

Canlı Hipokampal Kesitlerin CA1 Piramidal Bölgesinden Kayıt Edilen Çok Tepeli Alan Potansiyeli Aktivitesinin (Epilepsi Aktivitesinin) Histamin ve Spermin ile Modülasyonu

Modulation of Multiple Peak Post-Synaptic Field Potential Activity (Epileptiform Activity) by Histamine and Spermine in Hippocampal Slices

Hale SAYBAŞILI¹

Epilepsi 1996;2(3):127-133

Bu çalışmada sıçan beyni canlı hipokampal kesitlerin CA1 bölgesinden ölçülen ve magnezyum iyonunun konmadığı yapay beyin sıvısı ortamında, Schaffer kollateralin düşük frekansta uyarılması ile oluşturulan çok tepeli alan eksitator post-sinaptik potansiyel aktivitesinin histamin ve spermin ile modülasyonu incelenmiştir. Histamin endojen bir madde olup, merkezi sinir sisteminin önemli modulatorlerindedir. Bu çalışmada düşük konsantrasyondaki histamin ve spermin, çok tepeli alan EPSP aktivitesini artırırken yüksek konsantrasyondaki histamin ve spermin, çok tepeli alan EPSP aktivitesini düşürmüştür. Histaminin NMDA aktivitesi üzerinde düşük konsantrasyonda gösterdiği bu artış hipokampusta oluşan plastisite aktivitelerinde önemli olabilir.

Anahtar Sözcükler: Hipokampus, NMDA, çoklu alan EPSP, epilepsi aktivitesi, histamin, spermin.

Sıçan beyinde önden arkaya doğru uzanan ve silindirik bir yapı olan hipokampus, talamusu çevreler. Enlemesine alınan hipokampal kesitlerde üçlü sinir uyarı zinciri korunur. Üçlü sinir uyarı zinciri bağlantısı granüler hücreler, CA3 piramidal hücreler ve CA1 piramidal hücreler arasındadır. CA3 ve CA1 piramidal hücreler arasındaki iletişim Schaffer sinir demeti ile sağlanmaktadır. Bu sinir bağlantısının korunması sonucunda, seçilen sinir lifleri uyarılarak belirli bölgelerden yanıt alınabilir. Hipokampus nörofizyolojik çalışmalarda yoğun olarak kullanılmaktadır. Bu yapının öğrenme ve hafıza aktivitelerinin yanı sıra bazı nöropatolojik hastalıklarla, örneğin epilepsi ile, bağlantısı olduğu bilinmektedir.^{1,2}

Hipokampusta glutamik asitin salınmasıyla dört tip reseptör grubu; N-methyl-D-aspartik asit (NMDA), α -amino 3-hidroksi-5-metil-4-isoksazol propionik asit (AMPA), metabotropik ve kainat re-

In this study, modulation of multiple peak field excitatory postsynaptic potential by histamine and spermine was investigated, which was induced in low frequency in the absence of magnesium ion by stimulating the Schaffer collaterals and recorded from CA1 pyramidal region of rat hippocampal slices. Histamine is an endogenous monoamine and an important modulator of the central nervous system. In this study, low and high concentrations of histamine and spermine potentiated and depressed the multiple peak field EPSP, respectively. The potentiation caused by low concentration of histamine on NMDA activity may be important in the plasticity activities in the hippocampus.

Key Words: Hippocampus, NMDA, multiple field EPSP, epileptiform activity, histamine, spermine.

septörleri uyarılır. AMPA ve kainat reseptörleri NMDA olmayan reseptör grubu olarak da anılmaktadır. NMDA olmayan reseptörler hücrelerin hızlı depolarize olmalarını sağlayarak NMDA reseptörlerinin aktivasyonu için gereken koşulları sağlar. Uzun süren depolarizasyon şartlarında, hücrenin dinlenme şartlarında magnezyum iyonu ile kapatılmış olan NMDA reseptörleri açılarak oluşan sinyali daha etkili kılarlar. AMPA reseptörleri sodyum ve potasyum iyonlarına geçirgen iken, NMDA reseptörleri sodyum, potasyum ve kalsiyum iyonlarına geçirgendir. NMDA reseptörleri APV (D-2-aminophosphonovalerate) ile, NMDA olmayan reseptörler ise CNQX (6-cyano-7 nitroquinoxaline-2,3-dione) veya DNQX (6,7-dinitroquinoxaline-2,3-dione) ile bloke edilir. NMDA reseptörü üzerinde kanalın açılışını kontrol eden modülasyon bölgeleri vardır. Bu kontrol bölgeleri şöyle sıralanabilir: Agonistin bağlandığı bölge (glutamat veya NMDA'ya duyarlı bölge); glisin bağlandığı bölge; hidrojen iyonuna duyarlı bölge; poliaminlerin bağlandığı bölge; çinko iyonunun bağlandığı bölge; magnez-

¹Boğaziçi Üniversitesi, Biyomedikal Mühendislik Enstitüsü

yum iyonunun bağlandığı bölge; fensiklidin, ketaminin ve memantinin bağlandığı bölge. NMDA kanalının modülasyonu bu bölgelerle etkileşen maddeler tarafından sağlanmaktadır.³

