

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
GEVHER NESİBE GENOM VE KÖK HÜCRE ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**VPA İLE İNDÜKLENEN OTİSTİK FARE MODELİNDE
SİNAPTİK PROTEİNLERİN ARAŞTIRILMSI**

**Hazırlayan
Emre TUĞHAN**

**Danışman
Prof. Dr. Elif Funda ŞENER**

Yüksek Lisans Tezi

**MAYIS 2024
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
GEVHER NESİBE GENOM VE KÖK HÜCRE ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**VPA İLE İNDÜKLENEN OTİSTİK FARE MODELİNDE
SİNAPTİK PROTEİNLERİN ARAŞTIRILMSI**

(Yüksek Lisans Tezi)

**Hazırlayan
Emre TUĞHAN**

**Danışman
Prof. Dr. Elif Funda ŞENER**

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TYL-2023-12963 PROJE KODU kodlu proje ile
desteklenmiştir.**

**MAYIS 2024
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, tüm bilgilerin akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda akademik ve etik kuralların gerektirdiği gibi tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve kaynaklar listesinde gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı : Emre TUĞHAN

İmza :

YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

“VPA ile İndüklenen Otistik Fare Modelinde Sinaptik Proteinlerin Araştırılması”
adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma
Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Emre TUĞHAN

Danışman

Prof. Dr. Elif Funda ŞENER

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Zuhel HAMURCU

Prof. Dr. Elif Funda ŞENER danışmanlığında **Emre TUĞHAN** tarafından hazırlanan “**VPA ile İndüklenen Otistik Fare Modelinde Sinaptik Proteinlerin Araştırılması**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Enstitüsü **Moleküler Biyoloji ve Genetik** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans tezi** olarak kabul edilmiştir.

06/05/2024

JÜRİ

İmza

Danışman: Prof. Dr. Elif Funda ŞENER

Üye: Doç. Dr. Esra DEMİRCİ

Üye: Doç. Dr. Merve Çıkılı UYTUN

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

..... / /

Prof. Dr. Yusuf ÖZKUL

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans hayatım süresince bilgi ve deneyimleriyle bana yön veren, tezimin her aşamasında önerilerini ve yardımlarını esirgemeyerek danışmanlığımı yapan, akademik görüşlerimin temellerini oluşturan sevgili hocam, Prof. Dr. Elif Funda ŞENER'e,

Yüksek Lisans tezimin oluşum basamaklarında verdiği fikir ve engin bilgileriyle saygıdeğer hocam Doç. Dr. Esra Demirci'ye

Yardım elini hiç çekmeyen çok değerli ekip arkadaşlarım Halime DANA, Reyhan TAHTASAKAL, Fatma KOÇUM, Çiçek DEMİRÜZ, Özgenur YILMAZ ve İrem OĞUZ'a

İyi ve kötü günlerimde her zaman yanımda olan, mutluluğu ve üzüntüyü birlikte paylaştığım çok sevgili dostlarım, İrem METİN ve Merve BAŞAR'a

Hayvan çalışmalarımnda tecrübelerinden yararlandığım Selda TAŞDEMİR'e

Çalışmamı yürüttüğüm Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Enstitüsü'ndeki değerli hocalarıma ve çalışanlara,

12963 Kodlu projemde destekleri için Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Hayatımın her alanında ve her anında beni destekleyen, bana inanıp güvenen ve verdikleri emeklerle beni bugünlere hazırlayan sevgili annem Sema TUĞHAN, sevgili babam Halil TUĞHAN ve kardeşlerime

En içten teşekkürlerimi sunarım.

Emre TUĞHAN

VPA ile İNDÜKLENEN OTİSTİK FARE MODELİNDE SİNAPTİK PROTEİNLERİN ARAŞTIRILMASI

Emre TUĞHAN

Erciyes Üniversitesi, Genom ve Kök Hücre Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Mayıs 2024

Danışman: Prof. Dr. Elif Funda ŞENER

ÖZET

OSB, karmaşık bir nörogelişimsel bozukluk grubu olarak tanımlanır, sosyal iletişim ve sosyal etkileşimlerin karakteristik özelliklerine ve kısıtlı, tekrarlayan davranış, ilgi veya faaliyete sahiptir. OSB yüksek genetik kalıtım derecesine sahiptir ve çevresel faktörlerle yakından ilişkilidir. Gebeliğin ilk günlerinde antiepileptik bir ilaç olan valproik asit (VPA) gibi teratojenik maddelere maruz kalmak otizm oluşumuna katkıda bulunabilir. Hayvan araştırmaları, insan hamileliğinin ilk üç aylık dönemini temsil eden belirli bir aşamasında VPA uygulamasının, OSB'li kişilerininkine benzer şekilde sosyal davranış bozuklukları ve bilişsel eksiklikler dahil olmak üzere otistik benzeri davranışlara neden olduğunu göstermiştir. Sinaptik proteinlerden biri olan nörogranin (Nrgn) ve postsinaptik yoğunluk proteini 95 (Psd-95)'in OSB ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Literatürde daha önce şizofreni ile ilişkilendirilmiş bir gen olan Nrgn ilk defa bu çalışmada otizm ile ilişkilendirilmiştir.

Deney sürecinde, doğum sonrası 14. günde 500 mg/kg VPA ile indüklenen C57BL/6 farelerde, 1 aylık erişmekte olan (çocukluk dönemi) ve 2 aylık erişkin fare grupları oluşturuldu. Oluşturulan fare gruplarında (Kontrol, Salin ve VPA) açık alan, morris, sosyal ve koku davranış testleri gerçekleştirildi. Davranış deneylerinin ardından 1 ve 2 aylık gruplardaki farelerin hipokampus, prefrontal korteks ve olfactory bulbus dokularında *Dlg4* ve *Nrgn* gen ve protein ekspresyon seviyeleri karşılaştırıldı.

Davranış deneyleri sonucu farelerin OSB benzeri davranış gösterdiği görüldü. İki farklı gelişim döneminde 3 farklı beyin bölgesinde (hipokampus, prefrontal korteks ve olfactory bulbus) 1 aylık farelerde Nrgn ekspresyon seviyesinde artma, *Dlg4* ekspresyonunda azalma görüldü. 2 aylık farelerde bu durum tam tersi şekilde eksprese oldu. Psd-95 ve Nrgn sinaptik proteinlerdeki değişimlerin sinaptik iletimi de değiştirmesi söz konusu olabilir. 1 aylık ve 2 aylık farelerde gözlenen değişimler bu proteinlerin önemini yansıtmaktadır. Nörograninin otizmle ilişkisini kesin olarak açıklamak için klinik çalışmalara ve otistik fare modellerini içeren daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu önermekteyiz.

Anahtar Kelimeler; VPA; Otizm; Nörogranin; Psd-95; Hipokampus; Prefrontal korteks; Olfactory bulbus

INVESTIGATION OF SYNAPTIC PROTEINS IN A VPA-INDUCED AUTISTIC MOUSE MODEL

Emre TUĞHAN

Erciyes University, Institute of Genome and Stem Cell

Department of Molecular Biology and Genetics

Master Thesis, May 2024

Supervisor: Prof. Dr. Elif Funda ŞENER

ABSTRACT

ASD is defined as a complex group of neurodevelopmental disorders, with characteristic features of social communication and social interactions and restricted, repetitive behaviour, interest or activity. ASD has a high degree of genetic inheritance and is closely related to environmental factors. Exposure to teratogenic substances such as valproic acid (VPA), an antiepileptic drug, in the early days of pregnancy may contribute to the occurrence of autism. Animal studies have shown that administration of VPA at a specific stage of human pregnancy, representing the first trimester, causes autistic-like behaviours, including social behavioural disorders and cognitive deficits, similar to those of people with ASD. Neurogranin, one of the synaptic proteins, and postsynaptic density protein 95 (Psd-95) are thought to be associated with ASD. *Nrgn*, a gene previously associated with schizophrenia in the literature, was associated with autism for the first time in this thesis study in an autistic mouse model.

In C57BL/6 mice induced with 500 mg/kg VPA on postnatal day 14, 1-month-old (juvenile) and 2-month-old adult/adult mouse groups were formed. Open field, morris water mazer, social and olfactory behavioural tests were performed in the mouse groups (Control, Saline and VPA). Behavioural tests showed ASD-like behaviour. After the behavioural tests, *Dlg4* and *Nrng* gene and protein expression levels were compared in hippocampus, prefrontal cortex and olfactory bulb tissues of mice in 1 and 2 month old groups.

Behavioral experiments have shown that mice exhibit ASD like behaviors. In two different developmental stages, three different brain regions (hippocampus, prefrontal cortex and olfactory bulb) showed increased *Nrgn* expression and decreased *Dlg4* expression in 1 month old mice. Conversely, in 2 month old mice, this expression pattern was reversed. Changes in synaptic proteins such as Psd-95 and *Nrgn* may alter synaptic transmission. The observed changes in 1 month old and 2 month old mice reflect the importance of these proteins. To definitively elucidate the relationship between neurogranin and autism, further research involving clinical studies and autistic mouse models is necessary.

Translated with DeepL.com (free version)

Keywords: VPA; Autism; Neurogranin; Psd-95; Hippocampus; Prefrontal cortex; Olfactory bulb

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK.....	
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI.....	ii
KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR ve SİMGELER	x
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU	5
2.1.1. OSB'nin Tarihçesi	6
2.1.2. OSB Prevalansı- Epidemiyolojisi.....	7
2.1.3. OSB Etiyolojisi.....	8
2.1.4. OSB Beyin İlişkisi.....	10
2.1.5. OSB ve Sinaptik Protein İlişkisi.....	12
2.1.5.1. Post Sinaptik Protein 95 (Psd-95)	14
2.1.5.2. Nörogranin (Nrgn).....	16
2.2. TERATOJENLER İLE OLUŞTURULAN OTİZM MODELLERİ	18
2.2.1. Talidomid ile Model Oluşturma	19

2.2.2. Etanol ile Model Oluşturma.....	20
2.2.3. VPA ile Model Oluşturma	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	24
3.1. GEREÇLER	24
3.1.1. Kullanılan Cihazlar.....	24
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar	24
3.2.YÖNTEM	25
3.2.1. Hayvan Gruplarının Oluşturulması	25
3.2.1.1. Kontrol Grubu.....	26
3.2.1.2. VPA Grubu.....	26
3.2.1.3. Salin Grubu	27
3.2.2. Davranış Deneylerinin Yapılması	27
3.2.2.1. Açık Alan Testi.....	27
3.2.2.2. Sosyal İnteraksiyon Testi	28
3.2.2.3.Morris Su Labirenti	29
3.2.2.4. Koku Testi.....	29
3.2.3. DOKULARIN ALINMASI.....	30
3.2.3.1. Total RNA İzolasyonu	30
3.2.3.2. cDNA Sentezi	31
3.2.3.3. Real Time PCR	31
3.2.3.4. Protein İzolasyonu ve ELISA	31
3.2.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	33
4.BULGULAR	34
4.1. Davranış Testi Sonuçları.....	34

4.1.1. Açık Alan	34
4.1.2. Sosyal Davranış	35
4.1.3. Koku Testi	36
4.1.4. Morris Su Labirenti	37
4.2. Gen Ekspresyon Sonuçları	39
4.2.1. <i>Dlg4</i> Ekspresyon Sonuçları	39
4.2.2. <i>Nrgn</i> Ekspresyon Sonuçları	40
4.3. ELISA Sonuçları.....	41
4.3.1. Psd-95 Protein Seviyesi Sonuçları	41
4.3.2. <i>Nrgn</i> Protein Seviyesi Sonuçları	42
4.4. Gen Ekspresyon / ELISA Korelasyon Sonuçları	44
4.4.1. <i>Dlg4</i> Gen Ekspresyon / Psd95 Protein Seviyesi Korelasyon Sonuçları	44
4.4.1.1. Hipokampus	44
4.4.1.2. Prefrontal Korteks	44
4.4.1.3. Olfactory Bulbus.....	45
4.4.2. <i>Nrgn</i> Gen Ekspresyon / <i>Nrgn</i> Protein Seviyesi Korelasyon Sonuçları	46
4.4.2.1. Hipokampus	46
4.4.2.2. Prefrontal Korteks	47
4.4.2.3. Olfactory Bulbus.....	48
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	50
6. KAYNAKLAR	63
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR ve SİMGELER

ADDM	:Otizm ve Gelişimsel Engellilik İzleme
BOS	:Beyin Omurilik Sıvısı
CCI	:Kontrollü Kortikal Darbe
CNV	:Kopya Sayısı Varyasyonu
DEHB	:Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu
DNA	:Deoksiribo nükleik asit
GABA	:Gama Amino Bütirik Asit
GWAS	:Genom Çapında İlişkilendirme Çalışmaları
MAGUK	:Guanilat Kinaz Ailesi
miRNA	:MikroRNA
mRNA	:Mesajcı RNA
NMDAR	:N-metil-D-aspartat Reseptörü
NRGN	:Nörogranin
OSB	:Otizm Spektrum Bozukluğu
PSD	:Postsinaptik Yoğunluk
PSD95	:Post Sinaptik Protein 95
RNA	:Ribonükleik Asit
ROS	:Reaktif Oksijen Türleri
SNP	:Tek Nükleotid Polimorfizmi
VPA	:Valproik Asit

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 3.1. Cihazlar Listesi.	24
Tablo 3.2. Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeler Listesi.....	25



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri 1970'den 2020'ye kadar otizm prevlansı	8
Şekil 2.2.	Fare Beyin Anatomisi.....	12
Şekil 2.3.	Post Sinaptik Yoğunluk Proteini (PSD) Yolağı	15
Şekil 2.4.	Nörogranin molekülünün yer aldığı dokuların diyagramı.....	17
Şekil 2.5.	Yetişkin sıçan beyinde nörograninin hücrel ve bölgesel dağılımı	18
Şekil 2.6.	Talidomid kimyasal yapısı	19
Şekil 2.7.	Etanol kimyasal yapısı	20
Şekil 2.8.	Valproik asit kimyasal yapısı	21
Şekil 3.1.	Lokomotor aktivite ölçümü	28
Şekil 3.2.	Sosyal interaksyon testi.....	28
Şekil 3.3.	Bir farenin platformu bulmak için görsel ipuçlarını kullanma becerisini test eder. Yüzme bir baş üstü kamerası aracılığıyla kaydedilir ve izlenir.	29
Şekil 3.4.	Farelerde koku duyusu öğrenimi sosyal tanınma ve etkileşim için kritik öneme sahiptir.	30
Şekil 3.5.	Deney aşamalarının özetlenmesi.	33
Şekil 4.1.	Açık Alan Deney Sonuçları.....	35
Şekil 4.2.	Sosyal Davranış Deney Sonuçları	36
Şekil 4.3.	Koku Testi Deney Sonuçları	37
Şekil 4.4.	Morris Su Tankı Deney Sonucu.	38
Şekil 4.5.	<i>Dlg4</i> geninin ekspresyon sonuçları	40
Şekil 4.6.	<i>Nrgn</i> geninin ekspresyon sonuçları	41
Şekil 4.7.	Psd95 protein seviyelerinin karşılaştırılması	42
Şekil 4.8.	Nörogranin protein seviyelerinin karşılaştırılması	43
Şekil 4.9.	Hipokampus dokusundaki <i>Dlg4</i> gen ekspresyon, Psd95 protein seviyelerinin korelasyonu	44

Şekil 4.10. Prefrontal Korteks dokusundaki <i>Dlg4</i> gen ekspresyon, Psd95 protein seviyelerinin korelasyonu.....	45
Şekil 4.11. Olfactory Bulbus dokusundaki <i>Dlg4</i> gen ekspresyon, Psd95 protein seviyelerinin korelasyonu.....	46
Şekil 4.13. Hipokampus dokusundaki <i>Nrgn</i> gen ekspresyon, Nrgn protein seviyelerinin korelasyonu	47
Şekil 4.14. Prefrontal Korteks dokusundaki <i>Nrgn</i> gen ekspresyon, Nrgn protein seviyelerinin korelasyonu.....	48
Şekil 4.15. Olfactory Bulbus dokusundaki <i>Nrgn</i> gen ekspresyon, Nrgn protein seviyelerinin korelasyonu.....	49



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Otizm gelişiminin biyolojik olarak anlaşılamaması ve semptomların ciddiyetindeki geniş çeşitlilik nedeniyle, otizm bir spektrum bozukluğu (OSB) olarak kabul edilmiştir. OSB, karmaşık bir nörogelişimsel bozukluk grubu olarak tanımlanır, sosyal iletişim ve sosyal etkileşimlerin karakteristik özelliklerine ve kısıtlı, tekrarlayan davranış, ilgi veya faaliyete sahiptir (Şener ve ark., 2014). OSB yüksek genetik kalıtım derecesine sahiptir ve çevresel faktörlerle yakından ilişkilidir. Cinsiyet otizmin etiyolojisinde kritik bir rol oynamaktadır. Erkeklerde kızlardan 3-4 kat daha sık görülür ve otizm kızlarda daha şiddetlidir (Kim ve ark., 2014; Şener ve ark., 2023). Bugün dünyada rapor edilen otizm insidansında önemli bir artış vardır. Son yıllarda OSB prevalansının arttığı ve her 36 çocuktan 1'inin OSB tanısı aldığı bildirilmiştir (Warmwood ve ark., 2023).

Sinapslar, merkezi sinir sistemindeki bilginin organize iletiminden ve işlenmesinden sorumlu sinir sisteminin temel hesaplama birimidir (Wang ve ark., 2022). Bu bireyin davranışsal hareketini ve bilişsel yeteneklerini modüle eder. Sinapslar; gelişmekte olan presinaptik bölgeleri, hedeflenen postsinaptik spesifik alanlara yaklaştırmak için ilk dendritik veya aksonal filopodia oluşumu yoluyla oluşturulan özel ve asimetrik yapılardır. Sinaptik işlev, sinaps oluşumunu, sürdürmeyi ve aktiviteye bağlı nörotransmitter salınımını yönlendiren bir dizi koordineli ve organize sürece bağlıdır (Wang ve ark., 2022). Sinaptik düzenleyicide görülen mutasyonların, bilişsel eksikliklerin gelişimine yakınlıkla sonuçlandığı bilinmektedir. Dendritik dikenler, bilgi alma ve sinaptik bağlantılar oluşturma yeteneğine sahip uyarıcı sinapsların iletim bölgeleridir ve sinaptik plastisitenin temeli olarak kabul edilir (Wang ve ark., 2022).

Beyin gelişiminin erken evrelerinde, dendritik dikenlerin anormal oluşumu ve budanması, sinaptik yapı ve fonksiyonda değişikliklere yol açarak OSB'nin ortaya çıkmasına neden olur (Yeo ve ark., 2022). OSB'li çocukların beyinlerinde dendritik dikenlerin aşırı oluşumu ve/veya eksik budanması olduğu görülmektedir. Otistik

fenotiplerin muhtemelen nöronal farklılaşma, gelişim ve işlev için kritik olan süreçlerin bozulmasından kaynaklanır (Yeo ve ark., 2022). Otistik popülasyonda tanımlanan risk genlerinin önemli bir bölümünü oluşturan sinaptik yapı ve fonksiyonel sonucun organizasyonunda yer alan faktörlere odaklanılmıştır (Guang ve ark., 2018). Presinaptik aktif bölge proteinlerinin gelişimin çeşitli aşamaları boyunca nöronal devre düzenlemesine, potansiyel katılımına ve presinaptik nörotransmitter salma mekanizmasının temel nöronal sinyal yayılımındaki önemine rağmen, OSB'nin gelişimine presinaptik katkının anlaşılmasında bir eksiklik vardır (Yeo ve ark., 2022). OSB hastaları genellikle bilişsel etkiden muzdaripken geri dönüşü olmayan nörogelişimsel kusurların, insan davranışının ve bilişsel işlevin çoklu moleküler düzenlemeye duyarlılığı, otistik semptomları yaşamın ilerleyen dönemlerinde bile tersine çevirme fırsatları sağlar. Sinaptik yeniden şekillenme, sinir sistemindeki nörogenez, hücre göçü ve olgunlaşmanın kritik aşamalarının tamamlanmasından sonra yetişkinliğe kadar devam eder. İlginç bir şekilde, sinaptik protein ekspresyonunun yetişkin restorasyonu, farelerde gözlenen otizm benzeri fenotiplerin bir kısmını tersine çevirebilir (Yeo ve ark., 2022).

Nörogranin, serebral korteks, hipokampus, amigdala ve striatum içindeki sinaptik sonrası dendritik dikenlerde oldukça bol bulunan küçük, 7.5 kD'lik bir proteindir. Kalmodulin ile kalsiyuma bağımlı etkileşimleri ve sıkı bir şekilde düzenlenen fosforilasyon ve oksidasyon yoluyla, sinaptik plastisite ve sinaptik sonrası sinyalleşmede önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Svirsky ve ark., 2020). Nörogranin'in insanlar ve sıçanlar arasındaki kodlama sekans homolojisi, nükleik asit seviyesinde %90 ve protein seviyesinde %96'dır. Nörogranin'in postsinaptik duyarlılığı arttırdığı ve bu artışı N-metil-D-aspartat reseptörü (NMDAR) bağlı bir şekilde yükselttiği bulunmuştur (Xiang ve ark., 2020). Bir postsinaptik protein olarak nörogranin sinaps kaybı veya işlev bozukluğu için umut verici bir biyobelirteç olarak önerilmiştir (Xiang ve ark., 2020). Bir dizi klinik çalışma hem Alzheimer demansı hem de prodromal Alzheimer tanısında kullanılması için beyin omurilik sıvısındaki (BOS) Nörogranin'in rasyonalitesini, geçerliliğini, duyarlılığını ve özgüllüğünü doğrulamıştır (Xiang ve ark., 2020). Böylece BOS nörogranini, nörodejenerasyonun temel bir göstergesi olarak Alzheimer hastalığının biyolojik tanımının araştırma çerçevesine dahil

edilmiştir (Xiang ve ark., 2020). Nörogranin knock out farelerde, uzamsal ve duygusal öğrenme kaybı ve insanlarda ise sinaptik disfonksiyon ve hafıza performansı ile ilişkilendirilmiştir (Yılmaz ve ark., 2019).

Postsinaptik yoğunluk (Psd), uyarıcı sinapsların postsinaptik zarı ile ilişkili protein kompleksidir. Psd uyarıcı sinapsların dendritik dikenleri içinde yoğun bir lokalize alandır ve sinaptik plastisite ile ilişkili reseptörler, kinazlar, yapısal proteinler ve sinyal moleküllerinden oluşur. PSD'nin belki de en bol bulunan proteini, bir iskele proteini olan zarla ilişkili guanilat kinaz ailesinin (MAGUK) bir üyesi olan postsinaptik yoğunluk proteini-95'tir (Psd-95). Psd-95, postsinaptik yoğunluğun bir bileşenidir ve sinaptik plastisite ile yakından ilişkilidir. Psd-95 gibi iskele proteinleri, yeni oluşan dendritik dikenlerin başında kümelenir. Adhezyon molekülleri, reseptörler, iyon kanalları ve sinyal molekülleri gibi proteinleri almak için bir merkez görevi görürler (Hsieh ve ark., 2022). Psd-95 anormalliğinin, OSB ve diğer zihinsel hastalıklar gibi nörogelişimsel bozuklukların nedenlerinden biri olduğu düşünülmektedir (Wang ve ark., 2022). Genetik çalışmalar Psd-95 ile OSB arasında bağlantı kurmuştur (Winkler ve ark., 2018). Psd-95 ifadesinde değişikliklere yol açan manipülasyonlar, farelerde öğrenme ve hafıza performansında eksikliklere, bozulmuş motor fonksiyona ve anormal sosyal davranışa neden olabilir (Winkler ve ark., 2018). Tsai ve arkadaşları otizmle ilgili çoklu genlerin, otizmde sinaptik plastisiteyi geliştirmeye elverişli olan Psd-95'in proteazom bozulmasını düzenleyerek uyarıcı sinapsların ortadan kaldırılmasını destekleyebileceğini göstermiştir (Tsai ve ark., 2012). Psd-95, nörogelişim sırasında glutamaterjik iletim, sinaptik plastisite ve dendritik omurga morfogenezinde yer alan temel bir bileşendir. Bu nedenle, gelişme sırasındaki Psd-95 işlev bozukluğunun, nörolojik bozukluklarla ilişkili sinaps malformasyonlarına katkıda bulunan dendritik dikenlerdeki sinaptik olayları değiştirebileceği olasıdır (Coley ve ark., 2018). Sinaptik adezyon ve yapı iskelesi proteinlerindeki bozulmaların, özellikle OSB ve zihinsel engelli gibi erken evrelerde ortaya çıkan birçok nöropsikiyatrik bozuklukla ilişkilidir (Hsieh ve ark., 2022). Fare çalışmalarında, *Dlg4* geninin (Psd-95'i kodlamaktadır) silinmesi, OSB hastalarında gözlenen fenotiplerle tutarlı olarak tekrarlayan davranışlarda artış ve düzensiz sosyal etkileşimler gibi davranışsal anormalliklere neden olur (Feyder ve ark., 2010). Svirskey ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, sıçanlarda CCI

(kontrollü kortikal darbe)'nin nörogranin protein seviyelerini azalttığını ve yine CCI sonrasında Psd-95 protein ekspresyonunun sonraki zaman noktalarında özellikle hipokampusta nörograninden farklı ekspresyon paternleri gösterdiğini bulmuşlardır (Svirsky ve ark., 2020).

Çalışmada *C57BL/6* fareleri kullanılarak VPA ile indüklenmiş otizm modeli oluşturularak 1 aylık nörolojik olgunluğa erişmekte olan ve 2 aylık nörolojik olgunluğa erişmiş erkek farelerde Psd-95 ve nörograninin otizme etkisini araştırdık. *C57BL/6* kontrol erkek fare ve VPA ile indüklenmiş *C57BL/6* erkek fare grubundan alınan hipokampus, prefrontal korteks, olfactory bulbus dokularında sinaptik mimari ile ilişkili proteinlerin (Psd-95 ve nörogranin) ekspresyonlarına ELISA yöntemiyle baktık ve yine alınan mevcut dokulardan ilişkili genlerinin (*Dlg4* ve *Nrgn*) ekspresyonlarına ise Real time PCR yöntemiyle baktık. Bu proje ile söz konusu dokularda; sinaptik proteinlerin 2 farklı gelişim dönemine nasıl yansıdığını, otizm VPA modelinde 2 sinaptik proteinin ekspresyon farklılıklarını, farklı beyin dokularındaki sinaptik mimarinin nasıl şekillendiğini, kontrol grubu ile otizm VPA modeli arasındaki olası farklılıkları belirledik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU

Otizm Spektrum Bozukluğu (OSB), sosyal etkileşim ve iletişim güçlükleri, kısıtlayıcı ve tekrarlayıcı davranışlarla teşhis edilen çok yönlü bir nörogelişimsel durumdur (Leow ve ark., 2024). OSB önemli ölçüde örtüşen ancak seyri, semptom modeli veya işleyiş düzeyi bakımından farklılık gösteren heterojen bir bozukluktur (Nicolini ve ark., 2018). OSB erkeklerde daha yaygın olarak görülür. Erkeklerde kadınlara göre yaklaşık 4:1 oranında OSB tanısı daha sık konulmuştur (Loomes ve ark., 2017). Otizm, klinik olarak sosyal iletişim ve etkileşim bozuklukları, kısıtlı ilgi alanları ve tekrarlayan davranışlarla karakterize nörogelişimsel bir bozukluktur (Ornøy ve ark., 2023).

OSB, bireyin duygularını ve çevresiyle olan etkileşimlerini önemli ölçüde etkilemektedir. Bununla birlikte bilişsel bozukluk, OSB'li bireylerin yaklaşık %40'ına eşlik eden hastalıktır (Hajri ve ark., 2022). OSB'nin spektral doğası, dikkat eksikliği/hiperaktivite bozukluğu ve obsesif-kompulsif bozukluk gibi diğer psikiyatrik bozukluklarla klinik örtüşmelere işaret etmektedir. OSB, değişen şiddet seviyelerine sahip geniş bir semptom yelpazesini kapsar. Bu da çok çeşitli davranışsal belirtilere ve potansiyel eşlik eden (epilepsi, bilişsel bozukluk, gastrointestinal bozukluklar) hastalıklara yol açabilmektedir. Bu bozukluklar ve OSB için spesifik biyobelirteçlerin bulunmaması hem tanıyı hem de tedaviyi zorlaştırmaktadır. Şu anda kesin tıbbi tedaviler mevcut değildir (Leow ve ark., 2024; Wormwood ve ark., 2023).

