T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MORFOLOJİ (ANATOMİ) ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Oğuz TAŞKINALP

SIÇANLARDA AKUT VE KRONİK FORMALDEHİT MARUZİYETİNİN ÖĞRENME VE BELLEK ÜZERİNE OLASI ETKİLERİ

(Doktora Tezi)

Didem DÖNMEZ

Referans no: 10103107

EDİRNE-2018

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MORFOLOJİ (ANATOMİ) ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Oğuz TAŞKINALP

SIÇANLARDA AKUT VE KRONİK FORMALDEHİT MARUZİYETİNİN ÖĞRENME VE BELLEK ÜZERİNE OLASI ETKİLERİ

(Doktora Tezi)

Didem DÖNMEZ

Destekleyen Kurum : TÜBAP 2016/47

EDİRNE-2018

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

O N A Y

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalı doktora programı çerçevesinde ve **Prof. Dr. Oğuz TAŞKINALP** danışmanlığında doktora **öğrencisi Didem DÖNMEZ** tarafından tez başlığı **"SIÇANLARDA AKUT VE KRONİK FORMALDEHİT MARUZİYETİNİN ÖĞRENME VE BELLEK ÜZERİNE OLASI ETKİLERİ"** olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı **09/01/2018** tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **"Doktora Tezi"** olarak kabul edilmiştir.

İmza
Prof. Dr. Oğuz TAŞKINALP
JÜRİ BAŞKANI

İmza
Prof. Dr. Enis ULUÇAM
ÜYE

İmza
Prof. Dr. Hakan Çetin KARADAĞ
ÜYE

İmza
Prof. Dr. Fatma Güler KAHRAMAN YILDIRIM
ÜYE

İmza
Prof. Dr. Tania MARUR
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Tammam SİPAHİ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca deneyim ve bilgilerinden faydalandığım, tez danışmanım Prof. Dr. Oğuz TAŞKINALP'e;

Doktora eğitimim boyunca üzerimde çok emeği olan başta Prof. Dr. Enis ULUÇAM'a ve anabilim dalımızdaki tüm hocalarıma, tez dönemim süresince bilgi, destek ve yardımlarını bizden esirgemeyen Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Çetin Hakan KARADAĞ, Yrd. Doç. Dr. Ruhan TOPUZ ve Uzman Kübra AYDEMİR'e, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim öğretim üyesi Prof. Dr. Gülnur KIZILAY ÖZFİDAN ve Uzman Onur ERSOY'a gönülden teşekkür ederim. TÜBAP'a çalışmamızı desteklediği için teşekkür ederim.

Aileme ve arkadaşlarıma her zaman yanımda oldukları için teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ **1**

GENEL BİLGİLER **3**

ÖĞRENME VE BELLEK TANIMI **3**

LİMBİK SİSTEM **11**

UZUN SÜRELİ POTENSİYALİZASYON VE UZUN SÜRELİ DEPRESYON **15**

FORMALDEHİT **17**

BİLİŞSEL TESTLER **19**

APOPTOZİS **23**

GEREÇ VE YÖNTEMLER **24**

BULGULAR **32**

TARTIŞMA **43**

SONUÇLAR **48**

ÖZET **49**

SUMMARY **50**

KAYNAKLAR **51**

ŞEKİLLER LİSTESİ **60**

EKLER

KISALTMALAR LİSTESİ

APV **:** R-2-amino-5-fosfopentonat

CA_1 **:** Cornu Ammonis 1. Alan

CA_2 **:** Cornu Ammonis 2. Alan

CA_3 **:** Cornu Ammonis 3. Alan

CA_4 **:** Cornu Ammonis 4. Alan

DPC **:** DNA protein çapraz bağı

EC **:** Entrorhinal Cortex

WA **:** Wistar Albino

GSH **:** Glutatyon

FDH **:** Formaldehit dehidrogenaz

LTD **:** Long Term Depression (Uzun Süreli Depresyon)

FA **:** Formaldehit

IP **:** İntraperitoneal

LTP : Long Term Potentiation (Uzun Süreli Potansiyalizasyon)

MTL **:** Medial Temporal Lob

NMDA **:** N-metil-D-aspartik asit

TUNEL **:** Terminal deoksinükleotid transferaz aracılı işaretleme

GİRİŞ VE AMAÇ

Formaldehit (FA,CH_2O), metanolun oksidasyonu sonucu oluşan üründür. Oda sıcaklığında gaz halde bulunan FA, suda çok iyi çözünebilme kapasitesine sahiptir. Vücutta depo edilmez, formaldehit dehidrogenaz enzimi (FDH) tarafından karaciğer ve eritrositlerde formik asite dönüştürülürek metabolize edilir. İdrar, dışkı, ya da CO_2' ye dönüşerek solunum yoluyla vücuttan uzaklaştırılır. FA'nın kolay birleşik oluşturmasından dolayı, canlı dokuların FA'ya maruziyeti sonucu genellikle sitotoksisite, nekroz, mutasyonlar meydana gelmektedir (1). FA'nın kullanım alanı oldukça geniştir. Döküm, mobilya endüstrisinde, sigara, laminant, kaplama alanlarında ve fotoğraf filmlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca bakterisit ve doku koruyucu gibi özellikleriyle de bilinmektedir (2). Bu özelliğinden dolayı laboratuvarlarda sıkça kullanılır. Anatomide ise FA'nın %37'lik çözeltisi (formalin) doku fiksatörü olarak kullanılmaktadır. Bu nedenden dolayı gerek öğrenciler, gerekse öğreticiler FA'ya maruz kalmaktadır. Son yıllarda yapılan birçok çalışmada FA'nın sinir sistemi üzerinde de pek çok olumsuz etkisinin olduğu gösterilmiştir. Sıçanlarda intraperitoneal (IP) FA maruziyeti sonucunda *cortex frontalis* ve *hippocampus'te* piknozun arttığı ve nöron sayısının azaldığı bildirilmiştir (3). Yapılan diğer bir çalışmada ise sıçanların prefrontal cortex'inde apoptoziste ve pro-apoptotik bir protein olan Bax'ın immunreaktivitesinde artma olduğu belirtilmiştir (4,5).

Hippocampus, lobus temporalis'in mediali ve *ventriculus lateralis*'in *cornu temporalis*'i arasında yer almaktadır. *Lobus limbicus*'un önemli bir parçası olan *hippocampus* için *"cornu ammonis"* isimlendirmesi de kullanılmaktadır (6,7). *Hippocampus*, farklı altbölümleri arasında, geniş bir biçimde, eksitatör yolların tek yönlü döngüsünü de içeren heterojen bir yapıdır. Bu altbölümler: *gyrus dentatus*, CA_3, CA_1 ve *subiculum* dur (8).

Hippocampus'un görevi uzun zamandan beri araştırılmaktadır. Yapısının karmaşık oluşu, beyindeki komşulukları ve bunlarla olan bağlantıları, fonksiyonlarının tam olarak aydınlanmasına engel olmaktadır. Ancak bilim adamları *hippocampus'*un yeni anıların oluşumunda önemli roller oynadığı konusunda fikir birliği içerisindedirler. Kimi bilim adamları *hippocampus'*un *lobus temporalis'in* medial lobunda bulunan daha büyük bir bellek sisteminin bir parçası olduğunu düşünmektedirler (9).

Tezin temel amacı, akut ve kronik FA'ya maruz kalmanın öğrenme ve bellek üzerine olası etkilerini ve ortaya çıkabilecek bu etkilerin cinsiyetler arasında faklı olup olmadığını bilişsel bellek testleri kullanarak değerlendirmektir.

GENEL BİLGİLER

ÖĞRENME VE BELLEK TANIMI

Öğrenme, Dünya ile ilgili edinilen bilgilerden elde edilen sonuçların davranışlarda oluşturduğu değişikliği tanımlayan bir kelimedir. Bellek ise bu bilginin kodlandığı, depolandığı ve sonra geri getirildiği bir süreçtir.

1861'de Broca sol frontal lobun posterior'undaki bir hasarın konuşma yeteneğinde spesifik bir defisite sebep olduğunu keşfetmiştir. Kısa bir süre sonra, algı ve istemli hareketler gibi diğer zihinsel fonksiyonların da beynin farklı bölümlerinin aracılık ettiği netleşmiştir. Bu durum ''Bir bellek merkezi var mıdır, yoksa bellek beyinde yaygın olarak dağılmış mıdır?'' sorusunu beraberinde getirmiştir. 20. Yüzyılın ortalarına kadar birçok psikolog, belleğin algıdan, dilden veya hareketten farklı biri işlev olduğundan şüphe duyuyordu. Bu şüphenin nedeni belleğin depolanmasında farklı beyin bölgelerinin görev almasıydı. Temelde bakıldığında birkaç farklı bellek türü vardır ve beynin bazı bölgeleri, birtakım depolama tipleri açısından diğerlerinden daha fazla önem taşımaktadır. Bellek iki boyutlu olarak sınıflandırılabilir: depolamanın süreci, saklanan bilginin özelliği (10).

Belleğin özelliğini düşünürsek, William James'in ''gerçek bellek'' veya ''ikincil bellek'' olarak nitelediği uzun süreli bellek aklımıza gelir. Yani belleği, bilinçten düştükten sonra kalan eski bir zihin bilgisi olarak düşünüyoruz. Bununla beraber, belleğin bütün formları "eski zihin bilgisi'' söylemini yansıtmaz. Aslında bilgiyi depolama yeteneği, amaca uygun bilginin sunumlarının geçici de olsa korunmasıdır ve çalışma belleği (kısa süreli) bellekle alakalıdır (10,11).

Kısa Süreli Bellek

Çalışma belleği olarak bilinen kısa süreli belleğin kapasitesi sınırlıdır. George A. Miller (1956), kısa dönem belleğin 7 ± 2 maddelik olduğunu gösteren deneyler yapmıştır (14). Kısa vadeli bellek kapasitesinin günümüzdeki tahminleri genellikle 4-5 maddelik olduğudur (10). Ancak hafıza kapasitesi yığınlama (chunking) adı verilen bir süreçle artırılabilir (11). On basamaklı bir telefon numarasını ezberlerken, üç basamaklı sayı dizisi (456) ve son olarak dört basamaklı bir sayı dizisi (7890) şeklinde bölerek öğrenmeyi örnek gösterebiliriz. Telefon numaralarını hatırlamamızı sağlayan bu yöntem, 10 basamaklı bir dizeyi hatırlamaya çalışmaktan çok daha etkilidir. Bunun nedeni, bilgileri anlamlı sayı gruplarına ayırabilmemizdir. Kısa süreli bellek altında açıklanan çalışma belleği ise 1974'te Baddeley ve Hitch tarafından önerilmiştir. Bu modelde çalışma belleği üç ana kısımdan oluşur: merkezi yönetici (central executive), fonolojik döngü (phonological loop) ve görsel mekânsal eskiz defteri (visuo-spatial sketchpad). 2000 yılında bu model multimodal episodik tampon ile geliştirilmiştir (12).

Uzun Süreli Bellek

Epilepsinin sağaltımı için yapılan müdahaleler sonucunda bellek için önemli veriler elde edilmiştir. Makalelerde yaygın olarak adı geçen H.M. isimli hastanın *formatio hippocampalis, amygdala ve cortex*'in temporal bölgesinin multimodal assosiasyon alanlarının bilateral olarak çıkarılmasından sonra nöbetlerin kontrol altına alındığı fakat yeni bellek oluşturma yeteneğinin kaybolduğu görülmüştür. Şartlanma, sensitizasyon gibi öğrenmenin refleksif olduğu durumlarda ise bilgiyi saklayabildikleri dile getirilmiştir (10, 13). Bu gibi bilgilerin ışığında iki tip bellek olduğu düşünülmektedir: İmplisit bellek (örtük, nondeklaratif) ; eksplisit bellek (açık, ifade edilebilir, deklaratif).

İmplisit bellek, bir tip görevin performansında belirgin olan (nondeklaratif veya prosedürel bellek olarak da bilinir) bir bellek biçimidir. İmplisit bellek, genellikle, konunun parçasını az bilinçli işleme tabi tutarak, otomatik bir şekilde kendini gösterir.

Eksplisit bellek, önceki deneyimleri kasıtlı ya da bilinçli olarak geri getirmenin yanısıra insanlar, yerler ve şeyler hakkındaki olgusal bilginin bilinçli geri çağrılmasıdır. Eksplisit bellek oldukça esnektir; farklı koşullar altında birçok bilgi parçası ilişkilendirilebilir. Bununla birlikte, implisit bellek, öğrenmenin gerçekleştiği orijinal koşullarla sıkı sıkıya bağlıdır (14). Eksplisit belleğin tam tersi olarak implisit bellek bilinçli geri çağırmayı desteklemeyen ve önceki tecrübelerden edinilmiş bir kalıntı olarak düşünülür. Bu kalıntı dramatik bir biçimde

zayıflamaya uğramış bir bellek izinden geriye kalanlardır. İmplisit bellek güçsüz bir bellek izi olmasına rağmen tahmin etme ve *priming* üretme üzerinde etki etme kabiliyeti vardır (15).

Eksplisit Bellek

Eksplisit bellek, *hippocampus,* entorinal ve perirhinal korteks ve *gyrus parahippocampalis* dahil olmak üzere medial temporal lob (MTL) yapıların bütünlüğüne ve ayrıca *thalamus'taki fornix* ve *nucleus anterior* ve *nucleus mediodorsalis'lere* bağlıdır (16).

Kanadalı psikolog Endel Tulvig, eksplisit belleği; iki bölüme ayıran ilk kişidir. Bu bölümler: Epizodik bellek ve semantik bellektir. Dün baharın ilk çiçeklerinin açtığının görmek ya da birkaç ay önce dinlediğimiz bir şarkıyı hatırlamayı epizodik belleğe örnek olarak gösterebiliriz. Semantik bellek ise; yeni sözcüklerin ve kavramların anlamlarını öğrenmek için kullanılan bir bellek çeşididir. Semantik bellek, kavramsal bilginin anılarıdır. Eksplisit belleğin tek bir uzun süreli deposu yoktur. Bunun yerine bir bilginin depolanması birden fazla beyin bölgesi arasında yayılmıştır. Bu bilgiye farklı ipuçlarıyla (görsel, sözel vs.) ulaşılabilir (14).

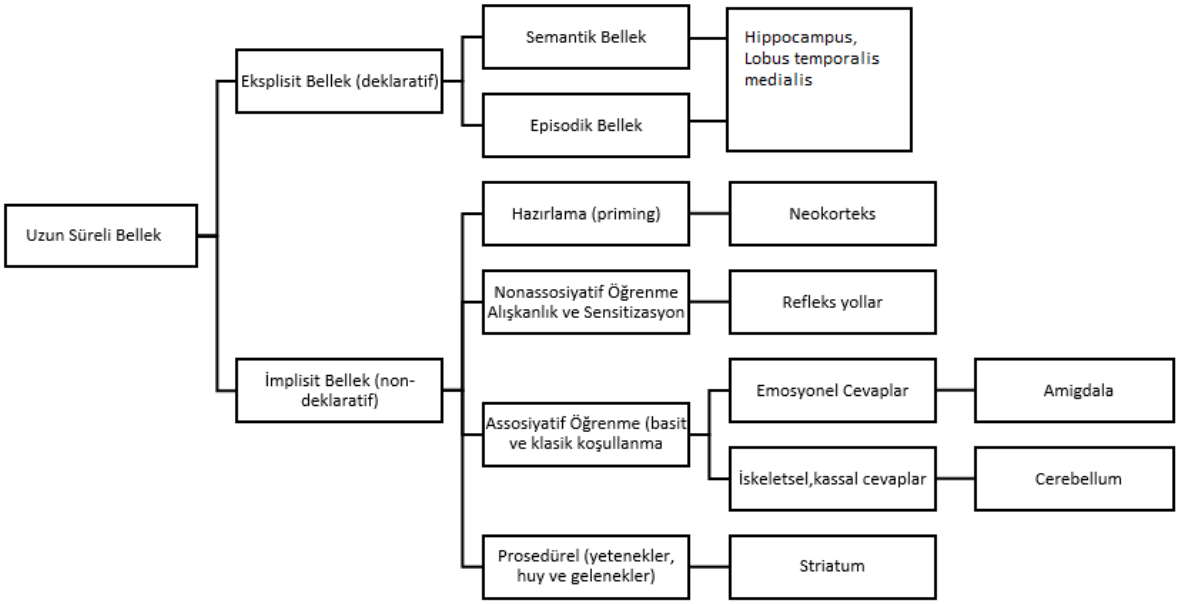
Eksplisit belleğin işlenmesindeki dört adım: Kodlama, yeni bilgilerin izlendiği ve hafızadaki mevcut bilgilere bağlı olduğu işlemdir. Bu sürecin kapsamı, öğrenilen materyalin ne kadar iyi hatırlanacağının belirlenmesinde kritik öneme sahiptir. Bir bellek varlığını sürdürmek ve iyi hatırlanabilmek için, gelen bilgiler kapsamlı bir şekilde kodlanmalıdır; psikolog Fergus Craik ve Robert Lockhart'ın "derin" şifrelemesi adı verilen durumdur. Bu, bilgiye katılarak ve bellekte zaten iyi bilinen bilgilerle ilişkilendirerek gerçekleştirilir. Hatırlamak için iyi motive olduğunda hafıza kodlaması da daha güçlüdür.

Depolama, belleğin zamanla tutulduğu sinirsel mekanizmaları ve yerleri ifade eder. Uzun vadeli depolama konusunda göze çarpan özelliklerden biri neredeyse sınırsız kapasiteye sahip olmasıdır. Uzun süreli depolama alanındaki bilgi miktarına ilişkin bilinen bir sınır yoktur. Buna karşılık, çalışma belleği depolaması çok sınırlıdır. Psikologlar insan çalışma belleğinin (bir üst konuda bahsedilen) herhangi bir zamanda yalnızca birkaç bilgi tutabileceğine inanmaktadır.

Konsolidasyon, geçici olarak depolanan ve hala kararsız bilgileri daha kararlı hale getiren işlemdir, sinapsların yapısal değişikliklerine neden olan genlerin ve protein sentezinin sentezlenmesini içerir.

Geri alma, depolanan bilgilerin geri çağrılma sürecidir. Farklı yerlerde depolanan farklı bilgi türlerini aklınıza getirmekle ilgilidir. Belleğin alınması algılama biçimine çok benzer;

yapıcı bir süreçtir ve bu nedenle algı ilüzyona maruz kaldığı kadar bozulmaya da neden olur (10).



Şekil 1. Uzun süreli belleğin sınıflandırılması ve bunlarla ilgili beyin bölümleri (17)

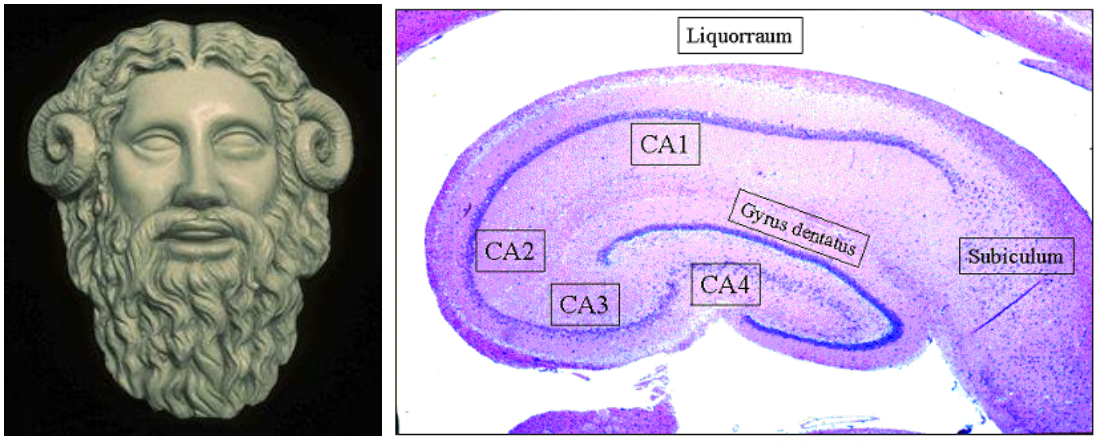
Hippocampus

Hippocampus kelimesi ilk kez 16. yüzyılda Bolognalı bir bilim insanı olan Giulio Cesare Aranzio tarafından söylenmiştir. Latince bir adlandırmadır ve oluşumun denizatına benzetilmesi nedeniyle bu isim verilmiştir (*hippos*:at, *campos*:deniz canavarı) (18).



Şekil 2. Hippocampus ve denizatı

Hippocampus, kendisine ait bir parça olan *gyrus dentatus* ile birlikte *formatio hippocampi*'nin önemli bir kısmının oluşumuna katılmaktadır (19). *Cortex cerebri*'nin *hippocampus* bölümünün frontal kesiti incelendiğinde, koçboynuzuna benzediği görülmektedir. Bu nedenden dolayı, mitolojide koçbaşlı bir Mısır ilahı olarak geçen Ammon'un ismi de verilmiştir (20).



Cornu ammonis (=CA)

Şekil 3. Ammon, cornu ammonis

Hippocampus, *cerebrum*'un *lobus temporalis*' inin medial yüzeyi içerisinde simetrik olarak yerleşmiş şekli ''C'' harfine benzeyen *substantia grisea* parçasıdır. Bulunduğu yer itibariyle *ventriculus lateralis*'in *cornu inferior*' unun alt kısmına yerleşmiş olup aşağıda *gyrus parahippocampalis* ile yukarda *liquor cerebrospinalis* aracılığı ile *tela choroidea* ile komsudur (21).