Histamin endojen bir madde olup, merkezi sinir sisteminin önemli modulatorlerindedir. Beyindeki histaminin kaynağı histidin rezervleridir. Histamin, beyinde L-histidinin dekarboksilasyonu ile oluşur. Histidin beyindeki konsantrasyonunun 60 μ M düzeyinde olduğu ve histidin yüklemesinin ardından beyindeki histamin düzeyinin arttığı gözlenmiştir. Histaminerjik nöronlar, posterior hipotalamusun tuberomammillar nükleus bölgesinde bulunur ve buradan beyinin diğer bölgelerine, medial önbeyin sinir demeti yolu ile dağılır.⁴ Beyinde histaminerjik sistemin en yoğun ulaştığı bölgenin hipokampus olduğu bilinmektedir. Histamin reseptörleri antidepresan ilaçların etki hedefi olarak gösterilmiştir.^{5,6} Beyinde üç klasik histamin reseptörünün (H_1 , H_2 ve H_3) varlığı gösterilmiştir. Üç reseptör tipi de hücre içi ikincil mekanizmaları harekete geçirerek etki ederler. H_1 reseptörleri genellikle H_2 reseptörlerinin aktivitelerini destekler.⁷ H_1 ve H_2 reseptörleri etkilerini G-proteinleri aktive ederek gösterirler. H_1 reseptörleri fosfolipase C üzerinden aktivasyon yaparak, inositol 1,4,5 trisfosfat ve diasilgliserol oluşmasını sağlar. H_2 reseptörleri adenilatsiklazı aktive ederek siklik AMP'yi oluşturur; böylece kalsiyum iyonuna bağımlı potasyum geçirgenliğini engelleyerek hücre akomodasyonunu durdururlar, bunun sonucunda hücrenin daha uzun süre depolarize durumda kalmasını sağlarlar.⁸ Histaminin bu etkisinin, öğrenme ve hafıza aktiviteleriyle (plastisite aktiviteleri) ilgisi olduğu sınımlanmaktadır. Örneğin, histidinemide, histaminin ön maddesi olan histidin idrar yoluyla yoğun kaybı sonucunda, bu hastalığın gözlemlendiği çocuklarda zeka geriliğine de raslanmaktadır. Ayrıca histaminin intraventriküler uygulanması sonucunda yaşlı sıçanlarda hafızanın güçlendiği gözlenmiştir.⁹ Histamin H_3 reseptörleri ise otokontrolü sağlar. İzole edilen hipokampal CA1 piramidal hücrelerinde, histaminin klasik reseptörlerinin etkisi dışında NMDA akımını etkilediği ve NMDA akımının histamin uygulanması ile arttığı gösterilmiştir. Aynı çalışmalarda ortama spermin konulması ile bu artışın engellendiği gösterilmiştir.¹⁰

Alan aktivitesi kayıt yöntemi (field potential recording) hücrelerin toplu aktivitelerini kayıt etmek için kullanılan bir yöntemdir. CA1 piramidal hücre gövdelerinden ölçülen alan aktivitesini, hücre gövdelerinde oluşan populasyon tepe (population spike) aktivitesi ve hücre dendritlerinde oluşan alan postsinaptik potansiyel aktivitesi (field excitatory postsynaptic potential) oluşturur. Populasyon tepe aktivitesi, hücrelerin toplu aksiyon po-

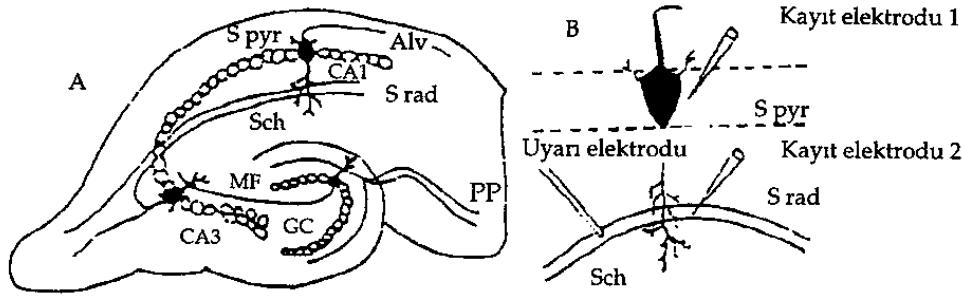
tansiyeli yanıtıdır. Benzer şekilde, alan postsinaptik potansiyel aktivitesi de dendritlerde oluşan aktivitelerin toplamıdır. Alan aktivitesi kayıtlarında sink (çökme) negatif yönde gösterilir ve aktif bölgeyi belirtirken, source (kaynak) pozitif yönde gösterilir ve aktif olmayan bölgeden kayıt edilen aktivite olarak kabul edilir.

Bu çalışmada histamin ve sperminin, Schaffer kollateral-kommüsural sinir demeti uyarılması ile CA1 bölgesindeki stratum piramidale ve stratum radiatum aktiviteleri üzerindeki etkisi gözlenmiştir. Adı geçen bölgelerde sinir demeti uyarılması ile oluşan NMDA aktivitesini belirginleştirmek (çok tepeli populasyon spike aktivitesini oluşturmak için) perfüzyon sistemine magnezyum iyonu konmamıştır. Magnezyum iyonunun ortamda bulunmadığı şartlarda düşük frekans (örneğin 0.1 Hz) uygulaması sonucunda da NMDA reseptörleri voltaja olan duyarlılıklarını kaybederek aktif duruma geçebilir. Bu aktivite tipi kesitlerde, epilepsi aktivitesi olarak kabul edilmektedir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada 3-4 haftalık Wistar erkek sıçanlar kullanılmıştır. 3-4 haftalık sıçanların kullanılmasının nedeni, CA1 piramidal hücre gövdelerinden "patch clamp" kayıt yöntemi kullanılarak yapılan tek hücre kayıtlarından elde edilen sonuçlarla uyumluluk sağlanmasıdır. Giyotinle kafaları kesilen sıçanların beyinleri çıkartılıp, soğutulmuş yapay beyin sıvısı (YBS) içine konulmuştur. Hipokampus beyin diğer bölgelerinden ayrılarak izole edildikten sonra, McIlwain doku kesici ile 400-450 μ m kalınlığında transversal hipokampal kesitler alınmıştır. Kesitler alınırken hipokampus sürekli olarak oksijenlendirilmiş YBS ile ıslatılmıştır. Hipokampal kesitler bir saat süreyle yapay beyin sıvısı içinde beklendikten sonra deneye başlanmıştır. Kesitler ölçüm süresince, ısısı 37°C'de tutulan YBS ile perfüze edilmiştir. Yapay beyin sıvısının kompozisyonu şöyledir: 125 mM NaCl, 3.75 mM KCl, 26 mM NaHCO₃, 1.2 mM KH₂PO₄, 1.3 mM MgCl, 2.0 mM CaCl₂, 10 mM glukoz. Yapay beyin sıvısı sürekli karbojen (%95 O₂, %5 CO₂) ile oksijenlendirilmiştir. Bu koşullar altında içinde 80 ml YBS olan bir beher içinde korunan beyin kesitleri 12 saat veya daha uzun süre canlı tutulabilmektedir.

