

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Feyza TAŞ

**SIÇANLARDA (*Rattus norvegicus*) GEBELİK ÖNCESİ STRESİN, YAVRU
HİPOKAMPÜSLERİ ÜZERİNDE, CİNSİYETE BAĞLI NÖRO-
MORFOLOJİK ETKİLERİ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA-2018

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIÇANLARDA (*Rattus norvegicus*) GEBELİK ÖNCESİ STRESİN, YAVRU
HIPOKAMPÜSLERİ ÜZERİNDE, CİNSİYETE BAĞLI
NÖRO-MORFOLOJİK ETKİLERİ**

Feyza TAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu Tez /06/2018 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

.....
.....
Dr. Öğr.Üyesi Mehmet SULANÇ Prof. Dr. Bedii CİCİK Dr. Öğr.Üyesi Pınar
ÖZALP
DANIŞMAN ÜYE ÜYE

Bu tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

**Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma Erasmus Öğrenim Hareketliliği Programı kapsamında,
Almanya'da yapılmıştır. Alman-İsrail Bilimsel Araştırma ve Geliştirme
Kuruluşu tarafından desteklenmiştir.**

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve
fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat
Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**SIÇANLARDA (*Rattus norvegicus*) GEBELİK ÖNCESİ STRESİN,
YAVRU HIPOKAMPÜSLERİ ÜZERİNDE, CİNSİYETE BAĞLI
NÖRO-MORFOLOJİK ETKİLERİ**

Feyza TAŞ

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Mehmet SULANÇ
Yıl: 2018 Sayfa: 53
Jüri : Dr .Öğr. Üyesi Mehmet SULANÇ
: Prof. Dr. Bedii CİÇİK
: Dr. Öğr.Üyesi Pınar ÖZALP

Bu çalışmada, gebelik öncesi strese sahip dişi sıçanların, yavru hipokampüslerinin Dentate Gyrus bölümündeki granüler nöronların morfolojik değişimleri araştırılmıştır. Genç, yetişkin dişi sıçanlar, beklenmedik stres etkenlerine maruz bırakıldıktan sonra iki gruba ayrılırlar. Gruplardan biri travma sonrası hemen çiftleştirilmiş, diğer grup ise travmadan iki hafta sonra çiftleştirilmiştir. Yavrular yetişkin olduktan sonra hipokampüsleri incelenmiş; granüler nöronların, dendrit uzunlukları, dendrit dallanma sayısı ve toplam dendritik spine (çıkıntı) sayısı hesaplanmış; stres ve kontrol gruplarının cinsiyete ve hemisfere göre karşılaştırılması yapılmıştır.

Buna göre, dendrit dallanma sayısının dişi ve erkek yavrularda farklı olduğu tespit edilirken; dendrit uzunluğu ve dendritik spine (çıkıntı) sayısında strese dayalı farklılıklar görülmemiştir. Gebelik öncesi stresin dişi yavrularda dendrit dallanma sayısını arttırdığı, erkek yavrularda ise azalttığı kantitatif olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte, hemisferler arasında fark bulunmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Gebelik öncesi stres, Hipokampus, Nöron, *Rattus norvegicus*

ABSTRACT

MSc THESIS

TRANSGENERATIONAL SEX-SPECIFIC NEURO-MORPHOLOGICAL IMPACT OF PREGESTATIONAL STRESS ON THE HIPPOCAMPUS OF RATS (*Ratus norvegicus*)

Feyza TAŞ

DEPARTMENT OF BIOLOGY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
ÇUKUROVA UNIVERSITY

Supervisor : Asst. Prof. Dr. Mehmet SULANÇ
Year: 2018 Pages: 53
Jury : Asst. Prof. Dr. Mehmet SULANÇ
: Prof. Dr. Bedii CİCİK
: Asst. Prof. Dr. Pınar ÖZALP

In this study, the morphological changes of the granular neurons in the Dentate Gyrus region of the rat-offspring's hippocampus which effected by pregestational stress were investigated. Young adult female rats were divided into two groups after exposure to unexpected stress factors. One group was immediately mated after trauma and the other group was mated two weeks after trauma. After the offspring became adults, their hippocampus' were examined; dendritic lengths, dendritic complexity and total dendritic spine number of the granular neurons were calculated; stress and control groups were compared according to sex and hemisphere difference.

As a result of these, though the dendritic complexity was found different in female and male offspring; there were no stress-based differences on dendritic length and total dendritic spine number. It was quantitatively calculated that the preconceptional stress impact increases dendritic complexity in female offspring and decreases in male offspring. However, there was no difference between the hemispheres.

Key Words: Pregestational Stress, PGS, Preconceptional Stress, Hippocampus, Neuron, *Rattus norvegicus*

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Uzun süreli ve şiddetli stresin, hayvan fizyolojisine negatif etkisi iyi bilinmektedir. Kalıtım veya çevresel etkenler yüzünden, kısmen zayıf olan bir organ ya da sistem her zaman vardır ve genellikle stres altındayken bozulur. Ancak aynı tip stres faktörleri altında, her bir bireyde farklı hastalıklar gelişebilir.

Strese maruz kalınan dönem, gebelik süreci, bebeklik, çocukluk, ergenlik, yetişkinlik veya yaşlılık olabilir. Hangi dönem olursa olsun stres hormonlarına uzun süreli maruz kalınması, akıl sağlığı ve bilme yetisi de dahil olmak üzere beyin yapısını etkiler.

Stresin davranışsal ve nöro-endokrin sonuçları kalıcıdır, strese maruz kalmış bireylerin çocuklarında ve hatta torunlarında bile gözlemlenebilir.

Bu çalışmada, gebelik öncesi strese sahip dişi sıçanların, yavru hipokampuslerinin Dentate Gyrus bölümündeki granüler nöronların morfolojik değişimleri araştırılmıştır. Gebelik öncesi stresin, sonraki kuşakta etkisi; dendrit dallanma sayısı, dendrit uzunluğu ve toplam dendritik spine (çıkıntı) sayısı özellikleri bakımından incelenmiştir.

Stressiz koşullarda büyütülmüş, genç, yetişkin ve daha önce çiftleşmemiş dişi sıçanlar, beklenmedik stres etkenlerine 7 gün boyunca maruz bırakıldıktan sonra iki gruba ayrılırlar. Gruplardan biri travma sonrası hemen çiftleştirilmiş (B grubu), diğer grup ise travmadan iki hafta sonra çiftleştirilmiştir (C grubu). Üçüncü grup ise, strese maruz bırakılmadan oluşturulmuştur (A grubu).

Yavrular yetişkin olduktan sonra beyinleri alınmış, Golgi-Cox tekniği ile fiksasyon yapılmış, hipokampus bölümlerinden mikrotom kullanılarak kesitler alınmış ve kalıcı doku preparatı hazırlanmıştır. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda incelenmiş, hipokampusün Dentate Gyrus bölümünden, bütünlüğü bozulmamış olan uygun granüler nöronlar tespit edilmiştir. Seçilen granüler nöronlar, Neurolucida isimli bilgisayar programı kullanılarak çizilmiş; nöronların dendrit dallanma sayıları, dendrit uzunlukları ve toplam dendritik spine (çıkıntı)

sayıları, program tarafından hesaplanmış; stres ve kontrol gruplarının cinsiyet ve hemisfer faktörlerine göre istatistiksel olarak karşılaştırılması yapılmıştır.

Buna göre dendrit dallanma sayısı ele alındığında, gebelik öncesi stresin yavruları etkilediği, cinsiyete göre anlamlı farklılıklar yarattığı sonucuna ulaşılmıştır. Hemisferler arasında anlamlı bir fark yoktur. Strese maruz kalan B ve C gruplarının dişi yavrularında, dendrit dallanma sayısı kontrol grubuna kıyasla artarken; B grubu erkek yavrularda azalma, C grubu erkek yavrularda ise, kontrol grubuna kıyasla artma söz konusu olmuştur. Ve bu etkileşim, yetişkinliğe kadar sürmüştür. Bununla birlikte, dendrit uzunluğu ve toplam dendritik spine sayısı özelliklerinde anlamlı bir kantitatif değişim yoktur.

Bu tez çalışmasının, hipokampus üzerinde yapılması, ilk kez gebelik öncesi stres ile hipokampusün araştırılması açısından büyük önem taşır. Ve dendrit dallanma sayısının cinsiyete göre anlamlı farklılıklara sahip olması, nöromorfolojik etkilerin cinsiyet üzerinde farklı değişimler yarattığının bir kez daha ve ilk kez hipokampüste kanıtlanmış olduğu anlamına gelir.

Yavrularda tespit edilen nöromorfolojik değişimler, bu durumun epigenetik yollarla yavrulara aktarıldığını işaret eder. Bu aktarım altında yatan mekanizmaların araştırılması için; oositlerde gen ifadesinin nasıl yeniden yapıldığına, yetişkinliğe kadar süren bir nöronal değişimin sağladığı avantaj veya dezavantajlara, cinsiyetin tüm bunlara nasıl etki ettiğine bakılabilir. Bu bağlamda bu çalışma, gelecekteki araştırmalara ışık tutacaktır.

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının deney aşaması, Otto von Guericke Üniversitesi, Biyoloji Enstitüsü, Zooloji ve Nörobiyoloji Bölümü'nde, Erasmus Öğrenim Hareketliliği Programı kapsamında, yüksek lisans tez projesi olarak, Almanya'nın Magdeburg kentinde yapılmıştır.

Aynı zamanda bu çalışma, Alman-İsrail Bilimsel Araştırma ve Geliştirme Kuruluşu tarafından desteklenmiş, Otto von Guericke Üniversitesi ve Haifa Üniversitesi ortak araştırma çalışması olarak yürütülmüştür.

Bu çalışma, Haifa Üniversitesi, hayvan deneyleri komitesi (İsrail) tarafından kabul edilmiştir.

Tezin hazırlanması Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında gerçekleşmiştir ve çalışmaya ait verilerin kullanılması, yüksek lisans tez projesi kapsamında, Otto von Guericke Üniversitesi tarafından onaylanmıştır.

TEŞEKKÜR

Peşinden koştuğum tüm akademik çalışmalarda, Erasmus ve yüksek lisans tez projemde, kendi yolumu çizme cesareti ve özgürlüğü veren; her koşulda desteğini ve güvenini esirgemeyen sevgili danışman hocam, Çukurova Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Dr. Mehmet SULANÇ' a sonsuz teşekkür ederim.

Başta Sayın Dr. Pınar ÖZALP olmak üzere, tüm Ç.Ü. Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyeleri ve öğrencilerine, onlar farkında olmasa da bana kattıkları değerler için teşekkür ederim.

Erasmus Öğrenim Hareketliliği Programı kapsamında, Almanya'da gerçekleştirmiş olduğum bu yüksek lisans tez çalışmamı kabul eden, Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsüne; bana bu projeyi teslim eden ve yüksek lisans tezi olarak yazmamı destekleyen Otto von Guericke Üniversitesi, Biyoloji Enstitüsü, Zooloji ve Nörobiyoloji Bölümüne teşekkür ederim.

Teorisinden deney aşamasına, laboratuvarından istatistiğine kadar her adımda bana bu alanda bildiklerimi öğreten ve her sorumu sabırla cevaplayan sevgili hocam, Otto von Guericke Üniversitesi, Biyoloji Enstitüsü, Zooloji ve Nörobiyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Jörg BOCK' a; beni bölümüne kabul eden, güven ve desteğini esirgemeyen sevgili Erasmus danışman hocam, O.V.G.Ü. Biyoloji Enstitüsü, Zooloji ve Nörobiyoloji Bölüm Başkanı, Sayın Prof. Dr. Anna Katharina BRAUN' a ve onun tüm ekibine teşekkür ederim.

Tezin yazım aşamasında akademik desteği olan, onlara danışmadan duramadığım sevgili arkadaşlarım; Pamukkale Üniversitesi Acıpayam Meslek Yüksek Okulu Veterinerlik Bölümü Bölüm Başkanı, Sayın Öğr. Gör. Doğan SÖZBİLEN'e ve Mersin Üniversitesi, Sosyal Bilimler Meslek Yüksek Okulu Müdür Yardımcısı Sayın Öğr. Gör. Emrah YILDIZ' a teşekkür ederim.

Bazen kavgayla, bazen gururla, bana her zaman hayallerimin peşinden koşma cesareti veren, biricik sığınağım olan annem ve babama, hep örnek aldığım sevgili kocaman aileme ve manevi desteğini esirgemeyen güzel arkadaşlarıma teşekkür ederim. Bu zaferim, anneme ithafımdır.

Bu tez çalışması; tek bir hayalin, öngörülemez kadar güzel sonuçlarından yalnızca biridir.



İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ.....	I
ABSTRACT	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
ÖNSÖZ.....	V
TEŞEKKÜR	VI
İÇİNDEKİLER.....	VIII
ÇİZELGELER LİSTESİ	X
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	XII
SİMGELER VE KISALTMALAR	XIV
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Stres ve Stresin İnsan Sağlığına Etkisi	1
1.1.1. Stres Nedir?	1
1.1.2. Stres Fizyolojisi	1
1.1.3. Stresin Beyin ve Hipokampus İçin Önemi	4
1.1.4. Stresin Bir Sonraki Kuşakta Etkisi	4
1.2. Hipokampus ve Nöron.....	5
1.2.1. Hipokampus Nedir?.....	5
1.2.2. Hipokampusün Yapısı	6
1.2.3. Nöron Nedir?	10
1.2.4. Nöron Fizyolojisi.....	12
1.2.5. Hipokampüsteki Nöron Çeşitleri	16
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	19
3. MATERYAL VE YÖNTEM	23
3.1. Materyal.....	23
3.1.1. Deney Materyali	23
3.1.2. Kimyasallar ve Araçlar	23
3.2. Yöntem	24

3.2.1. Stres Uygulamaları	24
3.2.2. Nöromorfolojik Çalışmalar	25
3.2.2.1. Fiksasyon	25
3.2.2.2. Preparat Hazırlama	26
3.2.2.3. Nöromorfolojik Analiz	28
3.2.3. İstatistiksel Analiz	30
4. BULGULAR	31
4.1. Dendrit Dallanma Sayısı	31
4.2. Dendrit Uzunluğu (μm) ve Toplam Dendritik Spine (Çıkıntı) Sayısı	35
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	45
KAYNAKLAR	47
ÖZGEÇMİŞ	53

ÇİZELGELER LİSTESİ

SAYFA

Çizelge 4.1. Dendrit dallanma sayısı özelliğinin tanımlayıcı istatistik verileri.....	31
Çizelge 4.2. Dendrit uzunluğu özelliğinin tanımlayıcı istatistik verileri	35
Çizelge 4.3 Toplam dendritik spine sayısı özelliğinin tanımlayıcı istatistik verileri.....	36





ŞEKİLLER LİSTESİ

SAYFA

Şekil 1.1.	Strese cevap şeması	2
Şekil 1.2.	Strese cevap	3
Şekil 1.3.	İnsan beyninde hipokampus	5
Şekil 1.4.	Hipokampus bölümleri.....	7
Şekil 1.5.	Hipokampusün bölümleri ve uyarı iletim yolları	8
Şekil 1.6.	Camillo Golgi'nin çizimi hipokampus ve nöron yapısı	8
Şekil 1.7.	Sıçan beyninde hipokampus ve bölümleri	9
Şekil 1.8.	Sıçan beyninden alınmış kesitte hipokampus ve bölümleri	9
Şekil 1.9.	Farklı tiplerdeki nöron yapıları	11
Şekil 1.10.	Dendritik çıkıntı (dendritic spine)	11
Şekil 1.11.	Bir sinir impulsunun iletilme modeli	13
Şekil 1.12.	Sodyum – potasyum pompası	14
Şekil 1.13.	Kimyasal sinaps modeli	15
Şekil 1.14.	Piramidal Nöron / Granüler Nöron	16
Şekil 1.15.	CA1 Pramidal nöron	17
Şekil 1.16.	Granüler nöronlar	17
Şekil 1.17.	DG'de granüler nöronlar	18
Şekil 3.1.	Celloidin blok içinde sıçan beyni	26
Şekil 3.2.	Mikrotom ve kesit almaya hazırlanmış Celloidin blok.....	26
Şekil 3.3.	Golgi-Cox tekniği ile hazırlanmış kalıcı preparatlar.....	28
Şekil 3.4.	Hipokampusün DG kısmında bulunan bir granüler nöronun ışık mikroskopunda görünümü	29
Şekil 3.5.	Neurolucida programı ile nöron çizimi ve 3 boyutlu nöron görüntüsü	29
Şekil 4.1.	Dendrit dallanma sayısının, A, B ve C grupları arasında cinsiyete göre etkileşimi	32