Hippocampus 'un makroskopik bakıda farkedebileceğimiz caput, corpus ve cauda olmak üzere 3 bölümü vardır. Anatomik pozisyonda antero-infeiror ve laterale doğru *ventriculus lateralis*'in *cornu inferior*'u tabanında ventrikül şekline uyar. Uzunluğu 5–8 cm arasında değişmektedir. *Hippocampus, subikulum* ve medial parahippocampal gyrusun üstünde, lateral ventrikülün alt boynuzunun akışında yaklaşık 5 cm uzunluğunda kavisli bir yükseklik oluşturur. Ön ucu genişler ve buradaki 2 ya da 3 çıkıntı pati benzeri görünüm verir bu bölgeye *pes hippocampi* adı verilmektedir. Ventriküler kısım dışbükeydir. Ependima ile örtülür, altta alveusun lifleri medialde uzunlamasına lif demetinde, *fornix'*in fimbriasında birleşir. Medialde *sulcus collateralis*'ten geçerek, *gyrus parahippocampalis*'in neokorteksi, *subiculum*'un geçiş jukstalokorteksi ile birleşir. *Gyrus dentatus, subiculum*'un altına, lateral olarak *hippocampus'*a, daha medialde *fornix'in* fimbriasına bağlı bir korteks şeridir. *Fimbria hippocampi, hippocampus*'un uzun eksenine paralel ventriküle doğru çıkıntı yapan uzantısıdır. Fimbria şekli

oldukça değişkendir ancak medialde *sulcus fimbriodentalis* vasıtasıyla *gyrus dentatus*'un tırtıklı kenarından ayrılır. Değişken derinlikte olan *sulcus hippocampalis, gyrus dentatus* ile *gyrus parahippocampalis*'in subiküler uzantısı arasında uzanır. Ardından *gyrus dentatus, gyrus fasciolaris* ile kesintisiz ve dolayısıyla *indusium griseum* ile devam eder. Anterior kısımda, *uncus*'un çentiğinde devam ettirilir, medialde alt yüzeyinden dönerek, *gyrus dentatus*'un kuyruğu (Giacomini bandı) olarak döner ve *uncus*'un medial yönünde kaybolur. Bu yapı esasen corpus'ta *margo denticulatus*, cauda'da *fasciola cinerea* olarak isimlendirilen oluşumların devamıdır. *Uncus*'un üstünde Giacomini bandına yakın bir kabartı bulunur ve *gyrus uncinatus* olarak isimlendirilir. Giacomini bandı, *gyrus semilunaris* ve *gyrus ambiens lobus piriformisi* olusturur. Cauda, *uncus*'un alt yüzünü önde *gyrus uncinatus*, arkada *gyrus intralimbicus*'a ayırır. *Gyrus dentatus*' un trilaminer korteksi, *hippocampus* alanlarının en az karmaşık olanıdır. Başlıca hücre tipi, yoğun granül hücre tabakasında bulunan granül hücredir. Granül hücreleri üst molekül tabakasına uzanan unipolar dendritlere sahiptir. Esas olarak entorhinal korteksten *gyrus dentatus'a* gelen, afferent projeksiyonların çoğu buraya ulaşmaktadır. Granül hücre ve moleküler katmanlara bazen *fascia dentata* denir. Polimorfik tabaka veya *gyrus dentatus'*unun hilusu, esasen ipsilateral assosiasyon liflerini sağlayan hücreler içerir. *Gyrus dentatus* içinde kalırlar ve diğer *hippocampus* alanlarına yayılmazlar. *Hippocampus* üç katmanlı archicortex'tir. Tekli bir piramidal hücre tabakasından oluşur ve üstü ve altındaki pleksiform tabakalar bulunur. Üç farklı bölgeye, CA_1, CA_2 ve CA_3 ayrılabilir. Lorente de No, Hippocampus'un bölgelerini isimlendirmiştir. Bu isimlendirmeyi yaparken de *cornu ammonis* kelimesinin baş harflerini kullanarak, bölgenin spesifik özellikleri nedeniyle CA_1, CA_2, CA_3 ve CA_4 bölümlerine ayırmıştır. Bu ayrım esas hücre topluluğu olan piramidal hücrelerin her bölgede farklı görüntü vermesinden dolayıdır. İnsanlarda en fazla yer kaplayan alan *subiculum* ile *hippocampus* geçişinde bulunan CA_1 alanıdır. Her alanın kendine özel işlevleri ve özel patolojileri bulunur. Hipoksiye karşı farklı derecelerdeki duyarlıklıkları nedeniyle farklı isimler de alırlar. CA_1 bölgesi:''vulnerable sektör'' ya da ''Sommer sektörü'', CA_2 ve CA_3 bölgeleri: resistant sektör'' veya ''Spielmeyer sektörü'' ,CA_4 bölgesi: "Bratz sektörü'' (22). CA_1, CA_2 ve CA_3 Hippocampus proper'ı meydana getiren bölümlerdir. Fakat CA_2 çok küçük bir bölgeyi kaplar. *Cornu ammonis* ve *gyrus dentatus* birbiri üstüne kıvrılarak *hippocampus*'un esas morfolojisini oluştururlar (19-21, 23-25). CA_3 alanı, bir ucunda *gyrus dentatus'un* hilus sınırını, diğer ucunda CA_2 alanını sınırlar. CA_3 alanındaki pyramidal hücreler *hippocampus*'te en geniş yer kaplayan hücrelerdir ve proksimal dendritlerdeki granül hücrelerden yosunsu lifler ile girdi alırlar. Bu alandaki piramidal hücre tabakası yaklaşık 10 hücre kalınlığındadır. CA_3 ile CA_2 arasındaki

sınır çok belirgin değildir. CA_2 alanı piramidal hücrelerin en kompakt katmanına sahiptir. Granül hücrelerinden gelen yosunsu lif girdisinden tamamen yoksun ve *hipotalamus*'un *regio supramammilleris*'inden afferentler almaktadır. CA_1 alanı genellikle alt bölümlerin en karmaşığı olarak tanımlanır ve görünümü transvers ve sagittal ekseni boyunca değişim göstermektedir. CA_1 ve CA2 sınırı net değildir. CA1, bazı kısımlarda *subiculumun* üzerine biner. Bu alandaki nöronların yaklaşık % 10'u interneuronlardır.

Commissura fornicis hippocampi (Lyra Davidis veya psalterium) sağ ve soldaki *hippocampus*'u birbiriyle birleştirir ve *fornix hippocampi*'nin ön kolları (anterior pillaris fornicis) *corpus mamillare*'lerde sonlanır (21,23,26,27). Hippocampus'un cauda'sının orta bölümü superior'dan inferior'a; gyrus fasciolaris, fasciola cinerea ve gyri Andreas Retzii olarak 3 bölüme ayrılır. Cauda yukarı doğru incelir ve isthmus olarak isimlendirilir. Hippocampusun arterleri ve venleri: *A.cerebralis posterior, A.choroidea anterior, V. Basilaris'tir* (26).

Cornu ammonis ve *gyrus dentatus* arasında bulunan kıvrımlı sınır vestigial hippocampal sulcus olarak isimlendirilir. Bu kısım *sulcus corpus callosi*'nin devamı olan *sulcus hippocampi superficialis*'in uzantısı seklindeki derin kısmı olup karşılıklı sinirlerin geçis yapabileceği, arada küçük boşluklar görülse de yapışmış bir tabakadır (26). Lateralde *hippocampus*'un sınırını *sulcus hippocampi superficialis*'in *tela choroidea*'dan sonraki kısmı olan *cornu inferior ventriculus lateralis* oluşturur. Bu iki beyin omurilik sıvısı içeren ventrikül uzantıları *hippocampus*'u sarar. Bu görünüm manyetik rezonans ve bilgisayarlı tomografi kesitlerinde *hippocampus*'un tanınmasında ve cerrahisinde kolaylık sağlar. *Mesencephalon* arka duvarını saran ve her iki taraftaki *cisterna ambiens*'leri birlestiren *cisterna quadrigeminalis*, arka tarafta üçgene benzeyen *area triangularis*'i meydana getirir (26, 27). *Cornu ammonis* ve *gyrus dentatus*'un birbirine rulo seklinde sarılan ikili katmanı *hippocampus*'un baş kısmında bir miktar bükülme gösterir ve sonrasında fimbriaların çıktığı kuyruk kısmına kadar düzgün bir gidiş sergiler. *Gyrus parahippocampalis*; entorhinal, perirhinal ve parahippocampal cortexlerden oluşmaktadır.

Hippocampus' un gelişimi: *Lobus limbicus*, *cortex cerebri'nin* in farklılaşmaya başlayan ilk bölümüdür. Başlangıçta hemisferlerin medial ve inferior kısmında devamlı ve sirküler bir bant halinde bulunur. Aşağıda ve ön tarafta *tractus olfactorius*'un sapının ilişik halde bulunduğu yerde *area piriformis'*in bir kısmını oluşturur. *Fissura choroidea*'nın kıvrımının dış tarafta kalan kısmı *formatio hippocampi*'yi meydana getirir. Bu bölgede gelişen cortex in nöral progenitörleri göç ederler ve çoğalırlar. Hemisfer duvarı kalınlaşır ve

ventrikülün medial tarafına denk gelen bir yükselti oluşur. Bu yükselti *hippocampus*' tur. İlk olarak hemisferlerin medial duvarı üzerinde görülür yavaş yavaş geriye doğru gider ve *area piriformis* yan yana olduğu *polus temporalis* bölgesine doğru kıvrılır. Hemisferlerin medial tarafında yüzeysel bir oluk oluşur ve bu oluk *formatio hippocampalis*'i kat eder. Bu oluğun adı *sulcus hippocampalis*'tir.

Hippocampus'taki hücrelerin efferent lifleri medial kenarı boyunca bir araya gelirler ve *fissura choroidea*'nın hemen üzerinde ileri doğru yönelirler. Bu efferent hipokampal lifler *fimbria hippocampi* ve *fornix*'i oluştururlar. Daha sonra iki *hippocampus* lamina terminalis'in üst bölümünde *fornix*'e geçen lifler aracılığıyla birbirleriyle bağlantı kurarlar. Bu liflerin oluşturduğu yapı *commissura hippocampi*'dir (28).

Hippocampus histolojisi: *Hippocampusun* birbiriyle bağlantılı halde bulunan 7 tabakası vardır. Histolojik olarak ventrikuler kısımdan dışa doğru giderek aşağıdaki şekilde sıralanırlar.

Alveus: Ventrikül yüzeyine komşu olan bu tabaka en derinde bulunur. Piramidal hücre aksonlarını içerir ki bu aksonlar subiculum ve *hippocampus'e* aittir. *Hippocampus'*un en önemli çıktısı (output) olan *fimbria hippcampi* ile *fornix*'e doğru giden aksonlar *alveus hippocampi'*den geçerler.

Stratum oriens: Bu tabakada internöronlar ve piramidal hücrelerin bazal dendrtileri bulunur. Burada bulunan birçok nöronun aksonu alveus liflerine katılır. Diğer hücrelerin aksonları ise en derinde bulunan katman olan stratum moleculareye kadar uzanır.

Stratum pyramidalis: Büyük piramidal hücreler ve golgi tip 2 hücreleri sayıca fazladır. Bu görünüm, bu tabakanın karakteristik özelliğidir. Piramidal hücrelerin gövdeleri bu tabakada yer almaktadır. Bu hücrelerin tabanı Hippocampusun ventrikul tarafında olan yüzüne dönüktür ve bazal-apikal dendritleri komşu tabakalara değin uzanır. Aksonları *stratum oriens*' ten geçerek alveus liflerine katılırlar. Birçok internöron gövdesi bu katmandadır. *Hippocampus*'e tipik şeklini veren buradaki piramidal hücre dizilimidir.

Stratum lucidum: Yalnıza CA_3 bölgesinde bulunan bu katman, en ince tabakalardan biridir. Genellikle motor tip piramidal hücrelerden oluşur. Hücresel açıdan yoğundur. Yosunsu (mossy) lifler içerir. Bu lifler CA_3 alanında bulunan piramidal hücreler ile gyrus dentatus' un granüler hücreler arasında bağlantı sağlar. Bu alan diğer primatlara göre insanlarda daha belirgin şekilde görülür.

Stratum radiatum: *Stratum oriens* katmanına benzer. Septal ve komissural lifler içerir. Ayrıca CA_3'ten CA_1'e projeksiyon lifleri bulunur. Bu lifler Schaffer kollateral lifleridir. Bu katmanda yüzeyde bulunan birtakım internöronlar da bulunmaktadır (9). *Stratum radiatum* ve *stratum oriens*'te, CA_3 ve CA_2 hücreleri, *hippocampus*'ün diğer rostrokardual seviyelerinden ve aynı zamanda subkortikal yapılardan gelen afferentlerden (örn. Septal nükleuslar ve supramammiller bölge) assosiyatif bağlantılar alırlar (23).

Stratum lacunosum: İnce bir tabaka halinde bulunur. Bu katmanda da Schaffer kollateral lifleri bulunmaktadır. Fakat yüzeyel kısmından cortex entorhinalise uzanan birtakım perforan lifler de içerirler. Çok ince bir katman olduğu için bazen stratum molekülare ile birlikte anılırlar ve "*stratum lacunosum-moleculare*" adıyla tek tabaka olarak da isimlendirilebilirler.

Stratum moleculare: En dışta bulunan tabakadır. Burada da perforan lifler ve piramidal hücrelerin apikal dentritler bulunur. Bu katman bazı yazarlar tarafından "*stratum moleculare*" olarak isimlendirilip tek bir tabaka olarak incelenebilir fakat bazı kaynaklarda ise yukarda belirtildiği gibi 6. ve 7. tabakaları birleştirerek "*stratum lacunosum-moleculare*" ismiyle tek tabaka olarak da incelenmektedir (9). CA_3 ve CA_2 alanlarının piramidal hücrelerinden CA_1'e, genellikle Schaffer kollektörleri olarak adlandırılan projeksiyonlar, *stratum radiatum* ve katman *stratum oriens*' te sona erer. Entorhinal korteksten *gyrus dentatus*'a (perforant yolak) uzanan projeksiyonlar, *hippocampus'un* piramidal hücrelerinin distal apikal dendritleri ile sinaptik temas kuran *stratum lacunosum-moleculare*'de projekte olurlar (23).

LİMBİK SİSTEM

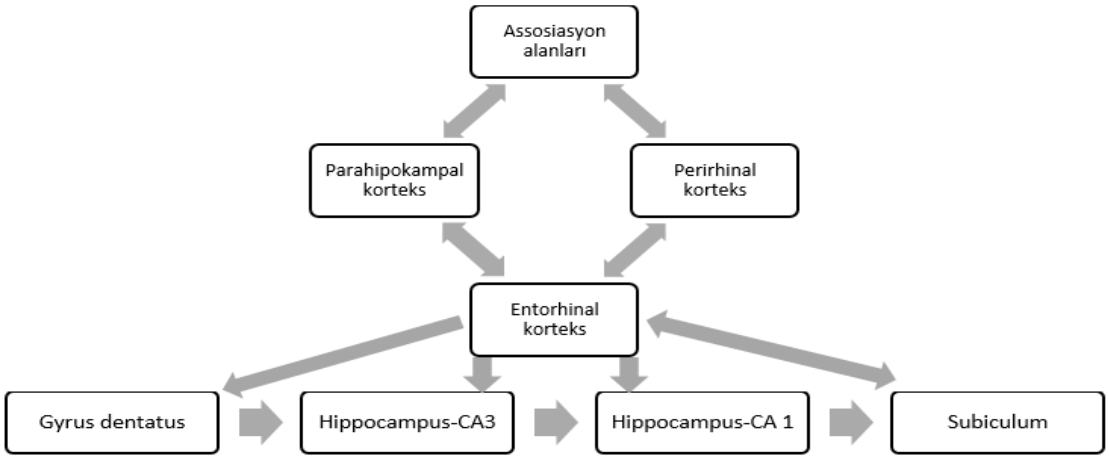
Limbus latince kenar anlamına gelmektedir. Bu terim ilk kez 1878 yılında Broca tarafından kullanılmıştır ve bu terim *hemispherium cerebri'nin* iç kısmında, rostral beyin sapı ve *corpus callosum*'u sınırlandıran yapıları belirtmektedir (22).

Diencephalon ve *telencephalon* arasındaki birtakım yapıların meydana getirdiği bir sistemdir. Emosyonların dışa vurumu, öğrenme, bellek gibi fonksiyonlarda, koku duyusu ile ilgili yapılarla yakından ilişkisi vardır (29).

Bu sistem içerisinde hem kortikal, hem de subkortikal oluşumlar bulunmaktadır. *Formatio hippocampi*, *area septalis*, *gyrus cinguli*, *gyrus parahippocampalis*, *indusium griseum* ve *corpus amygdaloideum* bu sistem içerisinde sayılan yapılardır. Gyrus cinguli, gyrus fasciolaris, gyrus parahippocampalis, hippocampus, area subcallosa, gyrus dentatus *lobus limbicus*'u oluşturan *cortex cerebri'ye* ait yapılardır (30).

Formatio Hippocampi

Formatio hippocampi, ventriculus lateralis'in *cornu inferius*'unun alt tarafı boyunca bulunan kıvrık bir korteks bölümüdür. *Hippocampus, gyrus dentatus, subiculum* ve entorhinal cortex bu yapı içerisinde bulunmaktadır (30). *Formatio hippocampi* ikili lamina yapısı göstermektedir. Biri içe doğru kıvrılır ve yukarda bahsedilen cornu ammonis'i oluşturur. Diğer lamina *gyrus dentatus*'u (*fascia dentata gyrus involutus*), meydana getirerek uzanır. *Gyrus dentatus, fimbria hippocampi* ile *gyrus hippocampalis* arasında uzanır. Alt tarafında subiculum, üstünde ise medialde fimbria, fornix; lateralde ise hippocampus ile bağlantıdadır. Üç katlı korkteks yapısına sahiptir. İçten dışa: moleküler tabaka, granüler hücre tabakası, polimorfik tabaka. Asıl hücre tipi olan granüler hücreler gyrus dentatus'un afferentlerini oluşturur (31). Granüler hücre tabakasının kolları arasında bulunan polimorfik hücrelerden oluşan hilal şeklindeki alan hilus'u oluşturur. Bu alan Lorente de No tarafından tanımlanan CA_4 alanıdır (32, 33). *Gyrus fasciolaris* ve sonrasında indusium griseum olarak uzanır. *Indusium griseum (gyrus supracallosalis) corpus callosum*'un üzerinde bulunan *substantia grisea* tabakasıdır. Afferentleri *hippocampus*'tan gelir. Efferentleri *subiculum* ve *hippocampus*'a gider (22,30).



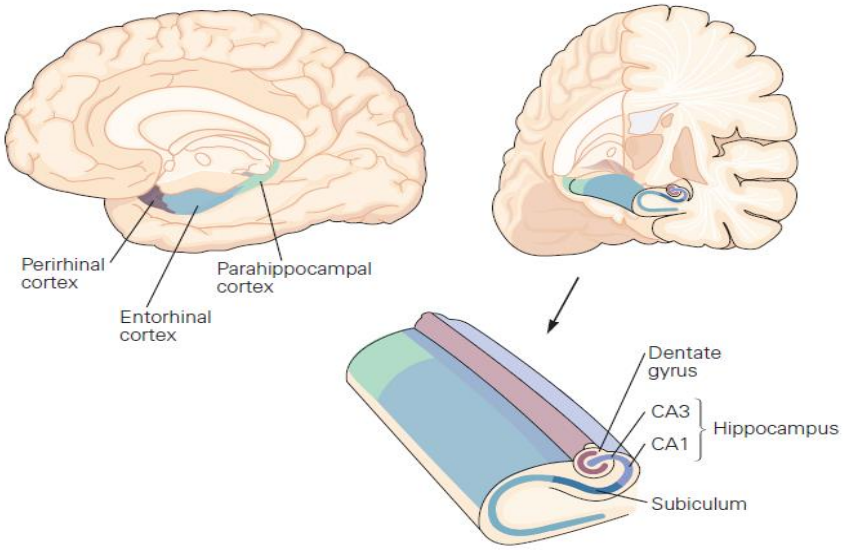
Şekil 4. *Formatio Hippocampi* organizasyonu (14)

Subikuler Kompleks

Subiculum, presubiculum, parasubiculum kısımlarından oluşur (34). *Subiculum*'un bir ucu *hippocampus*'un CA_1 bölgesiyle komşuyken diğer ucu presubikulum ile devam eder. *Hippocampus*'un CA_1 bölgesiyle subikulum bölgesinin ayrımı pyramidal hücre tabakasının genişlemesiyle yapılır (35).

Entorhinal Korteks

Entorhinal korteks, medial temporal lobda yer alan ve bellek ve yer-yön bulma için yaygın bir ağda bir merkez olarak işlev gören bir beyin alanıdır. Entorhinal korteks-*hippocampus* sistemi, (otobiyografik, epizodik, semantik) bellek oluşumu, hafıza konsolidasyonu ve uykudaki hafıza optimizasyonu gibi uzaysal bellekte önemli bir rol oynamaktadır. Entorhinal korteks, Alzheimer hastalığında beynin ilk etkilendiği alandır (36). Broadmann'ın 28.alanına uyan bu alan rostralde ise amigdala'nın ön sınırına kadar gelir. Entorhinal korteks'in amigdala'nın alt kısmına denk gelen kısımları *bulbus olfactorius*'tan afferent lifler almaktadır. Bu yapı temporal ve frontal lobun assosiasyon alanlarındani prepirifom korteks'ten, amigdala'dan afferent lifler alır (31, 37).



Şekil 5. MTL'nin hafızayla ilgili önemli bölümleri (14)

Gyrus cinguli: *Corpus callosum*' un üstünde hemisferlerin medial yüzünde bulunur ve sulcus cinguli ile devam eder. Anterior (24,25,32 ve 33. Broadmann alanı), posterior (23 ve 31. Broadmann alanı) ve retrosplenial kortekslerden (29 ve 30. Broadmann alanı) oluşur. Alanların her biri birkaç alt bölgeye ayrılmıştır. Fonksiyonel bakımdan bu alanlar, anterior singulat korteksin anteroventral kısmı, ön singulat korteksin arka kısmı, posterior singulat korteks ve retrosplenial korteks olmak üzere 4 bölüme ayrılmıştır. Duyguyla derinlemesine ilgilenen ilk bölüm, amigdala, *thalamus*'un *nucleus anterior* ve *nucleus mediodorsalis* çekirdekleri ve orbitofrontal korteks ile yoğun bir şekilde bağlantılıdır. Ağrı bilinci ve tepki seçimi ile ilgili ikinci bölüm, *thalamus'*un *nucleus intralaminaris'i,* prefrontal, posterior parietal ve motorla ilişkili korteksler, beyin sapı ve omurilik ile sağlam bağlantılara sahiptir. Uzaysal bilgi işlemede

önemli bir rol oynayan üçüncü bölüm, esas olarak posterior parietal ve dorsolateral prefrontal kortekslerin yanı sıra *pulvinar thalami'nin medial kısmı, nucleus posterolateralis* ve *nucleus dorsolateralis* çekirdekleriyle bağlantılıdır. Son olarak, uzun süreli hafıza oluşumunda esas olan dördüncü bölüm MTL, dorsolateral prefrontal korteks ve t*halamus*'un *nucleus anterior*'ları ile karşılıklı projeksiyonlara sahiptir (38).