Transversal hipokampal kesitler, Schaffer kollateral-kommüsural sinir demetinden bipolar uyarı elektrodu ile düşük frekans (0.1 Hz) uygulanarak uyarılmıştır. Uygulanan uyarının şiddeti 10-60 μ A arasında değişirken genişliği ise 100 μ s'dir. Bu uyarı protokolü, kontrol ölçümlerinde çoklu populasyon tepe aktivitesi oluşturmamıştır. Kullanılan stimülatör Devices 2533'dür. Stratum piramidale ve stratum radiatum bölgelerinden yaklaşık 0.5 M Ω uç



ŞEKİL 1

Transvers hipokampal kesit. A. Hipokampustaki üçlü uyarı zinciri, Alv= alveus; GC= granüler hücreler; MF= mossy sinir demeti; PP= perforant sinir demeti; CA3= Kornu Ammon 3'deki piramidal hücreler; CA1= Kornu Ammon 1'deki piramidal hücreler; Sch= Schaffer kollateral sinir demeti; Spyr= Stratum piramidale; S rad= Stratum radiatum.

B. Hipokampal kesitin CA1 bölgesinde kayıt ve uyarı elektrotlarının konumları. Sabit akım sağlayan uyarı elektrodu Schaffer kollateral bölgesine yerleştirildikten sonra (uyarı elektrodu), yanıt elektrotları Stratum piramidale (kayıt elektrodu 1) ve Stratum radiatum'a (kayıt elektrodu 2) yerleştirilmiştir. Populasyon tepesi aktivitesi ve alan postsinaptik potansiyel aktivitesi stratum piramidaleden kayıt edilirken, dendrit uzantılarının aktivasyonunun oluşturduğu alan potansiyel aktivitesi stratum radiatumdan kayıt edilmiştir.

direnci olan ve YBS doldurulmuş cam elektrotlar kullanılarak kayıt alınmıştır (Şekil 1).

Kesitlerin canlı olduklarının anlaşılması için, önce ölçüm yapılan bölgede populasyon spike aktivitesi ve alan post sinaptik potansiyel aktivitesi gözlemlendikten sonra, normal perfüzyon sıvısı magnezyum iyonunun olmadığı YBS ile değiştirilmiştir. Çok tepeli populasyon tepe (multiple population spike) aktivitesi gözlemlendikten sonra yaklaşık bir saat süreyle, aktivitenin doyması ve stabil duruma gelmesi beklenmiştir. Daha sonra kontrol yanıtı kaydedilmiştir. Populasyon tepe yükseklikleri, dalgaların başlangıçları ile eksi yöndeki tepe noktaları arası ölçülerek belirtilmiştir. Kayıtlar birbirini takip eden sekiz ölçümün ortalaması alınarak elde edilmiştir. Ortalama sonucunda raslantısal oluşan gürültü sinyalleri azalırken, zamana bağlı olarak gelen uyarılmış aktivitenin yüksekliği korunmuştur. Kayıt için kullanılan yazıcı Physiograph MK-IV-P'dir (Narco Biosystems). Şekillerdeki yatay eksen zamanı (milisaniye), dikey eksen potansiyeli (milivolt) göstermektedir.

Histamin ve spermin perfüzyon sıvısına farklı konsantrasyonlarda (10mM ve 1mM) eklenmiştir. DNQX veya CNQX (12µM), perfüzyon sıvısına NMDA reseptörlerinden kaynaklanmayan aktiviteyi durdurmak için eklenmiştir.

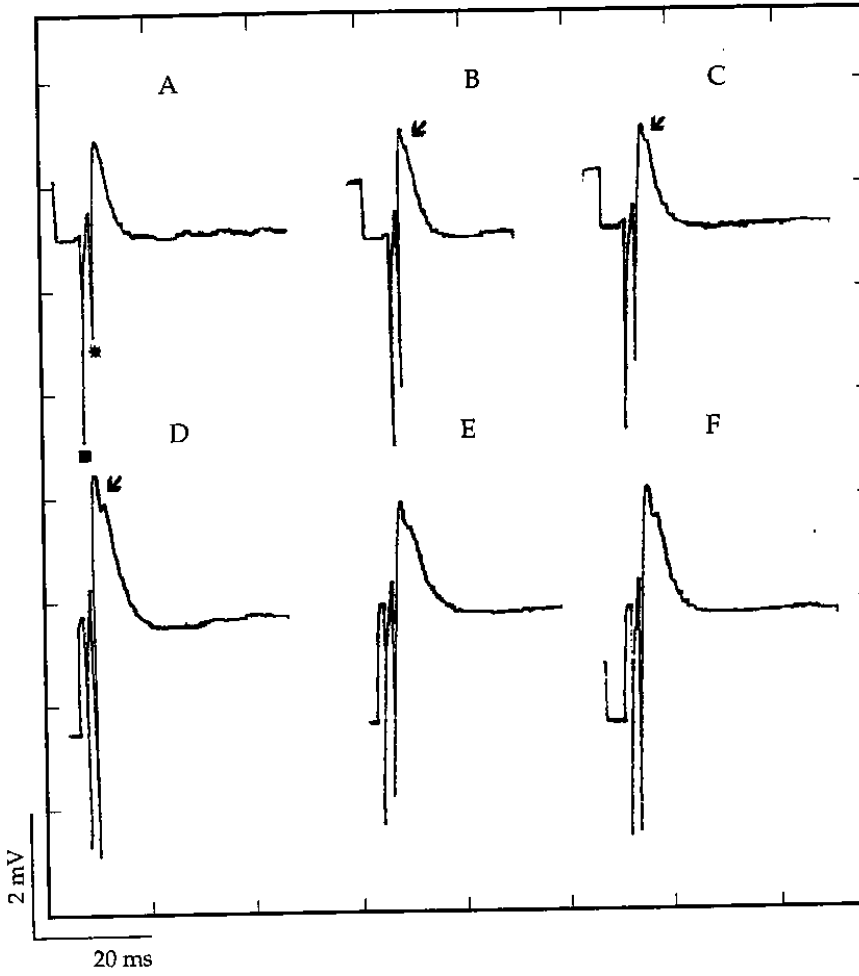
BULGULAR

Stratum piramidale'den perfüzyon sıvısı YBS iken kayıt edilen aktivite, populasyon tepe aktivitesi ve alan postsinaptik potansiyel aktivitesinden oluşmaktadır (Şekil 2A). Histamin (10 µM) perfüzyon