Şekil 4.2.	Stres, cinsiyet ve hemisfer etkileşiminin, sol hemisfer üzerinde gösterimi	33
Şekil 4.3.	Stres, cinsiyet ve hemisfer etkileşiminin, sağ hemisfer üzerinde gösterimi	34
Şekil 4.4.	Dendrit uzunluğunun, A, B ve C grupları arasında cinsiyete göre etkileşimi.....	37
Şekil 4.5.	Toplam dendritik spine sayısının, A, B ve C grupları arasında cinsiyete göre etkileşimi	37



SİMGELER VE KISALTMALAR

ACTH	: Adrenokortikotropin hormonu
ATP	: Adenozin trifosfat
CA	: Cornu Ammonis, Hipokampüsün eski ismi
Ca ⁺⁺	: Kalsiyum iyonu
CA1	: Hipokampüs bölümlerinden biri
CA2	: Hipokampüs bölümlerinden biri
CA3	: Hipokampüs bölümlerinden biri
CA4	: Hipokampüs bölümlerinden biri
CRF	: Kortikotropin serbesleştirici faktör
Ç.Ü.	: Çukurova Üniversitesi
Dendritik spine	: Dendritik çıkıntı, sinaps bölgesi
DG	: Dentate Gyrus, Hipokampüs bölümlerinden biri
E	: Epinefrin
K ⁺	: Potasyum iyonu
Na ⁺	: Sodyum iyonu
NE	: Norepinefrin
O.V.G.Ü.	: Otto Von Guericke Üniversitesi



1. GİRİŞ

1.1. Stres ve Stresin İnsan Sağlığına Etkisi

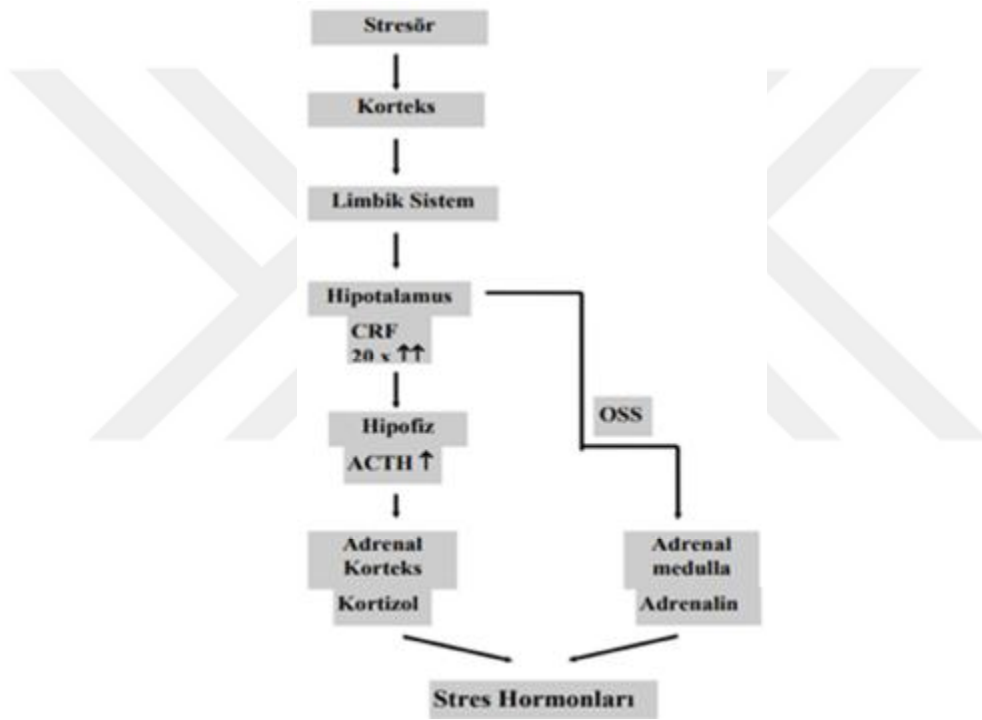
1.1.1. Stres Nedir?

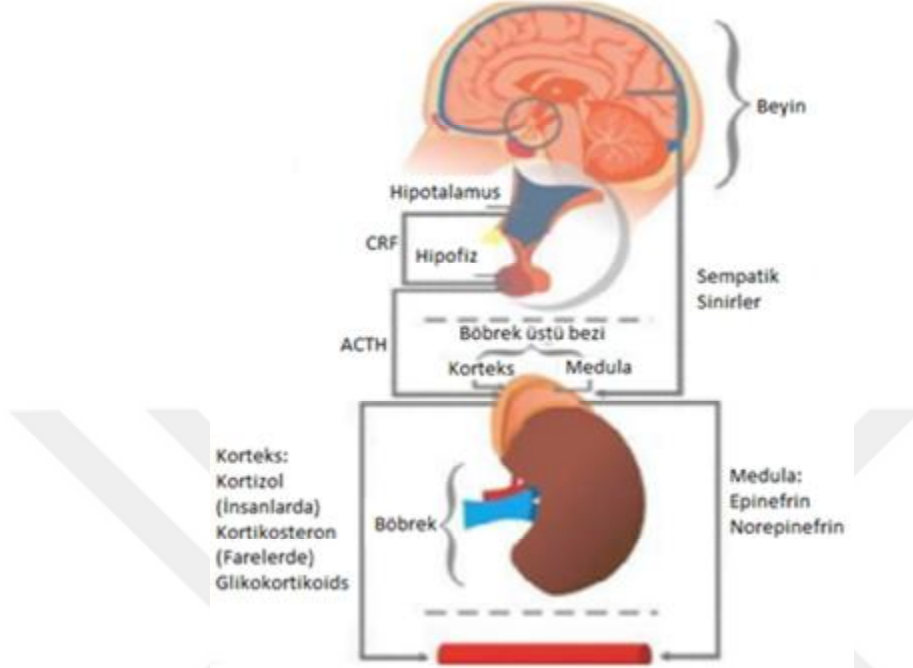
Günümüzde stres terimi, farklı çevrelerde, farklı şekillerde ifade edilse de, Hans Selye tarafından 1936 yılında yapılan ilk bilimsel tanımı şu şekildedir: Stres, herhangi bir etkiye veya değişime, vücudun spesifik olmayan tepkisidir (www.stress.org). Selye'ye göre stres, çeşitli çevresel uyaranlara karşı bireyin gösterdiği genel bir tepkidir. Çevresel etkiler iyi de olsa, kötü de olsa, ortamdaki etkilenen organizmanın vücudunda özel biyokimyasal değişimler oluşur (Güçlü, 2001). Selye, fiziksel ve duygusal endişe yaratacak çeşitli faktörler kullanarak, laboratuvar hayvanları üzerinde çok sayıda deney yapmıştır. Deneylerin hepsi, aynı patolojik bulgulara, adrenalin artışına ve lenfoid dokunun zarar görmesine işaret eder. Stresin kalıcı olması durumunda, insanlarda görülen kalp krizi, felç, böbrek hastalıkları ve romatoid artrit gibi çeşitli hastalıklara benzer hastalıkların, deney hayvanlarında da görüldüğünü tespit etmiştir. O yıllarda birçok hastalığa, sadece bakteri veya virüs gibi patojenlerin sebep olduğuna inanılmaktaydı. Ancak Selye, çok sayıda farklı travmaların, sadece hayvanlarda değil insanlarda da hastalıklara sebep olduğunu ileri sürmüştür (www.stress.org). Her hastalığın oluşumunda, stresin de rol oynadığını söyler. Kalıtım veya çevresel etkenler yüzünden, kısmen zayıf olan bir organ ya da sistem her zaman vardır ve genellikle stres altındayken bozulur. Bu sebeple Selye, aynı tip stres faktörleri altında, her bir bireyde farklı hastalıkların gelişebileceğini savunur (Kudielka ve Kirschbaum, 2007).

1.1.2. Stres Fizyolojisi

Günümüzde Selye'yi haklı çıkaran stres fizyolojisi çalışmaları, stres dolayısıyla artan kortizol hormonunun immün sistemini zayıflattığını söyler (Kocatürk, 2000; Yurdakoş, 2001).

Strese cevap olarak hipotalamustan, kortikotropin serbestleştirici faktör (CRF) salgılanır. CRF, hipofiz ön lobundan adrenokortikotropin hormonu (ACTH) salgılatır. ACTH hormonunun etkisi ile, böbreküstü bezi korteksinden (adrenal korteks) kortizol hormonu salınımı artar (Yurdakoş, 2001). Adrenal hormonlardan norepinefrin (NE) ve epinefrin (E) (adrenalin), kortizol ile birlikte salınımı artan hormonlar arasındadır (Kocatürk, 2000).





Şekil 1.1. Strese cevap (www.scienceaid.net/Stress_Response#cite_note-3)

Bu stres hormonlarının genel biyolojik etkileri (kanda glikoz ve yağ asitleri artışı, mental aktivitede ve kardiyak aktivitede artış, aktif organlara kan akımında ve kandaki oksijen seviyesinde artış, görme alanında artış, eritrosit ve mide salgısı artışı) sayesinde, vücut stres etmeni ile başa çıkmaya çalışır. Eğer stres etmeni çok güçlü ise veya uzun bir süreyi kapsıyorsa, organizma stres ile başa çıkamaz ve artan stres hormonlarının uzun süreli etkileri, psikosomatik hastalıklara sebep olur. Bu uzun süreli etki sırasında, kaslarda, lenfoid ve adipoz dokuda, deride ve kemikte protein yıkımı söz konusu olur. Periferal kanda, eozinofiller, lenfositler ve makrofajlar azalır. Mide salgısı artmasıyla ülser, uzun süreli kalp işlevi artışıyla kardiyak problemler, immün sistemin baskılanmasıyla bakteriyel ve viral enfeksiyonlar oluşabilir (Kocatürk, 2000; Yurdakoş, 2001).

1.1.3. Stresin Beyin ve Hipokampus İçin Önemi

Strese maruz kalınan dönem, gebelik süreci, bebeklik, çocukluk, ergenlik, yetişkinlik veya yaşlılık olabilir. Hangi dönem olursa olsun stres hormonlarına uzun süreli maruz kalınması, akıl sağlığı ve bilme yetisi de dahil olmak üzere beyin yapısını etkiler (Lupien ve ark., 2009).

Bununla birlikte beyinde spesifik bir etki oluşumu, genler ve geçmişteki çevresel sıkıntıların etkileşimine de bağlıdır (Lupien ve ark., 2009; Demirel ve ark., 2011).

Strese uzun süre maruz kalınması durumu, beynin hipokampus bölümünde fonksiyon bozukluklarına ve hafızada aksamalara sebep olabilmektedir. Hipokampus, kortizol reseptörlerince zengindir, olayların zaman ve yerinin hatırlanmasında ve kelime hafızasında önemli rol oynar. Glukokortikoidler de, reseptörleri sayesinde bu olayda görev alırlar. Akut stres döneminde kortizoldeki artış, kısa süreli hafıza problemlerine sebep olabilmektedir ve bu durumun genellikle geri dönüşü vardır. Ama kronik stres durumunda, stres süresince ve sonrasında glukokortikoidler ve nörotransmitter maddeler salınır. Bu durumda hipokampusün CA3 bölgesinde, piramidal nöronların dendritlerinde atrofi gelişebilir. Stres son bulursa bu durum gerileyebilir ancak aylar, yıllar süren stres durumlarında, hipokampal nöronların ölümü gerçekleşebilir (McEwen, 1998; Kocatürk, 2000).

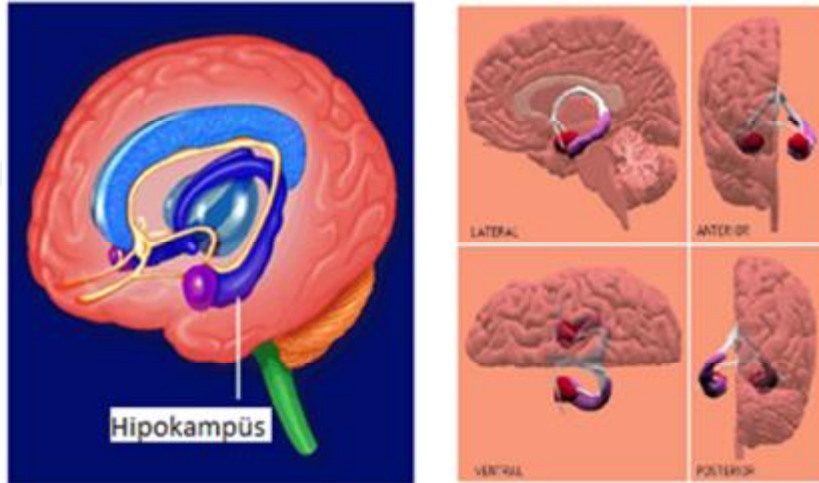
1.1.4. Stresin Bir Sonraki Kuşakta Etkisi

Stres, psikolojik kökenli hastalıkların en büyük risk faktörüdür. Stresin davranışsal ve nöro-endokrin sonuçları kalıcıdır, strese maruz kalmış bireylerin çocuklarında ve hatta torunlarında bile gözlemlenebilir (Van-IJendoorn ve ark.,2003; Yehuda ve Bierer, 2007; Sagi-Schwartz ve ark., 2008; Zaidan ve ark., 2013).

1.2. Hipokampüs ve Nöron

1.2.1. Hipokampüs Nedir?

Hipokampüs; hafıza, konumlama ve yön bulma, duygulanım, nöral plastisite gibi temel görevlere sahip olan, 5-8 cm uzunluğundaki, üzerinde çok sayıda araştırma yapılan ve filogenetik açıdan beynin en eski bölümlerinden olan bölgedir. Hipokampüs, singulat girus, hipotalamus ve amigdala, birlikte limbik sistemi oluşturur (Songur ve ark., 2001; İzci ve Erbaş, 2015). Yunanca ismi hipokampus olan denizatına, şekil itibari ile benzerliğinden dolayı bu ismi almıştır. Ancak eski ismi 'cornu ammonis' olan hipokampüsün bölümleri, bu isim sebebiyle CA1, CA2, CA3 ve CA4 kısaltmaları olarak kullanılmaktadır (Songur ve ark., 2001; İzci ve Erbaş, 2015; Dekeyzer ve ark., 2017)



Şekil 1.2. İnsan beyninde hipokampüs (Touretzky, 2013)

Hipokampüs, beyinde bir çok bölge ile ilişkisi bulunan, karmaşık bir yapıya sahiptir ve günümüzde fonksiyonları hala araştırılmaktadır. Her türlü duyuşsal uyarı (görme, işitme, dokunma, koku, iç organ duyuları vs.) hipokampüsü aktive eder. Hipokampüs de, talamus, hipotalamus ve diğer limbik sistem üyelerine sinyal gönderir. Böylece, limbik sistemi etkileyen hipokampüs, davranışların

şekillenmesine katkıda bulunur (Brodal, 1981; Songur ve ark., 2001) ve gelen duyuşal sinyalleri içerisinden geçiren bir kanal sistemi gibi düşünülebilir (Songur ve ark., 2001; İzci ve Erbaş, 2015).