Corpus amygdaloideum: Bir nukleus grubudur. *Ventriculus lateralis*'in *cornu inferius*'unun uç kısmı ile komşuluktadır. Amygdala'nın dorsomedial kısmı koku yolları ile, ventrolateral kısmı ise limbik sistemle ilgilidir (30). *Corpus amygdaloideum*'a korktekste bulunan yardımcı duyu bölgelerinden ve direk koku yolundan uyarı gelir. Efferenti, *tractus amygdalofugalis anterior* aracılığıyla *hipothalamus*'a ve *thalamus*'un *nucleus mediodorsalis*'ine ulaşır. Buradan çıkan talamokortikal lifler ise prefrontal kortekse ve *gyrus cinguli*'ye gelir (29).

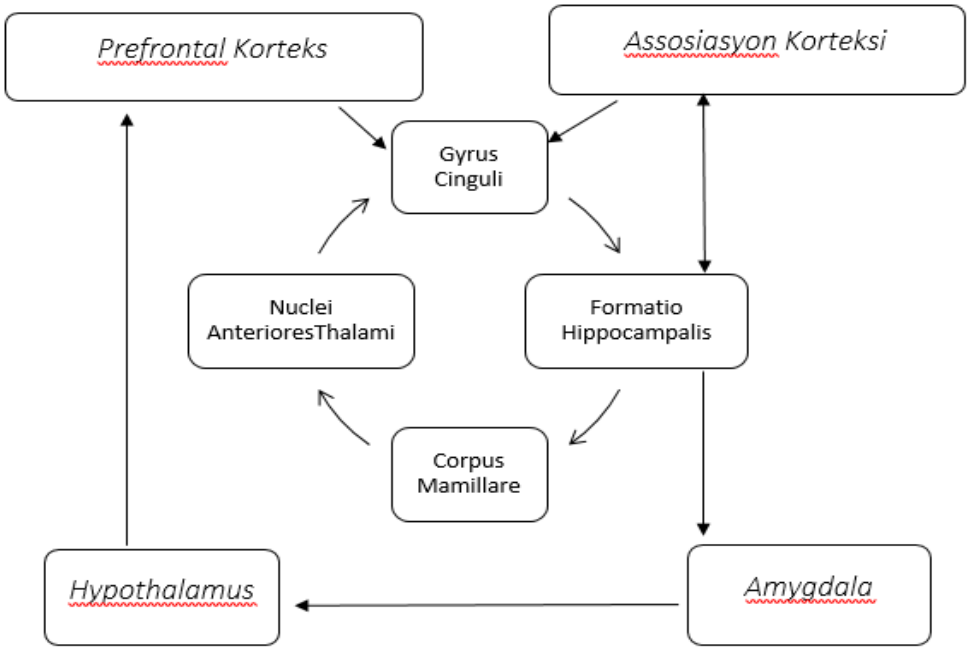
Fornix: *Alveus hippocampi*' den orijin alır. *Formatio hippocampi*' nin esas efferent lif demetini bu yapı oluşturmaktadır. Hipokampofugal ve hipokampopedal liflerden meydana gelmektedir. *Fornix, corpus callosum*'un *splenium corporis callosi* kısmından başlar. Crus, corpus, columna olmak üzere üç kısmı vardır. Crusları birbirine bağlayan yapı *commissura fornicis*'tir. *Corpus fornicis, corpus callosum*'un altında öne doğru uzanır. Önde *columna fornicis* bulunmaktadır ve aşağıya döner. Ön lifleri *area septalis,* arka lifleri *corpus mamillare*'ye gider.

Limbik Sistemin Öğrenme ve Belleğe Etkisi

Öğrenme ve bellek merkezi sinir sistemi'nin çok çeşitli bölgelerinin görev aldığı karmaşık bir sistemdir. Yeni elde edinilmiş bilgilerin depolanmasında *formatio hippocampi*' nin önemli görev üstlendiği bilinmektedir. *Hippocampus*' un bulunduğu bölgenin tutulumunda, kısa süreli belleğin uzun süreli belleğe dönüştürülmesinde; sol tutulumunda sözel bellek etkilenirken, lezyonun sağda olduğu durumlarda ise görsel bellek etkilenmektedir (30).

Çok çeşitli girdilerden etkilenen *formatio hippocampi,* özellikle yakın dönem bellek ve öğrenme için önemli bir alandır. Epileptik kişilerde *hippocampus'*ların cerrahi olarak çıkarılmasından sonra, eski dönemde edinilmiş anılar saklanırken, yakın bellek ve sözele dayanan bilgi öğrenimi yok olur. *Hippocampus* kısa süreli belleğin, uzun süreli belleğe dönüştürülmesinde gerekli bir bölgedir. *Formatio hippocampi*' de bulunan nöronların tutulumu kaynaklı ortak bulgular ''Alzheimer hastalığı'' ve ''Korsakoff sendromu'' nda da görülür.

Öğrenme ve duyulardan gelen impulsların kalıcı hale gelmesi için ‘’Papez devresi’’nin önemi büyüktür. Bu devre sürekli tekrar eder: *Area septalis + corpus mamillare* ➡ *nuclei anteriores thalami* ➡ *gyrus cinguli* ➡ *area entorhinalis* (22). Daha sonra tanımlanan bağlantılarla aşağıdaki tablo elde edilmiştir.



Şekil 6. Limbik sistem (17) Papez tarafından tanımlanan dörtlü döngü merkezde yer almaktadır. Sonradan tanımlanan bağlantılar köşelere yerleştirilmiştir.

UZUN SÜRELİ POTENSİYALİZASYON VE UZUN SÜRELİ DEPRESYON

1966’ da Lomo şok (şartlandırma) testlerinin ilk periyodunu takiben, kısa bir test şokunun *gyrus dentatus*’ ta güçlendirilmiş bir tepki ortaya çıkardığını ifade etti (39). 1973’ te Bliss ve Lomo uyguladıkları yüksek frekanslı uyarımların *gyrus dentatus* granül hücrelerinde sinaptik aktarım etkinliğindeki devamlılığın arttığını belirtmişlerdir (40). Bu çalışma ve devamındaki çalışmalar Hebb öğrenme kuralını destekler nitelikte olmuştur. 1975'de Douglas ve Goddard, bu olgu için bir isim olarak "long term potentiation (LTP)" demişlerdir. Sinirbilimde LTP, son zamanlardaki aktivite kalıplarına dayanılarak sinapsların kalıcı bir şekilde güçlendirilmesidir. Bunlar, iki nöron arasındaki sinyal iletiminde uzun süreli bir artış yaratan sinaptik aktivite modelleridir (41). LTP'nin tam tersi, sinaptik kuvvette uzun süreli bir azalma üreten uzun vadeli depresyondur. Long Term Depression (LTD) olarak isimlendirilmektedir (41, 42). Çoğu modern LTP çalışmaları, LTP ve öğrenme arasında

nedensel bir bağlantı kurmayı amaçlamaktadır. Yine de bazıları, öğrenmeyi ve belleği iyileştirmek için LTP'yi artırmak için farmakolojik veya başka yollarla yöntem geliştirmeye çalışmaktadır.

LTP ve Uzaysal Bellek

1986'da Richard Morris, LTP'nin anıların oluşması için gerçekten gerekli olduğunu gösteren ilk kanıtlardan bazılarını in vivo testle gösterdi. Sıçanların uzaysal bellek ve öğrenmesinde rolü olan *hippocampus* 'u farmakolojik olarak test etti. Gizlenen platformu bulana kadar sıçanlar Morris su labirentinde eğitildi**.** Bu eğitim sırasında, sıçanların gizli platformun yerini, düzeneğin çevresinde belirli konumlara yerleştirilmiş olan ipuçlarıyla ilişkilendirmesi beklenir. Eğitimden sonra, bir grup sıçan *hippocampus*'unu NMDA (N-metil-D-aspartik asit) reseptör blokör olan R-2-amino-5-fosfopentonat (APV) ile muamele edilirken diğer grup kontrol grubu oldu. Her iki grup daha sonra su labirenti hafıza görevine tabi tutuldu. APV ile tedavi edilen sıçanların performansı önemli ölçüde bozulmuşken, kontrol grubundakiler ise platformu bulabildiler ve havuzdan çıkabildiler. Bu, NMDA reseptörünün - ve uzantısı olarak - LTP'nin en azından bazı öğrenme ve hafıza türleri için gerekli olduğunun erken kanıtlarını sağlamıştır (43). Benzer şekilde, Susumu Tonegawa, 1996 yılında *hippocampus*'un CA_1 bölgesinin farelerde uzaysal belleğin oluşması önemli olduğunu gösterdi. Bu bölgede yer alan ve place cell denilen hücreler, hayvan belirli bir konumda olduğunda aktif hale gelir. Bu konumlara da 'place field' denmektedir ve *hippocampus*'ta alanlar oluştururlar. Tonegawa NMDA reseptörünü bozarak, özellikle CA_1'in NR1 alt birimini genetik olarak çıkararak, oluşturulan 'place field' alanların kontrollerden çok daha az spesifik olduğunu bulmuştur. Yani, fareler NMDA reseptörleri bozulduğunda hatalı uzaysal haritalar üretmiştir. Beklendiği gibi, bu fareler, mekansal öğrenmede LTP'nin rolünü destekleyen, kontrollere kıyasla uzaysal görevleri zayıf oranda gerçekleştirebiliyorlardı (44). Uzaysal öğrenme, *hippocampus*'ta bulunan NMDA aracılığı ile oluşan LTP sayesinde olduğu çeşitli çalışmalarca desteklenmiştir (45). *Hippocampus* CA_1 bölgesi de uzaysal öğrenme ve bellek konsolidasyonu için gereklidir. CA_1 nöronları entorinal korteksten veya CA_3'ten gelen bilgilere ulaşarak onları işler. CA_1, CA_3 ve CA_1-CA_3 bağlantısı referans bellek için gereklidir (46).

LTD

LTD, nörofizyolojide, uzun uyarıdan sonra saatlerce veya daha uzun süren nöronal sinapsların etkinliğinde aktiviteye bağlı bir azalmadır. LTD, beyindeki bölgeye ve gelişimsel

ilerlemeye bağlı olarak değişik mekanizmalara sahip merkezi sinir sistemine ait birçok alanda görülür. LTD en iyi *hippocampus* ve cerebellum' da karakterize edilmiştir (47). LTD'de yer alan en yaygın nörotransmitter L-glutamattır. LTD'nin presinaptik nörotransmiter salınımında bir azalmanın da rol oynayabilmesine rağmen esas olarak postsinaptik reseptör yoğunluğundaki azalmadan kaynaklandığı düşünülmektedir. Serebellar LTD' nin, motor öğrenmede önemli olduğu hipotezi ileri sürülmüştür. Bununla birlikte, muhtemelen diğer plastisite mekanizmalarının da rolü vardır. Hipokampal LTD, eski bellek izlerinin temizlenmesi için önemli olabilir (48, 49). LTD, LTP'nin neden olduğu sinaptik güçlendirmeyi yapıcı bir şekilde kullanabilmek için spesifik sinapsları zayıflatmaya yarayan birkaç işlemden biridir. Bu zorunludur çünkü güç artmaya devam ederse, sinapslar yeni bilgilerin kodlanmasını engelleyecek bir tavan düzeyine ulaşır.

FORMALDEHİT

Formaldehit, doğal süreçlerin sonucu olarak, insan yapımı kaynaklarda ve çevrede bulunur. Atmosferik FA'nın başlıca kaynağı, hidrokarbonların (yani metan veya diğer gazlar, odun, kömür, yağ, tütün ve benzin) fotokimyasal oksidasyon ve tamamlanmamış yanmasıdır (50). FA teknik olarak, havayla metanolün oksidatif dehidrojenizasyonu ile sulu solüsyon (% 50-55 w / w) olarak üretilir. 1999 yılında dünya genelinde FA üretimi 5-6 milyon metrik ton (Asya: 1-1,5 milyon ton, Kuzey Amerika: 1-1,5 milyon ton, Batı Avrupa: 2-2,5 milyon ton) olarak tahmin edilmiştir. FA esasen kimya endüstrisinde ahşap, kağıt, tekstil işleme ve yoğunlaştırılmış reçinelerin üretimi için bir ara madde olarak (Yaklaşık % 40 üre-formaldehit reçineleri, %10 fenol-formaldehit reçineleri,% 10 poli asetal reçineleri ve % 5 melamin-formaldehit reçineleri) kullanılır.

Formaldehit ayrıca metilen dianilin, difenilmetan diizosiyanat, heksametilentetraamin, trimetilol propan ve neopentilglikol (toplamda yaklaşık% 25), pentaeritritol (% 5) ve asetilenik ajanlar (% 5) sentezinde de kullanılır (51). FA sulu çözeltileri mikrop öldürücü, bakteri öldürücü ve fungisid olarak kullanılır. Buna ek olarak, FA, balık yetiştiriciliğinde, koyun ayak hastalıklarında, hayvancılık için bir fumigant olarak ve tarihi ilgi çekici müzelerde ve binalar için bir böcek öldürücü / koruyucu olarak kullanılmaktadır.

Maruziyet

Açık alanda: Dünyanın farklı bölgelerindeki kıyı, dağ veya okyanus bölgelerinde yer alan FA'nın hava konsantrasyonları, iyi bir şekilde anlaşılmıştır ve 0,05 ila 14,7 µg / m³ arasında

değişmektedir (WHO IPCS, 1989). Almanya'da yapılan ve Orta Avrupa'nın kırsal alanlarındaki havanın temsilcisi olduğu düşünülen ölçümler ortalama 0,1 µg / 4,5 µg / m³ ve ortalama 1,5 µg / m³ arasında değişmektedir. Oldukça sanayileşmiş bir alanda, Almanya'da (1979 -1984) yıllık ortalama 7 - 12 µg / m³ değerlerini vermiştir (52). Son yıllarda farklı yerlerde yapılan ek ölçümler 2,5 µg / m³ ila 15,7 µg / m³ arasında değişen ortalama dış hava konsantrasyonlarını göstermektedir (53).

Kapalı alanda: Çeşitli ülkelerde ölçülen kapalı hava seviyeleri (işyerinde değil) <10 µg / m³ ile maksimum 5260 µg / m³ arasında değişmektedir. En yüksek seviye Almanya'daki römorklarda ölçülmüştür (52). Konsantrasyonlar temel olarak binanın yaşına, yapı malzemelerine, yapım türüne ve havalandırmaya bağlıdır (52). Çeşitli ülkelerde (1992 -1998) yürütülen daha yeni ölçümlerde ortalama 20,2 µg / m³ (daha büyük Boston) ila 68,5 µg / m³ (New Jersey) arasında FA konsantrasyonları ölçülmüştür (53).

Tüketici maruziyeti: Çiğ yiyeceklerde bazı doğal FA'lar bulunur ve fümigasyon, FA'nın bir koruyucu olarak kullanılması ve pişirme yoluyla bulaşma olabilir. Gıdalardaki FA alımının miktarı 1,5 ila 14 mg arasında değişebilir. Tütün dumanı ve üre-FA yalıtımı ve FA içeren dezenfektanlar, FA maruziyetinin önemli kaynaklarından biridir. Günde 20 sigara içmek, teneffüs yoluyla 1 mg alım yapar. FA, kozmetik ve ev temizleme maddeleri gibi tüketici ürünlerinde bir koruyucu olarak kullanılır. İnsanlar, preslenmiş ahşap ürünler gibi bazı yapı malzemelerinden serbest bırakılma sırasında da maruz kalabilir. FA'nın tüm epidermal tabaka boyunca ve dolaşımdaki tabaka boyunca sistemik olarak emilmesi önemsizdir (52).

Formaldehit Toksikokinetiği, Metabolizması, Dağılımı

Formaldehit, memeli sistemlerinde normal bir metabolittir. Bazı ksenobiyotiklerin veya amino asitler gibi endojen bileşiklerin metabolizmasıyla üretilebilir. Direkt olarak hücrelere ve dokulara inhalasyon veya oral yollarla verilebilir (54, 55). Bunu soluyan kemirgenlerde, havadaki FA üst solunum yollarında emilirken, insanlarda burun kanalı ve ağız boşluğunda, ayrıca *trachea* ve *brochus'ların* proksimal kısımlarında görülür. Hızla metabolize olduğundan, sıçanlar, maymunlar ve insanlardaki kan içindeki FA konsantrasyonları, havadaki yüksek konsantrasyonlara (sırasıyla 15, 6 ve 2 ppm'e kadar) maruz kalma ile artma göstermemiştir (56, 57). İlk temas noktasında, FA DNA Protein Çapraz Bağları (DPC) üretebilir. Sıçanlarda burun epitelindeki makromoleküllere (15 ppm'ye kadar inhalasyon) ölçülebilen bağlanma

koşullarında, FA, kemik iliği hücrelerinde DPC oluşumuna neden olmamıştır (58). Bu da, reaktif FA'nın sistemik olarak yokluğunu gösterir.

İnhale FA'nın araştırması Fischer 344 sıçanlarında incelenmiştir. 6 saat süreyle 0,63 – 13,1 ppm FA ile maruz bırakılmışlardır. İnhale edilen ^{14}C'nin yaklaşık % 40'ı 70 saat sonra ^{14}CO2 olarak ekshale edildi, % 17'si idrarla,% 5'i dışkıyla vücuttan uzaklaştırıldı ve % 35-39 oranında dokular ve karkasta, muhtemelen metabolik katılma ürünleri olarak kaldı. ^{14}C –FA'nın teneffüs edilmesinin ardından kalan radyoaktivitenin analizi, plazma ve eritrositlerdeki toplam ^{14}C profillerinin, i.v. enjekte edilenler ile neredeyse aynı olduğunu gösterdi. Bu durum FA'nın hızla oksitlendiğini ve biyolojik makromoleküllere dahil edildiğini düşündürmektedir (59). Glutatyon (GSH), FA'nın FDH ile katalize edilen formata dönüşmesi için gereklidir. GSH doku seviyeleri tükenirse, diğer moleküllere bağlı reaktif FA miktarında artış beklenebilir. Burun GSH'sinin feroon veya akrolein ile tükenmesi durumunda, sıçan burun mukozal DNA'sında kovalent bağlı FA miktarında gerçekten bir artış gözlenmiştir (58, 60). Reaktif FA metabolizması çeşitli yollarla oluşur: FA, tetrahydrofolate ile doğrudan reaksiyon yoluyla tek karbon havuzuna girebilir (61). FA, peroksitomal enzim olan katalaz ile formik asite okside edilebilir. Bu reaksiyon muhtemelen FA metabolizması için hidrojen peroksitin hız sınırlayıcı üretime bağlı olarak küçük bir yolağı temsil etmektedir (62). FA'nın büyük bir kısmı muhtemelen GSH'ye bağlıdır. Hidroksimetilglutation, FDH tarafından oksitlenir (63). Nihai tiol ester, GSH'yi yeniden üreten başka bir sitosolik enzim olan S-formilglutation hidrolaz ile hızla serbest formata hidroliz edilir (64). Test edilen tüm hayvan dokularında sitozolik FDH mevcuttur (65). Özellikle sıçanların solunum ve koku mukozasında tespit edilmiştir (66, 67). FA ve format, tek-karbon yoluna dahil edilir. Maruz kaldıktan kısa süre sonra süresi dolmuş havada yok edilir. Elimine edilen diğer önemli yol, idrardaki formalin atılmasıdır (51).

BİLİŞSEL TESTLER

Morris Su Labirenti Testi

Yaklaşık otuzbeş yıl önce laboratuvarlarda uzaysal öğrenme ve bellek araştırması için geliştirilen bir cihazdır (68). Zamanla, bu cihaz davranışsal nörobilim alanında en sık kullanılan cihaz haline gelmiştir. Cihaz, opak suyla dolu ve içinde saklı bir çıkış platformu bulunan yuvarlak bir havuzdur. Eğitim denemeleri boyunca hayvanlar platformun yerini bulurlar ve çıkarlar. Bu testin başarılı olmasının nedeni muhtemelen basitliğiyle alakalıdır. Bunula beraber, prosedürün basit olmasına rağmen, nörobiyoloji ve uzaysal öğrenme bellek nörofarmakolojisi

alanındaki kompleks deneylerde kullanıldığı bilinmektedir. Ayrıca, nörobilişsel hastalıklar için kullanılan rodent modellerinin değerlendirilmesinde de kullanılmıştır. Bu süreç boyunca, bu test nörobilim araştırmalarının merkezinde görev almıştır. Yıllarca değişik isimlerle adlandırılmıştır: Morris yüzme havuzu, Morris Labirenti, su labirenti, yüzme labirenti, uzaysal navigasyon görevi (69). İlk günden bu yana yaklaşık 1000'den fazla deneyde kullanılmıştır.

Metodolojik faktörler: Morris Su Labirentinin (MSL) birçok metodolojik versiyonu araştırıcılar tarafından uygulanmıştır. Araştırmacılar MSL performansının eğitim prosedürü ve aletlerdeki farklılıklardan etkilenebileceği gibi, deney hayvanının karakteristik özelliğinden de etkilenebileceğini farkettiler. Vücut ağırlığı, yaş, fiziksel gelişim yüzme hızını etkileyebilir (70).