sıvısına eklendikten beş dakika sonra populasyon tepe yüksekliği artmış ve alan post sinaptik aktivitesine bir tepelik eklenmiştir (Şekil 2B). Yanıtın tam yüksekliğe erişmesi için yaklaşık onbeş dakika geçmesi gerekmiştir (Şekil 2C). Histamin kesitten yıkanıp, uyarı şiddeti tepelerin daha iyi gözlemlenmesi için arttırıldıktan sonra perfüzyon sıvısına spermin (10 µM) konmuştur (Şekil 2D). Spermin populasyon tepe ve alan postsinaptik aktivitesini düşürmüştür (Şekil 2E). Perfüzyon sıvısından sperminin yıkanmasıyla aktivite kontrol kayıtlarındaki yüksekliğine ulaşmıştır (Şekil 2F). Histaminin oluşturduğu bu potansiyasyon etkisi kayıt alındığı sürece gözlenmiştir.

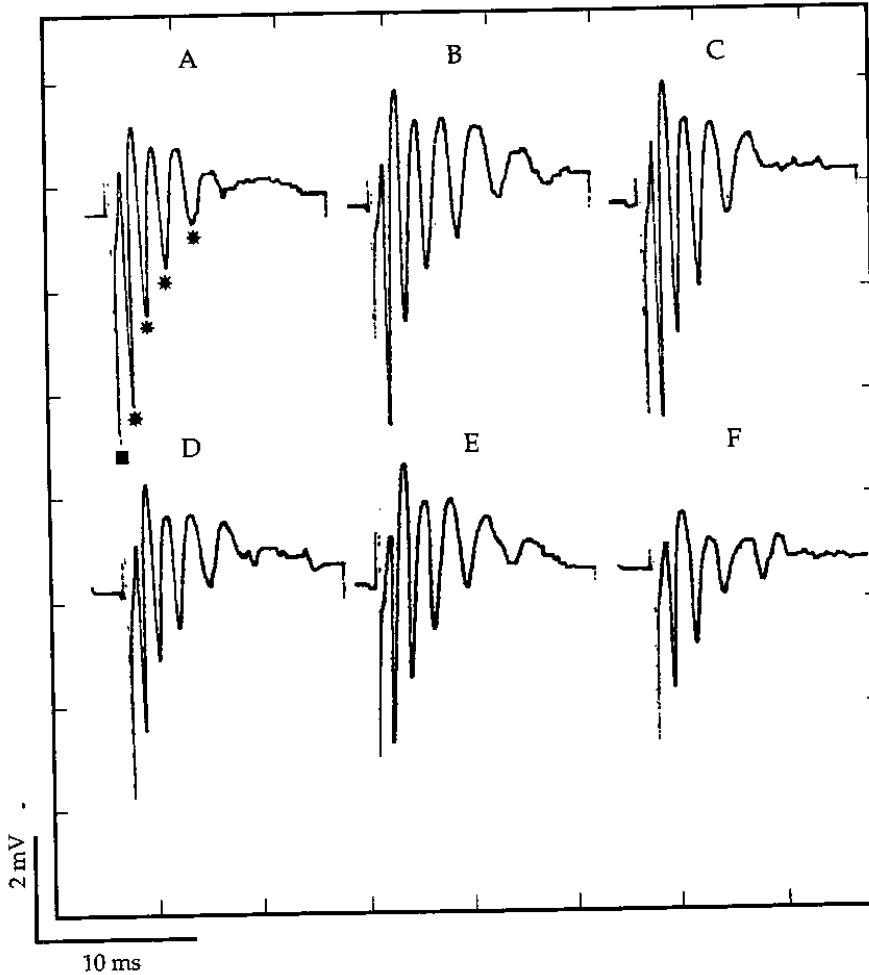
Yapay beyin sıvısı akışında, önce populasyon tepesi ve alan postsinaptik potansiyel aktivitesi gözlemlendikten sonra, perfüzyon sıvısı magnezyum iyonunun olmadığı sıvı ile değiştirilmiş ve çok tepeli populasyon tepe aktivitesi gözlenmiştir (Şekil 3A). Ortama histamin (10 µM) eklenmesiyle geç gelen tepe sayısında ve tepe yüksekliklerinde artış gözlenmiştir (Şekil 3B). Histaminin yüksek konsantrasyondaki (1mM) etkisi ise aktiviteyi azaltıcı yöndedir (Şekil 3C). Histamin perfüzyon sıvısından yıkandıktan sonra kontrol kayıtları alınmıştır (Şekil 3D). Sperminin düşük konsantrasyonda (50 µM) ortama eklenmesiyle populasyon tepe aktivitesi artmıştır (Şekil 3E). Yüksek konsantrasyonda spermin (1 mM) eklenmesiyle ise aktivite azalmıştır (Şekil 3F). Bu deneyin sonucu Şekil 4'de gösterilmiştir.