Hipokampüsün hafıza, özellikle kısa süreli hafıza ile ilgili olduğu bilinir. Kısa süreli hafıza, yeni bilgilerin depolanmasını ifade eder ve hipokampüs olmadan anıların uzun süre kalıcı hale dönüşmesi mümkün değildir (Guyton, 1987; Songur ve ark., 2001; İzci ve Erbaş, 2015).

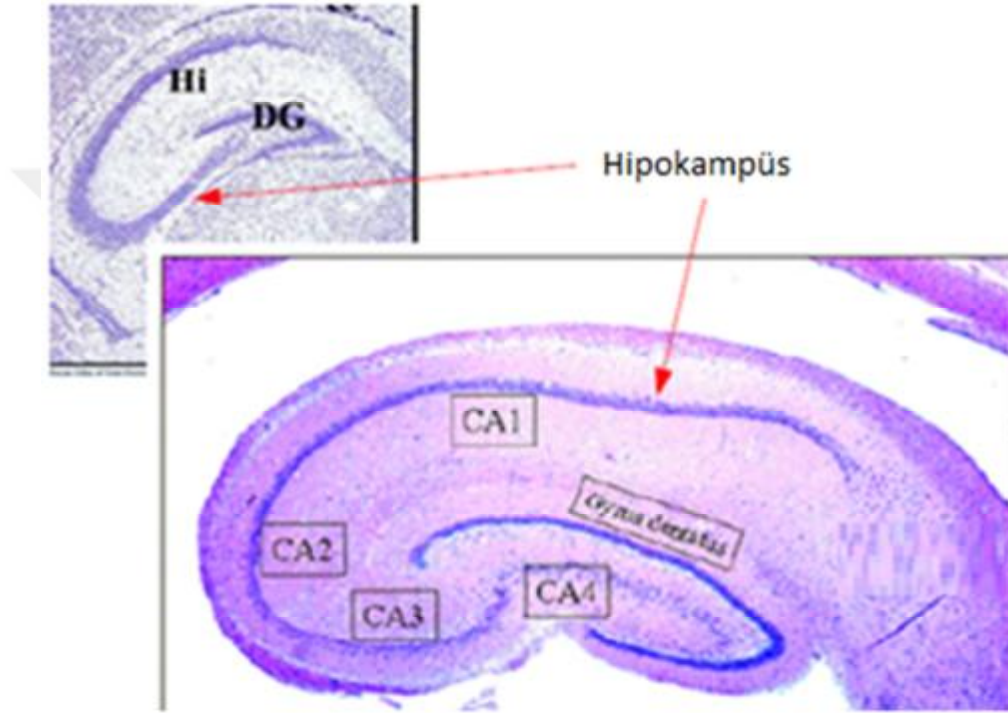
Epizodik hafıza, her gün yaşanan binlerce tecrübenin kaydedildiği hafızadır. Hipokampal bölgedeki yoğun bağlantı sisteminin yüksek kapasiteli epizodik hafıza üzerine katkısının büyük olduğu bilinmektedir (Rowland ve Moser, 2013).

Heyecan uyandıran reaksiyonlar veya heyecanın kontrolü, i organlara ait aktivitelerin düzenlenmesi ve endokrin fonksiyonu da hipokampüs fonksiyonları arasındadır (Songur ve ark., 2001; İzci ve Erbaş, 2015). Stres fizyolojisinde aldığı rol ile, endokrin fonksiyonu üzerinde durulmaktadır. Strese cevap olarak üretilen kortizol hormonu, kan yolu ile bütün vcoda yayıldıktan sonra beyinde, özellikle hipokampüsteki reseptörlere bağlanır. Hipokampüsteki reseptörler, yeterli miktarda kortizol ile bağlandığında, hipotalamus üzerinde negatif feedback etkisi yapar ve CRF (kortikotropin serbestleştirici faktör) salınımını inhibe eder. Bu yolla hipokampüs, kortizol belli bir seviyede tutarak stres cevabını düzenler. Hipokampüs yeterli oranda çalışabiliyorsa, stres reaksiyonu durdurulabilir. Ancak uzamış stres, hipokampüs işlevlerini bozabilir (Saransaari ve Oja, 1997; İzci ve Erbaş, 2015).

1.2.2. Hipokampüsün Yapısı

Hipokampüs; CA1, CA2, CA3, CA4 ve Dentate Gyrus (DG) adı verilen 5 bölümden oluşur. Bu bölümler, bünyelerindeki farklı dokular ve hücreler sayesinde yapısal olarak birbirlerinden ayrılırlar. Bu bağlamda yapısal farklılıklar, duyuşal iletilerin iletimi bakımından farklı görevler oluşturur. Nöronlar bakımından ise

ikiye ayrılır; CA (Cornu Ammonis) bölümlerinde piramidal nöronlar bulunurken, DG (Dentate Gyrus) bölümünde granüler nöronlar vardır (Songur ve ark., 2001; Touretzky, 2013; İzci ve Erbaş, 2015; Dekeyzer ve ark., 2017; www.nba.uth.tmc.edu/neuroscience/s4/chapter05.html).

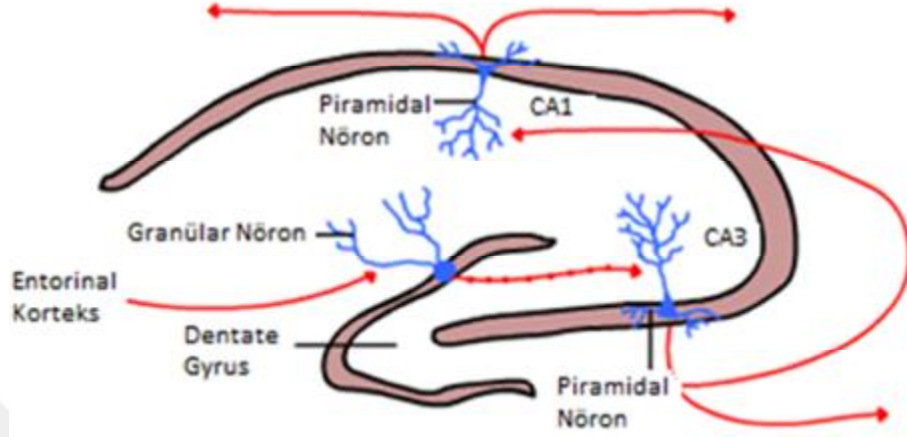


Şekil 1. 3. Hipokampus bölümleri (Touretzky, 2013)

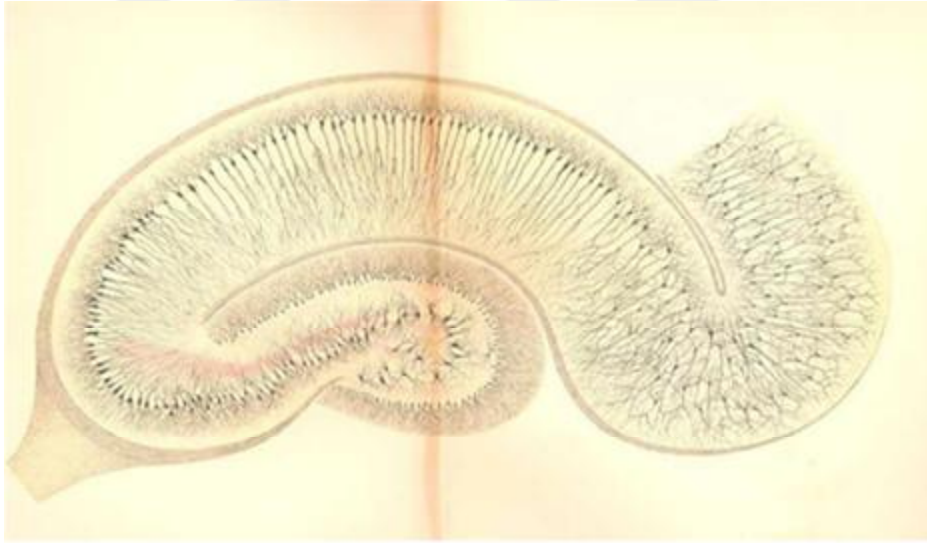
Hipokampüste duyuşsal uyarıları içeren bilgi iletimi, 3 temel yol ile olur. Şekil 1.5.'de şematize edildiği gibi bu 3 yol:

- Entorinal korteksten DG'daki granüler nöronlara
- Granüler nöronlardan, CA3'deki piramidal nöronlara
- CA3 ve CA2'den, CA1'deki piramidal nöronlara doğru uyarı iletimi sağlar

(Pan ve Rutecki, 2009; www.nba.uth.tmc.edu/neuroscience/s4/chapter05.html).



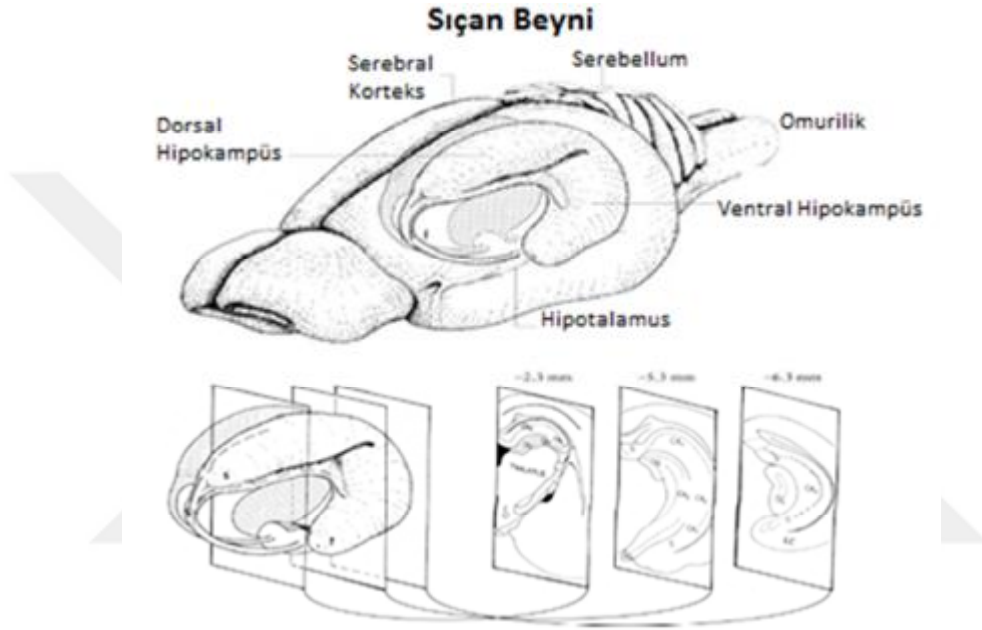
Şekil 1.4. Hipokampüsün bölümleri ve uyarı iletim yolları (www.nba.uth.tmc.edu/neuroscience/s4/chapter05.html)



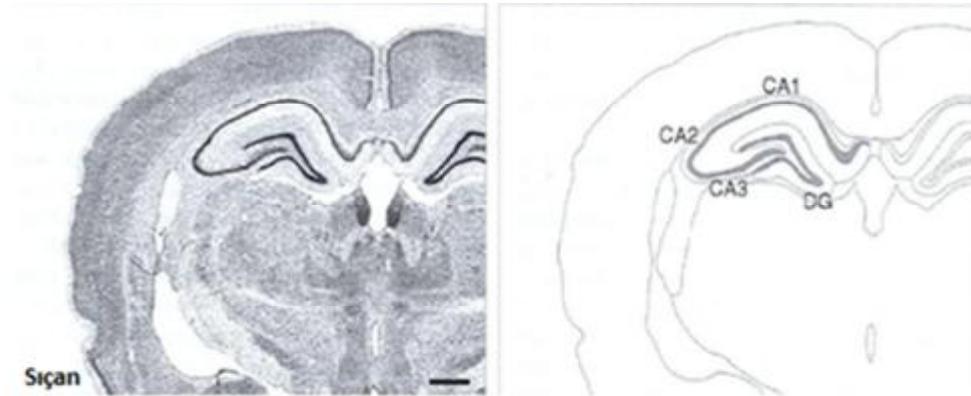
Şekil 1.5. Camillo Golgi'nin çizimi hipokampüs ve nöron yapısı (Golgi, 1903)

Hipokampüs günümüzde en çok laboratuvar ve klinik çalışmaları yapılan beyin bölümüdür (İzci ve Erbaş, 2015). Temel bilimsel çalışmalar için ideal bir model sistemdir. Özellikle öğrenme, hafıza ve navigasyon alanlarındaki öneminin keşfiyle, Alzheimer ve epilepsinin birçok formu ile olan bağlantısı da, dikkatleri

üzerine çeker (Fröhlich, 2016). Deneysel çalışmalar en çok kemirgenler, özellikle de deney sıçanları üzerinde yapılmaktadır. Sıçan (rat) hipokampüsü, insan hipokampüsünden 100 kat daha küçüktür ve sıçan beyni bir üzüm tanesi büyüklüğündedir (İzci ve Erbaş, 2015).



Şekil 1.6. Sıçan beyninde hipokampüs ve bölümleri (Cheung ve Cardinal, 2005)

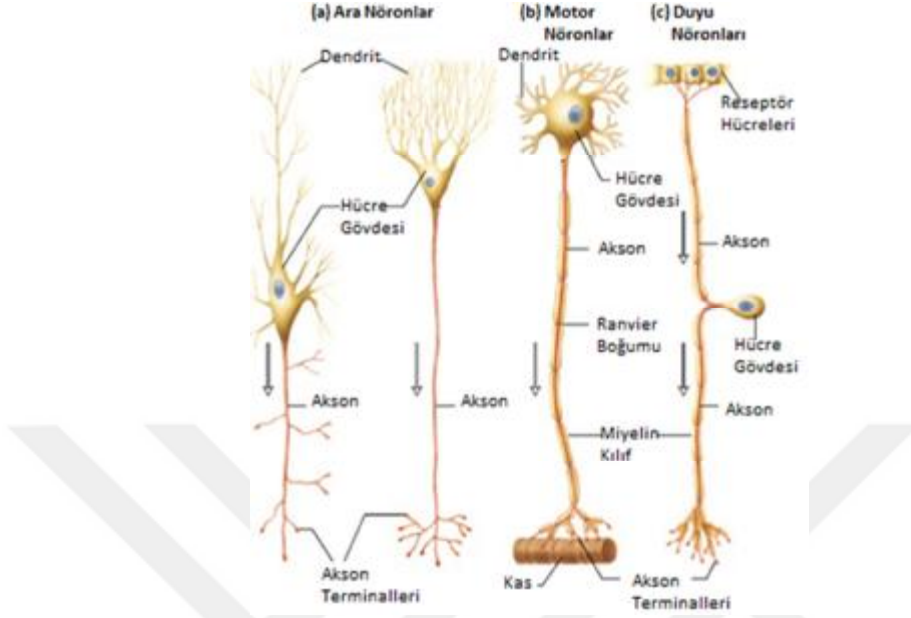


Şekil 1.7. Sıçan beyninden alınmış kesitte hipokampüs ve bölümleri (Touretzky, 2013)

1.2.3. Nöron Nedir?

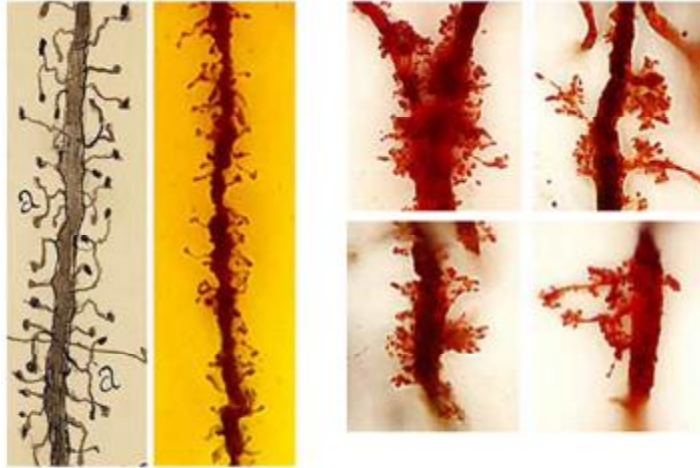
Çok hücreli organizmalarda farklı hücreler ve dokular arasındaki iletişimi, endokrin sistem sağlar ve bu hormonal iletişim, hedef hücrelerin kimyasını değiştirme yeteneğine sahip moleküler haberciler tarafından başlanır. Ancak bu sistem, çevreden gelen duyuşsal bilginin birleştirilmesi açısından çok yavaştır. Bu organizmalarda elektriksel iletişim, bu gereksinimi karşılamak amacıyla gelişmiştir. Ve bu noktada devreye sinirsel kontrol ve sinir hücreleri girer (Keeton ve ark., 2004; www.britannica.com/science/nervous-system).