Cinsiyet farklılığı: Erkek rodentler dişi rodentlere göre uzaysal öğrenmede daha iyi sonuçlar verdiler (71). Yine erkek ve dişi arasında bilişsel testlerdeki farklılıkta cinsiyet hormonları önemli rol oynar. Doğumdan bir hafta sonra sıçanlara yapılan testesteron uygulaması erkeğin kadına olan avantajının tersine dönmesine yol açmıştır (72). Gonadal bütünlüğü bozulmamış dişiler, ovaryektomi geçirmiş farelere göre daha kötü performans sergilemişlerdir (73). Östrustaki sıçanlar proöstrustakilere göre daha iyi performans sergilemişlerdir (74).

Tür farklılığı: MSL aslında uzaysal bellek mekanizmalarını çalışma amaçlı dizayn edilmiştir (69). Zamanla çeşitli memeli türleri, çoğunlukla Muridae familyasından rodentler bu cihazda test edilmiştir. Fareler sıçanlara göre çok farklı davranışsal özelliklere sahip olmalarına rağmen birçok araştırıcı tarafından bu test başarılı bir şekilde uygulanmaya devam etmiştir. Farelerde birçok transgenik model test edilmiştir (75). Yüzme ve tigmotaksi (*thigmotaksis*: havuz duvarına yakın mesafede yüzme eğilimi) hareketleri farelerde sıçanlardan daha belirgindir.

Yaş: MSL performansı yaşla beraber azalma göstermektedir. Bu azalma yaşlanmaya bağlı yüzme yeteneğinin azalması, araştırma isteğinin değişkenlik göstermesi ve lokomotor aktivite nin düşmesine bağlıdır.

Birçok araştırıcı yaşla alakalı uzaysal öğrenme yeteneğinin azalmasının formatio hippocampalis'in morfoloji ve fonksiyonundaki değişikliklere bağlı olduğunu belirtmiştir (76-

79). Yapılan çalışmada yaşlı hayvanların saklı platformu bulmada ve prob testlerinde daha başarısız olduğu ve CA_1 alanında potensiyonunda düşme olduğu görülmüştür (80).

Yaşlanmaya bağlı olarak MSL performansının düşmesi farelerde de görülmüştür (81). Bazı yazarlar bunu davranışsal değişikliklere davranışsal değişikliklere bağlarken, bazıları da çeşitli nöromotor fonksiyonların azalmasına bağlamaktadır.

Beslenme: Beslenme durumu birçok açıdan MSL performansını etkiler. En önemlisi de sıçanlarda hayat boyu süren hipokalorik diyetin yaşa bağlı defisitleri engellediğidir. Bazı besin takviyelerinin antioksidan özelliklerinden dolayı MSL performansına faydalı olduğu görülmüştür: ıspanak, çilek, yaban mersini (82).

Yükseltilmiş Artı Labirent

Yükseltilmiş artı labirent testi genellikle rodent gibi deney hayvanlarında kullanılan anksiyeteyi ölçen bir testtir. Post travmatik stres bozukluğu ya da travmatik beyin hasarı araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır Testin temeli 1958' de Montgomery isimli bilimadamı tarafından tasarlanmıştır. Daha sonra Handley ve Mithani tarafından testin prensipleri ve mantığı 1984 yılında açıklanarak bugünkü halini almıştır (83).

Sıçanların çevreyi araştırmaları sırasında yüksekte bulunmaları onlarda anksiyete yaratır. Yükseltilmiş artı labirent deneyinde sıçanlar, alanın merkezine ve görüş alanı açık olan kola denk gelecek şekilde bırakılırlar. Bu şekilde bırakılmalarının nedeni sıçanların doğuştan ve içgüdüsel şekilde açık ve yüksek yerlerde hareket ederken sergilediği korku davranışlarıdır. Deneyi değerlendirmede kullanılan parametreler ise genel olarak şunlardır: kapalı kolda geçirilen zaman, donakalma süresindeki artış, açık kola giriş sayısındaki azalma, merkezde geçirilen vakitte azalma, çevreyi tanıma amaçlı yapılan iki ayaküstüne kalkma ve ortamı koklama süresindeki artışlardır (84).

Korku Koşullanma Testi

Pavlov'un korku koşullanma testi, anksiyete çalışmalarında etkili bir model olmuştur (85-88). Klasik koşullanma ve ipuçlu koşullanma deneylerinde Pavlov, köpeklere eti vermeden hemen önce, zil çalar. Bu koşullu uyarandır. Daha sonra ortada et bulunmamasına rağmen, zil çalındığında köpeklerde salivasyon başlar. Ağza konan et koşulsuz, normal refleks yaratan uyarandır. Koşullu uyaran ise, ışık ya da zil sesidir. Salivasyon ise koşulsuz yanıttır (89). Koşullu ve koşulsuz uyaranlar yeterli derecede tekrarlamalar ile pekiştirilirse, yalnız koşullu

uyaranla refleksin meydana gelmesi söz konusu olabilir. Bu test korku koşullanma testlerinin temelini oluşturur. Koşullu uyaran defalarca tek başına tekrarlanırsa, koşullu refleksin zaman geçtikçe kaybolmaya başladığı görülecektir. Bu durum sönme veya inhibisyon olarak adlandırılır. Eğer koşullu uyarandan hemen sonra başka bir uyaran uygulanırsa koşullu refleks kaybolur: Dış inhibisyon. Koşullu uyaran zaman zaman koşulsuz uyaranla birlikte tekrarlanırsa, bu durum koşullu refleksin sürekli olmasını sağlar: Kuvvetlendirme.

Rodentler tehlikeyi sezdikleri zaman, türe özgü bir hareketle, o tehlikeden kaçmak yerine donma hareketini sergilerler. Korkma tepkisi, rodentler tarafından hızlıca öğrenilir ve uzun süre hatırlanır. Bu nedenle bellek araştırmalarında bu güçlü öğrenimden faydalanılmaktadır. Korku koşullanma testi, sıçanlarda korku / duygusal temelli öğrenme ve bellek araştırmaları için rutin olarak kullanılan bir testtir. Tipik bir deneyde, kemirgen cihaza yerleştirilir ve yaklaşık 2-3 dakika yeni çevreye alışıp, tanıması için izin verilir. Bir süre sonra, koşulsuz bir uyaran (örneğin; hafif bir ayak şoku) yeni ortamda işitilebilir koşullu bir uyaran (KU) ile beraber bir ya da birkaç kez verilerek eşleştirme sağlanır. Egzersiz sonrası çeşitli zaman noktalarında test edildiğinde sıçanlar, uyaranın (bağlamsal korku koşullanma) -veya işitsel KU' nun- farklı bir bağlamda yeniden sunumuna (ipuçlu korku koşullanma) cevaben donma davranışıyla ölçülen belirgin korkuyu sergilerler. İpuçlu korku koşullanma; amigdala bağımlı bellek işlemlerini ifade ederken, bağlamsal korku koşullanma hem amigdala, hem de Hippocampus'e dayanır. Şartlı korku koşullandırma, bu prosedürün en temel halidir. Esas olarak rodenti alıp, onu yeni bir çevreye yerleştirmek, koşullu uyaranı aktive etmek ve ardından kendi yerine bırakmaktır. Hayvan aynı çevreye döndüğünde, bu çevreyi koşullu uyaran ile hatırlar ve ilişkilendirirse, genellikle donma hareketi sergileyecektir. Donma, "solunum haricindeki hareketin olmaması" olarak tanımlanan, korkuya dayalı tür-spesifik bir cevaptır. Bu, caydırıcı uyarıcının gücüne, sunum sayısına ve konunun elde ettiği öğrenme derecesine bağlı olarak saniyelerle dakika arasında sürebilir. İpuçlu korku koşullanma, önemli bir fark dışında, bağlamsal korku koşullanmaya benzemektedir. Bu fark ''koşullu uyaran'' ın teste eklenmesidir.

Rota Rod

Rota rod testi genellikle rodentlere uygulanan, dönen bir çubuğa dayalı motor aktiviteyi değerlendirme amaçlı yapılan bir performans testidir. Test parametreleri binme süresi (riding time) ve dayanıklılıktır. Testin bazı fonksiyonları, özellikle deneysel ilaçların etkisini test etmek ve travmatik beyin hasarından sonra; dengeyi değerlendirmek, kavrama gücü ve deneklerin

motor koordinasyonudur (90). Buna ek olarak motor öğrenme, intoksikasyon, sedasyon ve yaşama gücü de değerlendirilebilir (91,92). Motor koordinasyon, gruplararası düşmedeki gecikme kıyaslanarak değerlendirilir (93) Motor öğrenme ise ilk çalışmalarla sonraki denemeler karşılaştırılır. Artan düşme zamanı öğrenmenin gerçekleştiği konusunda bize kanıt oluşturur. (94,95)

Testte bir kafes içinde horizontal şekilde yerleştirilmiş döner bir silindir bulunur. Bu silindir, düştüğünde hayvanı yaralayacak yükseklikte olmamakla birlikte, hayvanı aşağı atlamaktan kaçındıracak seviyededir. Rodentler, doğal olarak yere düşmekten kaçınırlar ve döner silindir üstünde kalmayı denerler. Bunun üstünde kalma süreleri denge, koordinasyon, fiziksel durum hakkında fikirler verir. Silindir dönüş hızı sabit kalabilir ya da arttırılabilir. (96)

APOPTOZİS

Apoptozis, Grekçe'de yaprak dökümü anlamına gelen, multiselüler organizmada meydana gelen programlı hücre ölümleridir (97). Nekrozis ise akut selüler hasarın bir sonucu olarak meydana gelen travmatik hücre ölümüdür. Apoptozis, nekrozis in aksine son derece düzenli ve kontrollü bir çekilde gerçekleşerek organizmanın hayatı boyunca avantajlar sunar. Örneğin el ve ayak parmaklarının birbirinden ayrılarak bağımsız birer uzantı haline gelmeleri, parmak aralarında bulunan hücrelerin apoptozise uğramasıyla meydana gelir (98).

Alman bilim adamı Karl Vogt 1842'de apoptozisin prensiplerini açıklayan ilk kişidir. Anatomist Walther Flemming 1885'te programlı hücre ölümleri konusunu daha kesin ve net bir biçimde açıkladı. Daha sonra, 1955 yılında John Foxton Ross Kerr isimli bilimadamı apoptozisi travmatik hücre ölümlerinden ayırt etti ve 1972'de Kerr, Wyllie ve Curie bir araya gelerek yayınladıkları makalede, Grek dili profesörü James Cormack'in önerisiyle, ilk kez ‘’apoptozis’’ terimini kullandılar (99,100).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamız için Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'na başvurularak 29.01.2016-tarih ve 2016.02.06 karar numarası ile onay alınmıştır (Ek–1). Daha sonra çalışmamız Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine proje olarak sunulmuş ve TÜBAP-2016/47 proje numarası ile kabul edilmiştir.

Çalışmada Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları biriminden temin edilen 80 adet 10-12 haftalık, ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen Wistar Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar deney süresince 12'şer saatlik aydınlık–karanlık ışıklandırması olan, sıcaklığı 20–22°C ve nemi % 45–50 olarak otomatik ayarlanan odalarda, şeffaf polivinilklorür kafesler içerisinde, normal pellet formunda sıçan yemi (Purina) ve sınırsız çeşme suyu verilerek tutuldu. İlk gün sıçanların ağırlıkları tartıldı ve kuyrukları, önceden belirlenen şekilde renkli numaralandırma sistemine göre uygun şekilde boyandı. Daha sonra sıçanlar cinsiyetlerine göre ayrılıp 5 tanesi bir kafeste olacak şekilde yerleştirildi. Hayvanlar gruplara rastgele seçilerek alındı. Denek grupları, her grupta 10 deney hayvanı olacak şekilde sekiz gruba ayrıldı.

Grup A- FA'ya maruz kalmamış, 7 gün boyunca i.p. 10 mg/kg serum fizyolojik verilen erkek kontrol grubu.

Grup B- FA'ya maruz kalmamış, 7 gün boyunca i.p. 10 mg/kg serum fizyolojik verilen dişi kontrol grubu.

Grup C- 7 gün boyunca günde 10 mg/kg dozunda i.p. FA'ya maruz bırakılmış erkek denek grubu.

Grup D- 7 gün boyunca günde 10 mg/kg dozunda i.p. FA'ya maruz bırakılmış dişi denek grubu.

Grup E- FA'ya maruz kalmamış, 30 gün boyunca i.p. 10 mg/kg serum fizyolojik verilen erkek kontrol grubu.

Grup F- FA'ya maruz kalmamış, 30 gün boyunca i.p. 10 mg/kg serum fizyolojik verilen dişi kontrol grubu.

Grup G- 30 gün boyunca günde 10 mg/kg dozunda i.p. FA'ya maruz bırakılmış erkek denek grubu.

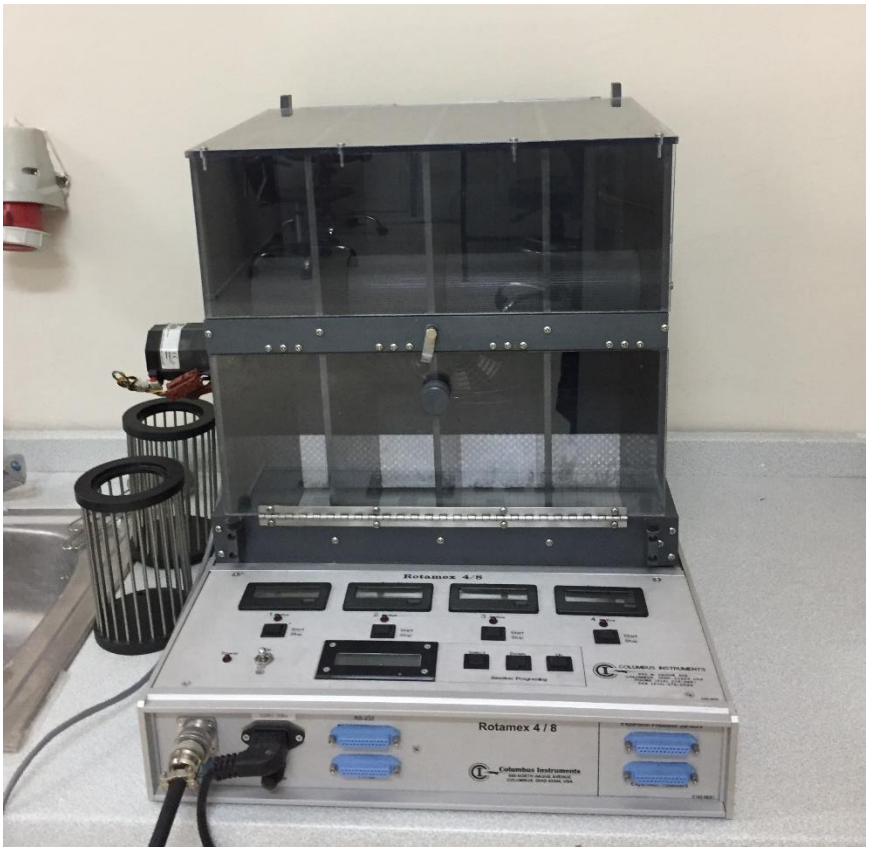
Grup H- 30 gün boyunca günde 10 mg/kg dozunda i.p. FA'ya maruz bırakılmış dişi denek grubu.

A, B, C ve D akut FA gruplarına 7 gün boyunca, E, F, G ve H kronik FA gruplarına son 7 gün bilişsel testler uygulandı ve analiz verileri Noldus Ethovision®XT 11.5 yazılım programı ile kaydedildi. Testlerin bitiminde hayvanlar 100 mg/kg Ketamin ve 10 mg/kg Ksilazin anestezisi altında sakrifiye edildi. CA_1 ve CA_3 bölgesini elde etmek için Paxinos rat beyin atlası referans alındı. Bregmaya göre anteroposterior yönde 3,50 mm belirlendi ve coronal düzlemden kesilerek beyin dokuları alındı. Dokular ışık ve immünohistokimyasal incelemeler için %10 formalin fiksatif içine konuldu.

BİLİŞSSEL DEĞERLENDİRMEDE UYGULANAN TESTLER

Rotarod Performans Testi

Lokomotor sistem değerlendirilmesi rota-rod cihazı ile yapıldı. Bu test bazı deneylerde motor öğrenme, intoksikasyon, sedasyon ve yaşama gücü değerlendirilmesinde kullanılan bir test olmasına rağmen, lokomotor sistem değerlendirilmesinde de kullanılmaktadır. Rotarod Performans Testi düzeneğinde birbiriyle bitişik 4 kabin bulunmaktadır. Bu kabinlerin eni 10 cm, boyu 45 cm ve derinliği 30 cm'dir. Cihazın yerden yüksekliği 25 cm'dir. Düzeneğin ön kısmında süreyi kayıt altına alan bir cihaz bulunmaktadır. Ön ve üst kısım şeffaf, açılabilen pleksiglass malzemedendir (Şekil 7). Hayvan silindirin döndüğü yönün tersi yönünde yürümeye çalışarak aşağı düşmekten sakınır (101). Sağlıklı bir hayvan normal şartlarda belli bir süre çubuk üzerinde düşmeden kalabilmektedir. Hayvanlarda motor koordinasyonla ilgili sistemlerin bozulması durumunda hayvan yürümeyi bırakır ve düşer. Aşağı düşen hayvanlar aynı şekilde tekrar alınıp dönen silindirin üstüne konulur. Bu deneyde dönen silindir (10 devir/dakika) üzerinde 3 dakika boyunca kalan kontrol ve deney grupları, sağlıklı kabul edilerek deney protokolü başlatıldı.



Şekil 7. Rotarod Test Cihazı

Morris Su Labirenti

Morris water maze (Morris su labirenti) testi ile analizler yapıldı. Bu testin esas öğesi çapı 1,5 metre derinliği 47 cm olan bir havuzdur. Havuzun içine, suyun 2 cm altında kalacak şekilde 10x10 cm'lik bir platform yerleştirildi. Platformun görünürlüğünün engellenmesi için, suya opak siyah boya eklendi. Suyun sıcaklığı otomatik olarak ayarlanıp yaklaşık 23 °C'ye getirildi. Havuzun bulunduğu odada deney boyunca sabit kalan karşılıklı duvarlarda asılı 2 ipucu yerleştirildi (Şekil 8).



Şekil 8. Duvardaki ipuçları, morris deney havuzu

Deneye başlamadan bir gün önce hayvanların ortama alışması için platform çıkarılarak alıştırma yüzdürmesi gerçekleştirildi. Platform, testin *trial* kısmı yapıldığı sürece sabit bırakıldı. Su tankı, birbirini havuzun tam merkezinde, bir artı (+) şekli oluşturacak biçimde dik kesen 2 çizgi ile hayali olarak 4 eşit kadrana bölündü. Artı şeklinin havuzun kenarlarını kestiği noktalar kuzey, güney, doğu ve batı yönü olarak işaretlendi. *Trial* yani eğitim yüzdürmelerinde sıçanlar 5 gün boyunca, günde 4 kez ve her seferinde farklı noktalardan bırakılmak suretiyle yüzdürüldü (Tablo 1).

Tablo 1. *Trial* ve *probe* yüzdürmeleri

GÜN	EĞİTİM 1	EĞİTİM 2	EĞİTİM 3	EĞİTİM 4
1	N	E	SE	NW
2	SE	N	NW	E
3	NW	SE	E	N
4	E	NW	N	SE
5	N	SE	E	NW
6 (PROBE)	NE			

N: Kuzey, **E:** Doğu, **S:** Güney, **W:** Batı. **SE:** Güney Doğu **NW:** Kuzey Batı **NE:** Kuzey Doğu

Sıçanların bir dakika içinde platformu bulmaları beklendi. Bu süreçte platformu bulamayan sıçanların yardım ile platformu bulmaları sağlandı. Platforma ulaşan hayvanlar 15 sn boyunca platform üzerinde bekletildi. Bekleme sürecinde sıçanlar, duvarda asılı ipuçlarından faydalanmış oldular. Etrafı koklama, iki ayak üzerinde çevreyi inceleme gibi davranışlar sergilemelerine izin verildi. Beş günlük eğitim döneminin ardından, altıncı günde platform havuzdan çıkarılarak hayvanlar bir kez 60 saniye süreyle yüzdürülerek *probe* testi yapıldı. Deney sırasında havuzu kuşbakışı gören ve kayıt eden bir kamera (Şekil 9) ile veriler bilgisayara aktarıldı. Veriler Noldus Ethovision XT yazılımı ile analiz edildi.



Şekil 9. Morris Su Labirenti testinde hayvanın yukardan kamerayla izlenmesi

Eğitim yüzdürmeleri sırasında *(trials)* ölçülen parametreler: Platformu bulana kadar geçen süre, platformu bulana dek hayvanın yüzdüğü mesafe, platforma olan ortalama uzaklık, yüzme hızı.

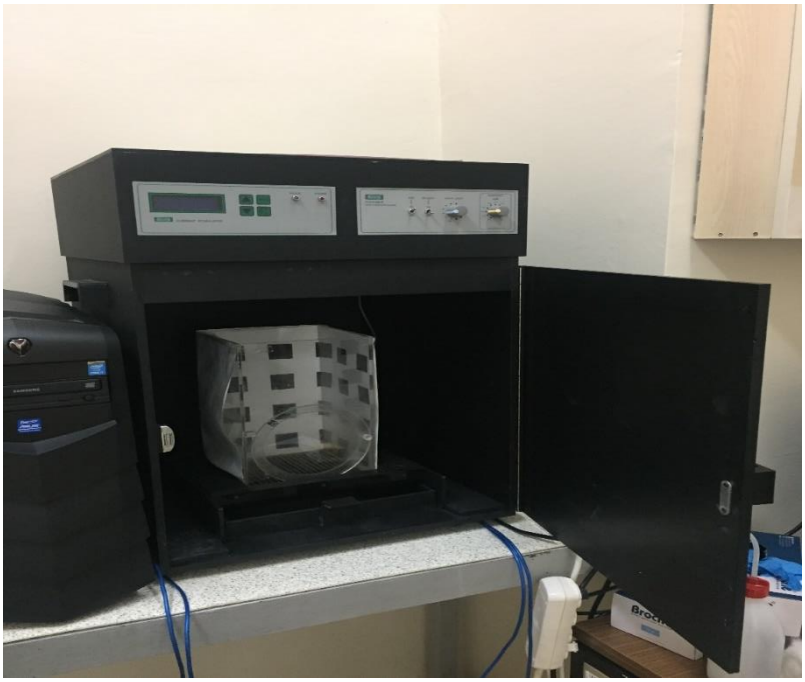
Deneyin 6. gününde test *(probe)* yüzdürmeleri sırasında ölçülen parametreler: Platformun olması gereken yere ilk ulaşma süresi, hedef kadranda (güneybatı) geçirilen süre, hedef kadrana ilk ulaşma süresi, platformun olması gereken yere ortalama uzaklık, yüzme hızı, havuz duvarına 10 cm mesafede yüzme süresi ve kadranlarda geçirilen süre.