Şekil 5'de gösterilen aktiviteler stratum radiatumdan kaydedilmiştir. Şekil 5A'da yapay beyin sıvısı ortamında oluşan alan postsinaptik potansiyel aktivitesi gösterilmektedir. Perfüzyon sıvısı



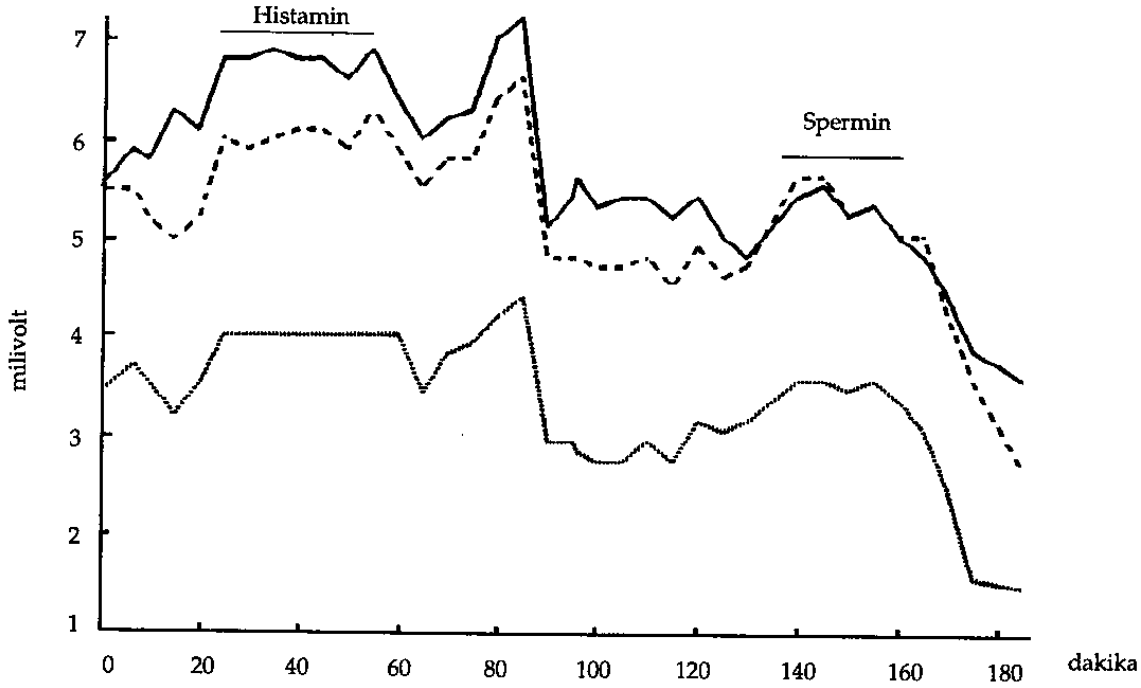
ŞEKİL 2

Yapay beyin sıvısı ortamında Schaffer kollateral uyarımı ile stratum piramidalede alınan kayıt. A. Kontrol yanıtı; B. Histaminin ($10 \mu\text{M}$) perfüzyon sistemine eklenmesinden 5 dakika sonra alınan kayıt; C. Histaminin uygulanışından 15 dakika sonra kayıt edilen yanıt; D. Histaminin sistemden yıkanmasından sonra uyarı şiddeti artırılarak kontrol kaydı alınmıştır; E. Sperminin ($10 \mu\text{M}$) perfüzyon sistemine eklenmesinden sonra alınan kayıt; F. Sperminin sistemden yıkanmasından sonra kayıt edilen yanıt. Kare artefaktı, yıldız populasyon tepesini, ok ise histaminin etkisiyle eklenen tepeyi göstermektedir.



ŞEKİL 3

Magnezyum iyonunun olmadığı yapay beyin sıvısı ortamında Schaffer kollateral uyarımı ile stratum piramidalede alınan kayıt. A. Hipokampal kesiti magnezyumsuz yapay beyin sıvısı perfüzyonunda 40 dakika beklettikten sonra alınan kontrol kaydı; B. Ortama düşük konsantrasyonda histamin ($10 \mu\text{M}$) uygulandıktan sonra alınan kayıt; C. Ortama yüksek konsantrasyonda histamin (1mM) uygulandıktan sonra alınan kayıt; D. Histaminin perfüzyon sisteminden yıkanmasından sonra alınan kontrol kaydı; E. Perfüzyon sistemine düşük konsantrasyonda spermin ($50 \mu\text{M}$) eklenmesiyle alınan kayıt; F. Ortama yüksek konsantrasyonda spermin (1mM) eklenmesinden sonra kaydedilen yanıt. Kare, artefaktı; yıldız ise çok tepeli alan aktivitesini göstermektedir.



ŞEKİL 4

Magnezyum iyonunun olmadığı yapay beyin sıvısı ortamında histamin ve sperminin stratum piramidale aktivitesi üzerindeki etkisi. Sürekli çizgi çok tepeli alan aktivitesindeki negatif polaritedeki birinci tepeli alan; kesik çizgi çok tepeli alan aktivitesindeki negatif polaritedeki ikinci tepeli alan; noktalı çizgi ise çok tepeli alan aktivitesindeki negatif polaritedeki üçüncü tepeli alanı göstermektedir. Histamin uygulanmasıyla her üç tepeli alanın yüksekliğinde de artış gözlenmiştir, bu artış ikinci ve üçüncü tepelerde daha belirgindir. Bu artış platosunu takip eden tepeli alanın histaminin (histamin hidroklorür) yüksek konsantrasyonda (1 mM) uygulanmasıyla gözlenmiştir ve ortamdaki protonasyon nedeniyle oluşan bir etkidir. Sperminin çok tepeli alan aktivitesindeki etkisi de potansiyasyon şeklindedir, ancak bu potansiyasyon etkisi histaminin etkisiyle karşılaştırıldığında daha azdır.

magnezyum iyonunun olmadığı yapay beyin sıvısı ile değiştirildiğinde, alan postsinaptik potansiyel aktivitesinde çok tepelilik gözlenmiştir (Şekil 5B). Histaminin (10 μ M) perfüzyon sıvısına eklenmesiyle çok tepeli aktivitedeki tepeler daha belirginleşmiştir (Şekil 5C). Düşük konsantrasyondaki histaminin ortamdaki yıkınmasının ardından, yüksek konsantrasyonda histaminin (1 mM) uygulanmasıyla stratum radiatumdan ölçülmekte olan aktivite düşmüştür (Şekil 5E) ve yıkamayla kontrol kaydında gözlenen aktiviteye geri dönmüştür (Şekil 5F).

