

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
RUH SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ERKEN DÖNEM STRESLİ ve AMBİVALAN YAŞAM
OLAYLARININ
DAVRANIŞSAL ve NÖROGELİŞİMSEL ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ
DR. MELİKE KÜÇÜKKARAPINAR

ANKARA
ARALIK 2015

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
RUH SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ERKEN DÖNEM STRESLİ ve AMBİVALAN YAŞAM
OLAYLARININ
DAVRANIŞSAL ve NÖROGELİŞİMSEL ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ

DR. MELİKE KÜÇÜKKARAPINAR

(Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi 01/2015-09 proje numarasıyla desteklenmiştir)

ANKARA

ARALIK 2015



**Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tez Sınav Tutanağı**

Adı ve Soyadı	Melike Küçükkarapınar
Baba Adı	Nejdet
Doğum Yeri/Tarihi	Ankara 22/07/1986
Diploma Tarihi / Diploma No	2010/ 10.311.062
Mezun Olduğu Fakülte	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları AD
İhtisas Süresi	Yıl: 4 yıl Ay: 5 ay
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

**UZMANLIK TEZİNİN ADI: ERKEN DÖNEM AMBİVALAN VE STRESLİ YAŞAM
OLAYLARININ DAVRANIŞSAL VE NÖROGELİŞİMSEL ETKİLERİ**

JÜRİ KARARI:

JÜRİ ÜYELERİ

BAŞKAN

ÜYE

ÜYE

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince psikiyatri vizyonumun oluşmasına katkıda bulunan, tezimin tüm aşamasında bilgi birikimlerini ve tecrübelerini esirgemeyen, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum hocalarım Prof. Dr. Selçuk Candansayar ve Prof. Dr. Aslıhan Dönmez'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma boyunca Nörobilim Laboratuvarında bana sabırla teknik konularda yardımcı olan, değerli vaktini bana ayıran hocam Doç. Dr. Didem Tuba Akçalı'ya, Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde çalıştığımız süre boyunca sıçanların temininde, bakımında ve beyin dokularının elde edilmesinde yardımcı olan Vet. Hek. Dr. Şeyda Diker ve Vet.Hek. Dr. Elvan Anadol'a ve çalışma ekibine teşekkür ederim. Yine bu süreçte benden yardımlarını esirgemeyen, bana destek olan Dr. Elif Akçay'a ve Dr. Aruz Bozkurt'a teşekkürü borç bilirim. Araştırmanın dokuların analizi kısmını büyük bir titizlikle yapan hocam Doç. Dr. Özlem Gülbahar'a, istatistiksel analizlerin yapılmasında yardımcı olan Uzm. Psk. Çisem Utku'ya teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca üzerimde emeği olan, Psikiyatri Anabilim Dalı öğretim üyeleri saygıdeğer hocalarıma, rotasyon yaptığım Nöroloji AD ve Çocuk Ruh Sağlığı ve Hastalıkları bölümündeki hocalarıma teşekkür ederim. Birlikte çalışmaktan ve zaman geçirmekten zevk aldığım tüm doktor arkadaşlarıma ve bölümümüz çalışanlarına teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca benden desteğini esirgemeyen aileme, bu yorucu süreçte yanımda olan eşime, varlığıyla hayatımı renklendiren oğluma ne kadar teşekkür etsem azdır.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay

Teşekkür

Simgeler ve Kısaltmalar

Tablolar Dizini

Resim ve Grafik Dizini

İçindekiler

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Yeni doğan döneminde anne yavru etkileşimi	3
2.2 .Yeni doğan yavrunun duyuşal gelişimi	4
2.3. Erken Dönemde Yapılan Manipülasyonların Kısaca Özeti	5
2.3.1. Yenidoğan Elleme (neonatal handling)	5
2.3.2. Anneden Ayırma (Maternal Seperation)	5
2.3.3. Ambivalan Annenin Etkisi	6
2.4. Erken Dönem Manipülasyonların Yenidoğan Nöroendokrin Sistem Üzerine Etkileri	6

2.5. Erken Dönem Manipülasyonların Nörogelişim Üzerine Etkileri	8
2.6. Erken Dönem Manipülasyonların Davranış Deneyleri Üzerine Etkileri	10
3. YÖNTEM	11
3.1. Sıçanların temini ve çalışma	12
3.2. Postnatal 1-14. Günlerde Yavru Sıçanlara Müdahaleler	12
3.2.1. 1. grup (Kontrol grubu)	12
3.2.2. 2. grup (Hafif stres grubu)	13
3.2.3. 3. grup (Ağır stres grubu)	14
3.2.4. 4. grup (Ambivalan uyarı grubu)	14
3.3. Postnatal 15-29. Günler	15
3.4. Posnatal 30-60. Günler	15
3.5. Davranış Deney Bataryası	16
3.5.1. Laboras	16
3.5.2. USV	17
3.5.3. Sosyal Etkileşim Testi	19
3.5.4. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi	20
3.5.5. Yeni Nesne Tanıma Testi	22

3.6. Hayvanların Öldürülmesi, Gövde Kanlarının Alınması ve Beyin Dokularının Çıkarılması	25
3.7. Elisa	26
3.8. İstatistik Analizler	27
4. BULGULAR	28
4.1. Davranış Analizleri	29
4.2. Ultrasonik Ses Kaydı	35
4.3. Yükseltilmiş Artı Labirent	35
4.4. Yeni Nesne Tanıma Belleği Testi	38
4.4.1. Kısa Süreli Bellek	38
4.4.2. Uzun Süreli Bellek	42
4.5. Sosyal Etkileşim Testi	46
4.5.1. Sosyal Davranış Performansları	60
4.6. Plazma Kortizol Düzeyi	64
4.7. ELISA	66
5. TARTIŞMA	70
5.1. Davranış Analizi	71

