Hatırlamanın test edildiği RET₃ deneylerinde de cevapların kontrole göre anlamlı olarak düşük bulunuşu hatırlama fonksiyonunun da bozulmuş olduğunu göstermiştir.

Oksitosin (5-8) 100 µg/kg dozda uygulandığında sönmede hızlanma olmamış ve hatırlama da bozulmamıştır. Oksitosin (5-8), yüksek dozda (200 µg/kg) uygulandığında ise cevaplar OXT (4-9)'unkine benzer şekilde oluşmuştur.

Bu durum, oksitosinin etkisinde 9 numaralı aminoasit olan glisin'in oldukça önemli bir rolü olabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak oksitosinin amnezi oluşturabildiği, bu etkinin OXT (4-9) fragmanında daha güçlü ve OXT (5-8) fragmanında daha zayıf olduğu bulunmuştur.

KAYNAKLAR

- 1) **ADACHI T., HISANO S., DAIKOKU S.,** Intragranular Colocalization of Immunoreactive methionine-enkephalin and oxytocin within the nerve terminals in the posterior pituitary. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry 33, 891-899, (1985).
- 2) **AYHAN, S.,** Sentetik met-enkefalin benzeri fk 33824'ün sıçanlarda şartlı kaçış cevapları (conditioned avoidance response) kazanılmasına etkisi, Ankara Tıp Bülteni, Vol. 6, 177-188, (1984).
- 3) **BANKS, W. A., KASTIN, A.J.,** Saturable transport of peptides across the blood-brain barrier. Life Sciences, Vol. 41, 1319-1338, (1987).
- 4) **BERNE, R.M., LEVY, M.N.,** Neural Plasticity, Physiology, Editör: Berne, R.M., Levy, M.N., C.V. Mosby Company, 297-311, (1988).
- 5) **BERNE, R.M., LEVY, M.N.,** The Hypothalamus and the Pituitary Gland, Physiology, Editör: Berne, R.M., Levy, M.N., C.V. Mosby Company, 895-931,(1988).
- 6) **BİLGE, M.,** Fizyolojik Hormonlar Bilgisi, Güven Kitabevi Yayınları, 80, Ankara, (1979).
- 7) **BOHUS, B., KOVÁCS, G.L., DE WIED, D.,** Oxytocin, vasopressin and memory: opposite effects on consolidation and retrieval processes. Brain Research, 157, 414-417, (1978).

- 8) BOHUS, B., URBAN, I., VAN WIMERSIMA GREIDANUS, T., DE WIED, D., Opposite effects of oxytocin and vasopressin on avoidance behaviour and hippocampal theta rhythm in the rat. *Neuropharmacology*, 17, 239-247, (1978).
- 9) BOUSFIELD, D., SOFRANIEW, M.V., *Neurotransmitters in Action, Vasopressin and oxytocin in the mammalian brain and spinal cord*, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, New York, Oxford, 329-338, (1985).
- 10) BROWNSTEIN, M., Biosynthesis of vasopressin and oxytocin. *Ann. Rev. Physiol*, 45, 129-135, (1983).
- 11) BURBACH, J., PETER, H., BOHUS, B., KOVÁCS, G.L., VAN NISPEN, J.W., GREVEN, M.H., Oxytocin is a precursor of potent behaviourally active neuropeptides. *European Journal of Pharmacology*, 54, 125-131, (1983).
- 12) DE WIED, D., Long term effect of vasopressin on the maintenance of a conditioned avoidance response in rats. *Nature*, 232, 58-60, (1971).
- 13) DE WIED, D., Peptides and Behavior. *Life Sciences* 20, 195-204, (1977).
- 14) DE WIED, D., VAN KEEP, P.A., *Hormones and The Brain*, Mather Bros (Printens) Ltd., Preston, England, 87-100, 103-107, (1980).

- 15) DE WIED, D., GAFFARI, D., BURBACH, P.H., KOVÁCS, G.L., VAN REC, J.M., Structure activity relationship studies with C-terminal fragments of vasopressin and oxytocin on avoidance behaviors of rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 241, 268-274, (1987).
- 16) DORSA, D.M., Neurohypophyseal Hormones, Text of Physiology, Editör: Patton, H.D., Fuchs, A.F., Hille, B., Scher, A.M., Steiner, R., W.B. Saunders Company, 1173-1183, (1989).
- 17) DRAGO, F., PEDERSON, C.A., CALDWELL, J.D., PRANGE, A.J., Oxytocin potently enhances novelty induced grooming behavior in the rat. *Brain Research*, 368, 287-295, (1986).
- 18) ELANDS, J., BARBERIS, C., JARD, S., TRIBOLLET, A., DREIFUSS, J., BANKOWSKI, K., MANNING, M., SAWYER, W.H., I-labelled $d(CH_2)_5[Tyr(Me)^2, Thr^4, Tyr NH_2^9]$ OVT: a Selective Oxytocin receptor ligand. *European Journal of Pharmacology*, 147, 197-207, (1987).
- 19) ELANDS, J., BARBERIS, C., JARD, S., $[^3H]$ - $[Thr^4, Gly^7]$ OT: a highly Selective ligand for central and peripheral OT receptors. *Am. J. Physiol.* 254, E31-E38, (1988).
- 20) FERRIER, B.M., KENNEL, D.J., DEVLIN, M.C., Influence of oxytocin on human memory processes. *Life Sciences*, 27, 2311-2317, (1980).