Nöron adı verilen özelleşmiş sinir hücrelerinin, tek hücreli ökaryotlardan evrimleştiği düşünülür. Bu konuda görüşler ne olursa olsun, bütün nöronlar aynı işlevsel organizasyona sahiplerdir. Doğrudan çevreden, diğer nöronlardan veya her ikisinden birden bilgi toplama, ve bunu diğer nöronlara, kas hücrelerine ve salgı hücreleri gibi hedef hücrelere aktarma yetenekleri vardır. Tipik bir nöron; içinde çekirdeği bulunan genişlemiş bir hücre gövdesi, genellikle bilgileri alan dendrit isimli uzantılar ve bilginin diğer hücrelere iletiildiği aksonlardan oluşur. Aksonların sonundaki özelleşmiş son uçlar, sinyalleri hedef hücrelerin dendritlerine (ve omurgalılarda hücre gövdesine) aktarırlar. Dendritler genellikle çok sayıdadır ve dallanma yapıp saçaklı bir görünüşe sahip olurlar. Bunlar belki binlerce başka hücreden sinyal alabilirler (Keeton ve ark., 2004).



Şekil 1. 8. Farklı tiplerdeki (a: ara nöronlar, b: motor nöronlar, c: duyu nöronları) nöron yapıları (Lodish ve ark., 2000)

Dendritlerin üzerinde dendritik çıkıntı (dendritic spine) denilen yapılar vardır ve aksonun özelleşmiş uçları bu bölgelerde sinaps adı verilen bağlantılar kurar (Nergiz, 2012).

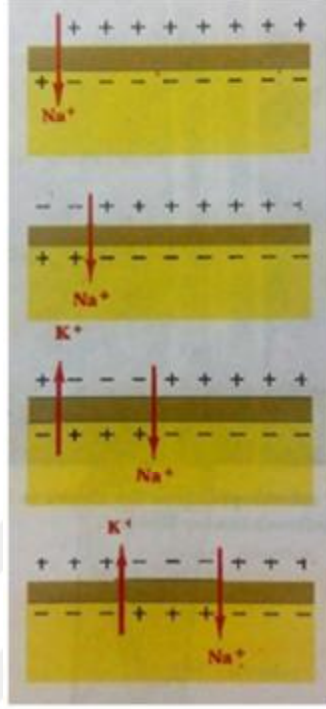


Şekil 1.9. Dendritik çıkıntı (dendritic spine) (Defelipe, 2015)

Aksonlar genellikle her nöronda bir tane ve dendritlerden daha uzundur. Onlar da çok sayıda dallanma göstermelerine karşın ağısı bir görüntüleri yoktur (Keeton ve ark., 2004).

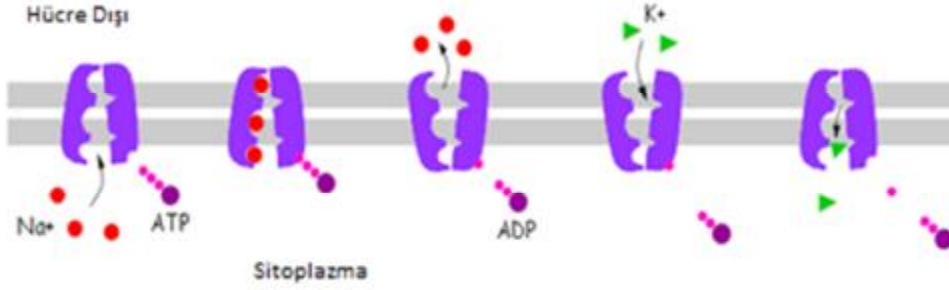
1.2.4. Nöron Fizyolojisi

Görevi kısaca bilgi iletimi olan nöronların, elektriksel bir akım ile bunu sağladıkları keşfedilmiştir ve bu akıma impuls adı verilir. Bir sinir impulsunun iletimi, Na^+ ve K^+ iyonlarının hücre zarındaki elektrostatik gradiyentine ve zarın geçirgenlik değişikliğine bağlıdır. Dinlenme durumundaki bir sinir telinin içerisinde yüksek bir K^+ iyonu derişimi vardır ancak hücre dışında daha da yüksek bir Na^+ iyonu derişimi bulunur. Bu sebeple hücre içi, hücre dışına göre (-) yüklüdür. Sinir teli uyarıldığında, hücrenin Na^+ iyonlarına olan geçirgenliği artar ve çok sayıda Na^+ iyonu hücre içine geçer. O noktada hücre içi elektriksel yükü (+) olurken, hücre dışı (-) yüklenir. Polarizasyonun tersine dönmesi komşu noktaları da etkiler ve aynı geçirgenlik değişimleri komşu noktalarda da başlar. Hücre içindeki (+) iyon fazlalığından dolayı içerdeki K^+ iyonları dışarı çıkmaya başlar. K^+ iyonlarının dışarı çıkması ile hücre içi tekrar negatif yüklü olur. Na^+ ve K^+ iyonlarının yer değiştirmesi ve bunun sinir teli boyunca devam etmesi impuls iletimidir.



Şekil 1.10. Bir sinir impulsunun iletilme modeli (Keeton ve ark., 2004)

Her impuls iletiminden sonra nöronlar çok kısa bir süre içinde difüzyon ve elektrostatik çekim ile eski hallerine dönerler ve bu kısa dinlenme süresinden sonra (0.5-2.0 milisaniye civarı) yeni bir impuls iletebilirler. Na^+ ve K^+ iyonları yer değiştirdikten sonra buldukları nispeten büyük hacim içerisinde difüzyon ile dağılırlar ve hücre içindeki elektrostatik gradiyent yeniden kurulur. Bu dinlenme süreci, nöronun impuls iletmeye yeteneğini koruması açısından önemlidir. Fakat difüzyon ve elektrostatik çekim, nöronun işlevini koruması açısından kısa dönemli çözümlerdir. Uzun dönemli olay ise aktif transport içeren sodyum – potasyum pompasıdır. Hücre, bünyesindeki fazla Na^+ iyonlarını hücre dışına gönderirken, kaybettiği K^+ iyonlarını da hücre dışından alır ve bunu sağlamak için ATP harcar (Keeton ve ark., 2004).



Şekil 1.11. Sodyum – potasyum pompası

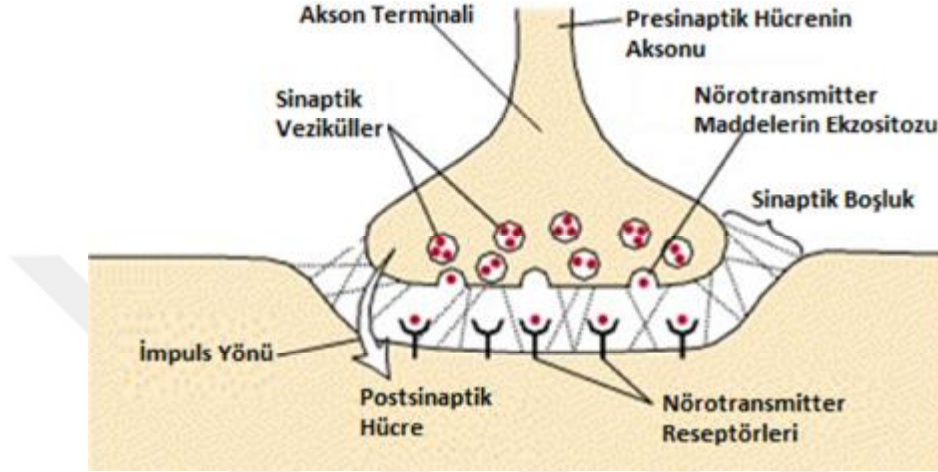
(www.apsubiology.org/anatomy/2010/2010_Exam_Reviews/Exam_1_Review/Ch03_Active_Transport.htm)

Bir impuls bir nöron aksonu boyunca iletdikten sonra, aksonun son ucu olan sinaptik uçlara gelir. Bir aksonun son ucu çok sayıda dallanma yaptığı için, bir nöron birçok başka nöronla sinaps yapabilir ve genellikle bu nöronların her biriyle çok sayıda noktada sinaps yapar.

Sinaptik uçlara gelen impuls 2 yol ile iletilir. Az sayıda olmak üzere, bazen sinaptik uç ile, bununla temasta olan hücre zarı arasında bir iletim bölgesi bulunur. Bu bölge, iki nöron arasında doğrudan bir elektriksel iletim sağlar ve impulslar bu şekilde çok hızlı bir şekilde iletilirler. Elektriksel sinapslar, sinir sisteminde iletim hızının çok önemli olduğu yerlerde görülürler.

İmpuls iletiminin çoğunlukta olan diğer yolu ise kimyasal sinapslardır. Birinci nöronun sinaptik ucu ile ikinci nöronun zarını ayıran, yaklaşık 20 nm genişliğindeki boşluğa sinaptik aralık adı verilir. Bu boşlukta iletim, aksonun son ucunda yer alan sinaptik veziküllerden salınıp difüzyon ile diğer hücreye geçen transmitter kimyasal moleküller sayesinde gerçekleşir. Binlerce vezikülün her birinde, 10.000'lerce transmitter madde vardır. Akson boyunca ilerleyen impuls, sinaptik uca ulaştığında, son uçtaki hücre zarı Ca^{++} iyonlarına daha geçirgen olur. Sinaps bölgesinde yoğunlaşmış olan Ca^{++} iyonları ise, son uçtaki sinaptik vezikülleri uyarır ve veziküller egzozitoz yaparak içerisindeki transmitter maddeleri sinaptik boşluğa bırakırlar. Transmitter moleküller, sinaptik boşlukta ve diğer hücrenin (postsinaptik) zarında difüzyon ile ilerler. Sonunda bu moleküller,

postsinaptik hücrenin zarında potansiyel değişikliğine sebep olarak yeni bir impuls yaratırlar (Lodish ve ark., 2000; Keeton ve ark., 2004).



Şekil 1.12. Kimyasal sinaps modeli (Lodish ve ark., 2000)

Transmitter maddeler şunlardır: Asetilkolin, bazı amino asitler (glisin, glutamat, aspartat, GABA), epinefrin (adrenalin), norepinefrin (noradrenalin), serotonin, histamin, dopamin (Lodish ve ark., 2000; www.britannica.com/science/nervous-system/Active-transport-the-sodium-potassium-pump#ref606428).

Daha önce bahsedildiği gibi, kronik stres durumunda glukokortikoidler ve nörotransmitter maddelerin salınımı artar ve stres sonrasında bile devam eder. Bu durumda hipokampusün CA3 bölgesi piramidal nöronların dendritlerinde atrofi gelişebileceği, yıllar süren stres durumlarında, hipokampal nöronların ölümünün gerçekleşebileceği keşfedilmiştir (McEwen, 1998; Kocatürk, 2000). Aynı şekilde, uzun süren stresin sinapslarda Ca^{++} mekanizmasını bozduğu bilinir (Kocatürk, 2000).

Nörotransmitter madde salınımının artışı, sürekli bir impuls uyarımını beraberinde getirir ve tüm moleküler mekanizmayı bozar. Bu durumun sürekliliği,

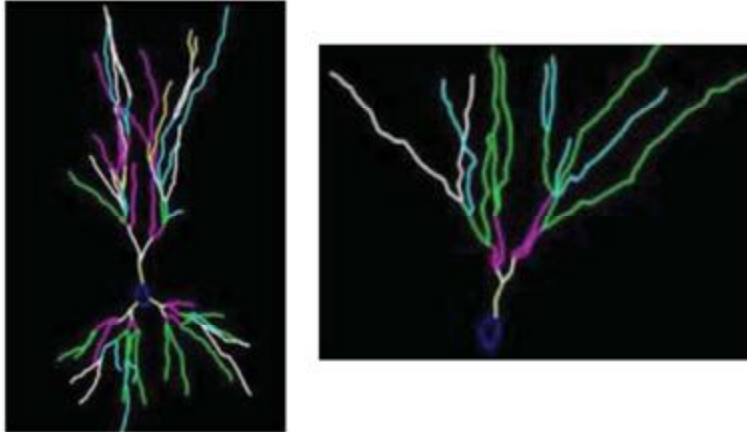
nöron kaybına ve buna bağlı olarak hipokampus fonksiyonlarında aksamalara sebebiyet verecektir.

1.2.5. Hipokampüsteki Nöron Çeşitleri

Nöronlar genellikle görevlerine göre ve yapılarına göre olmak üzere çeşitli sınıflandırmalara tabi tutulurlar. Duyu, ara ve motor nöron sınıflandırması, görevlerine göre yapılan isimlendirmedir. Hücre morfolojisine göre ise; unipolar, psödounipolar, bipolar ve multipolar olmak üzere 4 kategoriye ayrılır (www.qbi.uq.edu.au/brain/brain-anatomy/types-neurons; www.faculty.washington.edu/chudler/cells.html).

Bunun yanı sıra, beyinde bulunan nöronları sınıflandırmak çok da kolay değildir. Buldukları bölgelere göre farklı görevlerde ve yapıdadırlar. Bazı beyin nöronları motor nöron, bazıları ise duyu nöron fonksiyonları gösterir; yanı sıra henüz sınıflandırılmayan, geniş çeşitliliğe sahip beyin nöronları mevcuttur (www.qbi.uq.edu.au/brain/brain-anatomy/types-neurons).

Hipokampüste piramidal ve granüler nöron adı verilen iki çeşit nöron ve internöronlar bulunur (Songur ve ark., 2001; Pan ve Rutecki, 2009; İzci ve Erbaş, 2015; Dekeyzer ve ark., 2017).

