

GENÇ ER K N ERKEK SIÇANLARDA REM UYKU YOKSUNLU UNUN
Ö RENMEYE ETK S
The Effect of REM Sleep Deprivation on Learning in Young Adult Male Rats

Sultan ÇEÇEN¹, Meral A ÇIO LU², Cem SÜER²,
Soner B T KTA ³, Fato DENEME⁴

Özet: Uyku, ö renme ve bellek süreçlerinin birbiriyle ili kili oldu unu ve REM uyku yoksunlu unun ö renme süreçlerini olumsuz etkiledi ini bildiren çok sayıda çalı ma vardır. Ancak, bu çalı maların sonuçları arasında çeli kiler bulunmaktadır. Bu nedenle bu çalı mada genç eri kin erkek sıçanlarda uzun süreli REM uyku yoksunlu unun ö renme ve bellek üzerine olan etkisine açıklık getirilmesi amaçlandı. Çalı ma; 8 aylık Wistar Albino cinsi 30 adet erkek sıçanla; uyku yoksunlu u (UY) (n=10), ortam kontrol (OK) (n=10) ve kafes kontrol (KK) (n=10) grupları olu turularak gerçekleştirildi. Uyku yoksunlu u grubundaki sıçanlar 21 gün süreyle her gün 18 saat boyunca; 14 adet dar platform içeren su tankı ekindeki düzenekte barındırılarak uyanık bırakıldılar. Ortam kontrol grubu sıçanlar aynı süre ile geni platformlu su tankı düzene inde, kafes kontrol grubu sıçanlarda standart sıçan kafeslerinde barındırıldı. Uyku yoksunlu u uygulamaları sonunda Morris su tankında ö renme ve bellek de erlendirildi. De erlendirmede kullanılan parametrelerin anlamlılık düzeyi için p<0,05 olarak kabul edildi. Bulgular de erlendirildi inde, günde 18 saatlik uyku yoksunlu una maruz kalmanın 8 aylık Wistar Albino cinsi erkek sıçanlarda yer-yön bulma ö renmesi ile ilgili bili sel i levleri bozdu u, bellek i levlerini ise etkilemedi i belirlendi.

Anahtar kelimeler: REM uyku yoksunlu u, sıçan, ö renme, Morris su tankı, modifiye çoklu platform yöntemi

Abstract: There is abundance of evidence showing relationship between sleep, and learning-memory processes and a negative effect of REM sleep deprivation on learning processes. However, there are some contradictions between results of these studies. Therefore, in the present study, we aimed to clarify the effect of exposure of long-term REM sleep deprivation on learning and memory in young adult male rats. The study was performed with 30 male Wistar Albino rats, being 8-month old and performed by generating groups called sleep deprivation (SD) (n=10), environment control (EC) (n=10) and cage control (CC) (n=10). Rats in the sleep deprivation group were kept awake for 18 hours per day for 21 days by sheltering them in the sleep deprivation set up which was in the shape of water tank including 14 narrow platforms. Rats in the environment control group were sheltered in wide platform water tank while cage control rats were sheltered in standard rat cages for equal times to sleep deprivation group. At the end of sleep deprivation exposure, learning and memory were assessed in Morris water tank. For the parameters used to evaluate the level of statistical significance was accepted as p<0,05. When findings were evaluated, it was found that exposure of 18-hour/day sleep deprivation impaired cognitive functions about position finding learning and performance in the Morris water tank in 8-month young adult Wistar Albino male rats, memory functions were not affected by REM sleep deprivation.

Keywords: REM sleep deprivation, rat, learning, Morris water tank, modified multiple platform technique

¹ Bilim Uz, Erciyes Ün.Sa lık Bil.Ens.Fizyoloji AD, Kayseri

² Prof.Dr.Erc.Ün.Tıp Fak. Fizyoloji AD, Kayseri

³ Doktora Ö r,Erc.Ün.Sa lık Bil.Ens.Fizyoloji AD, Kayseri

⁴ Y.Lisans Ö r,Erc.Ün.Sa lık Bil.Ens. Fizyoloji AD, Kayseri

Geli Tarihi : 03.08.2012 Kabul Tarihi : 15.05.2013

Bu çalı ma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Ara turma Projeleri Birimi tarafından TSY-10-3294 kodlu proje ile desteklenmi olup 25-29 Eylül 2012 tarihleri arasında Trabzon'da düzenlenen 38. Ulusal Fizyoloji Kongresinde ise poster bildirisi olarak sunulmu tur.