- 21) GAFFORI, D.J.W., DE WIED, D., Bimodal effect of oxytocin on avoidance behavior may be caused by the presence of two peptide sequences with opposite action in the same molecule. *European Journal of Pharmacology*, 147, 157-162, (1988).
- 22) GANONG, W.F., Central Regulation Visceral Function, Review of Medical Physiology, Prentice-Hall International Inc., 191-211, (1989).
- 23) GÖKHAN, N., ÇAVUŞOĞLU, H., KAYSERİLIOĞLU, A., Öğrenme ve Bellek, İnsan Fizyolojisi, Sermet Matbaası, Cilt I, 485-491, İstanbul, (1983).
- 24) GREER, E.R., CALDWELL, J.D., JOHNSON, M.F., PRANGE, A.J., PEDERSEN, C.A., Variations in concentration of oxytocin and vasopressin in the paraventricular nucleus of the hypothalamus during the estrous cycle in rats. *Life Sciences*, 38, 2311-2318, (1986).
- 25) GUYTON, A.C., Serebral Korteks ve Beynin Entellektüel Fonksiyonları, Textbook of Medical Physiology (Tıbbi Fizyoloji), Editör: Guyton, A.C., Merk Yayıncılık, Saunders , 935-953, İstanbul, (1986).
- 26) GUYTON, A.C., Hipofiz Hormonları ve Hipotalamus Tarafından Denetlenmeleri, Textbook of Medical Physiology, Editör: Guyton, A.C., Merk Yayıncılık, Saunders , 1275-1291, (1986).
- 27) GUYTON, A.C., Gebelik ve Laktasyon, Textbook of Medical Physiology, Editör: Guyton, A.C., Merk Yayıncılık, Saunders , 1423-1442, İstanbul, (1986).

- 28) HASHIMATO H., FUKUI, K., NOTO, T., MAKAJIMA, T., KATO, N., Distribution of vasopressin and oxytocin in rat brain. *Endocrinol. Japon.*, 32, 89-97, (1985).
- 29) IVERSEN, S.D., IVERSEN, L.L, Behavioral Pharmacology, Oxford University Press, 3-57, (1975).
- 30) JACQUET, Y.F., β -endorphin and ACTH-opiate peptides with coordinated roles in the regulation of behaviour, *Trends in Neurosci.*, 2, 140-143, (1979).
- 31) KALTWASSER, Maria-Th., CRAWLEY, J.N., Oxytocin and cholecystokinin induce grooming behavior in the ventral tegmentum of the rat. *Brain Research*, 426, 1-7, (1987).
- 32) KAYAALP, O., Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Ulucan Matbaası, Cilt 3, 2498, Ankara, (1986).
- 33) KENNETT, D.J., DEVLIN, M.C., FERRIER, B.M., Influence of oxytocin on human memory processes: Validation by a control study. *Life Sciences*, 31, 273-275, (1982).
- 34) KING, M.G., BROWN, R., KUSNECOV, A., An increase in startle response in rats administered oxytocin. *Peptides* 6, 567-568, (1985).
- 35) KOVÁCS, G.L., VÉCSEL, L., TELEGDY, G., Opposite action of oxytocin to vasopressin in passive avoidance behavior in rats. *Physiology a Behavior*, 20, 801-802, (1978).

- 36) KOVÁCS, G.L., BOHUS, B., VERSTEEG, D.H.G., KLOET, E.R., DE WIED, D., Effect of oxytocin and vasopressin on memory consolidation: Sites of action and catecholaminergic correlates after local microinjection into limbic-midbrain structures. *Brain Research*, 175, 303-314, (1979).
- 37) KRIEGER, D.T., Brain peptides: What, Where and Why? *Science*, 222, 975-985, (1983).
- 38) KUPFERMANN, I., Learning, Principles of Neural Science, Editor: Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Elsevier Science Publishing Co. Inc., 570-579, (1983).
- 39) MAYSIGNER, D., VERIMES, I., TILDERS, F., SEIZINGER, B.R., GRAMSCH, C., HOLLT, V., HERZ, A., Differential effects of various opioid peptides on vasopressin and oxytocin release from the rat pituitary in vitro. *Narzyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 328, 191-195, (1984).
- 40) MC GAUGH, J.L., Involvement of hormonal and neuromodulatory systems in the regulation of memory storage. *Ann. Rev. Neurosci*, 12, 255-87, (1989).
- 41) MOOS, F., FREUND-MERCIER, M.J., GUERNÉ, Y., GUERNÉ, J.M., STOECKEL, M.E., RICHARD, P.H., Release of oxytocin and vasopressin by magnocellular nuclei in vitro: specific facilitatory effect of oxytocin on its own release. *J. Endocr.*, 102, 63-72, (1984).

