

OKSİTOSİN'İN BELLEK ÜZERİNE ETKİSİ (I) *

Banu Ocakçıoğlu**

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 çeşitli çalışmalarda gerek bu hipofiz hormonlarının gerekse hipofiz hormonlarını kontrol eden hipotalamik nörohormonların çeşitli beyin bölgelerinde de buldukları gösterilmiştir. Son yıllarda, beyinde dağılımları, nöronal ve nöron dışı sentezlenmeleri, salınımları ve etkiledikleri reseptörleri yoğun olarak araştırılarak bunların çeşitli beyin fonksiyonlarını modüle edici rolleri üzerinde de önemle durulmakta ve bu konuda pek çok araştırma yapılmaktadır (7,11,13).

Nitekim nörohipofizden salınan ve periferik yapılardaki fizyolojik rolleri iyi bilinen vazopressin ve oksitosinin de bellek olayının düzenlenmesine katıldığı ve bu olayları module edebildiği konusu yoğun bir şekilde araştırılmakta ve pek çok bulgu yayınlanmaktadır (4,8,12).

Gerek oksitosin gerekse vazopressin peptid yapıda maddeler olup bunların nörohipofiz dışında beynin çeşitli bölgelerinde çeşitli nöronal yollarda sentezlenebildikleri ve buralardan salıverildikleri gösterilmiştir. İmmunohistokimyasal çalışmalar, oksitosinerjik yolların daha önce bilinenden daha kompleks ve geniş olduğunu göstermiştir. Oksitosini genel dolaşıma salgılayan klasik hipotalamonörohipofizeal sistem dışında, soması hipotalamusta bulunan ve aksonlarını posterior hipofiz bezinden başka yerlere de gönderen, oksitosin üreten nöronlar bulunmaktadır. Bu nöronların bazıları median eminens'e nörosek-

* Dr. Banu Ocakçıoğlu'nun Uzmanlık Tezi'nin bir parçasıdır.

** A. Ü. Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Araş. Görevlisi.

resyon yapmakta, diğerleri ise önbeyin, beyin sapı ve spinal ilik gibi ekstrapotalamik yerlerdeki diğer nöronlarla bağlantı yapmaktadır (7,10,16).

Bellek işlevlerinin modülasyonuna katılan oksitosinin karakteristik etkisi olarak amnezik aktivite gösterdiği belirtilmektedir. Bu nedenle, bellekteki rolü ile ilgili olarak araştırmamızda oksitosinin daha önce kazanılmış davranışın özel bir tipi olan koşullu davranışın kaybedilmesi (sönme-extinction) kriter olarak alındı ve etkileri incelenmeye çalışıldı.

MATERYAL VE METOD

Deneyler, ağırlıkları 25-40 gram olan erkek farelerde yapıldı. Hayvanlar, önce toplu haldе tutularak gıda ve su gereksinimleri kesintisiz olarak sağlandı. Deneyden 1 saat önce tek başlarına birer kafese yerleştirildiler. Deneyler daima günün aynı saatlerinde (9.30 - 17.00) yapıldı. Hayvanlar kontrol grubunda 12, diğerlerinde ise her birinde 8 tane fare bulunacak şekilde 4 ana gruba ayrıldılar.

Hayvanların şartlandırılmasında TKK otomatik «kaçışa koşullandırma aleti» (Takai and Co., Ltd. Japonya) kullanıldı.

Deneyler dört aşamada gerçekleştirildi :

a) Koşullu Cevap Kazanma (acquisition) Deneyi :

Daha önceki çalışmalarımızda geliştirdiğimiz yöntem kullanıldı (1). Burada sadece kondisyone stimulus (ışık) 6 sn. yerine 4 sn. olarak değiştirildi ve birbiri peşine uygulanan deneme sayısı 20 olarak seçildi. Son deney günü elde edilen cevaplar incelenerek bu hayvanların öğrenmesi gereken davranışı (koşullu kaçış cevabı) kazanmaları saptandı.

b) Koşullu Cevapların Saklanması :

Koşullu cevap kazanma deneyinde uygulanan öğretimden sonra on gün normal koşullar altında bekletilen farelere tekrar aynı koşullarda 20 denemelik uygulama yapıldı ve kazanılan cevabın saklanıp saklanmadığı (retrieval) değerlendirildi.