Uyku; kiinin ıık, ses vb. duysal ve fiziksel uyarılarla uyandırılabilir i bilinçsizlik ya da belli bir amaca hizmet eden farklı bir bilinçlilik durumu olarak tanımlanır (1,2).

Uykunun; vücutta enerjinin korunması, beynin gün boyunca olu an zararlı metabolitlerden arındırılması, beyinde termoregülasyon, doku yenilenmesi, sinaptik homeostasis, öğrenme ve bellek olu umunda görev aldığı bilinmektedir (3-6).

Uykunun bu i levleri nedeni ile yeteri kadar uyumak hem fiziksel hem de sa lık açısından çok önemlidir. Çalışmamızın hızlı ya am temposu, özellikle gençlerde bilgisayar ve internet kullanımı ile de i en ya am tarzı, ayrıca sanayile me ile vardiya usulü çalışmanın ortaya çıkması, uyku süresinde ve kalıbında olumsuz de i ikliklere neden olmaktadır. Uyku kalıbında olu an de i ikliklerin ise ki ide fizyolojik i levleri önemli ölçüde etkileyerek; duygudurumunda, bili sel ve motor i levlerde bozulma yapabilir i bildirilmektedir (7,8). REM uyku dönemi ile öğrenme ve bellek peki tirme arasında ili ki oldu u konusundaki bilgiler ise hala yeterince açık de ildir ve konu ile ilgili daha fazla deneysel kanıt toplanması gerekti i bildirilmektedir (5,9). Bu nedenle bu çalışmada genç eri kin erkek sıçanlarda uzun süreli REM uyku yoksunluunun yer-yön bulma öğrenmesine ve bellek üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

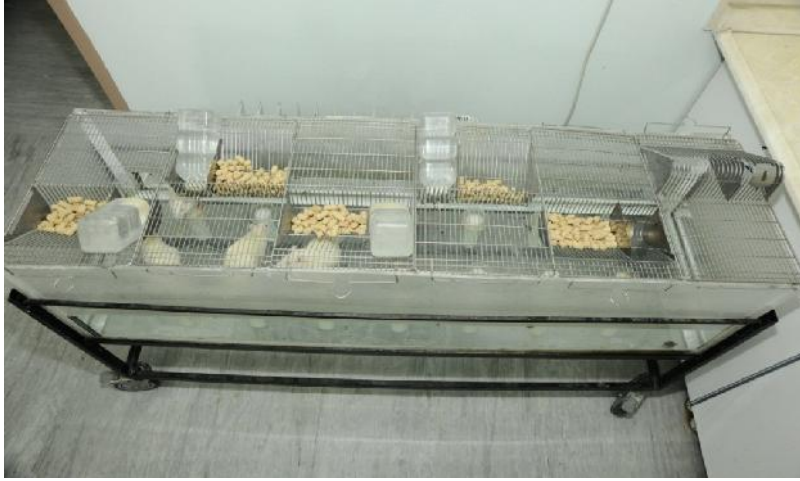
GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma; Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi (DEKAM)'nden sağlanan vücut a ırlı ı 319,89±22,89 gr olan 8 aylık genç eri kin (10) Wistar Albino cinsi 30 adet sıçanla; uyku yoksunlu u (UY) (n=10), ortam kontrol (OK) (n=10) ve kafes kontrol (KK) (n=10) grupları olu turularak gerçekleştirildi. Sıçanlar, deney süresince sıcaklığı 23±2 °C'ye ayarlanan ortamda, saat 07.00 – 19.00 ve 19.00 – 07.00 arasında 12' er saatlik aydınlık – karanlık döngüsü uygulanarak standart sıçan kafeslerinde ya da planlandı ı üzere uyku yoksunlu u veya ortam kontrol düzene inde barındırıldı. Sıçanların beslenmeleri için standart pellet yem ve musluk suyu ortamda sürekli hazır bulun-

duruldu. Çalışmada “Deney Hayvanları Kullanımı ve Etik İlkeler” prensipleri doğrultusunda hayvan haklarının korunmasına özen gösterildi (11).