Korku Koşullanma Testi

Bağlamsal korku koşullanma testi amigdala'yı değerlendirmek amaçlı kullanılan bir testtir. Düzenek, deneyin gerçekleştiği siyah bir kutu ve tavanda bulunan bir kamera aracılığıyla hayvanı izleyerek sonuçları hesaplayan bir bilgisayar yazılımından (OMMAT) oluşmaktadır (Şekil 10).



Şekil 10. Korku koşullanma düzeneğine alınan hayvanın tepedeki kamera ile izlenmesi



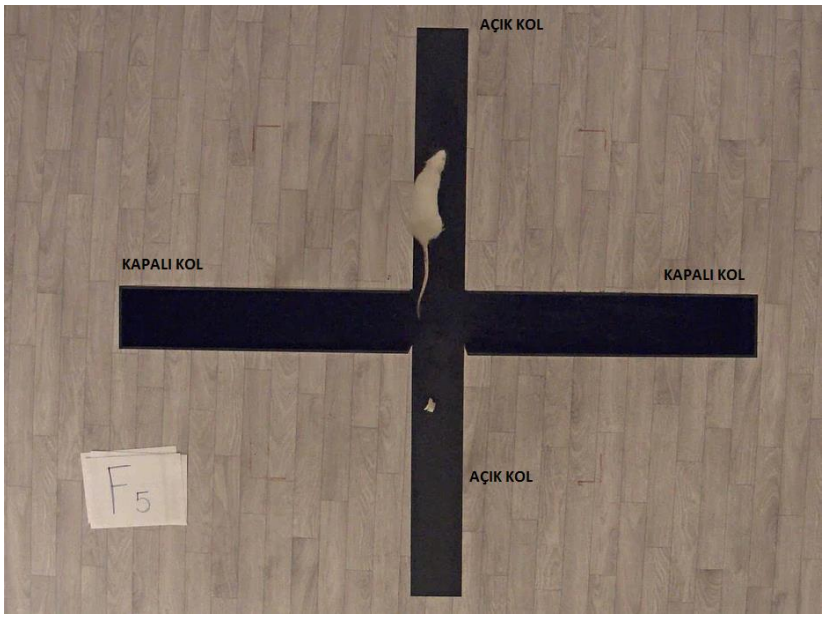
Şekil 11. Korku koşullanma testi düzeneği

Deney düzeneği, kapaklı siyah kutu pleksiglass malzemedir. Eni ve boyu 27 cm, derinliği ise 34 cm' dir. İç kısmı şeffaf pleksiglasstır (Şekil 11). Bu kısıma belirli ipuçları yapıştırılmaktadır. Tabanında elektrik bağlantısı olan metal ızgara, hayvanı içeri yerleştirirken manuel olarak açılan 16 cm çapında bir kapı ve tepe kısmında içeriyi aydınlatmada kullanılan beyaz ışık bulunmaktadır. Korku koşullanma testi iki gün süren bir testtir.

Testin ilk gününde hayvanlar sırayla düzeneğe alındı. Metal taban vasıtasıyla, 2, 4., ve 6. dakikalarda 0.5 mA (sn) elektrik şoku verildi. 7. dakika sonunda düzenekten alınan hayvanlar tekrar kafese yerleştirildi. Bir sonraki gün (testin ikinci günü) hayvan aynı düzeneğe tekrar konuldu, 5 dakika boyunca düzenekte bırakıldı ve hiçbir şok uygulanmadı. Donma süreleri kamera vasıtasıyla yazılım tarafından hesaplandı.

Yükseltilmiş Artı Labirent

Bir günlük olan bu testte her hayvan düzeneğe konup kamera vasıtasıyla 5 dakika boyunca incelendi. İki kolu açık, iki kolu kapalı olan artı labirent testinde, sıçanlar boyutları 110 × 110 cm ve yerden yüksekliği 30 cm olan düzeneğin merkezine yüzü açık kollardan bir tanesine bakacak şekilde tam ortaya bırakıldı (Şekil 12). Kapalı ve açık kolda geçirdiği süreler, kola giriş sayısı ve kollarda kat ettikleri mesafe değerlendirmeye alındı (Ethovision XT, Noldus).



Şekil 12. Artı labirent testinde hayvanın tepedeki kamerayla takip edilmesi

Tunel Prosedürü

Apoptozisin belirlenmesi amacı ile TUNEL tekniğinden yararlanıldı. Bu amaçla 5 μm kalınlığında coronal düzlemde alınan kesitler, bir gece 37°C'lik etüvde bekletildi ve ardından oda sıcaklığında 5 dk soğumaya bırakıldı. Deparafinizasyon işlemi için toluolden ve dehidratasyon işlemi için alkol serilerinden geçirilen kesitler, daha sonra fosfat tampon solüsyonu (PBS; pH: 7.4, İnvitrogen, Kaliforniya, ABD) ile yıkandı. Proteinlerin sindirilmesi için, 15 dk oda ısısında proteinaz K solüsyonu (Merck Millipore) ile muamele edilen kesitler, distile sudan geçirildi. Bundan sonraki aşamalar, üretici firmanın önerileri doğrultusunda, ApopTaq Plus Peroksidaz In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon SA. Merck Millipore) kullanılarak gerçekleştirildi. Endojen peroksidazın bloke edilmesi için kesitler 5 dk, %3'lük H_2O_2'e alındı. Daha sonra kesitler dengeleme tamponu ile oda ısısında 30 dk bekletildi ve ardından terminal deoksinükleotidil transferaz (Tdt) enzim solüsyonu ile 37°C'de inkübe edildiler. 10 dk durdurma/yıkama tamponu yapıldıktan sonra, oda ısısında 30 dk anti-digoxigenin peroksidaz ile muamele edilen kesitler, 3,3'-diaminobenzidine (DAB) ile kromojenize edildikten sonra, hematoksilen zıt boyaması yapıldı. Son olarak kesitler, alkol ve toluol serilerinden geçirilerek kapatıldı.

Hücre sayımı: Boyama işlemlerinin tamamlanmasının ardından hazırlanan preparatlar Olympus BX-51 model ışık mikroskobu aracılığıyla bilgisayar ekranında kaydedilerek değerlendirildi.

TUNEL tekniği uygulanan her bir beyin kesitinde, Hippocampus CA_1 ve CA_3 bölgelerinde yer alan TUNEL pozitif hücrelerin, bu bölgelerde bulunan tüm hücrelere oranı % olarak hesaplandı. Değerlendirme semikantitatif olarak yapıldı.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Verilerin sunulmasında tanımlayıcı istatistik kullanıldı. MSL Testinde eğitim yüzdürmelerinden elde edilen verilerin analizinde gruplar arası karşılaştırmalar için tekrarlanan ölçümler iki yönlü varyans analizi ve *post hoc* Bonferroni testi, retansiyon yüzdürmelerinden, Rotarod ve Bağlamsal Korku Koşullanma Testlerinden elde edilen verilerin karşılaştırılmasında ise tek yönlü varyans analizi ve *post hoc* Bonferroni testi kullanıldı. Analizler Graphpad Prism 11.5 for Mac OS X Machine ID:60B52B3D040 yazılımında gerçekleştirildi ve $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi.

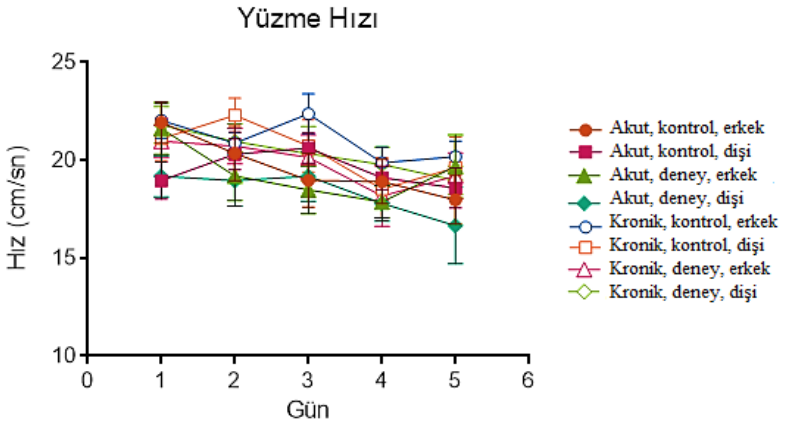
BULGULAR

MORRİS SU LABİRENTİ TESTİ BULGULARI

Çalışmamızda MSL testinde saptanan bulgular, önce öğrenme üzerine etkileri gösteren ilk 5 günlük döneme ait veriler ve bellek üzerine olan etkileri gösteren 6. günde elde edilen veriler şeklinde 2 ana alt grupta toplandı.

Eğitim Yüzdürmelerine Ait Veriler (Trial: 5 gün)

1) Yüzme hızı: Hayvanların testler sırasında kaydedilen yüzme hızları gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (Şekil 13).

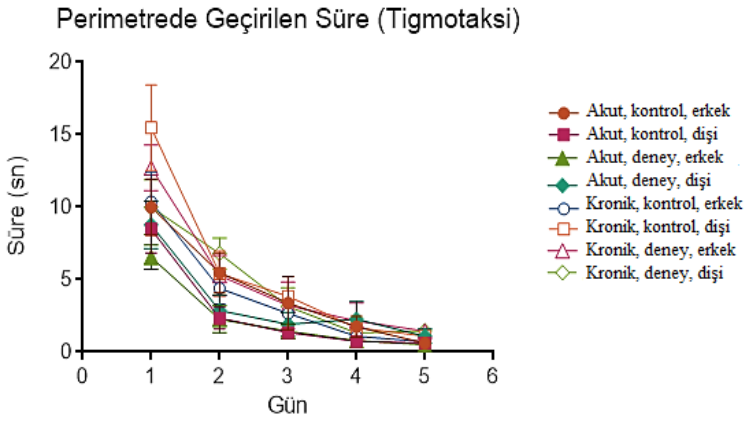


(2–yönlü tekrarlanan ölçümler ANOVA, *post hoc* Bonferroni testi) (Kontrol erkek, n=10; Kontrol dişi, n=10. Dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir).

Şekil 13. 5 gün süren eğitim yüzdürmelerinde gözlenen yüzme hızı

2) Perimetrede geçirilen süre (Tigmotaksi): Belirtilen parametre havuzun duvarına 10 cm mesafedeki bölgede hayvanın yüzdüğü süreyi gösteren bir parametredir. Tüm

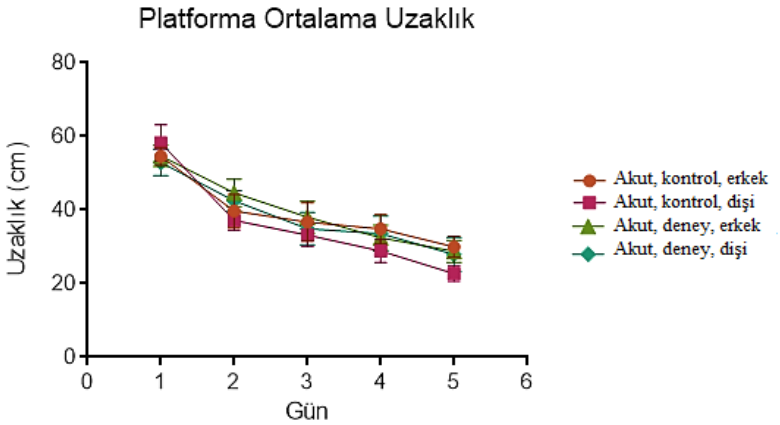
gruplardaki hayvanlarda 5 gün süre içinde giderek azaldı (Şekil 14). Bu parametre yönünden grupların performansları arasında istatistiksel yönden anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).



(2–yönlü tekrarlanan ölçümler ANOVA, *post hoc* Bonferroni testi) (Kontrol erkek, n=10; Kontrol dişi, n=10. Dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir.).

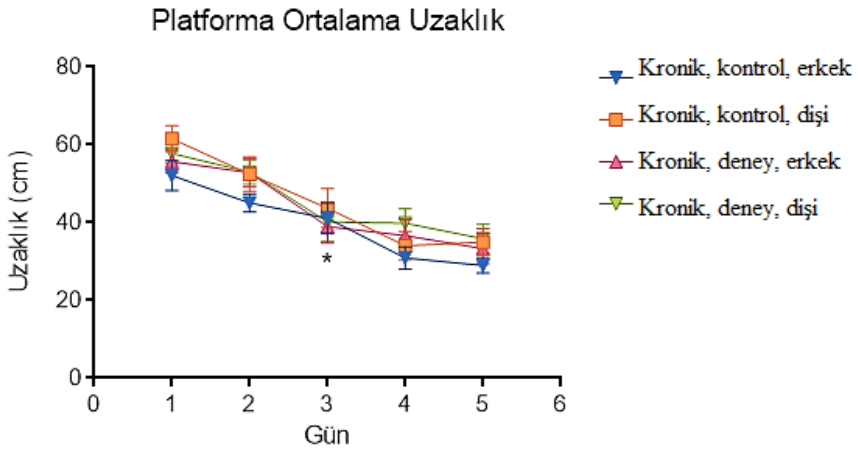
Şekil 14. 5 gün süren eğitim yüzdürmelerinde perimetrede geçirilen süre

3) Platforma ortalama uzaklık: Sıçanların platforma olan ortalama uzaklıkları, eğitimleri süresince gün gün azalma gösterdi (Şekil 15,16). FA alan sıçanların cinsiyete göre ve kontrol grubuna göre bu parametre yönünden performansları arasında istatistiksel anlamlı bir fark görülmedi (p>0,05). Bu parametre ile FA'nın sıçanların öğrenme fonksiyonları üzerine olumlu veya olumsuz etkisi saptanmadı.



(2–yönlü tekrarlanan ölçümler ANOVA, *post hoc* Bonferroni testi) (Kontrol erkek, n=10; Kontrol dişi, n=10. Dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir.).

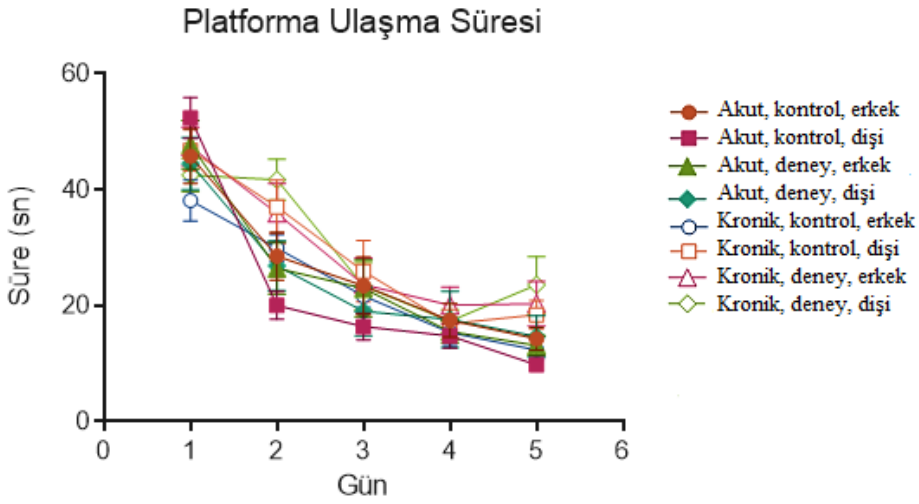
Şekil 15. 5 gün süren eğitim yüzdürmelerinde akut gruplarda platforma olan ortalama uzaklık



(2–yönlü tekrarlanan ölçümler ANOVA, *post hoc* Bonferroni testi) (Kontrol erkek, n=10; Kontrol dişi, n=10. Dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir).

Şekil 16. 5 gün süren eğitim yüzdürmelerinde kronik gruplarda platforma olan ortalama uzaklık

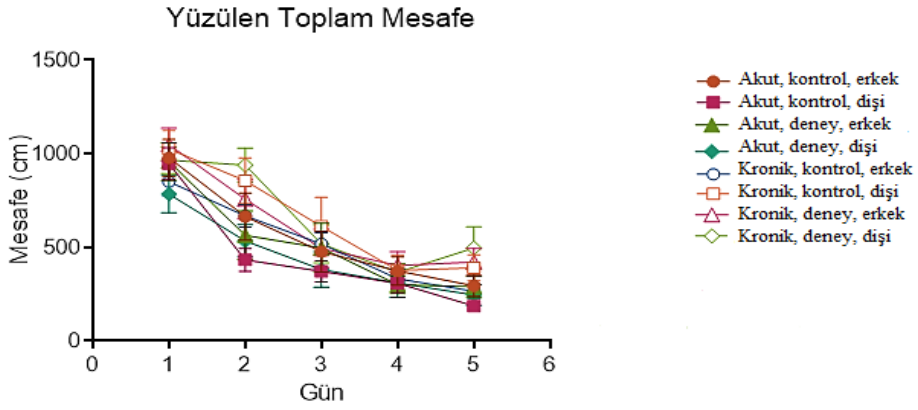
4) Platforma ulaşma süresi: Tüm gruplardaki hayvanlar 5 gün süre içinde gün gün daha kısa sürede platforma ulaştılar (Şekil 17). Platforma ulaşma süreleri açısından kontrol grubu ve cinsiyetlere göre ayrılmış gruplar arasında istatistiksel fark saptanmadı ($p>0,05$). Bu parametreye göre FA'nın sıçanların öğrenme fonksiyonları üzerine olumlu veya olumsuz etkisi saptanmadı.



(2–yönlü tekrarlanan ölçümler ANOVA, *post hoc* Bonferroni testi) (Kontrol erkek, n=10; Kontrol dişi, n=10. Dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir.).

Şekil 17. 5 gün süren eğitim yüzdürmelerinde platforma ulaşma süresi

5) Yüzülen toplam mesafe: Tüm gruplardaki hayvanlarda yüzülen toplam mesafe gün gün azalma gösterdi (Şekil 18). Kontrol grubu ve cinsiyetlere göre ayrılmış gruplar arasında istatistiksel bakımdan anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

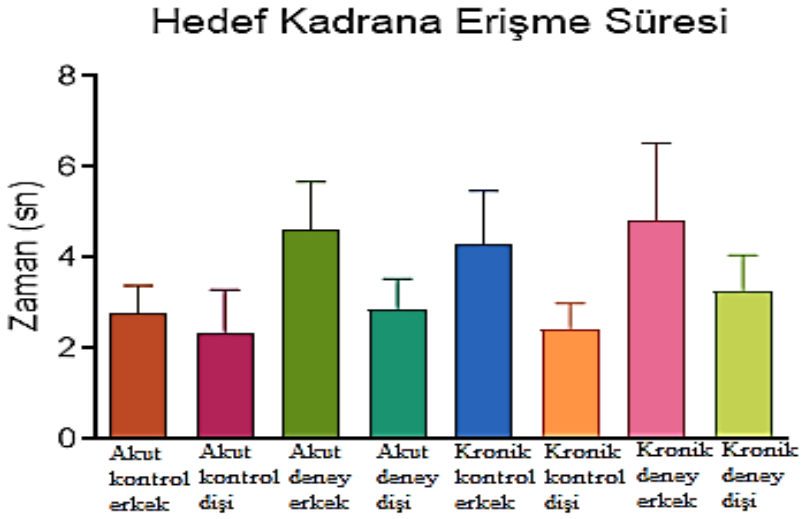


(2–yönlü tekrarlanan ölçümler ANOVA, *post hoc* Bonferroni testi) (Kontrol erkek, n=10; Kontrol dişi, n=10. Dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir.).

Şekil 18. 5 gün süren eğitim yüzdürmelerinde, yüzülen toplam mesafe

Probe Testi (6.gün) Sonuçları

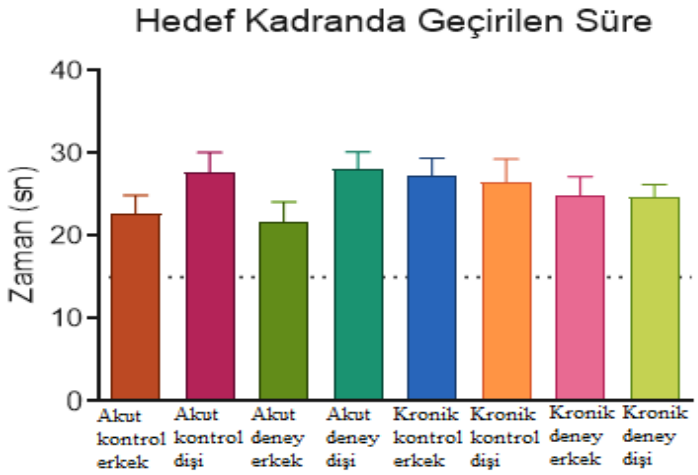
1) Hedef kadrana erişme süresi: *Probe* testinde (deneyin 6.günü) sıçanların platformun bulunması gerektiği kadrana erişme süresi gruplar arasında istatistiksel bakımdan farklı değildi (p>0,05) (Şekil 19).



(Tek yönlü tekrarlanan ölçümler ANOVA, *post hoc* Bonferroni testi) (Her grup için, n=10) (Dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir.)