Sonuçlar, şekillerimizde Retansiyon (RET₁) olarak gösterildi.

c) Sönme Deneyi :

Kazanılan cevabın saklanıp saklanmadığını anlamak için yapılan retansiyon testinden (RET₁) 24 saat sonra sönme deneyine başlandı. Burada, koşullu stimulus olarak ışık uygulandı. Yani koşullandırıcı uyarının (conditioned stimulus) 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.

d) Retansiyon 2 (RET₂) ve Retansiyon 3 (RET₃) Testleri :

Birbirini izleyen üç günlük sönme deneyinin tamamlanmasından ve enjeksiyonların kesilmesinden 48 saat sonra retansiyon 2 testi (RET₂) uygulandı. Bu teste sadece koşullu stimulus olan ışık verilirken bundan 24 saat sonra yapılan retansiyon testinde (RET₃) ise koşullu stimulusun ardından koşulsuz stimulus olan elektrik şoku uygulandı. Yani RET₂ de sönme deneyi (c bendinde açıklanan), RET₃'de koşullu cevapların saklanması deneyi (b bendinde açıklanan) tekrarlanmış oldu.

Deneylerde, fizyolojik tuzlu su (% 0,9 NaCl solüsyonu) ve oksitosin (Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Gys-Pro-Leu-Gly-NH₂) (organon) preparatı kullanıldı.

Deneyin başlamasından 1 saat önce yapılan enjeksiyonlarda kullanılan ilaç farelere eşit hacim içinde (0,1 ml/10 gr) ve derialtı olarak verildi.

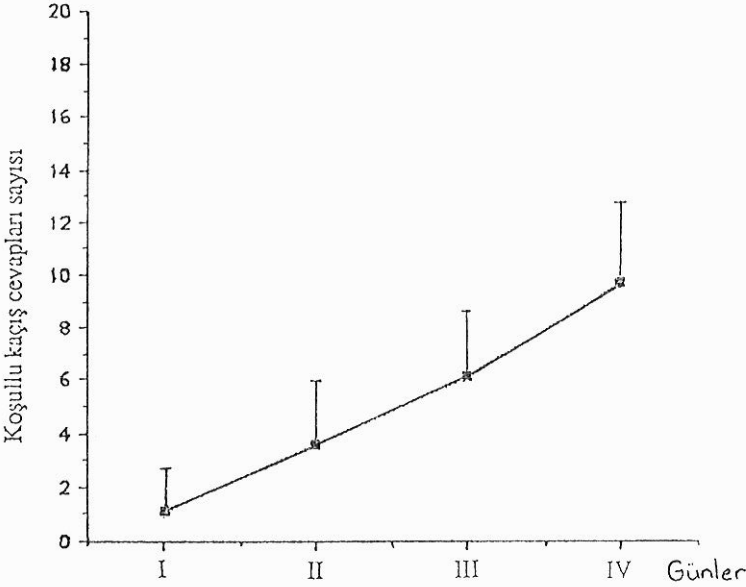
Fareler, kontrol (serum fizyolojik verilen) ve oksitosin grupları olmak üzere 2 ana gruba ayrıldılar ve oksitosin verilen grup verilen doza göre (25, 50, 100, 200 µg/kg) dört alt gruba ayrıldı.

İstatistiksel değerlendirmelerde iki yüzde arası farkın önem kontrolü «t testi» ve «Mann-Whitney U testi» kullanılmıştır.

BULGULAR

a) Koşullu Cevap Kazanma Deneyi : Koşullu cevap kazanma (acquisition) deneyinin dördüncü yani son gününde 20 denemenin ortalama olarak 9.68'sinde (% 48,3) koşullu kaçış cevabı gösterdikleri yani şokun geleceğini öğrendikleri saptandı (Şekil 1).

b) Koşullu Cevapların Saklanması : Koşullu cevapların saklanmasının incelendiği deneylerde 20 denemelik dönemlerde farelerin ortalama 9,08 koşullu kaçış cevabı gösterdikleri yani kazandıkları cevabı korudukları, unutmadıkları ve 10 gün önceye göre bir azalma olmadığı saptandı. Deneylerimizin bundan sonraki değerlendirilmesinde 9,08 ortalama cevap 100 kabul edildi ve değerlendirmeler bu cevaba göre yüzde değer olarak gösterildi.