- 42) MURRAY, K., Operant Conditioning, Methods in Psychophysiology, Editör: Brown, C.C., The Williams and Wilkins Co., 291-310, (1968).
- 43) NICOLAIDES, E.D., TIMEY, F.J., KALTENBRONN, J.S., REPINE, J.T., DE JOHN, D.A., LUNNEY, E.A., REARK, W.H., MARRIOT, J.G., DAVIS, R.E., WIGTMAN, R.E., Modified Di and tripeptides of the C-Terminal portion of oxytocin and vasopressin as possible cognition activation agents. J. Med. Chem., 29, 959-971, (1986).
- 44) SAHGAL, A., WRIGHT, C., Chace, as opposed to latency measures in avoidance suggest that vasopressin and oxytocin do not affect memory in rats. Neuroscience Letters, 48, 299-304, (1984).
- 45) SHELDON, M.N., Analysis of Behavioral Change, Editör: Weiskrantz, L., Harper and Row Publ., 127-157, (1968).
- 46) SCHMIDT, R.F., Integrative Functions of the Central Nervous System. Human Physiology, Editör: Schmidt, R.F., Thews, G., Springer-Verlag, (1989).
- 47) SILBERNAGL, S., DESPOPULOS, A., Fizioloji Atlası, 275, (1985).
- 48) SMITH, M.S., Lactation, Textbook of Physiology, Editör: Patton, H.D., Fuchs, A.F., Hille, B., Scher, A.M., Steiner, R., W.B., Saunders Company, 1408-1421, (1989).

- 49) THOMPSON, T., SCHUSTER, C.R., Behavioral Pharmacology, Prentice-Hall Publ. Co., 65-136, (1968).
- 50) TIETZ, N.W., Textbook of Clinical Chemistry, Saunders Company, 1839, (1986).
- 51) VALIQUETTE, G., HALDAR, J., ABRAMS, G.M., MILAVER, G., ZIMMERMAN, E.A., Extrahypothalamic neurohypophysial peptides in the rat central nervous system. Brain Research, 331, 176-179, (1985).
- 52) VAN REE, J.M., BOHUS, B., VERSTEEG, D.H.G., DE WIED, D., Neurohypophyseal principles and memory processes. Biochemical Pharmacology, 27, 1793-1800, (1978).
- 53) VAN WIMERSMA GREIDANUS, Tj.B., JOLLES, J., DE WIED, D., Hypothalamic Neuropeptides and Memory. Acta Neurochirurgica, 75, 99-105, (1985).
- 54) VAN WIMERSMA GREIDANUS, Tj.B., BURBEACH, J.R.H., VELDHUIS, H.D., Vasopressin and oxytocin their presence in the central nervous system and their functional significance in brain processes related to behavior and memory. Acta Endocrinologica Suppl. 276, 85-94, (1986).
- 55) WALTER, R., HOFFMAN, P.L., FLEXNER, J.B., FLEXNER, L.B., Neurohypophyseal hormones analogs and fragments, Their effect on puromycin induced amnesia, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 72, 4180-4184, (1975).

- 56) WALTER, R., VAN REE, J.M., DE WIED, D., Modification of conditioned behavior of rats by neurohypophyseal hormones and analogues, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 75, 2493, (1978).
- 57) WAMMACK, R., RACKÉ, K., Endogenous opioid inhibition of the release of oxytocin from the isolated rat neurohypophysis during high-frequency stimulation of the pituitary stalk. *Neuroscience Letters*, 92, 114-118, (1988).
- 58) YAMANO, M., BAI, F., TOHYAMA, M., SHIOTANI, Y., Ultrastructural evidence of direct synaptic contact of catecholamine terminals with oxytocin-containing neurons in the parvocellular portion of the rat hypothalamic-paraventricular nucleus. *Brain Research*, 336, 176-179, (1985).
- 59) ZAGER, E.L., BLACK, P.McL., Neuropeptides in human memory and learning processes. *Neurosurgery*, 17, 355-369, (1985).
- 60) ZHAO, B.G., CHAPMAN, C., BICKNEL, R.J., Functional K-opioid receptors on oxytocin and vasopressin nerve terminals isolated from the rat neurohypophysis. *Brain Research*, 462, 62-66, (1988).
- 61) ZIMMERMAN, E.A., NILAVER, G., HOU-YU, A., SILVERMAN, A.S., Vasopressinergic and oxytocinergic pathways in the central nervous system. *Federation Proc.* 43, 91-96, (1984).