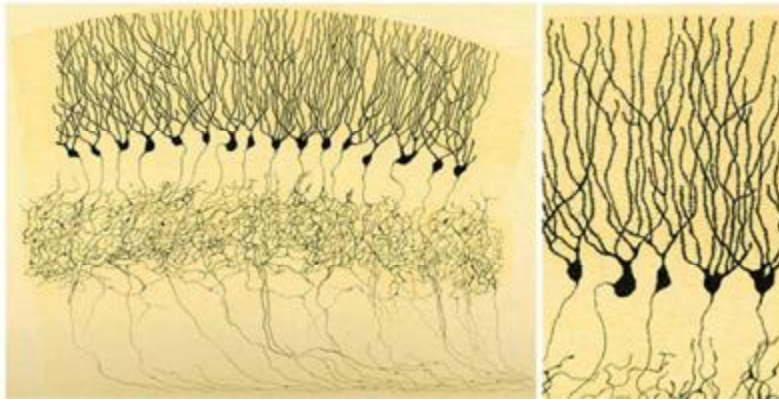


Şekil 1.13. Piramidal Nöron (sol) / Granüler Nöron (sağ) (Bock ve ark., 2011)

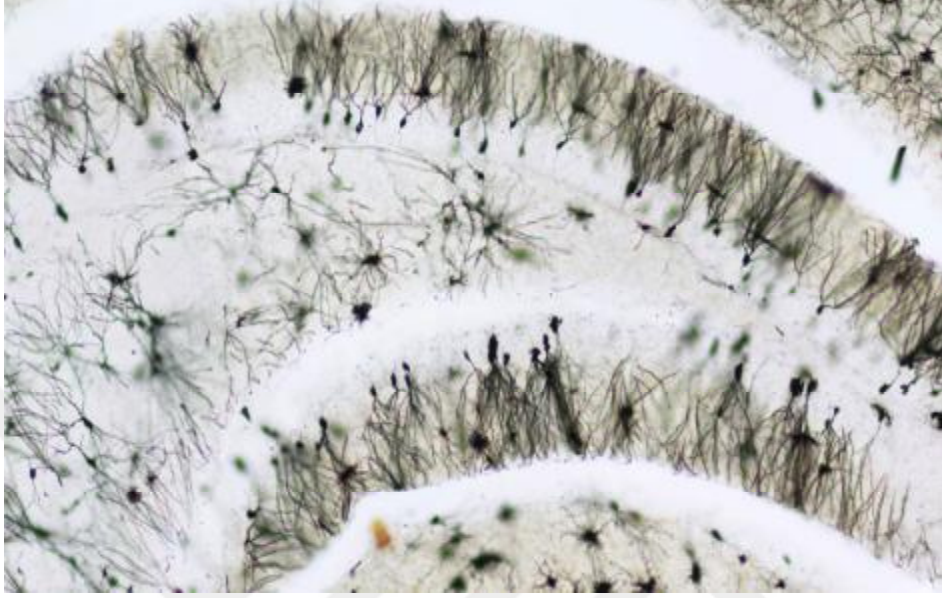
Piramidal nöronlar CA bölgelerinde bulunan, şekilleri itibari ile bu ismi alan nöronlardır. Granüler nöronlar ise, hücre gövdesinden genellikle bir dendrit dalı çıkması ve sonra bu dendritin kendi içinde dallandığı bir yapıya sahip olması özelliği ile, ve görev farklılığı ile, piramidal nöronlardan ayrılırlar ve DG bölümünde bulunurlar (Pan ve Rutecki, 2009; Dekeyzer ve ark., 2017; www.nba.uth.tmc.edu/neuroscience/s4/chapter05.html).



Şekil 1.14. CA1 Pramidal nöron (Touretzky, 2013)



Şekil 1.15. Granüler nöronlar (Defelipe, 2015)



Şekil 1.16. DG’de granüler nöronlar (www.mbfbioscience.com/blog/2013/08/drug-treating-asthma-improves-cognitive-function-syndrome-mouse-model/)

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Kocatürk (2000), Yaşlı sıçanlar üzerinde yaptığı uzun süreli stres çalışmasında, hipokampal piramidal nöronlarda kayıplar olduğunu, CA1 bölgesinde kalsiyum bağımlı mekanizma ile piramidal nöronlarda yıkımlar olabildiğini saptamıştır.

Mcewen (1998), Yetişkin sıçanlarda uzun süreli stres durumlarında glukokortikoidlerin, hipokampüste kalsiyum akımını kuvvetlendirerek hipokampal piramidal nöronlarda kayıplara ve yıkımlara neden olup bu tür etkilere aracılık ettiğini deneysel olarak göstermiştir.

Xie ve ark. (2013), Erken çocukluk dönemi stresinin, prefrontal kortekste ve hipokampus gibi limbik sistem bölgelerinde, belirgin yapısal değişikliklere (dendritik spine yoğunluğu gibi) neden olduğunu ve hipokampus CA3 piramidal nöronlarda, dendritik spine sayısını ve dallanma sayısının arttırdığını tespit etmişlerdir.

Bock ve ark. (2011), Gebelik sırasında var olan stresin, yavrularda sebep olduğu nöron değişimlerinin araştırıldığı bir çalışmada; hipokampusün CA1 bölgesinde bulunan piramidal nöronların dendritik spine (çıkıntı) yoğunluğunun erkek yavrularda arttığını, hipokampusün Dentate Gyrus (DG) bölgesinde bulunan granüler nöronların dendritik spine yoğunluğu, dendrit uzunluğu ve dendrit dallanma sayısının ise, erkek ve dişi yavrularda zıt yönlerde değiştiğini göstermişlerdir.

Weinstock (2008), Bireyin erken çocukluk döneminde sahip olduğu stresin bireyde ve gebelik süresince annenin maruz kaldığı stresin yavrularda, davranışsal ve nöro-kimyasal etkilerinin olduğunu açıkça belirtmiştir.

Leshem ve Schulkin (2012) , Gebelikten iki hafta önce strese mağruz bırakılmış dişi sıçanların yavrularında; duygusal, öğrenme ve sosyal davranışların cinsiyete göre farklı şekillerde değiştiğini açıklamışlardır.

Li ve ark. (2009) , Gebelik öncesi strese mağruz bırakılmış dişi sıçanların erkek yavrularında sükröz alımının azaldığını, zevk alamama ve depresyon semptomları gösterdiklerini bulmuşlardır.

Dietz ve ark. (2011), Gebelik öncesi strese mağruz bırakılmış dişi sıçanların yavrularında, sosyal davranış bozukluğu ve depresyon semptomlarının görüldüğünü, iki cinsiyette de endişe ve depresyon yanlısı davranışlar olduğunu gözlemlemiştir.

Zaidan ve ark. (2013), Strese cevap olan CRF1 (CRF-tip1) molekülünün mRNA ifadesinin artışı, gebelik öncesi beklenmedik kronik strese maruz kalan dişi sıçanların ön-kortekslerinde ve olgun oositlerinde görülmüş olup bu sıçanların yeni doğan yavrularının beyinlerinde de CRF1 ifadesinin artışı olduğunu, yavrular yetişkin olduğunda ise davranış biçimlerinin cinsiyete göre değişiklik gösterdiğini bulmuşlardır.

Bock ve ark. (2016), Gebelik öncesi stresin, mediyal prefrontal kortekste, dendritik spine ve dendrit uzunluğu gelişimi üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; yavruların nöron morfolojisinde oldukça kompleks değişiklikler olduğunu keşfetmiştir ve bu değişikliklerin yetişkinlik döneminde de kalıcı olduğunu tespit etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada; stres faktörünün, cinsiyet ve beyin yarım küreleri dikkate alındığında mediyal prefrontal kortekste, dendrit uzunluğunun, erkek yavruların sol yarımkürelerinde daha fazla olduğu ortaya konulmuştur.

Gebelik öncesi stresin, yavrularda mediyal prefrontal kortekste cinsiyete göre farklı nöromorfolojik değişimler ortaya koymasının tespiti ile (Bock ve ark., 2016), aynı stres faktörlerinin, yavrularda hipokampus nöronlarına morfolojik etkisi olabileceği düşünülmüştür. İlk kez yapılan bu çalışma, gebelik öncesi strese sahip dişi sıçanların yavru hipokampuslarının DG bölümündeki granüler nöronların, dendrit uzunluklarının, dendrit dallanma sayısının ve toplam dendritik spine sayısının hesaplanmasını; stres ve kontrol gruplarının cinsiyete ve hemisfere

göre karşılaştırılmasını amaçlamıştır. Eğer nöromorfolojik farklar var ise, bu çalışma gelecekteki birçok epigenetik çalışmaya ışık tutmayı amaçlar.

“Söz konusu nöromorfolojik değişikliklerin, hipokampüsün fonksiyonuna etkisi nedir, nöronun morfolojisinin değişiminin altında yatan hormonal ve genetik sebepler nelerdir, stres yavrulara nasıl bir mekanizma ile aktarılmıştır ve onların nöron gelişimini etkilemiştir, cinsiyetin tüm bunlara etkisi nasıl olur, hafıza problemleri, davranış bozuklukları ve mental hastalıkların sebeplerine etkisi nedir” gibi sorulara cevap olabilecek gelecek çalışmalara yol gösterecektir.





3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Materyali

Bu çalışmada, Sprague-Dawley suşu, laboratuvar sıçanları (*Rattus norvegicus* (www.ratbehavior.org)) kullanılmıştır. Taşıma stresinden kaçınmak amacıyla sıçanlar, Harlan Laboratories Inc. İsrail’de (www.harlanisrael.com) doğmuş, büyümüş ve çiftleştirilmiştir.

11 Adet dişi bireyden oluşan kontrol grubu ve 24 adet dişi bireyden oluşan deney grubu olmak üzere, 35 adet dişi sıçan belirlenmiştir. 4’lü gruplar halinde, 56 cm X 35 cm X 19 cm-yükseklik ebatlarındaki kafeslerde büyütülmüştür. Sıcaklık 22±/ 2 °C’ ye sabitlenmiş ve gündüzleri 12 saat yapay ışık verilmiştir. Sıçanlar 180-200 gr ağırlığa ulaştıktan sonra deney yöntemi (stres uygulaması) uygulanmış ve çiftleştirilmişlerdir. Doğumdan 24 saat sonra yavrular, erkek ve dişi sayısı yaklaşık olarak eşit olacak şekilde, 10’lu gruplar halinde ayrılmışlardır ancak 30 güne kadar süttten kesilmezler. 30 gün boyunca rahatsız edilmeden büyütülmüşlerdir ve bu durum, 21 günde süttten kesilen sıçanlarla karşılaştırıldığında, daha stressiz ve meraklı yavrular elde edildiği anlamına gelir. 30 Günlük yavrular süttten kesilmiş ve 4-6 adet aynı cinsiyete sahip yavru, benzer özelliklerdeki yeni kafeslere alınmıştır (Bock ve ark., 2016).

3.1.2. Kimyasallar ve Araçlar

Kullanılan kimyasallar; Potasyum kromat (%5), Potasyum dikromat (%5), Civa diklorür (%5), Eter, Celloidin (%8), Kloroform, Phenylendiamin (%0,5), Dektol (%1), Tetenal (%5), Amonyum hidroksit (%28), Etanol (%70, %90, %96, %100), Propanol (%100), Xylol ve Eukitt olup, tamamı Sigma-Aldrich tarafından temin edilmiştir (Glaser ve Van der Loos, 1981; Vincent ve ark., 2004).

Preparat hazırlığı için mikrotom, 24'lük plate, mikropipet, pens ve lam; nöron analizi için ışık mikroskobu ve immersion yağı kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Stres Uygulamaları

Daha önce hiç çiftleşmemiş olan, 35 adet genç dişi sıçan belirlenir ve stres uygulamaları için 3 gruba ayrılır.

- A grubu: 11 Adet kontrol grubu
- B grubu: 15 Adet deney grubu – 1 Hafta boyunca strese maruz bırakıldıktan hemen sonra çiftleştirilir.
- C grubu: 9 Adet deney grubu – 1 Hafta boyunca strese maruz bırakıldıktan 2 hafta sonra çiftleştirilir.

Ortalama 60 günlük olan genç yetişkin dişi sıçanlardan B ve C grubu, 1 hafta boyunca beklenmedik ve değişken strese maruz bırakılmıştır.

Her biri ayrı ayrı, birbirini izleyen günlerde olmak üzere uygulanan stres faktörleri şöyledir:

- Ø 15 Dakika ılık suda yüzmeye zorlama (22 °C), 15 dk soğuk suda yüzmeye zorlama (15 °C) ve ardından ısıtma
- Ø 24 Saat yalnız bırakma
- Ø 24 Saat aç ve susuz bırakma
- Ø 24 Saat sabit ışık altında bırakma
- Ø 1 Saat aralıklarla, 3 kere 30 dk boyunca yükseltilmiş bir platform üzerinde tutma
- Ø 30 Saniye aralıklarla, 10 kere 1 sn boyunca 0,5 mA elektrik şoku uygulama

- Ø 24 Saat sabit ışık altında ve 8 dişi aynı kafese koyulmak suretiyle kalabalıkta bırakma (56 cm X 35 cm X 19 cm yükseklik)
A Grubu (kontrol), strese maruz bırakılmamıştır.

Bütün dişilerin ağırlığı günlük olarak kaydedilmiştir ve dişiler çiftleşmek üzere erkek bireylerle bir araya getirildiğinde, bütün gruplardaki dişilerin vücut ağırlıkları büyük farklılıklar göstermemiştir. Dişiler çiftleşmeleri için, 5 gün boyunca erkek bireylerle birlikte tutulmuştur.

Doğumdan sonra yavrular, stresin minimum seviyede tutulduğu şartlarda, yetişkin olana kadar büyütülmüştür (Bock ve ark., 2016).

3.2.2. Nöromorfolojik Çalışmalar

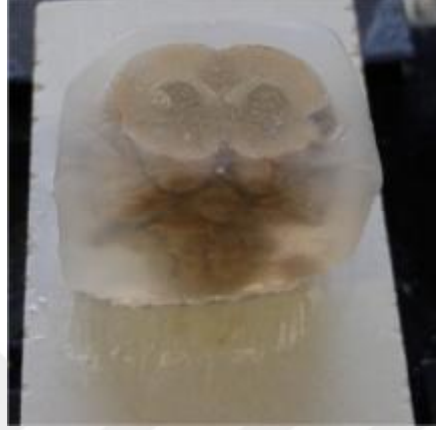
Doğumdan 65 gün sonra, genç yetişkin halde olan yavruların beyinleri alınmıştır. Bu yavruların sayı ve cinsiyet bakımından, gruplara göre dağılımı şu şekildedir:

- A grubu: 5 erkek, 6 dişi yavru
- B grubu: 6 erkek, 6 dişi yavru
- C grubu: 6 erkek, 6 dişi yavru

3.2.2.1. Fiksasyon

Alınan beyinler, Golgi-Cox solüsyonu (%5 Potasyum kromat, %5 Potasyum dikromat, %5 Civa klorür) içerisine koyulmuş ve 14 gün karanlıkta bekletilerek fikse edilmiştir. İlk 48 saat sonra Golgi-Cox solüsyonu değiştirilir. 4 Saat %100 etanol ve eter karışımında bekletilerek dehidre edilir. Ardından %8'lik Celloidin içerisine gömülür. Birkaç saat kloroform ile sertleştirildikten sonra, mikrotomda kesit almayı kolaylaştırmak adına, sert Celloidin bloklar elde edilmiş

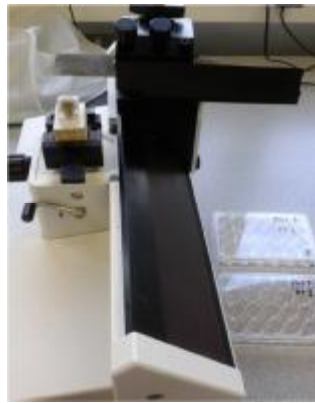
olur. Ve bu bloklar, %70'lik alkol içerisinde, +4 °C'de, preparat hazırlanana kadar muhafaza edilebilir (Glaser ve Van der Loos, 1981; Vincent ve ark., 2004).



Şekil 3.1. Celloidin blok içinde sıçan beyni (hipokampüs kısmından kesilmiş hali ile)

3.2.2.2. Preparat Hazırlama

Beyinlerin hipokampüs bölümlerinden, mikrotom kullanarak 150 µm kalınlığında, celloidin bloğun enine olacak şekilde kesitler alınır. Alınan kesitler, her numune için 500 µl olacak şekilde, %70'lik etanol içerisinde plate'lere koyulur.