Şekil 19. Hedef kadrana erişme süresi

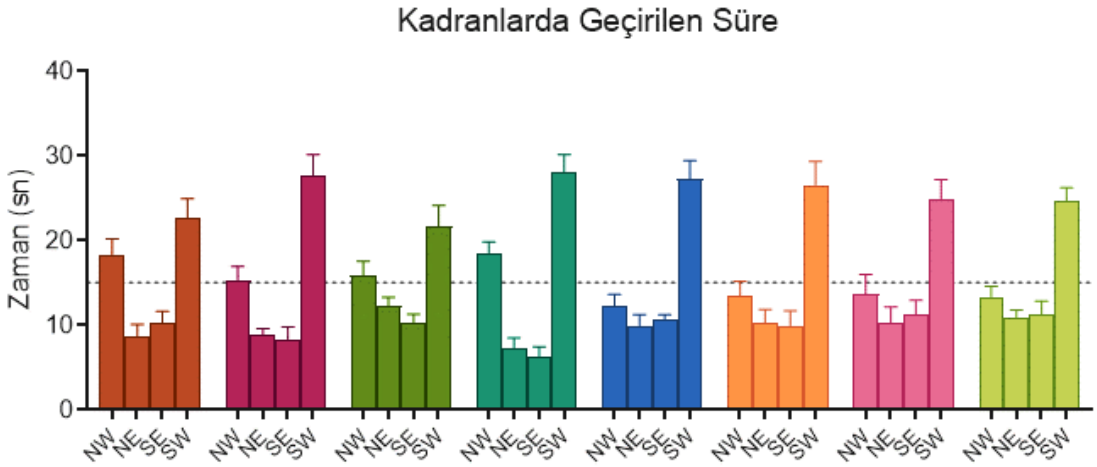
2) Hedef kadranda geçirilen süre: *Probe* testinde (deneyin 6.günü) sıçanların platformun bulunması gerektiği kadranda (hedef kadran) geçirdikleri süre gruplar arasında istatistiksel bakımdan anlamlı değildi ($p>0,05$) (Şekil 20).



(Tek yönlü tekrarlanan ölçümler ANOVA, *post hoc* Bonferroni testi) (Her grup için, n=10) (Dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir.)

Şekil 20. Hedef kadranda geçirilen süre

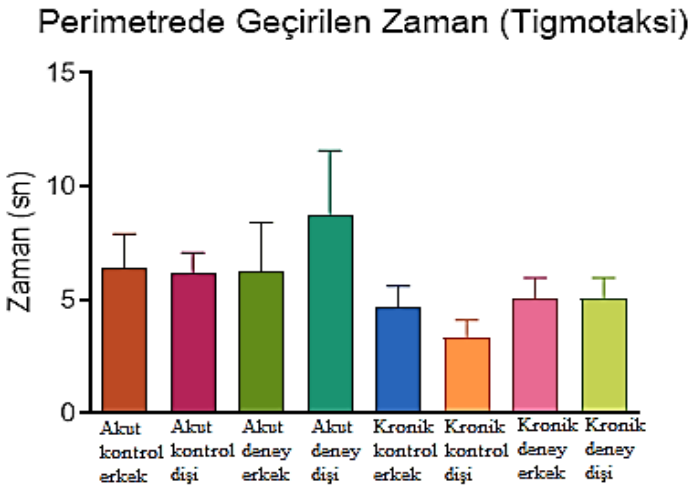
3) Kadranlarda geçirilen süre: Altıncı günde yapılan *probe* testinde deney grupları ile kontrol gruplarının kadranlarda geçirilen süre değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (Şekil 21).



(NE: Kuzey Doğu; NW: Kuzey Batı; SE: Güney Doğu; SW Güney Batı) (Her grup için, n=10) Tek yönlü tekrarlanan ölçümler ANOVA, *post hoc* Bonferroni testi) (Dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir.)

Şekil 21. Bütün kadranlarda tüm grupların geçirmiş olduğu süre

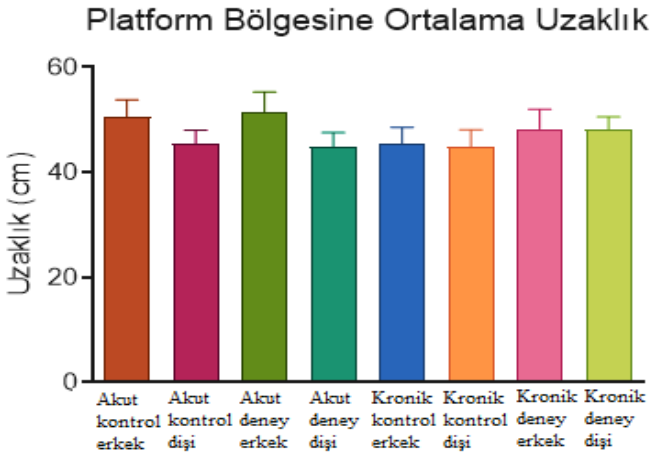
4) Perimetrede geçirilen zaman (Tigmotaksi): Altıncı günde yapılan *probe* testinde deney grupları ile kontrol gruplarının *tigmotaksi* değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 22).



(Tek yönlü tekrarlanan ölçümler ANOVA, *post hoc* Bonferroni testi) (Her grup için, n=10) (Dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir.)

Şekil 22. Tüm grupların perimetrede geçirdiği zaman

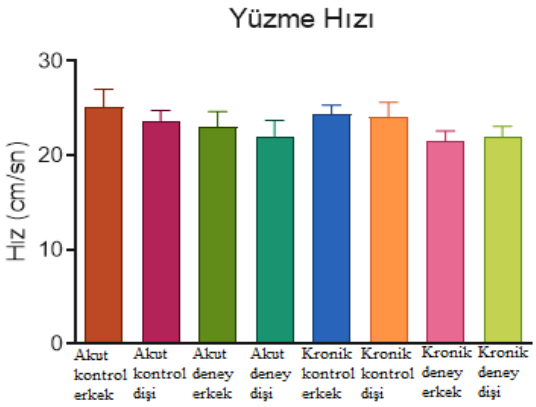
5) Platform bölgesine ortalama uzaklık: Altıncı günde yapılan *probe* testinde sıçanların platformun bulunması gereken yere ortalama uzaklığı gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık göstermemiştir (Şekil 23).



(Tek yönlü tekrarlanan ölçümler ANOVA, *post hoc* Bonferroni testi) (Her grup için, n=10) (Dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir.)

Şekil 23. Tüm grupların platform bölgesine ortalama uzaklıkları

6)Yüzme hızı: Altıncı günde yapılan *probe* testinde gruplar arasında yüzme hızı bakımından anlamlı bir fark bulunamamıştır (Şekil 24).

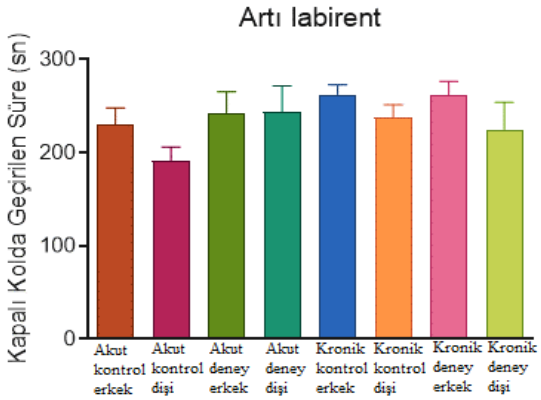


(Tek yönlü tekrarlanan ölçümler ANOVA, *post hoc* Bonferroni testi) (Her grup için, n=10) (Dikey çubuklar ortalamanın standart hatasını göstermektedir.)

Şekil 24. Tüm deney gruplarının yüzme hızları

YÜKSELTİLMİŞ ARTI LABİRENT TESTİ

Anksiyete araştırması için yapılan yükseltilmiş artı labirent testinde hayvanların kapalı kolda geçirdikleri süre baz alınarak değerlendirme yapılmıştır. Gruplar arasında anlamlı bir fark saptanamamıştır (Şekil 25).

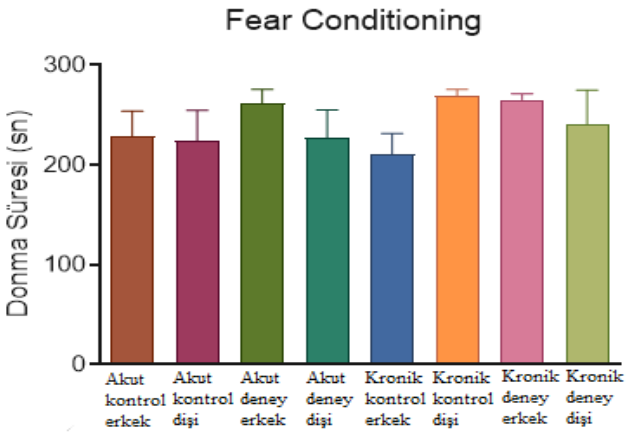


Şekil 25. Tüm grupların kapalı kolda geçirdikleri süre (saniye olarak verilmiştir)

KORKU KOŞULLANMA TESTİ

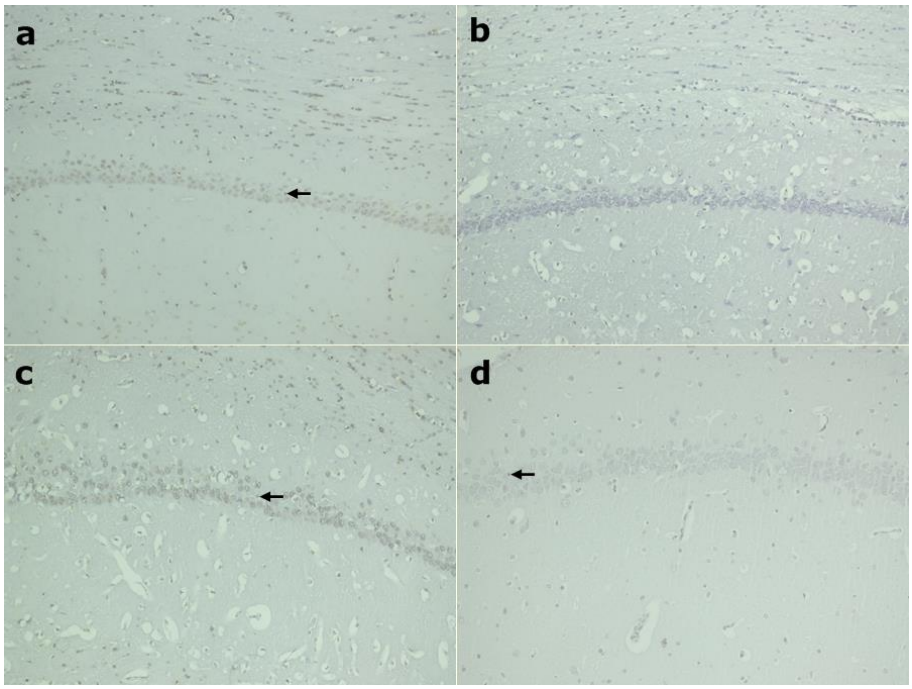
Bu testte, ilk gün hayvanlar tek tek duvarlarında ipuçların bulunduğu deney düzeneğine alındılar. İki gün süreli yapılan bu deneyin ilk gününde hayvan içeri alındıktan sonra 2., 4., ve 6. dakikalarda, metal ızgara vasıtasıyla bir saniye süresince 0,5 mA ayak şoku uygulandı. İkinci

gün ise hayvanlar tek tek yine aynı düzeneğe yerleştirildiler ve 5 dk boyunca şok uygulanmadan sadece hayvanlardaki donma davranışının süresi kayıt edildi. Gruplar arasında donma süreleri bakımından anlamlı fark saptanamamıştır (Şekil 26). P>0,05

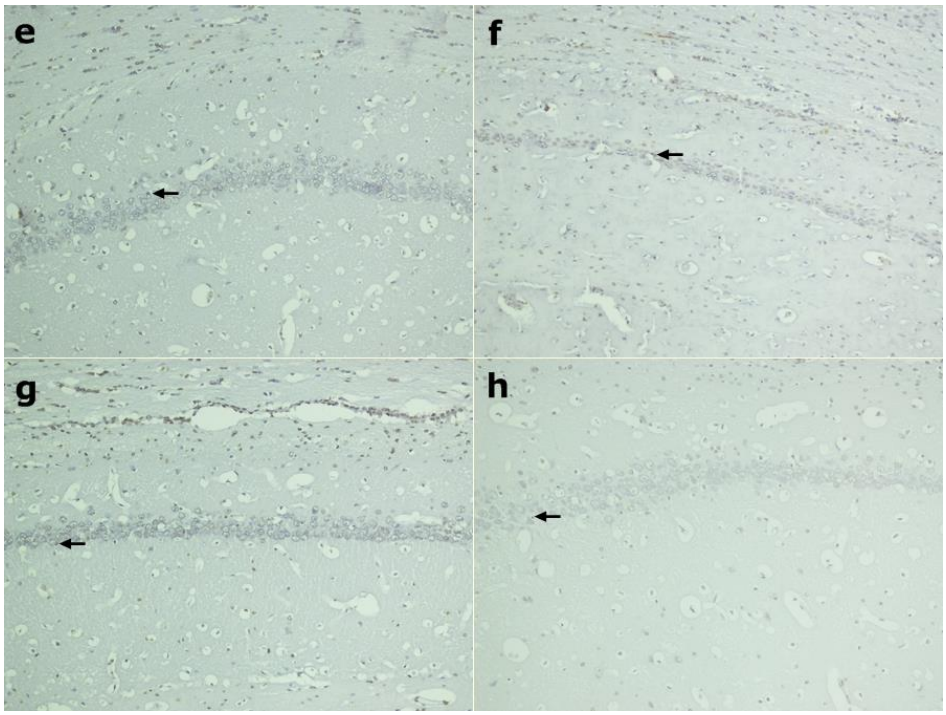


Şekil 26. Korku koşullanma testinde hayvanların donma süreleri

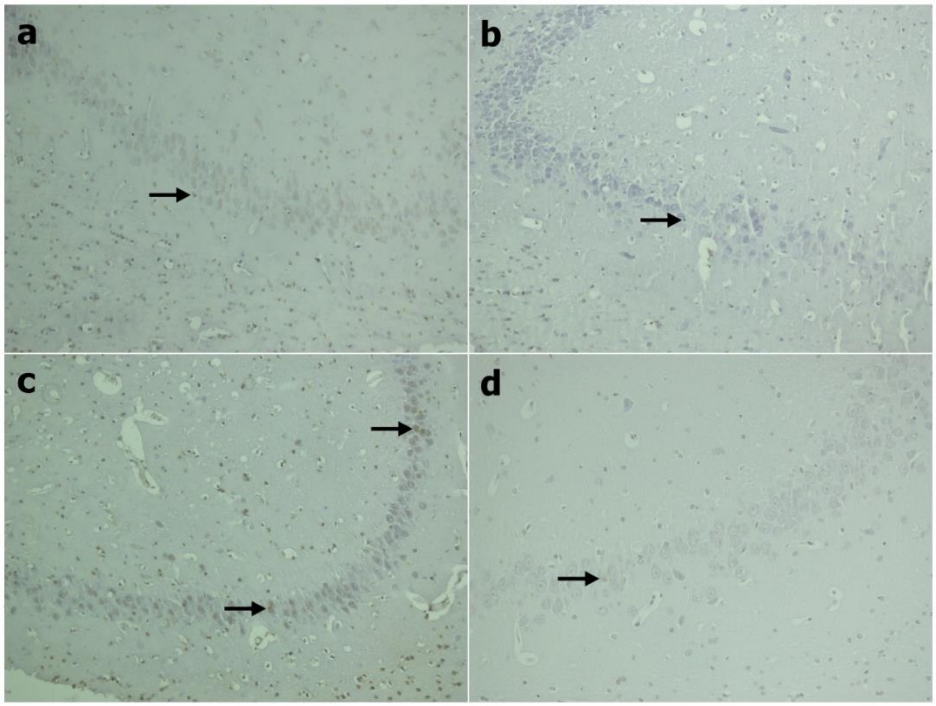
TUNEL



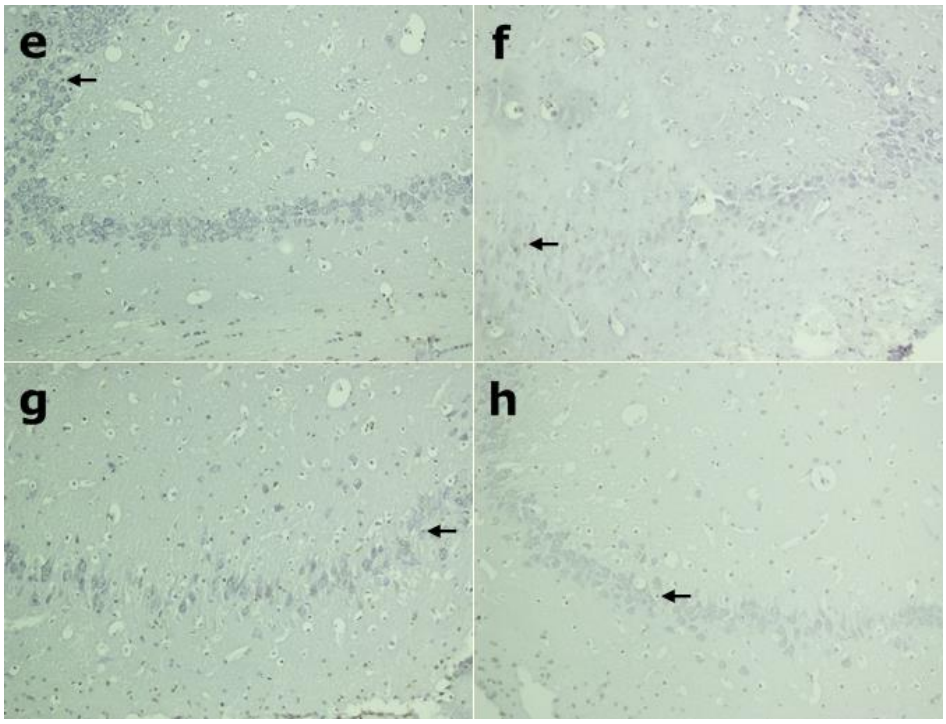
Şekil 27. Hippocampus CA_1 bölgesinde; az sayıdaki TUNEL pozitif hücreler (→) izlenmektedir. TUNEL ve hematoksilen zıt boyaması, X200. (a: erkek akut kontrol grubu, b: dişi akut kontrol grubu, c: erkek akut deney grubu, d: dişi akut deney grubu).



Şekil 28. Hippocampus CA_1 bölgesinde; az sayıdaki TUNEL pozitif hücreler (→) izlenmektedir. TUNEL ve hematoksilen zıt boyaması, X200. (e: erkek kronik kontrol grubu, f: dişi kronik kontrol grubu, g: erkek kronik deney grubu, h: dişi kronik deney grubu).



Şekil 29. Hippocampus CA_3 bölgesinde; az sayıdaki TUNEL pozitif hücreler (→) izlenmektedir. TUNEL ve hematoksilen zıt boyaması, X200. (a: erkek akut kontrol grubu, b: dişi akut kontrol grubu, c: erkek akut deney grubu, d: dişi akut deney grubu)



Şekil 30. Hippocampus CA_3 bölgesinde; az sayıdaki TUNEL pozitif hücreler (→) izlenmektedir. TUNEL ve hematoksilen zıt boyaması, X200. (e: erkek kronik kontrol grubu, f: dişi kronik kontrol grubu, g: erkek kronik deney grubu, h: dişi kronik deney grubu).

Tablo 2. Tüm gruplarda CA_1 ve CA_3 bölgelerinde apoptozis oranları ve istatistiksel sonuçlar

GRUP	CA_1		CA_3	
	Ort ± Sd	***p***	**Ort ± Sd**	***p***
A Akut E Kont	14,67 ± 7,66	0,012	8,33 ± 4,08	0,012
C Akut E Deney	26,67 ± 4,08		23,33 ± 9,31	
B Akut D Kont	8,33 ± 2,58	1,000	7,50 ± 2,74	0,575
D Akut D Deney	12,17 ± 10,69		8,33 ± 2,58	
E Kronik E Kont	2,83 ± 1,17	0,116	3,33 ± 1,03	0,118
G Kronik E Deney	4,83 ± 2,79		6,67 ± 4,93	
F Kronik D Kont	6,83 ± 2,64	0,295	6,67 ± 2,58	0,295
H Kronik D Deney	8,33 ± 2,58		8,67 ± 3,83	

Yukardaki tabloda CA_1 ve CA_3 bölgeleri kıyaslanmıştır. Erkek akut deney grubu kontrol grubu ile kıyaslandığında CA_1 ve CA_3 bölgelerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde apoptozis ile karşılaşılmıştır. Diğer gruplarda ise anlamlı fark elde edilememiştir.

TARTIŞMA

Morris Su Labirenti Testi Hippocampus aktivasyonunun test edildiği, bu zamana kadar çok sayıda deneyde kullanılmış ve geçerliliği olan bir düzenektir (102-109). Formaldehit maruziyetinin öğrenme ve bellek üzerine etkili olduğu çalışmalar mevcuttur (110-113). Hippocampus'ta bulunan yer hücrelerinin *(place cell)* Morris Su Labirenti'inde uzaysal bellek kabiliyetinde görevli olduğu gösterilmiş ve CA_1 ve CA_3 bölgelerinde bulunan yer hücrelerinin aktif olduğu, yapılan çalışmalarla desteklenmiştir (114-116). Hippocampus kaynaklı patolojik durumlarda uzaysal bilginin öğrenilmesi, geri çağrılması, pekiştirilmesi, saklanması gibi görevlerde aksamaların meydana geldiği görülmüştür (117,118).