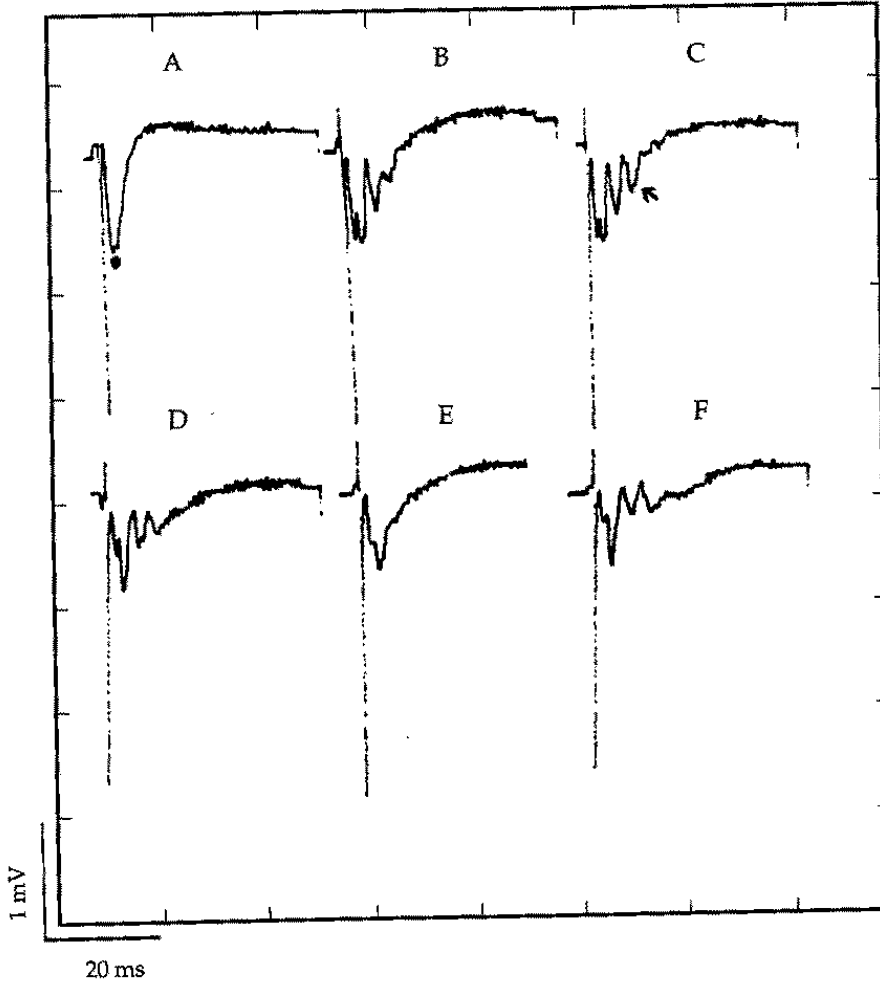
Şekil 6A stratum piramidalede magnezyum iyonu olmayan perfüzyon sıvısı ortamında kaydedilen çoklu tepeli aktivitesini göstermektedir. NMDA kaynaklı olmayan (AMPA ve kainat) aktiviteyi engellemek için perfüzyon sıvısına DNQX (12 μ M) eklenmiştir. Bu şartlar altında kaydedilen aktivite saf NMDA aktivitesidir (Şekil 6B). Histaminin düşük konsantrasyonda (10 μ M) ortama eklenmesi NMDA aktivitesini artırırken, geç gelen küçük tepeli alanı daha belirginleştirmiştir (Şekil 6C). Yüksek konsantrasyondaki histamin (1 mM) ise aktiviteyi düşürmüştür. Daha sonra histamin perfüzyon sıvısından yıkınmış ve kontrol yanıtı kaydedilmiştir (Şekil 6E). Düşük konsantrasyondaki

sperminin (10 μ M) saf NMDA akımı üzerindeki etkisi ise aktiviteyi engelleyici olmuştur (Şekil 6F). Tüm deney süresince DNQX (12 μ M) perfüzyon sıvısına eklenmiştir. Bu deneyin sonucu Şekil 7'de gösterilmiştir.

TARTIŞMA

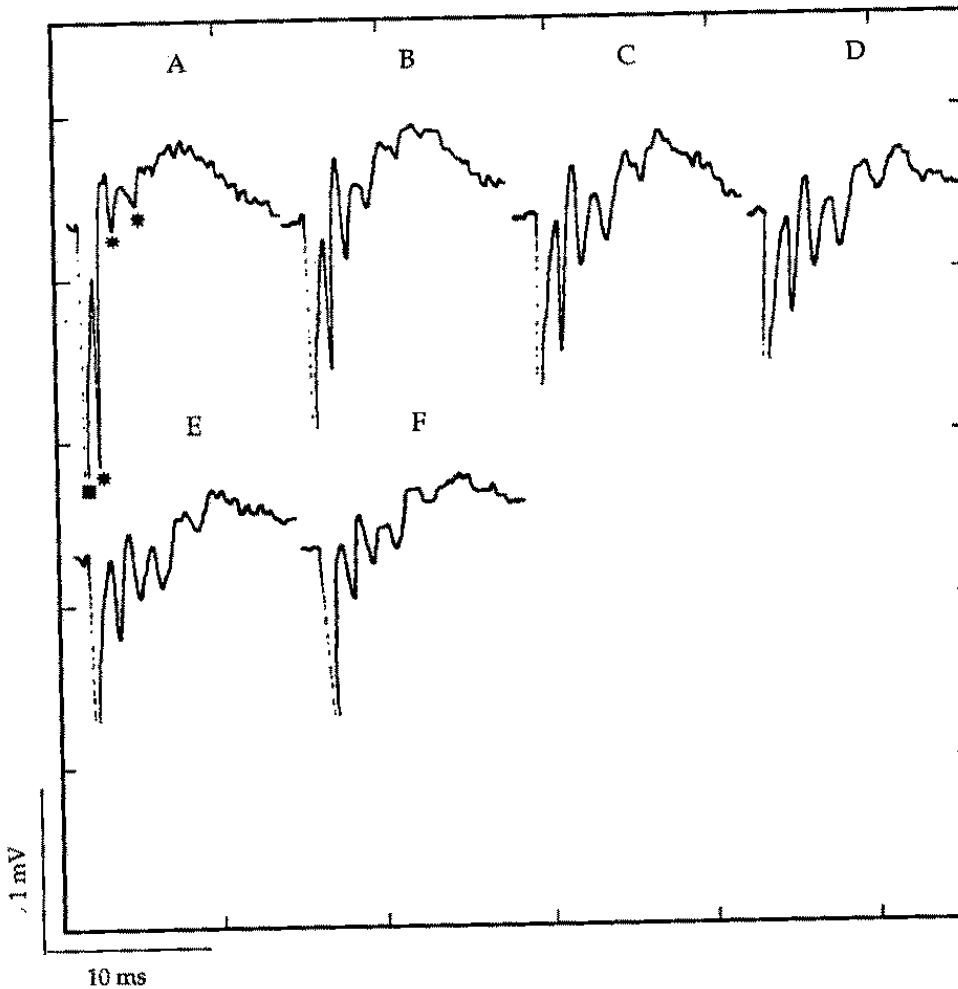
Bu çalışmada histaminin, stratum piramidalede kaydedilen populasyon tepeli alan postsinaptik potansiyel aktivitesindeki, klasik reseptörlerinden kaynaklanan etkisi gösterilmiştir. Ayrıca, NMDA aktivitesini belirginleştirmek için magnezyum iyonunun olmadığı yapay beyin sıvısı ortamında histaminin, alan potansiyelini artırıcı etkisi gösterilmiş, DNQX varlığında da NMDA kaynaklı aktivite üzerindeki bu potansiyasyon etkisi bir kez daha kanıtlanmıştır.

Yapılan çalışmada, histaminin etkisiyle NMDA kaynaklı aktivitede gözlenen bu artış, perfüzyon sıvısından histamin yıkandıktan sonra ortama düşük konsantrasyonda spermin eklenmesiyle tekrarlanmıştır (Şekil 3). Bunun sonucunda, histaminin NMDA aktivitesini, reseptörün poliyamin kısmına bağlanarak etkilediği önerilebilir. Benzer sonuç, izole hücrelerde yapılan çalışmalarda da gözlen-



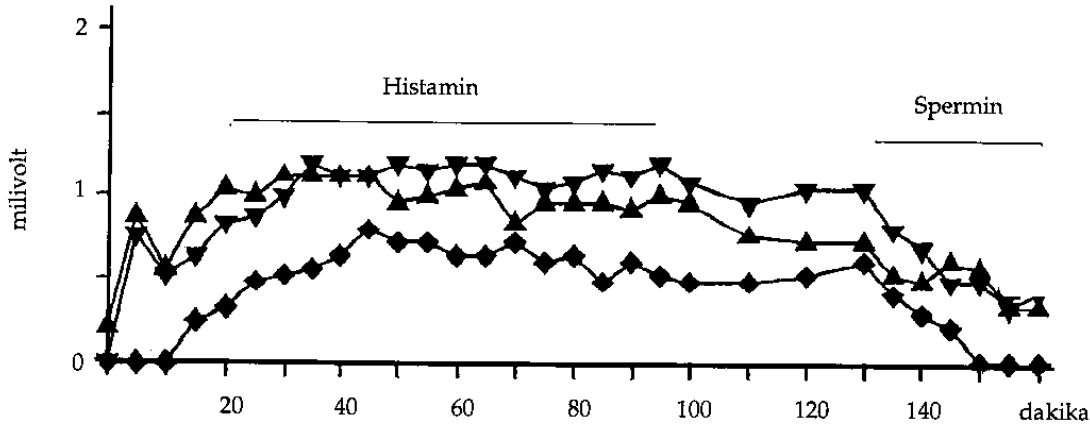
ŞEKİL 5

Schaffer kollateral uyarımı ile Stratum radiatumdan (dendritlerin uzantı bölgesi) kaydedilen alan post sinaptik potansiyel aktivitesi. A. Yapay beyin sıvısı ortamında kaydedilen alan postsinaptik potansiyel aktivitesi (içi dolu daire ile gösterilmiştir); B. Hipokampal kesiti magnezyum iyonunun olmadığı yapay beyin sıvısı perfüzyonunda 40 dakika beklettikten sonra gözlenen çok tepeli alan postsinaptik potansiyel aktivitesi; C. Histaminin ($10 \mu\text{M}$) perfüzyon sistemine eklenmesiyle aktivitede potansiyasyonu belirten yeni bir tepe gözlenmiştir (ok ile gösterilmiştir); D. Histaminin perfüzyon sıvısından yıkanmasıyla kayıt edilen kontrol aktivitesi; E. Yüksek konsantrasyondaki histaminin (1 mM) perfüzyon sistemine eklenmesiyle aktivitede engelleme gözlenmiştir; F. Histaminin (1 mM) sistemden yıkanmasıyla aktivite engellemeden kurtulmuştur.