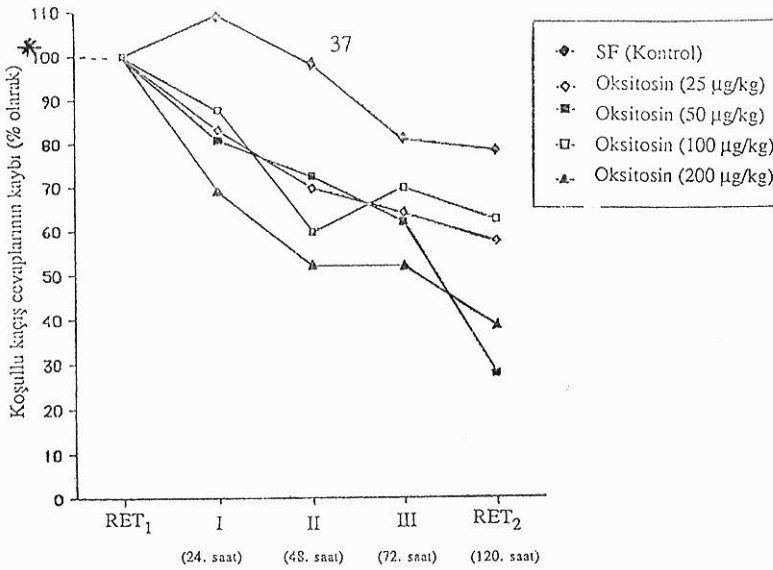
Şekil 1 - Koşullu kaçış cevaplarının öğrenilmesi.

c) Sönme Deneyi : Sönme deneyi sonuçları incelendiğinde fizyolojik tuzlu su (SF) verilen kontrol grubu farelerin koşullu kaçış cevaplarının birbirini izleyen üç günlük deney dönemlerinde (I, II ve III. günler) devamlı olarak azaldığı saptandı. Ancak azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Deneyden 1 saat önce Oksitosin enjekte ettiğimiz hayvanların cevaplarını incelediğimizde işe şu sonuçları elde ettik OXT (25, 50, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$) verilen farelerde, cevapların SF verilen kontrol grubuna göre daha düşük olduğu saptandı (Şekil 2) (Tablo 1).

d) Retansiyon 2 ve Retansiyon 3 Testleri :

Sönme deneyini takiben, ilaç vermeden kalan cevabın korunup korunmadığının incelendiği retansiyon 2 ve retansiyon 3 testlerinde



Şekil 2 - Oksitosin'in farklı dozlarının kazanılan davranışın kaybedilmesi (sönme, extinction) üzerine etkileri (* kazanılmış ve saklanmış maksimal cevap).

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

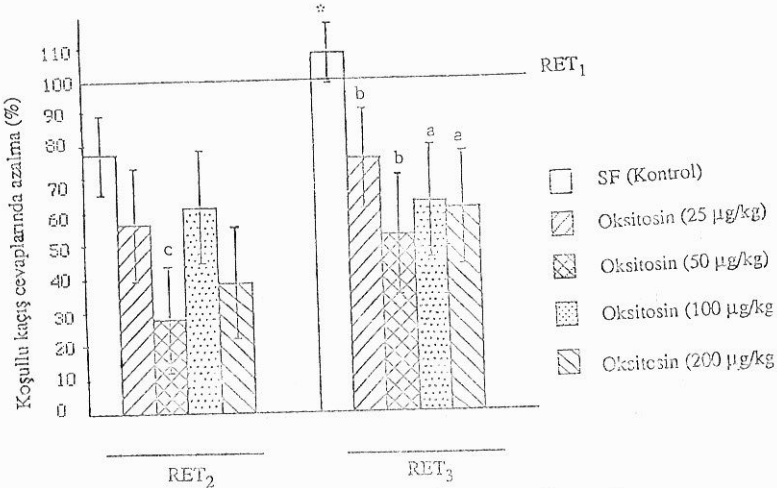
Maddeler	Dozları	*Sönmenin I. gün sonuçları (24 saat)	*Sönmenin II. gün sonuçları (48 saat)	*Sönmenin III. gün sonuçları (72 saat)	* RET 2 (120 saat)
Serum Fizyolojik (SF)		9,917 \pm 5.931	8.917 \pm 5.195	7.333 \pm 4.735	7.083 \pm 5.884
Oksitosin	25 µg/kg	9.290 \pm 5.392	7.750 \pm 6.430	7.125 \pm 7.472	6.375 \pm 5.951
	50 µg/kg	10.625 \pm 4.470	9.500 \pm 5.656	8.125 \pm 5.194	3.625 \pm 3.662
	100 µg/kg	9 \pm 6.347	6.125 \pm 4.051	7.125 \pm 5.357	6.375 \pm 5.290
	200 µg/kg	9.125 \pm 5.194	6.875 \pm 5.083	6.875 \pm 4.94	5.125 \pm 2.800