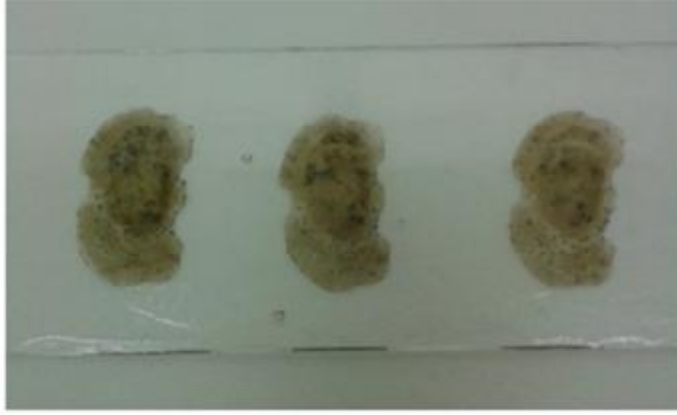
Şekil 3.2. Mikrotom ve kesit almaya hazırlanmış Celloidin blok

Glaser ve Van der Loos tarafından modifiye edilmiş (1981) Golgi-Cox protokolü kullanılarak, mikroskopta incelenmek üzere preparatlar hazırlanır (Bock ve ark., 2016). Buna göre uygulanan protokol şu şekildedir:

** Her adımda, her bir numune için 500 µl sıvı olacak şekilde uygulama yapılır.

- 1) 150 µm kalınlığında kesitler alınır ve %70'lik etanol içerisine koyulur.
- 2) 2 Kez 5'er dakika distile suda bekletilir.
- 3) 1 Saat, %28'lik Amonyum hidroksit (NH₄OH) solüsyonunda, plate'in kapağı kapalı bir biçimde bekletilir.
- 4) %0,5'lik Phenylendiamin çözeltisi, kullanımdan hemen önce, her numune için 500 µl solüsyon olacak miktarda hazırlanır. Önce 1dk, sonra 4dk bekletilir.
- 5) 2dk distile suda bekletilir.
- 6) %1'lik Dektol çözeltisi, kullanımdan hemen önce, her numune için 500 µl solüsyon olacak miktarda hazırlanır. 2dk bekletilir.
- 7) 1dk distile suda bekletilir.
- 8) %5'lik Tetenal çözeltisi, kullanımdan hemen önce, her numune için 500 µl solüsyon olacak miktarda hazırlanır. 10dk bekletilir.
- 9) 3 Kez 5'er dakika distile suda bekletilir.
- 10) %70 Etanol içerisinde 3dk bekletilir.
- 11) %90 Etanol içerisinde 10dk bekletilir.
- 12) %96 Etanol içerisinde 10dk bekletilir.
- 13) %100 Propanol içerisinde 10dk bekletilir.
- 14) Xylol içerisinde 5dk bekletilir.
- 15) Numuneler 2 lam arasına, hava almayacak şekilde Eukitt ile birlikte yerleştirilir. Eukitt, hem 2 lam arasındaki destek materyalidir, hem de numunenin katılaşp sabitlenmesini sağlar. Bu sayede, kalıcı histolojik

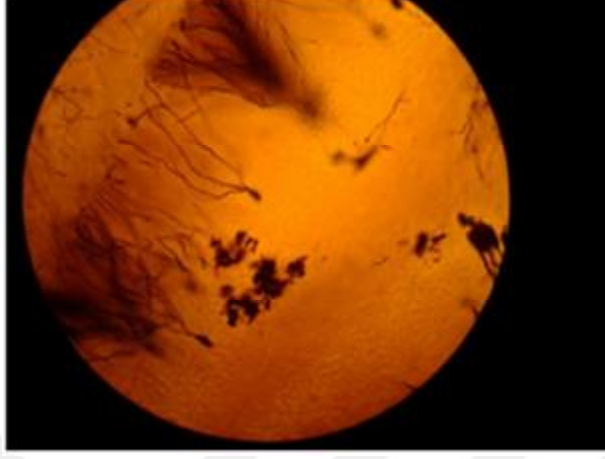
preparat hazırlanmış olur. Preparatlar 1 gün kurumaya bırakılır, daha sonra kapalı kutuda karanlıkta muhafaza edilir.



Şekil 3.3. Golgi-Cox tekniği ile hazırlanmış kalıcı preparatlar

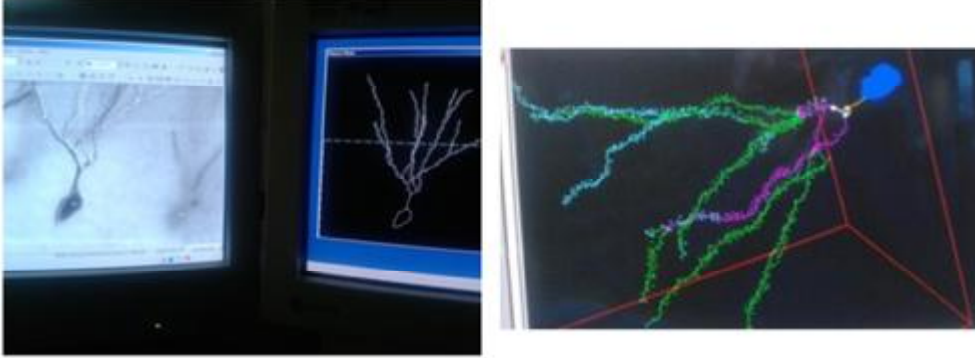
3.2.2.3. Nöromorfolojik Analiz

Hazırlanan preparatlar kameralı ışık mikroskopunda (100X objektif ile) incelenmiş, hipokampüsün Dentate Gyrus (DG) bölümünden tespit edilen Granüler nöronların morfolojik analizi, bilgisayar tabanlı bir nöron çizme sistemi olan Neurolucida Software (MicroBrightField, Williston, VT) programı kullanılarak yapılmıştır (Bock ve ark., 2016).



Şekil 3.4. Hipokampüsün DG kısmında bulunan bir granüler nöronun ışık mikroskopunda görünümü (40X)

Buna göre; bütünlüğü bozulmamış bir granüler nöron seçilir, hücre gövdesi ve dallanma yapısı belirtilerek dendritler çizilir ve bu işlem sırasında dendrit üzerinde gözlemlenen tüm dendritik çıkıntılar (spine) işaretlenir. Sonunda programda 3 boyutlu bir görüntü elde edilir.



Şekil 3.5. NeuroLucida programı ile nöron çizimi ve 3 boyutlu nöron görüntüsü

NeuroLucida programı tarafından hesaplanan; toplam dendritik spine sayısı, dendrit dallanma sayısı ve dendrit uzunluğu gibi çalışılmak istenen değerler kaydedilir. İncelenen bir beyin hipokampüsü içerisinde tespit edilen, bütünlüğü

bozulmamış 2 nöron sol hemisferden, 2 nöron sağ hemisferden olmak üzere toplam 4 nöron çizilir. Çalışılan değerler kaydedilirken, sol hemisferde incelenen 2 nöron değerlerinin ortalaması alınır, aynı uygulama sağ hemisferde incelenen 2 nöron için de yapılır. Böylece incelenen bir beyinden, bir sol ve bir sağ hemisfere ait 2 nöronal morfolojik değer kaydedilmiş olur ve bu değerlerin istatistiksel analizi yapılır.

3.2.3. İstatistiksel Analiz

NeuroLucida programından elde edilen sayısal değerlerin istatistiksel analizi, SPSS 20 Statistics Software (IBM, USA) programı ve Minitab 16 Statistical Software (Minitab Inc.) programı kullanılarak yapılmıştır.

Aynı grupların, kendi içinde sol ve sağ hemisferlerinin karşılaştırılması için Related (Paired) T Test (Minitab) uygulanmıştır.

A, B ve C gruplarında; stres, cinsiyet ve hemisfer faktörleri ve bu 3 faktörün birbirleri ile olan etkileşiminin incelenmesi için General Linear Model (Multifactor ANOVA) Testi (SPSS) kullanılmıştır. Stresin, cinsiyete ve hemisfere göre etkisi araştırılmıştır.

Bununla birlikte, var olan her bir grup bağımsız olarak, Independent T Test (2 Samples T Test) ile (Minitab) karşılaştırılmıştır.

İstatistiksel önem derecesi, $p \leq 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Dendrit Dallanma Sayısı

Dendrit dallanma sayısına ait tanımlayıcı istatistik verileri çizelge 4.1. de sunulmuştur.

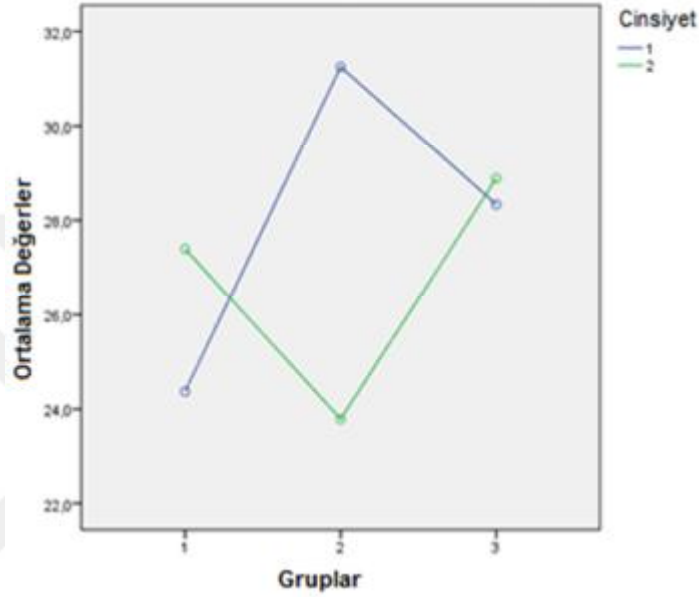
Çizelge 4.1. Dendrit dallanma sayısı özelliğinin tanımlayıcı istatistik verileri

Dendrit Dallanma Sayısı							
Grup	Cinsiyet	Hemisfer	Adet	Ortalama	Std.Sapma	Minimum	Maksimum
A (Kontrol)	Dişi	Sol	6	25,58	6,870	14,00	33,00
		Sağ	6	23,17	4,550	16,00	30,00
	Erkek	Sol	5	25,40	6,620	20,00	36,00
		Sağ	5	29,40	7,090	21,00	37,00
B (Stres)	Dişi	Sol	6	30,08	9,300	18,00	44,50
		Sağ	6	32,42	7,460	22,00	43,00
	Erkek	Sol	6	23,33	7,720	13,50	34,00
		Sağ	6	24,25	5,020	17,00	32,00
C (Stres+ Bekleme)	Dişi	Sol	6	25,08	7,450	14,00	33,00
		Sağ	6	31,58	5,540	25,50	41,00
	Erkek	Sol	6	27,67	5,890	19,00	34,00
		Sağ	5	30,10	4,770	25,00	36,00

Her bir grubun kendi içerisinde sağ ve sol hemisferlerine ait verilerin, related t test ile karşılaştırılması sonucunda, p değerinin 0,05'den büyük olduğu, dolayısıyla anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir. Gruplara ait dişi ve erkek bireylerin sağ ve sol hemisferlerinde dendrit dallanma sayısı bakımından anlamlı bir farklılık yoktur.

A, B ve C gruplarında; stres, cinsiyet ve hemisfer faktörlerinin birlikte değerlendirilmesi sonucunda, gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ($p \geq 0,05$). Bununla birlikte, stres ve cinsiyet etkileşiminin anlamlı bir değere

($p=0,026$) sahip olduğu tespit edilmiştir. Stres faktörünün, dişi ve erkek bireylerde dendrit dallanma sayısı üzerine etkisinin tamamen zıt yönlerde olduğu, oldukça önemli bir sonuçtur ve şekil 4.1. de gösterilmiştir.

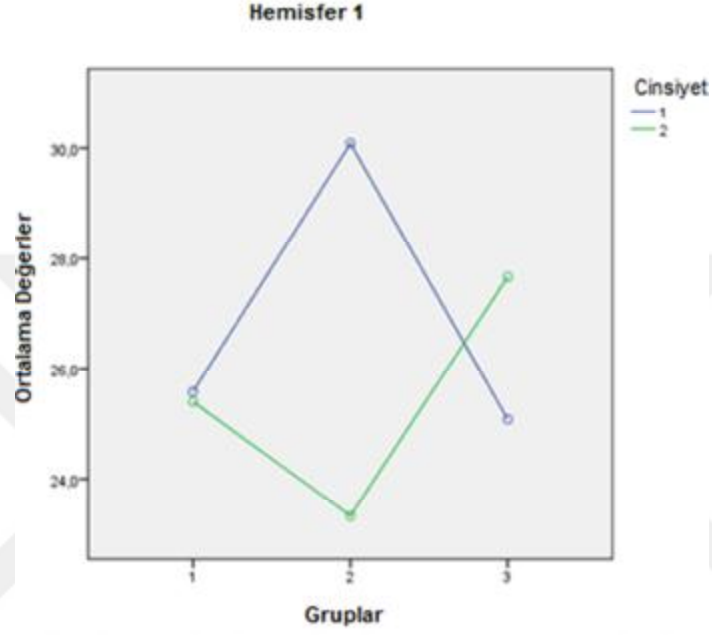


Şekil 4.1. Dendrit dallanma sayısının, A, B ve C grupları arasında cinsiyete göre etkileşimi (Grup 1= A grubu, Grup 2= B grubu, Grup 3= C grubu, Cinsiyet 1(mavi)= Dişi, Cinsiyet 2 (yeşil)= Erkek)

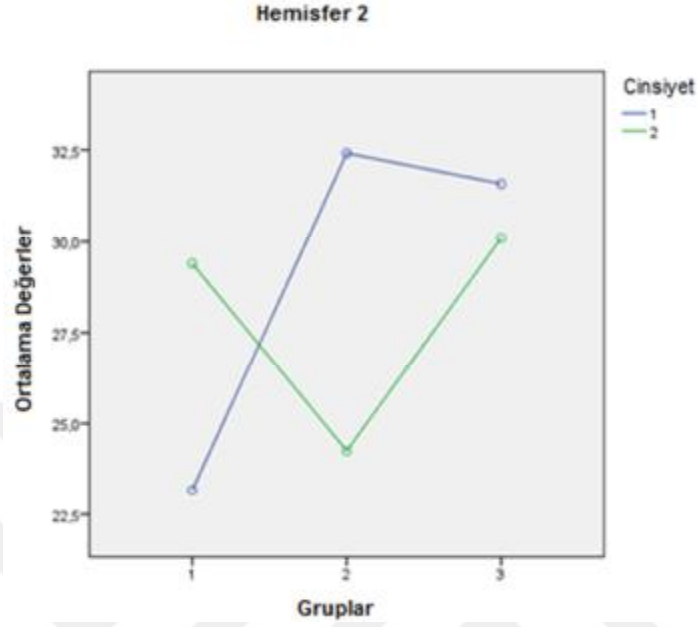
Şekil 4.1. incelendiğinde; dendrit dallanma sayısı, A grubu dişi bireylerde en düşük seviyede, B grubu dişi bireylerde dallanma sayısının arttığı, C grubu dişi bireylerde tekrar azaldığı görülmektedir. Erkek bireylerde ise durum tam ters yönde gelişmiştir. A grubu erkek bireylerin dendrit dallanma sayısı ortalaması, B grubu erkek bireylere göre yüksektir. B grubu erkek bireylerde dallanma sayısı azalırken, C grubu erkek bireylerde artış vardır.

Stres, cinsiyet ve hemisfer etkileşimi incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı halde ($p \geq 0,05$), şekil 4.2. ve şekil 4.3.de görüldüğü gibi, stresin cinsiyet üzerindeki etkisinin dendrit dallanma sayısı açısından farklı

olduğu ancak bu etkinin hemisferler arasında büyük farklılıklar yaratmadığı sonucuna varılmıştır.