Sıçanlarda uyku yoksunlu u olu turmak amacıyla boyutları 145x44x45cm olan pleksiglastan yapılmı ve tabanına her biri 6.5cm çapında olan 14 adet platformun, 10'ar cm aralıklarla ve 16cm yüksekliğindeki ayaklarla sabitlendi i çok platformlu modifiye su tankı düzene i kullanıldı. Uyku yoksunlu u olu turma a masında; tank 15 cm yüksekliğine kadar su ile dolduruldu. Sıçanların tanka yerle tirilmesinde platformların en az dördü bo bırakılıp sıçanların tank içinde serbestçe hareket edebilmesi sağlandı. Su tankının üzeri su i esi ve yem konulmasına olanak sağlayan tel ızgara kapaklar ile kapatıldı (Resim I) (12-16).

Ortam kontrol grubu sıçanlar için uyku yoksunlu u olu turmak amacıyla kullanılan su tankı ile aynı boyutlarda fakat 10cm çapındaki geni platformların yerle tirildi i ikinci bir tank düzene i hazırlandı. Uyku yoksunlu u olu turma tankından farklı olarak tank tabanından 15cm yukarıda platform aralarındaki su yüzeyini tamamen kapatacak şekilde paslanmaz tel ızgara yerle tirilerek sıçanların suya düşmeleri ve uykusuz kalmaları önlendi (13-15). Sıçanlarda uyku yoksunlu u olu turmak için günde 18 saat uykusuz bırakma süresinin yeterli oldu u bildirildi i için (16,17); kronik uyku yoksunlu u olu turmak üzere, uyku yoksunlu u grubu sıçanlar 21 günlük bir dönemde her gün saat 17.00 ile ertesi gün 11.00 saatleri arasında uyku yoksunlu u düzene inde barındırıldılar. Ortam kontrol grubu sıçanlar ise aynı süre ile geni platformlu tank düzene inde barındırıldılar ve her iki grup sıçanlar geri kalan sürede kafeslerine alındılar. Kafes kontrol grubu sıçanlar ise deney boyunca kafeslerinde barındırıldılar. Grubuna göre ilgili düzenek ve/veya kafesteki 21 günlük barındırma süresi tamamlanan sıçanlarda öğrenme performansının de erlendirilmesi Morris su tankı testi ile yapıldı. Uyku yoksunlu u olu turulan sıçanlarda uyku yoksunlu u uygulamasına 24 saat ara verilmesi uyku yoksunluunun etkilerinin ortadan kalkmasını ve geri dönüşü sağlamak için Morris su tankı testi süresinde uyku yoksunlu u olu turma i lemine devam edildi (9,14,18).



Resim I.Uyku yoksunlu su olu turma tankının ve platformların üstten görünümü

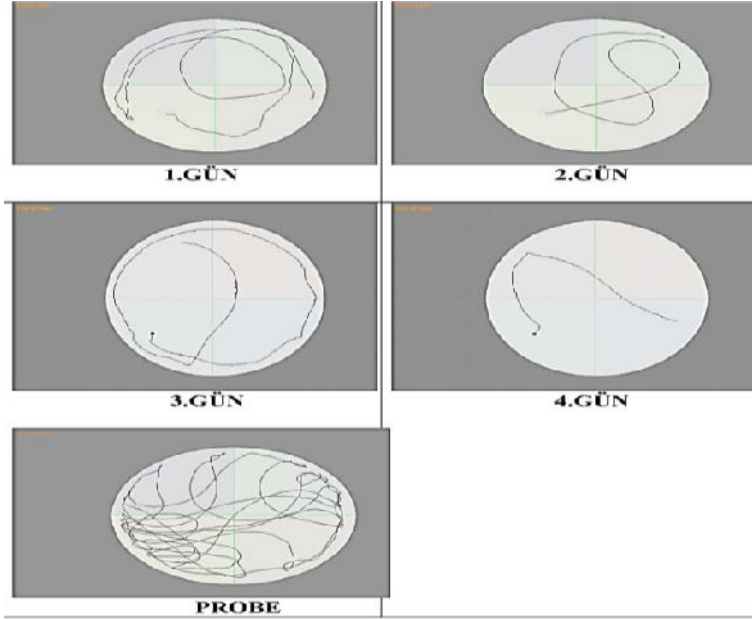
Ö renmenin test edilmesi için; su tankının bulunduğu sessiz test odasında duvarlara ve çevreye sıçanların mekânsal konumu saptamada görsel ipucu olarak kullanılabilecek ışıklar, paravanlar, zıt renkli geometrik şekiller içeren panolar yerleştirildi ve test süresince ipuçları ve yerleri sabit tutuldu. Deneycinin dış görünümünün ortamdaki konumunun ve kullanıyorsa parfüm vb. kokulu kozmetiklerinin de hep aynı olmasına özen gösterildi. Tank yüzey alanı sanal olarak dört eşit kadrana bölündü. Kadranlardan geliştigizel birine (hedef kadran) su yüzeyinin 1.0cm altında kalacak şekilde tank duvarından 15cm uzaklıkta paslanmaz çelikten yapılmış 10cm çapında 24cm yüksekliğinde silindirik bir kaçış platformu yerleştirildi. Platform, sıçan üzerine çıktığında kendini emin hissedebilecek ve pençelerini yerle tirebilecek bir kumaşla kaplandı ve ardıcık 4 gün yeri sabit tutuldu.