5.2. Sosyal Etkileşim Testi	72
5.3. Yükseltilmiş Artı Labirent	73
5.4. Yeni Nesne Tanıma Testi	74
5.5. Cinsiyet Farkı	76
5.6. Plazma Kortizol Düzeyi	76
5.7. ELISA	77
6. SONUÇ	78
7. KAYNAKLAR	82
8. ÖZET	98
9. SUMMARY	100
10. ÖZGEÇMİŞ	102

SİMGELER VE KISALTMALAR

cm	: santimetre
db	: desibel
kg	: kilogram
kHz	: kiloherz
m	: metre
mg	: miligram
ml	: mililitre
ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
BDNF	: Beyinden kaynaklanan nörotrofik faktör
CRH	: Kortikotropin salıcı hormon
EH	: Erken elleme (early handling)
HPA	: Hipotalamo- pitüiter- adrenal
LTP	: Uzun süreli potansiyalizasyon
m RNA	: Mesajcı ribonükleik asit
mir-132	: mikro ribonükleik asit-132

MS	: Anneden ayırma (maternal separation)
ng	: nanogram
NGF	: Sinir büyüme faktörü
NH	: Yeni doğan elleme (neonatal handling)
NMDA	: N- Metil - D- Aspartat
NMDA R2B	: N- Metil - D- Aspartat Reseptör 2B
SHRP	: Strese Az Duyarlı Dönem
trkB	: Tropomiyozin reseptör kinaz B
USV	: Ultrasonik vokalizasyon

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: Çalışma Takvimi	27
Tablo 2: Gruplar arası cinsiyet karşılaştırması	28
Tablo 3: Grupların başlangıç ve son ağırlıklarının kilo (gram) açısından karşılaştırılması	28
Tablo 4: Grupların genel olarak Laboras'dan ve gözlemden elde edilen davranış analizlerinin (saniye ölçüsünde) karşılaştırılması	30
Tablo 5: Erkek hayvanların Laboras'dan ve gözlemden elde edilen davranış analizlerinin (saniye ölçüsünde) karşılaştırılması	32
Tablo 6: Dişi hayvanların Laboras'dan ve gözlemden elde edilen davranış analizlerinin (saniye ölçüsünde) karşılaştırılması	34
Tablo 7: Grupların genel olarak ve cinsiyete göre Yükseltilmiş Artı Labirent'te göstermiş oldukları performansın karşılaştırılması	36
Tablo 8: Yeni Nesne Tanıma Belleği Testi-Kısa süreli bellek sonuçlarının gruplar arasında ve genel olarak ve cinsiyetlere göre karşılaştırılması (saniye ölçüsünde)	40
Tablo 9: Yeni Nesne Tanıma Belleği Testi-Uzun süreli bellek sonuçlarının gruplar arasında ve genel olarak ve cinsiyetlere göre karşılaştırılması (saniye ölçüsünde)	44

Tablo 10: Grupların genel olarak sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış frekanslarının karşılaştırılması	48
Tablo 11: Erkek hayvanların sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış frekanslarının karşılaştırılması	50
Tablo 12: Dişi hayvanların sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış frekanslarının karşılaştırılması	52
Tablo 13: Grupların genel olarak sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış sürelerinin (saniye cinsinden) karşılaştırılması	55
Tablo 14: Erkek hayvanların sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış sürelerinin (saniye cinsinden) karşılaştırılması	56
Tablo 15: Dişi sıçanların sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış sürelerinin (saniye cinsinden) karşılaştırılması	59
Tablo 16: Grupların genel olarak ve cinsiyete göre sosyal davranış performanslarının karşılaştırılması	62
Tablo 17: Grupların genel olarak ve cinsiyete göre Kortizol düzeylerinin karşılaştırılması	65
Tablo 18: Grupların NMDAR2B protein düzeyleri için yapılan ELISA test sonuçlarının karşılaştırılması (ng/mL)	66
Tablo 19: Erkek grupların NMDAR2B protein düzeyleri için yapılan ELISA test sonuçları	68

Tablo 20: DiŒi grupların NMDAR2B protein düzeyleri için yapılan ELISA
test sonuçları

69

RESİM ve GRAFİK DİZİNİ

Resim 1: Erken Elleme manipölasyonu uygulanırken kullanılan düzenek	13
Resim 2: Ambivalan Anne manipölasyonu uygulanırken kullanılan sahte anne, anne ve yavruların deney sırasındaki görüntüleri	15
Resim 3: Davranış analizi yapmak için kullanılan Laboras cihazı	17
Resim 4: Ultrasonik vokalizasyon kaydı yapmak için kullanılan Sonotrack cihazı	18
Resim 5: Sosyal Etkileşim Testi sırasındaki sıçanlar	20
Resim 6: Anksiyete düzeyini ölçmek için kullanılan Yükseltmiş Artı Labirent	22
Resim 7: Bellek işlevlerinin değerlendirilmesi için kullanılan Yeni Nesne Tanıma Testi düzeneği	25
Grafik 1: Cinsiyet ayrımı olmadan grupların Laboras'dan ve gözlemden elde edilen davranışları	31
Grafik 2: Erkek grupların Laboras'dan ve gözlemden elde edilen davranışları	33
Grafik 3: Dişi grupların Laboras'dan ve gözlemden elde edilen davranışları	35
Grafik 4: Grupların açık kollara girme yüzdesi sonuçları	37
Grafik 5: Grupların açık kollarda vakit geçirme yüzdesi sonuçları	37