Hippocampus eksplisit bellekte rol alan bir yapı olarak kabul edilir ve uzaysal öğrenme için gerekli olduğu kabul edilmektedir. Farelerde ve sıçanlarda Hippocampus'taki piramidal hücreler *'place cell'* olarak fonksiyon görmektedirler. Bu hücrelerin ortamda kodladıkları alanlar da *'place field'* olarak isimlendirilmektedir. *Place cell*'ler hayvanın bulunduğu ortamdaki pozisyonuyla alakalı olarak uyarılırlar. Hayvan yeni bir ortama girdiği zaman bir 'place field' oluşturulur. Bu alanlar dakikalar içinde şekillenir ve haftalarca, aylarca sabit kalır. (17,119-121)

Hippocampus uzaysal belleğin oluşmasında, yön öğrenilmesinde etraftaki nesnelerin bellenerek kognitif haritanın *(allocentric cognitif map)* meydana gelmesinde esas role sahiptir. Uzaysal öğrenmenin geri kalan elemanlarının ise muhtemelen diğer beyin oluşumları tarafından sağlandığı düşünülmektedir.

Öğrenme ve bellek parametreleri olarak araştırdığımız bazı ölçümlerin, sıçanların yüzme hızından etkilenme gibi ihtimali de vardır. Bu farkın öğrenmedeki farklılıktan mı yoksa yüzme hızındaki farklılıktan mı olduğunu anlamak için gruplar yüzme hızı bakımından

karşılaştırılmıştır. Akut deney erkek grubu ve kronik deney erkek grubunda artma olmasına rağmen bu artış anlamlı değildir. Sonuç olarak FA'ya maruz kalmanın lokomotor sistemde dişi, erkek, akut ve kronik gruplarında kontrol grubuna göre bir farklılığa neden olmadığı görülmüştür.

Tigmotaksi parametresinin artması prensip olarak hayvanın öğretilen görevi bellemediği ve havuzda amaçsızca yüzdüğü şeklinde yorumlanabilir. *Tigmotaksi* parametresi ipuçları görünürlüğünden, gürültü, koku, stres gibi çeşitli faktörlerden etkilenebilmektedir. Çalışmamızda bu parametrede gruplar arasında eğitim yüzdürmeleri boyunca gün gün giderek azaldı ve gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi.

Platformun bulunduğu yere ortalama uzaklık tüm gruplarda gün gün azalma gösterdi. Platforma ulaşma süresi ve yüzülen toplam mesafede ve kronik deney erkek ve dişi gruplarda artma görülmesine rağmen anlamlı bulunmadı. Lu ve arkadaşları farelere 1 ve 3 mg/m^3 dozunda (7 gün 6 saat) inhalasyon yolu ile FA vermişlerdir. Morris Su Labirenti değerlendirmesi sonucunda 1 mg/m^3 dozunda FA inhale eden farelerin öğrenme ve bellek fonksiyonlarında bir değişiklik olmazken 3 mg/m^3 alan grupta öğrenme ve bellek fonksiyonlarında negatif bir etkiyle karşılaşılmıştır (113). Bu çalışmada 3 mg/m^3 FA alan hayvanlar platforma çıkmada gecikme yaşamışlardır. Bizim çalışmamızda inhalasyon yerine FA'nın intraperitoneal yoldan verilmesi, karaciğerde metabolize olmasından dolayı öğrenme ve belleği anlamlı derecede etkilememiş olabilir.

Probe testinde ise (6.gün) platform çıkarılarak bellek değerlendirilmektedir. Bu uygulamada hayvanın platformu araması sırasında hedef kadranda geçirdiği süre, bu alana erişme süresi, ortalama uzaklık ve *tigmotaksi* gibi veriler değerlendirilerek hayvanın uzaysal öğrenmesinin doğruluğu değerlendirildi. Bellek bakımından bozulma yaşamamış olan hayvanların platformun yerini anımsaması ve genellikle o kadranda yüzmeleri beklenmektedir. *Probe* sonuçlarına baktığımızda hedef kadrana erişme süresi akut ve kronik deney erkek gruplarında; *tigmotaksi* parametresi ise akut deney dişi grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmayan bir artış gösterdi. Altıncı günde yapılan ve *probe* testimizde istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Yapılan bir çalışmada Morris Su Labirenti Testi' nde hedef kadranda ve karşı kadranda geçirilen süre ile gyrus dentatus'taki nöron sayıları arasında güçlü bir ilişki bulunduğu gösterilmiştir (122). Bu bakımdan 10mg/kg FA'ya maruz kalmanın gyrus dentatus nöron sayısında herhangi bir etkisinin bulunmadığı sonucuna ulaşılabilir.

Liu ve arkadaşları inhalasyon yolu ile sıçanlara günde iki kez yarımşar saat FA vermiştir (13,5 ± 1.5 ppm). 3,7,14 ve 28 günlük deney gruplarının kontrol gruplarına kıyasla Morris Su Labirenti Testi değerlendirmesinde öğrenme ve belleğin olumsuz yönde etkilendiğini göstermişlerdir (123).

Tang ve arkadaşları 7 gün boyunca sıçanlarda intraserebroventriküler FA (0.1, 1, 10μmol) enjekte etmiş ve Morris Su Labirenti testi kullanarak hayvanları değerlendirmeye almıştır. Bunun sonucunda 5 günlük trial eğitim döneminde 1 ve 10 μmol FA ya maruz kalmış sıçanların öğrenme ve bellek fonksiyonlarında bozulma olduğunu göstermişlerdir. 0.1 μmol FA'ya maruz kalan sıçanlarda ise kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir değişim görülmemiştir. Bu sonuçlar *probe* testiyle paralellik göstermiştir. Bizim çalışmamız da kıyaslandığında FA'nın intraperitoneal verilmesi, sıçanların akut, kronik, dişi ve erkek bakımından ayrılması çalışmamızı ayırıcı niteliktedir. Ayrıca bu çalışmada 10 μmol FA' ya maruz kalan sıçanların Hippocampusünde apoptozis meydana geldiği görülmüştür (124). Bizim çalışmamızda TUNEL testi uygulanarak semikantitatif yöntemle yapılan apoptozis değerlendirmesi sonucunda akut erkek kontrol ve deney gruplarında CA_1 ve CA_3 gruplarında apoptozis bakımından istatistiksel olarak anlamlı sonuca ulaşıldı. Bilişsel testlerle kıyaslandığında ise bu apoptozis öğrenme ve belleği etkileyecek düzeyde olmadığı sonucuna varıldı. Dişi akut deney gruplarında apoptozis görülmemesinin ise cinsiyet farkından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kronik gruplarda apoptozis gözlemlenmemesinin sebebinin bir aylık süre zarfında çevredeki parankim hücreleri ve fagositler tarafından fagosite ederek dokudan temizlenmesinin sebep olduğu desteklenmektedir (125).

Tang ve arkadaşları yaptıkları çalışmada akut gruba 7 gün boyunca 60 mg/kg; kronik gruba 30 gün 60 mg/kg IP yolla FA vermişlerdir. Öğrenme ve belleği değerlendirme amaçlı Morris Su Labirenti Testi uygulanmıştır. Akut grupta uzaysal öğrenme yeteneğinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalma görülmüştür $p>0,05$. Fakat *probe* testinde belleğin bozulduğunu kanıtlayan parametreler elde edilmiştir. Deney grubunda hedef kadranda sıçanlar daha az vakit geçirmiştir. Kronik grupta ise öğrenme ve bellekte bozulma tespit edilmiştir (110). Bu bakımdan bizim tezimizle kıyaslandığında doz ve cinsiyet bakımından oluşan farklılık sonuçlara da yansımıştır.

Türkoğlu ve arkadaşları 10mg/kg dozunda IP yoluyla FA vermişlerdir. Deney grubundaki sıçanlara Pitten ve arkadaşlarının yaptığı labirent testini uygulamışlardır (126). Labirent testinin başlangıcının 4. gününden itibaren enjeksiyon başlatılmış ve bu günden

itibaren sıçanların labirentte peyniri bulma süresi kontrol grubuna kıyasla gittikçe uzamıştır (127).

Bağlamsal korku koşullanmanın amigdala ve Hippocampus'e bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu bölgenin etkisiz hale getirilmesinin sonucunda korkunun ifade edilmesi ve öğrenilmesi engellenmiş olunur. Joseph E. LeDoux, korku koşullandırma ve lezyon çalışmasını kullanarak fare beyninde iki amigdala yolu bulmuştur: yüksek yol, düşük yol. Düşük yol, bir uyarandan gelen sinyali talamusa ve daha sonra vücuda bir korku tepkisini aktive eden amigdalaya iletebilme yeteneğine sahip bir yoldur. Bu dizilim, bilinçli bir deneyimi olmadan çalışır ve bedensel bir yanıt için hızlı bir yoldur. Yüksek yol beyindeki kortikal kısımları da içeren yavaş bir yoldur, böylece uyaranın ne olduğunu hakkında bilinçli bir izlenim yaratır. Düşük yol beynin sub kortikal kısmını içerir ve bu nedenle daha ilkel bir savunma mekanizması olarak kabul edilir, ancak beynin daha karmaşık bölümünü geliştirmemiş, daha az gelişmiş hayvanlarda, ayrı biçimlerinde bulunur. Daha gelişmiş hayvanlarda, yüksek yol ve düşük yol, korku yanıtı ve algısal geri bildirim sağlamak için birlikte çalışır (128). Bazı korku koşullanma türlerinde (ör: ipuçlu) Hippocampus impulsları almada ve bu impulsları anlamlı hale getirmek için varolan bilgileri birleştirmede görev almaktadır (129). Korku koşullanma testimizde düzenekte deney boyunca sabit kalan ipuçları bulunmasından dolayı bağlamsal korku koşullanma değerlendirilebilir. Bu sebeple deneyde amigdalayla beraber Hippocampus bazlı bellek konusunda çıkarıma varılabilir. Intraperitoneal FA'ya maruz kalmanın gruplarda amigdala ve Hippocampus bazlı bellekte herhangi bir değişikliğe sebep olmadığı görüldü.

Sorg ve arkadaşları yaptıkları çalışmada dişi ve erkek sıçanlara 4 hafta boyunca, haftada 5 gün ve 1 saat boyunca 2 ppm dozunda inhalasyon yolu ile FA vermiştir. 2-3 hafta sonra dişi ve erkek sıçanlara fear conditioning testi uygulanmıştır. Yarısına test sırasında ortama portakal yağı verilerek koşullu uyaran sağlanmıştır. Diğer yarısına ise hiçbir uyaran verilmeden sadece ayak şoku uygulanmıştır. Dişi sıçanlar kontrol gruplarıyla benzer sonuçlar vermiştir. Bu davranışsal farkta gonadal hormonların bir etkisi olduğu düşünülmektedir (130).

Anksiyeteyi değerlendirme amacıyla ise yükseltilmiş artı labirent testi uygulandı. Dişi ve erkek sıçanlar gözler açık kola denk gelecek şekilde test düzeneğinin tam orta noktasına bırakılarak 5 dakika boyunca gözlemlendi ve değerlendirme kapalı kolda geçirdikleri süre esas alınarak yapıldı. Bu değerlendirmenin sonucunda 10mg/kg intraperitoneal FA'ya maruz kalmanın anksiyeteye herhangi bir etkisinin bulunduğu saptanmadı.

Li ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 1 ve 2 ppm dozunda inhalasyon yolu ile FA vermişler ve 1 ppm FA inhalasyonunun anksiyete benzeri davranış düzeylerini azalttığını ancak

2 ppm formaldehitin inhalasyonu vücut ağırlığını düşürdüğünü ve depresyon benzeri davranış düzeylerinde artış, yeni nesne tanıma testinde zorluk yaşadığını belirtmişlerdir. Bu da 2 ppm FA inhalasyonunun öğrenme ve bellek bozukluğuna ek olarak depresyona da sebep olabileceğini göstermektedir (131).

FA'nın mesleki açıdan veya iç ortamdaki maruziyet yaşayan insanlar için bir nörotoksin olup olmadığı hala tartışmalıdır. Diğer kimyasallara karışmadan formaldehitin nörotoksisitesini araştırmak için hayvanlar üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Bazı hayvan deneylerinin sonuçları, gaz formundaki FA maruziyetinin davranışsal depresyonu ve öğrenme inhibisyonunu indükleyebildiğini ortaya koymaktadır. Ancak, mekanizma hala belirsizdir (126,132,133).

SONUÇLAR

Dişi ve erkek sıçanlarda yapılan bu çalışmada 10 mg/kg dozunda intraperitoneal formaldehite maruz kalmanın kontrol gruplarıyla kıyaslandığında öğrenme ve bellek fonksiyonlarında herhangi bir değişikliğe sebep olmadığı görülmüştür.

Anksiyete seviyesinin ölçüldüğü Yükseltilmiş Artı Labirent Testi' nin sonuçları 10 mg/kg dozunda IP FA'ya maruz kalmanın kontrol gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Koşullu öğrenmenin test edildiği Korku Koşullanma Testinde ise sonuçlar 10 mg/kg dozunda IP FA'ya maruz kalmanın kontrol gruplarıyla kıyaslandığında herhangi bir değişikliğe sebep olmamıştır.

Histolojik kesitlere bakıldığında akut erkek deney ve kontrol grubunda Hippocampus'un CA_1 ve CA_3 bölümlerinde apoptozis tespit edilmiştir. Fakat bu seviyedeki apoptozisin öğrenme ve belleği etkilemeyeceği sonucuna ulaşılmıştır.

ÖZET

Bu çalışmada başlıca anatomistlerin diğer insanların da günlük hayatta sıkça maruz kaldıkları formaldehitin sıçanlarda öğrenme ve bellek üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Erkek ve dişi sıçanlardan oluşturulan 8 gruba 7 gün (akut) veya 30 gün süreyle (kronik) intraperitoneal yoldan 10 mg/kg dozunda formaldehid veya serum fizyolojik verildi. Morris Su labirenti, yükseltilmiş artı labirent, korku koşullanma, rotarod aktivitesi ölçümü testleri uygulandıktan sonra ötenazi yapılarak Hippocampuste histolojik inceleme yapıldı. Davranış deneylerinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark saptanmadı. Histolojik kesitler incelendiğinde akut erkek deney gruplarında apoptozis tespit edildi. Akut veya kronik formaldehit maruziyetinin uzaysal öğrenme ve belleği bozmadığı sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Öğrenme ve bellek, sıçan, morris su labirenti, formaldehit, hippocampus

ACUTE AND CHRONIC EFFECTS OF FORMALDEHYDE EXPOSURE ON LEARNING AND MEMORY IN RATS

SUMMARY

In this study, it was aimed to investigate the effect of formaldehyde on learning and memory in rats, which other people and especially anatomists are frequently exposed in daily life. Eight groups of male and female rats were given formaldehyde or saline at a dose of 10 mg / kg for 7 days (acute) or 30 days (chronic) with intraperitoneal injection. Morris Water maze, elevated plus maze, fear conditioning, rotarod activity measurement tests were performed, followed by euthanasia and hippocampal histological examination. There was no statistically significant difference between the groups in the behavioral tests. When histological sections were examined, apoptosis was detected in acute male experimental groups. As a result, acute or chronic formaldehyde exposure does not impair spatial learning and memory.

Key words: learning and memory, rat, morris water maze, formaldehyde, hippocampus

KAYNAKLAR

1. Bolt HM. Experimental Toxicology of Formaldehyde. J Cancer Res Clin 1987;113(4):305-9.

2. Hauptmann M, Lubin JH, Stewart PA, Hayes RB, Blair A. Mortality from solid cancers among workers in formaldehyde industries. Am J Epidemiol 2004;159(12):1117-30.

3. Gurel A, Coskun O, Armutcu F, Kanter M, Ozen OA. Vitamin E against oxidative damage caused by formaldehyde in frontal cortex and Hippocampus: biochemical and histological studies. J Chem Neuroanat 2005;29(3):173-8.

4. Zararsiz I, Kus I, Akpolat N, Songur A, Ogeturk M, Sarsilmaz M. Protective effects of omega-3 essential fatty acids against formaldehyde-induced neuronal damage in prefrontal cortex of rats. Cell Biochem Funct 2006;24(3):237-44.

5. Zararsiz I, Kus I, Ogeturk M, Akpolat N, Kose E, Meydan S, et al. Melatonin prevents formaldehyde-induced neurotoxicity in prefrontal cortex of rats: an immunohistochemical and biochemical study. Cell Biochem Funct 2007;25(4):413-8.

6. Destrieux C, Bourry D, Velut S. Surgical anatomy of the Hippocampus. Neurochirurgie. 2013;59(4-5):149-58.

7. Arıncı K, Elhan A. Anatomi 2. cilt. Ankara: Güneş Kitabevi, 1997: p. 403-2.

8. Jones DG, Smith BJ. The Hippocampus and its response to differential environments. Prog Neurobiol 1980;15(1):19-69.

9. İzci Y. Hippocampus: Yapısı ve fonksiyonları. Türk Nöroşirurji Derg 2015;25(3):8.

10. Hudspeth AJ, Jessell TM, Kandel ER, Schwartz JH, Siegelbaum SA. Principles of Neural Science. New York: McGraw Hill, 2013.

11. Miller GA. The magical number seven, plus or minus two: some limits on our capacity for processing information. Psychol Rev 1956;63(2):81.

12. Baddeley A. The episodic buffer: a new component of working memory? Trends Cognitive Sci 2000;4(11):417-23.

13. Mesulam M. Davranışsal ve Kognitif Nörolojinin İlkeleri. İstanbul: Yelkovan Yayınları, 2004.

14. Cowan N. The magical mystery four: How is working memory capacity limited, and why? Curr Directions Psychol Sci 2010;19(1):51-7.

15. Chechile RA, Sloboda LN, Chamberland JR. Obtaining separate measures for implicit and explicit memory. J Mathematical Psychol 2012;56(1):35-53.

16. Binder MD, Hirokawa N, Windhorst U. Encyclopedia of neuroscience. Berlin: Heidelberg-Springer, 2009.

17. Eric Kandel JS, Thomas Jessell. Principles of Neural Science.New York: McGraw Hill Companies, 2000.

18. Judas M. PM. A note on the sea-horse in the human brain. Translational Neurosci 2010;1(4):335-7.

19. Kulkarni NV. Clinical anatomy for students: problem solving approach. New Delhi: Jaypee Brothers Publishers, 2007.

20. Butler AB, Hodos W. Comparative vertebrate neuroanatomy: evolution and adaptation: New Jersey: John Wiley & Sons, 2005.

21. Gray H SS, Ellis H, Berkovitz BKB. Gray's Anatomy The Anatomical Basis of Clinical Practice. Londra: Churchill Livingstone, 2005

22. Yıldırım M. Temel Nöroanatomi. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2014.

23. Schuenke M SE, Schumacher U, Ross LM, Lamperti ED, Taub E. Thieme Atlas of Anatomy. Sttutgard: Georg Thieme Verlag, 2007.

24. Duvernoy HM. The human Hippocampus: functional anatomy, vascularization and serial sections with MRI. Berlin: Springer Science & Business Media, 2005.

25. Arbib MA, Érdi P, Szentágothai J. Neural organization: Structure, function, and dynamics. Cambridge: MIT press, 1998.

26. Duvernoy HM. Structure, Function, and Connections. Germany: Springer–Verlag Berlin Heidelberg, 2005.

27. Netter FH. Anatomi Atlası. Philadelphia: Saunders-Elsevier, 2011.

28. Embryology and Development. In: Williams P (Eds.). Gray's Anatomy 38. London: ELBS; 1995.

29. Ozan H. Premium Ozan Anatomi. İstanbul: Klinisyen Tıp Kitapevi, 2014.

30. Taner D. Fonksiyonel Nöroanatomi. Ankara: Odtü Yayıncılık, 2014:226-6.

31. Crossman A. Cerebral Hemisphere. In: Standring S (eds.). Gray's Anatomy, The Anatomical Basis of Clinical Practice. Spain: Elsevier Ltd; 2005.

32. West MJ, Slomianka L, Gundersen HJ. Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in thesubdivisions of the rat Hippocampus using the optical fractionator. Anat Rec 1991;231(4):482-97.

33. West MJ, Gundersen HJ. Unbiased stereological estimation of the number of neurons in the human Hippocampus. J Comp Neurol 1990;296(1):1-22.

34. Kandel E, Schwartz J, Jessell T, Siegelbaum SA, Hudspeth AJ. The Organization of Cognition. Principles of Neural Science. New York: McGraw Hill; 2013.

35. Witter MP, Amaral, DG. . Hippocampal Formation. In: Paxinos G (eds.). The Rat Nervous System. London: Elsevier Academic Press; 2004.

36. Khan UA, Liu L, Provenzano FA, Berman DE, Profaci CP, Sloan R, et al. Molecular drivers and cortical spread of lateral entorhinal cortex dysfunction in preclinical Alzheimer's disease. Nature Neurosci 2014;17(2):304-11.

37. Clark D, Boutros NN. Limbic System: Temporal Lobe. In: Clark D, Boutros NN (eds.). An Introduction to Behavioral Anatomy. USA: Blackwell Science; 1999.

38. Kobayashi Y. Cingulate gyrus: Cortical architecture and connections. Brain Nerve 2011;63(5):473-82.

39. Lomo T. Frequency potentiation of excitatory synaptic activity in dentate area of hippocampal formation. Acta Physiologica Scandinavica 1966

40. Bliss TV, Lømo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. J Physiol 1973;232(2):331-56.

41. Cooke S, Bliss T. Plasticity in the human central nervous system. Brain 2006;129(7):1659-73.

42. Bliss TV, Collingridge GL. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the Hippocampus. Nature 1993;361(6407):31.

43. Morris R, Anderson E, Lynch G, Baudry M. Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. Nature 1986;319(6056):774-6.

44. McHugh TJ, Blum KI, Tsien JZ, Tonegawa S, Wilson MA. Impaired hippocampal representation of space in CA1-specific NMDAR1 knockout mice. Cell 1996;87(7):1339-49.

45. Morris RG, Frey U. Hippocampal synaptic plasticity: role in spatial learning or the automatic recording of attended experience? Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 1997;352:1489-503.

46. Uysal N, Dayı A, Özbal S, Çetin F, Aksu İ, Yalaz G ve ark. Sıçanlarda spasyal belleğin adölesan dönem süresince gelişimi. J Neurol Sci Turk 2010;27:407-13.

47. Massey PV, Bashir ZI. Long-term depression: multiple forms and implications for brain function. Trends Neurosci 2007;30(4):176-84.