Yıllar süren kapsamlı araştırmalara rağmen, OSB için kesin bir nedensel faktör bulmak zordur. Bu durum, kökeninin karmaşıklığından kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte, genetik faktörlerin OSB'nin gelişiminde önemli bir rol oynadığı konusunda hem fikirlik bulunmaktadır. Kalıtsallığın OSB riski için yaklaşık %80'ini oluşturduğu bilinmektedir (Bai ve ark., 2019). Otizmin güçlü bir genetik bileşeni olmasına rağmen, toksinler, böcek ilaçları, enfeksiyon ve ilaçlar gibi çevresel faktörlerin, muhtemelen

epigenetik değişiklikleri tetikleyerek otizme yatkınlık sağladığı bilinmektedir (Nicolini ve ark., 2018).

Erken teğhis, OSB'nin sonuçlarını önemli ölçüde iyileştirebilmektedir. Son beş yılda OSB hakkında farkındalığın arttığı gözlemlendi. Teğhis edilen otistik vakalarda, ciddi bir artış olduğu ortaya koyulmaktadır. Mevcut oranlar 2000 yılında 150 kişiden 1'inde görölürken, 2020 yılında elde edilen güncel veriler endişe verici bir şekilde 36 kişide 1'inde görölmemektedir (Leow ve ark., 2024; Wormwood ve ark., 2023).

2.1.1. OSB'nin Tarihçesi

Otizm ilk olarak 1943'te Leo Kanner tarafından ufuk açıcı makalesinde ilk klinik tanımlamalarından bu yana giderek genişledi (Harris ve ark., 2018). Otizm, OSB altında terim olarak kullanılmaya başlandı (Thapar ve ark., 2021). 1960'lı ve 1970'li yıllarda Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nde OSB yaygınlığı üzerine yapılan ilk çalışmalar, yaygınlık oranlarının 10.000 çocukta 2 ila 4 arasında olduğunu ortaya çıkardı. Bu da OSB'nin nadir görölen bir çocukluk bozukluğu olduğu algısını yarattı (Leow ve ark., 2024). Otizmin yaygınlığı uzun yıllar boyunca düşük kaldı. Ancak son birkaç on yılda 10.000'de 2 ila 4'den ciddi oranda artış gösterdi. Bu durumun tanı kriterlerinin genişletilmesine bağlı olduğu düşünölmektedir (Thapar ve ark., 2021).

Kanner'ın, otizmi doğuştan gelen bir bozukluk olarak gördüğü bildirildi (Harris 2018). Başkalarıyla normal, biyolojik olarak belirlenmiş, duygusal temas kurma konusunda doğuştan gelen bir yetersizlik olarak tanımlandı (Chaste ve ark., 2012). İlk ikiz çalışması (Folstein ve Rutter 1977) çığır açıcı derecede otizm için önemliydi. Çünkü otizmde genetik faktörlerin önemli bir rol oynadığı açıkça gösterilmiştir (Thapar ve ark., 2021). Otizm/OSB'na ilişkin yayınlanmış tüm ikiz çalışmaların en son meta-analizinde %64-91'lik büyük bir kalıtsallık tahmini ortaya çıkarılmış ve önemli bir ortak çevresel katkı görölmemiştir (Thapar ve ark., 2021). Tüm bu ikiz çalışmaları otizme temel olarak genetik katkının ve ihmal edilebilir düzeyde paylaşılan çevresel etkilerin güçlü kanıtlarını sunmaktadır (Tick ve ark., 2016; Thapar ve ark., 2021).

Bunun ötesinde, son on yılda otizm ve ilgili bozuklukların kavramsallaştırılmasında büyük değişiklikler oldu. Bu değişiklikler sonunda Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve

İstatistiksel El Kitabı'nın (American Psychiatric Association 2013) beşinci baskısının taslağında yer aldı (Chaste ve ark., 2012).

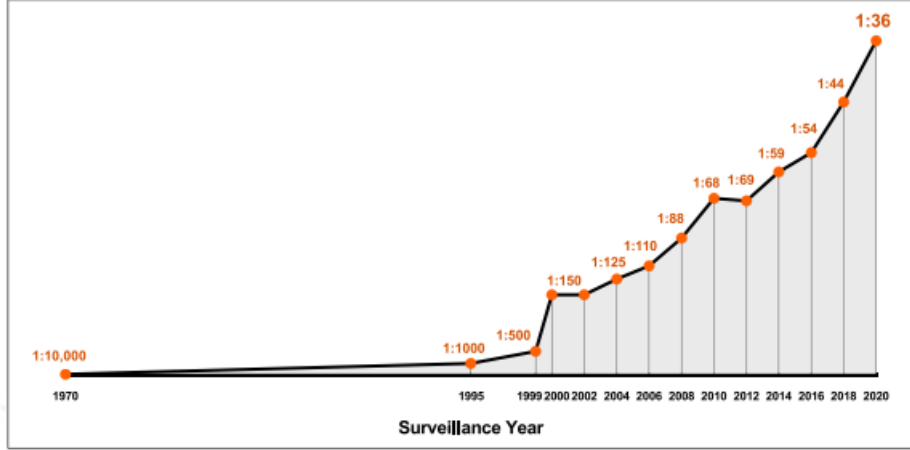
2.1.2. OSB Prevalansı- Epidemiyolojisi

OSB, popülasyonda erkeklerde görülme sıklığı kızlara göre dört kat daha yaygındır. (Nicolini ve ark., 2018). Otizm ve Gelişimsel Engellilik İzleme (ADDM) Ağı 2020 gözetiminden elde edilen bulgular, tutarlı bir şekilde tahmin edilen 4:1 oranıyla yakından uyumlu olan 3,8'e 1'lik bir oran rapor edilmiştir. Özellikle bu, kızlar arasında OSB yaygınlığının %1'i aştığı ilk rapordur (Maenner ve ark., 2023). Otizm, erkekleri kadınlara göre dört kat daha fazla etkilemektedir. Bu farklılığın nedeni tam olarak anlaşılamamakla beraber aralarında cinsiyet kromozomunun OSB'nin etiyolojisine dahil olduğu ve rahimdeki hormonal etkilerin rolünün de bulunduğu çeşitli teoriler öne sürülmektedir (Chaste ve ark., 2012; Sabet ve ark., 2023).

OSB'li bireylerin dil yetenekleri, konuşma eksikliğinden akıcı dil ve bilişsel gelişim açısından, derin zihinsel yetersizlikten ortalamanın üzerinde entelektüel işlevselliğe kadar farklılık gösterir (Chaste ve ark., 2012). OSB, bireyin duygularını ve çevresiyle olan etkileşimlerini önemli ölçüde etkilemektedir. Bununla birlikte bilişsel bozukluk, OSB'li bireylerin yaklaşık %40'ında ortaya çıkan önemli bir eşlik eden hastalıktır (Hajri ve ark., 2022). Bireyler aynı zamanda epilepsi ve minör fiziksel anormallikler gibi ilişkili tıbbi komorbiditelerin yanı sıra psikiyatrik komorbiditeler de gösterebilir, dolayısıyla geniş bir klinik heterojenlik gösterebilir (Chaste ve ark., 2012). Şu anda otizmi teşhis edebilecek tıbbi bir test yoktur. Klinisyenler tanı koymak için davranışsal bozuklukların kanıtlarına güvenirler. Otizmi iki belirti alanı tanımlar: (1) Sosyal etkileşim ve sosyal iletişim eksiklikleri; (2) kısıtlı, tekrarlayan davranış kalıpları, ilgi alanları ve faaliyetlerdir (Nicolini ve ark., 2018).

Otizmli çocukların kardeşlerinde yaygın gelişimsel bozukluğun tekrarlama riski %2 ila %8 arasındadır. Otizmde bozulmuş üç alanın bir veya ikisinde bozukluk gösteren kardeşler dikkate alındığında bu oran %12 ila %20'ye çıkmaktadır. Klinik çalışmalar ışığında monozigot ve dizogot otistik ikiz çocukların, kalıtsallığının %80'e yakın olduğunu tahmin edilmektedir (Bai ve ark., 2019). OSB ile ilişkili genetik varyasyonların yakın zamanda yapılan bir analizi, yaygın ve nadir değişkenlerin, ortak

nöron ağlarının bozulması yoluyla OSB'ye katkıda bulunduğunu ileri sürülmektedir (Chaste ve ark., 2012).



Şekil 2.1. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri 1970'den 2020'ye kadar otizm prevalansı (Leow ve ark., 2024).

Son yıllarda yürütülen OSB yaygınlık çalışmaları, yaygın gelişimsel bozuklukların istikrarlı ve oldukça anlamlı artış nedeniyle önemli bir tartışmanın kaynağı olmuştur. Hastalık Kontrol Merkezleri 2005 yılında okul çocukları arasında yaygınlığın 1000'de 6 olduğu tahmin edilirken, 2006'da 110'da bir, 2008'de 88 çocukta 1'e kadar tahmin edilirken son yıllarda araştırmalar yaygınlığın 36 çocukta bir (Şekil 1) olduğunu tahmin ederek nörogelişimsel bozukluğun yüksek olduğunu öne sürmektedir (Chaste ve ark., 2012; Leow ve ark., 2024; Wormwood ve ark., 2023).

2.1.3. OSB Etiyolojisi

Otizm, karmaşık bir aktarım düzenine sahip güçlü bir genetik bileşene sahiptir ve 1000 kadar etkileşimli genin sonucu olduğu düşünülmektedir (Nicolini ve ark., 2018). Kalıtım OSB riskinde önemli bir faktör olsa da genetik risk tipik olarak tek bir gen mutasyonundan değil, potansiyel olarak yüzlerce ila binlerce gen arasındaki birçok küçük varyasyonun kümülatif etkisinden kaynaklanır (Mattheisen ve ark., 2022). Gen ifadesindeki bu hafif değişiklikler, toplu olarak bireyin OSB'yi ortaya koyma olasılığı üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir (Zhang ve ark., 2022). Gen ekspresyonundaki değişiklikler, OSB'nin patogenezi ve ilerlemesini belirlemede çok önemlidir ve bu durumun anlaşılmasında gen ekspresyon çalışmalarının öneminin altını çizer. Bu

farklılık yalnızca semptomatik değildir, aynı zamanda derin moleküler temellere de sahiptir (Leow ve ark., 2024).

Otizmin, genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS), vakalarda ve kontrollerde tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) olarak bilinen yüz binlerce ortak gen varyantının frekanslarının karşılaştırılmasını içerir (Sullivan ve ark., 2018). Otizm Gen Veri Tabanı AutDB'de belirtildiği gibi gen testi tekniklerindeki son gelişmeler, OSB ile ilgili yaklaşık 1404 gen ve 2274 kopya sayısı varyasyonu (CNV) lokusunu kataloglamıştır (Leow ve ark., 2024). Bu genetik değişikliklerin boyutu, SNP, CNV'ler olarak bilinen binlerce ila milyonlarca baz içeren DNA bölümlerine kadar büyük ölçüde değişmektedir. Hem daha küçük etki büyüklüğüne sahip yaygın mutasyonlar hem de büyük etki büyüklüğüne sahip nadir varyantlar OSB riskine katkıda bulunmaktadır (Leow ve ark., 2024). Tek nükleotid varyantları ebeveynden yavruya kalıtsal aktarılabilir. Ebeveyn germ hattında (oosit veya spermatozoa) ortaya çıkıp, döllenmeden sonra ve zigotik sonrası somatik varyantlar olarak bilindiklerinde köken olarak *de novo* olabilmektedir. Tüm bu değişkenlerin otizm riskine katkıda bulunduğu görülmektedir (Thapar ve ark., 2021).

Kodlamayan DNA'daki nadir genetik varyantların, tüm genom dizilimi yoluyla tanımlandığı gibi, gen birleştirmeyi etkileme potansiyeline sahiptir. Bu tür birçok varyantın OSB ile ilişkili çok çeşitli biyolojik süreçleri etkileyebileceği anlamına gelir (Leow ve ark., 2024). Sitogenetik çalışmalarda nadir görülen *de novo* CNV'lerin, OSB popülasyonunda genel popülasyona göre on kat daha sık meydana geldiğini ortaya çıkmaktadır (Leow ve ark., 2024). Bir çalışmada, sağlıklı kontrollerle (%1) karşılaştırıldığında otizimli bireylerde delesyon ve duplikasyonlardan oluşan *de novo* kromozomal yapısal varyantların sayısının arttığını tespit edilip; simpleks vakalarda %10, multipleks ailelerdeki vakalarda ise %3 *de novo* CNV oranı gözlemlenmiştir (Thapar ve ark., 2021).

Otizmle ilgili son genetik araştırmalar, genomun kodlama bölgesindeki (ekzom) tüm DNA varyasyonlarının dizilenmesine odaklanmaktadır. Bu verilerin entegre edilmesi ve analiz edilmesi, 102 otizm risk geninin ortaya çıkarılmasına yol açmıştır (Satterstrom ve ark., 2020). Genomda görülen yaygın varyantların aksine, tespit edilen nadir varyantların OSB'nin katkısına daha büyük etki boyutuna sahip olmasıdır (De Rubeis

ve ark., 2014). Otizmde nadir görülen varyantların etkilenen herhangi bir bireyde (örneğin poligenik arka plan) tek başına hareket etmemesi, çok fazla genin dahil olması ve varyantların pleiotropik olmasıdır (Thapar ve ark., 2021).

Otizm yüksek oranda kalıtsal olsa da tamamen genetik açıktanamamakta, çevresel faktörlerin de katkıda bulunması söz konusudur (Mandy ve ark., 2016). Pasif gen-çevre korelasyonu, bir annenin genetik geçmişi, tıbbi durumlar veya hamilelikteki davranışlar (hamilelikte sigara içmek) gibi otizm riskiyle ilişkili çevresel maruziyetleri etkilendiğinde ortaya çıkmaktadır (Thapar ve ark., 2020). İleri anne ve baba yaşının veya gecikmiş babalığın otizm riskiyle ilişkili olduğu ve ileri baba yaşının da daha yüksek spontan veya nadir varyant riskiyle bağlantılı olduğu olasılıklar gözlemlenmiştir (Thapar ve ark., 2021).

İlerleyen araştırmalar artık otizmin etiyolojisinde genetik katkıların önemli olduğunun yaygın bir şekilde anlaşılmasına yol açmış ve bunun sonucunda genetik test ve danışmanlık klinisyenler ve etkilenen aileler için daha belirgin hale gelmiştir (Nurnberger ve ark. 2019; Griesi ve ark., 2017).

2.1.4. OSB Beyin İlişkisi

Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS), OSB ile ilişkili yaygın genetik varyantlara ışık tutmuş, sinaptik fonksiyon ve nöronal bağlantı için önemli olan genleri vurgulamıştır (Fregeac ve ark., 2016). Sinaptik işlev ve esneklik, öğrenme ve hafıza için kritik öneme sahiptir. OSB'de önemli ölçüde etkilenir. Sinaptik fonksiyon, gen mutasyonu ve sinaptik değişiklikler arasında köprü kurmak, OSB'yi anlamak için çok önemlidir (Leow ve ark., 2024). Genellikle çocuklara dört yaşından sonra teşhis konulur, ancak belirtiler genellikle yoğun bir sinaptogenez dönemi olan iki yılda belirginleşir (Matos ve ark., 2022).

İnsan beyinlerinin proteom analizinde değerlendirilen genlerin %5,5'inin beyinde hem mRNA hem de protein seviyelerinde cinsiyete göre farklılaşmış ifade gösterdiğini ve bunun da psikiyatrik ve nörolojik bozuklukları etkilediğini tespit edilmiştir (Wingo ve ark., 2023). OSB'li hastaların beyinlerinde yapılan ilk kapsamlı gen ekspresyonu analizi, yakın zamanda otistik ve normal beyin arasındaki transkriptom organizasyonundaki farklılıkların olduğu bildirilmiştir (Chaste ve ark., 2012). Cinsiyet arasındaki farklılıklar

beyinde de geçerlidir. İfade edilen tüm genlerin %2,6'sının erkekler ve kadınlar arasında farklı ifade seviyeleri sergilediğini ortaya çıkmıştır (Leow ve ark., 2024). Otizmlili hastaların ve kontrollerin ölüm sonrası beyinlerinin üç bölgesinde mikroarray kullanılarak, mRNA seviyelerinin ölçümü, otistik ve kontrol beyinlerinin serebral korteksleri arasında farklı şekilde eksprese edilen 444 gen teşhis edilmiştir (Chaste ve ark., 2012). OSB'li bireylerin beyinlerinde kontrollerle karşılaştırıldığında nöron ve sinapsla ilgili genlerin aşağı regülasyonunu ve mikroglia beraberinde bağışıklıkla ilgili genlerin yukarı regülasyonunu tanımlamıştır. Bu gen ifadesinde küçük ama anlamlı farklılıklar içermektedir (Willsey ve ark., 2022).

Erkek beyinde baskın olan genlerin ifadesindeki bozulmaların OSB beyinlerinde yaygın olarak bulunması, sinaptik değişime işaret edilmektedir. OSB'nin ağırlıklı olarak erkek beyinde kritik hücresel/sinaptik aktiviteleri bozabileceğini öne sürülmektedir. Hücre sayılarından ziyade hücresel durumlardaki farklılıklar, otizm yatkınlığının cinsiyete dayalı nörogenetik temeline dair bilgiler sunmaktadır (Leow ve ark., 2024).

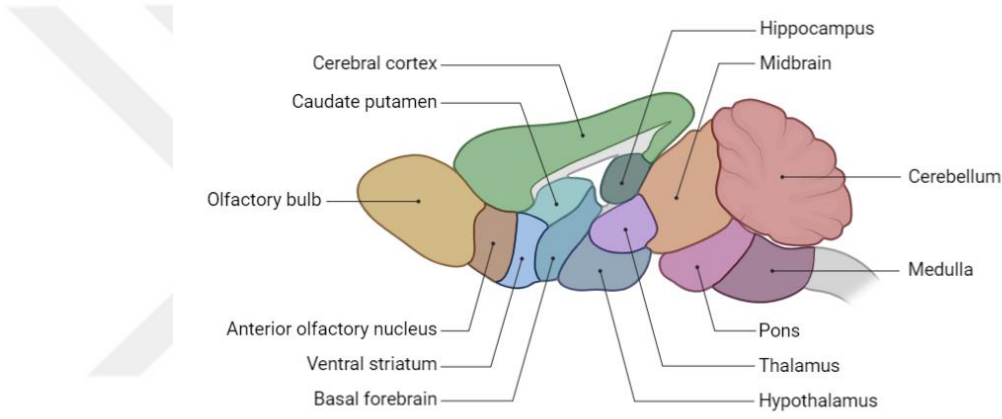
OSB görünümü, sosyal iletişimdeki belirgin zorluklardan sosyal etkileşimlerdeki daha incelikli zorluklara kadar çeşitli konuları kapsar. Prefrontal korteks, amigdala ve hipokampusu içeren davranışsal inhibisyon, kadınlar ve erkekler arasında farklılıklar göstermektedir (Laine ve ark., 2024). Otizmin, sonuçta beyin gelişimi ve plastisitesinin yalnızca sınırlı biyolojik yollarını etkileyen çok sayıda genetik değişiklikten kaynaklanabileceğini göstermektedir (Chaste ve ark., 2012).

Prefrontal korteks, birçok bilişsel yetenek için kritik öneme sahiptir ve insanlarda ve diğer primatlarda normal sosyo-duygusal ve yürütücü işlevler için çok önemli olan bir sinir sisteminin büyük bir bölümünü oluşturur. İnsanlarda “yürütücü işlevler” terimi altında gruplanan üst düzey bilişsel süreçlerde, ayrıca dilde, duygusal işlemede ve sosyallikte yer alır (Teffer ve ark., 2012).

Hipokampusun, belleğin hem kodlama hem de hatırlama süreçlerinde kritik bir rol oynadığı bilinmektedir. İlginç bir şekilde, hipokampusun, sosyal hafızayı desteklediği gösterilmiştir. Yüz tanıma görevleri sırasındaki hipokampal aktivasyon, yüzlerin aşına olmasıyla artar, bu da hipokampusun hafıza süreçlerindeki rolünün sosyal bilgilerin düzenlenmesiyle bağlantılı olabileceğini düşünülür. Hipokampusun bilginin esnek

kullanımını ve organizasyonunu destekleme yeteneği, sosyal alan da dahil olmak üzere birçok alandaki karmaşık davranışlar için çok önemlidir. Sosyal durumlarda performans göstermek, bilgi edinmeyi ve karmaşık ilişkilerde gezinmek için kullanmayı gerektirir (Banker ve ark., 2021).

Olfactory bulbus, kokuların beyinde işlendiği bir yapıdır. Kokuların beyne iletilmesinde önemli bir rol oynar. Burun mukozasındaki koku reseptör hücrelerinden gelen sinyaller, olfaktör sinir lifleri aracılığıyla olfactory bulbusa ulaşır. Burada sinyaller işlenir ve beyindeki ilgili bölgelere iletilir. Olfactory bulbus ayrıca koku hafızası ve duygusal tepkilerin oluşumunda da rol oynar (Türk ve ark., 2020) (Şekil 2).



Şekil 2.2. Fare Beyin Anatomisi (Kirst ve ark., 2020).

2.1.5. OSB ve Sinaptik Protein İlişkisi

OSB ile ilişkili genler, sinaptik oluşum, bakım ve hücre yapışması gibi süreçlerde rol oynar. Gelişim döneminde bu moleküller hormonlardan etkilenebilir ve bu da OSB'deki cinsiyet baskınlığını potansiyel olarak açıklayabilmektedir (Baron-Cohen ve ark., 2020). Sinaptik proteinler ve moleküllerden oluşan geniş bir alan içerisinde, bazı kilit moleküllerin OSB bağlamında hem önemli hem de potansiyel olarak düzensiz oldukları defalarca ortaya çıkmıştır. Bu moleküller arasında Nöroksin (*NRXN*), Nöroligin (*NLGN*), *SHANK* ve sinaptik sonrası yoğunluk 95 (*PSD95*) bulunur. OSB'li bireylerin değişen gen lokasyonlarında benzersiz nokta mutasyonlara sahip olabilmesine rağmen yukarıda bahsedilen 4 gen ailesindeki mutasyonlar en sık gözlemlenenler arasındadır (Liu ve ark., 2022; Leow ve ark., 2024; Jacot-Descombes ve ark., 2020).

Nöroksin (NRXN1-3), OSB ile ilişkili en belirgin genler arasındadır. NRXN proteinleri, sinaptik iletimde önemli bir rol oynar ve nöronal iletişim için çok önemli olan sinaps gelişimi ve fonksiyonunun temel düzenleyicileri olarak görev yapar (Liu ve ark., 2022). NRXN'ler, sinaps sonrası nöroliginlerle (NLGN'ler) etkileşime giren, sinapsın yapısal bütünlüğünü sağlayan bir trans-sinaptik, kalsiyuma bağımlı hücre yapışma kompleksi oluşturan sinaptik öncesi proteinlerdir (Gomez ve ark., 2021). Daha da önemlisi, bu etkileşimin kesintiye uğraması, uyarıcı/inhibitör dengesi (E/I) oranında dengesizliklere yol açarak sinaptik plastisiteyi ve devre gelişimini olumsuz yönde etkileyerek OSB ve epilepsiye zemin hazırlayabilir (Nelson ve ark., 2015).

Nöroliginler (NLGN1-4), sinapsı stabilize etmek için presinaptik NRXN'lerle etkileşime giren postsinaptik hücre yapışma proteinleridir. NLGN1 uyarıcı sinapslarda bulunurken, NLGN2 ve 4 inhibitör sinapslarda bulunur. Dört NLGN geninin tamamındaki mutasyonlar OSB ile ilişkilidir (Maćkowiak ve ark., 2014). NLGN4 geni X kromozomu üzerinde yer alır ve mutasyon proteinleri erkek bireylerle sınırlıdır (Leow ve ark., 2024).

SHANK proteinleri, uyarıcı sinapsların dendritik dikenlerinde bulunan postsinaptik iskele proteinleridir. Shank proteinler, postsinaptik yoğunluk proteinleriyle etkileşime girer ve sinaptik iletim ve sinaptik plastisite ile ilişkilendirilirler (Riemersma ve ark., 2021). SHANK3 kaybı glutamaterjik iletimi, sinapsların sürekli güçlendirilmesi ve uzun vadeli potansiyelizasyonu (LTP) azaltır ve NMDA/AMPA oranlarını değiştirir (Monteiro ve ark., 2017). OSB'de dendritik omurga yoğunluğundaki artış, NRXN1 veya SHANK3 gibi temel risk genlerine ilişkilendirilir (Jacot-Descombes ve ark., 2020). SHANK3 mutasyonlarının sinaps sonrası yoğunluğun stabilizasyonu üzerindeki etkisi, AMPA reseptörlerinin sayısını ve E/I dengesini etkileyebilir, nöronal elektrofizyolojik özellikleri değiştirebilir, sinaptik iletimi azaltabilir (Monteiro ve ark., 2017).

PSD-95, uyarıcı sinapslar içindeki postsinaptik yoğunluk iskele proteindir. PSD-95, AMPA ve NMDA reseptörlerini sinaptik membrana alır (Guang ve ark., 2018). PSD-95'in silinmesi, sinapslarda AMPA reseptörlerinin sayısının azalmasına ve sinaptik iletimin ve LTP'nin bozulmasına neden olur (Huang ve ark., 2015).

Çocuklar, 2 ila 3 yaşlarındayken beyindeki dendritik dikenlerin sayısı zirveye ulaşır. Beyin gelişiminin erken evrelerinde, dendritik dikenlerin anormal oluşumu ve budanması, sinaptik yapı ve fonksiyonda değişikliklere yol açarak OSB'nin ortaya çıkmasına neden olur (Yeo ve ark., 2022; Petanjek ve ark., 2011). OSB hastalarında dendritik dikenlerin hızlı büyümesi, normal gelişimsel gidişatlarla karşılaştırıldığında daha uzun bir süre boyunca gerçekleşir. Bu çocukluk döneminde OSB semptomlarının başlangıcı ile dendritik omurga büyümesi ve omurga morfogenezi süreçleri arasında bir örtüşmenin var olduğu düşünülmektedir (Tamnes ve ark., 2017). Önemli OSB risk genleri NRXN, SHANK ve PSD-95, sinaptik organizasyon ve işlev için temeldir ve E/I dengesizliğine katkıda bulundukları öne sürülmektedir (Canitano ve ark., 2021).