Grafik 6: Tüm grupların yeni nesne tanıma belleği-Kısa süreli bellek sonuçları	41
Grafik 7: Erkek hayvanların yeni nesne tanıma belleği-Kısa süreli bellek sonuçları	41
Grafik 8: Dişi hayvanların yeni nesne tanıma belleği-Kısa süreli bellek sonuçları	42
Grafik 9: Tüm hayvanların yeni nesne tanıma belleği-Uzun süreli bellek sonuçları	45
Grafik 10: Erkek hayvanların yeni nesne tanıma belleği-Uzun süreli bellek sonuçları	45
Grafik 11: Dişi hayvanların yeni nesne tanıma belleği-Uzun süreli bellek sonuçları	46
Grafik 12: Grupların genel olarak sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış frekans sonuçları	49
Grafik 13: Erkek hayvanların sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış frekans sonuçları	51
Grafik 14: Dişi hayvanların sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış frekans sonuçları	53
Grafik 15: Tüm hayvanların sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış sürelerinin sonuçları	55

Grafik 16: Erkek hayvanların sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış sürelerinin sonuçları	57
Grafik 17: Dişi hayvanların sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış sürelerinin sonuçları	60
Grafik 18: Tüm hayvanların sosyal davranış performans sonuçları	63
Grafik 19: Erkek hayvanların sosyal davranış performans sonuçları	63
Grafik 20: Dişi hayvanların sosyal davranış performans sonuçları	64
Grafik 21: Grupların genel olarak ve cinsiyete göre Kortizol düzeylerinin sonuçları	65
Grafik 22. Grupların genel olarak NMDAR2B protein düzeyleri için yapılan ELISA test sonuçları	67
Grafik 23. Erkek grupların genel olarak NMDAR2B protein düzeyleri için yapılan ELISA test sonuçları	68
Grafik 24. Dişi grupların genel olarak NMDAR2B protein düzeyleri için yapılan ELISA test sonuçları	69

1. GİRİŞ

Yaşamın erken dönemi bireyin gelişimi için en önemli ve dış etkenlere en açık olduğu dönemdir. Bu dönemde stresli yaşam olaylarına maruziyet, erişkin dönemde artmış stres duyarlılığı, bilişsel ve davranışsal bozukluklarla ilişkilidir. (1,2,3)

Erken dönem stresli yaşam olayları prenatal dönemden adolesan döneme kadar uzanan pek çok stres etkenini kapsamaktadır. İnsanlarda ve hayvanlarda bu dönemde strese maruziyetin erişkin dönem üzerine etkileri ile ilgili pek çok araştırma yapılmıştır. İnsanlarda, annenin gebelik sırasında dışarıdan glukokortikoid alımı, malnutrisyonu, gebelik sırasında veya sonrasında depresyonunun veya anksiyetesinin olması, çocuk istismarı, yok sayma, sefalet, ebeveyn kaybı, aile içi şiddet gibi nedenler maruz kalınan stres etkenleri olarak tanımlanmıştır. Bu stres etkenlerine maruziyet sonucunda erişkin dönemde pek çok psikiyatrik hastalık ortaya çıktığı gözlenmiştir. Çocukların çoğu birden fazla stres etkenine maruz kaldığından erişkin döneme geldiklerinde ortaya çıkan bozukluğu tek bir etkene bağlamak mümkün değildir. Stresli yaşam olaylarının erişkin dönem üzerinde biyokimyasal etkileri ise tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Maruz kalınan stresin uzun dönem davranışsal ve biyokimyasal etkilerini incelemek insan çalışmalarından çok hayvan çalışmaları ile daha mümkündür. Hayvan çalışmalarının çok azı fiziksel ve ya cinsel kötüye kullanımın erişkin dönem üzerine etkisine yönelikken çoğunluğu anne bakımının olduğu ve ya hiç olmadığı durumların erişkin dönem davranışsal ve biyokimyasal etkileri üzerine

pek çok çalışma yapılmaktadır. (4) Her ne kadar prelinik çalışmalar; sonuçların insana uyarlanması zor da olsa, erken dönem olumsuz yaşam olaylarının nörobiyolojik temellerini anlamamızda yardımcıdırlar.

Hofer tipik ebeveyn ve yavru etkileşiminin bileşenleri olan sensorimotor, termal ve besleme temelli bir dizi hadisenin infant davranış ve fizyolojisi üzerinde uzun süreli düzenleyici etkilerinin olduğunu savunmuştur. (5) Bu düzenleyici etkenlerden ebeveyn yoksunluk ve ya kaybına bağlı ortaya çıkan aksaklıklar; sirkadyen ritim, büyüme (beyin büyüme faktörleri dahil) (6) ve hormon düzeylerinde (Hipotalamo pitüiter aks aktivitesi dahil) – (7) bozukluklara yol açmaktadır.

Bu tezin amacı erken dönem stresli yaşam olaylarının erişkin dönemde sosyal etkileşim, bellek anksiyete düzeyleri ve beynin belirli bölgelerindeki nörogenez üzerine etkilerini incelemektir. Erken dönem stresli yaşam olayı olarak hafif ve ağır stresli yaşam olaylarının erişkin dönemde etkileri çalışılmıştır. Sıçanlarda erken dönem ambivalan annenin etkisine yönelik bir çalışma yapılmıştır ve sahte anne modeli oluşturularak erişkin döneme gelen sıçanlar depresif belirtiler, anksiyete, bellek ve nörogenez açısından incelenmiştir.