Sıçanın tank içindeki hareketlerini izlemek, kaydetmek ve analiz etmek için bilgisayarlı video-kamera sistemi (Ethovision; Noldus) kullanıldı.

Morris su tankındaki uzamsal öğrenme testi ilk 4 gün öğrenme periyodu ve 5. gün probe- test periyodu şeklinde yapıldı. Her bir sıçana öğrenme periyodundaki her gün 20 dakika aralıklarla 4 yüzdürme denemesi yaptırıldı. Sıçan, kaçış platformunun bulunduğu kadran hariç tutularak, her seferinde

farklı olacak şekilde diğer üç kadrandan birinden yüzü tank duvarına dönük şekilde suya bırakıldı. Suyu bırakılırken seçilen kadran sırası her gün farklı bir dizgeyi (1.gün 1.-2.-3.-1., 2.gün 2.-3.-1.-2., 3.gün 3.-1.-2.-3., 4.gün 1.-2.-3.-1) izledi. Böylece sıçanlar gizli platformu bulmak için eğitildiler. Sıçanların tankta 60 saniye yüzmelerine izin verildi, bu süre içinde platformu bulamadıklarında yardımla platforma çıkartıldılar ve çevre ipuçlarını tanıyıp öğrenmeleri için 20 saniye platformda bekletildiler. 20 saniyelik bekletme süresi sonunda tanktan çıkartılıp kağıt havlu ile kurutularak kafeslerine alındılar (19-22). Kaçış platformunun kaldırıldı 5. günde sıçanlara 2 dakika süren tek bir yüzdürme denemesi yaptırıldı ve sıçanlar platform noktasının tam karşısına düşen noktadan suya bırakıldılar (23). Resim II' de bir sıçanın Morris su tankı ile öğrenmenin test edilmesi sürecinde öğrenme periyodunun 1., 2., 3. ve 4. günlerindeki 4. denemesinde ve 5. gün test periyodunda izlediği yolun kayıtları görülmektedir.

Ö öğrenme periyodunda sıçanın Morris su tankında platformu bulana kadar katettiği toplam yol uzunluğu, platformu bulma süresi ve test periyodunda platformun kaldırıldığı hedef kadranda geçirdiği sürenin tankta geçirdiği toplam sürenin yüzdesi (%)’si cinsinden değerlendirilmeler ve istatistiksel analizler için kullanıldı.



Resim II. Bir sıçanın Morris su tankı ile ö renmenin test edilmesi sürecinde ö renme periyodunun 1., 2., 3. ve 4. günlerindeki 4. denemesinde ve test periyodunda tankta izledi i yolun kayıtları.

statistiksel De erlendirme

Morris su tankı testi sonuçlarının istatistiksel analizi için SPSS version 15 (2006) paket programı ile Windows 7 Starter bilgisayar programı ortamında günler arasında katetti i toplam yol uzunlu u, platformu bulma süresi ve hedef kadranda geçirilen sürenin kar ıla tırılmasında tekrarlı ölçümlerde ANOVA testi (Post-Hoc: LSD) ve kafes kontrol, ortam kontrol ve uyku yoksunlu u gruplarının günler arasında katetti i toplam yol uzunlu u, platformu bulma süresi ve hedef kadranda geçirilen sürenin kar ıla tırılmasında ba ımsız gruplarda tek yönlü varyans analizi (Post-Hoc: Tukey) kullanıldı. statistiksel anlamlılık için olasılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edildi.