2.1.5.1. Post Sinaptik Protein 95 (Psd-95)

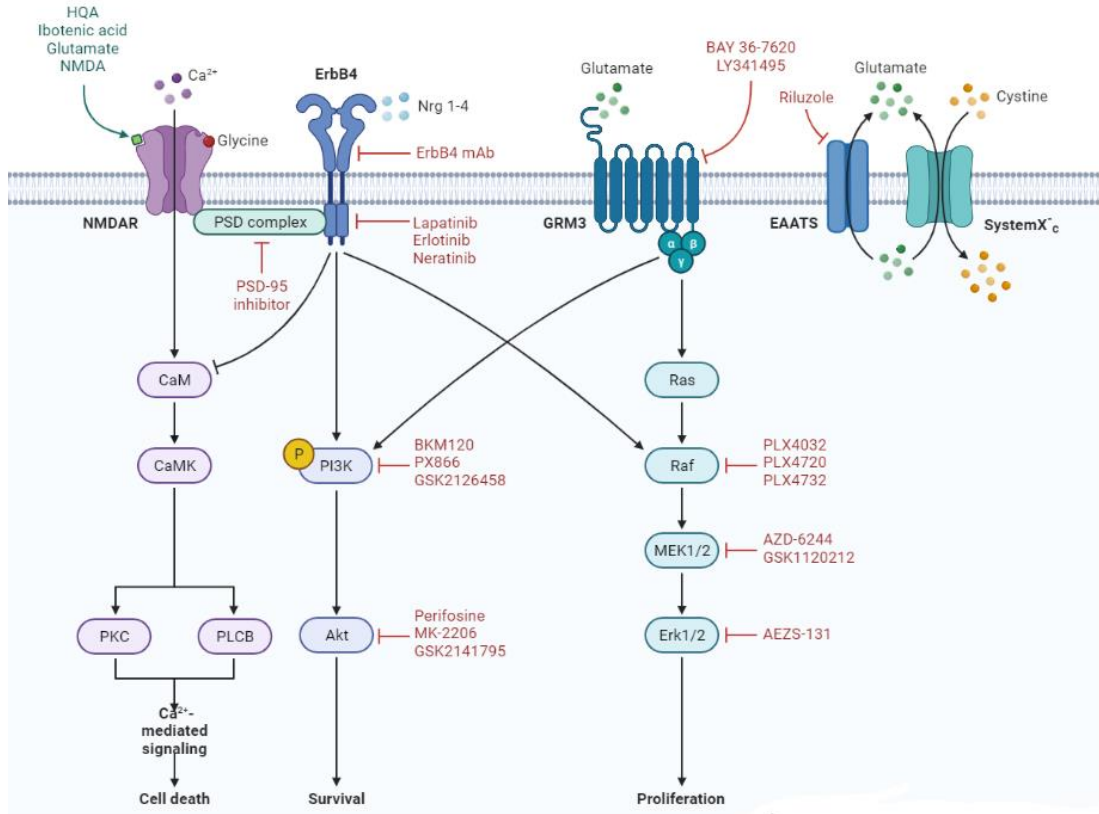
Postsinaptik yoğunluk (Psd), uyarıcı sinapsların postsinaptik zarı ile ilişkili protein kompleksidir. Psd fraksiyonunda potansiyel olarak izole edilebilecek binlerce protein vardır, ancak herhangi bir komplekste bunların sadece bir kısmı komplekse katılmaktadır. Psd-95 gibi iskele proteinleri, yeni oluşan dendritik dikenlerin başında kümelenir. Adezyon molekülleri, reseptörler, iyon kanalları ve sinyal molekülleri gibi proteinleri almak için bir merkez görevi görürler (Hsieh ve ark., 2022).

Psd uyarıcı sinapsların dendritik dikenleri içinde yoğun bir lokalize alandır ve sinaptik plastisite ile ilişkili reseptörler, kinazlar, yapısal proteinler ve sinyal moleküllerinden oluşur. Psd'nin belki de en bol bulunan proteini, bir iskele proteini olan zarla ilişkili guanilat kinaz ailesinin (MAGUK) bir üyesi olan postsinaptik yoğunluk proteini-95'tir (Psd-95). Psd-95, postsinaptik yoğunluğun bir bileşenidir ve sinaptik plastisite ile yakından ilişkilidir (Wang ve ark., 2022).

Psd-95 anormalliğinin, OSB ve diğer zihinsel hastalıklar gibi nörogelişimsel bozuklukların nedenlerinden biri olduğu düşünülmektedir (Wang ve ark., 2022). Genetik çalışmalar Psd-95 ile OSB arasında bağlantı kurmuştur. Psd-95 ifadesinde değişikliklere yol açan manipülasyonlar, farelerde öğrenme ve hafıza performansında eksikliklere, bozulmuş motor fonksiyona ve anormal sosyal davranışa neden olabilir (Winkler ve ark., 2018). Tsai ve ark. otizmle ilgili çoklu genlerin, otizmde sinaptik plastisiteyi geliştirmeye elverişli olan Psd-95'in proteazom bozulmasını düzenleyerek

uyarıcı sinapsların ortadan kaldırılmasını destekleyebileceğini göstermiştir (Tsai ve ark., 2012).

Psd-95, nörogelişim sırasında glutamaterjik iletim, sinaptik plastisite ve dendritik omurga morfogenezinde yer alan temel bir bileşendir. Bu nedenle, gelişme sırasındaki Psd-95 işlev bozukluğunun, nörolojik bozukluklarla ilişkili sinaps malformasyonlarına katkıda bulunan dendritik dikenlerdeki sinaptik olayları değiştirebileceği olasıdır (Coley ve ark., 2018). Sinaptik adezyon ve yapı iskelesi proteinlerindeki bozulmaların, özellikle OSB ve zihinsel engelli gibi erken evrelerde ortaya çıkan birçok nöropsikiyatrik bozuklukla ilişkilidir (Hsieh ve ark., 2022). Fare çalışmalarında, *Dlg4* geninin (Psd-95'i kodlar) silinmesi, OSB hastalarında gözlenen fenotiplerle tutarlı olarak tekrarlayan davranışlarda artış ve düzensiz sosyal etkileşimler gibi davranışsal anormalliklere neden olur (Feyder ve ark., 2010) (Şekil 2.3).

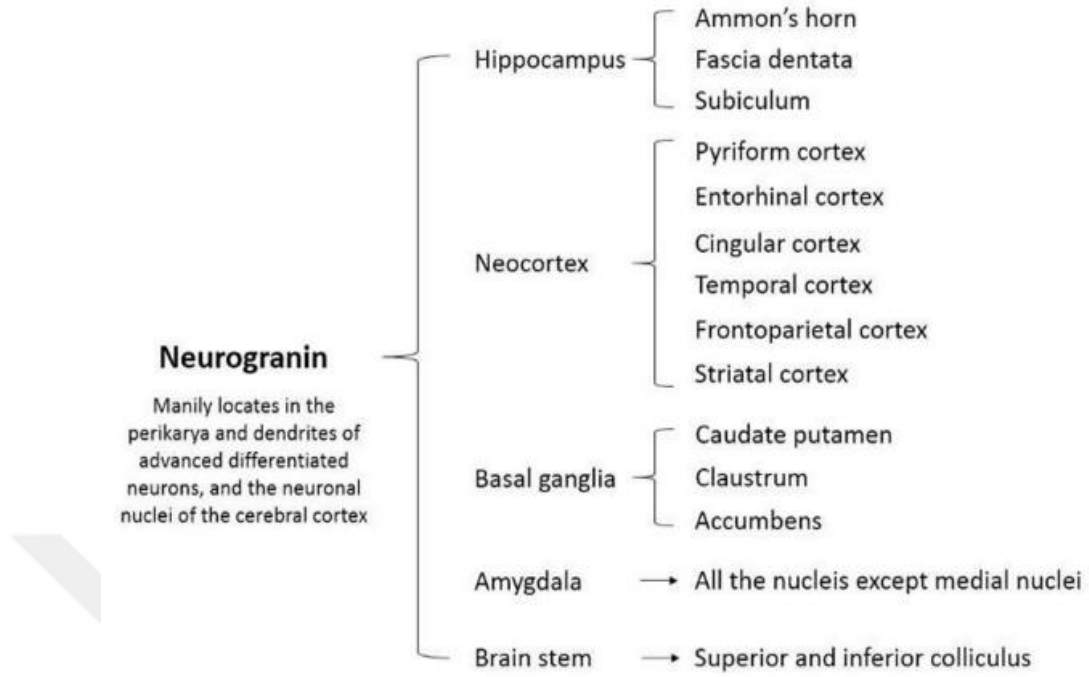


Şekil 2.3. Post Sinaptik Yoğunluk Proteini (PSD) Yolağı (Leow ve ark., 2024).

2.1.5.2. Nörogranin (Nrgn)

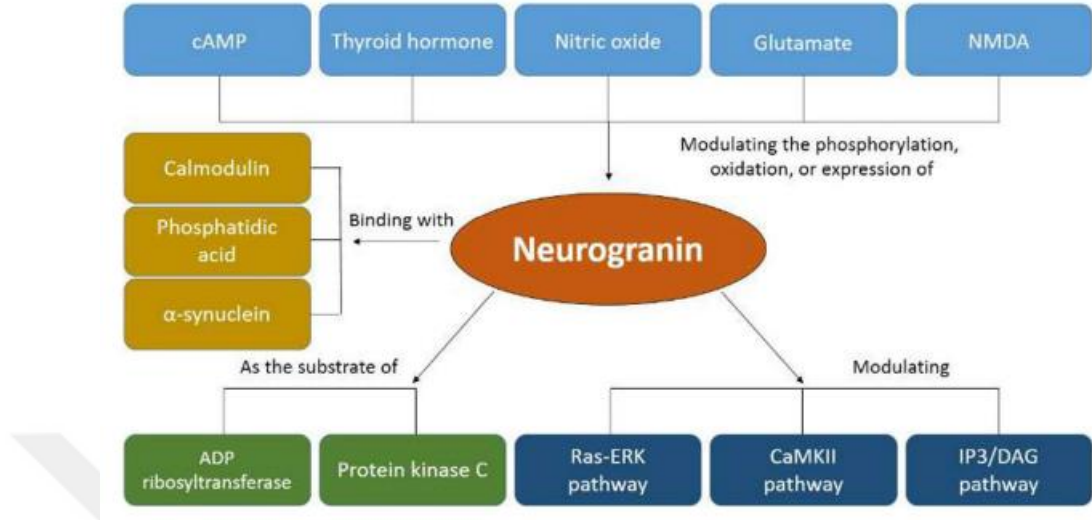
Nörogranin, sıçan serebral korteksi, hipokampus, amigdala ve striatum içindeki sinaptik sonrası dendritik dikenlerde oldukça bol bulunan küçük, 7.5 kD'lik bir proteindir (Cheriyen ve ark., 2020). Kalmodulin ile kalsiyuma bağımlı etkileşimleri ve sıkı bir şekilde düzenlenen fosforilasyon ve oksidasyon yoluyla, sinaptik plastisite ve sinaptik sonrası sinyalleşmede önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Svirsky ve ark., 2020).

Nörogranin'in insanlar ve sıçanlar arasındaki kodlama sekans homolojisi, nükleik asit seviyesinde %90 ve protein seviyesinde %96'dır. Nörogranin'in postsinaptik duyarlılığı arttırdığı ve bu artışı NMDAR bağlı bir şekilde yükselttiği bulunmuştur. Bir postsinaptik protein olarak nörogranin sinaps kaybı veya işlev bozukluğu için umut verici bir biyobelirteç olarak önerilmiştir (Santillo ve ark., 2019) (Şekil 2.4). Bir dizi klinik çalışma hem Alzheimer demansı hem de prodromal Alzheimer tanısında kullanılması için BOS Nörogranin'in rasyonelitesini, geçerliliğini, duyarlılığını ve özgüllüğünü doğrulamıştır. Böylece BOS nörogranini, nörodejenerasyonun temel bir göstergesi olarak Alzheimer hastalığının biyolojik tanımının araştırma çerçevesine dahil edilmiştir (Xiang ve ark., 2020).



Şekil 2.4. Nörogranin molekülünün yer aldığı dokuların diyagramı (Xiang ve ark., 2020).

Nörogranin devre dışı bırakılmış farelerde, uzamsal ve duygusal öğrenme kaybı ve insanlarda ise sinaptik disfonksiyon ve hafıza performansı ile ilişkilendirilmiştir (Yılmaz ve ark., 2019). Svirsky ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, sıçanlarda, kontrollü kortikal darbe (CCI)'nin nörogranin protein seviyelerini azalttığını ve yine CCI sonrasında Psd-95 protein ekspresyonunun sonraki zaman noktalarında özellikle hipokampusta nörograninden farklı ekspresyon paternleri gösterdiğini bulmuşlardır (Svirsky ve ark., 2020) (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Yetişkin sıçan beyinde nörograninin hücresel ve bölgesel dağılımı (Xiang ve ark., 2020).

2.2. Teratojenler İle Oluşturulan Otizm Modelleri

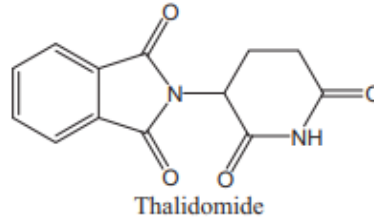
Otizmin güçlü bir genetik bileşeni olmasına rağmen, toksinler, böcek ilaçları, enfeksiyon ve ilaçlar gibi çevresel faktörlerin otizme yatkınlık sağladığı bilinmektedir (Nicolini ve ark., 2018). Hamilelik sırasında antidepresan (teratojenik etki gösteren maddeler) maruziyetinin, özellikle yaşlılarda da OSB riskini orta derecede artırdığı düşünülmektedir (Chaste ve ark., 2012). Otizmde etiyolojik rol oynayabilecek çevresel faktörler arasında en sık çalışılan konu ilaç maruziyeti olmuştur. Teratojenik etki gösterdiği bilinen Valproik asit (VPA), Etanol, Talidomid ve Misoprostol'e prenatal dönemde maruz kalmanın, otizm görülme sıklığının artmasıyla ilişkili olduğu gösterilmektedir (Dufour-Rainfray ve ark., 2011).

Belirtilen ilaçların, kimyasal yapısı ve farmakolojik etkileri farklıdır. Bununla birlikte, otizmin görülme sıklığının artmasıyla, OSB etiyolojisinde yer alan nörogelişimsel süreçler üzerinde ortak etkileri düşünülmektedir. OSB ilgili 15 farklı kemirgen modeli oluşturulduğu literatüre yansımaktadır. Bu hayvan modelleri bunlardan bir kaçıdır (Dufour-Rainfray ve ark., 2011; Ema ve ark., 2010). Otistik hayvan modelleri, sinaptik

plastisitenin araştırılması ve OSB dahil olmak üzere nörogelişimsel bozuklukların karakterize edilmesinde etkili olmuştur (Leow ve ark., 2024).

2.2.1. Talidomid ile Model Oluşturma

Talidomid veya 2-(2,6-dioksopiperidin-3-il) izoindolin-1,3-dione (Şekil 6), 1950 yılında ilk kez sentezlendi ve sakinleştirici ilaç olarak reçetede yer aldı. Talidomid'in kemirgenler üzerindeki etkileri primatlar üzerindeki öngörülemeyen etkileri farklı olduğundan insandaki güçlü teratojenitesi beklenmemekteydi. 1962 yılında Lenz ve Knapp (1962) yapılan çalışmada, talidomide maruz kalmanın çocuklarda konjenital malformasyonların arttığı görülmektedir. Talidomide maruz kalma, 'fetal talidomid sendromu' terimi altında gruplandırılan bir dizi malformasyon ve fonksiyonel soruna neden olmaktadır (Tsugiyama ve ark., 2020; Dufour-Rainfray ve ark., 2011; Ema ve ark., 2010; Lenz ve ark., 1962).



Şekil 2.6. Talidomid kimyasal yapısı (Dufour-Rainfray ve ark., 2011).

Yapılan bir çalışmada talidomid embriyopatisi olan 86 hastadan oluşan rapor sonucunda, bu hastaların dördü otistik bozukluk kriterlerini karşılamaktadır. Talidomid embriyopatisi olan hastalarda genel popülasyona göre 50 kat daha fazla otizm görülme olasılığı bulunmaktadır (Imai ve ark., 2014).

Talidomid, bir reseptör veya hücre içi moleküllerle etkileşime girebilir. Aynı zamanda DNA ile doğrudan etkileşime girerek normal DNA metilasyon paterninde değişikliklerle birlikte gen ekspresyonunda değişikliklere yol açabileceği düşünülmektedir (Toczyłowska ve ark., 2020). Yapılan bir çalışma, talidomidin teratojenik dozunun (20 mg/kg) gebeliğin 26. gününde maymun embriyosunda global gen ekspresyon profillerini değiştirdiği gösterilmiştir (Ema ve ark., 2010). Talidomide rahim ağzına maruz kalması, kemirgenlerde uygun bir model değildir. Çünkü

talidomidin kemirgenlerdeki etkileri primatlardaki etkilerinden farklıdır (Dufour-Rainfray ve ark., 2010).

2.2.2. Etanol ile Model Oluşturma

Etanol günümüzde kötüye yönelik kullanımı, özellikle hamilelik dönemde tüketiminin birçok ülkede artması nedeniyle bir halk sağığı sorunu haline gelmektedir (Lamy ve ark., 2010). Etanole gebelikte maruz kalan çocuklar, “fetal alkol sendromu” terimi altında gruplandırılan karakteristik anormallikler gösterebilmektedir (Dufour-Rainfray ve ark., 2010).

Etanol molekülü (Şekil 2.7) olası teratojenik etkilerini, hücre proliferasyonu, hücre göçü ve apoptozun serbest bırakılması gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla gösterir. Ayrıca hücrelerin epigenetik modelini değıştirerek anormal gen ekspresyonuna yol açabilmektedir (Mooney ve ark., 2011). Etanol gelişmekte olan beyinde reaktif oksijen türlerini (ROS) artırır ve bu genellikle apoptozdaki artışla ilişkilidir. Etanol ayrıca epigenetik düzenlemeyi de etkilemektedir (Dufour-Rainfray ve ark., 2010).

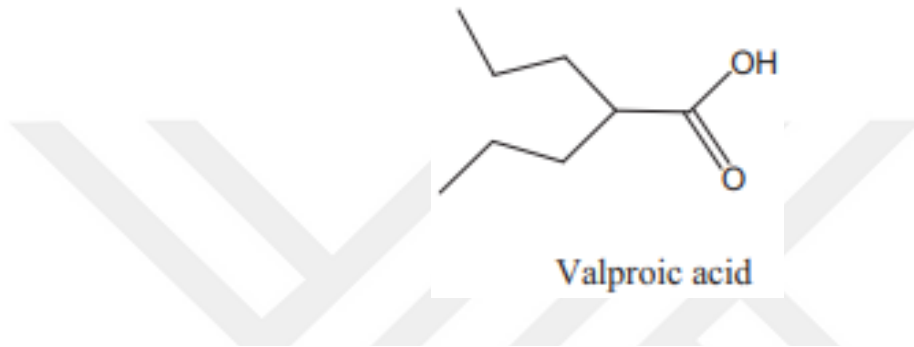


Şekil 2.7. Etanol kimyasal yapısı (Dufour-Rainfray ve ark., 2011).

Doğı Avrupa'dan evlat edinilen fetal alkol sendromlu 21 çocuktan oluşan bir grubun 2'sine (%10) otizm tanısı konulmuştur (Landgren ve ark. 2010). Etanole maruz kalmayla ilgili vaka raporları, otizm için kritik olabilecek dönemi tam olarak bilinmemektedir. Fetal alkol sendromunun tipik özellikleri 3 grupta sınıflandırılır: kraniyofasiyal ve organ malformasyonları, büyüme geriliğı, entelektüel gelişim geriliğı ve sosyal zorluklardır (Mooney ve ark., 2011).

2.2.3. VPA ile Model Oluşturma

Valproik asit (VPA) veya 2-propilpentanoik asit, kısa zincirli bir yağ asididir (şekil 8). Yaygın olarak kullanılan antiepileptik ilaştır. Duygudurum dengeleyici olarak kullanılmaktadır. VPA, epilepsi tedavisinde yaygın olarak kullanılan çok hedefli bir ilaştır. Aynı zamanda güçlü bir teratojenik etki göstermektedir (Triyasakorn ve ark., 2022; Nicolini ve ark., 2018; Dufour-Rainfray ve ark., 2010).



şekil 2.8. Valproik asit kimyasal yapısı (Dufour-Rainfray ve ark., 2011).

VPA, 1974'ten beri antikonvülsan olarak piyasada bulunmaktadır. şeşitli epilepsi türlerine karşı duygudurum dengeleyici olarak birçok ülkede kullanılmaktadır. Ana etkilerinden biri, beyindeki gama amino bütirik asit (GABA) seviyesini artırmaktır. İnhibitör bir nörotransmitter olan GABA, nöbetlerin önemli bir inhibitörüdür. GABA seviyelerindeki bir azalma nöbetleri artırmakla beraber güçlendirebilmektedir (Ornoy ve ark., 2023). VPA maruziyeti ile OSB arasındaki olası bir ilişkiyi ilk olarak Christianson ve arkadaşları tarafından literatüre kaydedilmiştir. Gebelikte VPA'ya maruz kalan dört çocuğun hepsinde gelişimsel gecikme görülürken bu çocuklardan birinde aynı zamanda OSB tanısı bulunmaktadır (Ornoy ve ark., 2023; Christianson ve ark., 1994).

VPA, bilişsel yeteneklerin azalmasına ve dil bozukluğuna neden olan nörogelişimsel sorunların oranını artırır. OSB ve Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu (DEHB) gibi spesifik nörogelişimsel sendromların prevalansını artırır (Ornoy ve ark., 2023). Hamilelik döneminde VPA maruziyetinin çocuklarda otizm riskini arttırdığı gösterilmektedir. Kemirgenlerde doğum öncesi VPA maruz bırakılması, insan durumunun davranışsal fenotip özelliklerini sergiler (Nicolini ve ark., 2018). VPA gibi çevresel ajanların, normal beyin gelişiminin tüm yönleri için gerekli olan önemli

hücrel mekanizma değişikliklere neden olduğu gösterilmektedir. Bu tür bozulmalar sinaptogenezi, sinaptik budamayı, sinaptik olgunlaşmayı ve sinaptik bağlantıyı derinden etkileyerek otizm dahil nörogelişimsel bozukluklara neden olmaktadır (Triyasakorn ve ark., 2022).

VPA'nın güçlü teratojeni olduğunun anlaşılmasıyla çeşitli suşların farklı laboratuvar hayvan türlerini (fareler, sıçanlar, zebra balıkları, hamsterlar, drosophila, tavuk, buzağı, tavşanlar ve maymunlar) kullanan birçok çalışma, olumsuz etkileri özetlemek için yoğun çaba harcamışlardır (Bold ve ark., 2018; Wachholz ve ark., 2021). VPA, insanlardaki etkilerine benzer şekilde, ölüm oranında artış, intrauterin büyüme geriliği, brüt kraniyofasiyal ve iskelet anomalileri dahil bunlarla sınırlı olmamak üzere çeşitli şekillerde doza bağlı ve gelişim çağına bağlı teratojenik etkiler sergilemektedir. VPA'ya maruz kalan kemirgenler, otizmlili bireylerde gözlenen özelliklere benzeyen davranış bozuklukları sergiler (Błaszczuk ve ark., 2022; Chaliha ve ark., 2020). Kemirgenlerin VPA maruziyeti, hastalık etiyolojisindeki benzerlik ve insan semptomlarıyla benzerlik nedeniyle hem yapısal hem de görünüş geçerliliği olan bir otizm modeli olarak önerilmektedir (Ornoy ve ark., 2023).

OSB'li yetişkinlerde beyin bağlantısının küçük otistik çocuklardan farklı olduğunu göstermektedir. Genel olarak yetişkinler, bilişsel görevlerle meşgul olan beyin alanları arasında yetersiz bağlantı sergilerken, çocuklar tüm beyinde ve duyuşsal ve çağrışım korteksleri de dahil olmak üzere alt sistemler düzeyinde işlevsel aşırı bağlantı sergilerler. Otizmin VPA modeli de dahil olmak üzere diğer hayvan modellerinde de aşırı bağlantı gözlemlenmektedir (Dos Santos ve ark., 2021; Triyasakorn ve ark., 2022).

İdiyopatik otizm için bir model olan VPA modeli, farklı beyin bölgelerindeki nöral hiper bağlantı dahil olmak üzere davranışsal eksiklikler ve nöral eksiklikler için iyi karakterize edilmiştir (Dorsey ve ark., 2024). Kemirgenlerde VPA'ya maruz kalmanın ardından koku alma duyusunun bozulmaktadır. Beraberinde VPA'ya maruz kalan fare yavrularında yuva arama tepkisi sırasında evde yatak bulma gecikmesinin arttığı Rouillet ve arkadaşları tarafından da gösterilmektedir (Rouillet ve ark., 2010). Kemirgenlerde koku duyusu insanlarda sosyal davranışın bir göstergesidir. Çünkü koku alma, kemirgen yavrularında sosyal davranışın gelişiminde rol oynar. Yuvadaki erken koku alma

öğrenimi sosyal tanınma ve etkileşim için kritik öneme sahiptir (White ve ark., 2022; Nicolini ve ark., 2018).

VPA'ya maruz kalan sıçanlarda ve farelerde de sosyal etkileşim eksiklikleri, üç odacıklı sosyal yaklaşım testi kullanılarak gösterilmektedir. Kemirgenlerde sosyalliği değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan, standartlaştırılmış bir testtir (White ve ark., 2022; Kim ve ark., 2014). Sosyal bozukluklara ek olarak, kendi kendine bakım yapma, bilye gömme veya kazma hareketlerini değerlendiren çeşitli testler, VPA'ya maruz kalan hayvanlarda kalıplaşmış, perseveratif davranışların arttığını doğrulamaktadır (Nicolini ve ark., 2018). Otistik hastalarda gözlemlenen iletişim eksiklikleri, VPA'ya maruz kalan hayvanlarda bulunmaktadır (Dorsey ve ark., 2024).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Yapılan tez çalışması Betül Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Merkezi (GENKÖK) Genom birimi ve Transgenik biriminde gerçekleştirildi.

3.1. GEREÇLER

3.1.1. Kullanılan Cihazlar

Çalışma boyunca kullanılan cihazların listesi Tablo 3.1’de belirtilmiştir.

Tablo 3.1. Cihazlar Listesi.

ALETLER	MARKASI
-20 Buzdolabı	Siemens
-80 derin dondurucu	Binder
+4 Buzdolabı	Siemens
Kantitatif Real Time PCR cihazı	LightCycler 480 II (Roche, Almanya)
Nano drop	BioSpec-Nano (Shimadzu)
Vorteks	Heidolp
PCR cihazı	LabCycler SensoQuest, Qiagen
Soğutmalı Santrifüj	Sigma
Mikropipet	Gilson
Perfect Spin	PeQlab
ELISA Reader	Promega Glomax Multi

3.1.2. Kullanılan Kimyasallar

Çalışma boyunca kullanılan kimyasal, sarf malzeme ve kitlerin listesi Tablo 3.2 'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeler Listesi

Kimyasal Maddeler ve Sarflar Malzemeler	Markası
Trizol	Roche
Kloroform	Merck
Etanol	Merck
İzopropanol	Merck
Nükleaz Free Water	BIO-RAD
cDNA Sentez Kiti	Universal cDNA Master
Primer	BIORAD
Steril eldiven	Beybi
10 µL'lik filtreli pipet ucu	Axygen
1000 µL'lik filtreli pipet ucu	Axygen
100 µL'lik filtreli pipet ucu	Axygen
Plate	Roche
1.5 ml mikrosantrifüj ependorf tüp	Greiner
0.2 ml PCR tüpü	Axygen
Valproik Asit	Sigma

3.2.YÖNTEM

3.2.1. Hayvan Gruplarının Oluşturulması

Bu çalışmada Erciyes Üniversitesi Betül-Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Merkezi, Transgenik biriminde kullanılan hayvanlar en uygun koşullarda barınmaktadırlar. Deney hayvanlarımız uygun kafes sistemi (min. kafes alanı: 180cm² ve min. kafes yüksekliği: 12cm²) şartlarına uymaktadır. Doğumlarından itibaren bütün ihtiyaçları ve yaşam alanları (oda sıcaklığı: 20-24°C ve nisbi nem miktarı: %45-70) hayatta kalmaları için uygundur. Yapılması planlanan çalışma süresince hayvanların bakımı standart prosedürlerde devam etti.

3.2.1.1. Kontrol Grubu;

Grup 1: Bu çalışmada Betül-Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Merkezi, Transgenik biriminde mevcut olan 1 aylık, *C57BL/6* ırkı 10 adet erkek fareler kullanıldı. Fareler 1 aylık olduktan sonra gruptaki 10 adet fareye morris yüzme, açık alan, sosyal ve koku davranış testleri yapıldı. Davranış testlerinden sonra 5 adet erkek farenin hipokampus, prefrontal korteks ve olfactory bulbus dokuları alındı.