Bu çalışmanın hipotezi; erken dönemde ambivalan anneye maruz kalan sıçanlarda erişkin dönemde, en az ağır stres grubunda olduğu kadar davranışsal ve nörogelişimsel bozukluklar görüleceği şeklindedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yeni doğan döneminde anne yavru etkileşimi

21-23 günlük bir gebelik sonrasında anne sıçan 6-12 adet yavru doğurur. Yavruların ağırlık ortalamaları doğan yavru sayısı ile ters orantılıdır. Doğumdan itibaren 21. güne kadar yavruların tek besin kaynağı anne sütüdür ve günde ortalama 50-80 kez annelerini emerler. Bununla birlikte anne sıçan, yavru için sadece süt kaynağı değildir. Yavru için gebelikten başlayıp laktasyon periyodunun sonuna dek yuva yapma davranışı sergiler. Yavrularının bedenini yalar. Yavrularının ürinasyon ve defekasyonunu sağlamak için anogenital bölgelerini yalar. Yavrularını tımarlar.(8) Anne davranışı, yeni doğanın erişkin dönem davranışı ve stresle başa çıkabilme becerisinin gelişimi için önemlidir. Düşük yalama/tımar etme (high licking/ grooming) davranışı sergileyen annelerin yavrularının yüksek yalama/ tımar etme davranışı sergileyen annelerin yavrularına kıyasla strese maruz kaldıklarında daha uzun süre ACTH ve kortizol salgıladıkları (9) uzamsal bellek ve öğrenme testlerinde daha az başarılı oldukları, hipokampal BDNF (brain derived neurotrophic factor) mRNA düzeylerinin yüksek, NR2B alt ünitesinin ifadesinin düşük olduğu gözlenmiştir. (10) Yaşamının ilk 6 ayında izolasyon koşullarında büyüyen dişi sıçanların erişkin döneme geldiklerinde istismar, yok sayma ve infantisid dahil olumsuz annelik davranışlarının olduğu gözlenmiştir. (11) Düşük yalama/ tımar etmeye maruz yavrular erişkin dönemde daha ürkek olmakta, yükseltilmiş artı labirente daha az vakit geçirmekte, lökomotor aktivitelerinin artmakta, dikkat kayması ile ilişkili

bilişsel bozukluklarının olmakta, annelik dahil sosyal davranışta bozukluk sergilemektedirler. (12,13)

Yalayıp/tımarlama açısından ambivalan davranan anne tipinin, bu tipe maruz kalan yavrunun erişkin dönem davranışı ve stresle başa çıkma becerisi üzerine etkisine yönelik bir çalışma vardır.

2.2 .Yeni doğan yavrunun duyuşal gelişimi

Yavrularda tam duyma yetisi doğumdan 9 gün sonra gelişir. Göz kapakları 14-17 günlükken açılır, retina 30 gün olana kadar gelişmez. (14,15) Doğum sonrası ilk 9 gün yenidoğan ratta kaçınma ve korku tercihli öğrenme zayıfken, koku tercihini kolayca öğrenmiştir. (16) Sağır ve kör doğan sıçanlar prenatal dönemden itibaren anne kokusunu öğrenir, annenin kafes içindeki konumu koku yoluyla belirler ve anneye yönelip ona ulaşarak anneden bakım alırlar. (17, 18) Koku aracılı anne- yavru bağlanması gerçekleşmediğinde anne ile daha az temas kurulur ve yavruların hayatta kalma olasılıkları azalır. (19)

Bu nedenle de koku alma kritik yavru sıçanlar için kritik öneme sahip duyuşal sistemdir. Olfaktor bulbus, noradrenerjik lokus seruleus ve amigdalanın gelişmiş koku öğrenmede önemli rol oynayan yapılar olduğu gösterilmiştir. (20) Bu yapılara ek olarak ventral hipokampus koku bilgisinin işlenmesinde çalışma belleğinin bir parçası olarak görev alır. (21) Aynı zamanda hipokampus sosyal tanımda da anahtar role sahiptir. (22)

2.3. Erken Dönemde Yapılan Manipülasyonların Kısaca Özeti

Deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda erken dönemde yapılan manipülasyonların stresli olduğuna inanılmaktadır. Aşağıda bu tezde de kullanılan manipülasyon tipleri ve bunların erişkin dönem üzerine olası etkileri aktarılmıştır.

2.3.1. Yenidoğan Elleme (neonatal handling)

Bir stres etkeni ile karşılaşıldığında stres etkenine cevap olarak davranışsal, otomatik, endokrin ve immun sistemin dahil olduğu bir süreç işler. Bu sistemlerden herhangi birindeki bir anormal işleyiş strese verilen yanıtın hatalı olmasına, bu işleyiş kalıcı olursa da ileri yaşam döneminde farklı etkiler oluşturabilir.

En sık kullanılan yöntemlerden biri Levine ve arkadaşları tarafından 1956 yılında tanımlanan yenidoğan elleme yöntemidir. Yeni doğan elleme yönteminde yavru, anneden ve kafesinden ayrılır ve başka bir kafese 15, 20 veya 45 dk süreyle konur, bu süre 60 dakikadan kısa olmalıdır. Süre bitiminde yavru kafesine döner.