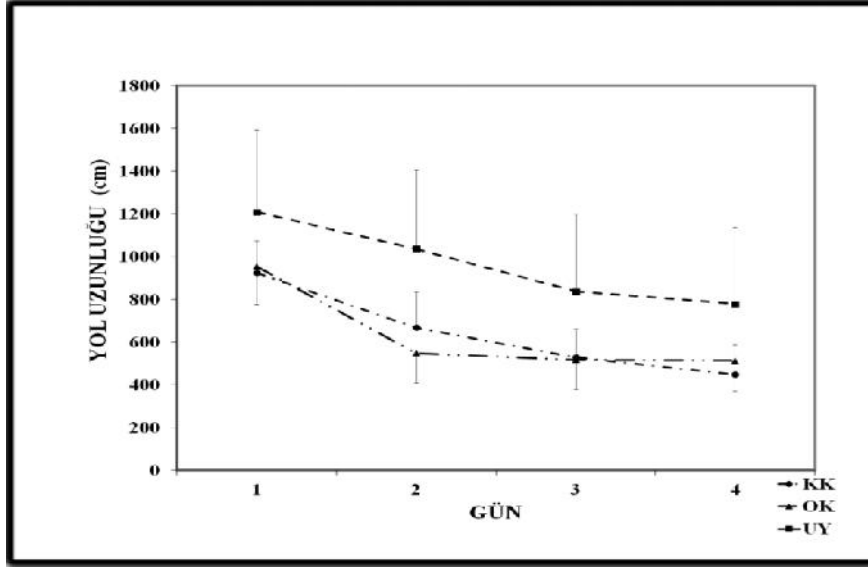
BULGULAR

Morris su tankı testinin ö renme periyodundaki her bir gün için tüm gruplarda sıçanların kaçtı platformunu bulmak için katetti i toplam yol uzunluklarının 1. günden 4. güne do ru istatistiksel olarak

anlamli düzeyde kısaltıldı ı ($p<0,001$), gruplar arası kar ıla tırma yapıldı ında uyku yoksunlu u grubu sıçanların kafes kontrol grubu sıçanlarınkine göre 2. ve 4. günlerde, ortam kontrol grubu sıçanlarınkine göre 2. günde daha uzun yol kat etti i bulundu ($p<0,05$) (ekil I).

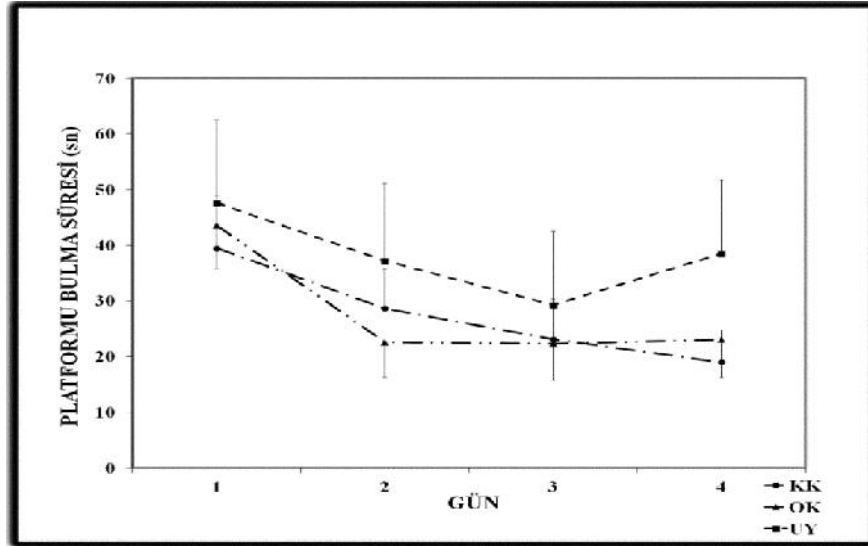
Kafes kontrol, ortam kontrol ve uyku yoksunlu u grubu sıçanların ö renme periyodundaki her bir günde platformu bulma sürelerinin uyku yoksunlu u grubunun 4. gün de eri hariç her bir grup için 1. günden 4. güne do ru anlamlı düzeyde kısaltıldı ı ($p<0,001$) bulunurken gruplar arası kar ıla tırmada uyku yoksunlu u grubu ile ortam kontrol grubu arasında 2. günde anlamlı fark oldu u saptandı ($p<0,05$) (ekil II).

Kafes kontrol, ortam kontrol ve uyku yoksunlu u grubu sıçanların test- probe periyodunda kaçtı platformunun kaldırıldı ı hedef kadranda geçirilen sürenin tankta geçirilen toplam sürenin yüzde (%)'si cinsinden de erleri açısından aralarında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$) (ekil III).