Grup 2: Bu çalışmada Betül-Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Merkezi, Transgenik biriminde mevcut olan ortalama 60 günlük (2 aylık), *C57BL/6* ırkı 10 erkek fareler kullanıldı. Fareler 2 aylık olduktan sonra gruptaki 10 adet fareye morris yüzme, açık alan, sosyal ve koku davranış testleri yapıldı. Davranış testlerinden sonra 5 adet erkek farenin hipokampus, prefrontal korteks ve olfactory bulbus dokuları alındı.

3.2.1.2. VPA Grubu;

Grup 3: Çiftleşmede gebe kalan dişi fare, doğum sonrası erkek fareler deneyde kullanılmak üzere 10 adet erkek *C57BL/6* fare ayrıldı. Yavru fareler 14. günde intraperitoneal olarak tek bir 500 mg/kg VPA enjeksiyonu yapıldı. Fareler 1 aylık olduklarında gruptaki 10 adet fare morris yüzme, açık alan, sosyal davranış ve koku testleri yapıldı. Davranış testlerinden sonra 5 adet erkek farenin hipokampus, prefrontal korteks ve olfactory bulbus dokuları alındı.

Grup 4: Çiftleşmede gebe kalan dişi fare, doğum sonrası erkek fareler deneyde kullanılmak üzere 10 adet erkek *C57BL/6* fare ayrıldı. Yavru farelere 14. günde intraperitoneal olarak tek bir 500 mg/kg VPA enjeksiyonu yapıldı. Fareler 2 aylık olduklarında gruptaki 10 adet fare morris yüzme, açık alan, sosyal davranış ve koku testleri yapıldı. Davranış testlerinden sonra 5 adet erkek farenin hipokampus, prefrontal korteks ve olfactory bulbus dokuları alındı.

3.2.1.3. Salin Grubu;

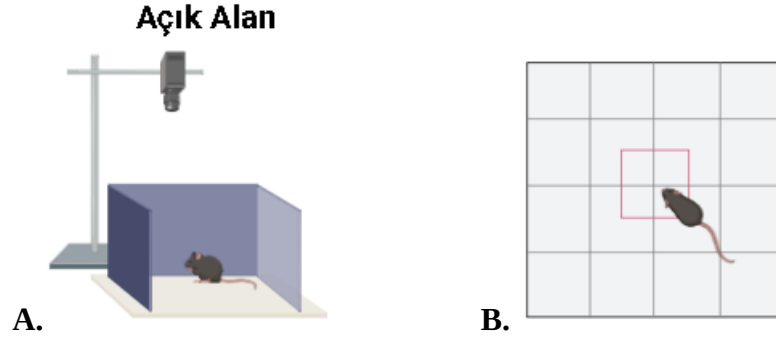
Grup 5: Çiftleşmede gebe kalan dişi fare, doğum sonrası erkek fareler deneyde kullanılmak üzere 10 adet erkek *C57BL/6* fare ayrıldı. Yavru fareler 14. günde intraperitoneal olarak tek bir 500 mg/kg Salin enjeksiyonu yapıldı. Fareler 1 aylık olduklarında gruptaki 10 adet fare morris yüzme, açık alan, sosyal davranış ve koku testleri yapıldı. Davranış testlerinden sonra 5 adet erkek farenin hipokampus, prefrontal korteks ve olfactory bulbus dokuları alındı.

Grup 6: Çiftleşmede gebe kalan dişi fare, doğum sonrası erkek fareler deneyde kullanılmak üzere 10 adet erkek *C57BL/6* fare ayrıldı. Yavru farelere 14. günde intraperitoneal olarak tek bir 500 mg/kg Salin enjeksiyonu yapıldı. Fareler 2 aylık olduklarında gruptaki 10 adet fare morris yüzme, açık alan, sosyal davranış ve koku testleri yapıldı. Davranış testlerinden sonra 5 adet erkek farenin hipokampus, prefrontal korteks ve olfactory bulbus dokuları alındı.

3.2.2. Davranış Deneylerinin Yapılması

3.2.2.1. Açık Alan Testi

Açık alan testi, farklı davranış kalıplarını (anksiyete, lokomotor, keşif ve duygusal aktivite seviyeleri) ölçmek için kullanışlı bir yöntemdir (Şekil 9). Her fare, kutunun ortasına yerleştirildi ve bir video kamera ile 5 dakika boyunca kaydedildi. Kutu her fare sonrasında %70 alkol ile temizlendi. 5 dakika sonra işlemi tekrarlamak için kutuya başka bir fare yerleştirildi. Videolar daha sonra Ethowatcher® yazılımı (Universidade Federal de Santa Catarina, Brezilya) kullanılarak analiz edildi. Test sırasında, dış ve iç ambulasyon, yükselme, kaçışlar, tımarlama, hareketsizlik, toplam çaprazlama sayısı, dışkılama ve işeme gibi davranışlar analiz edildi (Silvero-Isidre ve ark., 2018).



Şekil 3.1. Lokomotor aktivite ölçümü. Daha endişeli fareler duvarların yakınında daha fazla zaman geçirir ve daha fazla tımarlama ve yetiştirme davranışına sahiptir. A. Yandan Görünüm. B. Tepeden Görünüm (Silvero-Isidre ve ark., 2018).

3.2.2.2. Sosyal İnteraksiyon Testi

Sosyal Test, kemirgenlerde sosyal davranışları nicelleştirmek için kullanılan bir yöntemdir (Şekil 10). Kemirgenler genellikle başka bir kemirgenle (sosyallikle) daha fazla zaman geçirmeyi tercih eder ve yeni bir yabancıyı tanıdık olandan (sosyal yenilik) daha fazla araştırırlar. Bu test, dikdörtgen, üç bölmeli bir kutu kullandı. Her bir oda 19 x 45 cm ölçülerindedir ve orta bölme, bölünmüş duvarlar aracılığıyla her odaya serbest erişim sağlandı. Deneye başlamadan önce farelerin deney düzeneği ortamına alışması için 30 dakika bekletildi. Ardından bir bölmede deneye katılan fare yerleştirildi. Diğer bölmeye, farklı bir kafesten sosyal deney grubu olarak başka bir fare bırakıldı. Asıl olarak deneye alınan fare ise orta bölmeyle birleşen bölgeye yerleştirildi ve 5 dakika boyunca kamera sistemiyle kayıt altına alınarak kontrol grubuyla karşılaştırılması yapıldı (Acikgoz ve ark., 2022).



Şekil 3.2. Sosyal interaksiyon testi. Endişeli fareler daha az koklama, kovalama ve yabancı fareden daha fazla kaçınma davranışı sergileyebilir (Acikgoz ve ark., 2022)

3.2.2.3. Morris Su Labirenti

Yuvarlak bir çelik havuz, 150 cm çapında ve 60 cm yüksekliğinde, içerisinde 15 cm çapında bir platform bulunmaktadır. Platform, havuzun tepesinden 1 cm yüksekliğe kadar su ile dolduruldu. Havuz etrafı beyaz bir perde ile kapatıldı ve tank kenarlarında dört görsel işaretin bulunduğu izole bir odaya yerleştirildi (Şekil 11). Su sıcaklığı sabit olarak 20°C'de tutulmuş ve beyaz boya ile renklendirildi. Farelerin her biri, platformu bulmaları için havuza bırakıldı ve kazan 4 bölgeye ayrılarak başlangıç noktaları belirlendi. Ardından fareler sırayla bölgeye bırakıldı ve platformu aradılar. Platform bulunduğunda, farelere 15 saniye boyunca platform üzerinde kalmalarına izin verildi. Eğer fareler 90 saniye içinde platformu bulamazsa, tank içinden fareler alındı. Farelerin yüzme hareketleri bir video izleme sistemiyle kaydedildi. Farelerin platform alanını geçmek için yüzdükleri zamanlar kaydedildi (platform geçiş süreleri). Her denemenin ardından fareler, kafeslerine geri dönmek üzere 1 ila 2 dakika boyunca bir ısı lambası altında kurutuldu ve sonra kafeslerine yerleştirildi (Zheng ve ark., 2013).

Morris Su Labirenti

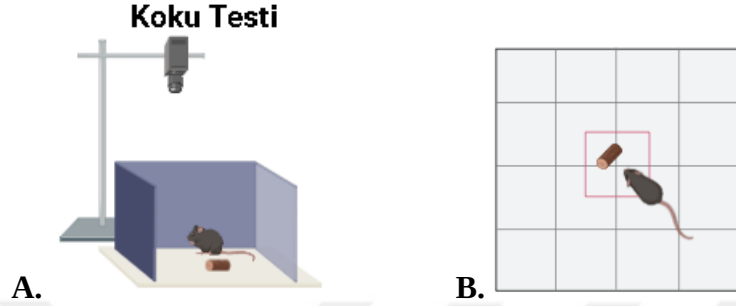


Şekil 3.3. Bir farenin platformu bulmak için görsel ipuçlarını kullanma becerisini test eder. Yüzme bir baş üstü kamerası aracılığıyla kaydedilir ve izlenir (Mifflin ve ark., 2021)

3.2.2.4. Koku Testi

Koku testi, farelerde kokuya duyarlılık ve koku-beyin bağlantısı düzeyini ölçmek için kullanılan bir davranış analizidir. Düzenek açık alan testinde olduğu gibi hazırlandı ve düzeneğin ortasına 7 cm uzunluğunda bir tarçın çubuğu yerleştirildi (Şekil 12). Daha sonra fare düzeneğe bırakıldı ve bir video kamera ile 5 dakika boyunca kaydedildi. Deneyde kullanılan kutu, her fare sonrasında %70 alkol ile temizlendi ve yeni bir tarçın çubuğu yerleştirildi. Ardından 5 dakika sonra işlemi tekrarlamak için kutuya başka bir

fare yerleştirildi. Videolar daha sonra Ethovision® yazılımı (Noldus, Hollanda) kullanılarak analiz edildi. Test sırasında, farelerin hareketsizlik süresi, toplam kat edilen yol, merkezi ve periferde geçirdikleri süre gibi parametreler hesaplandı (Aqrabawi ve ark., 2016).



Şekil 3.4. Farelerde koku duyusu öğrenimi sosyal tanınma ve etkileşim için kritik öneme sahiptir. A. Yandan Görünüm. B. Tepeden Görünüm (Aqrabawi ve ark., 2016).

3.2.3. Dokuların Alınması

Deney gruplarının aşamaları tamamlandıktan sonra fareler kesim için hazırlanacak ve kesim için kullanılacak cerrahi malzemeler daha önce sterilize edildi. Alınan dokulardan RNA izolasyonu ve ELISA aşağıda belirtilen yöntemler ile yapıldı (Şekil 13).

3.2.3.1. Total RNA İzolasyonu

Hipokampus, prefrontal korteks ve olfactory Bulbus dokularından total RNA izolasyonu Trizol (Roche) yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi (Şener ve ark., 2023). Total doku örneği alındıktan hemen sonra, 1.5 ml'lik ependorfa alındı. Üzerine 500 µl Trizol (Roche, 11667165001) eklenildi ve vortekslendi. 5 dakika oda sıcaklığında beklenildi. Üzerine 200 µl kloroform (Merck, Cat. No. 1024452500) eklendi ve tekrar vortekslendi. Oda sıcaklığında 5 dakika bekledikten sonra 12.000 g'de 20 dakika +4°C'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında RNA'nın bulunduğu aköz faz yeni bir 1.5 ml'lik ependorfa alındı. Alınan aköz faz kadar 1:1 oranında üzerine izopropanol (Merck, Cat. No. 1096342511) eklenildi. Ardından 12.000 g'de +4°C'de 10 dakika santrifüj yapıldı. Santrifüj sonrası süpernatant dökülüp pellet üzerine 1 ml %75'lik etanol (Merck, Cat. No. 1009832511) eklenildi ve alt-üst edilip pellet kaldırıldı. Takiben 7500 g'de +4°C'de 5 dakika santrifüj yapıldı. Bu işlem 2 kez tekrarlanarak santrifüj sonrası süpernatant döküldü ve pellet üzerinde kalan alkol kurumaya bırakıldı. Kuruma işlemi

tamamlandıktan sonra 50 µl nükleaz free su (Ambion™, Cat. No. AM9938) eklenerek pellet resüspanse edildi. Elde edilen RNA'lar buz içerisine alınıp +4°C'de 10-15 dakika bekletildi. Ardından Nano-Drop cihazında ölçümü yapıp konsantrasyonları belirlenip çalışma yapılana kadar -80°C'de dokuların RNA'ları saklandı (Özkul ve ark., 2020; Şener ve ark., 2019).

3.2.3.2. cDNA Sentezi

Elde edilen Total RNA örneklerinden ekspresyon seviyelerinin belirlenebilmesi için üretici firmanın önerisi doğrultusunda cDNA sentezi yapıldı. Çalışmaya başlamadan önce, bütün RNA örnekleri için 96 kuyucuklu bir plate için çalışma düzeneği oluşturuldu. cDNA sentezi, Bio-rad iScript™ cDNA sentez kiti kullanılarak gerçekleştirildi. cDNA sentezi için RNA konsantrasyonları 10 ng–100 ng arasında ayarlandı.

3.2.3.3. Real Time PCR

cDNA sentezi yapıldıktan sonra *Dlg4* (Psd95'in faredeki karşılığı) ve *Nrgn* (Nörogranin) genlerinin mRNA ekspresyon düzeyleri uygun primerler kullanılarak Real Time PCR'da belirlendi. Her bir malzeme örnek sayısı kadar alınarak karışım oluşturuldu. Ardından 96 kuyucuklu bir plate'e her bir kuyucuk için belirli bir miktar karışım dağıtılarak ve buna 1:5 oranında sulandırılmış cDNA örneği eklendi. Şeffaf kapatıcı ile platenin üstü kapatıldı. Spin yapılarak kabarcıklar giderildi ve sonrasında Light Cycler LC 480 II Real-Time PCR cihazına (Roche, Almanya) konularak PCR reaksiyonu gerçekleştirildi. House-keeping gen olarak ise *Gapdh* kullanıldı. PCR sonucunda elde edilen Ct değerleri, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi kullanılarak normalize edildi (Şener ve ark., 2019).

3.2.3.4. Protein İzolasyonu ve ELISA

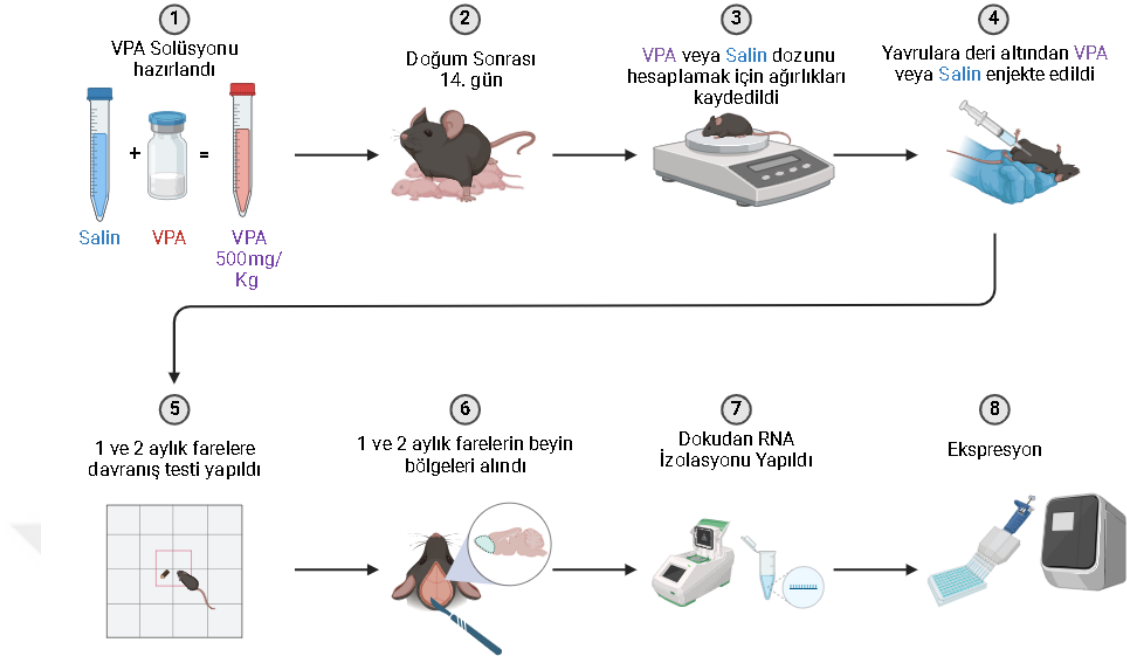
Alınacak olan beyin dokuları kesildikten sonra ağırlığı kontrol edildi. Cryo tüp içine alınan dokulara 500 µl PBS eklenerek sıvı nitrojenle hızla donduruldu. Numuneler donduktan sonra -80°C'de saklandı. Doku, şırınga veya homojenizatör ile homojenize edildi. Ardından 2000-3000 rpm'de 20 dakika boyunca santrifüj edilerek süpernatant alındı. Psd-95 ve Nörogranin protein seviyelerini belirlemek için ticari ELISA kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı.

Standartlar önceden belirlenmiş seyreltme miktarına göre küçük tüplere seyreltildi. Ardından, her tüpten 50 ml'lik hacim pipetlenerek her biri 2 kuyucuğa eklendi. Mikroelisa strip plakasında, boş kontrol olarak bir kuyucuk boş bırakıldı. Numune kuyucuklarına, 40 ml numune seyreltme tamponu ve 10 ml örnek eklendi (dilüsyon faktörü 5). Numuneler, kuyu duvarına temas etmeden dibe yüklendi ve hafifçe sallanarak iyice karıştırıldı.

Kapatma plakası membranı ile kapatıldıktan sonra 37°C'de 30 dakika inkübe edildi. Konsantre yıkama tamponu otoklavlı distile su ile seyreltildi. Kapatma plakası zarı dikkatlice açılarak, aspire edildi ve yıkama solüsyonu tekrar dolduruldu. 30 saniye dinlendikten sonra yıkama solüsyonu atıldı. Bu yıkama işlemi 5 kez tekrarlandı.

Kontrol kuyusu dışındaki her kuyucuğa 50 ml Reaktif eklendi. Kapatma plakası membranı ile kapatıldıktan sonra 37°C'de 30 dakika inkübe edildi. Kapatma plakası zarı dikkatlice açılarak, aspire edildi ve yıkama solüsyonu tekrar dolduruldu. 30 saniye dinlendikten sonra yıkama solüsyonu atıldı. Yıkama işlemi 5 kez tekrarlandı.

Her bir kuyucuğa 50 ml kromojen solüsyonu A ve 50 ml kromojen solüsyonu B eklendi ve hafifçe çalkalanarak karıştırıldı. 37°C'de 15 dakika inkübe edildi. Reaksiyonu sonlandırmak için her kuyucuğa 50 ml durdurma solüsyonu eklendi. Durdurma solüsyonu ekledikten sonra, deney düzeneği 15 dakika içinde 450 nm'de bir mikrolitre plaka okuyucusu kullanılarak kontrol kuyusunun optik yoğunluk (OD) değeri sıfır olarak ayarlandı.



Şekil 3.5. Deney aşamalarının özetlenmesi.

3.2.4. İstatistiksel Analiz

Grupların karşılaştırılmasında uygun istatistiksel analizler kullanıldı. Gen ekspresyonu için uygun kontrol ve referans genler çalışıldı. Gen ekspresyon verilerinin normalizasyonunda delta delta CT ($2^{-\Delta\Delta CT}$) metodu kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık için p değeri 0.05 altı kabul edildi. Deneyde elde edilen veriler ortalama $\pm$ SD olarak ifade edilerek parametrik testler için Student t testi, çoklu karşılaştırmalarda One-way ANOVA testi ve Tukey's post-hoc testi ile analiz edildi. Non-parametrik testlerde ise Mann-Whitney testi uygulandı. Grafiklerin çiziminde Graphpad 9.0 programı kullanıldı.

4. BULGULAR

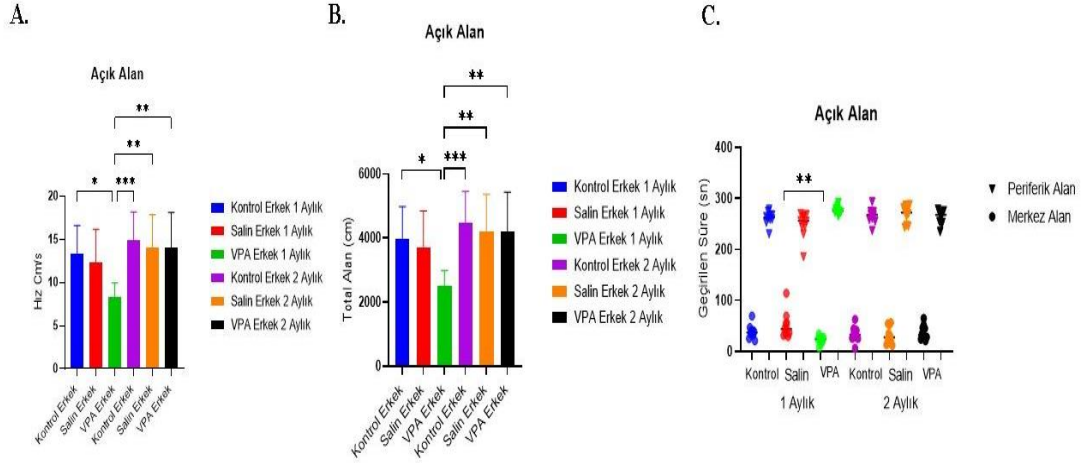
4.1. Davranış Testi Sonuçları

Her grupta 10 erkek C57BL/6 fare davranış deneyinde kullanılmıştır.

4.1.1. Açık Alan

Yapılan açık alan deneyi sonucunda 1 aylık kontrole göre 1 aylık salin grubunun hareket hızında azalma gözlenmiştir. İstatiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. 1 aylık kontrole göre 1 aylık VPA grubunun hareket hızın da istatistik olarak anlamlı bir azalma bulunmuştur ($p=0.0220$). 2 aylık gruplar arasında hareket hızlarına istatistik bir anlamlılık bulunmamıştır. 2 aylık VPA grubu 1 aylık VPA grubunun hareket hızında istatistik olarak artma bulunmuştur ($p=0.0054$). 1 aylık VPA grubuna kıyasla 2 aylık kontrol ve salinde 1 aylık VPA total hareketine göre istatistik olarak artış bulunmuştur (sırasıyla $p=0.0010$, $p=0.0052$) (Şekil 15A). Hız değerlerinde 1 aylık kontrol gruba göre 1 aylık VPA grubun kat ettiği mesafede azalma görülmüştür. İstatiksel olarak anlamlılık bulunmuştur ($p=0.0220$). 1 aylık salin grubu 1 aylık VPA grubuna göre kat ettiği mesafede azalma görülmüştür. İstatiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır. 2 aylık gruplar arasında istatistik olarak anlamlılık bulunmamıştır. İstatiksel olarak anlamlı bulunan 2 aylık VPA grubun 1 aylık VPA grubuna göre kat ettiği mesafede artış olduğu bulunmuştur ($p=0.0054$). 2 aylık kontrol ve salin gruplarının 1 aylık VPA grubuna kıyasla kat ettiği mesafede istatistik olarak anlamlı bir artış bulunmuştur (sırasıyla $p=0.0010$, $p=0.0052$) (Şekil 15B). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, bütün grupların periferik alanda merkez alandan daha fazla zaman geçirdikleri gözlemlenmiştir. 1 aylık gruplar arasında periferik alanda geçirdikleri zamanda istatistik olarak bir anlamlılık bulunmamıştır. 1 aylık kontrol grubuna göre 1 aylık VPA grubu merkezi alanda daha az vakit geçirdikleri gözlemlenmiştir. İstatiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır. 1 aylık salin grubu 1 aylık VPA grubuna göre merkezi alanda daha fazla vakit geçirmiştir. İstatiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.0079$). 2 aylık gruplar arasında merkezi

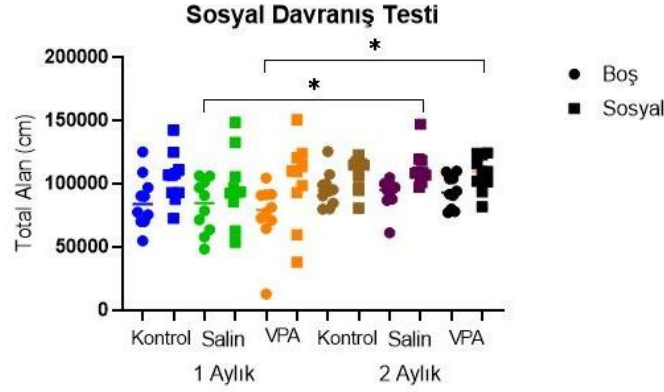
alandanda geçirdikleri sürede istatistik olarak anlamlılık gözlenmemiştir. 1 aylık salin grubu 2 aylık salin grubuna göre merkezi alanda daha fazla vakit geçirmiştir. İstatiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Açık Alan Deney Sonuçları A. Deney boyunca grupların hız karşılaştırılması. B. Deney boyunca kat edilen mesafenin karşılaştırılması. C. Merkez alan ve periferik alanda geçirilen süre. (* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$)

4.1.2. Sosyal Davranış

Yapılan sosyal davranış deneyi sonucunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, bütün grupların tanıdık fare bölgesinin yabancı fare bölgesinden daha fazla mesafe kat ettikleri gözlemlenmiştir. 1 aylık kontrol grubuna göre 1 aylık VPA grubun yabancı fare bölgesinde daha az mesafe kat ettiği gözlemlenmiştir. İstatiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır. 1 aylık salin grubun 1 aylık VPA grubuna göre yabancı fare bölgesinde daha fazla mesafe kat ettiği gözlemlenmiştir. İstatiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır. 1 ve 2 haftalık gruplarda tanıdık fare bölge aralarında istatistik olarak anlamlılık gözlenmemiştir. 1 ve 2 haftalık yabancı fare gruplarının arasında anlamlılık gözlemlenmemiştir. Salin 1 aylık yabancı bölge ile salin 2 aylık tanıdık bölge arasında anlamlılık bulunmuştur ($p=0.0176$) (Şekil 4.2).

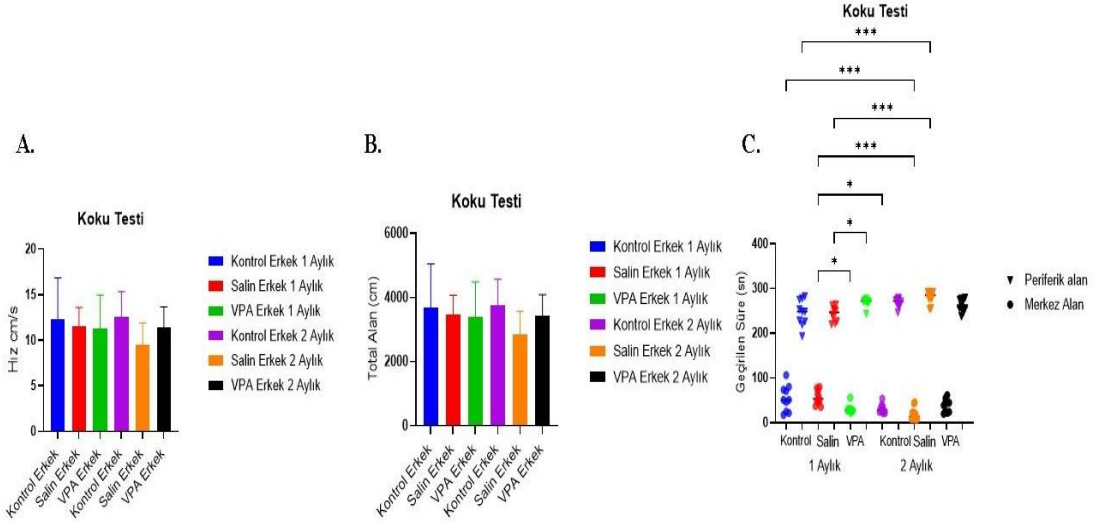


Şekil 4.2. Sosyal Davranış Deney Sonuçları tanidik fare ve tanidik olmayan fare bölgesinde kat edilen mesafe (* $p < 0.05$).