Şekil 4.2. Stres, cinsiyet ve hemisfer etkileşiminin, sol hemisfer üzerinde gösterimi (Grup 1= A grubu, Grup 2= B grubu, Grup 3= C grubu, Cinsiyet 1(mavi)= Dişi, Cinsiyet 2 (yeşil)= Erkek, Hemispher 1= Sol hemisfer)



Şekil 4.3. Stres, cinsiyet ve hemisfer etkileşiminin, sağ hemisfer üzerinde gösterimi (Grup 1= A grubu, Grup 2= B grubu, Grup 3= C grubu, Cinsiyet 1(mavi)= Dişi, Cinsiyet 2 (yeşil)= Erkek, Hemispher 2= Sağ hemisfer)

Var olan her bir grup (toplam 12 grup), birbirleriyle ayrı ayrı istatistiksel teste tabi tutulduğunda, dendrit dallanma sayısı için bulunan anlamlı farklılıklar şu şekildedir:

- A grubu-dişi-sağ hemisfer / B grubu-dişi-sağ hemisfer → $p=0,032$
B grubu dişi dendrit dallanma sayısı, A grubu dişilerinden fazladır.
- A grubu-dişi-sağ hemisfer / C grubu-dişi-sağ hemisfer → $p=0,018$
C grubu dişi dendrit dallanma sayısı, A grubu dişilerinden fazladır.

Bunların dışında diğer gruplar arasında, istatistiksel anlamlı bir fark yoktur ($p \geq 0,05$).

4.2. Dendrit Uzunluğu (μm) ve Toplam Dendritik Spine (Çıkıntı) Sayısı

Dendrit uzunluğuna ait tanımlayıcı istatistik verileri çizelge 4.2. de sunulmuştur.

Çizelge 4.2. Dendrit uzunluğu özelliğinin tanımlayıcı istatistik verileri

Dendrit Uzunluğu (μm)							
Grup	Cinsiyet	Hemisfer	Adet	Ortalama	Std.Sapma	Minimum	Maksimum
A (Kontrol)	Dişi	Sol	6	1550	430	894	1995
		Sağ	6	1501	270	1025	1824
	Erkek	Sol	5	1547	396	1162	2211
		Sağ	5	1763	452	1124	2223
B (Stres)	Dişi	Sol	6	1801	542	1169	2627
		Sağ	6	1934	427	1311	2506
	Erkek	Sol	6	1538	500	928	2267
		Sağ	6	1456	295	1024	1820
C (Stres+ Bekleme)	Dişi	Sol	6	1567	434	975	2080
		Sağ	6	1927	353	1520	2550
	Erkek	Sol	6	1697	357	1244	2181
		Sağ	5	1937	271	1592	2241

Toplam dendritik spine (çıkıntı) sayısına ait tanımlayıcı istatistik verileri çizelge 4.3. de sunulmuştur.

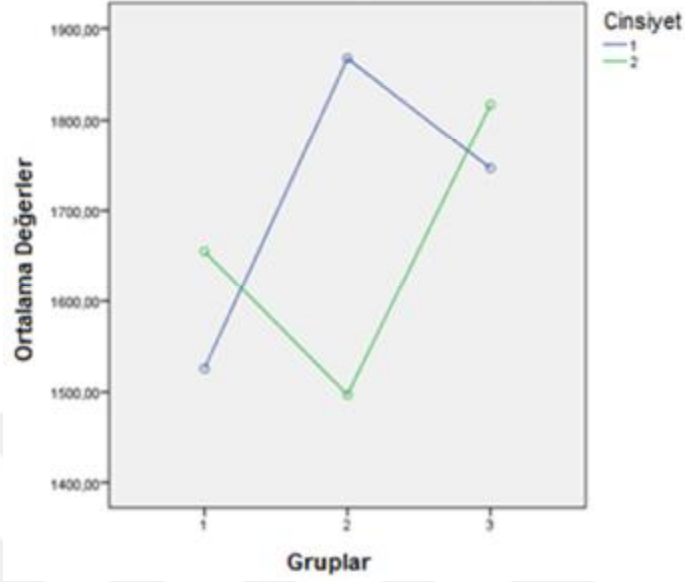
Çizelge 4.3 Toplam dendritik spine sayısı özelliğinin tanımlayıcı istatistik verileri

Toplam Dendritik Spine (Çıkıntı) Sayısı							
Grup	Cinsiyet	Hemisfer	Adet	Ortalama	Std.Sapma	Minimum	Maksimum
A (Kontrol)	Dişi	Sol	6	2473	1096	823	4007
		Sağ	6	2261	590	1543	3193
	Erkek	Sol	5	2802	895	2042	4256
		Sağ	5	3099	826	1847	4160
B (Stres)	Dişi	Sol	6	2700	1002	1327	4354
		Sağ	6	3057	1100	1735	4659
	Erkek	Sol	6	2355	806	1597	3764
		Sağ	6	2388	612	1597	3177
C (Stres+ Bekleme)	Dişi	Sol	6	2704	1100	1187	4136
		Sağ	6	3034	607	1985	3811
	Erkek	Sol	6	2782	529	2295	3515
		Sağ	5	3258	1128	1347	4241

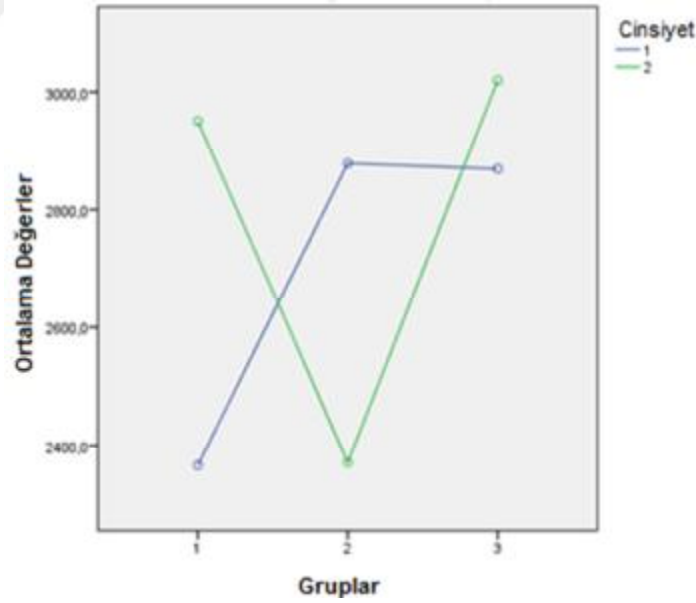
Her bir grubun kendi içerisinde sağ ve sol hemisferlerine ait verilerin, related t test ile karşılaştırılması sonucunda, p değerinin 0,05'den büyük olduğu, dolayısıyla anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir. Gruplara ait dişi ve erkek bireylerin sağ ve sol hemisferlerinde dendrit uzunluğu ve toplam dendritik spine sayısı bakımından anlamlı bir farklılık yoktur.

A, B ve C gruplarında; stres, cinsiyet ve hemisfer faktörlerinin birlikte değerlendirilmesi sonucunda, gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ($p \geq 0,05$). Stres*cinsiyet ve stres*cinsiyet*hemisfer etkileşimlerinin anlamlı bir istatistiksel değere sahip olmaması ($p \geq 0,05$) ile birlikte, stres faktörünün dişi ve erkek bireylerde dendrit uzunluğu üzerine etkisinin tamamen zıt yönlerde olduğu, şekil 4.4. de; dendritik spine sayısı üzerine etkisinin tamamen zıt yönlerde olduğu ise, şekil 4.5. de gösterilmiştir.

Var olan her bir grup (toplam 12 grup), birbirleriyle ayrı ayrı istatistiksel teste tabi tutulduğunda, dendrit uzunluğu ve toplam dendritik spine sayısı için anlamlı farklılıklar bulunamamıştır ($p \geq 0,05$).



Şekil 4.4. Dendrit uzunluğunun, A, B ve C grupları arasında cinsiyete göre etkileşimi (Grup 1= A grubu, Grup 2= B grubu, Grup 3= C grubu, Cinsiyet 1(mavi)= Dişi, Cinsiyet 2 (yeşil)= Erkek)



Şekil 4.5. Toplam dendritik spine sayısının, A, B ve C grupları arasında cinsiyete göre etkileşimi (Grup 1= A grubu, Grup 2= B grubu, Grup 3= C grubu, Cinsiyet 1(mavi)= Dişi, Cinsiyet 2 (yeşil)= Erkek)



5. TARTIŞMA

Gebelik öncesi strese sahip dişi sıçanların yavrularının, hipokampus DG bölümündeki granüler nöronların, dendrit uzunlukları, dendrit dallanma sayısı ve toplam dendritik spine (çıkıntı) sayısı hesaplanmış, stres ve kontrol gruplarının cinsiyete ve hemisfere göre karşılaştırılması yapılmıştır. Buna göre dendrit dallanma sayısı ele alındığında, gebelik öncesi stresin yavruları etkilediği, cinsiyete göre anlamlı farklılıklar yarattığı sonucuna ulaşılmıştır. Hemisferler arasında anlamlı bir fark yoktur. Strese maruz kalan B ve C gruplarının dişi yavrularında, dendrit dallanma sayısı kontrol grubuna kıyasla artarken; B grubu erkek yavrularda azalma, C grubu erkek yavrularda ise, kontrol grubuna kıyasla artma söz konusu olmuştur. Ve bu etkileşim, yetişkinliğe kadar sürmüştür. Bununla birlikte, dendrit uzunluğu ve toplam dendritik spine sayısı özelliklerinde anlamlı bir kantitatif değişim yoktur.

Stres etkilerinin, sonraki kuşakta da izlerinin sürülebildiği gerçeğinin yanı sıra, annenin bunu yavrulara nasıl aktardığı sorusu, günümüzde hala netlik kazanmamıştır. İhtimallerden birisi, davranışsal aktarımdır. Gebelik öncesi stresin, doğum sonrasında annenin yavru bakımını etkilemesi dolayısıyla, yavrularda davranış ve nöron gelişimi bu durumdan negatif etkilenebilir. Bu gibi davranışsal aktarımların incelendiği çalışmalar mevcuttur (Weaver ve ark., 2004; Champagne, 2008; Champagne ve Curley, 2009). Ancak bu çalışmada, doğrudan bir davranışsal aktarım olma ihtimali düşüktür çünkü Zaidan ve arkadaşlarının yaptığı benzer bir gebelik öncesi stres çalışmasında, stres etkileri yavruların beyinleri üzerinde, doğumda ve yetişkin olduklarında gözlenmiştir (2013). Daha kuvvetli olan bu ihtimal, gebelik öncesi stres etkilerinin epigenetik değişikliklerle germ hücrelerine aktarılması ve dolayısıyla yavrularda nöron ve sinaptik gelişimin yeniden programlanmasıdır. Gebelik öncesi stresin, özellikle oosit (olgunlaşmamış dişi gamet) gen ifadesini modifiye ettiği düşünülebilir ki bu genler, sinaptik gelişim ve nöron değişimi için kritik olan proteinleri kodlar (Zaidan ve ark., 2013). Söz

konusu çalışmada, beklenmedik kronik strese maruz kalan dişi sıçanların frontal kortekslerinde (ön korteks) ve olgun oositlerinde, CRF-tip1 molekülünün mRNA ifadesinin arttığı kanıtlanmıştır. CRF-tip1, vücudun strese cevap olarak salgıladığı ilk tepki molekülüdür. Bu sıçanların yeni doğan yavrularının beyinlerinde de CRF-tip1 artışı bulunmuştur ve yavrular yetişkin olduklarında; eğer stressiz bir ortamda büyütülmüşlerse beyinlerinde CRF-tip1 artışı görülmemiş, stresli bir ortamda büyütülmüşlerse, beyinlerinde CRF-tip1 artışı görülmüştür. Bu durum cinsiyete göre farklılıklar göstermiştir ve yetişkin bireylerin frontal kortekslerinde ve amigdala üzerinde değişimler kaydedilmiştir. İlaveten bu iki yetişkin grubunun davranış biçimlerinde de farklılıklar saptanmıştır. Tüm bu buluşlar, stres etkilerinin üreme hücrelerine aktarılması dolayısıyla, yavrularda nöron gelişimini cinsiyete ve beyin bölgesine göre etkileyebildiği görüşünü destekler.

Doğum sonrası ve erken çocukluk dönemi stresi, organizmaların gelişimiyle birlikte, beyin ve davranış gelişimini etkiler. Yapılan çalışmalar doğum sonrası stresin, prefrontal kortekste ve hipokampus gibi limbik sistem bölgelerinde, belirgin dendrit yapısal değişikliklere sebep olduğunu söyler. (Bock ve ark., 2011; Xie ve ark., 2013). Aynı şekilde, insanlarda ve deney hayvanlarında gebelik sırasında annenin sahip olduğu stres, yavrularda duygusal ve kavramsal işlev bozukluğu ile sonuçlanabilir. Gebelik sırasındaki stres etkisinin yavru hipokampuslarında araştırılması sonucu, Dentate Gyrus granüler nöronların dendritik spine yoğunluğunun, dendrit uzunluğunun ve dendrit dallanma sayısının, erkek ve dişi yavrularda zıt yönlerde değişim gösterdiği bulunmuştur. Doğum sonrasında bu yavrulara gösterilen ilgi ve olumlu müdahale sonucunda var olan nöron değişimlerinde azalma, yani nöronların kontrol grubuna benzemesi söz konusu olmuştur. Bu bulgular gösterir ki; hipokampüste sinaps ve nöron özelliklerinin cinsiyete bağlı değişimleri, stres kaynaklı davranışsal bozuklukların alt yapısı olabilir (Bock ve ark., 2011). Tüm bu çalışmalarda dendrit özelliklerinin cinsiyete göre farklılık gösterdiği kesindir ancak bu özelliklerin belirli bir cinsiyet grubunda artması veya azalması stabil bir şekilde gözlenmemektedir. Ve bu

örnekler, gebelik sonrası ve doğum sonrası stres uygulamaları çalışmalarıdır. Her ne kadar bu çalışmaların bize verdiği bilgiler çok önemli olsa da, şunun altını çizmekte fayda vardır: Gebelik öncesi stres ile gebelik sırasındaki stres büyük farklılıklar içerir. Gebelik sırasındaki (doğum öncesi) stres, büyük olasılıkla stres hormonlarının etkisi sayesinde fetüsü ve onun çevresini doğrudan etkiler ancak gebelik öncesi stres doğrudan bir etki yapamaz (Bock ve ark., 2016). Stresten etkilenen fetus, kendi fizyolojik stres cevabını geliştirir ve kendi adrenokortikotropin ve kortikosteron hormonunu salgılar (Boudouresque ve ark., 1988; Weinstock, 2001). Bunun tam tersi olarak, gebelik öncesi stres, fetüsün stres cevabından bağımsızdır ve yalnızca annenin fizyolojik stres cevabını kapsar (Bock ve ark., 2016).

Bu tez çalışmasının yönteminin ve stres faktörlerinin ayrılarının uygulandığı bir çalışmada, gebelik öncesi stresin yavruların mediyal prefrontal kortekste ve orbitofrontal kortekste nöronal morfolojik değişimleri incelenmiştir. Buna göre mediyal prefrontal kortekste, dendrit uzunluğunun ve dallanma sayısının, erkek yavruların sol yarımkürelerinde daha fazla olması gibi çeşitli farklılıklar ortaya konulmuştur ancak orbitofrontal kortekste, dendritik spine sayısı, dendrit uzunluğu ve dallanma sayısı açısından hiçbir farklılık bulunmamıştır (Bock ve ark., 2016). Bock ve arkadaşlarının bu çalışmasından elde ettikleri nöromorfolojik farklılıklar, aktarım mekanizması henüz aydınlatılmamış olsa dahi, gebelik öncesi stresin epigenetik yöntemlerle ikinci jenerasyona aktarılabilirliğini kanıtlamaktadır. Frontal korteks, genel olarak stresin neden olduğu hormonal değişikliğe en hassas olan bölgedir ve bu bölgenin gebelik öncesi stresten etkilendiği tespit edilmiştir. Ancak bu çalışmada orbitofrontal kortekste nöromorfolojik bir değişimin bulunamamış olması, orbitofrontal korteksin limbik sistem ile etkileşim halinde olan bir bölge olduğu konusunda dikkatleri üzerine çeker. Bu durum gebelik öncesi stresin, limbik sistem üyelerinden olan amigdala üzerinde etkisi olsa da (Bock ve ark., 2016), hipokampus veya diğer limbik sistem üyeleri üzerinde etkisinin olmama ihtimalini akıllara getirir.