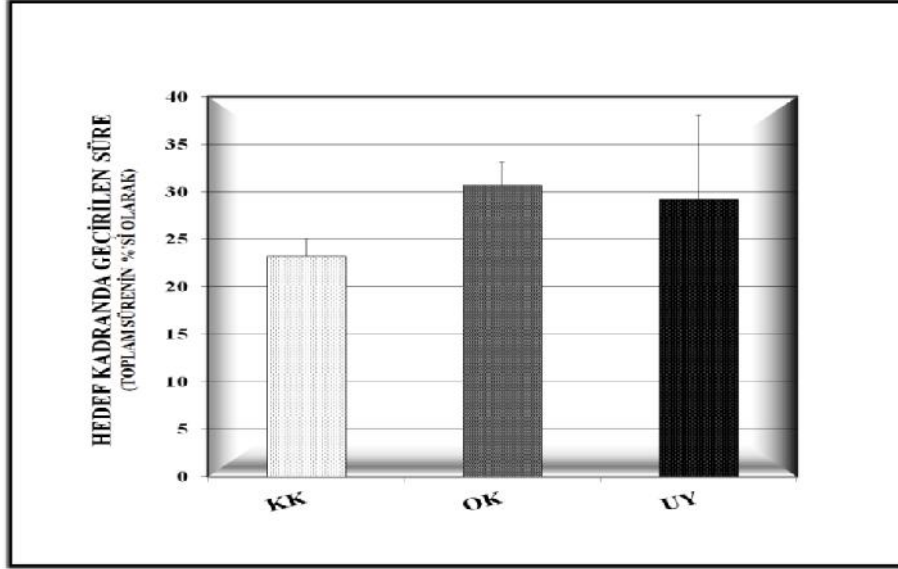
ekil I. Kafes kontrol, OK ve UY grubu sıçanların öğrenme periyodundaki her bir günde Morris su tankında platformu bulana kadar katettiği toplam yol uzunlukları (değerler ortalama± standart hata olarak verilmiştir, anlamlılık düzeyi $p<0,05$).

KK: kafes kontrol grubu OK: ortam kontrol grubu UY: uyku yoksunluğu grubu



ekil II. Kafes kontrol, OK ve UY grubu sıçanların öğrenme periyodundaki her bir günde platformu bulma süreleri (değerler ortalama± standart hata olarak verilmiştir, anlamlılık düzeyi $p<0,05$).

KK: kafes kontrol grubu OK: ortam kontrol grubu UY: uyku yoksunluğu grubu



ekil III. Kafes kontrol, OK ve UY grubu sıçanların test- probe periyodunda hedef kadranda geçirilen sürenin tankta geçirilen toplam sürenin yüzde (%)'si cinsinden de erleri (de erler ortalama± standart hata olarak verilmi tir, anlamlılık düzeyi $p<0,05$).

KK: kafes kontrol grubu OK: ortam kontrol grubu UY: uyku yoksunlu u grubu

TARTI MA

Ö renmede, belle in yeniden düzenlenmesi ile peki tirilmesinin; farklı bir bilinçlilik durumu olan uykunun REM döneminde gerçekleşti ini bildiren çok sayıda çalı ma vardır. Bu nedenle uykunun ö renme ve bellek üzerine olan etkilerini açıklamaya yönelik çalı malar genellikle REM uyku döneminin etkilerinin araştırılması üzerine yo unla - mı tır ve bu çalı malar nörokimyasal, nörofizyolojik, nörobili sel yöntemlerin yanı sıra insanlarda ve deney hayvanlarında uyku yoksunlu u olu turma yöntemlerini kapsamaktadır (2,9,16,24). Ancak literatürde uyku yoksunlu unun ö renme ve bellek üzerine etkilerini ara tıran, farklı ö renme testlerinin uygulandı ı çalı ma sonuçları çeli kilidir ve Non-Rapid Eye Movement (NREM) uyku döneminin de ö renme ve bellek peki tirilmesinde önemli oldu u vurgulanmaktadır (9,24,25).