4.1.3. Koku Testi

Yapılan koku testi sonucunda 1 aylık salin ve VPA gruplar kontrole göre deney boyunca hareket hızlarında azalma gözlemlenmiştir. İstatistiksel anlamlılık bulunmamıştır. 2 aylık kontrole göre 2 aylık salin grubun hareket hızında azalma gözlenmiştir. Fakat istatistik olarak anlamlılık gözlenmemiştir. 2 aylık salin grubu istatistik olarak anlamlılık bulunmasa da VPA grubuna göre hareket hızlarında azalma gözlemlenmiştir. 1 aylık gruplar ile 2 aylık gruplar arasında istatistik olarak anlamlılık gözlenmemiştir (Şekil 17A). 1 aylık kontrole kıyasla salin ve VPA kat ettiği mesafede biraz azalma gözlenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır. 2 aylık salin grubu 2 aylık kontrole kıyasla kat ettiği mesafede azalma gözlenmiştir. Fakat istatistik olarak anlamlılık gözlenmemiştir. 2 aylık salin grubu 1 aylık saline kıyasla kat ettiği mesafede istatistik olarak anlamlılık bulunmamasına rağmen azalma gözlenmiştir (Şekil 17B). Salin 1 aylık grup VPA 1 aylık gruba kıyasla merkezi alanda koku ile daha fazla ilgilendiği bulunmuştur. 1 aylık salin grubuna kıyasla 1 aylık VPA grubu periferik alanda daha fazla vakit geçirdiği gözlemlenmiştir ($p=0.0495$). 1 aylık salin grubunun 2 aylık kontrol grubuna göre merkezi alanda daha fazla vakit geçirdiği istatistik olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.0435$). 1 aylık salin grubu 2 aylık salin grubuna kıyasla merkezi alanda daha fazla vakit geçirdiği gözlemlenmiştir. 2 aylık salin grubunun 1 aylık salin grubuna kıyasla periferik alanda daha fazla vakit geçirdiği bulunmuştur ($p=0.0002$). 1 aylık kontrol grubu 2 aylık salin grubuna kıyasla merkezi alanda daha

fazla vakit geçirirken, 2 aylık salin grubunun periferik alanda daha fazla vakit geçirdiği bulunmuştur ($p=0.0007$) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Koku Testi Deney Sonuçları A. Deney boyunca grupların hız karşılaştırılması. B. Deney boyunca kat edilen mesafenin karşılaştırılması. C. Merkez alan ve periferik alanda geçirilen süre (* $p<0.05$ *** $p<0.001$).

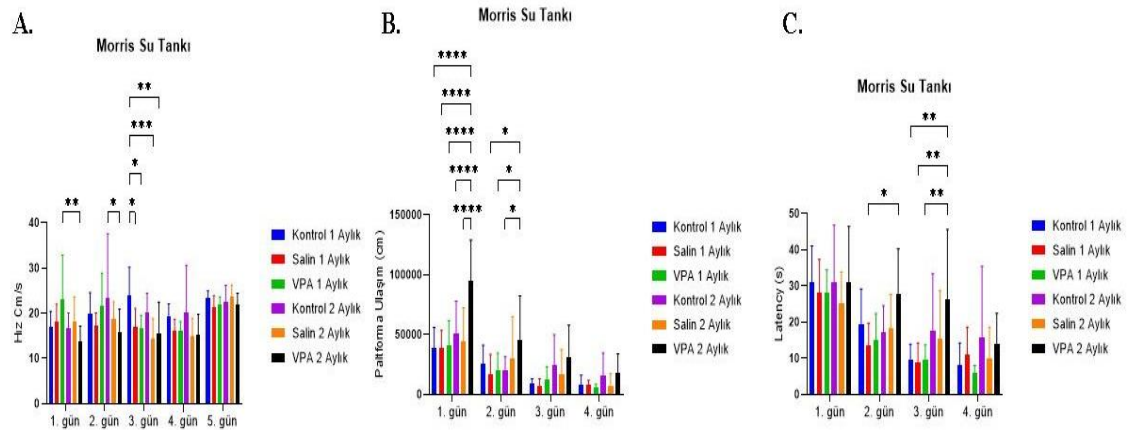
4.1.4. Morris Su Labirenti

Yapılan morris davranış deneyi sonucunda 1.günde 1 aylık VPA grubunun 2 aylık VPA grubuna kıyasla hızlarının yüksek olduğu istatistik olarak anlamlılık bulunmuştur ($p=0.0018$). 2. günde 2 aylık kontrole göre 2 aylık VPA grubunun hızının azaldığı gözlemlenmiştir($p=0.0160$). 3. günde 1 aylık gruplarda kontrole kıyasla salin ve VPA grupların hızlarının azaldığı bulunmuştur(sırasıyla $p=0.0474$, $p=0.0235$). 3. günde 1 aylık kontrole kıyasla 2 aylık salin ve VPA grubunun hızlarında azalma gözlemlenmiştir ve istatistik olarak anlamlı bulunmuştur (sırasıyla $p=0.0009$, $p=0.0055$). 4. günde 2 aylık kontrol grubuna kıyasla 2 aylık salin ve VPA gruplarının hızlarında düşüş olmasına rağmen istatistik olarak anlamlılık bulunmamıştır. Günler arasında kıyaslama yapıldığında anlamlılık gözlenmemiştir (Şekil 18.A).

Yapılan Morris davranış deneyi sonucunda 2 aylık VPA grubunun 1. günde 1 ve 2 aylık gruplar arasında platforma ulaşmada daha fazla mesafede kat ettiği istatistik olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.0001$). 2. günde 2 aylık VPA grubu 2 aylık kontrole kıyasla platformu bulmada daha fazla mesafe kat ettiği gözlemlenmiştir. İstatiksel olarak anlamlı

bulunmuştur ($p=0.0493$). 1 aylık VPA grubunun 2 aylık VPA grubuna kıyasla 2. günde platforma ulaşımı daha kısa mesafede kat ettiği bulunmuştur ($p=0.0492$). 2. günde 1 aylık saline kıyasla 2 aylık VPA grubunun fazla mesafe kat ettiği bulunmuştur ($p=0.0229$). 3. ve 4. günlerde 2 aylık saline grubu 2 aylık kontrole kıyasla az mesafe kat ederek platformu ulaştığı gözlemlense de istatistiksel olarak anlamlı değildir (Şekil 18.B).

Morris davranış deneyi geçirilen süre sonucuna göre 2. günde 2 aylık VPA grubunun 2 aylık kontrol grubuna kıyasla platformu bulmada geçirdiği sürenin arttığı gözlemlenmiştir. 2. günde 1 aylık saline grubunun 1 aylık kontrol grubuna kıyasla daha kısa sürede platformu bulduğu gözlemlenmiştir. 2. günde 1 aylık saline grubunun 2 aylık VPA grubuna kıyasla platformu bulma süresinin az ve anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0.0482$). Deneyin 3. gününde 1 aylık saline ve VPA grubun 2 aylık VPA grubuna kıyasla geçirilen sürenin kısa olduğu gözlemlenmiştir (sırasıyla $p=0.0040$, $p=0.0063$) (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Morris Su Tankı Deney Sonucu. **A.** Platforma ulaşımında deney boyunca hızların karşılaştırılması. **B.** Platforma ulaşımında kat edilen mesafenin karşılaştırılması. **C.** Platformu bulmada geçirilen süre karşılaştırılması (* $p<0.05$ ** $p<0.01$ *** $p<0.001$ **** $p<0.0001$).

4.2. Gen Ekspresyon Sonuçları

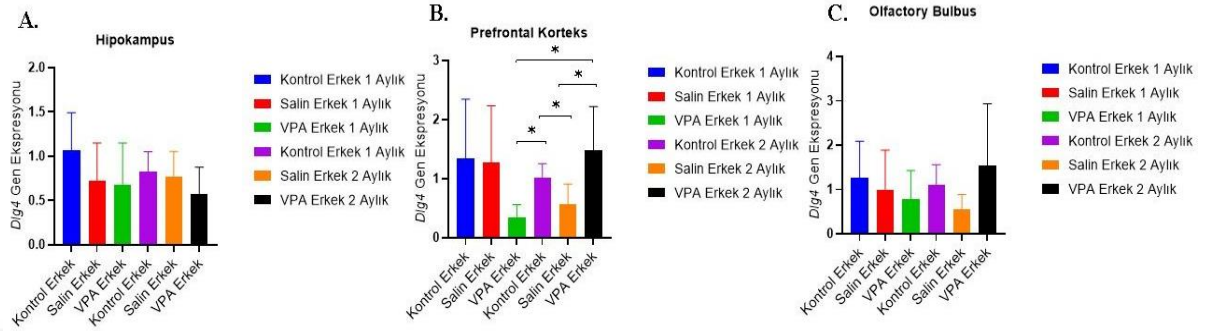
Her grupta 5 erkek C57BL/6 fare ekspresyon sonuçlarında kullanılmıştır.

4.2.1. *Dlg4* Ekspresyon Sonuçları

Hipokampustaki *Dlg4* gen ekspresyon seviyelerine bakıldığında anlamlı bir farklılık bulunmamasına rağmen 1 aylık fare grubunda kontrole kıyasla salin ve VPA gruplarının ekspresyon seviyelerinin eşit ve kontrol grubuna kıyasla daha az eksprese edildiği gözlemlenmiştir. *Dlg4* geni 2 aylık farelerde ekspresyon seviyelerine bakıldığında, VPA grubunda kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamasına rağmen azalma olduğu gözlemlenmiştir. 2 aylık salin grubunda da *Dlg4* geninin ekspresyon seviyelerinin 2 aylık kontrole kıyasla ekspresyonun biraz azaldığı görülmüştür. 2 aylık salin grubunun 2 aylık VPA grubuna göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Hipokampus *Dlg4* gen ekspresyon seviyelerine 1 ve 2 aylık bakıldığında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Şekil 4.5).

Yapılan ekspresyon çalışması sonucunda 1 aylık erkek farelerin prefrontal korteks dokularında VPA grubunun, kontrol ve salin ekspresyon düzeylerinin seviyelerine kıyasla azalma görülürken istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır. Prefrontal kortekste *Dlg4* geninin 2 aylık erkek farelerin ekspresyon seviyeleri incelendiğinde kontrol grubunun ekspresyon seviyesi salin grubuna kıyasla yüksek olduğu gözlemlenmektedir. İstatistiksel olarak anlamlılık bulunmuştur. 2 aylık erkek farelerin *Dlg4* geni salin grubunun prefrontal korteks dokusunda hem kontrol hem de VPA grubuna kıyasla *Dlg4* ekspresyon seviyesinde anlamlı bir azalma görülmüştür (sırasıyla $p=0.0388$, $p=0.0351$). 1 aylık VPA *Dlg4* gen ekspresyon seviyesinde azalma gözlenirken, 2 aylık VPA ekspresyonunda artış gözlemlenmiştir ($p=0.0106$) (Şekil 4.6). Olfactory bulbus *Dlg4* gen ekspresyon seviyelerine bakıldığında 1 aylık erkek kontrol grubuna göre salin ve VPA gruplarında kademeli azalma gözlemlenmiştir. 2 aylık salin grubu kontrol grubuna kıyasla ekspresyon seviyesinde azalma gözlemlenmiştir. 2 aylık VPA *Dlg4* gen ekspresyon seviyesi 2 aylık kontrole göre ekspresyon seviyesinde artış gözlemlenmiştir. Fakat istatistik olarak anlamlılık bulunmamıştır. 2 aylık Salin grubun ekspresyon seviyesinde 2 aylık kontrole göre azalma görülürken 2 aylık VPA grubun *Dlg4* ekspresyon seviyesinde 2 aylık kontrole göre artış gözlemlenmiştir. 1 aylık

olfactory bulbus VPA dokusunda ekspresyon seviyesinde azalma görülürken 2 aylık VPA ekspresyon seviyesinde artış gözlemlenmesine rağmen istatistik olarak anlamlılık bulunmamıştır (Şekil 19.C).



Şekil 4.5. *Dlg4* geninin ekspresyon sonuçları **A.** Hipokampus **B.** Prefrontal Korteks **C.** Olfactory Bulbus dokusundaki ekspresyon seviyelerinin karşılaştırılması (* $p < 0.05$).

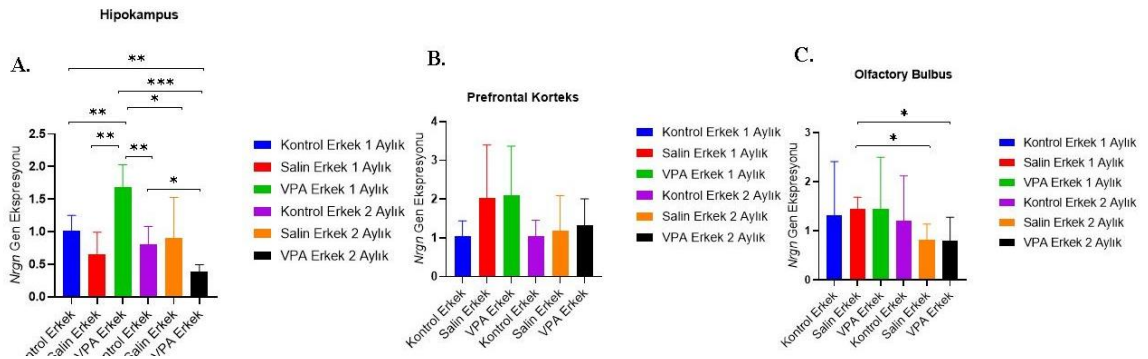
4.2.2. *Nrgn* Ekspresyon Sonuçları

Hipokampus *Nrgn* gen ekspresyon seviyelerine bakıldığında 1 aylık fare grubunda salin ekspresyon seviyesinin kontrole kıyasla azalma görülürken, istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır. 1 aylık VPA grubunda *Nrgn* gen ekspresyon seviyesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür ($p=0.0070$). Kontrole kıyasla 1 aylık salin grubunda *Nrgn* gen ekspresyonu azalırken 1 aylık VPA grubunun ekspresyon seviyesinin artışı vardır 2 aylık hipokampus *Nrgn* gen ekspresyon seviyelerine bakıldığında kontrol grubuna göre salin grubunun ekspresyon seviyelerinde artış vardır. Kontrol grubuna göre VPA grubunun *Nrgn* gen ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak azalma bulunmuştur. *Nrgn* gen ekspresyonu hipokampus doku seviyelerinde 1 aylık VPA grubu gen ekspresyon seviyesi artarken, 2 aylık VPA grubunda istatistiksel olarak anlamlı *Nrgn* gen ekspresyon seviyesinde azalma bulunmuştur ($p=0.0002$) (Şekil 20.A).

1 aylık erkek farelerin prefrontal korteks dokularında kontrol grubuna kıyasla salin ve VPA ekspresyon seviyelerinde artış gözlemlenmiştir. 2 aylık erkek fare grubunda *Nrgn* gen ekspresyon seviyelerinde kademeli olarak artış gözlemlenmiştir. 1 aylık salin ekspresyon seviyesinde 2 aylık salin ekspresyon seviyesine göre daha fazla artış gözlemlenmiştir. 1 aylık VPA grubunda ekspresyon seviyesinde artış gözlemlenirken 2

aylık VPA grubunda 1 aylığa göre ekspresyon seviyesinde azalma gözlemlenmiştir. (Şekil 20.B).

Olfactory bulbus *Nrgn* gen ekspresyon seviyelerine bakıldığında anlamlı bir farklılık bulunmamasına rağmen 1 aylık fare grubunda kontrole kıyasla salin ve VPA gruplarının ekspresyon seviyelerinin eşit ve kontrol grubuna kıyasla daha fazla eksprese edildiği gözlemlenmiştir. 2 aylık *Nrgn* gen ekspresyon seviyesinde kontrole göre salin ve VPA grubunda azalma gözlemlenmiştir. 1 aylık salin grubu *Nrgn* gen ekspresyon seviyesi artış gözlemlenirken 2 aylık salin grubunda 1 aylık saline kıyasla ekspresyon seviyesinde anlamlı bir azalma bulunmuştur ($p=0.00185$). 2 aylık VPA grubunda ekspresyon seviyesi 1 aylık salin ile kıyasla anlamlı bir azalma bulunmuştur ($p=0.0428$) (Şekil 20.C).



Şekil 4.6. *Nrgn* geninin ekspresyon sonuçları A. Hipokampus B. Prefrontal Korteks C. Olfactory Bulbus dokusundaki ekspresyon seviyelerinin karşılaştırılması (* $p<0.05$ ** $p<0.01$ *** $p<0.001$).

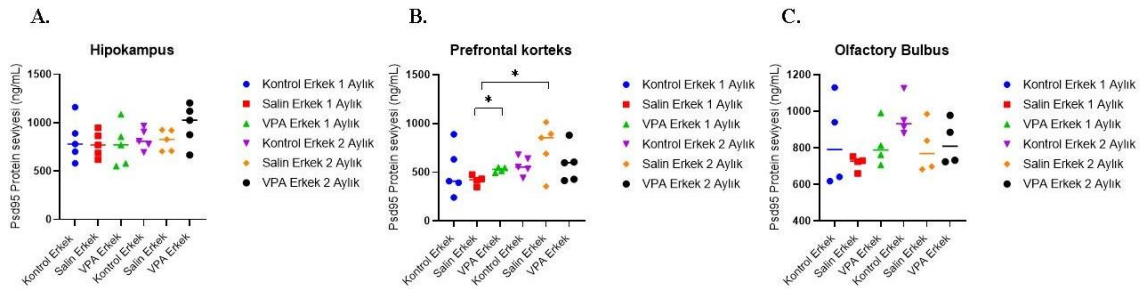
4.3. ELISA Sonuçları

4.3.1. Psd-95 Protein Seviyesi Sonuçları

Hipokampus dokusunda 1 aylık grup erkek farelerin Psd-95 protein seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. 2 aylık VPA grubu Psd-95 protein seviyesi 2 aylık kontrole kıyasla protein seviyesinde artış gözlemlenmiştir. 2 aylık VPA grubu protein seviyesinde 2 aylık salin grubuna kıyasla anlamlılık olmamasına rağmen artış gözlemlenmiştir. 1 ve 2 aylık gruplar karşılaştırıldığında Psd-95 protein seviyelerinde istatistik olarak anlamlılık gözlenmemiştir (Şekil 21.A).

Prefrontal korteks Psd-95 protein seviyesine bakıldığında kontrole kıyasla salin grubunda azalma gözlemlenmiştir. 1 aylık salin grubu protein seviyesinde 1 aylık VPA grubuna kıyasla Psd-95 protein seviyesinde istatistik olarak anlamlı azalma bulunmuştur ($p= 0,0109$). 2 aylık salin grubu protein seviyesinde 2 aylık kontrole kıyasla artış gözlemlenmiştir. 2 aylık VPA grubu protein seviyesi salin grubuna göre azalma gözlemlenmiştir. 1 ve 2 aylık gruplar arasında 1 aylık salin Psd-95 protein seviyesi miktarı 2 aylık salin protein seviyesinde göre anlamlı bir azalma bulunmuştur. 1 ve 2 aylık VPA grubunda Psd-95 protein seviyesi birbirine yakın gözlemlenmiştir (Şekil 21.B).

Olfactory bulbus Psd-95 protein seviyesine bakıldığında 1 aylık salin grubu protein seviyesi 1 aylık kontrole kıyasla protein seviyesinde azalma gözlemlenmiştir. 1 aylık VPA Psd-95 protein seviyesinde salin grubu protein seviyesine kıyasla artış gözlemlenmiştir. 2 aylık Psd-95 protein seviyesinde salin ve VPA grubunda kontrole göre azalma gözlemlenmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Psd95 protein seviyelerinin karşılaştırılması. A. Hipokampus B. Prefrontal Korteks C. Olfactory Bulbus.

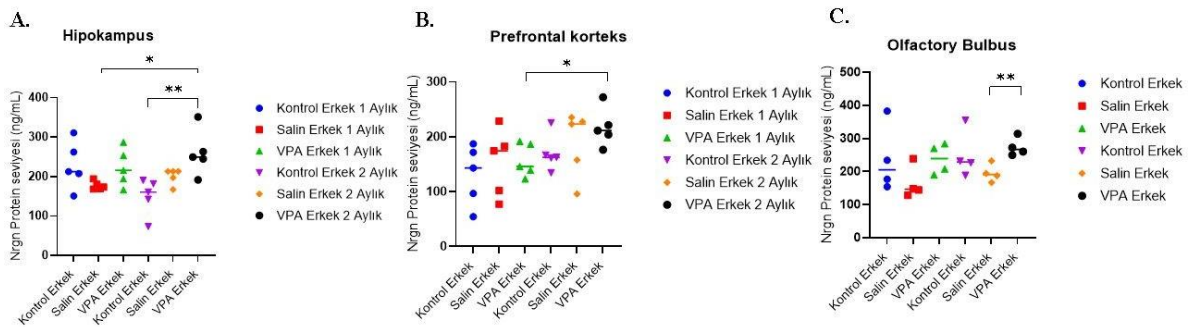
4.3.2. Nrgn Protein Seviyesi Sonuçları

Hipokampus Nrgn protein seviyesine bakıldığında 1 aylık salin grubu protein seviyesinde anlamlı olmasa da kontrole kıyasla azalma gözlemlenmiştir. 1 aylık VPA grubu Nrgn protein seviyesinde salin grubuna göre artış gözlemlenmiştir. Protein seviyesinde anlamlılık olmasada 2 aylık salin grubu kontrole göre protein seviyesi miktarında artış gözlemlenmiştir. 2 aylık VPA grubu protein seviyesi 2 aylık kontrole kıyasla nörogranin protein seviyesinde istatistik olarak anlamlı artış bulunmuştur

($p=0.0076$). 1 aylık salin grubu 2 aylık vpa grubuna göre protein seviyesinde istatistik olarak anlamlı artış bulunmuştur ($p=0.0134$) (Şekil 22.A).

Prefrontal kortekste Nrgn protein seviyesine bakıldığında anlamlılık olmasa da 1 aylık grupta kontrole göre salin ve VPA nörogranin protein seviyelerinin artışı görülmüştür. 2 aylık Nrgn protein seviyelerinde kademeli olarak kontrole kıyasla sırasıyla salin, VPA protein seviyelerinde artma görülmektedir. Anlamlılık olmasa da 2 aylık kontrol grubu 1 aylık kontrol grubuna göre protein seviyelerinde artış, 2 aylık salin grubunda 1 aylık salin grubuna göre protein seviyelerinde artış gözlemlenmiştir. 2 aylık VPA grubunda Nrgn protein seviyesinde 1 aylık VPA grubuna göre istatistik olarak anlamlı bir artış bulunmuştur ($p=0.0206$) (Şekil 22.B).

Olfactory bulbusta Nrgn protein seviyesine bakıldığında 1 aylık kontrol grubuna göre 1 aylık salin protein seviyesinde azalma gözlemlenmiştir. Fakat istatistik olarak anlamlılık bulunmamıştır. 1 aylık kontrol grubu 1 aylık VPA grubu arasında protein seviyelerinde farklılık gözlenmemiştir. 2 aylık salin grubunda 2 aylık kontrol grubuna göre istatistik olarak anlamlı bulunmasa da Nrgn protein seviyesinde azalma gözlemlenmiştir. 2 aylık salin grubunda VPA grubuna göre Nrgn protein seviyelerinde istatistik olarak anlamlı azalma bulunmuştur ($p=0.0069$) (Şekil 4.8).



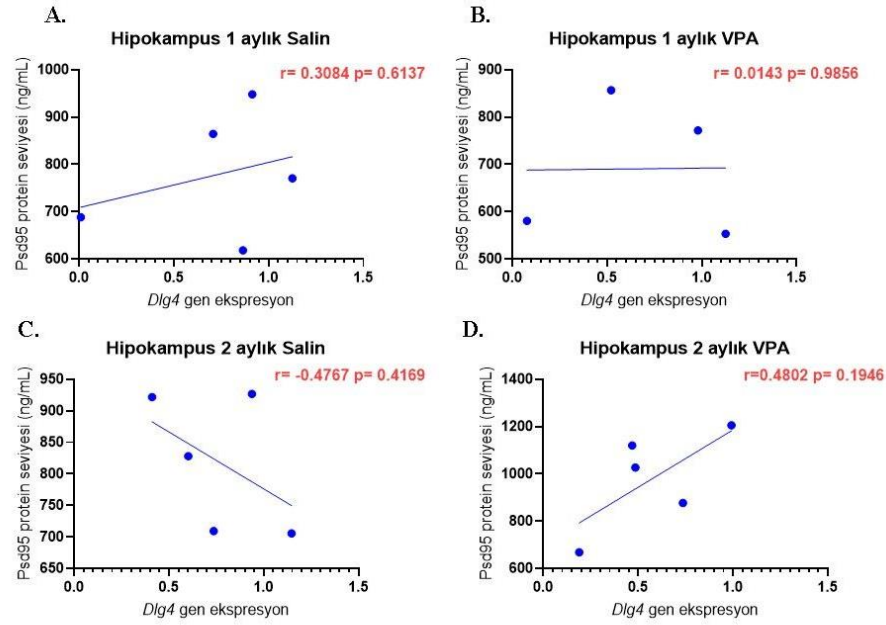
Şekil 4.8. Nörogranin protein seviyelerinin karşılaştırılması. A. Hipokampus B. Prefrontal Korteks C. Olfactory Bulbus. (* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$)

4.4. Gen Ekspresyon / ELISA Korelasyon Sonuçları

4.4.1. *Dlg4* Gen Ekspresyon / Psd95 Protein Seviyesi Korelasyon Sonuçları

4.4.1.1. Hipokampus

Hipokampusta *Dlg4* gen ekspresyonu ve Psd-95 protein seviyesinde korelasyona bakıldığında salin grubunda *Dlg4* gen ekspresyonu artarken Psd-95 protein seviyesi de artmaktadır (Şekil 23.A). Hipokampus 1 aylık VPA grubu gen ekspresyonu artışında protein seviyesinin sabit kaldığı gözlemlenmiştir (Şekil 23.B). Hipokampusta 2 aylık salin grubunda *Dlg4* gen ekspresyon seviyesi artarken Psd-95 protein seviyesinin azaldığı gözlemlenmiştir (Şekil 23.C). Hipokampus *Dlg4* 2 aylık VPA gen ekspresyonu artarken Psd-95 protein seviyesinin arttığı gözlemlenmiştir (Şekil 23.D).

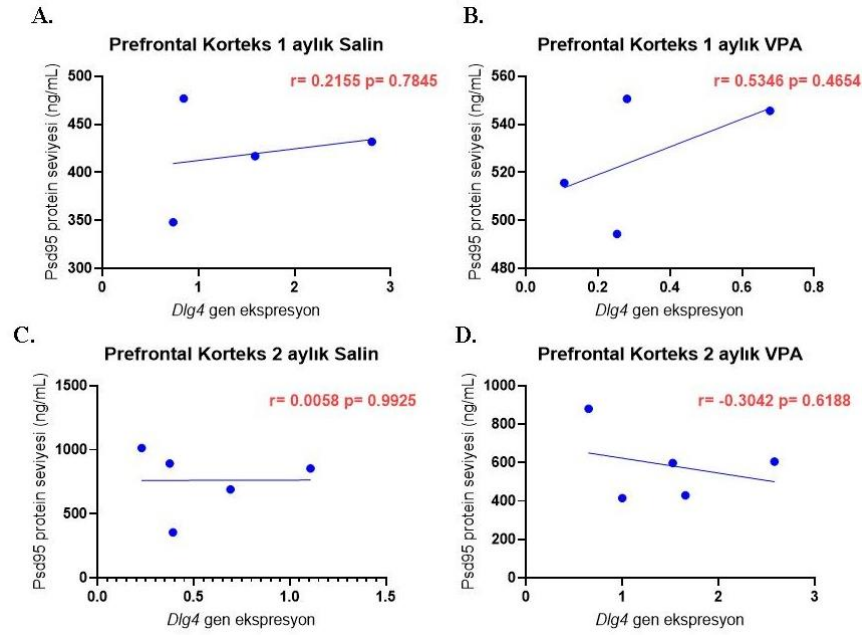


Şekil 4.9. Hipokampus dokusundaki *Dlg4* gen ekspresyon, Psd95 protein seviyelerinin korelasyonu. A. Hipokampus 1 aylık salin *Dlg4*/Psd95 korelasyonu. B. Hipokampus 1 aylık VPA *Dlg4*/Psd95 korelasyonu. C. Hipokampus 2 aylık salin *Dlg4*/Psd95 korelasyonu. D. Hipokampus 2 aylık VPA *Dlg4*/Psd95 korelasyonu.