* Deneyden 1 saat önce enjeksiyon yapıldı.

● 48 saat bekletildikten sonra ilaç verilmeden deneye alındılar.

şu sonuçlar elde edildi : RET₂ ve RET₃ gruplarında elde edilen cevaplar karşılaştırıldığında, SF verilen kontrol gruplarında cevabın istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,01$) bir şekilde arttığı saptandı.

Oksitosin verilen grupların RET₂ cevapları incelendiğinde cevaplarda artma olmadığı, sönmenin devam ettiği bulundu. RET₃'te ise oksitosinin tüm dozlarında cevaplar kontrole göre anlamlı olarak düşüktü. Tüm sonuçlarda, cevaplarda azalma saptanmasına karşın doz cevap ilişkisi lineer değildi (Şekil 3).



Şekil 3 - Sönme deneyini takiben kalan cevabın saklanması.

İstatistiksel değerlendirme, yüzdeler arası farkın önem kontrolüne göre «t testi» ile yapıldı.

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

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

TARTIŞMA

Oksitosinin avoidance behavior (koşullu kaçış davranışı) ve dolayısıyla öğrenme üzerine etkileri ile ilgili birbirini tutmayan bulgular bildirilmiştir. Örneğin, oksitosinin avoidance davranışını etkilemediğini bildiren çalışmalar olduğu gibi (2,3) sönmeyi inhibe edebildiğini ya da (5) sönmeyi hızlandırabildiğini gösteren (13) veya iki yönlü etki gösterdiğini bildiren (2,6) çalışmalar da mevcuttur. Bul-

gulardaki bu farklılıklar, oksitosinin verilen dozuna, veriliş şekline, deneylerde uygulanan test yöntemlerine bağlı olarak ortaya çıkabilir (16).

Bununla beraber literatür verilerin tümü birlikte değerlendirildiğinde oksitosinin amnezik bir nöropeptid olduğu varsayımı daha önemle vurgulanmakta ve daha geçerli kabul edilmektedir (4,8,13). Bizim bulgularımız da bunu desteklemektedir.

Gerçekten farklı dozlarda (25, 50, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 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 durumunda 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.

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. Oksitosinin de bileşiklerle etkileştiği muhakkaktır. Bu tür etkileşimler oksitosin için çok iyi incelenmiş olmakla beraber oksitosinin yüksek dozlarda vazopressin V_1 reseptörlerini de uyarabilmeleri, oksitosin taşıyan nöronların terminallerinde opioid kappa reseptörlerinin bulunabilmesi, oksitosin etkilerinin opioidler ile module edilebileceğini veya vazopressin'in etkilerinin oksitosin ile module edilebileceğini göstermektedir. Özellikle opioidlerjik sistemlerin katekolaminerjik ve kolinerjik sistemleri de module edebileceği dikkate alındığında oksitosin ile elde edilen sonuçların karmaşıklığı ve her zaman sabit bulgular elde edilemeyişinin nedeni daha kolay anlaşılabilir (9,14,15).

ÖZET

Oksitosin'in iyi bilinen periferik etkilerine ek olarak öğrenme ve bellek olaylarında da bir role sahip olduğu görölmekte ve amnezik bir nöropeptid olduğu ileri sürölmektedir. Bu çalışmada oksitosin'in bir koşullu kaçış davranışının sönmesi üzerine etkisi araştırılmıştır.