2.3.2. Anneden Ayırma (Maternal Seperation)

Bir diğer yaygın olarak kullanılan yöntem de anneden ayırma yöntemidir. Ayırma yöntemi doğumdan sonra 1. ve ya 2. günlerde başlayıp doğumun ikinci veya üçüncü haftalarında son bulur. (23,24) Anneden ayırma süresi günlük 60-180-360 dakika olabileceği gibi 24 saat de olabilmektedir. (25, 26)

2.3.3. Ambivalan Annenin Etkisi

Ambivalans öznel bireysel düzeyde oluşur ve aynı nesneye karşı çelişkili biliş, duygu ve motivasyonları içerir. (27) Pozitif ve negatif duyguların bir arada olması, iyilik hali üzerinde olumsuz etki yaratabilir. Ambivalan duygular kötü sonuçlara yol açabilir çünkü bu duygular tahmin edilemezdir ve stres yaratır. (28) Yüksek derecede nörotik olan çocukların ebeveynlerinin ambivalan oldukları saptanmıştır. (29) Olumsuzluk ve duygusallık eğilimi olan bireylerin kişiler arası ilişkilerde daha duyarlı oldukları savunulmaktadır. (30) Erken dönem ambivalan davranan ebeveynlerinin yavruları erişkin döneme geldiğinde, tek başına ambivalan davranışın etkisini değerlendirmek insan çalışmalarında güçtür. Çalışmalar o anki ebeveyn tutumunun geçmişte de ambivalan olduğu düşünülerek planlanabilmektedir. Elde edilen sonuçlar da daha spesifik değildir. Bu nedenle de ambivalan etkinin gözlenebilmesi için ambivalan anne modeli oluşturmak istenilmiştir.

2.4. Erken Dönem Manipülasyonların Yenidoğan Nöroendokrin Sistem Üzerine Etkileri

Erken dönem stresli yaşam olaylarının etkilerinin gözlenmesi için yapılan manipülasyonlar doğumdan sonraki 4-14. günlerde olan koku tercihli öğrenmenin etkin olduğu strese az duyarlı dönemle (stress hyporesponsive period) çakışmaktadır. Bu periyot boyunca hipotalamik CRH, pitüiter ACTH ve bazal kortizol düzeyi düşüktür. Hafif düzey stres etkenlerine karşı sıçan bu süreçte

duyarsızdır. Rat beyninin gelişimi için önemli bir dönemdir. Doğumdan sonra ilk 7-14 günde olfaktor bulbus, cerebellum ve dentat gyrus gibi özgül beyin alanlarında gelişim olmaktadır. (31) SHP'nin amacı gelişimini sürdüren beyni yüksek düzey glukokortikoidden korumak ve yeni doğan bağlanma öğrenimine (newborn attachment learning) katkıda bulunmak olabilir. (16,32)

SHP dönemi de yapılan erken dönem manipülasyonlardan etkilenir ve bunun erişkin döneme yansımaları değişen HPA aksıdır.

Yenidoğan elleme yönteminde cinsiyete bağlı olarak beyin farklı bölgelerinde monoamin konsantrasyon ve turnoverında değişiklikler olur. Bu yöntemle maruz kalmış sıçanlarda HPA fonksiyonu değişmekte, stresli bir uyarana maruz kaldığında uyarana başa çıkabilmekte, değişen şartlara adapte olabilmekte, hafıza-bellek, hipokampal LTP gibi bilişsel yeterlilikte artış ve beyin plastitesinde artış olmaktadır. (33, 34, 35,36)

Erken ellenen yavruların anneleri daha fazla yalama/tımarlama ve kamburlaşarak emzirme davranışı gözlenmiştir. (37) Bu muhtemelen infantil stimülasyonun nöroendokrin etkisinde anahtar rolün elle tetiklenen anne davranışının olması gerçeğiyle ilişkili olabilir. (38)

Erişkin döneme geldiklerinde HPA fonksiyonu değişen sıçanlar strese maruz kaldığında daha az ve daha kısa süreli kortikotropin releasing faktör, ACTH, kortizol salgılar. (39,40) Yani yeni doğan erken ellemeye maruz kalan erişkinlerin HPA aksı daha hipoaktiftir.

Anneden ayırma yöntemi yeni doğan sıçana stresli bir uyaran verildiğinde hipopituiter adrenal aks(HPA)'ı daha etkili hale getirir. Yenidoğan döneminde HPA'da oluşan değişiklik erişkin döneme de yansır. Fakat bunun aksi bulgular da vardır. Yavruyken anneden ayırmaya maruz kalan erişkin dişilerde strese maruziyet sonrası beklenen kortikosteron yüksekliği gözlenmemiştir. (41) Artmış nöroendokrin yanıtın erkek sıçanlarla yapılan çalışmalarla elde edilmiştir. Bu durum anneden ayırmanın HPA aksı üzerine etkisinin cinsiyete bağlı olduğunu düşündürebilir. Bu çalışmada ambivalan anne modeli ve diğer erken dönem manipölasyonları kıyaslanırken cinsiyet farklılığın periferik kortizol düzeyi üzerine etkisinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

2.5. Erken Dönem Manipölasyonların Nörogelişim Üzerine Etkileri

Doğumda sıçan beyninin tam gelişmemiş olduğu, sinaptogenezin postnatal 4-11. Günlerde, hipokampal nöronal hücre gelişiminin ve dendritik gelişimin postnatal 5-7. Günlerde maksimum düzeyde olduğu bilinmektedir.

Beyin plastisitesi ile ilgili süreçte anahtar molekül NMDA'dır. NMDA reseptörü sinaptik plastisite ve eksituar nörotransmisyon için gerekli olan iyonotropik glutamat reseptörlerinden biridir. NMDA reseptörleri uzun süreli kalsiyum kanallarını (long-lasting) açarak uzun süreli depolarizasyon sağlar. Bu; sinaptik plastisite, nöronal gelişim ve ekzitotoksisite demektir.(83) NMDA

reseptörleri alt birimlerine göre iki sınıfta toplanır: NMDA reseptör 1 (NR1; en az 8 parça varyantı vardır.) ve 4 alt üniteye sahip NMDA reseptör 2 (NR2A-D). NMDA reseptörleri NR1 ve NR2 alt ünitelerinin farklı oranlarda bir araya gelmesi ile oluşan yapılardır. Bu alt birimlerden biri de NR2B'dir. NR2B ifadesinin yoğun olduğu bölgeler : korteks> olfaktor bulbus> hipokampus> striatum> superior colliculus> inferior colliculus> beyin sapı> retina≥ serebellum> hipotalamus şeklindedir.(84) Doğumda NR2B mRNA ifadesinin serebral korteks, hipokampus, septum neostriatum, talamik çekirdeklerde yüksek olduğu fakat serebellumda düşük olduğu, doğumdan sonraki 7-12'nci günlerde NR2B mRNA ifadesinin serebral korteks ve hipokampusta çok arttığı, septum, neostriatum, talamik çekirdekler ve serebellumda orta düzeyde arttığı gösterilmiştir. (42) NR2B ; duyu bellek, birleşmeli bellek(associative), tanıma belleği ve sosyal bellek dahil belleği ve belleğin bir çok formundaki bilişi arttırabilir. (43) NR2B alt ünitesinin; koku öğrenme ve koku belleğinde görev alan olfaktor bulb, amigdala, korteks ve hipokampusun dahil olduğu ön beyin bölgelerinde sosyal tanıma mekanizması ile ilişkili olarak yoğun miktarda ifade edilmektedir. (43)

Yenidoğan elleme yöntemine maruz kalan erişkinlerin NR2B mRNA düzeyinin prefrontal kortekste ve dorsal hipokampüste arttığı gösterilmiştir. (36)

Öğrenme ve bellekte kritik role sahip olan hipokampüste, anneden ayırma yöntemi ile sinaptik plastisitenin belirteçleri olan beyin kökenli nörotrofik faktör

(BDNF), sinir gelişim faktörü (NGF) düzeylerinde azalma, nöroeneziste azalma gözlenmektedir.(44) Nöroeneziste azalma puberte öncesinde artmış glukokortikoid düzeyinin hipokampuste NMDA reseptör alt ünitesi ifadesini değiştirmesi ile de ilişkili olabilir. (45)

Bir alışmada MS'ye maruz kalan erkek erişkin sıçanlarda hipokampüste NMDA NR2B mRNA ifadesinde azalma olduğu, prefrontal kortekste ise her hangi bir değişiklik olmadığı belirtilmiştir. (46,47)

Doğumdan sonra 9'ncu gün bir defalık 24 saat boyunca anneden ayrılan sıçanlarda hipokampus ve prefrontal kortekste BDNF ve NR2B üretimini azaldığı gözlenmiştir. (47) Bir alışmada BDNF'nin direk NMDA 'nın postsinaptik reseptör aktivitesini modüle ettiği, akut BDNF maruziyeti sonrası NR2B alt ünitesinin varlığına bağlı olarak, postsinaptik trkB üzerinden NMDA kanalının açık olma olasılığını arttırdığı belirtilmiştir. (48)

2.6. Erken Dönem Maniplasyonların Davranış Deneyleri zerine Etkileri

EH maruz kalan erişkin sıçanların yeni bir çevreye girdiğinde daha az korku duydukları, daha az duygusal oldukları ve daha çok keşfe yönelik davrandıkları gösterilmiştir. (49) Anksiyete davranışını değerlendirmek amacıyla yapılan yükseltilmiş artı labirentin açık kollarında daha fazla zaman geçirdikleri;

sosyal öğrenme testinde yeni ve tanıdık cisimleri ayırt edebildikleri fakat öğrenme fazı boyunca daha az sosyal keşif yaptıkları; sosyal etkileşim testi boyunca koklama gibi katılımcı sosyal davranışlarının azaldığı, agresyon gibi katılımcı olmayan davranışların arttığı gözlenmiştir. (50)

Doğum sonrası ilk 3 hafta boyunca günde 3 saat anneden ayrılan sıçanlar erişkin olduğunda yükseltilmiş artı labirentin açık kollarında az vakit geçirdiklerini bildiren çalışmalar vardır. (51) Kontrol grubundan her hangi bir farklılık olmadığı sonucuna ulaşan çalışmalar da vardır.(52, 53,54). Yeni nesne tanıma testinde kontrol grubuna göre başarısızdılar. (51)

3. YÖNTEM

G.Ü.ET-14069 sayılı Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneylei Yerel Etik Kurul Başkanlığı kararıyla, Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi 01/2015-09 proje koduyla çalışma Ocak 2015- Aralık 2015 tarihleri arasında yapılmıştır. Etik kurul onamı ektedir. Etik kurul kararına uygun olarak deneyler, ihtiyaç duyulan en düşük hayvan sayısı ile ve hayvanlar minimal acı çekecek şekilde yapılması planlanmıştır. Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi tarafından maddi olarak desteklenmiştir.

3.1. Sıçanların temini ve çalışma

Çalışmada yer alan sıçanlar Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden temin edilmiştir. 8 gebe Wistar sıçandan doğan 28 erkek ve 23 dişi toplam 51 sıçanla çalışma yapılmıştır. Doğumun olduğu gün 0. Gün olarak kabul edilmiştir. Doğumda sıçan beyninin tam gelişmiş olduğu, sinaptogenezin postnatal 4-11. Günlerde, hipokampal nöronal hücre gelişiminin ve dendritik gelişimin postnatal 5-7. Günlerde maksimum düzeyde olduğu, strese yanıtın temel düzenleyicisi HPA aksının gelişimini 3-14.günlerde tamamlandığı bilinmektedir. Bu durum özellikle PN 1-14. günlerde yapılan manipulasyonların nörogenez ve nöroendokrin gelişimi olumsuz etkileyeceğini ve dolayısıyla erişkin döneme olumsuz yansımaları olacağını düşündürdüğünden yavru sıçanlarla doğum sonrası 1. Günden itibaren çalışmaya başlanmıştır. Kontrol Grubunda 6 erkek 6 dişi; Hafif Stres Grubunda 6 erkek, 6 dişi; Ağır Stres Grubunda 9 erkek, 5 dişi ve Ambivalan Anne Grubunda 5 erkek ve 8 dişi bulunmaktadır.

3.2. Postnatal 1-14. Günlerde Yavru Sıçanlara Müdahaleler

3.2.1. 1. grup (Kontrol grubu): Bu gruptaki sıçanlar postnatal (PN) 1-14.günlerde annelerinin yanında herhangi bir müdahale olmadan büyümüştür. (*non-handling: NH*). Bu dönem boyunca sadece üç günde bir su ve yiyecek ihtiyaçlarını gidermek için buldukları ortama girilmiştir.

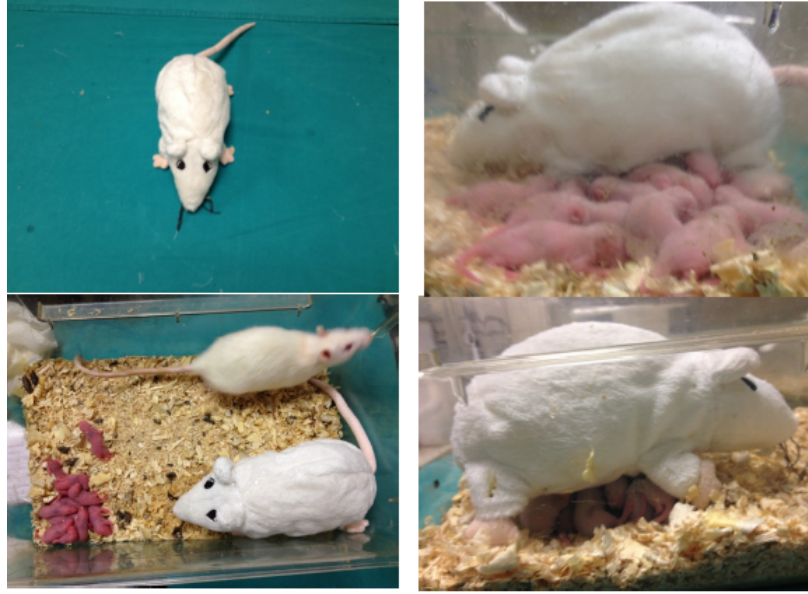
3.2.2. 2. grup (Hafif stres grubu): Bu gruptaki sıçanlara PN 1-14. Günlerde Erken Dönem Elleme Modeli (*early handling: EH*) uygulanmıştır. Bu düzenekte PN 1-14. günlerde, her gün, saat sabah 10.00'da önce anne kafesten çıkarılarak ayrı bir kafese konulmuştur. Daha sonra, eldivensiz elle yavrular birer birer kafesten çıkarılıp, altında 28-30°C'da ısıtıcı bulunan, içi talaş dolu plastik kaplara teker teker konulup, 15 dakika bu kap içinde bekletildikten sonra geri kafese konulmuştur. Bütün yavrularda bu işlem tamamlandıktan sonra en son anne kafese geri konulmuştur.



Resim 1: Erken Elleme manipülasyonu uygulanırken kullanılan düzenek

3.2.3. 3. grup (Ağır stres grubu): Bu gruptaki sıçanlara PN 1-14. günlerde Anneden Ayırma Modeli (*maternal seperation: MS*) uygulanmıştır. Bu düzenekte PN 1-14. günlerde, her gün, sabah annenin yavruları beslemesinden hemen sonra anne kafesten çıkarılarak ayrı bir kafese konmuştur. Bu nlem yavrularda hipoglisemiyi önlemek amacıyla yapılmıştır. Anne 60 dakika boyunca yavrulardan ayrı bir kafeste bekletilmiştir. Bu süre zarfında odada bulunan ısıtıcı çalıştırılarak oda ısının 25-30°C arasında tutulmuş, 60 dakika bitince anne yavruların bulunduğu kafese geri konmuştur.