4.4.1.2. Prefrontal Korteks

Prefrontal kortekste *Dlg4* gen ekspresyonu, Psd-95 protein seviyesi korelasyonuna bakıldığında 1 aylık salin grubu gen ekspresyon seviyesi artarken protein seviyesinde

artış gözlemlenmiştir (Şekil 24.A). 1 aylık VPA grubunda gen ekspresyon seviyesi artarken protein seviyesinde artış gözlemlenmiştir (Şekil 24.B). Prefrontal korteks 2 aylık salin grubunda gen ekspresyon seviyesi artarken protein seviyesinin aynı kaldığı gözlemlenmiştir (Şekil 24.C). VPA grubunda gen ekspresyon seviyesi azalırken protein seviyesi miktarında azalma gözlemlenmiştir (Şekil 24.D).

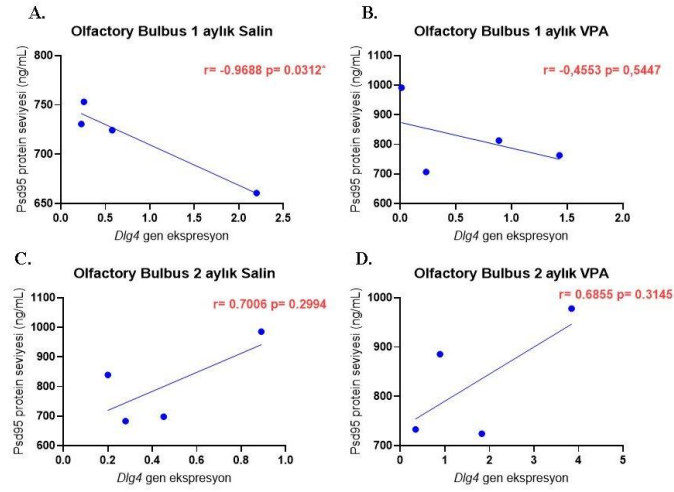


Şekil 4.10. Prefrontal Korteks dokusundaki *Dlg4* gen ekspresyon, Psd95 protein seviyelerinin korelasyonu. A. Prefrontal Korteks 1 aylık salin *Dlg4*/Psd95 korelasyonu. B. Prefrontal Korteks 1 aylık VPA *Dlg4*/Psd95 korelasyonu. C. Prefrontal Korteks 2 aylık salin *Dlg4*/Psd95 korelasyonu. D. Prefrontal Korteks 2 aylık VPA *Dlg4*/Psd95 korelasyonu.

4.4.1.3. Olfactory Bulbus

Olfactory Bulbus 1 aylık salin grubunda *Dlg4* gen ekspresyon seviyesi, artarken protein seviyesinde istatistik olarak anlamlı bir azalma bulunmuştur (Şekil 25.A). 1 aylık VPA grubunda ekspresyon seviyesi artarken protein seviyesinde azalma gözlemlenmiştir (Şekil 25.B).

Olfactory bulbusta 2 aylık erkek fare gruplarının korelasyonuna bakıldığında salin grubunda gen ekspresyon seviyesi artarken protein seviyesinin de arttığı gözlemlenmiştir (Şekil 25.C). 2 aylık VPA grubunda gen ekspresyon seviyesi artarken protein seviyesinin arttığı gözlemlenmiştir (Şekil 25.D).



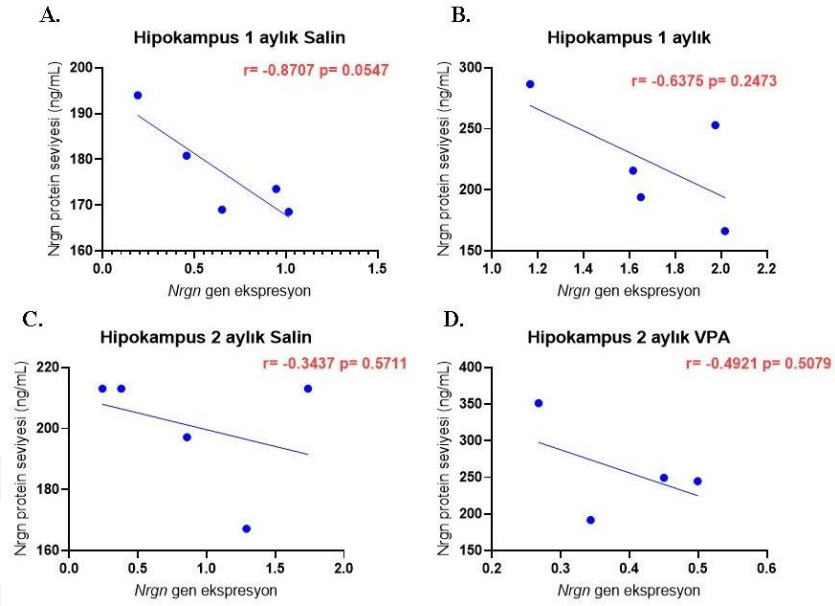
Şekil 4.11. Olfactory Bulbus dokusundaki *Dlg4* gen ekspresyon, Psd95 protein seviyelerinin korelasyonu. A. Olfactory Bulbus 1 aylık salin *Dlg4*/Psd95 korelasyonu. B. Olfactory Bulbus 1 aylık VPA *Dlg4*/Psd95 korelasyonu. C. Olfactory Bulbus 2 aylık salin *Dlg4*/Psd95 korelasyonu. D. Olfactory Bulbus 2 aylık VPA *Dlg4*/Psd95 korelasyonu.

4.4.2. *Nrgn* Gen Ekspresyon / *Nrgn* Protein Seviyesi Korelasyon Sonuçları

4.4.2.1. Hipokampus

Hipokampus *Nrgn* gen ekspresyon seviyesi, *Nrgn* protein seviyesi korelasyona bakıldığında 1 aylık salin grubunda gen ekspresyon seviyesi artarken protein seviyesinde azalma gözlemlenmiştir (Şekil 4.12.A). 1 aylık VPA grubunda gen ekspresyon seviyesi artarken protein seviyesinde azalma gözlemlenmiştir (Şekil 4.12.B).

Hipokampus 2 aylık erkek fare gruplarının korelasyonuna bakıldığında salin grubunda gen ekspresyon seviyesi artarken protein seviyesinde azalma gözlemlenmiştir (Şekil 4.12.C). 2 aylık VPA grubunda ekspresyon seviyesi artarken protein seviyesinde azalma gözlemlenmiştir (Şekil 4.12.D).

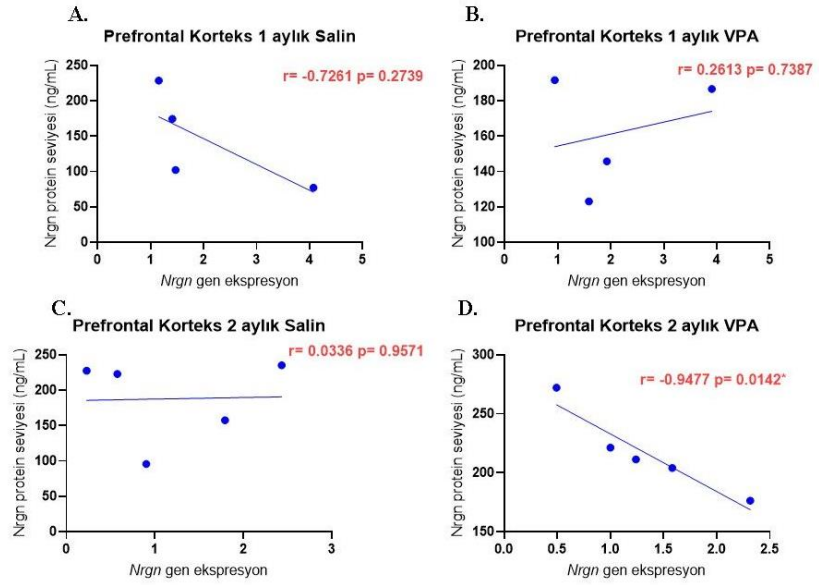


Şekil 4.13. Hipokampus dokusundaki *Nrgn* gen ekspresyon, *Nrgn* protein seviyelerinin korelasyonu. A. Hipokampus 1 aylık salin *Nrgn*/*Nrgn* korelasyonu. B. Hipokampus 1 aylık VPA *Nrgn*/*Nrgn* korelasyonu. C. Hipokampus 2 aylık salin *Nrgn*/*Nrgn* korelasyonu. D. Hipokampus 2 aylık VPA *Nrgn*/*Nrgn* korelasyonu.

4.4.2.2. Prefrontal Korteks

Prefrontal kortekste 1 aylık salin grubunda *Nrgn* gen ekspresyon, *Nrgn* protein seviyesi korelasyon sonucuna göre gen ekspresyon seviyesi artarken protein seviyesinde azalma gözlemlenmiştir (Şekil 27.A). 1 aylık VPA grubunda gen ekspresyon seviyesi artarken protein seviyesi miktarında artış gözlemlenmiştir (Şekil 27.B).

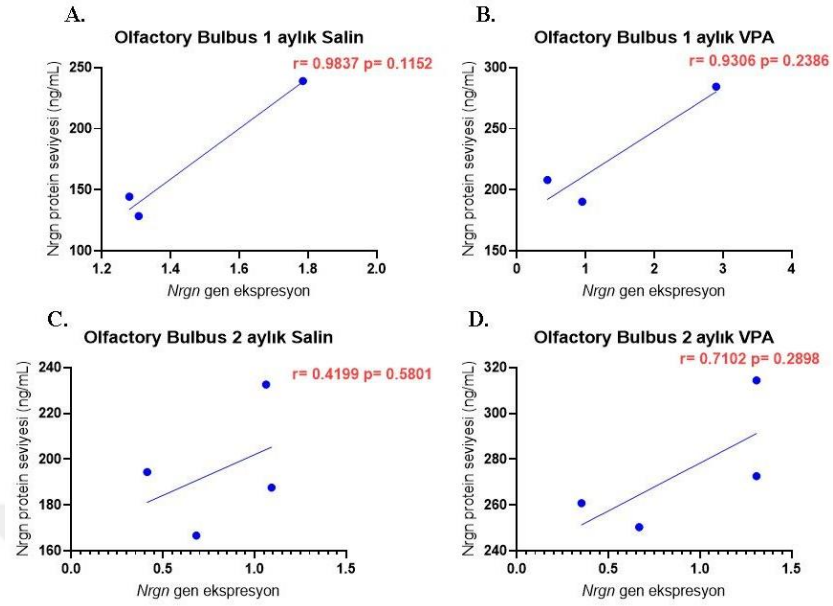
Prefrontal korteks 2 aylık salin grubunda korelasyon sonuçlarına bakıldığında gen ekspresyon seviyesi artıkça protein seviyesinde değişiklik olmadığı gözlenmemiştir (Şekil 27.C). İstatistiksel olarak anlamlılık bulunan 2 aylık VPA grubunda, gen ekspresyon seviyesi artarken protein seviyesinde azalma bulunmuştur (Şekil 27.D).



Şekil 4.14. Prefrontal Korteks dokusundaki *Nrgn* gen ekspresyon, *Nrgn* protein seviyelerinin korelasyonu. A. Prefrontal Korteks 1 aylık salin *Nrgn*/*Nrgn* korelasyonu. B. Prefrontal Korteks 1 aylık VPA *Nrgn*/*Nrgn* korelasyonu. C. Prefrontal Korteks 2 aylık salin *Nrgn*/*Nrgn* korelasyonu. D. Prefrontal Korteks 2 aylık VPA *Nrgn*/*Nrgn* korelasyonu.

4.4.2.3. Olfactory Bulbus

Olfactory bulbus *Nrgn* gen ekspresyon seviyesi, *Nrgn* protein seviyesi korelasyonuna bakıldığında 1 aylık salin grubunda gen ekspresyon seviyesi artarken protein seviyesinde artış gözlemlenmiştir (Şekil 28.A). 1 aylık VPA grubunda gen ekspresyon seviyesi artarken protein seviyesinde artış gözlemlenmiştir (Şekil 28.B). Olfactory bulbusta 2 aylık salin grubunda korelasyon sonuçlarına bakıldığında gen ekspresyon seviyesi artarken protein seviyesinde artış gözlemlenmiştir (Şekil 28.C). 2 aylık VPA grubunda gen ekspresyon seviyesi artarken protein seviyesinde artış gözlemlenmiştir (Şekil 28.D).



Şekil 4.15. Olfactory Bulbus dokusundaki *Nrgn* gen ekspresyon, *Nrgn* protein seviyelerinin korelasyonu. A. Olfactory Bulbus 1 aylık salin *Nrgn*/*Nrgn* korelasyonu. B. Olfactory Bulbus 1 aylık VPA *Nrgn*/*Nrgn* korelasyonu. C. Olfactory Bulbus 2 aylık salin *Nrgn*/*Nrgn* korelasyonu. D. Olfactory Bulbus 2 aylık VPA *Nrgn*/*Nrgn* korelasyonu.

5. TARTIşMA VE SONUÇ

Otizm Spektrum Bozukluğu (OSB), sosyal eksiklikler, tekrarlayan davranışlar ve empati eksikliği ile karakterize edilen nrogeleşimsel bir durumdur (Leow ve ark., 2024). OSB için kesin bir nedensel faktör bulmak zordur. Bu durum, kökeninin karmaşıklığından kaynaklanmaktadır (Bai ve ark., 2019). OSB ile ilişkili genetik varyasyonların yapılan analizi, yaygın ve nadir değişkenlerin, ortak nöron ağlarının bozulması yoluyla OSB'ye katkıda bulunduğunu ileri sürmektedir (Chaste ve ark., 2012).

Son beş yılda OSB hakkında farkındalığın arttığı gözlemlendi. Teşhis edilen otistik vakalarda, ciddi bir artış olduğunu ortaya koyulmaktadır. Son yıllarda OSB prevalansının endişe verici bir şekilde 36 kişinin 1'inde görülmektedir (Wormwood ve ark., 2023). Otizm, erkekleri kadınlara göre dört kat daha fazla etkilemektedir. Cinsiyet kromozomunun OSB'nin etiyolojisine dahil olduğu düşünülmektedir (Maenner ve ark., 2023).

Otistik hayvan modelleri, sinaptik plastisitenin araştırılması ve OSB dahil olmak üzere nrogeleşimsel bozuklukların karakterize edilmesinde etkili olmuştur (Leow ve ark., 2024). Kemirgenlerin VPA maruziyeti, hastalık etiyolojisindeki benzerlik ve insan semptomlarıyla benzerlik nedeniyle hem yapısal hem de görünüş geçerliliği olan bir otizm modeli olarak önerilmektedir (Ornoy ve ark., 2023).

Başka bir çalışmada gebeliğin 12. gününde 600 mg/kg VPA'ya maruz kalan ergen erkek sıçanlarda prefrontal korteksin tam transkriptom dizilimini çıkarmışlardır. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında farklı ekspresyon seviyeleri gösteren 3228 gen ve alternatif birleştirme sergileyen 637 gen gözlemlemişlerdir. Bu genler arasında Huntington, Alzheimer ve Parkinson hastalıkları gibi nörolojik durumlarla ilişkili genlerin yanı sıra nroenezle bağlantılı yollar da bulmuşlardır (Zhang ve ark., 2018). Diğer bir çalışmada doğum öncesi 12. günde 600 mg/kg VPA'ya maruz kalan ergen erkek farelerin

beyinlerinin mikroyarray analizini kullanarak tüm fare genomunu araştırdılar. Beyindeki diferansiyel olarak eksprese edilen genler arasında, salın verilen hayvanlarla karşılaştırıldığında 2761 genin yukarı regüle edildiği ve 2883 genin ise aşağı regüle edildiği görölmüştür. Ek olarak, VPA tarafından indüklenen anormal gen ekspresyonu, mTOR (rapamisinin memeli hedefi) sinyal yolu ile ilişkilendirilmiştir. VPA verilen yavrular sosyal etkileşim davranışında bozulma göstermişlerdir (Kotajima-Murakami ve ark., 2019).

Hipokampal bağımlı mekansal öğrenmeyi ve hafızayı değerlendirmek için en yaygın kullanılan yöntemlerden biri Morris su labirentidir (Mifflin ve ark., 2021). Çünkü mekansal öğrenmenin hipokampal fonksiyona ve plastisiteye bağlı olduğu bilinmektedir (Jaramillo ve ark., 2017). Yılmaz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada nörogranin devre dışı bırakılmış farelerde, uzamsal ve duygusal öğrenme kaybı ve insanlarda sinaptik disfonksiyon ve hafıza performansı ile ilişkilendirilmiştir (Yılmaz ve ark., 2019). Kemirgenlerde bilişi değerlendiren çeşitli davranışsal görevler geliştirilmiştir.

Jaramillo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada önemli OSB risk genlerinden biri (*SHANK*) Shank3E13, nakavt fareleri, yabani ırk ve heterozigotlara kıyasla gizli platforma ulaşmak için önemli ölçüde artan bir gecikme süresi sergilemiştir. Hedef platforma ulaşmadan önce nakavt fareler, yabani ırk ve het farelerine kıyasla deney sırasında daha uzun mesafeler kat etmişlerdir. Nakavt fareler evre veya tigmotaksis bölgesinde daha fazla zaman harcamıştır (Jaramillo ve ark., 2017; Canitano ve ark., 2021). Sabet ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada erkek sıçanların doğum öncesi VPA maruziyet uygulamasını takiben gelişmiş mekansal öğrenme sergilemişlerdir. Bu durumu, bazı otistik çocukların yüksek öğrenme yeteneğine sahip olmasıyla ilişkilendirmişlerdir (Sabet ve ark., 2023). Başka bir çalışmada ICR farelerine tek doz 300 mg/kg intraperitoneal olarak enjekte edilen VPA doğum öncesi ve erken doğum sonrasında uygulanmıştır. Her iki cinsiyetin de doğum öncesi ve doğum sonrası VPA'ya maruz kalan yavrularında OSB benzeri davranışlar görölmüştür. Erkek farelerde sosyalleşmede azalma, çalışma hafızasında azalma ve normal hareket kabiliyeti gözlemlenmiştir (Ornoy ve ark., 2023).

Çalışmamızda doğum sonrası 14. günde 500 mg/kg VPA ile indüklenen *C57BL/6* farelerde, 1 aylık erişmekte olan (ocukluk dönem) ve 2 aylık erişkin/yetişkin fare

grupları oluşturuldu. Oluşturulan fare gruplarında (Kontrol, Salin ve VPA) davranış testleri gerçekleştirildi. Yaptığımız morris su tankı deneyinde platforma ulaşmada 2 aylık VPA grubunun 1. ve 2. gününde ciddi oranda platformu bulmada zorlandığı görülmüştür. 2 aylık VPA grubunda yüzme hızlarında azalma ve platforma ulaşma süresi artma belirlenmiştir. 1 aylık olan VPA grubu Morris su tankı deneyinin 4. gününde platforma ulaşma hızı ve hareket mesafesi kontrole göre daha iyi performans sergilemektedir. Bu bulgular kapsamında literatürle doğru orantıda 2 aylık VPA erkek fare grubunun hipokampal hafızasının etkilendiği ve mekânsal öğrenmenin hipokampal fonksiyona ve plastisiteye bağlı olduğu bilinmektedir (Jaramillo ve ark., 2017). Diğer bulgular doğrultusunda VPA grubu farelerin OSB benzeri davranış gösterdiğini vurgulamaktayız. Ancak 1 aylık VPA grubu davranışlarında literatüre göre farklanma gösterdiğini fakat bazı çalışmaların tam tersi yönde VPA uygulamasını takiben gelişmiş mekansal öğrenme sergiledikleri gösterilmiştir. 1 aylık VPA grubunun bu doğrultuda bir davranış sergilediği gözlemlenmektedir.

Farelerde koku testi, koku algısını ve koku ile beyin arasındaki bağlantıyı değerlendirmek için kullanılan bir davranış analizidir. Bu test, farelerin çeşitli kokuları tanıma ve ayırt etme yeteneklerini ölçmek için kullanılır (Özkul ve ark., 2020). Ayrıca, kemirgenlerde VPA'ya maruz kalmanın koku alma duyusunu bozduğu belirtilmiştir (Favre ve ark., 2013; Moldrich ve ark., 2013). Bu bulgu, çevresel faktörlerin nörogelişim üzerindeki etkilerini anlamak için önemlidir ve özellikle OSB gibi durumlarla ilişkilendirilebilir. Bu tür çalışmalar, belirli kimyasallara maruz kalmanın nörolojik fonksiyonları nasıl etkileyebileceğini anlamak için önemli bir ipucu sağlamaktadır (Roullet ve ark., 2010). Roullet ve arkadaşlarının çalışmasında, VPA'ya maruz kalan fare yavrularının yuva arama davranışlarında gecikme olduğu gösterilmiştir. Yuva arama tepkisi (koku duyusuyla) sırasında, bu fare yavrularının evde yatak bulma sürelerinin arttığı belirtilmiştir. Bu durum, VPA'nın farelerin sosyal davranışlarını, özellikle de yuva arama davranışlarını etkileyebileceğini düşündürülebilir. Bu tür araştırmalar, çevresel faktörlerin nörogelişim üzerindeki etkilerini anlamak ve özellikle OSB gibi durumlarla ilişkilendirmek için önemlidir (Roullet ve ark., 2010). Çalışmamızda 1 aylık ve 2 aylık fare gruplarında duyarlılık ve koku-beyin bağlantısına etkisini araştırmak için koku testi uygulanmıştır. Merkez alanda bulunun tarçın

kabuğuna, 1 aylık VPA grubunun kokuya olan duyarlılığın merkezi alanda vakit geçirmeyerek, deney süresince periferik alanda daha fazla zaman geçirdiği görülmüştür. Koku yakınındaki merkez alanda ve periferik alanda geçirdikleri süreler değerlendirildiğinde kontrol grubunun kokuya ilgisine kıyasla VPA grubunun periferik alanda daha fazla zaman geçirdiği görülmüştür. Duyuşsal olarak kokudan uzaklaşma eğilimi veya ilgi göstermeme içerisinde oldukları tespit edilmiştir. Bu bulgular doğrultusunda VPA maruziyetinin koku reseptörleri üzerinde etkili olduğu diğer bulgular ile örtüşmektedir. Koku ile beyin arasındaki bağlantının bozulduğu net yollar bilinmese de doğrulayıcı niteliktedir. Bazı araştırmalar, otistik bireylerin koku algısında ve koku ile ilişkilendirilmiş beyin aktivitesinde farklılıklar olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, koku testleri otizmi anlamak ve teşhis etmek için potansiyel bir araç olabilir (Boudjarane ve ark., 2017).

Deney hayvanlarında rahatlıkla uygulanabilen açık alan testi, lokomotor aktivite ve anksiyete hakkında önemli ipuçları vermekte olup günümüzde hala tercih edilen testlerden biridir. Açık alan testi sonucu tespit edilen lokomotor aktivitedeki pozitif veya negatif değişiklikler, sırasıyla beyin fonksiyonlarında iyileşme veya bozulmanın göstergesi olabilir. Bu test ile kemirgenlerin genel sağlık durumları da değerlendirilebilmektedir. Sağlıksız veya stresli hayvanlar daha az hareket etmektedir (Acikgoz ve ark., 2022). Hayvanın kaygı benzeri davranışlar sergileyip sergilemediğini belirlemek için hareket, yetiştirme sıklığı ve tımarlama sıklığı gibi parametreler incelenmektedir. Tigmotaksis adı verilen duvarlara yakın yürümek yani periferik alanda geçirdiği süre, kendini tımarlamak kaygı benzeri davranışların belirtisidir. Merkezi bölgede daha fazla vakit geçiren kemirgenin kaygısı daha düşüktür (Kraeuter ve ark., 2019; Sabet ve ark., 2023).

Kawada ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, Hamile ICR fareleri; gebeliğin 9.5. gününde 500 mg/kg VPA'nın intraperitoneal enjeksiyonu yapılmıştır. Doğum sonrası yavru farelerde OSB benzeri davranış sergilediği ve artan kaygı, azalan keşif davranışı ve azalan sosyal iletişim yeteneği gözlemlenmiştir (Kawada ve ark., 2018). Başka bir çalışmada *Balb/C* farelerine gebeliğin 12.5. gününde 600 mg/kg VPA intraperitoneal enjeksiyonu yapılmıştır. Bu farelerin OSB benzeri davranış sergiledikleri, yeni

ortamların keşfedilmesinde ve riskin değerlendirilmesinde anormal davranışlar gösterdikleri bulunmuştur (Dos Santos ve ark., 2021).

Fereshetyan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, hamile *Sprague-Dawley* sıçanları; embriyonik 12.5 günde 500 mg/kg VPA ile doğum öncesi tek intraperitoneal enjeksiyonuna maruz bırakmışlardır. Farklı bir gruba yavrulara doğum sonrası 5-12. günlerde 200 mg/kg VPA verilmiştir. PND 30-40 (ergenlik) ve PND 60-70 (yetişkinlik) üzerinde bir dizi farklı davranış testi gerçekleştirmişlerdir. Doğum öncesi veya doğum sonrası VPA verilen yavrularda tespit edilen OSB benzeri davranış gözlemlenmiştir. Pasif oyun davranışı, sosyal etkileşim için düşük tercih, artan tekrarlayan davranış, lokomotor hiperaktivite, düşük keşif aktivitesi ve azalmış kaygı gözlemlenmiştir (Fereshetyan ve ark., 2021). Çalışmamızda 1 aylık (çocukluk dönemi) ve 2 aylık (erişkin/yetişkin) fare gruplarında açık alan testi yapılmıştır. 1 aylık VPA grubunun 1 aylık kontrol grubuna göre periferik alanda daha uzun zaman geçirdiği, merkezi alanda fazla süre geçirmediği gözlemlenmiştir. Gruplar arası kat ettiği mesafe ve hız karşılaştırıldığında VPA 1 aylık farelerde 1 aylık salin ve kontrol grubuna kıyasla total hareketin ve hızın azaldığı tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz veriler literatür doğrultusunda VPA grubundaki 1 aylık farelerin keşif merakında azalma, anksiyetesinin arttığı görülmüştür. Farklanma olarak lokomotor aktivitesinde azalma bulunmuştur. Hız ve hareketlerinde azalmalarla kaygıların arttığı görülmüştür. Bu bulgular ile OSB benzeri davranış gösterdikleri düşünülmektedir.

Fareler ve sıçanlar ebeveynlik ve yuva yapma, gençlik oyunları, cinsel ve saldırgan davranışlar gibi çok çeşitli sosyal davranışlara sahip sosyal türlerdir. Olağandışı sosyal davranışların ana bileşen olduğu nörogelişimsel bozuklukların modellenmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir (Acikgoz ve ark., 2022). Kaygıyı ölçmek amacıyla 1970'li yıllarda sosyal etkileşim testi geliştirilmiştir. Azalan kovalama ve koklama davranışları (ara yüzey ve anogenital) ve artan aktif kaçınma davranışı, hayvanın sosyalliğinin azaldığını göstermektedir. OSB belirtilerini değerlendirmek için yaygın olarak bu test kullanılmaktadır (Kraeuter ve ark., 2019).

Win-Shwe ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada hamile *Sprague-Dawley* sıçanları, gebeliğin 12.5. gününde intraperitoneal 600 mg/kg VPA enjeksiyonu yapmışlardır. Yetişkin erkek sıçanlarda OSB benzeri davranışlar ortaya çıkmıştır. Sosyalleşmede

bozulma ve sosyal yenilik tercihinde bozulma gözlemlenmiştir (Win-Shwe ve ark., 2018). Başka bir çalışmada VPA'nın kemirgenler üzerinde sosyal bozukluk, tekrarlayan davranışlar gibi temel OSB benzeri davranışlar tanımlanmıştır (Chaliha ve ark., 2020). Kotajima-Murakami ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada gebeliğin 12.5. gününde hamile farelere 600 mg/kg VPA'nın intraperitoneal olarak enjeksiyon yapılmış ve farede sosyal etkileşimin azaldığı gözlemlenmiştir (Kotajima-Murakami ve ark., 2019). Çalışmamızda 1 aylık ve 2 aylık fare gruplarında sosyal etkileşim testi yapılmıştır. VPA grubu fareler kontrole kıyasla yabancı fareye az ilgi göstermiştir. VPA grubu farelerin, tanıdık kafesteki fare alanında fazla ilgilendiği bulunmuştur. VPA grubunda kontrol gruplarına kıyasla sosyal bozulma görülmüştür. Bu da 1 aylık VPA grubunda sosyal davranışın azaldığı anlamına gelmektedir. Bu bulgularımız literatür ile aynı bulguları paylaşmış ve sosyal bozukluk tespit edilerek OSB benzeri davranış gösterdiği görülmektedir.

Çeşitli kanıtlar, OSB'nda hipokampusun anahtar rolüne işaret etmektedir. Bildirimsel hafıza yeteneğinin artmasıyla birlikte, hipokampal hacimde değişiklik ve kişi ve duyguya ilgili uyaranlara ilişkin hafızadaki eksiklikler rapor edilmiştir (Rexrode ve ark., 2024). Fare modelleri, sinaptik plastisitenin azalmasıyla birlikte OSB ile ilişkili sosyal hafıza işlev bozukluğunda hipokampusun kritik bir rol oynadığını göstermiştir (Rexrode ve ark., 2024). Nörogelişimsel süreçlerdeki anormallikler OSB'nin temel özellikleridir ve hipokampal fonksiyon bozukluğuna katkıda bulunabilir. Çeşitli kanıtlar, değişen nörogelişimin OSB'de anahtar rol oynadığını göstermektedir ve nöron göçünde anormallikler de rapor edilmiştir (Avino ve ark., 2018; Weir ve ark., 2018). Rexrode ve arkadaşları yaptığı çalışmada OSB'li çocukların hipokampusunda moleküler anormallikler tespit etmişlerdir. OSB ile kontrol arasında gen ekspresyonu farklılıkları görülmüştür. Sinaptik düzenlemede yer alan çeşitli yollarda gen ekspresyonunun azalma, sinaptik belirteçlerin mRNA ve protein ekspresyonunun azalması ve OSB'li çocukların gelişmekte olan hipokampusunda sinaptik sinyalleme azaldığını göstermişlerdir. OSB'deki NMDA reseptör değişiklikleri ve omurga değişiklikleriyle ilişkili olan sinaptik işaretleyici Psd-95'in protein ekspresyonunun azaldığını gözlemlemişlerdir. OSB'li çocuklarda kan damarlarının düzenlenmesinde rol oynayan gen yolları ise yukarı doğru düzenlenmiştir (Rexrode ve ark., 2024).

Sinaptik işlev ve esneklik, öğrenme ve hafıza için kritik öneme sahiptir. OSB'de önemli ölçüde etkilenir. Sinaptik fonksiyon, gen mutasyonu ve sinaptik değişiklikler arasında köprü kurmak, OSB'yi anlamak için çok önemlidir (Leow ve ark., 2024). OSB'li hastaların beyinlerinde yapılan ilk kapsamlı gen ekspresyonu analizi, otistik ve normal beyin arasındaki transkriptom organizasyonundaki farklılıklar olduğu bildirilmiştir (Chaste ve ark., 2012). OSB'li bireylerin beyinleri kontrollerle karşılaştırıldığında nöron ve sinapsla ilgili genlerin aşağı regülasyonunu ve mikroglia beraberinde bağışıklıkla ilgili genlerin yukarı regülasyonunu tanımlamıştır. Bu gen ifadesinde küçük ama anlamlı farklılıklar içermektedir (Willsey ve ark., 2022).

Erkek beyinde baskın olan genlerin ifadesindeki bozulmaların OSB beyinlerinde yaygın olarak bulunması, sinaptik değişime işaret etmektedir. OSB'nin ağırlıklı olarak erkek beyinde kritik hücresel/sinaptik aktiviteleri bozabileceği öne sürülmüştür. Hücre sayılarından ziyade hücresel durumlardaki farklılıklar, otizm yatkınlığının cinsiyete dayalı nörogenetik temeline dair bilgiler sunmaktadır (Leow ve ark., 2024).

Sinapslardaki protein ömrü, beyin gelişimi ve yaşlanma, öğrenme ve hafıza için önemlidir. En uzun Psd-95 protein ömrüne sahip sinapslar izokortekste (neokorteks) ve hipokampal formasyonda (HPF) yoğunlaşmıştır. Olfactory bulbus glomerüler katmanında en kısa ömrüne sahip (1-2 gün) alt bölgeler arasında PSD-95 gözlemişlerdir. 3 ila 6 ay arasında, bireysel uyarıcı sinapslardaki PSD-95 miktarları sabit kaldığında, tüm beyin bölgelerindeki sinapsların büyük çoğunluğunun PSD-95 içeriğini birkaç gün veya hafta içinde değiştirdiği görülmüştür. Bu, proteostazın sürekli olarak uyarıcı sinaps proteomunu yeniden oluşturduğunu ve farenin yaşamı boyunca beyin sinapslarının çoğunda bunu birçok kez yaptığını göstermektedir (Bulovaite ve ark., 2022). Beyin sinapsları, Psd-95 protein yaşam süreleri açısından büyük farklılıklar gösterdiği ve bunların farklı mekânsal dağılımları olduğu bulunmuştur (Bulovaite ve ark., 2022). En uzun protein ömrüne sahip sinaps alt tiplerini Lateral Parietal Lobe (LPL) sinapsları, en kısa protein ömrüne sahip olanları ise Superior Parietal Lobule (SPL) sinapslardır. Yetişkin fare beyindeki bazı LPL sinapsları, Psd-95'i aylarca tutma potansiyeli göstermiştir. Bu durum proteom stabilitesinin göstergesidir. 3 hafta ile 18 ay arasında tüm beyinde Psd-95'in ömründe aşamalı bir uzama meydana gelir. Yaşlanan

fare beyrinde genel bir sinaps sayısı kaybı oluşur ve yaşlılıkta tercihen tutulan LPL sinapslarıdır (Bulovaite ve ark., 2022).

Psd-95 anormalliğinin, OSB ve diğerk zihinsel hastalıklar gibi nörögelişimsel bozuklukların nedenlerinden biri olduğu düşünülmektedir (Wang ve ark., 2022). Psd-95 ifadesinde değışikliklere yol ačan manipölasyonlar, farelerde öğrenme ve hafıza performansında eksikliklere, bozulmuş motor fonksiyona ve anormal sosyal davranışa neden olabilir (Winkler ve ark., 2018). Tsai ve ark. otizmle ilgili çoklu genlerin, sinaptik plastisiteyi geliştirmeye elverişli olan Psd-95'in proteazom bozulmasını düzenleyerek uyarıcı sinapsların ortadan kaldırılmasını destekleyebileceğini göstermiştir (Tsai ve ark., 2012).

Çalışmamızda doğum sonrası 14. günde 500 mg/kg VPA ile indüklenen C57BL/6 farelerde, 1 aylık erişmekte olan (çocukluk dönem) ve 2 aylık erişkin/yetişkin fare grupları oluşturuldu. Oluşturulan fare gruplarında (Kontrol, Salin ve VPA) davranış testleri gerçekteştirildi. Davranış deneylerinin ardından 1 ve 2 aylık gruplardaki farelerin hipokampus, prefrontal korteks ve olfactory bulbus dokularında *Dlg4* ve *Nrng* gen ve protein ekspresyon seviyeleri araştırılan literatürdeki ilk çalışmadır.

Huang ve arkadaşları yaptığı çalışmada, 12. günde 600 mg/kg VPA'ya maruz bırakılan 50 günlük erkek sıçan hipokampusunda bir mikroarray kullanarak gen ekspresyon analizini araştırmışlardır. Farklı şekilde ifade edilen 721 genin çoğunluğu aşağı doğru düzenlenmiştir. VPA'ya maruz kalan sıçan hipokampusunda diferansiyel olarak eksprese edilen genlerin zenginleştirme analizi, plazma zarı, G-protein sinyali, amin bağlanması ve kalsiyum sinyali ile ilişkileri ortaya çıkarmışlardır (Huang ve ark., 2016).

Psd-95 uyarıcı sinapsların postsinaptik terminalinde oldukça bol bulunan bir proteindir. Glutamat reseptörlerinin ve diğerk proteinlerin sinaptik gücü, sinaptik plastisiteyi ve öğrenmeyi kontrol eden sinyal kompleksleri halinde birleştirilmesinde önemli bir rol oynar. 3 ila 6 ay arasında, bireysel uyarıcı sinapslardaki PSD-95 miktarları sabit kaldığında, tüm beyin bölgelerindeki sinapsların büyük çoğunluğunun Psd-95 içeriğini birkaç gün veya hafta içinde değıştirdiğı görölmüştür. Bu, proteostazın sürekli olarak uyarıcı sinaps proteomunu yeniden oluşturduğunu ve farenin yaşamı boyunca beyin sinapslarının çoğunda bunu birçok kez yaptığını gösterir (Svrisky ve ark., 2020).

Nörogranin'in postsinaptik duyarlılığı arttırdığı ve bu artışı N-metil-d-aspartat reseptörü (NMDAR) bağlı bir şekilde yükselttiği bulunmuştur. Bir postsinaptik protein olarak nörogranin sinaps kaybı veya işlev bozukluğu için umut verici bir biyobelirteç olarak önerilmiştir (Santillo ve ark., 2019). NMDA reseptör aktivasyonu, nörograninin hem fosforilasyonunda hem de oksidasyonunda geçici artışlara yol açar. Nörogranin, öncelikle sinaptik sonrası dendritik dikenlerde bulunur (Svirsky ve ark., 2020). Svirsky ve arkadaşları sıçanlarda travmatik beyin hasarı oluşturarak nörogranin ve Psd-95 ekspresyonu değerlendirmişlerdir. Kortikal darbeye (CCI) ya da kontrol ameliyatına tabi tutulan sıçanlarda *nörogranin* ve *Psd-95* ekspresyonunun, yaralanmadan 24 saat sonraki düzeylerinde düşüşler ile dendritik kayba sebep olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca hipokampustaki nörogranin seviyelerinin azalarak Psd-95'ten farklı ekspresyon modelleri gösterdiğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte, nörogranin düzeyleri yaralanmadan 4 hafta sonra başlangıç düzeyine gelirken, kontrolle kıyasla karşılaştırıldığında Psd-95 ekspresyonunda önemli bir artış gözlemlenmiştir. Spesifik olarak, Psd-95'in aşırı ekspresyonu omurga olgunlaşmasını iletir ve genel sayıyı artırırken, azalan seviyeler uygun büyümeyi bozar ve yoğunluğu azaltır (Svirsky ve ark., 2020).

Bulovaite ve arkadaşları yaptığı çalışmada otistik fare modelinde, beyindeki Psd-95 sinaptik proteinin yaşam süresinde beyin çapında bir artış görülmüştür. Bu çocukluk ve genç/erişkin bozukluklarına neden olan germ hattı hastalığıyla ilgili mutasyonların sinaps protein ömrü üzerinde etkili olduğunu göstermişlerdir (Bulovaite ve ark., 2022). Coley ve arkadaşlarının sonuçları Psd-95 miktarının artmasının OSB'yi tetikleyeceği yönünde hipotez sunmaktadır (Coley ve ark., 2018).

Çalışmamızda *Dlg4* (farede Psd-95 karşılığı) gen ekspresyon sonuçlarına baktığımızda hipokampusta (HK) kontrol grubuna kıyasla VPA grubunda 1 ve 2 aylık dönemlerde gen ifadesinin azaldığı görülmüştür. Prefrontal korteks (PK) bölgesinde 1 aylık VPA grubu 1 aylık kontrole göre *Dlg4* gen ekspresyon seviyesinde azalma görülmüştür. 2 aylık gen ekspresyon seviyelerine bakıldığında 2 aylık kontrol grubuna göre iki aylık VPA grubunda *Dlg4* gen ifadesinin arttığı gözlemlenmiştir. Olfactory bulbus (OB) beyin bölgesi, PK bölgesine benzer *Dlg4* ekspresyon seviyesi gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu HK, PK ve OB beyin bölgelerinin gen seviyesindeki değişikliklerine ek olarak, protein

seviyelerine bakıldığında; HK beyin bölgesinde 2 aylık VPA grubu 2 aylık kontrole göre Psd-95 protein seviyesinin arttığı gözlemlenmiştir. 1 aylık VPA grubu 1 aylık kontrole göre ufak bir farklanma ile Psd-95 protein seviyesi nerdeyse daha az olduğu gözlemlenmiştir. PK beyin bölgesinde 1 ve 2 aylık VPA grupları kendi kontrollere göre Psd-95 protein seviyelerinin eşit olduğu gözlemlenmiştir. OB beyin bölgesinde 1 aylık VPA grubu ile 1 aylık kontrol grubu Psd-95 protein seviyelerinin eşit olduğu 2 aylık VPA grubun 2 aylık kontrole göre Psd-95 protein seviyesinde azalma gözlemlenmiştir. Bu bulguların korelasyonu ele alındığında HK 1 aylık VPA grubu Psd-95 korelasyonu sabit kalmıştır. 2 aylık VPA grubu korelasyonu pozitif gözlemlenmiştir. PK 1 aylık VPA grubu Psd-95 pozitif korelasyon görülürken 2 aylık VPA grubunda korelasyon negatif gözlemlenmiştir. Olfactory bulbus beyin bölgesinde 1 aylık VPA grubun korelasyon negatif gözlemlenirken 2 aylık VPA grubunda korelasyon pozitif yönde artış gözlenmiştir.

Nrgn gen ekspresyon seviyelere bakıldığında HC beyin bölgesinde 1 aylık VPA grubu 1 aylık kontrole göre *Nrgn* gen ekspresyon seviyesinde ciddi bir artış gözlemlenmiştir. 2 aylık VPA grubunda ise 2 aylık kontrole göre ekspresyon seviyesinde anlamlı bir azalış gözlemlenmiştir. PK beyin bölgesinde *Nrgn* 1 aylık VPA grubu 1 aylık kontrole göre gen ekspresyon seviyesinde artış gözlemlenmiştir. 2 aylık kontrole göre 2 aylık VPA *Nrgn* gen ekspresyon seviyesinde biraz da olsa artış görülmüştür. OB beyin bölgesinde 1 aylık VPA grubunda 1 aylık kontrole göre ekspresyon seviyeleri eşit gibi görünse de 2 aylık VPA grubunda 2 aylık kontrole göre *Nrgn* gen ekspresyon seviyesinde azalma görülmüştür. HK beyin bölgesinde 1 aylık kontrol ve VPA grubu *Nrgn* protein seviyelerinin benzer düzeyde olduğu gözlemlenmiştir. 2 Aylık VPA grubunda 2 aylık kontrole kıyasla *Nrgn* protein seviyesinde artış gözlemlenmiştir. PK beyin bölgesinde 1 aylık VPA grubunda kontrole göre *Nrgn* protein seviyesinde artış gözlemlenmiştir. 2 aylık VPA grubunda 2 aylık kontrole göre *Nrgn* seviyesindeki artışın daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. 2 aylık VPA grubunun 1 aylık VPA grubuna göre *Nrgn* protein seviyesinde anlamlı bir artış gözlemlenmiştir. OB beyin bölgesinde 1 ve 2 aylık VPA grubu kendi kontrollerine kıyasla protein seviyelerinde artış gözlemlenmiştir. Bu bulguların korelasyonu ele alındığında *Nrgn* hipokampusta 1 ve 2 aylık VPA grubunda korelasyon negatif gözlemlenmiştir. *Nrgn* 1 aylık VPA grubunda pozitif korelasyon

gözlemlenirken 2 aylık VPA grubunda Nrgn ciddi bir negatif korelasyon göstermiştir. Nörogranin olfactory bulbus beyin bölgesinde 1 ve 2 aylık VPA grubun negatif korelasyon gözlemlenmiştir.

Literatüre bakıldığında çalışmamızda bulduğumuz Psd-95 ekspresyon seviyelerindeki düzensizlikle diğer çalışmalardaki bulguların birbiriyle örtüştüğü görülmektedir. Bazı çalışmalar, otizmlili bireylerde PSD-95 ekspresyonunda düzensizlikler olduğunu göstermektedir (Rexrode ve ark., 2024). Otistik fare modeli beyindeki Psd-95 ekspresyon düzensizlikleri (*Dlg4* geni sinaptik yapının oluşumu ve işlevinde kritik bir rol oynar) nöronal uyarım (Glutamaterjik sistem) ve inhibisyon (GABAerjik sistem) arasında dengesizliğe neden olabilecek gen ifadesinde değişikliklere neden olduğu literatürde bilinmektedir (Rexrode ve ark., 2024; Bulovaite ve ark., 2022; Coley ve ark., 2017). Çalışmamızda beyindeki uyarıcı (excitatory) ve baskılayıcı (inhibitory) E/I (excitation/inhibition) oranında dengesizlik olduğunu göstermektedir. Bununla beraber PSD-95 ve Nrgn sinaptik proteinlerdeki dengesizlik, AMPA reseptör kompozisyonu ve fonksiyonunun yanı sıra NMDAR stabilizasyonu ve kinetiğini de değiştirecek, dolayısıyla glutamaterjik iletimin Değişmesi söz konusu olabilir ancak çalışmamızda bu yönlü araştırma yapılmamıştır. Psd-95 ve nörogranin gibi sinaptik proteinler, sinir hücreleri arasındaki bağlantıların güçlenmesi ve plastisitesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. 1 aylık farelerde Psd-95 ekspresyonundaki azalış ve nörogranin ekspresyonundaki artış, sinaptik plastisite üzerinde erken dönemdeki değişiklikleri gösterebilir. Bununla birlikte, 2 aylık farelerde Psd-95 ekspresyonundaki artış ve Nörogranin ekspresyonundaki azalış, olgunlaşma sürecinde sinaptik stabilite ve plastisitenin farklı bir düzensizliğini yansıtabilir. Ayrıca, bu bulgular, özellikle uyarıcı ve baskılayıcı sinirsel iletim arasındaki dengesizliklerin ve sinaptik plastisitenin erken ve olgunlaşma dönemlerindeki farklılıkların ve farklı dokulardaki sinaptik değişimin otizm patofizyolojisinde önemli bir rol oynayabileceğini gösterir. Özellikle, erken dönemde artan Nörogranin ekspresyonu, sinirsel bağlantıların aşırı güçlenmesi veya aşırı sinaptik plastisiteyi işaret edebilir. Sinaptik proteinlerdeki değişiklikler, sinir hücreleri arasındaki iletişimde ve sinaptik işlevdeki bozuklukları işaret edebilir. Bu nedenle hem VPA hem de diğer modellerde OSB'nin etiyojisine sinaptik proteinlerdeki değişimlerinin nasıl yansıdığı araştırılmalıdır.

Çalışmamızda, farklı gelişim dönemlerinde (1 aylık ve 2 aylık) sinaptik yapının *Psd-95* ve *Nrgn* ekspresyonları üzerinde üç farklı beyin dokusunda nasıl şekillendiğini araştırdık. Literatürde daha önceden şizofreni ile ilişkilendirilmiş bir gen olan *Nrgn* ilk defa otistik fare modelinde çalışıldı. Yine bu çalışma ile farklı gelişim dönemlerinde hem ekspresyon hem protein düzeyleri belirlendi.

Bulgularımız doğrultusunda;

1. Uyarıcı ve Baskılayıcı Dengesizlikler:

Otizmli bireylerde ve otistik fare modellerinde, uyarıcı (excitatory) ve baskılayıcı (inhibitory) sinirsel iletim arasındaki dengesizlikler sıkça bildirilmektedir. Bu dengesizlikler, otistik fenotiplerin altında yatan temel mekanizmalardan biri olarak kabul edilir. Çalışmamızdaki bulgular, bu dengesizliklerin *Psd-95* ve Nörogranin gibi sinaptik proteinlerdeki değişikliklerle ilişkili olabileceğini öne sürmektedir.

2. Sinaptik Plastisite ve Olgunlaşma Süreci:

Psd-95 ve Nörogranin gibi sinaptik proteinler, sinir hücreleri arasındaki bağlantıların güçlenmesi ve plastisitesinin düzenlenmesinde kritik rol oynar. 1 aylık farelerde *Psd-95* ekspresyonundaki azalış ve Nörogranin ekspresyonundaki artış, erken dönemde sinaptik plastisite üzerindeki değişiklikleri yansıtabilir. Ancak, 2 aylık farelerde *Psd-95* ekspresyonundaki artış ve Nörogranin ekspresyonundaki azalış, sinaptik stabilite ve olgunlaşma sürecinde farklı bir düzenlemeyi işaret edebilir.

3. Glutamaterjik İletimin Değişimi:

Psd-95 ve Nörogranin gibi sinaptik proteinlerin dengesizlikleri, AMPA reseptör kompozisyonunu ve fonksiyonunu etkileyebilir, bu da glutamaterjik iletimi değiştirebilir. Bu değişiklikler, otizmin glutamaterjik sistemdeki bozulmalarını açıklayabilir ve sinirsel iletişimdeki dengesizliklere katkıda bulunabilir

Sonuç olarak;

- ❖ Yapılan davranış deneylerin sonucunda fareler OSB benzeri davranış gösterdi.
- ❖ İlk kez şizofreni ile ilişkilendirilen Nörogranin sinaptik proteininin otizm ile ilk kez ilişkisi bu hayvan modeli üzerinde gösterildi. Nörograninin, 1 ve 2

aylık farelerde ekspresyon ve protein seviyelerindeki farklılaşmaların otizm ile ilişkili olabileceği yönde değerlendirildi. Nörograninin otizmle ilişkisini kesin olarak açıklamak için klinik çalışmalara ve otistik fare modellerini içeren daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğu açıktır.

- ❖ VPA ile indüklenen otistik fare modelinde Psd-95 sinaptik protein düzeyi ilk kez araştırıldı.
- ❖ VPA ile indüklenen otistik fare modelindeki çalışmalar genellikle davranış deneyleri düzeyinde bırakılmış, gen ve protein düzeylerinin araştırıldığı çalışmalar ise literatürde az bulunmaktadır.
- ❖ Sinirsel mekanizmalarını ve gelişimsel etkilerini anlamada otizmin erken teşhis ve tedavisinde potansiyel yeni hedeflerin belirlenmesine ve daha etkili terapötik stratejilerin geliştirilmesine yol açabilir.
- ❖ Dolayısıyla bizim çalışmamız literatüre yeni bilgiler katacak ve daha sonra yapacağımız çalışmalara da öncü olacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Acikgoz B, Dalkiran B, Dayi A. An overview of the currency and usefulness of behavioral tests used from past to present to assess anxiety, social behavior and depression in rats and mice. *Behavioural processes*, 2022; 200: 104670.
- American Psychiatric Association, *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, American Psychiatric Press, Washington, DC, USA, 5th edition, 2013.
- Avino TA, Barger N, Vargas MV, Carlson EL, Amaral DG, Bauman MD, Schumann C M. Neuron numbers increase in the human amygdala from birth to adulthood, but not in autism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018; 115(14): 3710–3715.
- Bai D, Yip BHK, Windham GC, Sourander A, Francis R, Yoffe R, Glasson E, Mahjani B, Suominen A, Leonard H, Gissler M, Buxbaum JD, Wong K, Schendel D, Kodesh A, Breshnahan M, Levine SZ, Parner ET, Hansen SN, Hultman C, Sandin S. Association of Genetic and Environmental Factors With Autism in a 5-Country Cohort. *JAMA psychiatry*, 2019; 76(10): 1035–1043.
- Banker SM, Gu X, Schiller D, Foss-Feig JH. Hippocampal contributions to social and cognitive deficits in autism spectrum disorder. *Trends in neurosciences*, 2021; 44(10): 793–807.
- Baron-Cohen S, Tsompanidis A, Auyeung B, Nørgaard-Pedersen B, Hougaard DM, Abdallah M, Cohen A, Pohl A. Foetal oestrogens and autism. *Molecular psychiatry*, 2020; 25(11): 2970–2978.
- Błaszczuk B, Miziak B, Pluta R, Czuczwar SJ. Epilepsy in Pregnancy-Management Principles and Focus on Valproate. *International journal of molecular sciences*, 2022; 23(3): 1369.

- Bold J, Sakata-Haga H, Fukui Y. Spinal nerve defects in mouse embryos prenatally exposed to valproic acid. *Anatomical science international*, 2018; 93(1): 35–41.
- Boudjarane MA, Grandgeorge M, Marianowski R, Misery L, Lemonnier É. Perception of odors and tastes in autism spectrum disorders: A systematic review of assessments. *Autism research : official journal of the International Society for Autism Research*, 2017; 10(6): 1045–1057.
- Bulovaite E, Qiu Z, Kratschke M, Zgraj A, Fricker DG, Tuck EJ, Gokhale R, Koniaris B, Jami SA, Merino-Serrais P, Husi E, Mendive-Tapia L, Vendrell M, O'Dell TJ, DeFelipe J, Komiyama NH, Holtmaat A, Fransén E, Grant SGN. A brain atlas of synapse protein lifetime across the mouse lifespan. *Neuron*, 2022; 110(24): 4057–4073.
- Canitano R, Palumbi R. Excitation/Inhibition Modulators in Autism Spectrum Disorder: Current Clinical Research. *Frontiers in neuroscience*, 2021; 15: 753274.
- Chaliha D, Albrecht M, Vaccarezza M, Takechi R, Lam V, Al-Salami H, Mamo J. A Systematic Review of the Valproic-Acid-Induced Rodent Model of Autism. *Developmental neuroscience*, 2020; 42(1): 12–48.
- Chaste P, Leboyer M. Autism risk factors: genes, environment, and gene-environment interactions. *Dialogues in clinical neuroscience*, 2012; 14(3): 281–292.
- Cheriyian VT, Alfaidi M, Jorgensen AN, Alam MA, Abdullah CS, Kolluru GK, Bhuiyan MS, Kevil CG, Orr AW, Nam HW. Neurogranin regulates eNOS function and endothelial activation. *Redox biology*, 2020; 34: 101487.
- Christianson AL, Chesler N, Kromberg JG. Fetal valproate syndrome: clinical and neuro-developmental features in two sibling pairs. *Developmental medicine and child neurology*, 1994; 36(4): 361–369.
- Coley AA, Gao WJ. PSD95: A synaptic protein implicated in schizophrenia or autism?. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 2018; 82: 187–194.

- De Rubeis S, He X, Goldberg AP, Poultney CS, Samocha K, Cicek AE, Kou Y, Liu L, Fromer M, Walker S, Singh T, Klei L, Kosmicki J, Shih-Chen F, Aleksic B, Biscaldi M, Bolton PF, Brownfeld JM, Cai J, Campbell NG, Buxbaum JD. Synaptic, transcriptional and chromatin genes disrupted in autism. *Nature*, 2014; 515(7526): 209–215.
- Dorsey SG, Mocci E, Lane MV, Krueger BK. Rapid effects of valproic acid on the fetal brain transcriptome: Implications for brain development and autism. *bioRxiv* : the preprint server for biology, 2023; 2023.05.01: 538959.
- Dos Santos ALG, Leão ERLP, Almeida Miranda D, Souza DNC, Picanço Diniz CW, Diniz DG. BALB/c female subjected to valproic acid during gestational period exhibited greater microglial and behavioral changes than male mice: A significant contra intuitive result. *International journal of developmental neuroscience : the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience*, 2021; 81(1): 37–50.
- Dufour-Rainfray D, Vourc'h P, Tourlet S, Guilloteau D, Chalon S, Andres CR. Fetal exposure to teratogens: evidence of genes involved in autism. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 2011; 35(5): 1254–1265.
- Ema M, Ise R, Kato H, Oneda S, Hirose A, Hirata-Koizumi M, Singh AV, Knudsen TB, Ihara T. Fetal malformations and early embryonic gene expression response in cynomolgus monkeys maternally exposed to thalidomide. *Reproductive toxicology (Elmsford, N.Y.)*, 2010; 29(1): 49–56.
- Favre MR, Barkat TR, Lamendola D, Khazen G, Markram H, Markram K. General developmental health in the VPA-rat model of autism. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 2013; 7: 88.
- Fereshetyan K, Chavushyan V, Danielyan M, Yenkovyan K. Assessment of behavioral, morphological and electrophysiological changes in prenatal and postnatal valproate induced rat models of autism spectrum disorder. *Scientific reports*, 2021; 11(1): 23471.