48. Nicholls RE, Alarcon JM, Malleret G, Carroll RC, Grody M, Vronskaya S, et al. Transgenic mice lacking NMDAR-dependent LTD exhibit deficits in behavioral flexibility. Neuron 2008;58(1):104-17.

49. Malleret G, Alarcon JM, Martel G, Takizawa S, Vronskaya S, Yin D, et al. Bidirectional regulation of hippocampal long-term synaptic plasticity and its influence on opposing forms of memory. J Neurosci 2010;30(10):3813-25.

50. Ullmann F, Gerhartz W, Yamamoto YS, Campbell FT, Pfefferkorn R, Rounsaville JF. Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry: Vch Weinheim, Germany; 1985.

51. The Organisation for Economic Co-operation and Development. SIDS Initial Assessment Report For SIAM 14. Paris:2002.

52. WHO. Environmental health criteria 89. 1989. Contract No.: 4.

53. Jurvelin J, Vartiainen M, Jantunen M, Pasanen P. Personal exposure levels and microenvironmental concentrations of formaldehyde and acetaldehyde in the Helsinki metropolitan area, Finland. J Air Waste Manag Assoc 2001;51(1):17-24.

54. Ziegler D. Microsomal flavin-containing monooxygenase: oxygenation of nucleophilic nitrogen and sulfur compounds. Enzymatic basis detoxication 1980;1:201-27.

55. Rozman KK, Klaassen CD. Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons. New York: McGraw-Hill, 2007.

56. Casanova M, Heck HdA, Everitt J, Harrington W, Popp J. Formaldehyde concentrations in the blood of rhesus monkeys after inhalation exposure. Food Chem Toxicol 1988;26(8):715-6.

57. Heck HdA, Casanova-Schm1tz M, Dodd PB, Schachter EN, Witek TJ, Tosun T. Formaldehyde (CH2O) concentrations in the blood of humans and Fischer-344 rats exposed to CH2O under controlled conditions. Am Industrial Hygiene Assoc J 1985;46(1):1-3.

58. Casanova M, Heck HdA. Further studies of the metabolic incorporation and covalent binding of inhaled [3H]-and [14C] formaldehyde in Fischer-344 rats: effects of glutathione depletion. Toxicol App Pharmacol 1987;89(1):105-21.

59. Heck HdA, Chin T, Schmitz M. Distribution of [14C] formaldehyde in rats after inhalation exposure. Formaldehyde Toxicity 1983;26-37.

60. Lam C-W, Casanova M, Heck HdA. Depletion of nasal mucosal glutathione by acrolein and enhancement of formaldehyde-induced DNA-protein cross-linking by simultaneous exposure to acrolein. Arch Toxicol 1985;58(2):67-71.

61. Kallen RG, Jencks WP. The mechanism of the condensation of formaldehyde with tetrahydrofolic acid. J Biological Chem 1966;241(24):5851-63.

62. Waydhas C, Weigl K, Sies H. The Disposition of Formaldehyde and Formate Arising from Drug N-Demethylations Dependent on Cytochrome P-450 in Hepatocytes and in Perfused Rat Liver. Euro J Biochem 1978;89(1):143-50.

63. Uotila L, Koivusalo M. Formaldehyde Dehydrogenase from Human Liver purification, properties, and evidence for the formation of glutathione thiol esters by the enzyme. J Biological Chem 1974;249(23):7653-63.

64. Uotila L, Koivusalo M. Purification and properties of S-formylglutathione hydrolase from human liver. J Biological Chem 1974;249(23):7664-72.

65. Larsson A. Functions of Glutathione: Biochemical, Physiological, Toxicological, and Clinical Aspects. Proceedings of the Fifth Karolinska Institute Nobel Conference: 1982 May 23-27; Skokloster, Sweden: Raven Press; 1983.

66. Casanova-Schmitz M, David RM, Heck HdA. Oxidation of formaldehyde and acetaldehyde by NAD+-dependent dehydrogenases in rat nasal mucosal homogenates. Biochem Pharmacol 1984;33(7):1137-42.

67. Keller DA, Heck HdA, Randall HW, Morgan KT. Histochemical localization of formaldehyde dehydrogenase in the rat. Toxicol App Pharmacol 1990;106(2):311-26.

68. Morris RGM. Spatial localization does not require the presence of local cues. Learning and Motivation. 1981;12(2):239-60.

69. Brandeis R, Brandys Y, Yehuda S. The use of the Morris Water Maze in the study of memory and learning. Int J Neurosci 1989;48(1-2):29-69.

70. Wenk GL. Assessment of spatial memory using the radial arm maze and Morris water maze. Curr Protoc Neurosci 2004;8(5):25-21.

71. Bucci DJ, Chiba AA, Gallagher M. Spatial learning in male and female Long-Evans rats. Behav Neurosci 1995;109(1):180-3.

72. Roof RL. Neonatal exogenous testosterone modifies sex difference in radial arm and Morris water maze performance in prepubescent and adult rats. Behav Brain Res 1993;53(1-2):1-10.

73. Daniel JM, Roberts SL, Dohanich GP. Effects of ovarian hormones and environment on radial maze and water maze performance of female rats. Physiol Behav 1999;66(1):11-20.

74. Warren SG, Juraska JM. Spatial and nonspatial learning across the rat estrous cycle. Behav Neurosci 1997;111(2):259-66.

75. Lipp HP, Wolfer DP. Genetically modified mice and cognition. Curr Opin Neurobiol 1998;8(2):272-80.

76. Gallagher M, Nicolle MM. Animal models of normal aging: relationship between cognitive decline and markers in hippocampal circuitry. Behav Brain Res 1993;57(2):155-62.

77. Gallagher M, Holland PC. Preserved configural learning and spatial learning impairment in rats with hippocampal damage. Hippocampus 1992;2(1):81-8.

78. Gasbarri A, Sulli A, Innocenzi R, Pacitti C, Brioni JD. Spatial memory impairment induced by lesion of the mesohippocampal dopaminergic system in the rat. Neuroscience 1996;74(4):1037-44.

79. Geinisman Y, Detoledo-Morrell L, Morrell F, Heller RE. Hippocampal markers of age-related memory dysfunction: behavioral, electrophysiological and morphological perspectives. Prog Neurobiol 1995;45(3):223-52.

80. Deupree DL, Turner DA, Watters CL. Spatial performance correlates with in vitro potentiation in young and aged Fischer 344 rats. Brain Res 1991;554(1-2):1-9.

81. Gower AJ, Lamberty Y. The aged mouse as a model of cognitive decline with special emphasis on studies in NMRI mice. Behav Brain Res 1993;57(2):163-73.

82. Stewart J, Mitchell J, Kalant N. The effects of life-long food restriction on spatial memory in young and aged Fischer 344 rats measured in the eight-arm radial and the Morris water mazes. Neurobiol Aging 1989;10(6):669-75.

83. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. J Neurosci Methods 1985;14(3):149-67.

84. Asth L, Lobao-Soares B, Andre E, Soares Vde P, Gavioli EC. The elevated T-maze task as an animal model to simultaneously investigate the effects of drugs on long-term memory and anxiety in mice. Brain Res Bull 2012;87(6):526-33.

85. Buchel C, Dolan RJ. Classical fear conditioning in functional neuroimaging. Curr Opinion Neurobiol 2000;10(2):219-23.

86. Myers KM, Davis M. Behavioral and neural analysis of extinction. Neuron 2002;36(4):567-84.

87. Sullivan GM, Apergis J, Gorman JM, LeDoux JE. Rodent doxapram model of panic: behavioral effects and c-Fos immunoreactivity in the amygdala. Biol Psychiatry 2003;53(10):863-70.

88. Charney DS. Psychobiological mechanisms of resilience and vulnerability: implications for successful adaptation to extreme stress. Am J Psychiatry 2004;161(2):195-216.

89. Pavlov PI. Conditioned reflexes: An investigation of the physiological activity of the cerebral cortex. Ann Neurosci 2010;17(3):136-41.

90. Mouzon B, Chaytow H, Crynen G, Bachmeier C, Stewart J, Mullan M, et al. Repetitive mild traumatic brain injury in a mouse model produces learning and memory deficits accompanied by histological changes. J Neurotrauma 2012;29(18):2761-73.

91. Boehm SL, 2nd, Schafer GL, Phillips TJ, Browman KE, Crabbe JC. Sensitivity to ethanol-induced motor incoordination in 5-HT(1B) receptor null mutant mice is task-dependent: implications for behavioral assessment of genetically altered mice. Behav Neurosci 2000;114(2):401-9.

92. Perrine JW, Takesue EI. Use of the rotarod in determining grip strength in rats with adjuvant-induced arthritis. Arch Int Pharmacodyn Ther 1968;174(1):192-8.

93. Lalonde R, Hayzoun K, Selimi F, Mariani J, Strazielle C. Motor coordination in mice with hotfoot, Lurcher, and double mutations of the Grid2 gene encoding the delta-2 excitatory amino acid receptor. Physiol Behav 2003;80(2-3):333-9.

94. Watzman N, Barry H, 3rd, Buckley JP, Kinnard WJ, Jr. Semiautomatic System for Timing Rotarod Performance. J Pharm Sci 1964;53:1429-30.

95. Pritchett K, Mulder GB. The rotarod. Contemp Top Lab Anim Sci 2003;42(6):49.

96. Jones BJ RD. The quantitative measurement of motor inco-ordination in naive mice using an accelerating rotarod. J Pharm Pharmacol 1968;20(4):4.

97. Green D. Means to an End: Apoptosis and other Cell Death Mechanisms. NewYork: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2011.

98. Alberts BJ, Lewis A, Raff J, Roberts M, Walter K. Apoptosis: Programmed Cell Death Eliminates Unwanted Cells. Molecular Biology of the Cell. New York: Garlans Science; 2008.

99. O'Rourke MGE, Ellem KAO. John Kerr and apoptosis. Med J Australia 2000;173(11-12):616-7.

100. Kerr JFR. A Histochemical Study of Hypertrophy and Ischaemic Injury of Rat Liver with Special Reference to Changes in Lysosomes. J Pathol Bacteriol 1965;90(2):419-&.

101. Karadağ TO. Deneysel Omurilik Yaralanması Oluşturulan Sıçanlarda İnsan Umlikal Kord Kanı Transplantasyonunun Etkisinin İncelenmesi (tez). Denizli: Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2006.

102. D'Hooge R, De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. Brain Res Brain Res Rev 2001;36(1):60-90.

103. Rogers J, Churilov L, Hannan AJ, Renoir T. Search strategy selection in the Morris water maze indicates allocentric map formation during learning that underpins spatial memory formation. Neurobiol Learning Memory 2017;139:37-49.

104. Ahmadi M, Rajaei Z, Hadjzadeh M, Nemati H, Hosseini M. Crocin improves spatial learning and memory deficits in the Morris water maze via attenuating cortical oxidative damage in diabetic rats. Neurosci Letters 2017;642:1-6.

105. Jeong DU, Lee J, Chang WS, Chang JW. Identifying the appropriate time for deep brain stimulation to achieve spatial memory improvement on the Morris water maze. BMC Neurosci 2017;18(1):29.

106. Ning H, Cao D, Wang H, Kang B, Xie S, Meng Y. Effects of haloperidol, olanzapine, ziprasidone, and PHA-543613 on spatial learning and memory in the Morris water maze test in naïve and MK-801-treated mice. Brain Behavior 2017;7(8).

107. Kupferschmid BJ, Therrien B, Rowsey PJ. Effects of low-dose lipopolysaccharide and age on spatial learning in different Morris water maze protocols. SAGE Open Med 2017;5:2050312117729112.

108. Barrientos RM, Kitt MM, D'Angelo HM, Watkins LR, Rudy JW, Maier SF. Stable, long-term, spatial memory in young and aged rats achieved with a one day Morris water maze training protocol. Learning & Memory 2016;23(12):699-702.

109. Wang W, Liu L, Jiang P, Chen C, Zhang T. Levodopa improves learning and memory ability on global cerebral ischemia-reperfusion injured rats in the Morris water maze test. Neurosci Letters 2017;636:233-40.

110. Tong Z, Han C, Luo W, Wang X, Li H, Luo H, et al. Accumulated hippocampal formaldehyde induces age-dependent memory decline. Age 2013;35(3):583-96.

111. Mei Y, Jiang C, Wan Y, Lv J, Jia J, Wang X, et al. Aging-associated formaldehyde-induced norepinephrine deficiency contributes to age-related memory decline. Aging Cell 2015;14(4):659-68.

112. Kilburn KH, Warshaw R, Thornton JC. Formaldehyde impairs memory, equilibrium, and dexterity in histology technicians: effects which persist for days after exposure. Archives of Environmental Health: An Int J 1987;42(2):117-20.

113. Lu Z, Li C, Qiao Y, Yan Y, Yang X. Effect of inhaled formaldehyde on learning and memory of mice. Indoor Air 2008;18(2):77-83.

114. Poucet B, Save E, Lenck-Santini PP. Sensory and memory properties of hippocampal place cells. Rev Neurosci 2000;11(2-3):95-111.

115. Blum KI, Abbott LF. A model of spatial map formation in the Hippocampus of the rat. Neural Comput. 1996;8(1):85-93.

116. Lee I, Yoganarasimha D, Rao G, Knierim JJ. Comparison of population coherence of place cells in hippocampal subfields CA1 and CA3. Nature. 2004;430(6998):456-9.

117. Riedel G, Micheau J, Lam AG, Roloff EL, Martin SJ, Bridge H, et al. Reversible neural inactivation reveals hippocampal participation in several memory processes. Nat Neurosci. 1999;2(10):898-905.

118. Barker GR, Warburton EC. When is the Hippocampus involved in recognition memory? J Neurosci 2011;31(29):10721-31.

119. Burgess N, Maguire EA, O'Keefe J. The human Hippocampus and spatial and episodic memory. Neuron 2002;35(4):625-41.

120. Kessels RP, de Haan EH, Kappelle LJ, Postma A. Varieties of human spatial memory: a meta-analysis on the effects of hippocampal lesions. Brain Res Rev 2001;35(3):295-303.

121. de Hoz L, Moser EI, Morris RG. Spatial learning with unilateral and bilateral hippocampal networks. Eur J Neurosci 2005;22(3):745-54.

122. Ozdemir D, Baykara B, Aksu I, Kiray M, Sisman AR, Cetin F, et al. Relationship between circulating IGF-1 levels and traumatic brain injury-induced hippocampal damage and cognitive dysfunction in immature rats. Neuroscience Letters 2012;507(1):84-9.

123. Liu Y, Ye Z, Yang H, Zhou L, Fan D, He S, et al. Disturbances of soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment proteins in hippocampal synaptosomes contribute to cognitive impairment after repetitive formaldehyde inhalation in male rats. Neuroscience 2010;169(3):1248-54.

124. Tang X-Q, Zhuang Y-Y, Zhang P, Fang H-R, Zhou C-F, Gu H-F, et al. Formaldehyde impairs learning and memory involving the disturbance of hydrogen sulfide generation in the Hippocampus of rats. J Mol Neurosci 2013;49(1):140-9.

125. Öztürk F. Apopitoz. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2002;9(2):6.

126. Pitten F-A, Kramer A, Herrmann K, Bremer J, Koch S. Formaldehyde neurotoxicity in animal experiments. Pathol Res Practice 2000;196(3):193-8.

127. Ozdem Turkoglu A, Sarsilmaz M, Ogeturk M, Kus I, Songur A. Beneficial effects of caffeic acid phenethyl ester on formaldehyde-induced learning and memory disabilities: a labyrinth test performance study. Erciyes Med J 2008;30:211-7.

128. LeDoux J. The emotional brain: The mysterious underpinnings of emotional life. Newyork: Simon and Schuster, 1998.

129. Bromberg PM. Something wicked this way comes: Trauma, dissociation, and conflict: The space where psychoanalysis, cognitive science, and neuroscience overlap. Psychoanalytic Psychol 2003;20(3):558.

130. Sorg BA, Swindell S, Tschirgi ML. Repeated low level formaldehyde exposure produces enhanced fear conditioning to odor in male, but not female, rats. Brain Res 2004;1008(1):11-9.

131. Li Y, Song Z, Ding Y, Xin Y, Wu T, Su T, et al. Effects of formaldehyde exposure on anxiety-like and depression-like behavior, cognition, central levels of glucocorticoid receptor and tyrosine hydroxylase in mice. Chemosphere 2016;144:2004-12.

132. Boja J, Nielsen J, Foldvary E, Truitt E. Acute low-level formaldehyde behavioural and neurochemical toxicity in the rat. Progress Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry 1985;9(5):671-4.

133. Usanmaz SE, Akarsu ES, Vural N. Neurotoxic effects of acute and subacute formaldehyde exposures in mice. Environmental Toxicol Pharmacol 2002;11(2):93-100.

ŞEKİLLER LİSTESİ

TABLOLAR

Tablo 1. Morris su labirenti *trial* ve *probe* yüzdürmeleri 27

Tablo 2. Tüm gruplarda CA_1 ve CA_3 bölgelerinde apoptozis oranları ve istatistiksel sonuçlar..... 42

ŞEKİLLER

Şekil 1. Uzun süreli belleğin sınıflandırılması ve bunlarla ilgili beyin bölümleri 6

Şekil 2. Hippocampus ve denizatı 6

Şekil 3. Ammon, cornu ammonis..... 7

Şekil 4. Formatio Hippocampalis organizasyonu..... 12

Şekil 5. MTL'nin hafızayla ilgili önemli bölümleri 13

Şekil 6. Limbik sistem. Papez tarafından tanımlanan dörtlü döngü merkezde yer almaktadır Sonradan tanımlanan bağlantılar köşelere yerleştirilmiştir. 15

Şekil 7. Rotarod Test Cihazı 26

Şekil 8. Duvardaki ipuçları, morris deney havuzu 27

Şekil 9. Morris Su Labirenti testinde hayvanın yukardan kamerayla izlenmesi 28

Şekil 10. Korku koşullanma düzeneğine alınan hayvanın tepedeki kamera ile izlenmesi..... 29

Şekil 11. Korku koşullanma testi düzeneği 29

Şekil 12. Artı labirent testinde hayvanın tepedeki kamerayla takip edilmesi 30

Şekil 13. 5 gün süren eğitim yüzdürmelerinde gözlenen yüzme hızı..... 32

Şekil 14. 5 gün süren eğitim yüzdürmelerinde perimetrede geçirilen süre 33

Şekil 15. 5 gün süren eğitim yüzdürmelerinde akut gruplarda platforma olan ortalama uzaklık 33
Şekil 16. 5 gün süren eğitim yüzdürmelerinde kronik gruplarda platforma olan ortalama uzaklık 34
Şekil 17. 5 gün süren eğitim yüzdürmelerinde platforma ulaşma süresi..... 34
Şekil 18. 5 gün süren eğitim yüzdürmelerinde, yüzülen toplam mesafe..... 35
Şekil 19. Hedef kadrana erişme süresi 35
Şekil 20. Hedef kadranda geçirilen süre..... 36
Şekil 21. Bütün kadranlarda tüm grupların geçirmiş olduğu süre..... 36
Şekil 22. Tüm grupların perimetrede geçirdiği zaman..... 37
Şekil 23. Tüm grupların platform bölgesine ortalama uzaklıkları 37
Şekil 24. Tüm deney gruplarının yüzme hızları 38
Şekil 25. Tüm grupların kapalı kolda geçirdikleri süre saniye olarak verilmiştir..... 38
Şekil 26. Korku koşullanma testinde hayvanların donma süreleri 39
Şekil 27. Hippocampus CA_1 bölgesinde; az sayıdaki TUNEL pozitif hücreler..... 40
Şekil 28. Hippocampus CA_1 bölgesinde; az sayıdaki TUNEL pozitif hücreler..... 40
Şekil 29. Hippocampus CA3 bölgesinde; az sayıdaki TUNEL pozitif hücreler..... 41
Şekil 30. Hippocampus CA3 bölgesinde; az sayıdaki TUNEL pozitif hücreler..... 41

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında İstanbul'da doğdum. 2007 yılında Büyükşehir Hüseyin Yıldız Anadolu Lisesi' nden mezun oldum. Aynı yıl Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesine başlayıp 2012 yılında mezun oldum. 2013 Şubat ayında Araştırma Görevlisi kadrosuyla Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı'nda doktoraya başladım. Hala aynı anabilim dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

EKLER

Ek 1

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(Trakya University, Local Ethics Committee of Animal Experiments)

Oturum Sayısı: 2016/02 **Karar Tarihi: 29.01.2016**

KARAR NO: 2016.02.06

Yürütücülüğünü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Oğuz TAŞKINALP'in yaptığı, Araş. Gör. Didem DÖNMEZ'in Doktora tezi olarak planlanan TÜHADYEK-2016/09 protokol nolu "**Sıçanlarda akut ve kronik formaldehit maruziyetinin öğrenme ve bellek üzerine olası etkileri**'' başlıklı çalışma görüşüldü. Araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan deneyleri yerel etik kurulu yönergesinde belirtilen ilke ve kurallara uygun bulunarak, çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Doç. Dr. Enis ULUÇAM
Başkan
Araştırma ile İlişki: ☒ var ☐ yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☒ hayır

Vet. Hekim Ziya ÇUKUR
Vet. Hek. Üye
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐ yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır

Yrd. Doç. Dr. Hayati ARDA
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐ yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır

Yrd. Doç. Dr. Beytullah ÖZKAN
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☒ yok
Toplantı Katılım: ☒ evet ☐ hayır

-Katılmadı-
Doç. Dr. Y. Atakan SEZER
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐ yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır

Doç. Dr. Tevfik AKTOZ
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐ yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır

Doç. Dr. Hakan GÜRKAN
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☒ yok
Toplantı Katılım: ☒ evet ☐ hayır

Yrd. Doç. Dr. Elvan BAKAR
Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☒ yok
Toplantı Katılım: ☒ evet ☐ hayır

Ecz. F. Uygar GÜLER
Sivil Toplum Kuruluşu Sivil Üye
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☒ yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır

- Mazeretli -
Osman GÜLTEKİN
Sivil Üye
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐ yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır