

Tiroit Hormonlarının Yüksek Frekanslı Uyarım ile Tetiklenen Sinaptik Gücün Depotansiyasyonu Üzerine Etkisi

The Effect of Thyroid Hormones on Depotential of Synaptic Strengthening Which is Induced by High Frequency Stimulation

 Burak Tan¹,  Ercan Babur²,  Cem Süer¹,  Nurcan Dursun¹

¹Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

²Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Tokat, Türkiye

Öz

Amaç: Önceki çalışma bulgularımız, normal tiroit hormon düzeylerinin sinaptik plastisitenin göstergeleri olan uzun dönemli güçlenme (UDG) ve uzun dönemli baskılanma (UDB) yanıtları arasındaki dengenin oluşmasında rol oynayabileceğini göstermektedir. Sinaptik plastisitenin bir diğer formu olan depotansiyasyon (DP) ise şu ana kadar bu bağlamda çalışılmamıştır. Bu çalışmada, tiroid hormonları ile sinaptik plastisite arasındaki ilişkiyi anlamak için, hipokampüse infüze edilen T4 ve T3 hormonlarının DP büyüklüğünü değiştirip değiştirmediği araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Deneysel, yüksek frekanslı uyarım (YFU) sırasında SF, T4 ve T3 infüze edilen ve düşük frekanslı uyarım (DFU) sırasında SF, T4 ve T3 infüze edilen 2 aylık Wistar albino erkek sıçanlardan oluşan (n=7/grup) 3 grup olarak gerçekleştirildi. Depotansiyasyonu indüklemek için, YFU kalıbı olarak 1 sn süreli 100 Hz frekanslı 4 tekrarlı uyarımı takiben 5 dk sonra, DFU kalıbı olarak 1 Hz frekanslı 900 pulse uyarım kullanıldı. Böylece uyarılan nöron havuzundaki sinapslarda hem yeni sinaps oluşumu hem de silinmesi elektriksel olarak tetiklendi ve kayıtları.

Bulgular: T4 hormonunun YFU sırasında uygulanmasının popülasyon spike (PS) genliğini kontrol grubuna göre değiştirdiği (p<0,001), DFU sırasında uygulanmasının ise etkilemediği (p>0,05) bulundu. T4 hormonunun YFU veya DFU sırasında uygulanmasının eksitator postsinaptik potansiyel (EPSP) eğimindeki zamansal değişimlerinin ve T3 hormonunun YFU veya DFU sırasında uygulanmasının PS genliği ve EPSP eğimindeki zamansal değişimlerinin SF infüzyonu yapıları ile aynı olduğu bulundu.

Sonuç: Bu sonuçlar, T4'ün YFU sırasında uygulanmasının DP yanıtı üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olduğunu, DFU sırasında T4 uygulanmasının ise, DP yanıtı üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olmadığını düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Sinaptik plastisite, Depotansiyasyon, Tiroit hormonları, Hipokampus

Abstract

Objective: Our previous study findings showed that normal thyroid hormone levels may play a role in the balance between long-term potentiation (LTP) and long-term depression (LTD) that are indicative of synaptic plasticity. Depotential (DP), another form of synaptic plasticity, has not been studied in this context so far. In the present study, we aimed to learn the effect of infused T4 hormone on the depotential magnitude and the relationship between T4 and synaptic plasticity.

Material and Method: Experiments were performed in 3 groups of 2-month-old Wistar albino male rats (n=7/group) infused with SF, T4 and T3 during high frequency stimulation (HFS) or during low frequency stimulation (LFS). Depotential was induced by a HFS (100Hz, 1 sec, 4 times), followed by LFS (900-pulse stimulation at 1 Hz). Thus, both synapse formation and deletion were electrically triggered and recorded in synapses of the stimulated neuron pool.

Results: It was found that infusion of T4 during HFS decreased the PS amplitude compared to that control group (p <0.001), but infusion during LFS did not affect it (p >0.05). It was found that the temporal changes in the EPSP slope of the infusion of T4 during HFS or LFS and the temporal changes in the PS amplitude and EPSP slope of the infusion of T3 during HFS or LFS were the same as the SF infusion.

Conclusion: These results suggested that the application of T4 during HFS have a significant effect on DP but the application of T4 during LFS does not seem to have a significant effect on DP.

Key words: Synaptic plasticity, Depotential, Thyroid hormones, Hippocampus

Yazışma Adresi: Burak Tan, Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Melikgazi/KAYSERİ

E-Posta: burak_tan49@hotmail.com

Alınma tarihi: 21.01.2021 / **Kabul tarihi:** 10.03.2021 / **Yayımlanma tarihi:** 15.12.2021

Tiroid Hormonlarının Depotansiyasyon Üzerine Etkisi - Tan ve ark.

Genel Tıp Derg 2021;31(4)369-374

Giriş

Hücre düzeyinde öğrenme ve bellek, sinyal yolağındaki nöronlarda bazı sinapsların güçlenmesi (uzun dönemli güçlenme: UDG) (1), bazılarının ise gerilemesi ve silinmesi (uzun dönemli baskılanma: UDB) (2) sonucunda gerçekleşmektedir. Deneysel olarak uygun uyarım kılıpları ile oluşturulan UDG ve UDB sırasıyla yeni sinaptik bağlantılar oluşumu veya var olanların silinmesi sonucunu doğurur. Depotansiyasyon (DP) ise deneysel olarak yüksek frekanslı uyarım ile indüklenerek güçlendirilen sinapsların daha sonrasında uzun süreli düşük frekanslı uyarımla tekrar bazal koşullara döndürülmesini ifade eder (3). Bu bağlamda, DP sinaptik plastisitenin stabilizasyonu için önemli rol oynar.

Demansla karakterli pek çok hastalıkta, sinaptik plastisitedeki bozuklukların rolü vurgulanmaktadır. Vakaların çoğunda, bilişsel bozulmanın kesin nedeni bilinemez ve bu bilişsel kayıplar, ölüme kadar götürebilen patolojilere neden olabilir (4). Bu hastalıklarda hipokampus en önemli beyin bölgelerinden biridir ve demansa neden olan veya bu nedeni tetikleyen faktörler yaygın araştırma konusu olmuştur (5).

Son çalışmalar, sinaptik plastisitenin, gelişimin ilk aşamalarında ve yetişkinlik döneminde tiroit hormonu düzeylerindeki azalma ve yükselmelerden etkilenebileceğini göstermiştir. Yetişkin sıçanlarda azalmış ve artmış serum T4 seviyelerinin dentat girus granül hücre morfolojisinde değişikliklere yol açar. Bu değişiklikler özellikle hipotiroidi drurumunda hipertiroidiye göre daha belirgindir (6, 7). Bu çalışmalar doğrultusunda, yetişkin dönemde oluşan distiroidizmin, öğrenme performansı ve sinaptik plastisite üzerinde benzer etkiler ortaya çıkarmaktadır. Distiroidizm tablosunda, hipokampal UDG'nin bozulduğu ve ilginç bir şekilde (8, 9), hipotiroidide hipokampal UDB'nin daha kolay meydana geldiği bildirilmiştir (10). Son zamanlardaki çalışma bulgularımız, hipertiroidinin de hipokampal UDB'nin daha kolay indüklenmesine yol açtığını göstermiştir (11) $\bar{y}K\bar{c}D\mu$. Bu bulgular, intrahipokampal tiroksin infüzyonu ile laboratuvarımızda yapmış olduğumuz diğer çalışmalarla da doğrulanmıştır (12). Bu çalışmaların sonuçları doğrultusunda, UDG ve UDB arasındaki dengeyi korumak için fizyolojik tiroit hormon seviyelerine ihtiyaç olduğu sonucuna varılabilir. Sinaptik plastisitenin daha üst düzey formu olan DP ise şu ana kadar bu bağlamda çalışılmamıştır. Bu çalışma, tiroit hormonları (TH) ve bilişsel bozulma arasındaki ilişkiyi daha iyi anlayabilmek amacıyla, sinaptik bağlantı oluşması ve silinmesi arasındaki dengeyi TH'nin sinaptik silinme yönünde değiştirip değiştirmediğini araştırmıştır. Bu çalışmadan elde edilen bulgular, daha önceki çalışmalarımıza göre tiroksin hormonun genomik olmayan bir mekanizma ile UDG yanıtlarında azalmaya ve UDB yanıtlarında bir stabiliteye neden olan etkisini tamamlar niteliktedir. UDG'nin yeni bilginin öğrenilmesi sürecinin; UDB ve DP'nin ise unutmaya sürecinin altında yatan temel mekanizmalar olduğu dikkate alınarak, bu bulguların Alzheimer hastalığı gibi bilişsel bozulmalarla karakterli hastalıkların patogenezinin açıklanmasında önemli olacağı düşünülmektedir.

Materyal ve Metod

Deneysel Hayvanları

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulunun (HADYEK) 12.03.2014 tarih ve 14/037 sayılı onayı ile gerçekleştirildi. Çalışmada gereksiz deneysel hayvanı kullanmamak ve

deneysel hayvanlarına acı vermemek için etik ilkelere özen gösterildi. Çalışma için Erciyes Üniversitesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde (DEKAM) üretilen Wistar albino cinsi 42 adet 200-250 gr ağırlığında 60 günlük erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar musluk suyu ve standart sıçan yemi ile kısıtlama yapılmaksızın beslendi. Sıçanlar; Kontrol (K, n=14), T3 infüze edilmiş (T3, n=14) ve T4 infüze edilmiş (T4, n=14) olmak üzere 3 gruba ayrıldı.

Cerrahi İşlemler

Hipokampus dokusuna belirlenen miktarda tiroit hormonlarını (T3 ve T4) infüze etmek ve elektrofizyolojik kayıtlama yapabilmek için sıçanlar anestezi edilip stereotaksik çatıya yerleştirildi. Anestezinin sağlanması için her hayvana 1,2g/Kg intraperitoneal olarak üretilen enjeksiyonu yapıldı. Stereotaksik çatıya (Kopf Instruments, Tujunga, CA, USA) sıçanlar kulak ve ağız çubukları vasıtasıyla kafalarından sabitlendi, kafa saçlı derisi ve deri altı dokuları prensiplere uygun olarak orta hat kesisi ile açıldı. Bu işlem, stereotaksik çatı üzerinde yapıldı. Saçlı deri retrakte edildi, sağ hemisfer üzerindeki kemik yapıda oval pencere şeklinde bir delik açıldı ve kanamadan arındırıldı. Daha sonra lambda ve bregmanın aynı düzlemde olmaları "düzlem ayarlama çubuğu" vasıtasıyla sağlandı. Paxinosand ve Watson (1998) sıçan beyin atlası kullanılarak, bregma referans noktası alınıp uygun koordinatlara, uyarı ve kayıt-infüzyon elektrotları ile girildi.

Elektrofizyoloji ve Tiroit Hormon İnfüzyonu

Cerrahi prensiplere uygun olarak yapılan sağ kranyotomiden sonra bir bipolar elektrot (Teflon kaplı, paslanmaz çelik, 127 μ m çaplı, ucu dışında izole edilmiş) vasıtasıyla medyal perforan yol (bregmaya göre mm; AP: -8.0, ML: 4.2) uyarıldı. Uyarıcı elektrotun iki kutbu düşük dirençli kablolar ile bir uyarım izolatörüne (A385, World Precision Instruments, USA,) bağlandı. Dış çapı 1,5 mm ve uzunluğu 10 mm olan çift kanallı borosilikat kapiller tüplerden (World Precision Instruments) dikey bir mikropipet çekici (P30, Sutter Instrument Co, USA) ile hazırlanan çift kanallı bir cam mikropipet (uç direnci 2-10 M Ω), ipsilateral dentat girusun granül hücre tabakasına (bregmadan mm olarak: AP: 3,5 - ML: 2,15 - DV: 2,5-3 mm duradan aşağıya) girildi. Kanallardan biri 3M NaCl ile dolduruldu ve cam elektrottan eksitator postsinaptik alan potansiyelleri kaydedildi. T4 grubunun mikropipet 2.kanallına 100 nmol T4 doldurulup, diğer grubun ikinci kanallına ise 100 pikomol T3 (Sigma, CAS:51-48-9) T3 dolduruldu ve bir Hamilton enjektörü yardımıyla 15 dakika dentat girusun granül hücre tabakasına infüze edildi. Bir Ag-AgCl disk elektrot boyunu derisi altına yerleştirildi ve referans elektrot olarak kullanıldı. Kayıt elektrodunun 3M NaCl doldurulan kanalının içine yerleştirilen klorlanmış bir gümüş tel ve referans elektrodu bir "head-stage" kullanılarak tek kanal epitelyal voltaj/akım kısaç yükselticene (VCC600, Physiological Instruments) bağlandı. Bütün sistem bir Faraday kafesi kullanılarak topraklandı.

Hem uyarıcı hem de kayıt elektrodu, pozitif yönlü bir sapmayı (EPSP) takip eden negatif yönlü bir sapma (PS) elde edilene kadar derin yapılara indirildi. Granül hücre tabakasının tipik yanıtı elde edilmeye başlandığında elektrotların derinlikleri 0,1 mm artırılarak en büyük cevap elde edildi. Bütün deneyler sonucu ortalama elektrot derinlikleri uyarıcı elektrot için 2,5 mm kayıt elektrodu için 3 mm idi.

Kayıt bölgesi yukarıda açıklandığı gibi bulunduktan sonra sinyalin dengeye ulaşması beklendi. Bu işlem 15 dakika boyunca yapıldı ve bu

Tiroit Hormonlarının Depotansiyasyon Üzerine Etkisi - Tan ve ark.

sürede dentat giris nöronları, 0,033 Hz frekansında elektrik uyarımla (0,5mA, 0,175 µs süreli) uyarıldı. Daha sonra, 0-15nci dakikalar arasında yüksek frekanslı uyarım (YFU) kalıbı kullanılarak (100 Hz, 1 sn, 4 kez) uzun dönemli güçlenme tetiklendi ve 20-22nci dakikalar arasında düşük frekanslı uyarım (DFU) kalıbı kullanılarak (1 Hz, 900 puls, 900 sn) depotansiyasyon indüklendi. Tiroit hormonlarının infüzyonu bazı deneylerde DP indüksiyonundan önceki 5 dakika ya da 55-60'nci dakikalar arasında uygulandı.

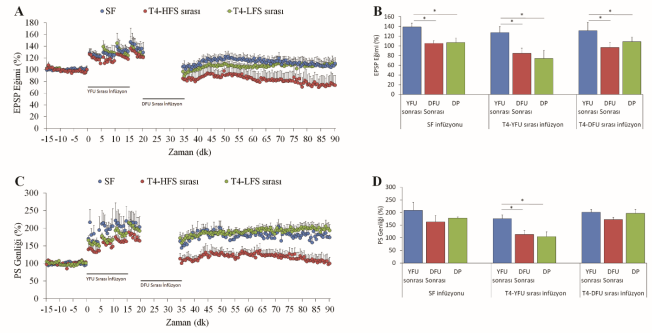
Veri Analizi ve İstatistik

EPSP dalgasının eğimi, dalganın başlangıcı ve PS dalgasının başlangıcı arasındaki voltaj farkının %20–80 arasında hesaplandı. PS genliği ilk pozitif yükseltiden sonraki negatif yönlü dalga arasındaki farktan hesaplandı. Başlangıçtaki 15 dakikalık sürede tetiklenen 30 alan potansiyelinin EPSP ve PS'lerinden oluşan ortalama eğim ve genlik değerleri 100 kabul edildi; YFU ve DFU sonrasıındaki her EPSP ve PS bunun yüzdesi cinsinden hesaplandı. UDG'nin indüksiyonu için YFU'dan sonraki 10 dk süresince oluşan eğim ve genliklerin; idame dönemi için ise son 10 dakikalık bölümde oluşan eğim ve genlik değerlerinin ortalamaları alındı. UDB'nin indüksiyonu için DFU'dan sonraki 10 dakikada oluşan eğim ve genliklerin; idame dönemi için ise son 10 dakikalık bölümde oluşan eğim ve genlik değerlerinin ortalamaları alındı. İstatistik karşılaştırmalar için, çoklu grupların tek ölçümlü verilerinin karşılaştırılmasında tek-yönlü ANOVA, çok ölçümlü verilerin karşılaştırılmasında tekrarlayan ölçümlerle ANOVA testleri, ikili karşılaştırmalarda ise post-hoc Tukey testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak seçildi.

Bulgular

T4 hormon infüzyonunun depotansiyasyon üzerine etkisi

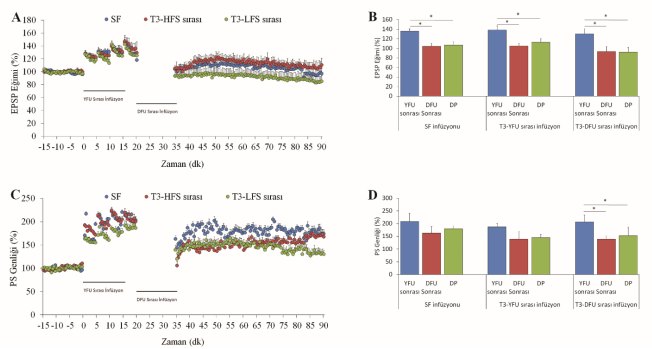
T4 infüzyonu için, depotansiyasyon kayıtları süresince alınan EPSP eğimleri Şekil 1A'da, PS genlikleri ise Şekil 1C'de sunulmuştur. Bütün gruplar, hem EPSP eğiminde ($F_{2,21} = 1,03$; $P > 0,05$) hem de PS genliğinde ($F_{2,21} = 0,56$; $P > 0,05$), benzer YFU sonrası artış oranı ve DFU sonrası azalma oranı gösterdiler. Bununla birlikte, DFU sonrası EPSP eğimi ($F_{2,21} = 4,25$; $P = 0,028$) ve PS genliği ($F_{2,21} = 4,08$; $P = 0,032$) üzerinde anlamlı grup etkisi bulunmuştur (Şekil 1B: EPSP, Şekil 1D: PS). PS genliği sadece T4'ün YFU sırasında infüze edilen grupta, bazal değer $174,3 \pm 13,8$ değerinden $101,5 \pm 17,1$ 'ine depotansiyasyon olurken, EPSP eğimi hem SF ($143,0 \pm 1,9$ en $101,2 \pm 8,2$ ye; $P = 0,015$) ve hem de T4'ün YFU sırasında infüze edilen gruplarda (YFU'dan önce infüze edilenlerde $114,7 \pm 13,3$ den $66,5 \pm 13,7$ 'ye, $P = 0,026$) anlamlı düzeyde bir depotansiyasyon gösterdi. T4 hormonu DFU sırasında infüze edildiğinde PS genliğinde ($191,2 \pm 14,0$ 'den $185,4 \pm 18,5$ 'e; $P > 0,05$) ve EPSP eğiminde ($128,5 \pm 15,3$ den $105,7 \pm 8,8$ 'e; $P > 0,05$) anlamlı bir depresyon oluşmadı. Bu sonuçlar, EPSP eğimi ile temsil edilen var olan sinapslardaki amplifiye edilmiş sinaptik gücün veya etkinliğin zayıflamasının T4 hormonu ile ortadan kaldırılabileceğini göstermektedir.



Şekil 1. T4 hormon infüzyonunun depotansiyasyon yanıtları üzerine etkisi. A: Deney süresinde kaydedilen EPSP eğimleri. B: EPSP eğimlerine ait YFU sonrası, DFU sonrası ve idame döneminin son 5 dk'lık kısmı (DP)'nin ortalamaları. C: Deney süresince kaydedilen populasyon spike genlikleri. D: PS genliklerine ait YFU sonrası, DFU sonrası ve idame döneminin son 5 dk'lık kısmı (DP)'nin ortalamaları. Değerler ortalama \pm standart hata olarak verildi. * kontrol grubuna göre anlamlı farklılığı ifade eder.

T3 hormon infüzyonunun depotansiyasyon üzerine etkisi

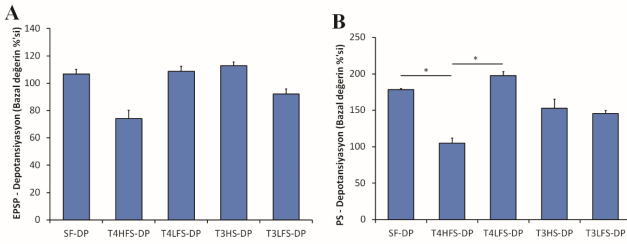
T3 infüzyonu için, depotansiyasyon kayıtları süresince alınan EPSP eğimleri Şekil 2A'da, PS genlikleri ise Şekil 2C'de sunulmuştur. Bütün gruplar, hem EPSP eğiminde ($F_{2,21} = 0,51$ ve $0,53$; $P > 0,05$) hem de PS genliğinde ($F_{2,21} = 0,80$ ve $0,99$; $P > 0,05$), benzer YFU sonrası artış oranı ve DFU sonrası azalma oranı gösterdiler (Şekil 2B: EPSP, Şekil 2D: PS). Bununla birlikte, PS genliği sadece DFU sırasında T3 infüze edilen grupta bazal değer $135 \pm 18,5$ 'ine kadar depotansiyasyon olurken, EPSP eğimi hem SF ($143,0 \pm 12,9$ den $101,2 \pm 8,2$; $P = 0,015$) hem de T3 infüze edilen gruplarda depotansiyasyon gösterdi (YFU sırası infüzyonda: $128,6 \pm 9,2$ 'den $89,8 \pm 15,1$ 'e, $P = 0,046$; DFU sırası infüzyonda: $130,6 \pm 10,1$ den $85,5 \pm 9,7$ 'ye, $P = 0,009$). Bu sonuçlar, önceden var olan sinapslarda güçlendirilmiş sinaptik kuvvetin veya etkinliğin zayıflamasının T3 hormonu tarafından değiştirilmediğini göstermektedir. Bununla birlikte, sinaptik olmayan bir plastisiteyi yansıtan PS genliği üzerine T3 hormonunun etkisi olduğu görülmektedir.



Şekil 2. T3 hormon infüzyonunun depotansiyasyon yanıtları üzerine etkisi. A: Deney süresince kaydedilen EPSP eğimleri. B: EPSP eğimlerine ait YFU sonrası, DFU sonrası ve idame döneminin son 5 dk'lık kısmı (DP)'nin ortalamaları. C: Deney süresince kaydedilen populasyon spike genlikleri. D: PS genliklerine ait YFU sonrası, DFU sonrası ve idame döneminin son 5 dk'lık kısmı (DP)'nin ortalamaları. Değerler ortalama \pm standart hata olarak verildi. * kontrol grubuna göre anlamlı farklılığı ifade eder.

T4 ve T3 Hormonunun Depotansiyasyon Üzerine Etkisinin Karşılaştırılması

Sinaptik plastisitenin uzun vadedeki değişimlerini gözlemek için, bu çalışmada YFU'yu takiben uygulanan DFU uygulandı ve DFU'yu takiben 1 saat süresince oluşan DP yanıtları (idame dönemi) kaydedildi. Uzun vadedeki değişimlerin istatistiksel analizleri için, idame döneminin son 5 dk'lık DP yanıtları analiz edildi (Şekil 3). Tek yönlü ANOVA testi ile yapılan karşılaştırmalarda EPSP eğimleri için gruplar arası anlamlı farklılık olmadığı ($p > 0,05$, Şekil 3A), PS genlikleri için gruplar arası anlamlı farklılık olduğu bulundu ($F_{4,34}=3,442$; $p = 0,020$, Şekil 3B). İkili karşılaştırmalar için, tek yönlü ANOVA testini takiben yapılan post-hoc Tukey testi YFU sırasında T4 infüze edilen grupta depotansiyasyon yanıtlarına (idame döneminin son 5 dakikalık kısmı) ait PS genliğinin SF infüze edilen ve DFU sırasında T4 infüze edilen gruplara göre anlamlı düzeyde daha düşük olduğunu gösterdi (sırasıyla, $p = 0,40$ ve $p=0,13$).



Şekil 3. T4 ve T3 hormonlarının depotansiyasyon yanıtları üzerine etkilerinin karşılaştırılması. A. Depotansiyasyon (DP: idame döneminin son 5 dakikalık kısmı) yanıtlarına ait EPSP eğimleri B: Depotansiyasyon yanıtlarına ait PS genlikleri. Değerler ortalama \pm standart hata olarak verildi. * gruplar arası anlamlı farklılığı ifade eder.

Tartışma

Çalışma bulgularına göre, EPSP eğim değerlendirmesinde SF, T4 ve T3 infüze edilen hipokampüslerde DFU sonrası anlamlı düzeyde baskılanma olduğu bulundu. PS genlikleri için, SF infüzyonunun DFU uygulaması sonrasında PS genliğini azaltmadığı, T4 infüzyonunun YFU sırasında PS genliğini önemli derecede azalttığı, DFU sırası T4 infüzyonunun ise PS genliğini önemli derecede değiştirmediği belirlendi. T3'ün ise PS genliği için DFU sırası infüzyonun depotansiyasyon oluşturduğu fakat YFU sırası infüzyonunun depotansiyasyon oluşturmadığı görüldü.

Dentat girus granüler hücre somalarından kayıtlanan alan potansiyellerinden EPSP bileşeni aferent yolla uyarılan nöron grubunun PS, bileşeni ise membran potansiyeli bir eşik değere yükselerek aksiyon potansiyeli oluşturabilen hücre grubunun elektriksel özelliklerini yansıtır (13). UDG'nin indüklenmesi sırasında T4 hormon infüzyonunun EPSP eğiminde görülen artışı SF infüze edilen gruba göre anlamlı bir şekilde etkilemediğini; ancak PS genliğinde SF infüze edilen gruba kıyasla güçlenmeyi azalttığını göstermiştir. PS genliği açısından indüksiyon döneminde güçlenmede görülen azalmanın idame döneminde de devam ettiği, bu nedenle her iki grupta da YFU protokolünden sonra aferent yolla uyarılan hücre popülasyonunun ve bunlardan eşik değere kadar depolarize olarak aksiyon potansiyeli oluşturan nöron popülasyonunun arttığı ancak bu artışın L-tiroksinin grubunda anlamlı olarak daha düşük olduğunu görülmektedir. Daha önceki bir çalışmamızda, on beş dakika süreyle

100 pM T4 infüzyonunun hipokampal UDG'yi azalttığı UDB'yi ise kolaylaştırdığını bildirdik. Dahası, bu etkileri tiroit hormon reseptör analogu olan tetrac'in tersine çevirdiğini gösterdik (12). Bu çalışmanın verileri, T4'ün, integrin $\alpha\beta 3$ reseptörü aracılığıyla UDG üzerinden UDB'yi destekleyebileceğine ve endojen T4'ün bu reseptör üzerindeki etkisinin hipokampüste tetrac tarafından engellenebileceğine dair in vivo kanıt sağlamaktadır (12). Mevcut ve önceki çalışma bulgularımız, Caria ve ark. (14) tarafından yapılan çalışma bulguları ile de uyumludur. Bu çalışma bulguları, lokal T4 uygulamasının alan EPSP'lerini engellediğini ortaya koymuştur. Dahası, kronik olarak T4 veya T3 hormonu uygulaması ile oluşturulan deneysel hipertiroidizmin UDG ve UDB yanıtlarını değiştirdiği çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (1, 9, 15-17).

Tiroit hormonları ile nörotransmitterler, yapısal proteinler, büyüme faktörleri ve diğer proteinler arasındaki ilişkiler incelenmiş ve TH'nin nöronal gelişimi önemli ölçüde etkilediği gösterilmiştir (18). Tiroit seviyesine göre meydana gelen moleküler değişiklikler detaylı şekilde çalışılmıştır. Hipokampal CA1 bölgesindeki piramidal hücrelerde TH'ye yanıt olarak dendritik spin dansitesinde değişikliklerin olduğu ve tiroit hormonlarının çeşitli nörotrofik faktörlerin ekspresyonunu ve reseptör popülasyonunun düzenlenmesini etkilediği gösterilmiştir (19). Hem gelişim döneminde hem de yetişkinlikte TH reseptörleri ve mRNA'larının dağılımı tespit edilmiştir (15, 20). Tiroit hormonları birçok farklı biyolojik süreçleri etkilemektedir. Bu etkilerini genomik veya non-genomik yol olmak üzere iki farklı yoldan gösterirler. Tiroit hormonlarının non-genomik etkileri nükleustaki tiroit hormon reseptör (TR) aracılığıyla gerçekleştirilen transkripsiyonel regülasyonun düzenlenmesinden (genomik yol) çok daha hızlıdır (21, 22).

Tiroit hormonları non-genomik etkileri ortaya çıkarmak için çok sayıda yolağı etkilemektedir (21-25). Tiroit hormonlarının non-genomik etkisi plazma membranında, sitoplazmada ve hücre organellerinde tanımlanmıştır. Bu etkiler; Na^+ , K^+ , Ca^{2+} 'un düzenlenmesi, glukoz transportu, ERK/MAPK, PKC ve PKA'nın aktivasyonu, PLC ve PLD'nin aktivasyonu ile fosfolipid metabolizmasının düzenlenmesi şeklinde sıralanabilir (26). İn vitro yapılan çalışmalar ile protein sentezinden bağımsız olarak T4'ün IP3 ve kalsiyum sinyal iletimini indüklediği, PKC ve PKA aracılığıyla IFN γ 'nin etkisini büyüttüğü gösterilmiştir (27-29). Ayrıca plazma membranını geçemeyen agarozaya bağlı T4'ün G proteini eşikli tiroit hormon membran reseptörünün etkisiyle MAPK'yı aktive ettiği gösterilmiştir (30). Hücre kültürü çalışmaları tiroit hormonlarının hızlı ve non-genomik olarak Ca^{2+} ATPaz enziminin, PKC aracılığıyla Na^+ kanalının (I_{Na}), PI3-kinaz aracılığıyla K^+ kanalının (I_{K}), PKC ve MAPK aracılığıyla Na^+/H^+ anti-port sisteminin ve içeri doğrultucu potasyum kanalının (I_{K1}) fonksiyonlarını düzenlediğini göstermektedir (23).

Davis ve diğerlerinin önerdikleri bir modelde, tiroit hormonlarının hücre yüzeyiyle düzenlenen non-genomik etkisini G-proteini aracılığıyla MAPK ve PI3-kinaz sinyal iletim kaskadı ile gerçekleştirdiğini ileri sürmektedir (30, 31). Bu modele göre, 10-30 dakikalık bir zaman zarfında T4 hücre yüzey GPCR'sine bağlanır (30), tirozin fosforilasyonu, MAPK'nın aktivasyonu ve nükleusa translokasyonu ile sonuçlanan PKC, Ras, Raf1 ve MEK'ı aktifleştirir ve sırayla TR'nin uzantısındaki bir serin kalıntısını fosforiller (32, 33). Bu fosforilasyon TR'nin ko-repressör SMRT ve NCoR'den ayrılmasıyla, azalmış proteaz aktivitesiyle ve transkripsiyon aktivitesinde artışla sonuçlanır (34-36) ve RXR heterodimerizasyonunu düzenler (37). Nükleer MAPK/TR kompleksinin transkripsiyonel aktiviteyi düzenlemek için p53'e bağlandığı ve fosforile ettiği de gösterilmiştir (33). Paralel bir

Tiroit Hormonlarının Depotansiyasyon Üzerine Etkisi - Tan ve ark.

yolakta, T4 tarafından aktive edilen MEK, nükleer translokasyona, daha sonra MAPK tarafından serin fosforilasyonuna ve gen transkripsiyon aktivasyonuna neden olan STAT1 ve STAT3'deki tirozin kalıntılarını fosforiller (30). Böylece tiroit hormonunu non-genomik olarak STAT, p53 ve TR olmak üzere en az üç farklı yolak tarafından gen transkripsiyonunu etkiler. Bu şekilde yapılmış olan çalışmalar tiroit hormonunu non-genomik etkisinin çok yaygın olduğunu ve birçok farklı hücre tipinde çok sayıda fizyolojik süreçleri kapsadığını göstermektedir.

Sonuç olarak, EPSP eğim değerlendirmesinde SF infüzyonu, YFU sırasında ve DFU sırasında T4 ve T3 infüze edilen hipokampuslerde DFU sonrası tüm gruplarda UDG'de önemli baskılanma olduğu yani T4 ve T3 infüzyonunun depotansiyasyon yanıtlarının EPSP eğimlerinde önemli etki göstermediği sonucuna varılabilir. Yüksek frekanslı uyarım sırasında T4 infüzyonunun DFU sonrasında PS genliğini SF infüzyonuna göre azalttığı, DFU sırasında T4 infüzyonunun ise PS genliğini etkilemediği belirlendi. Yüksek frekanslı uyarım sırasında T3 infüzyonunun DFU sonrasında PS genliğini SF infüzyonuna göre azaltmadığı, DFU sırasında T3 infüzyonunun ise PS genliğini SF infüzyonuna göre azalttığı belirlendi. Bu sonuçlar, önceden var olan sinapslarda güçlendirilmiş sinaptik kuvvetin veya etkinliğin EPSP yanıtlarındaki zayıflamanın T4 veya T3 hormonu tarafından değiştirilmediğini göstermektedir. Bununla birlikte, sinaptik olmayan bir plastisiteyi yansıtan PS genliği üzerine T4 hormonunun etkisi olduğu görülmektedir.

Kaynaklar

- Bliss TV, Lomo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of physiology* 1973;232:331-56
- Dudek SM, Bear MF. Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. In: ed. editor^editors., World Scientific, 1995 Date: p. 200-4.
- Barrionuevo G, Schottler F, Lynch G. The effects of repetitive low frequency stimulation on control and "potentiated" synaptic responses in the hippocampus. *Life sciences* 1980;27:2385-91
- D Skaper S, Facci L, Zusso M, et al. Synaptic plasticity, dementia and Alzheimer disease. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)* 2017;16:220-33
- Wang F, Geng X, Tao H-Y, et al. The restoration after repetitive transcranial magnetic stimulation treatment on cognitive ability of vascular dementia rats and its impacts on synaptic plasticity in hippocampal CA1 area. *Journal of molecular neuroscience* 2010;41:145-55
- Martí-Carbonell MA, Garau A, Sala-Roca J, et al. Effects of adult dysthyroidism on the morphology of hippocampal granular cells in rats. *Acta Neurobiol Exp* 2012;72:230-9
- Sala-Roca J, Estebanez-Perpina E, Balada F, et al. Effects of adult dysthyroidism on the morphology of hippocampal neurons. *Behavioural brain research* 2008;188:348-54
- Taşkın E, Artis AS, Bitiktas S, et al. Experimentally induced hyperthyroidism disrupts hippocampal long-term potentiation in adult rats. *Neuroendocrinology* 2011;94:218-27
- Pavlidis C, Westlind-Danielsson A, Nyborg H, et al. Neonatal hyperthyroidism disrupts hippocampal LTP and spatial learning. *Experimental brain research* 1991;85:559-64
- Alzoubi K, Aleisa A, Alkadhi K. Adult-onset hypothyroidism facilitates and enhances LTD: reversal by chronic nicotine treatment. *Neurobiology of disease* 2007;26:264-72
- Tan B, Bitiktas S, Kavraal Ş, et al. Low-frequency stimulation induces a durable long-term depression in young adult hyperthyroid rats: the role of p38 mitogen-activated protein kinase and protein phosphatase 1. *Neuroreport* 2016;27:640-6
- Bitiktas S, Tan B, Kavraal Ş, et al. The effects of intra-hippocampal L-thyroxine

infusion on long-term potentiation and long-term depression: A possible role for the $\alpha\beta$ integrin receptor. *Journal of neuroscience research* 2017;95:1621-32

- Chaudhury D, Wang LM, Colwell CS. Circadian regulation of hippocampal long-term potentiation. *Journal of biological rhythms* 2005;20:225-36
- Caria MA, Dratman MB, Kow LM, et al. Thyroid hormone action: nongenomic modulation of neuronal excitability in the hippocampus. *Journal of neuroendocrinology* 2009;21:98-107
- Bradley DJ, Young WS, Weinberger C. Differential expression of alpha and beta thyroid hormone receptor genes in rat brain and pituitary. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1989;86:7250-4
- Gilbert M, Sui L. Dose-dependent reductions in spatial learning and synaptic function in the dentate gyrus of adult rats following developmental thyroid hormone insufficiency. *Brain research* 2006;1069:10-22
- Artis A, Bitiktas S, Taşkın E, et al. Experimental hypothyroidism delays field excitatory post-synaptic potentials and disrupts hippocampal long-term potentiation in the dentate gyrus of hippocampal formation and Y-maze performance in adult rats. *Journal of neuroendocrinology* 2012;24:422-33
- Dutar P, Bassant M-H, Senut M-C, et al. The septohippocampal pathway: structure and function of a central cholinergic system. *Physiological reviews* 1995;75:393-427
- Gould E, Allan MD, McEwen BS. Dendritic spine density of adult hippocampal pyramidal cells is sensitive to thyroid hormone. *Brain research* 1990;525:327-9
- Cook CB, Kakucska I, Lechan RM, et al. Expression of thyroid hormone receptor beta 2 in rat hypothalamus. *Endocrinology* 1992;130:1077-9
- Bassett J, Harvey CB, Williams GR. Mechanisms of thyroid hormone receptor-specific nuclear and extra nuclear actions. *Molecular and cellular endocrinology* 2003;213:1-11
- Davis PJ, Davis FB. Nongenomic actions of thyroid hormone. In: ed. editor^editors., Springer, 2003 Date: p. 19-37.
- Davis PJ, Davis FB. Nongenomic actions of thyroid hormone on the heart. *Thyroid* 2002;12:459-66
- Davis PJ, Davis FB, Cody V. Membrane receptors mediating thyroid hormone action. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 2005;16:429-35
- Shi YB, Wong J, Puzianowska-Kuznicka M, et al. Tadpole competence and tissue-specific temporal regulation of amphibian metamorphosis: Roles of thyroid hormone and its receptors. *Bioessays* 1996;18:391-9
- Kavok NS, Krasilnikova OA, Babenko NA. Thyroxine signal transduction in liver cells involves phospholipase C and phospholipase D activation. Genomic independent action of thyroid hormone. *BMC cell biology* 2001;2:5
- Davis PJ, Davis FB, Lawrence WD. Thyroid hormone regulation of membrane Ca²⁺-ATPase activity. *Endocrine research* 1989;15:651-82
- Lakatos P, Stern PH. Evidence for direct non-genomic effects of triiodothyronine on bone rudiments in rats: stimulation of the inositol phosphate second messenger system. *Acta endocrinologica* 1991;125:603-8
- Lin H-Y, Yen PM, Davis FB, et al. Protein synthesis-dependent potentiation by thyroxine of antiviral activity of interferon- γ . *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 1997;273:C1225-C32
- Lin H-Y, Davis FB, Gordinier JK, et al. Thyroid hormone induces activation of mitogen-activated protein kinase in cultured cells. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 1999;276:C1014-C24
- Storey NM, O'Bryan JP, Armstrong DL. Rac and Rho mediate opposing hormonal regulation of the ether-a-go-go-related potassium channel. *Current Biology* 2002;12:27-33
- Davis PJ, Shih A, Lin H-Y, et al. Thyroxine promotes association of mitogen-activated protein kinase and nuclear thyroid hormone receptor (TR) and causes serine phosphorylation of TR. *Journal of Biological Chemistry* 2000;275:38032-9
- Shih A, Lin H-Y, Davis FB, et al. Thyroid hormone promotes serine phosphorylation of p53 by mitogen-activated protein kinase. *Biochemistry* 2001;40:2870-8

34.Jones K, Brubaker J, Chin W. Evidence that phosphorylation events participate in thyroid hormone action. *Endocrinology* 1994;134:543-8

35.Leitman DC, Costa CH, Graf H, et al. Thyroid hormone activation of transcription is potentiated by activators of cAMP-dependent protein kinase. *Journal of Biological Chemistry* 1996;271:21950-5

36.Ting Y-T, Bhat MK, Wong R, et al. Tissue-specific stabilization of the thyroid hormone β 1 nuclear receptor by phosphorylation. *Journal of Biological Chemistry* 1997;272:4129-34

37.Katz D, Reginato MJ, Lazar MA. Functional regulation of thyroid hormone receptor variant TR alpha 2 by phosphorylation. *Molecular and cellular biology* 1995;15:2341-8