

Agmatinin Kognitif Fonksiyonlara Etkisinin Araştırılması

Nimet Işıl Bozkurt¹, Tijen Utkan², Feyza Arıcıoğlu¹

¹Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı ve Psikofarmakoloji Araştırma Birimi, Haydarpaşa, İstanbul-Türkiye
²Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı ve Deneysel Tıp Araştırma Birimi, Umuttepe, Kocaeli-Türkiye

Yazışma Adresi / Address reprint requests to: Feyza Arıcıoğlu
Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı ve Psikofarmakoloji Araştırma Birimi, Haydarpaşa, 34668, İstanbul-Türkiye
Telefon / Phone: +90-216-418-9573 Faks / Fax: +90-216-345-2952 Elektronik posta adresi / E-mail address: feyza.aricioğlu@gmail.com
Kabul tarihi / Date of acceptance: 18 Mayıs 2011 / May 18, 2011

ÖZET:

Agmatinin kognitif fonksiyonlara etkisinin araştırılması

Amaç: Öğrenme ve bellek bozuklukları; yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen birçok hastalıkla primer veya sekonder olarak ilişkilidir. Bu çalışmada; agmatinin kognitif fonksiyonlar üzerine olası etkisi araştırılmıştır.

Yöntem: Sıçanlarda amnezi ve stres modelleri kullanılarak kognitif fonksiyonların bozulması sağlandıktan sonra agmatin uygulanmıştır. Amnezi oluşturmak için kolinerjik muskarinik reseptör blokleri skopolamin kullanılmış, hayvanlar kontrol, skopolamin ve skopolamin+agmatin olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna, serum fizyolojik, skopolamin grubuna 1 mg/kg skopolamin, skopolamin+agmatin grubuna 1 mg/kg skopolamin ve 20 dk sonra 40 mg/kg agmatin intraperitoneal (i.p.) olarak uygulanmıştır. Stres oluşturmak için ise hayvanlar 14 gün süreyle günde 4 saat immobilizasyona maruz bırakılmıştır. Bu modeldeki hayvanlar kontrol, stres ve stres+agmatin olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Stres uygulamasının ardından kontrol ve stres gruplarına, s.f., stres+agmatin grubuna ise 40 mg/kg agmatin uygulanmıştır. Hayvanlar, son enjeksiyondan 30 dk sonra öğrenme ve bellek fonksiyonları değerlendirilmek üzere Morris'in su tankı ve pasif sakınma testlerine alınmıştır.

Bulgular: Çalışmamızda agmatin tedavisinin hem skopolamin, hem de stres ile bozulmuş kognitif fonksiyonlarda anlamlı bir düzelmeye sağladığı gösterilmiştir.

Sonuç: Bu bulgulardan hareketle, agmatinin bozulmuş öğrenme ve bellek fonksiyonlarına olumlu katkılarının olabileceği ve ayrıca endojen bir madde olarak kognitif fonksiyonların düzenlenmesinde önemli rolü olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: Agmatin, amnezi, bellek, öğrenme, skopolamin

ABSTRACT:

Investigating the effect of agmatine on cognitive functions

Objective: Learning and memory disorders are associated primary or secondary with many disease which affect the quality of life negatively. In this study, possible effect of agmatine on cognitive functions has been investigated.

Methods: Agmatine was applied after the disruption of cognitive functions by using amnesia or stress models in Wistar Albino rats. Muscarinic cholinergic receptor blocker scopolamine was used to create amnesia. In this model rats have been divided into 3 groups as control, scopolamine and scopolamine+agmatine. Control group has received saline, scopolamine group 1 mg/kg scopolamine, scopolamine+agmatine group 1mg/kg skopolamine and 20 min later 40 mg/kg agmatine intraperitoneally (i.p.). Animals were exposed to immobilization in order to create stress for 14 days, 4 hours per day. In this model, rats were divided into three groups as control, stress and stress+agmatine. After stress exposure saline was administered to control and stress groups and 40 mg/kg agmatine to stress+agmatine group. Animals were taken to Morris water maze and passive avoidance tests to evaluate learning and memory functions 30 min after the last injections.

Results: In our study, it has been shown that agmatine treatment significantly improved learning and memory impairment induced by both scopolamine or stress.

Conclusion: Based on these findings, it is thought that agmatine may have a positive effect on learning and memory functions, and also may play an important role in regulation of cognitive functions as an endogenous substance.

Key words: Agmatine, amnesia, memory, learning, scopolamine

GİRİŞ

Öğrenme ve bellek, çevreden gelen uyarıların değerlendirilmesi ve uygun davranışların geliştirilmesi

gibi temel zihinsel süreçleri düzenler. İnsanlar gerçekleştirdikleri her işlemde bilinçli veya bilinçsiz olarak bellek işlevlerine başvururlar. Bu nedenle bu işlevler birçok nörobilimcinin merak konusu olmuştur (1). Kognitif

bozuklukla; başta demans ve Alzheimer hastalığı olmak üzere; şizofreni, depresyon, anksiyete, uyku bozuklukları, dikkat eksikliği ve hiperaktivite, madde bağımlılığı gibi birçok durumla ilişkilendirilmektedir (2-4). Bu bozukluklar, demans ve Alzheimer hastalığında primer patolojiyi oluşturmaktadır. Alzheimer hastalığının erken dönemlerinde ortaya çıkan kognitif bozulmalar, episodik bellek ve uzamsal oryantasyon yeteneğinde gerileme ile başlar (2). Primer bozukluğun öğrenme ve bellek sorunları olmadığı pek çok durum da söz konusudur. Birçok psikiyatrik durumda ise hastalığın sebebi veya belirtileri arasında yer almaktadır (5).

Öğrenme ve bellek, çok sayıda anatomik bölgenin katılımıyla düzenlenen beynin sorumlu olduğu temel fonksiyonlardandır (1). Klinik ve deneysel çalışmalarda, bellekle ilgili temel anatomik bölgelerin medial temporal lob ve prefrontal korteks olduğu gösterilmiştir (6). Bunun yanında çeşitli kortikal, subkortikal ve medial temporal lob yapılarının fonksiyonel organizasyonunun insan ve hayvanlarda farklı bellek türlerinde etkili olduğu düşünülmektedir (7). Bu anatomik bölgelerde rolü olduğu bilinen başta kolinerjik ve glutamaterjik sistem olmak üzere birçok nörotransmitter sistem etkileşim halindedir ve birbirleri üzerinde düzenleyici fonksiyonları bulunmaktadır (8). Günümüze kadar, gerek kognitif fonksiyonları daha iyi anlamak gerekse bozulması durumunda iyileştirmek amacıyla bu yapılar ve nörotransmitter sistemleri üzerinden etki gösteren çeşitli maddeler ile çalışmalar yapılmıştır. Bu konuda bilinenlere ek olarak son yıllarda yeni bir modülden söz edilmektedir (9). Agmatin olarak adlandırılan bu madde imidazolin reseptörlerinin agonistidir. N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin kalsiyum (Ca^{2+}) kanallarını, nikotinik kolinerjik ve serotonerjik 5-HT₃ reseptörleri gibi iyonotropik reseptör kanallarını bloke ettiği bildirilmiştir. Ayrıca nitrik oksit sentazı (NOS) inhibe ederek nitrik oksit (NO) oluşumunu kontrol eden endojen bir maddedir (10,11). Agmatinin çoğu merkezi sinir sistemi üzerine olmak üzere birçok etkisi gösterilmiştir. Adrenal medulla'nın kromafin hücrelerinden adrenalin ve noradrenalin salımını, pankreasın adacık hücrelerinden insülin salımını, hipotalamustan lüteinleştirici hormon salgılatıcı hormon ve gastrin sekresyonunu uyarır, vazopressin salımını inhibe eder (10,11). Morfine tolerans gelişimini engellediği, morfin yoksunluk sendromunun tüm semptomlarını bastırdığı gösterilmiştir (12-14). Akut ağrı modellerinde hem

spinal hem de supraspinal düzeyde analjezi sağladığı, nöropati gibi ağrı modellerinde termal ve mekanik hiperaljeziyi azalttığı, antienflamatuar ve ayrıca morfinin oluşturduğu analjezik etkiyi potansiyelize ettiği gösterilmiştir (15,16). Antikonvülsan (17), anksiyolitik, anti-stres ve anti-depresan (18,19) etki potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir.

Yapılan çalışmalar agmatinin öğrenme ve bellek süreçlerinde doğrudan veya dolaylı rol alabileceğini düşündürmektedir (8, 9,120). Morris'in su tankı gibi, uzamsal belleğin değerlendirildiği testlerde bellek ile ilişkili bölgeler olan hipokampus, entorinal korteks ve vestibüler nükleusta (9,21,22), hipokampusun CA1 alt ünitesinde stratum radiatum terminallerinde, agmatin seviyelerinin %85 oranında yükseldiği gösterilmiştir (19). Agmatin uygulamasının referans bellek üzerine bir etkisi olmadan belleği güçlendirdiği (9,21,22), ve öğrenme ve bellek fonksiyonları bozulmaksızın yapılan çalışmalarda agmatinin bu fonksiyonlar üzerine olası katkılarının gösterildiği çalışmalardır (23,24). Kognitif fonksiyonların bozulması durumunda agmatinin düzenleyici rolünün olup olmadığı ise bilinmemektedir. Bu nedenle kognitif fonksiyonların bozulduğu kabul edilen iki farklı hayvan modelinde agmatinin olası etkisinin araştırılması planlanmıştır. Bu amaçla ya muskarinik reseptör blokeri olan skopolaminle amnezi oluşturulmuş ya da tekrarlanan immobilizasyon stresi ile kognitif fonksiyonların bozulmasının ardından agmatin tedavisi uygulanarak etkinliği araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada Wistar Albino suşu dişi sıçanlar (250–300 g) kullanılmıştır. Deneyler süresince 12 saat aydınlık – 12 saat karanlık döngü içerisinde yem ve su alımları serbest bırakılarak, sıcaklığı sabit tutulan (21 ± 3 °C) odada barındırılmış ve davranış deneylerinden en az 24 saat önce deney odasına alınarak adapte olmaları sağlanmıştır. Tüm deneyler her gün aynı saatte gerçekleştirilmiştir. Çalışma protokolü Marmara Üniversitesi Deneysel Hayvanı Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Agmatin sülfat (Sigma) ve skopolamin hidroklorür (Sigma) serum fizyolojikte çözülerek hazırlanmış ve agmatin 40 mg/kg ve skopolamin 1 mg/kg dozlarında 0.1 ml/kg olacak şekilde ve i.p. olarak uygulanmıştır.

Amnezi grubu için hayvanlar kontrol, skopolamin ve

skopolamin + agmatin olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna (n=8) deneyden 30 dk önce 0.1 ml/kg hacimde serum fizyolojik, skopolamin grubuna (n=8) 1 mg/kg i.p. olarak skopolamin ve 20 dk sonra 0.1 ml/kg hacimde serum fizyolojik, skopolamin +agmatin grubuna (n=8) ise önce 1 mg/kg skopolamin ve 20 dk sonra 40 mg/kg agmatin i.p. olarak uygulanmıştır. Hayvanlar son enjeksiyonundan 30 dk sonra deney alınmıştır.

Stres grubu için hayvanlar kontrol, stres ve stres+agmatin olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu (n=8) deneylerden 30 dk önce 0.1 ml/kg serum fizyolojik uygulanmış, stres grubuna (n=8) 14 gün süreyle günde 4 saat immobilizasyon stresi ve davranış deneylerinden 30 dk önce serum fizyolojik uygulanmıştır. Stres + agmatin grubuna (n=8) ise 14 gün günde 4 saat immobilizasyon stresi ve davranış deneylerinden 30 dk önce 40 mg/kg agmatin uygulanmıştır.

Morris'in su tankı deneyi 160 cm çapında ve 50 cm derinliğinde, 30 cm yüksekliğine kadar sıcaklığı 25 ± 1 °C'de tutulan su ile doldurulmuş ve yüzeyi renkli plastik boncuklar kullanılarak opaklaştırılmış bir tank içinde yapılmıştır. Tankın bulunduğu odada üç farklı yönde duvarlara tanktaki suyun yüzeyinde bulunan sıçanın görebileceği şekilde resimler yerleştirilmiştir. Tank içerisine su seviyesinin 1 cm altında ve kadrardan birinin merkeze yakın bölümünde kalacak şekilde 12 cm çapında silindirik bir platform yerleştirilmiştir. Öğrenme deneyleri ardışık 4 günde yapılmış, sıçanlar her gün farklı yön kombinasyonları olacak şekilde, 4 farklı yönden, yüzleri tank duvarına dönük olacak şekilde 1'er defa suya bırakılmıştır. Platformu bulmaları için 90 saniye süre verilmiş bu sürede platformu bulamayan sıçanlar platforma konularak etrafı tanımaları için 20 saniye beklenmiştir. Her sıçan için platformu bulana kadar geçen toplam süre kaydedilmiştir. Belleğin değerlendirildiği 5. gün platform kaldırılarak hayvanlar tek yönden suya bırakılmış ve 90 saniyelik süre içerisinde platformun bulunduğu kadranda geçirdikleri süre kaydedilmiştir (25).

Pasif sakınma deneyi giyotin bir kapı ile ayrılmış biri aydınlık diğeri karanlık bölmeden oluşmuş bir düzende ardışık iki gün yapılmıştır. İlk gün, hayvanlar ilaç uygulanmaksızın aydınlık bölmeye konmuş, ortama alışması için 20 sn beklenmiştir. İki bölmeyi ayıran giyotin kapıdan hayvanın karanlık kısma geçmesi ve kapının kapanmasının ardından 3 sn süreyle 0,5 mA ayak şoku verilmesiyle sonlanmıştır. İkinci gün, hayvanlar ilaç uygulanarak aydınlık bölmeye

bırakılmış ve karanlık bölmeye geçmesi için 300 saniye beklenmiştir. Bu sürenin sonunda karanlık bölmeye geçmeyen hayvanlar öğrenmiş kabul edilmiş ve karanlık bölmeye bu süreden önce geçmeleri durumunda süre kaydedilmiştir (26).

Kronik immobilizasyon stresi, 14 gün boyunca, her gün aynı saatte başlanıp sonlandırılmak suretiyle, hayvanların 4 saat immobilizasyon kafeslerinde tutulmasıyla sağlanmıştır.

İstatistik Yöntemi

İstatistiksel değerlendirme tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve sonrasında Tukey's testi ile yapılmıştır. P değerinin 0.05'ten küçük olduğu durumlar anlamlı olarak kabul edilmiştir.

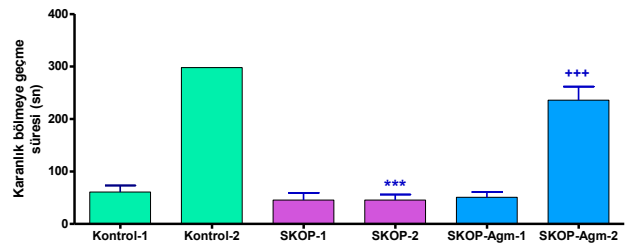
BULGULAR

1. Pasif sakınma testinin sonuçları

Bu deneyin sonuçları öğrenmenin sağlandığı birinci gün ve 24 saat sonra hem öğrenme hem de kısa süreli belleğin değerlendirildiği ikinci gün sonuçları şeklinde sunulmuştur.

A. Amnezi modeli sonuçları

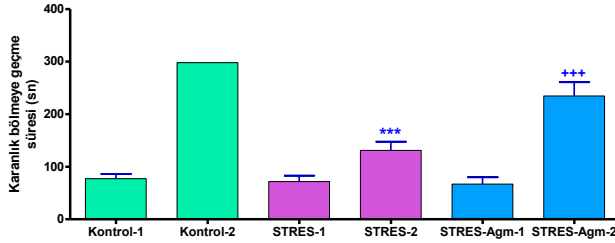
Birinci gün değerleri kontrol için $60,93\pm 32,97$ skopolamin grubu için $46,40\pm 36,32$ ve skopolamin+agmatin grubu için $50,86\pm 26,78$ idi. Asıl değerlendirmenin yapıldığı ikinci gün ise kontrol $299,0\pm 0,1$ iken skopolamin $45,63\pm 27,40$ ve skopolamin+agmatin grubu için $236,0\pm 68,1$ idi (Şekil 1).



Şekil 1: Amnezi grubunun pasif sakınma testinde 1. ve 2. gün sonuçları. Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. Her grupta n=8 ve ***, p < 0.001 Kontrol grubuna göre. +++, p < 0.001 skopolamin grubuna göre

B. Stres modeli sonuçları

Birinci gün değerleri kontrol için $47,90 \pm 18,98$ stres grubu için $42,21 \pm 20,93$ ve stres+agmatin grubu için $66,60 \pm 34,19$ idi. Asıl değerlendirmenin yapıldığı ikinci gün ise kontrol $298,80 \pm 0,0$, stres $131,10 \pm 43,56$ ve stres+agmatin $234,6 \pm 69,08$ idi (Şekil 2).



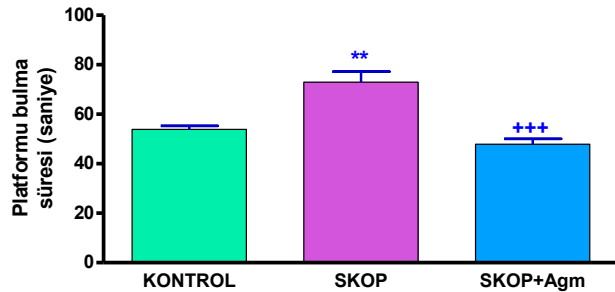
Şekil 2: Stres grubunun pasif sakınma testinde 1. ve 2. gün sonuçları. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. Her grupta $n=8$ ve ***, $p < 0.001$ Kontrol grubuna göre. +++, $p < 0.001$ stres grubuna göre

2. Morris'in su tankı testinin sonuçları

A. Amnezi grubu sonuçları

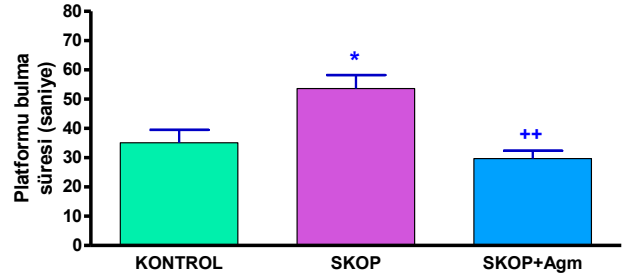
Bu deneyin sonuçları platform varlığında ardışık dört günün sonuçları ve platform olmaksızın yapılan beşinci günün sonuçları şeklinde ortalama \pm standart sapma olarak sunulmuştur.

1.gün: Kontrol grubunda tüm yönlerin birinci gün ortalaması $53,88 \pm 4,08$, skopolamin grubunun $72,99 \pm 16,92$ ve skopolamin+agmatin grubunda $47,74 \pm 5,72$ 'dir (Şekil 3).



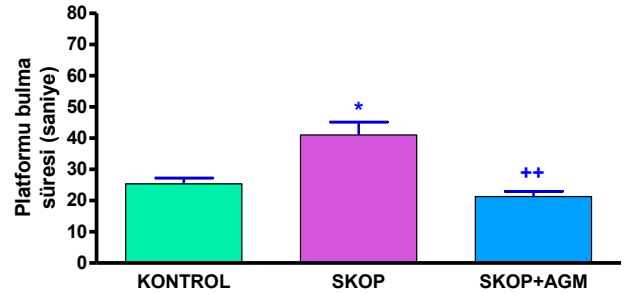
Şekil 3: Amnezi grubunda Morris'in su tankı testinde 1. gün ortalamaları. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. **, $p < 0.01$ Kontrol grubuna göre. +++, $p < 0.001$ skopolamin grubuna göre

2.gün: Kontrol grubunda tüm yönlerin ikinci gün ortalaması $35,62 \pm 11,71$, skopolamin grubunun $53,61 \pm 18,53$ ve skopolamin+agmatin grubunda $29,72 \pm 7,05$ dir (Şekil 4).



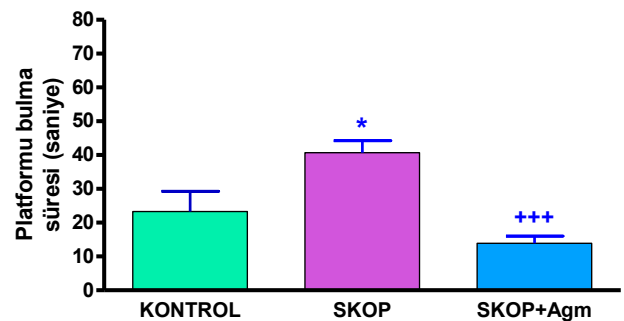
Şekil 4: Amnezi grubunda Morris'in su tankı testinde 2. gün ortalamaları. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. *, $p < 0.05$ Kontrol grubuna göre. ++, $p < 0.05$ skopolamin grubuna göre

3.gün: Kontrol grubunda tüm yönlerin üçüncü gün ortalaması $25,39 \pm 4,81$, skopolamin grubunun $41,05 \pm 15,315$ ve skopolamin + agmatin grubunda $21,31 \pm 4,44$ dir (Şekil 5).



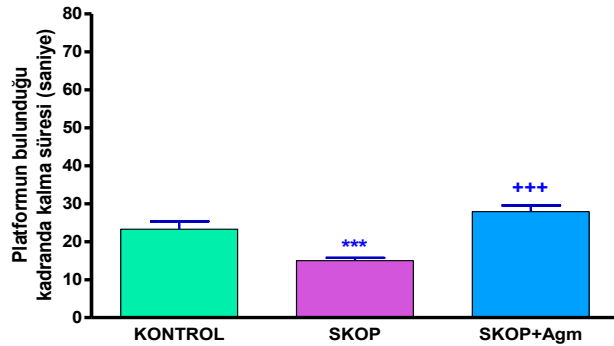
Şekil 5: Amnezi grubunda Morris'in su tankı testinde 3. gün ortalamaları. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. *, $p < 0.05$ Kontrol grubuna göre. ++, $p < 0.01$ skopolamin grubuna göre

4.gün: Kontrol grubunda tüm yönlerin dördüncü gün ortalaması $23,32 \pm 15,79$, skopolamin grubunun $40,68 \pm 14,68$ ve skopolamin+ agmatin grubunda $13,91 \pm 5,68$ dir (Şekil 6).



Şekil 6: Amnezi grubunda Morris'in su tankı testinde 4. gün ortalamaları. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. ***, $p < 0.001$ Kontrol grubuna göre. +, $p < 0.05$ skopolamin grubuna göre

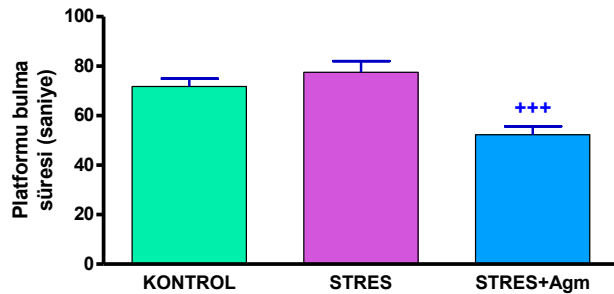
5.gün: Kontrol grubunda tek yön beşinci gün ortalaması $23,28 \pm 5,56$, skopolamin grubunun $14,99 \pm 3,19$ ve skopolamin + agmatin grubunda $27,93 \pm 4,28$ dir (Şekil 7).



Şekil 7: Amnezi grubunda Morris'in su tankı testinde 5. gün ortalamaları. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. ***, $p < 0.001$ Kontrol grubuna göre. +, $p < 0.05$ skopolamin grubuna göre

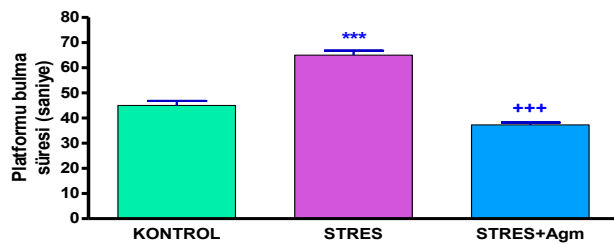
B. Stres grubu sonuçları

1.gün: Kontrol grubunda tüm yönlerin birinci gün ortalaması $71,13 \pm 14,12$, stres grubunun $75,56 \pm 9,84$ ve stres+ agmatin grubunda $49,14 \pm 4,56$ 'dir (Şekil 8).



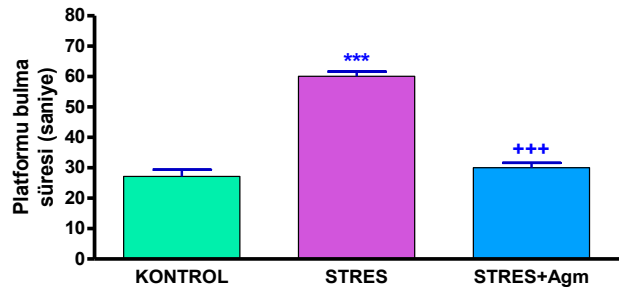
Şekil 8: Stres grubunda Morris'in su tankı testinde 1. gün ortalamaları. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. ***, $p < 0.001$ Kontrol grubuna göre. +, $p < 0.05$ skopolamine grubuna göre

2.gün: Kontrol grubunda tüm yönlerin ikinci gün ortalaması $45,00 \pm 4,47$, stres grubunun $65,00 \pm 4,47$ ve stres+ agmatin grubunda $37,33 \pm 8,25$ 'dir (Şekil 9).



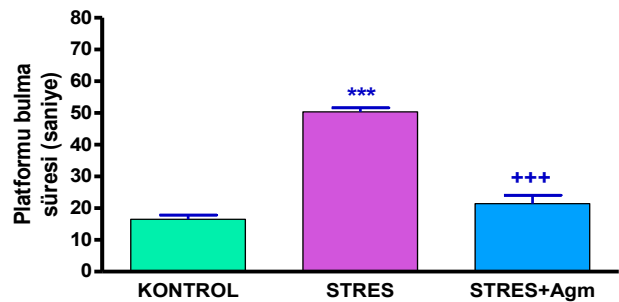
Şekil 9: Stres grubunda Morris'in su tankı testinde 2. gün ortalamaları. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. ***, $p < 0.001$ Kontrol grubuna göre. +, $p < 0.05$ stres grubuna göre

3.gün: Kontrol grubunda tüm yönlerin üçüncü gün ortalaması $27,14 \pm 5,81$, stres grubunun $60,07 \pm 15,315$ ve stres + agmatin grubunda $30,06 \pm 4,084$ 'dir (Şekil 10).



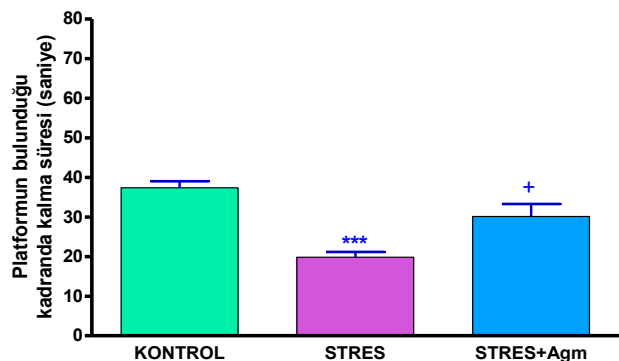
Şekil 10: Stres grubunda Morris'in su tankı testinde 3. gün ortalamaları. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. ***, $p < 0.001$ Kontrol grubuna göre. +, $p < 0.05$ stres grubuna göre

4.gün: Kontrol grubunda tüm yönlerin dördüncü gün ortalaması $16,48 \pm 3,51$, stres grubunun $50,35 \pm 3,21$ ve stres+ agmatin grubunda $21,47 \pm 6,89$ 'dir (Şekil 11).



Şekil 11: Stres grubunda Morris'in su tankı testinde 4. gün ortalamaları. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. ***, $p < 0.001$ Kontrol grubuna göre. +, $p < 0.05$ stres grubuna göre

5.gün: Kontrol grubunda tek yön beşinci gün ortalaması $37,41 \pm 4,42$, stres grubunun $19,85 \pm 3,25$ ve stres + agmatin grubunda $30,14 \pm 7,08$ 'dir (Şekil 12).



Şekil 12: Stres grubunda Morris'in su tankı testinde 5. gün ortalamaları. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. ***, $p < 0.001$ Kontrol grubuna göre. +, $p < 0.05$ stres grubuna göre

TARTIŞMA

Bu çalışmada deney hayvanlarında bozulmuş kognitif fonksiyonlar üzerine agmatinin olası etkisi araştırılmıştır. Agmatinin hem amnezi, hem de stres nedeniyle bozulmuş öğrenme ve bellek fonksiyonlarını anlamlı derecede düzelttiği gösterilmiştir.

Günümüze değin agmatinin kognitif fonksiyonları etkilediği fikrini destekleyen çalışmaların bulguları çelişkilidir. Eksojen agmatinin sistemik uygulandığı ilk çalışmada bir tür şartlı uyaran testinde kognitif fonksiyonları olumsuz yönde etkilediği, hatta amnezi oluşturduğu ileri sürülmüş (27), Morris'in su tankı testinde de benzer sonuçlar elde edilmiştir (28). Daha sonra yapılan çalışmalarda, inhibitör sakinme testinde agmatinin, morfin uygulaması ile bozulmuş kognitif fonksiyonlar bozukluğunda belleğin oluşumu ve geri çağırılması aşamasında düzelmeye sağladığı (29), daha önce iddia edilen aksine, hatırlamayı kolaylaştırdığı, bu etkiyi alfa-2 adrenoseptörler, imidazolin ve/veya NMDA reseptörleri ve NO inhibisyonu gibi farklı mekanizmalar üzerinden yapabileceği ileri sürülmüştür (30). Agmatinin i.c.v. olarak infüze edilmesi durumunda Morris'in su tankı, yükseltilmiş artı labirent ve açık alan testlerinde referans bellek üzerine bir etkisi olmadan belleği güçlendirdiği gösterilmiştir (31). Dört farklı davranışsal deney kullanılarak ve farklı sürelerde agmatin uygulandığında; çalışma belleği ve uzamsal bellek üzerine belirgin etkilerinin olduğu, ancak bu etkinin kullanılan yöntem ve ilaç uygulama süreleri ile değiştiği, ayrıca testin zorluğunun artması ile bilginin kaydedilmesi ve geri çağırılmasındaki etkisinin arttığı gösterilmiştir (32). Bu bilgilerden hareketle, eksojen agmatinin hem sistemik hem de lokal uygulamasının etkili olduğu söylenebilir. Bizim çalışmamızda da agmatinin etkilerini, öğrenme ve bellekle ilgili tüm anatomik bölgelerdeki değişiklikler ve mekanizmalar ile gözlemleyebilmek adına sistemik uygulama tercih edilmiştir. Bizim çalışmamızda da agmatinin kognitif fonksiyonları düzelttiği gösterilmiştir. Bu etkiyi hangi nörotransmitterler üzerinden gerçekleştirdiği özellikle öğrenme ve bellekte yer alan karmaşık mekanizmalar ve kompleks anatomik yapı göz önüne alındığında, elde ettiğimiz bulgular doğrultusunda net olarak ortaya konulamamaktadır, ancak glutamaterjik ve kolinerjik sistemlerin başlıca rolü üstlendiği düşünülebilir.

Kolinerjik sistemin bellek oluşumunun düzenlenmesinde önemli rol oynadığı, asetilkolin'in entorinal korteks ve hipokampusu da içeren birçok beyin bölgesinde LTP'yi artı-

arak bilginin kodlanmasını artırdığı, Alzheimer tipi senil demanslı ve presenil demanslı hastalarda yapılan postmortem incelemelerde, bazı beyin bölgelerinde (bazal ön beyin, serebral korteks gibi) asetilkolin ve kolin asetiltransferaz düzeyinin azalmış olduğu gösterilmiştir (33). Deney hayvanlarında kolonomimetik ilaçların öğrenmeyi, yani bilginin kaydedilmesini, pasif sakinmanın öğrenilmesini ve bilginin retansiyonunu kolaylaştırdığı, hem nikotinik hem de muskarinik asetilkolin reseptörlerinin yeni bilginin kodlanmasında görev aldığı bilinmektedir (34). Deney hayvanlarında, muskarinik reseptörler aracılığı ile oluşan septohipokampal kolinerjik yolağın, öğrenme ve kısa süreli bellek yönünden önemli olduğunu göstermiştir (35,36). Bazal ön beyinden köken alan kolinerjik sistemin neokorteks, hipokampal formasyon ve retiküler talamik nükleusa olan projeksiyonları ile kortikal aktivitede etkili olduğu; bu nedenle öğrenme bellek, dikkat fonksiyonları ve uyanıklık sırasındaki plastisite süreçlerini etkilediği düşünülmektedir. Kolinerjik projeksiyonlardaki hasar ile kognitif bozulmanın ciddiyeti arasında pozitif korelasyon olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (8). Muskarinik reseptörler; bilişsel işlevler, bellek ve öğrenme, uykunun düzenlenmesi ve duygudurumun belirlenmesinde rol oynar (37). Kolinerjik reseptörlerden özellikle muskarinik reseptör sayısının Alzheimer'in nedenlerinden biri olduğu bilinmektedir (38). Skopolamin gibi muskarinik reseptör blokerlerinin sağlıklı gönüllülerde bellek bozukluğu oluşturduğu ve bu bozukluğun Alzheimer hastalığı ile benzer özellikleri sahip olduğu da gösterilmiştir (33). Bu çalışmada kullanılan modellerden biri skopolamin ile oluşturulan amnezi modelidir. Skopolamin muskarinik reseptör antagonistidir. Skopolaminin, bilginin kodlanması aşamasında uzamsal bellekte bozulmaya neden olduğu ve bu etkiyi özellikle hipokampustan asetilkolin salımını azaltarak yaptığı gösterilmiştir. Morris'in su tankı testinde, skopolaminin sistemik uygulamasının bilginin kaydedilmesinin bozulması aşamasında, retansiyon aşamasında olduğundan daha etkili olduğu gösterilmiştir (36). Bu bulgulardan hareketle bu çalışmada sistemik olarak skopolamin uygulanarak kognitif fonksiyonlar araştırılmıştır. Skopolamin Morris'in su tankı ve pasif sakinme testlerinde öğrenme ve bellek fonksiyonlarını kontrol grubuna göre ileri derecede bozmuştur. Agmatin tedavisinin skopolaminin etkisini geri çevirebildiği gösterilmiştir. Aslında agmatinin muskarinik reseptörler üzerinden direkt etkisi bilinmemektedir. Bulgularımıza dayanarak agmatinin skopolaminin etkisini geri

çevirmesini ya bugünkü bilgiler doğrultusunda indirekt olarak kolinerjik modülasyonla yaptığını söyleyebiliriz ya da henüz gösterilmemiş olmakla birlikte direkt olarak muskarinik reseptörler aracılığıyla yapıyor olabilir.

Bir diğer olası mekanizma glutamaterjik sistem aracılığı ile olabilir. Glutamatın, hem iyonotropik hem de metabotropik reseptörlerinin öğrenme ve bellek fonksiyonlarını belirleyen süreçlere katkıda bulunduğu gösterilmiştir (38). Özellikle NMDA reseptörleri LTP'nin indüksiyonunda görev alırlar (39). NMDA reseptörlerinin bilginin kaydedilmesi esnasında veya hemen sonrasında rol aldığı, öğrenmenin birçok türünde bilginin kaydedilmesi aşamasında etkili olduğu, depolama ve kaydedilmiş bilginin geri çağırılması evrelerinde ise rolünün olmadığını gösteren çalışmalar vardır (38-40). Striatum ve talamusta NMDA reseptörlerinin oranı ve sinaptik plastisite, gençlerle kıyaslandığında yaşlı hayvanlarda daha düşük bulunmuştur ve bu değişikliklerin yaşlanma ile ortaya çıkan bellek zayıflığından sorumlu olabileceği düşünülmüştür. Doğuştan düşük öğrenme kapasiteli sıçanlar ile kıyaslandığında, doğuştan yüksek öğrenme kapasiteli sıçanların hipokampuslarında NMDA seviyeleri daha yüksek bulunmuştur (38). Ayrıca, düşük dozda NMDA reseptör blokerlerinin bellek oluşumunu kolaylaştırdığı yönünde çalışmalar da bulunmaktadır. Agmatinin NMDA reseptörlerine bağlı kalsiyum kanalını kapatarak antagonist gibi davrandığını biliyoruz. Büyük olasılıkla agmatin NMDA reseptörleri aracılığıyla hem kognitif fonksiyonlarının pozitif regülasyonunu sağlamakta hem de eksitotoksisiteye bağlı kognitif fonksiyon kayıplarını önlemede rol almaktadır.

Glutamaterjik sistemle birlikte çalışan ve kognitif fonksiyonlar açısından önem taşıyan bir diğer sistem nitriderjik sistemdir. Bilindiği gibi NO, NMDA reseptörleri aracılığıyla sentezlenen bir maddedir. Davranış modelleri kullanılarak yapılan çalışmalarda, NO modülasyonunun yeni öğrenilen bilginin kaydedilmesini etkileyebileceği ancak iyi öğrenilmiş bilgilerin geri çağırılmasında etkisinin olmadığı gösterilmiştir (41). NO miktarının sodyum nitropurid ile artırılması retansiyon performansını artırmış, daha yüksek dozlarda ise bozmuştur. Bir NO inhibitörü olan L-MeArg'nin bellek performansını bozarken, prekürsörü olan L-arjinin ile eş zamanlı uygulanması L-MeArg'nin bellek bozucu etkisini düzelttiği gösterilmiştir (42). Bir grup çalışma fazla miktarda NO üretiminin bellek bozukluklarına neden olabileceğini gösterirken hem NOS inhibitörlerinin kolinerjik nöronları eksitotoksitiden koruduğunu hem de bozulan kognitif fonksiyonları

düzeltebileceğini gösteren çalışmalar da vardır (43-46). Agmatinin etkileştiği sistemlerden olan nitriderjik sistemin de kognitif fonksiyonlarda etkili olduğuna yönelik artan sayıda çalışma yayınlanmaktadır, ancak öğrenme ve bellek ilişkisi ise henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Aynı ayrı ele alınan tüm bu sistemlere ek olarak bellek fonksiyonlarında birçok nörotransmitter arasında önemli etkileşimler bulunmaktadır (39). Bu bulgulardan hareketle NO'nun öğrenme ve bellekte karmaşık mekanizmalar içeren, doz bağımlı kritik bir role sahip olduğu, kognitif düzenlemede NO'nun hem önemli bir rolü olduğunu hem de bu rolün maddenin miktarına bağlı olarak değişkenlik gösterdiğini söyleyebiliriz. Bu noktada agmatin NO sentezinde bir ara metabolit olması ve NOS'un tüm izoformlarını inhibe etme özelliğine sahip olması nedeniyle kritik bir role sahiptir. Bu nedenle bozulmuş kognitif yanıtların düzenlenmesini büyük olasılıkla NO sentezini düzenleyerek yaptığını düşünebiliriz.

Stres ile ilgili çalışmalar bulgularımızı destekler niteliktedir. Stresin özellikle medial prefrontal korteks, hipokampus ve amigdala gibi öğrenme ve bellek için önemli yapılarda morfolojik ve fonksiyonel bozulmalara neden olduğu (23,24), stresle indüklenen glukokortikoid hasarına duyarlı olan hipokampusta stres nedeniyle oluşan hasarın, uzamsal bellek ile sinaptik plastisitedeki bozulmaların temel nedenlerinden olduğu çok sayıda çalışma ile gösterilmiştir (47). Akut stres bozukluğunun test edildiği bir hayvan çalışmasında, agmatinin bağlamsal korku öğrenmesini azalttığı gösterilmiştir. Çalışmada, agmatinin mental stres için endojen bir nöromodülatör olabileceği öne sürülmüş ve stresle ilişkili bozukluklardaki rolünün ve olası faydasının netlik kazanması için daha fazla araştırmaya gereksinim olduğu belirtilmiştir (48). Kısa süreli ve belli bir düzeyde stres öğrenmeye temel oluşturan LTP için gerekli iken, kronik ve şiddetli stres oluşturan nedenler olumsuz nöroadaptif değişikliklere neden olmaktadır. Stresörlere otonomik ve nöroendokrin yanıtların oluşturulduğu en önemli beyin bölgeleri olan hipotalamus ve beyin sapının yanında yüksek kognitif işlev alanları da bellek, anksiyete ve karar vermede kilit rol oynarlar (49). Kronik stres aynı zamanda plazma kortikosteron seviyelerini ve hipokampusta BDNF, CREB, mRNA seviyelerini düşürmektedir (24). Stresin hipokampusta CA3 piramidal hücre tabakasında ve dentat girusun granüllü hücre tabakasında BDNF ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (48). Hipokampusta CA3 ve CA1 piramidal nöronlarında ve dentat girusun granüllü hücrelerinde dendritik dallanmalarda

zayıflama görülmüştür. Kronik stres dentat girusta nöroge-nezisi ve nöron sayısını azaltırken, orbifrontal kortekste dendritik dallanma stresin bir sonucu olarak artmaktadır (23,24). Kronik stres etkenine maruz kalma, hipokampus hacmindeki küçülmenin aksine amigdala hacim ve etkin-lik artışı söz konusu olmaktadır ve kronik stres etkeni orta-dan kalktıktan sonra bile, amigdalaadaki değişiklikler tama-men geriye dönmemektedir (23). Strese bağlı olarak hipo-kampusta NMDA reseptörlerinin ekspresyonunda artma olduğu ve stresle indüklenen nörotoksitenin glutamat eksitotoksitesine bağlı olabileceği düşünülmüştür (47). Hipokampusta agmatin düzeylerinin incelendiği çalışmalar agmatinin nöroplastisitenin oluşumu sağlayan LTP’de etkili olabileceğini düşündürmektedir. Nöroplastisitede rol oyna-yan önemli etkenlerden BDNF, NGF ve NT3 gibi nörotrofik faktörler de stresten etkilenmekte, özellikle BDNF miktarı stres varlığında azalmaktadır. NT3’ün ise kognitif fonksiyon-lar üzerine sinaptik plastisite ve nöroge-nez ile diğer nörotro-fik faktörlerin düzenlenmesi, nöroproteksiyon, uyku ve veje-tatif fonksiyonları güçlendirmek gibi doğrudan ve dolaylı etkileri vardır (50). Agmatinin nörotrofik faktörlere etkisini gösteren bir çalışma henüz yoktur.

Daha önce yapılan çalışmalardan elde edilen bilgiler agmatinin kognitif fonksiyonlarının düzenlenmesinde rolü olduğunu, büyük olasılıkla bu etkiyi NO oluşumunu inhibe ederek, inflamatuvar sitokinlerin oluşumunu baskılayarak, NMDA reseptörlerini bloke etmeleri nedeniyle veya imida-zolin reseptörleri aracılığıyla yaptığını düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

- Okano H, Hirano T, Balaban E. Learning and memory. PNAS 2000; 97: 12403-12404.
- Dere E, Pause BM, Pietrowsky R. Emotion and episodic memory in neuropsychiatric disorders. Behav Brain Res. 2010; 215(2):162-171.
- Karabekiroğlu K, Gimzal A, Berkem M. Psikiyatrik bozukluklarda bellek sorunları. Anadolu Psikiyatr Derg. 2005; 6: 188-196.
- Korn H, Faber DS. Quantal analysis and synaptic efficacy in the CNS. Trends Neurosci. 1991; 14: 439-445.
- Burgess N, Maguire EA, O’Keefe J. The human hippocampus and spatial and episodic memory. Neuron 2002; 35: 625-641.
- Aggleton JP, Brown MW. Episodic memory, amnesia, and the hippocampal-anterior thalamic axis. Behav Brain Sci. 1999; 22: 471-489.
- Dickerson BC, Eichenbaum H. The episodic memory system: Neurocircuitry and disorders. Neuropsychopharmacol. 2010; 35: 86-104.
- Niewiadomska G, Baksalerska-Pazera M, Riedel G. The septo-hippocampal system, learning and recovery of function. Prog Neuro Psychoph. 2009; 33: 791-805.
- Reis DJ, Regunathan S. Is agmatine a novel neurotransmitter in brain? TIPS 2000; 21: 187-193.
- Arıcıoğlu F. Sinir sisteminin fonksiyonlarını modüle edebilen yeni bir madde: Agmatin. RCHP 2008; 3-4: 27-37.
- Arıcıoğlu F. Agmatinin nöropsikiyatrideki yeri ve önemi. RCHP 2009; 1-2: 7-21.
- Arıcıoğlu F, Means A, Regunathan S. Effects of agmatine on the development of morphine dependence in rats: Potential role of cAMP system. Eur J Pharmacol. 2004; 504: 191-197.
- Arıcıoğlu F, Paul IA, Regunathan S. Agmatine reduces only peripheral related behavioral signs, not the central signs of morphine withdrawal in nNOS deficient transgenic mice. Neurosci Lett. 2004; 354: 153-157.

Ek olarak agmatinin farklı mekanizmalarla bozulmuş olan öğrenme ve bellek fonksiyonlarının yeniden düzenlenme-sinde de rolü olabileceğini göstermiştir. Bu etkide, kognitif düzenleyici olduğu bilinen sistemlere ek olarak imidazolin reseptörlerinin de katkısının olabileceği düşünülebilir. Lite-ratürde henüz imidazolin reseptörlerinin kognitif fonksi-yonlardaki olası rolü ile ilgili çalışma yoktur. Ancak agmati-nin imidazolin reseptörlerinin endojen ligandı olduğu düşünül-düğünde kognitif fonksiyonlara ne oranla aracılık ettiğinin araştırılması düşünülebilir.

Organizmanın temel fonksiyonlarından olan ve birçok hastalıkta gerek primer patolojiyi, gerekse eşlik eden sekonder hasarı oluşturan öğrenme ve bellek bozukluklarının tedavisinde, endojen bir madde olan agmatinin olumlu kat-kılarının olabileceğini ortaya koyması açısından bu çalışma-nın sonuçları ümit vericidir. Çağımızın önemli sağlık sorun-ları arasında yerini almaya başlayan bellek sorunlarına iliş-kin yeni tedavi yaklaşımlarının sağlanabilmesi konunun nörobiyolojisinin daha iyi anlaşılması ile ve ümit vadeden maddelerle ilgili çalışmaların devamlılığı ile mümkün olabi-lecektir. Bu nedenle agmatinin etki mekanizmasını daha iyi anlamaya yönelik çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

Teşekkür

Bu çalışma Nimet Işıl Bozkurt’un “Agmatinin Kognitif Fonksiyonlara Etkisinin Araştırılması” başlıklı yüksek lisans tezi kaynaklıdır.

14. Arıcıoğlu-Kartal F, Regunathan S. Effect of chronic morphine treatment on the biosynthesis of agmatine in rat brain and other tissues. *Life Sci.* 2002; 71: 1695-1701.
15. Arıcıoğlu F, Korcegez E, Bozkurt A, Ozyalcin S. Effect of agmatine on acute and mononeuropathic pain. *Ann NY Acad Sci.* 2003; 1009: 106-115.
16. Arıcıoğlu F, Regunathan S. Agmatine attenuates stress- and lipopolysaccharide-induced fever in rats. *Physiol Behav.* 2005; 85: 370-375.
17. Arıcıoğlu F, Kan B, Yillar O, Korceez E, Berkman K. Effect of agmatine on electrically and chemically induced seizures in mice. *Ann NY Acad Sci.* 2003; 1009: 141-146.
18. Arıcıoğlu F, Regunathan S, Piletz J. Is agmatine an endogenous factor against stress? *Ann NY Acad Sci.* 2003; 1009: 127-132.
19. Arıcıoğlu F, Altunbaş H. Is agmatine an endogenous anxiolytic/antidepressant agent? *Ann NY Acad Sci.* 2003; 1009: 136-140.
20. Leitch B, Shevtsova O, Reusch K, Bergin DH, Liu P. Spatial learning-induced increase in agmatine levels at hippocampal CA1 synapses. *Synapse* 2011; 65(2): 146-153.
21. Liu P, Collie ND, Chary S, Jing Y, Zhang H. Spatial learning results in elevated agmatine levels in the rat brain. *Hippocampus* 2008; 18: 1094-1098.
22. Zarifkar A, Choopani S, Ghasemi R, Naghdi N, Maghsoudi AH, Maghsoudi N, Rastegar K, Moosavi M. Agmatine prevents LPS-induced spatial memory impairment and hippocampal apoptosis. *Eur J Pharmacol.* 2010; 634: 84-88.
23. Roozendaal B, McEwen BS, Chattarji S. Stress, memory and the amygdala. *Nature Rev Neurosci.* 2009; 10: 423-433.
24. Song L, Che W, Min-wei A, Murakami Y, Matsumoto K. Impairment of the spatial learning and memory induced by learned helplessness and chronic mild stress. *Pharmacol Biochem Behav.* 2006; 83: 186-193.
25. Morris, R. G. M. Spatial Localization Does Not Require the Presence of Local Cues. *Learning and Motivation* 1981; 12(2): 239-260.
26. Kameyama T, Nabeshima T, Kozawa T. Step-down-type passive avoidance- and escape-learning method. Suitability for experimental amnesia models. *J Pharmacol Methods.* 1986; 16(1): 39-52.
27. Stewart LS, McKay BE. Acquisition deficit and time-dependent retrograde amnesia for contextual fear conditioning in agmatine-treated rats. *Behav Pharmacol.* 2000; 11: 93-97.
28. McKay BE, Lado WE, Martin LJ, Galic MA, Fournier NM. Learning and memory in agmatine-treated rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2002; 72: 551-557.
29. Lu W, Dong HJ, Gong Z, Su RB, Li J. Agmatine inhibits morphine-induced memory impairment in the mouse step-down inhibitory avoidance task. *Pharmacol Biochem Behav.* 2010; 97(2):256-261.
30. Arteni NS, Lavinsky D, Rodrigues AL, Frison VB, Netto CA. Agmatine facilitates memory of an inhibitory avoidance task in adult rats. *Neurobiol Learn Mem.* 2002; 78: 465-469.
31. Liu P, Bergin DH. Differential effects of i.c.v. microinfusion of agmatine on spatial working and reference memory in the rat. *Neurosci.* 2009; 159: 951-961.
32. Liu P, Collie ND. Behavioral effects of agmatine in naive rats are task- and delay-dependent. *Neurosci.* 2009; 163: 82-96.
33. Hasselmo ME. The role of acetylcholine in learning and memory. *Curr Opin Neurobiol.* 2006; 16: 710-715.
34. Armstrong DM, Saper CB, Levey AI, Wainer BH, Te RD. Distribution of cholinergic neurons in rat brain: Demonstrated by the immunocytochemical localization of choline acetyltransferase. *J Comp Neurol.* 2004; 216: 53-68.
35. Friedman A, Kaufer D, Pavlovsky L. Cholinergic excitation induces activity-dependent electrophysiological and transcriptional responses in hippocampal slices. *J Physiol.* 1998; 92: 329-335.
36. Klinkenberg I, Blokland A. The validity of scopolamine as a pharmacological model for cognitive impairment: A review of animal behavioral studies. *Neurosci Biobehav Rev.* 2010; 34: 1307-1350.
37. Eglén RM, Nahorski SR. The muscarinic M5 receptor: A silent or emerging subtype? *Br J Pharmacol.* 2000; 130: 13-21.
38. Riedel G, Platt B, Micheaub J. Glutamate receptor function in learning and memory. *Behav Brain Res.* 2003; 140: 1-47.
39. Myhrer T. Neurotransmitter systems involved in learning and memory in the rat: A meta-analysis based on studies of four behavioral tasks. *Brain Res Rev.* 2003; 41: 268-287.
40. Wiley JL, Willmore CB. Effects of nitric oxide synthase inhibitors on timing and short-term memory in rats. *Behav Pharmacol.* 2000; 11: 421-429.
41. Huang AM, Lee EH. Role of hippocampal nitric oxide in memory retention in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 1995; 50: 327-332.
42. Bidmon HJ, Wu N, Palomero-Gallagher E, Oermann B, Mayer A, Schleicher A, Zilles K. Different nitric oxide synthase inhibitors cause rapid and differential alterations in the ligand-binding capacity of transmitter receptors in the rat cerebral cortex. *Ann Anat.* 1999; 181: 345-351.
43. Paakkaria I, Lindsberg P. Nitric oxide in the central nervous system. *Ann Med.* 1995; 27: 369-377.
44. Stevanović ID, Jovanović MD, Ankica Jelenković MČ, Bokonić D, Ninković M. Nitric oxide synthase inhibitors protect cholinergic neurons against Aβ1-42 excitotoxicity in the rat brain. *Brain Res Bull.* 2010; 81: 641-646.
45. Susswein AJ, Katzoff A, Miller N and Hurwitz I. Nitric oxide and memory. *Neuroscientist* 2004; 10: 153-154.
46. Radecki DT, Brown LM, Martinez J, Teyler TJ. BDNF protects against stress-induced impairments in spatial learning and memory and LTP. *Hippocampus* 2005; 15: 246-253.
47. Lynch MA. Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev.* 2004; 84: 87-136.
48. Kaufer D, Friedman A, Seidman SA. Acute stress facilitates long-lasting changes in cholinergic gene expression. *Nature* 1998; 28: 373-377.
49. Spedding M, Neau I, Harsing L. Brain plasticity and pathology in psychiatric disease: Sites of action for potential therapy. *Curr Opin Pharmacol.* 2003; 3: 33-40.
50. Pae C, Marks DM, Han C. Does neurotrophin -3 have a therapeutic implication in major depression? *Int J Neurosci.* 2008; 118: 1515-1522.