- Feyder M, Karlsson RM, Mathur P, Lyman M, Bock R, Momenan R, Munasinghe J, Scattoni ML, Ihne J, Camp M, Graybeal C, Strathdee D, Begg A, Alvarez VA, Kirsch P, Rietschel M, Cichon S, Walter H, Meyer-Lindenberg A, Grant SG, Holmes A. Association of mouse Dlg4 (PSD-95) gene deletion and human DLG4 gene variation with phenotypes relevant to autism spectrum disorders and Williams' syndrome. *The American journal of psychiatry*, 2010; 167(12): 1508–1517.
- Fregeac J, Colleaux L, Nguyen LS. The emerging roles of MicroRNAs in autism spectrum disorders. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 2016; 71: 729–738.
- Gomez AM, Traunmüller L, Scheiffele P. Neurexins: molecular codes for shaping neuronal synapses. *Nature reviews. Neuroscience*, 2021; 22(3): 137–151.
- Griesi-Oliveira K, Sertié AL. Autism spectrum disorders: an updated guide for genetic counseling. *Einstein (Sao Paulo, Brazil)*, 2017; 15(2): 233–238.
- Guang S, Pang N, Deng X, Yang L, He F, Wu L, Chen C, Yin F, Peng J. Synaptopathology Involved in Autism Spectrum Disorder. *Frontiers in cellular neuroscience*, 2018; 12: 470.
- Hajri M, Abbes Z, Yahia HB, Jelili S, Halayem S, Mrabet A, Bouden A. Cognitive deficits in children with autism spectrum disorders: Toward an integrative approach combining social and non-social cognition. *Frontiers in psychiatry*, 2022; 13: 917121.
- Harris J. Leo Kanner and autism: a 75-year perspective. *International review of psychiatry (Abingdon, England)*, 2018; 30(1): 3–17.
- Hsieh MY, Tuan LH, Chang HC, Wang YC, Chen CH, Shy HT, Lee LJ, Gau SS. Altered synaptic protein expression, aberrant spine morphology, and impaired spatial memory in Dlgap2 mutant mice, a genetic model of autism spectrum disorder. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 2023; 33(8): 4779–4793.
- Huang JY, Tian Y, Wang HJ, Shen H, Wang H, Long S, Liao MH, Liu ZR, Wang ZM, Li D, Tao RR, Cui TT, Moriguchi S, Fukunaga K, Han F, Lu YM. Functional

Genomic Analyses Identify Pathways Dysregulated in Animal Model of Autism. *CNS neuroscience & therapeutics*, 2016; 22(10): 845–853.

Huang X, Stodieck SK, Goetze B, Cui L, Wong MH, Wenzel C, Hosang L, Dong Y, Löwel S, Schlüter OM. Progressive maturation of silent synapses governs the duration of a critical period. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015; 112(24): E3131–E3140.

Imai K, Iida T, Yamamoto M, Komatsu K, Nukui Y, Yoshizawa A. Psychological and mental health problems in patients with thalidomide embryopathy in Japan. *Psychiatry and clinical neurosciences*, 2014; 68(6): 479–486.

Jacot-Descombes S, Keshav NU, Dickstein DL, Wicinski B, Janssen WGM, Hiester, LL, Sarfo EK, Warda T, Fam MM, Harony-Nicolas H, Buxbaum JD, Hof PR, Varghese M. Altered synaptic ultrastructure in the prefrontal cortex of Shank3-deficient rats. *Molecular autism*, 2020; 11(1): 89.

Jaramillo TC, Speed HE, Xuan Z, Reimers JM, Escamilla CO, Weaver TP, Liu S, Filonova I, Powell CM. Novel Shank3 mutant exhibits behaviors with face validity for autism and altered striatal and hippocampal function. *Autism research : official journal of the International Society for Autism Research*, 2017; 10(1): 42–65.

Kawada K, Mimori S, Okuma Y, Nomura Y. Involvement of endoplasmic reticulum stress and neurite outgrowth in the model mice of autism spectrum disorder. *Neurochemistry international*, 2018; 119: 115–119.

Kim JW, Seung H, Kwon KJ, Ko MJ, Lee EJ, Oh HA, Choi CS, Kim KC, Gonzales EL, You JS, Choi DH, Lee J, Han SH, Yang SM, Cheong JH, Shin CY, Bahn GH. Subchronic treatment of donepezil rescues impaired social, hyperactive, and stereotypic behavior in valproic acid-induced animal model of autism. *PloS one*, 2014;9 (8): e104927.

Kim JW, Seung H, Kwon KJ, Ko MJ, Lee EJ, Oh HA, Choi CS, Kim KC, Gonzales EL, You JS, Choi DH, Lee J, Han SH, Yang SM, Cheong JH, Shin CY, Bahn GH. Subchronic treatment of donepezil rescues impaired social, hyperactive, and

- stereotypic behavior in valproic acid-induced animal model of autism. *PloS one*, 2014; 9(8): e104927.
- Kim KC, Lee DK, Go HS, Kim P, Choi CS, Kim JW, Jeon SJ, Song MR, Shin CY. Pax6-dependent cortical glutamatergic neuronal differentiation regulates autism-like behavior in prenatally valproic acid-exposed rat offspring. *Molecular neurobiology*, 2014; 49(1): 512–528.
- Kirst C, Skriabine S, Vieites-Prado A, Topilko T, Bertin P, Gerschenfeld G, Verny F., Topilko P, Michalski N, Tessier-Lavigne M, Renier N. Mapping the Fine-Scale Organization and Plasticity of the Brain Vasculature. *Cell*, 2020; 180(4): 780–795.
- Kotajima-Murakami H, Kobayashi T, Kashii H, Sato A, Hagino Y, Tanaka M, Nishito Y, Takamatsu Y, Uchino S, Ikeda K. Effects of rapamycin on social interaction deficits and gene expression in mice exposed to valproic acid in utero. *Molecular brain*, 2019; 12(1): 3.
- Kraeuter AK, Guest PC, Sarnyai Z. Free Dyadic Social Interaction Test in Mice. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 2019; 1916: 93–97.
- Kraeuter AK., Guest, PC, Sarnyai Z. The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 2019; 1916: 99–103.
- Laine MA, Greiner EM, Shansky RM. Sex differences in the rodent medial prefrontal cortex - What Do and Don't we know? *Neuropharmacology*, 2024; 248: 109867.
- Lamy S, Thibaut F. Etat des lieux de la consommation de substances psychoactives par les femmes enceintes [Psychoactive substance use during pregnancy: a review]. *L'Encephale*, 2010; 36(1): 33–38.
- Lenz W, Knapp K. Thalidomide embryopathy. *Archives of environmental health*, 1962; 5: 100–105.

- Leow KQ, Tonta MA, Lu J, Coleman, HA, Parkington HC. Towards understanding sex differences in autism spectrum disorders. *Brain research*, 2024; 1833: 148877.
- Liu X, Hua F, Yang D, Lin Y, Zhang L, Ying J, Sheng H, Wang X. Roles of neuroligins in central nervous system development: focus on glial neuroligins and neuron neuroligins. *Journal of translational medicine*, 2022; 20(1): 418.
- Maćkowiak M, Mordalska P, Wędzony K. Neuroligins, synapse balance and neuropsychiatric disorders. *Pharmacological reports : PR*, 2014; 66(5): 830–835.
- Maenner MJ, Warren Z, Williams AR, Amoakohene E, Bakian AV, Bilder DA, Durkin MS, Fitzgerald RT, Furnier SM, Hughes MM, Ladd-Acosta CM, McArthur D, Pas ET, Salinas A, Vehorn A, Williams S, Esler A, Grzybowski A, Hall-Lande J, Nguyen RHN, Shaw KA. Prevalence and Characteristics of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years - Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2020. *Morbidity and mortality weekly report. Surveillance summaries (Washington, D.C. : 2002)*, 2023; 72(2): 1–14.
- Mandy W, Lai MC. Annual Research Review: The role of the environment in the developmental psychopathology of autism spectrum condition. *Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines*, 2016; 57(3): 271–292.
- Matos MB, Bara TS, Cordeiro ML. Autism Spectrum Disorder Diagnoses: A Comparison of Countries with Different Income Levels. *Clinical epidemiology*, 2022; 14: 959–969.
- Mattheisen M, Grove J, Als TD, Martin J, Voloudakis G, Meier S, Demontis D, Bendl J, Walters R, Carey CE, Rosengren A, Strom NI, Hauberg ME, Zeng B, Hoffman G, Zhang W, Bybjerg-Grauholm J, Bækvad-Hansen M, Agerbo E, Cormand B, Børglum AD. Identification of shared and differentiating genetic architecture for autism spectrum disorder, attention-deficit hyperactivity disorder and case subgroups. *Nature genetics*, 2022; 54(10): 1470–1478.

- Mifflin MA, Winslow W, Surendra L, Tallino S, Vural A, Velazquez R. Sex differences in the IntelliCage and the Morris water maze in the APP/PS1 mouse model of amyloidosis. *Neurobiology of aging*, 2021; 101: 130–140.
- Moldrich RX, Leanage G, She D, Dolan-Evans E, Nelson M, Reza N, Reutens DC. Inhibition of histone deacetylase in utero causes sociability deficits in postnatal mice. *Behavioural brain research*, 2013; 257: 253–264.
- Monteiro P, Feng G. SHANK proteins: roles at the synapse and in autism spectrum disorder. *Nature reviews. Neuroscience*, 2017; 18(3): 147–157.
- Mooney SM, Varlinskaya EI. Acute prenatal exposure to ethanol and social behavior: effects of age, sex, and timing of exposure. *Behavioural brain research*, 2011; 216(1): 358–364.
- Nelson SB, Valakh V. Excitatory/Inhibitory Balance and Circuit Homeostasis in Autism Spectrum Disorders. *Neuron*, 2015; 87(4): 684–698.
- Nicolini C, Fahnestock M. The valproic acid-induced rodent model of autism. *Experimental neurology*, 2018; 299(Pt A): 217–227.
- Nurnberger J I, Jr Austin J, Berrettini WH, Besterman AD, DeLisi LE, Grice DE, Kennedy JL, Moreno-De-Luca D, Potash JB, Ross DA, Schulze TG, Zai G. What Should a Psychiatrist Know About Genetics? Review and Recommendations From the Residency Education Committee of the International Society of Psychiatric Genetics. *The Journal of clinical psychiatry*, 2018; 80(1): 17nr12046.
- Ornoy A, Echefu B, Becker M. Valproic Acid in Pregnancy Revisited: Neurobehavioral, Biochemical and Molecular Changes Affecting the Embryo and Fetus in Humans and in Animals: A Narrative Review. *International journal of molecular sciences*, 2023; 25(1): 390.
- Ornoy A, Gorobets D, Weinstein-Fudim L, Becker M. Sex-Related Changes in the Clinical, Genetic, Electrophysiological, Connectivity, and Molecular Presentations of ASD: A Comparison between Human and Animal Models of

- ASD with Reference to Our Data. *International journal of molecular sciences*, 2023; 24(4): 3287.
- Ozkul Y, Taheri S, Bayram KK, Sener EF, Mehmetbeyoglu E, Öztop DB, Aybuga F, Tufan E, Bayram A, Dolu N, Zararsiz G, Kianmehr L, Beyaz F, Doganyigit Z, Cuzin F, Rassoulzadegan M. A heritable profile of six miRNAs in autistic patients and mouse models. *Scientific reports*, 2020; 10(1): 9011.
- Rexrode LE, Hartley J, Showmaker KC, Challagundla L, Vandewege MW, Martin B. E, Blair E, Bollavarapu R, Antonyraj RB, Hilton K, Gardiner A, Valeri J, Gisabella B, Garrett MR, Theoharides TC, Pantazopoulos H. Molecular profiling of the hippocampus of children with autism spectrum disorder. *Molecular psychiatry*, 2024; 10.1038/s41380-024-02441-8: Advance online publication.
- Riemersma IW, Havekes R, Kas MJH. Spatial and Temporal Gene Function Studies in Rodents: Towards Gene-Based Therapies for Autism Spectrum Disorder. *Genes*, 2021; 13(1): 28.
- Roullet FI, Wollaston L, Decatanzaro D, Foster JA. Behavioral and molecular changes in the mouse in response to prenatal exposure to the anti-epileptic drug valproic acid. *Neuroscience*, 2010; 170(2): 514–522.
- Sabet N, Abadi B, Moslemizadeh A, Rajizadeh MA, Arabzadeh F, Vakili Shahrababaki SS, Soltani Z, Rafie F, Bashiri H. The effect of low- and moderate-intensity interval training on cognitive behaviors of male and female rats with VPA-induced autism. *Heliyon*, 2023; 9(10): e20641.
- Santillo AF, Lundgren S, Xu C, Orhan F, Fatouros-Bergman H, Blennow K, Zetterberg H, Portelius E, Karolinska Schizophrenia Project (KaSP) Consortium, Cervenka S, Jönsson EG, Erhardt S, Engberg G. Neurogranin as a potential synaptic marker in the cerebrospinal fluid of patients with a first episode psychosis. *Schizophrenia research*, 2019; 208: 490–492.
- Satterstrom FK, Kosmicki JA, Wang J, Breen MS, De Rubeis S, An JY, Peng M, Collins R, Grove J, Klei L, Stevens C, Reichert J, Mulhern M S, Artomov M,

- Gerges S, Sheppard B, Xu X, Bhaduri A, Norman U, Brand H, Buxbaum JD. Large-Scale Exome Sequencing Study Implicates Both Developmental and Functional Changes in the Neurobiology of Autism. *Cell*, 2020; 180(3): 568–584.
- Sener EF, Dana H, Tahtasakal R, Hamurcu Z, Guler A, Tufan E, Doganyigit Z, Rassoulzadegan M. Partial changes in apoptotic pathways in hippocampus and hypothalamus of Cc2d1a heterozygous. *Metabolic brain disease*, 2023; 38(2): 531–541.
- Sener EF, Taheri S, Sahin MC, Bayramov KK, Marasli MK, Zararsiz G, Mehmetbeyoglu E, Oztop DB, Canpolat M, Canatan H, Ozkul Y. Altered Global mRNA Expressions of Pain and Aggression Related Genes in the Blood of Children with Autism Spectrum Disorders. *Journal of molecular neuroscience : MN*, 2019; 67(1): 89–96.
- Silvero-Isidre A, Morínigo-Guayacán S, Meza-Ojeda A, Mongelós-Cardozo M, Centurión-Wenninger C, Figueredo-Thiel S, Sanchez DF, Acosta N. Protective effect of aspirin treatment on mouse behavior in the acute phase of experimental infection with *Trypanosoma cruzi*. *Parasitology research*, 2018; 117(1): 189–200.
- Sullivan PF, Agrawal A, Bulik CM, Andreassen OA, Børghlum AD, Breen G, Cichon S, Edenberg HJ, Faraone SV, Gelernter J, Mathews CA, Nievergelt CM, Smoller JW, O'Donovan MC. Psychiatric Genomics: An Update and an Agenda. *The American journal of psychiatry*, 2018; 175(1): 15–27.
- Svirsky S, Henschir J, Li Y, Ma X, Carlson S, Dixon CE. Neurogranin Protein Expression Is Reduced after Controlled Cortical Impact in Rats. *Journal of neurotrauma*, 2020; 37(7): 939–949.
- Teffer K, Semendeferi K. Human prefrontal cortex: evolution, development, and pathology. *Progress in brain research*, 2012; 195: 191–218.
- Thapar A, Rice F. Family-Based Designs that Disentangle Inherited Factors from Pre- and Postnatal Environmental Exposures: In Vitro Fertilization, Discordant

- Sibling Pairs, Maternal versus Paternal Comparisons, and Adoption Designs. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2021; 11(3): a038877.
- Thapar A, Rutter M. Genetic Advances in Autism. *Journal of autism and developmental disorders*, 2021; 51(12): 4321–4332.
- Tick B, Bolton P, Happé F, Rutter M, Rijdsdijk F. Heritability of autism spectrum disorders: a meta-analysis of twin studies. *Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines*, 2016; 57(5): 585–595.
- Toczyłowska B, Zieminska E, Senator P, Lazarewicz JW. Hippocampal Metabolite Profiles in Two Rat Models of Autism: NMR-Based Metabolomics Studies. *Molecular neurobiology*, 2020; 57(7): 3089–3105.
- Triyasakorn K, Ubah UDB, Roan B, Conlin M, Aho K, Awale PS. The Antiepileptic Drug and Toxic Teratogen Valproic Acid Alters Microglia in an Environmental Mouse Model of Autism. *Toxics*, 2022; 10(7): 379.
- Tsai NP, Wilkerson JR, Guo W, Maksimova MA, DeMartino GN, Cowan CW, Huber KM. Multiple autism-linked genes mediate synapse elimination via proteasomal degradation of a synaptic scaffold PSD-95. *Cell*, 2012; 151(7): 1581–1594.
- Tsugiyama LE, Ida-Eto M, Ohkawara T, Noro Y, Narita M. Altered neuronal activity in the auditory brainstem following sound stimulation in thalidomide-induced autism model rats. *Congenital anomalies*, 2020; 60(3): 82–86.
- Türk BG, Metin B, Tekeli H, Sayman ÖA, Kızılkılıç O, Uzan M, Özkara Ç. Evaluation of olfactory and gustatory changes in patients with mesial temporal lobe epilepsy. *Seizure*, 2020; 75: 110–114.
- Wachholz GE, Rengel BD, Vargesson N, Fraga LR. From the Farm to the Lab: How Chicken Embryos Contribute to the Field of Teratology. *Frontiers in genetics*, 2021; 12: 666726.
- Wang F, Wang L, Xiong Y, Deng J, Lü M, Tang B, Zhang X, Li Y. Nan fang yi ke da xue xue bao = *Journal of Southern Medical University*, 2022; 42(1): 101–107.

- Weir RK, Bauman MD, Jacobs B, Schumann CM. Protracted dendritic growth in the typically developing human amygdala and increased spine density in young ASD brains. *The Journal of comparative neurology*, 2018; 526(2): 262–274.
- White AM, An X, Debiec J. Intact maternal buffering of stress response in infant rats despite altered responsivity towards maternal olfactory cues in the valproic acid model of autism-like behavior. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 2022; 16: 959485.
- Willsey HR, Willsey AJ, Wang B, State MW. Genomics, convergent neuroscience and progress in understanding autism spectrum disorder. *Nature reviews. Neuroscience*, 2022; 23(6): 323–341.
- Wingo AP, Liu Y, Gerasimov ES, Vattathil SM, Liu J, Cutler DJ, Epstein MP, Blokland GAM, Thambisetty M, Troncoso JC, Duong DM, Bennett DA, Levey AI, Seyfried NT, Wingo TS. Sex differences in brain protein expression and disease. *Nature medicine*, 2023; 29(9): 2224–2232.
- Winkler D, Daher F, Wüstefeld L, Hammerschmidt K, Poggi G, Seelbach A, Krueger-Burg D, Vafadari B, Ronnenberg A, Liu Y, Kaczmarek L, Schlüter OM, Ehrenreich H, Dere E. Hypersocial behavior and biological redundancy in mice with reduced expression of PSD95 or PSD93. *Behavioural brain research*, 2018; 352: 35–45.
- Win-Shwe TT, Nway NC, Imai M, Lwin TT, Mar O, Watanabe H. Social behavior, neuroimmune markers and glutamic acid decarboxylase levels in a rat model of valproic acid-induced autism. *The Journal of toxicological sciences*, 2018; 43(11): 631–643.
- Wormwood KL, Charette L, Ryan JP, Darie CC, Woods AG. A Proteomics Investigation of Salivary Profiles as Potential Biomarkers for Autism Spectrum Disorder (ASD). *The protein journal*, 2023; 42(5): 607–620.
- Xiang Y, Xin J, Le W, Yang Y. Neurogranin: A Potential Biomarker of Neurological and Mental Diseases. *Frontiers in aging neuroscience*, 2020; 12: 584743.

- Yeo XY, Lim YT, Chae WR, Park C, Park H, Jung S. Alterations of presynaptic proteins in autism spectrum disorder. *Frontiers in molecular neuroscience*, 2022; 15: 1062878.
- Yilmaz A, Fuchs D, Price RW, Spudich S, Blennow K, Zetterberg H, Gisslén M. Cerebrospinal Fluid Concentrations of the Synaptic Marker Neurogranin in Neuro-HIV and Other Neurological Disorders. *Current HIV/AIDS reports*, 2019; 16(1): 76–81.
- Zhang R, Zhou J, Ren J, Sun S, Di Y, Wang H, An X, Zhang K, Zhang J, Qian Z, Shi M, Qiao Y, Ren W, Tian Y. Transcriptional and splicing dysregulation in the prefrontal cortex in valproic acid rat model of autism. *Reproductive toxicology* (Elmsford, N.Y.), 2018; 77: 53–61.
- Zhang W, Girdhar K, Townsley KG, Misir R, CommonMind Consortium, Brennand, K. J, Haroutunian V, Voloudakis G, Fullard JF, Roussos P. Population-level variation in enhancer expression identifies disease mechanisms in the human brain. *Nature genetics*, 2022; 54(10): 1493–1503.
- Zheng H, Dong Y, Xu Z, Crosby G, Culley DJ, Zhang Y, Xie Z. Sevoflurane anesthesia in pregnant mice induces neurotoxicity in fetal and offspring mice. *Anesthesiology*, 2013; 118(3): 516–526.

EKLER



Tarih: 05.04.2023

Toplantı Sayısı: 04



Karar No:23/053

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 05.04.2023 tarihinde Prof. Dr. Gültekin ATALAN 'nın başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü
Gültekin ATALAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fakültesi
Vehbi GÜNEŞ	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi
Fusun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
Ahmet ÖZTÜRK	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
M. Betül AYCAN	Prof. Dr.	Eczacılık Fakültesi
Ayşe EKEN	Prof. Dr.	Eczacılık Fakültesi
Nurcan DURSUN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
İbrahim KARAMAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
Sezer DEMİRBUĞA	Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi
Çağrı Çağlar SİNMEZ	Doç. Dr.	Veteriner Fakültesi
Selma BÜYÜKKILIÇ BEYZİ	Doç. Dr.	Ziraat Fakültesi
Zeynep CAFEROĞLU AKIN	Doç. Dr.	Sağlık Bilimleri Fakültesi
Ali İleriş AYKUN	Arş. Gör.	Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi ERÜT
Umut ALPMAN	Arş. Gör.	Genom ve Kök Hücre Merkezi (GENKÖK)
Mustafa ERMİŞ	Dr.Veteriner Hekim	Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Arş.Mrkz.
Ali KOÇ	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	Sivil Üye
Filiz ASAN	Avukat	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü/ Tıbbi Biyoloji A.D'ndan Prof.Dr.Elif Funda ŞENER tarafından sunulan "VPA ile İndüklenen Otizm Modelinde Sinaptik Proteinlerin Araştırılması" başlıklı proje incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih : 05.04.2023

Etik Kurul Başkanı : Prof. Dr. Gültekin ATALAN

İmza :

Sayı: 68742022- 903.99.020
Konu: Değerlendirme, Onay

17/02/2023

Sayın ; Prof. Dr. Elif Funda ŞENER;

“VPA ile İndüklenen Otistik Fare Modelinde Sinaptik Proteinlerin Araştırılması”
başlıklı proje çalışmanızın Merkezimiz Genom ve Transgenik Birimleri’ nde yapılması
tarafımızca uygun bulunmuştur.
Gereğini bilgilerinize rica ederim.

Not: Bu projeden çıkan bütün yayınlarmızda projenin Betül Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Merkezinde yapıldığına dair ibarenin kullanılması zorunludur.

Kullanım şekli: “Erciyes University Genome and Stem Cell Center (GENKOK)

emre tuğhan ithenticate.docx

ORIGINALITY REPORT

5%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	acikbilim.yok.gov.tr Internet	337 words — 2%
2	adudspace.adu.edu.tr:8080 Internet	126 words — 1%
3	abis-files.erciyes.edu.tr Internet	62 words — < 1%
4	dergipark.org.tr Internet	51 words — < 1%
5	acikerisim.dicle.edu.tr Internet	30 words — < 1%
6	Elik, Gülsüm. "Valproik Asit Verilen Sıçanların Derisi Üzerine Moringa Oleifera Ekstresinin Etkisinin İncelenmesi", Marmara Üniversitesi (Turkey), 2023 ProQuest	21 words — < 1%
7	pdffox.com Internet	20 words — < 1%
8	respiratory-research.biomedcentral.com Internet	18 words — < 1%
9	Okay, Kaan. "Comprehensive Transcriptome Analysis of Dizygotic Twins and their Parents with	14 words — < 1%

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı : Emre Tuğhan
Uyruğu : Türkiye (TC)

EĞİTİM

<u>DERECE</u>	<u>KURUM</u>	<u>MEZUNİYET</u>
Y.Lisans	Erciyes Üniversitesi	4/ 3.09
Lisans	Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi	4/ 3,23

İŞ DENEYİMLERİ

<u>YIL</u>	<u>KURUM</u>	<u>GÖREV</u>
2018	Pamukkale Üniversitesi Fen Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı	Stajyer

YABANCI DİL

İngilizce – Orta Seviye
Fransızca – Başlangıç Seviyesi

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler (SCI ve SCI-E):

Karaca M, Tahtasakal R, Dana H, Sahin M, Pirencioglu SN, Tughan E, Dal F, Demirci E, Sener EF. Decreased levels of alpha synuclein in families with autism spectrum disorder and relationship between the disease severity. Brain Res. 2023 May 24;148410. doi: 10.1016/j.brainres.2023.148410. (SCI Expanded İndekslerine Giren Dergi) (IF:3.6/Q2)

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler:

Tuğhan E, Dana H, Koçum F, Demiruz Ç, Yılmaz ÖN. Oğuz İ, Sener EF. Investigation Of Psd95 Synaptic Protein In VPA Induced Autism Model. 7th

International Health Science And Life Congress (Oral Presentation), March 7-9, Burdur, Turkey.

Pirencioglu SN, Dana H, Koçum F, Tahtasakal R, Demiruz Ç, **Tuğhan E**, Yılmaz ÖN. Canpolat D, Sener EF. 11th International Mardin Artuklu Scientific Researches Conference (Oral Presentation), December 13-15, 2023, Mardin, Turkey.

Badıllı M, Tahtasakal R, Pirencioğlu Ş, Şahin M, **Tuğhan E**, Demirci E, Şener EF. Relationship Between Autism and Alpha-Synuclein. V. International Icontech Conference on Innovative Surveys in Positive Sciences. (Oral Presentation), February 5-6, 2022, Sanliurfa, Turkey.

SERTİFİKALAR

Erciyes Üniversitesi Araştırma Dekanlığı "V. Araştırma ve İnovasyon Çalıştayı"

Sertifika No: 2712010470015 İstanbul İşletme Enstitüsü- Python eğitimi

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul HADMEK Erciyes Üniversitesi. 2022, Kayseri

ÖDÜLLER

Sözlü Bildiri Dördüncülük Ödülü. Tuğhan E, Dana H, Koçum F, Demiruz Ç, Yılmaz ÖN. Oğuz İ, Sener EF. VPA İle İndüklenen Otistik Fare Modelinde Sinaptik Proteinlerin Araştırılması. Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi 7. Uluslararası Sağlık Bilimleri Ve Yaşam Kongresi.