Sönme deneylerinden bir saat önce oksitosin (25, 50, 100, 200 µg/kg) enjekte edilen hayvanlar kontrol grubu olarak serum fizyolojik uygulananlarla karşılaştırıldıklarında daha düşük cevaplar göstermişlerdir.

Kontrol grubunda, RET₂ ve RET₃ test sonuçları karşılaştırıldığında cevapların anlamlı olarak yükseldiği gözlenirken oksitosin enjekte edilen gruplar sönmenin devam ettiğini göstermiştir. Bu gözlemler oksitosinin amnezik etkisini desteklemektedir.

SUMMARY**The Effect of Oxytocin on Memory**

It appears that in addition to well known peripheral effects, oxytocin also has a role in learning and memory processes and it has been suggested that oxytocin might be an amnesic neuropeptide. In the present study we investigated the effect of oxytocin on the extinction of a conditioned avoidance behavior.

Animals which were injected oxytocin (25, 50, 100, 200 µg/kg) 1 hr. before the extinction tests showed lower responses when compared to saline administered animals as control groups. Extinction tests were followed by RET₂ and RET₃ tests which were performed without injection.

In the saline injected control group, it was observed that the responses were significantly increased when the RET₂ and RET₃ test results were compared. On the other hand oxytocin injected groups results showed the maintenance of extinction (i.e-disturbance of retrieval). All these observations supports the amnesic effect of oxytocin.

Key words : Amnesia, extinction, memory, oxytocin.

KAYNAKLAR

1. Ayhan S : Sentetik met-enkefalin benzeri FK. 33824'ün sıçanlarda şartlı kaçış cevapları kazanılmasına etkisi. Ankara Tıp Bülteni 6 : 177-188, 1984.
2. Bohus B Urban I Van Wimersma 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.
3. De Wied D : Long term effect of vasopressin on the maintenance of a conditioned avoidance response in rats. *Nature* 232 : 58-60, 1971.
4. Demitrack Mark A Gold Philip W : Oxytocin : neurobiologic considerations and their implications for affective illness. *Prog. Neuropsychopharmacol and Biol. Psychiat.* 12 : 23-51, 1988.
5. Ferrier BM Gennel DJ Devlin MC : Influence of oxytocin on human memory processes. *Life Sciences* 27 : 2311-2317, 1980.
6. Gaffori DJW De Wied D : Bimodal effect of oxytocin on avoidanc ebehavior 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.
7. Hashimoto H Fukvi K Noto T Makajima T Kato N : Distribution of vasopressin and oxytocin in rat brain. *Endocrinol. Japon.* 32 : 89-97, 1985.
8. Kovacs Gabor L : The behavioral physiology of vasopressin and oxytocin. *Adv. Biochem. Psychopharmacol.* 43 P : 115-128, 1987.
9. Maysinger D Vermes I Tilders F Seizinger BR Gramsch C Holtt V Herz A : Differential effects of various opioid peptides on vasopressin and oxytocin release from the rat pituitary in vitro. *Nauryn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 328 : 191-195, 1984.
10. Valiquette G Haldar J Abrams GM Nilaver G Zimmerman EA : Extrahypothalamic neurohypophysial peptides in the rat central nervous system. *Brain. Research* 331 : 176-179, 1985.
11. Van Ree JM Bohus B Versteeg DHG De Wied D : Neurohypophyseal principles and memory processes. *Biochemical Pharmacology* 27 : 1793-1800, 1978.
12. Van Wimersma Greidanus Tj B Jolles J De Wied D : Hypothalamic neuropeptides and memory. *Acta Neurochirurgica* 75 : 99-105, 1985.
13. Van Wimersma Greidanus Tj B Burbach JRH Veldhuis HD : Vasopressin and oxytocin their presence in the central nervous system and their functional significance in brain processes related to behavior and memory. *Acta Endocrinologica Supp.* 276 : 85-94, 1986.

14. 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.
15. Zhao BG Chapman C Bicknel RJ : Functional K-opioid receptor on oxytocin and vasopressin nerve terminals isolated from the rat neurohypophysis. *Brain* 462 : 62-66, 1988.
16. Zimmerman EA Nilaver G Hov-Yu A Silverman AS : Vasopressinergic and oxytocinergic pathways in the central nervous system. *Federation Proc.* 43 : 91-96, 1984.