Bu tez çalışmasının, hipokampus üzerinde yapılması, ilk kez gebelik öncesi stres ile hipokampusün araştırılması açısından büyük önem taşır. Ve dendrit dallanma sayısının cinsiyete göre anlamlı farklılıklara sahip olması, nöromorfolojik etkilerin cinsiyet üzerinde farklı değişimler yarattığının bir kez daha ve ilk kez hipokampüste kanıtlanmış olduğu anlamına gelir.

Bununla birlikte, yapılan davranış çalışmalarının genelinde, gebelik öncesi stresin yavrularda nörokimyasal etkilerinin gözlenmesine rağmen, sonrasında yapılan olumlu müdahaleler, iyileşmelerin mümkün olabildiğini gündeme getirmiştir. Her bir bireyin kendi bireysel deneyimleri ve genetik özellikleri ile, bu stres etkilerini farklı tolere edebilme durumları da göz önüne alındığında; bireyin beyin gelişimi sırasında, olumlu bir ortamda büyümesinin verdiği destekle, doğuştan var olan stresin negatif etkilerinin iyileşebileceği yorumu yapılabilir.

Gerek fetüsün gen ifadesi, gerekse beyin hücrelerinin büyüüp gelişmesi sırasında olan tüm bu dendrit özelliklerinin değişmesi, akıllara neden sorusunu getirmektedir. Kabul gören cevap ise; adaptasyondur (Bock ve ark., 2016). Dendrit uzaması, dallanma sayısının artması, spine sayısına bağlı olarak sinaptik potansiyelin artması, yeni ve beklenmeyen çevresel şartlara karşı adaptasyon sağlayabilir. İleri zamanlarda yaşanabilecek stres durumlarında, daha fazla esnekliğe ve dirençliliğe aracılık edebilir. Bununla birlikte dendritik büyümenin gerilemesi, nöropatolojik adaptasyonları gösteriyor olabilir, ki bunlar da, gelecekte stres hiperaktivitesine ve davranış bozukluklarına sebebiyet verebilir.

Gebelik öncesi stresin, ikinci jenerasyona etkilerinin var olması, oositlerde gen ifadesinin stres sebebiyle yeniden programlanması anlamına gelir (örneğin, beyin gelişimi sırasında sinaptik döngülerin düzenlenmesini sağlayan gen aktivitelerinin modifikasyonu) (Bock ve ark., 2016). Bu çalışmada elde edilen nöromorfolojik değişimlerin altında yatan epigenetik mekanizmalar, beraberinde önemli sorular getirmektedir ve bu sorular gelecekteki araştırmalara bir bakış açısı sunar.

- 1) Nasıl tüm bu epigenetik etkiler, döllenme, gebelik ve doğum sonrası beyin gelişimi süreçleri boyunca kalmaya devam edebilir?
- 2) Nöron değişimlerinin beyin bölgesini, hemisferini, spesifik nöronlarını ve cinsiyetini ne belirler?
- 3) Strese cevap olan yapısal ve epigenetik değişiklikler, stres hassasiyeti veya dayanıklılığı arasında nasıl farklılık yaratır?





6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Gebelik öncesi stresin ikinci jenerasyonda, hipokampus DG bölümündeki granüler nöronların, dendrit dallanma sayısına etkisinin cinsiyete göre farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Stres grubu dişi yavrularında, dendrit dallanma sayısı artarken, erkek yavrularda tam tersi bir etki görülmüştür. Bu durum dişi yavruların, erkeklere göre stres koşullarına daha kolay adapte olabileceği anlamına gelebilir.

Gebelik öncesi stresin, dendrit uzunluğu ve toplam dendritik spine (çıkıntı) sayısı özelliklerine etkisi görülmemiştir. Yavrulara aktarılan stres etkisinin cinsiyete göre farklı morfolojide olması kanıtlanırken, hemisferler arasında fark tespit edilmemiştir.

Gebelik sırasında yaşanan bir travmanın etkisinin, yavrularda davranışsal ve nörokimyasal etkilerinin olduğu, gelecekte depresyon ve endişe bozuklukları görülme riskinin olduğu iyi bilinmektedir. Gebelik öncesi stres etkileri henüz çok iyi bilinmese de, hayvan modellerinde ve insanlarda yapılan çalışmalar; öğrenme, duygusal ve sosyal davranış gelişiminin etkilendiğini göstermektedir. Bu bağlamda bu çalışma, ilk kez hipokampüste gebelik öncesi stresin araştırılması bakımından büyük önem taşır.

Yavrularda tespit edilen nöromorfolojik değişimler, bu durumun epigenetik yollarla yavrulara aktarıldığını işaret eder. Bu aktarım altında yatan mekanizmaların araştırılması için; oositlerde gen ifadesinin nasıl yeniden yapıldığına, yetişkinliğe kadar süren bir nöronal değişimin sağladığı avantaj veya dezavantajlara, cinsiyetin tüm bunlara nasıl etki ettiğine bakılabilir.



KAYNAKLAR

- Bock, J., Poeschel, J., Schindler, J., Börner, F., Shachar-Dadon, A., Ferdman, N., Gaisler-Salomon, I., Leshem, M., Braun, K. ve Poeggel, G., 2016. Transgenerational sex-specific impact of preconception stress on the development of dendritic spines and dendritic length in the medial prefrontal cortex. *Brain structure and function*, 221(2):855-863.
- Bock, J., Sriti Murmu, M., Biala, Y., Weinstock, M. ve Braun, K., 2011. Prenatal stress and neonatal handling induce sex-specific changes in dendritic complexity and dendritic spine density in hippocampal subregions of prepubertal rats. *Neuroscience*, 193:34-43.
- Boudouresque, F., Guillaume, V., Grino, M., Strbak, V., Chautard, T., Contedevolx, B. ve Oliver, C., 1988. Maturation of the pituitary-adrenal function in rat fetuses. *Neuroendocrinology*, 48(4):417-422.
- Brodal, H., 1981. *Neurological Anatomy*. Third Edition. Oxford University Press. UK.
- Champagne, F.A. ve Curley, J.P., 2009. Epigenetic mechanisms mediating the long term effects of maternal care on development. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 33(4):593-600.
- Champagne, F.A., 2008. Epigenetic mechanisms and the transgenerational effects of maternal care. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 29(3):386-397.
- Cheung, T.H. ve Cardinal, R.N., 2005. Hippocampal lesions facilitate instrumental learning with delayed reinforcement but induce impulsive choice in rats. *BMC Neuroscience*, 6:36.
- Defelipe, J., 2015. The dendritic spine story: An intriguing process of discovery, <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnana.2015.00014/full> (Erişim tarihi: 23 Nisan 2018)

- Dekeyzer, S., Dekock, I., Nikoubashman, O., Bossche, S.V., Eetvelde, R.V., Degroote, J., Acou, M., Wiesmann, M., Deblaere, K. ve Achten, E., 2017. Unforgettable – a pictorial essay on anatomy and pathology of the hippocampus. *Insights Imaging*, 8(2):199-212.
- Demirel, Ö. F., Demirel, A. ve Duran, A., 2011. Stresin Nörobiyolojisi. *Türkiye Klinikleri J Psychiatry-Special Topics*, 4(3):13-8.
- Dietz, D. M., Laplant, Q., Watts, E. L., Hodes, G. E., Russo, S. J., Feng, J., Oosting, R. S., Vialou, V. ve Nestler, E. J., 2011. Paternal transmission of stress-induced pathologies. *Biol Psychiatry*, 70(5):408-414.
- Fröhlich, F., 2016. *Network Neuroscience*. Academic Press, Cambridge. http://www.apsubiology.org/anatomy/2010/2010_Exam_Reviews/Exam_1_Review/Ch03_Active_Transport.htm (Erişim Tarihi: 25 Nisan 2018)
- Glaser, E.M. ve Van Der Loos, H., 1981. Analysis of thick brain sections by obverse-reverse computer microscopy: Application of a new, high clarity Golgi-Nissl stain. *Journal of Neuroscience Methods*, 4:117-125.
- Golgi, C., 1903. *Opera Omnia*. First Edition. Milan. 504s.
- Guyton, A.C., 1987. *Tıbbi Fizyoloji*. Türkçe Birinci Baskı. Merck Yayıncılık. İstanbul. 980s.
- Güçlü, N., 2001. Stres Yönetimi. *G.Ü. Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 21(1):91-109.
- İzci, Y. ve Erbaş, Y.C., 2015. Hipokampus: Yapısı ve Fonksiyonları. *Türk Nöroşirürji Dergisi*, 25(3):287-295.
- Keeton, W.T., Gould, J.L. ve Gould, C.G., 1993. *Biological Science*. Fifth Edition. Volume 2. Norton, New York, US, 1194p.
- Kocatürk, P. A., 2000. Strese Cevap. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 53(1):49-56.
- Kudielka, B.M. ve Kirschbaum, c., 2007. *Biological Bases of the Stress Response* (M. Al'absi editör). *Stress and Addiction: Biological and Psychological Mechanisms*, Elsevier Ltd., USA, s.3-19.

- Leshem, M. ve Schulkin, J., 2012. Transgenerational effects of infantile adversity and enrichment in male and female rats. *Developmental Psychobiology*, 54(2):169-186.
- Li, H., Zhang, L., Fang, Z., Lin, L., Wu, C. ve Huang, Q., 2009. Behavioral and neurobiological studies on the male progeny of maternal rats exposed to chronic unpredictable stress before pregnancy. *Neuroscience Letters*, 469(2):278-282.
- Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S.L., Matsudaira, P., Baltimore, D. ve Darnell, J., 2000. *Molecular Cell Biology*. Dördüncü Baskı. W.H.Freeman, New York.
- Lupien, S. J., Bruce, S. M., Megan, R. G. ve Heim, C., 2009. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nature Reviews Neuroscience*, 10:434-445.
- Mcewen, B.C., 1998. Protective and Damaging Effects of Stress Mediators. *New England J Med*, 338: 171-179.
- Nergiz, Y., “Sinir Sistemi Histolojisi”,
<https://www.dicle.edu.tr/Contents/d9cf0b90-43cb-4b41-aaba7b720ee9c654.pdf> (2012) (Erişim tarihi: 18 Mart 2018)
- Pan, Y.Z. ve Rutecki, P., 2009. *Encyclopedia of Basic Epilepsy Research* (P.A. Schwartzkroin editör). *Pyramidal Cells: Membrane Properties and Synaptic Circuitry of CA3 Pyramidal Neurons that Promote Epileptiform Neuronal Synchronization*, Elsevier Ltd., USA, s.1277-1283.
- Rowland, D.C. ve Moser, M.B., 2013. Time finds its place in the hippocampus. *Neuron*, 78(6):953-954.
- Sagi-Schwartz, A., Van-Ijzendoorn, M. H. ve Bakermans-Kranenburg, M. J., 2008. Does intergenerational transmission of trauma skip a generation? No meta-analytic evidence for tertiary traumatization with third generation of Holocaust survivors. *Attachment and Human Development*, 10(2):105-121.

- Saransaari, P. ve Oja, S.S., 1997. Taurine release from the developing and ageing hippocampus: Stimulation by agonists of ionotropic glutamate receptors. *Mech Ageing Dev*, 99(3):219-232.
- Songur, A., Özen, O.A. ve Sarsılmaz, M., 2001. Hipokampus. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 21:427-431.
- Touretzky, D.S., 2013. Anatomy of the hippocampus, <http://www.cs.cmu.edu/afs/cs/academic/class/15883-f13/slides/hc-anatomy.pdf> (Erişim tarihi: 17 Şubat 2018)
- Van-Ijzendoorn, M. H., Bakermans-Kranenburg, M. J. ve Sagi, A., 2003. Are children of Holocaust survivors less well-adapted? A meta-analytic investigation on secondary traumatization. *Journal of Traumatic Stress*, 16(5):459-469.
- Vincent, A., Kessler, J.P., Baude, A., Dipasquale, E. ve Tell, F., 2004. N-Methyl-D-Aspartate receptor activation exerts a dual control on postnatal development of nucleus tractus solitarii neurons in vivo. *Neuroscience*, 126:185-194.
- Weaver, I.C., Cervoni, N., Champagne, F.A., D'alessio, A.C., Sharma, S., Seckl, J.R., Dymov, S., Szyf, M. ve Meaney, M.J., 2004. Epigenetic programming by maternal behavior. *Nature Neuroscience*, 7(8):847-854.
- Weinstock, M., 2001. Alterations induced by gestational stress in brain morphology and behaviour of the offspring. *Progress in Neurobiology*, 65(5):427-451.
- Weinstock, M., 2008. The long-term behavioural consequences of prenatal stress. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 32:1073-1086.
- Wright, A. Limbic System: Hippocampus, <http://nba.uth.tmc.edu/neuroscience/s4/chapter05.html> (Erişim tarihi: 18 Şubat 2018)

- Xie, L., Korkmaz, K. S., Braun, K. ve Bock, J., 2013. Early life stress induced histone acetylations correlate with activation of the synaptic plasticity genes Arc and Egr1 in the mouse hippocampus. *Journal of Neurochemistry*, 125:457-464.
- Yehuda, R. ve Bierer, L. M., 2007. Transgenerational transmission of cortisol and PTSD risk. *Progress in Brain Research*, 167:121-135.
- Yurdakoş, E., 2001. *Lecture Notes on Neurophysiology*. Nobel Tıp Kitapları.
- Zaidan, H., Leshem, M. ve Gaisler-Salomon, I., 2013. Prereproductive stress to female rats alters corticotropin releasing factor type 1 expression in ova and behavior and brain corticotropin releasing factor type 1 expression in offspring. *Biol Psychiatry*, 74:680-687.
- <http://harlanisrael.com/> (Erişim tarihi: 13 Ocak 2018)
- <http://www.mbfbioscience.com/blog/2013/08/drug-treating-asthma-improves-cognitive-function-syndrome-mouse-model/> (Erişim tarihi: 6 Mayıs 2018)
- <http://www.ratbehavior.org/> (Erişim tarihi: 10 Mayıs 2018)
- <http://www.stress.org> (Erişim tarihi: 09 Kasım 2017)
- <https://faculty.washington.edu/chudler/cells.html> (Erişim tarihi: 1 Mayıs 2018)
- <https://qbi.uq.edu.au/brain/brain-anatomy/types-neurons> (Erişim tarihi: 1 Mayıs 2018)
- https://scienceaid.net/Stress_Response#cite_note-3 (Erişim tarihi: 16 Şubat 2018)
- <https://www.britannica.com/science/nervous-system> (Erişim tarihi: 2 Mart 2018)
- <https://www.britannica.com/science/nervous-system/Active-transport-the-sodium-potassium-pump#ref606428> (Erişim tarihi: 2 Mart 2018)



ÖZGEÇMİŞ

03.07.1987 tarihinde Adana'da doğdu. İlköğretim ve lise öğrenimini Adana'da tamamladı. 2007 yılında başladığı Muğla Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nden 2011 yılında mezun oldu ve 2012 yılında Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisansa başladı. 2013-2014 öğretim yılında, Erasmus Öğrenim Hareketliliği programı kapsamında Almanya'nın Magdeburg kentinde, Otto von Guericke Üniversitesi, Biyoloji Enstitüsü, Zooloji ve Nörobiyoloji Bölümünde yüksek lisans tez projesini yaptı.

2015-2017 yılları arasında CP Standart Gıda' da kalite kontrol elemanı ve takım lideri pozisyonlarında, Adana ve İnegöl'de çalıştı. 2017 yılında Bursa'da başladığı, MAY Tohum, Bitki patolojisi laboratuvarı elemanı görevine halen devam etmektedir.