Hairston ve arkadaş ları (26) uyku kısıtlamasına

maruz bıraktıkları sıçanların Morris su tankında ardı ık 4 günde yapılan yüzdürme denemelerinde gizli kaçı platformunu bulma görevini kontrol gruplarına göre daha uzun sürede gerçekle tirdi ini, ancak platformu bulmak için kat edilen toplam yol uzunlu unun bir önceki güne göre kısaldı nı bulmu lar ve uyku kısıtlamasına maruz bırakılan sıçanların platformun gizli olması nedeniyle rastgele bir arama stratejisi kullanma e ilimi göstererek, çevresel ipuçlarını etkin kullanamadıklarını saptamı lardır. Bu bilgi ile paralel olarak; çalı mamızın Morris su tankı ö renme deneyleri periyodunda sıçanlarda uyku yoksunlu u, ortam kontrol ve kafes kontrol gruplarının Morris su tankında platformu bulmak için kat etti i toplam yol uzunluklarının 1. günden 4. güne do ru istatistiksel olarak anlamlı düzeyde kısaldı ı ancak uyku yoksunlu u grubu sıçanların ortam kontrol ve kafes kontrol grubu sıçanlara göre platformu bulmak için daha fazla yol kat etti i (ekil I), platformu bulma sürelerinin UY grubunun 4. gün de eri hariç her bir grup için 1. günden 4. güne do ru anlamlı düzeyde

azaldı ve gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı (gözlenmiştir (ekil II). Bu, tüm sıçanların platformun yerini, günlük denemeler ile öğrenmesini; ancak UY grubu sıçanlarda OK ve KK grubu sıçanlara göre öğrenme performansında bozulma olduğunu göstermektedir.

Test periyodunda uyku yoksunluğu grubu sıçanların ortam kontrol ve kafes kontrol gruplarına göre hedef kadranda geçirdikleri sürenin tankta geçirdikleri toplam sürenin %'si cinsinden de erleri açısından aralarında anlamlı fark bulunmamıştır. Bu durum 21 günlük REM uyku yoksunluğunun genç erişkin sıçanlarda yer bulma öğrenmesi için olumsuz bilginin depolanması ve bellekte pekiştirilmesi performansını anlamlı düzeyde bozmadığı ve günde 18 saat süreyle uyku yoksunluğuna maruz bırakılan genç erişkin sıçanlarda uyku yoksunluğuna bağlı olarak gelişen bilginin depolanması ve pekiştirilmesi seviyelerindeki olumsuz etkilerin 6 saatlik uyku ile telafi edilebildiği şeklinde yorumlanmıştır. Machado ve arkadaşları (17) tarafından ortaya konulan kronik uyku yoksunluğu paradigmasında sıçanların 21 gün boyunca günde 18 saatlik uyku yoksunluğuna maruz bırakılması sonucunda NREM uyku döneminin kısmen, REM uyku döneminin tamamen baskılandığı geri kalan 6 saatlik sürede olumsuz uyku yoksunluğunun ise kısmen telafi edildiği belirtilmektedir (12-16). REM uyku yoksunluğu sonrası farklı öğrenme testlerinin uygulandığı bağımsız bir maddede uyku yoksunluğuna takiben 5-6 saatlik bir dinlenmenin, deney grubu farelerin kontrol grubu farelerle aynı davranışı göstermesi açısından yeterli olduğu bildirilmektedir (9). Bu bilgiler de (9,12,16) yorumumuzu desteklemektedir.

Çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre, günde 18 saatlik uyku yoksunluğuna maruz bırakmanın 8 aylık Wistar Albino cinsi erkek sıçanlarda yer-yön bulma öğrenmesi ile ilgili bilişsel seviyeleri bozduğunu, bellek seviyelerini ise etkilemediği belirlendi ve literatürdeki çalışmalarından farklı olarak sıçanların daha uzun süreli uyku yoksunluğuna maruz bırakılıp daha kapsamlı çalışmalar yapılmasının çelişkileri ortadan kaldıran daha net sonuçlara götürebileceği düşünüldü.