ŞEKİL 6

Schaffer kollateral uyarımı ile magnezyum iyonunun olmadığı yapay beyin sıvısı perfüzyonunda ve 6,7-dinitroquinoxaline-2,3-dione (DNQX), $12 \mu\text{M}$ varlığında kaydedilen stratum pyramidale aktivitesi. A. Magnezyumsuz yapay beyin sıvısı perfüzyonunda kaydedilen aktivite; B. Perfüzyon sıvısına AMPA ve kainat reseptörlerinin antagonisti olan DNQX eklenerek NMDA reseptöründen kaynaklanmayan aktivite bloke edilirken, NMDA reseptörlerinden kaynaklanan aktivite izole edilmiştir; C. Histaminin ($10 \mu\text{M}$) eklenmesiyle NMDA reseptörlerinin aktivasyonu ile oluşan aktivitede artış gözlenmiştir; D. Yüksek konsantrasyondaki histamin (1 mM) ise NMDA aktivitesini engellemiştir; E. NMDA reseptörleri kaynaklı kontrol yanıtı; F. Perfüzyon sıvısına spermin ($10 \mu\text{M}$) eklenmesiyle gözlenen aktivite engellenmesi. Kare, artefaktı; yıldız ise çok tepeli alan aktivitesini göstermektedir.



ŞEKİL 7

Histamin ve sperminin DNQX (12 µM) akışında stratum piramidale aktivitesi üzerindeki etkisi. Ters üçgen çok tepeli alan aktivitesindeki negatif polaritedeki ikinci tepeyi; üçgen çok tepeli alan aktivitesindeki negatif polaritedeki üçüncü tepeyi; kare ise çok tepeli alan aktivitesindeki negatif polaritedeki dördüncü tepeyi göstermektedir. Histaminin oluşturduğu potansiyasyonun dördüncü tepe (kare) üzerinde daha belirgin olduğu gözlenmektedir. Spermin ise histamin uygulanmasıyla gözlenen, alan potansiyeli üzerindeki atırıcı etkiyi göstermemiştir.

miştir.¹⁰ Histaminin hipokampal canlı kesitlerde tek CA1 piramidal hücre gövdesi üzerindeki pH'a bağımlı etkisi, patch clamp tight-seal whole cell kayıt yöntemi kullanılarak gösterilmiştir. Sözü edilen çalışmada H₁, H₂, H₃ reseptörlerinin agonistleri histaminin etkisini göstermemiştir.¹¹ Bu da histaminin NMDA kaynaklı aktivite üzerindeki artırıcı etkisinin klasik histamin reseptörleri ile ilgili olmadığını göstermektedir. Bu çalışmada, yüksek konsantrasyonda uygulanan histamin ve spermin, alan potansiyelini azaltmıştır. Bu sonuç daha önce yapılmış olan çalışmalara uygundur. Ancak stratum piramidaleden alınan kayıta spermin, saf NMDA reseptörleri kaynaklı aktivite üzerinde histaminin oluşturduğu potansiyasyon etkisini göstermemiştir (Şekil 6). Bunun nedeni NMDA reseptörü üzerindeki poliamin bölgesinin dolu olması ve deney sırasında yapay beyin sıvısına eklenen sperminin yüksek konsantrasyon etkisini yaratması olabilir.

Klasik histamin reseptörlerinin (özellikle H₂) etkisi Şekil 2'de gösterilmektedir. Bu etkinin siklik AMP'nin aktivasyonu ile oluştuğu ve hücrede kalsiyum iyonuna bağımlı potasyum geçirgenliğinin engellenmesiyle uzun süreli potansiyasyon aktivitesini (long term potentiation) çağrıştırdığı belirtilmiştir.⁸ Histaminin uygulanması ile oluşan bu etki tüm deney süresince gözlenmiştir; dolayısıyla, bu etki bir kez oluştuktan sonra uzun sürelidir. Gözlenen bu uzun süreli etki hücre içi mekanizmaların aktivasyonu sonucunda beklenen davranışa uygundur. Histaminin, bu çalışmada gösterilen NMDA alan aktivitesi üzerindeki etkisi ile klasik histamin reseptörlerinin etkisi birleştiğinde (Şekil 2, Şekil 6), histaminin oluşturduğu bu toplam etkinin hedefi beyindeki plastisite aktiviteleri (öğ-

renme ve hafıza aktiviteleri) olacaktır. Aynı zamanda histaminin bu etkisi patolojik şartlar altında da (örneğin, eksitotoksitede) önem kazanacaktır.

KAYNAKLAR

1. Bliss TVP, Collingridge GL. A synaptic model of memory: long term potentiation in the hippocampus. *Nature* 1993;361:31-39.
2. Dingledine R, Hynes MA, King GL. Involvement of NMDA receptors in epileptiform bursting in the rat hippocampal slice. *J Physiology* 1986;380:175-89.
3. Lipton S. Prospects for clinically tolerated NMDA antagonists: open channel blockers and alternative redox states of nitric oxide. *Trends in Neuroscience* 1993;16 (12):527-32.
4. Garbarg M, Barbin G, Feger J, Schwartz JC. Histaminergic pathway in rat brain evidenced by lesions of the medial forebrain bundle. *Science* 1974;186:833-35.
5. Green JP, Maayani S. Tricyclic antidepressant drugs block histamine H₂ receptor in brain. *Nature* 1977; 269:163-65.
6. Kanof PD, Greengard P. Brain histamine receptors as targets for antidepressant drugs. *Nature* 1978;272: 329-33.
7. Baudry M, Martes MP, Schwartz JC. H₁ and H₂ receptors in the histamine induced accumulation of cyclic AMP in Guinea pig brain slices. *Nature* 1975;253: 362-63.
8. Haas HL, Konnerth A. Histamine and noradrenaline decrease calcium activated potassium conductance in hippocampal pyramidal cells. *Nature* 1983;302:432-34.
9. Kamei C, Tasaka K. Influence of histamine depletion on learning and memory recollection in rats. *Psychopharmacology* 1993;111:376-82.
10. Vorobjev SV, Sharronova IN, Walsh IB, Haas HL. Histamine potentiates N-methyl-D-aspartate responses in acutely isolated hippocampal neurons. *Neuron* 1993; 11:827-44.
11. Saybaşı H, Stevens DR, Haas HL. pH dependent modulation of N-methyl-D-aspartate receptor mediated synaptic currents by histamine in rat hippocampus in vitro. *Neurosci Lett* 1995;199: 225-27.