KAYNAKLAR

1. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of Medical Physiology*. Çeviri: Çavuşoğlu H, Yenilmez BÇ. Bölüm Çeviri: Demiralp T. Bölüm: Beynin etkinlik durumları – uyku, beyin dalgaları, epilepsi, psikozlar. Kitap: Tıbbi Fizyoloji. Türkçe 11. Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul 2007; ss 739-747.
2. Irak M. Farklı bir bilinçlilik durumu: uyku. *Pivolka* 2005;16:3-7. "Ele tirel- Yaratıcı Düşünme ve Davranış Araştırmaları Laboratuvarı", <http://www.elyadal.org/pivolka.htm> (10.10.2010).
3. Aserinsky E, Kleitman N. Regularly occurring periods of eye motility, and concomitant phenomena, during sleep. *Science* 1953;118:273-274.
4. Abdulkadiroğlu Z, Bayramoğlu F, İhan N. Uyku ve uyku bozuklukları. *Genel Tıp Dergisi* 1997;7:161-165.
5. Öztürk L. Yanıtını arayan eski bir soru: niçin uyuyoruz? *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi* 2007;70:114-121.
6. Maquet P. The role of sleep in learning and memory. *Science* 2001;294:1048-1052.
7. Penev PD. Uyku yoksunluğu ve enerji metabolizması: uyumak, yemek için bir şans mı? *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes & Obesity Türkçe Baskı* 2007;2(4):233-241.
8. Karacan S, Özmen E. Uyku: etkileyen ilaçlar, nörokimyasal temel uyku bozukluklarının sınıflandırılması. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni* 1990;18-25.
9. Oniani T, Lortkipanidze N. Effect of paradoxical sleep deprivation on the learning and memory. *Neurobiology of Sleep-Wakefulness Cycle* 2003;3:9-43.
10. Saini K, Chaudhary A, Sharma RK. Biochemical estimation of antioxidant enzyme in cerebellum of ageing albino rats vis a vis effect of *Celastrus paniculatus*. *Annals of Neurosciences* 2009;16:103-105.

11. Kobay B. Deney hayvanları kullanımı: etik ilkeler. *Akademik Dizayn Dergisi* 2007;1:19-21
12. Tiba PA, Menezes Oliveira MG, Rossi VC, Tufik S, Suchecki D. Glucocorticoids are not responsible for paradoxical sleep deprivation-induced memory impairments. *Sleep* 2008;31:505-515.
13. Suchecki D, Tufik S. Social stability attenuates the stress in the modified multiple platform method for paradoxical sleep deprivation in the rat. *Physiol Behav* 2000;68:309-316.
14. Machado RB, Hipolide DC, Benedito-Silva AA, Tufik G. Sleep deprivation induced by the modified multiple platform technique: quantification of sleep loss and recovery. *Brain Res* 2004;1004:45-51.
15. Suchecki D, Palma BD, Tufik S. Sleep rebound in animals deprived of paradoxical sleep by the modified multiple platform method. *Brain Res* 2000;875:14-22.
16. Tufik S, Andersen ML, Bittencourt LR, Mello MT. Paradoxical sleep deprivation: neurochemical, hormonal and behavioral alterations. Evidence from 30 years of research. *An Acad Bras Cienc* 2009;81(3):521-538.
17. Machado RB, Suchecki D, Tufik S. Sleep homeostasis in rats assessed by a long-term intermittent paradoxical sleep deprivation protocol. *Behavioural Brain Research* 2005;160:356-364.
18. Hobson JA. Sleep and dreaming. *The Journal of Neuroscience* 1990;10:371-382.
19. Kulkarni SK, Verma A. Protective effect of mentat (BR-16A) a herbal preparation, on alcohol abstinence-induced anxiety and convulsion. *Indian Journal of Experimental Biology* 1993;31:435.
20. Kumar S, Maheshwari KK, Singh V. Protective effects of punica granatum seeds extract against aging and scopolamine induced cognitive impairments in mice. *Afr J Trad CAM* 2009;6:49-56.
21. Hayashi F, Takashima N, Murayama A, Inokuchi K. Decreased postnatal neurogenesis in the hippocampus combined with stress experience during adolescence is accompanied by an enhanced incidence of behavioral pathologies in adult mice. *Molecular Brain* 2008;1:1-9.
22. Topo E, Soricelli A, Di Maio A, et al. Evidence for the involvement of D-aspartic acid in learning and memory of rat. *Amino Acids* 2010;38:1561-1569.
23. Vorhees CV, Schaefer TL, Skelton MR, et al. (+/-)3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) dose-dependently impairs spatial learning in the Morris water maze after exposure of rats to different five-day intervals from birth to postnatal day twenty. *Dev Neurosci* 2009;31:107-120.
24. Erturul A, Rezaki M. Uyku nörobiyolojisi ve bellek üzerine etkileri. *Türk Psikiyatri Dergisi* 2004;15:300-308.
25. Engin AO, Calapulu M. İlkö retim okulu öğrencilerinde uyku bozuklukları da ilımı (Kars ili örne i). *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2009;2:29-48.
26. Hairston IS, Little MTM, Scanlon MD, et al. Sleep restriction suppresses neurogenesis induced by hippocampus-dependent learning. *J Neurophysiol* 2005;94:4224-4233.