3.2.4. 4. grup (Ambivalan uyarı grubu): Bu gruptaki sıçanlara PN 1-14. günlerde ambivalan anne modeli uygulanılmıştır. Bu modelle ilgili daha önce bir tez çalışması yapılmıştır. (85) Bu düzenekte PN 1-14. günlerde, her gün, saat 10.00'da önce gerçek anne kafesten çıkarılıp yerine "sahte anne" konulmuştur. Sahte anne, 4. Grup sıçanlara gebe anne sıçanların doğumuna 1 hafta kala anne ile birlikte kalmış, bu sürede annenin kokusunun, idrarının sindiği düşünülen, gerçek annenin aksine dokunma, yalama, emzirme gibi anne işlevlerini yerine getiremeyen cansız bir nesnedir. 60 dakikanın sonunda "sahte anne" kafesten çıkarılıp gerçek anne kafese geri konulmuştur.



Resim 2: Ambivalan Anne manipölasyonu uygulanırken kullanılan sahte anne, anne ve yavruların deney sırasındaki görüntüleri

3.3. Postnatal 15-29. Günler:

Tüm gruplardaki anne ve yavrulara haftada 1-2 defa talaş değişimi, 3 günde bir yem-su değişimi dışında herhangi bir müdahalede bulunulmamıştır.

3.4. Posnatal 30-60. Günler:

Yavruların gelişimleri dikkate alınarak postnatal 30. Günde yavrular hem annelerinden ayrılmış hem de erkek ve dişi cinsiyetler birbirinden ayrılmıştır. Her kafeste 3-4 aynı cinsiyetten sıçan konulmuştur. Her sıçana aynı bakım verilmiş haftada 1-2 defa talaş değişimi, 3 günde bir yem-su değişimi dışında herhangi bir müdahalede bulunulmamıştır.

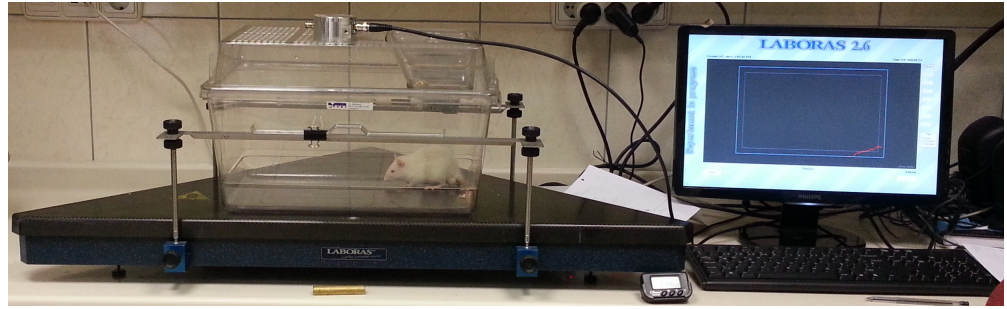
Doğumdan sonraki 60. Günde sıçanlar Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi 'nden alınarak Gazi Üniversitesi Nörobilim Laboratuvarına getirilerek deneylere burada devam edilmiştir. Ortama 1 gün alıştıktan sonra sıçanların her biri tartılmış ve kuyrukları asetat kalem ile numaralandırılmıştır ve bir kafes 3-4 sıçan olacak şekilde kafeslere yerleştirilmiştir. Nörobilim laboratuvarında sıçanların haftalık talaş değişimi yapılmış 3 günde bir yem ve suları yenilenmiştir. Davranış deneyleri sırasında gruplarda sıçan sayılarında azalma olmuştur. Hafif stres grubundan 2 dişi, Ağır stres grubundan 1 dişinin 72. Günde öldükleri, yine Ağır stres grubundan birinin deney bitiminden bir gün önce öldüğü ve Ambivalan anne grubundan bir dişinin 77. Gün öldüğü fark edilmiştir.

3.5. Davranış Deney Bataryası:

Davranış deneyleri sıçanlar 60-90. Günlerindeyken yapılmıştır. Deneyler loş ışık altında, 10:00-13:00 arasında yapılmıştır. Hayvanlar deney başlamadan yarım saat önce deney ortamına getirilerek ortama alışmaları sağlanmıştır. Sırasıyla Laboras ve USV kaydı alındıktan sonra Sosyal etkileşim testi, Yükseltilmiş + labirent testi ve son olarak da Yeni Nesne Tanıma Testi yapılmıştır. Davranış deneylerinin birbiri üzerine etkileri engellenmek amacıyla deneyler 3-4 gün aralıkla yapılmıştır.

3.5.1. Laboras

Çalışmanın 62'nci gününde tüm gruptaki sıçanların davranışları direk gözlem ve bir davranış analizi cihazı olan, hayvanın hareketlerine hassas bir platform üzerine oturtulmuş bir standart kafesten oluşan Laboras® (Metris, Netherlands) aracılığıyla değerlendirilmiştir. Her ikisi de 10 dakika boyunca iki gözlemci tarafından yapılmıştır. Gözlemciler gruplara kördür. Belirtilen süre boyunca her bir sıçanın kafa tımarlama, vücut tımarlama, şahlanma (iki arka ayağı üzerinde yükselme), yeme, içme, lökomotor aktivite, donma ve immobilitate davranışları gözlenmiştir. Eş zamanlı olarak da ultrasonik vokalizasyon (USV) kaydı yapılmıştır.



Resim 3: Davranış analizi yapmak için kullanılan Laboras cihazı

3.5.2. USV

Erişkin sıçanlar temel olarak düşük ve yüksek frekanslı olmak üzere iki farklı tipte ultrasonik vokalizasyon çıkarır. 22 kHz USV diye de adlandırılan düşük frekanslı vokalizasyonlar, 18-32 kHz frekans aralığındadır. 300-4000 msn

sürer ve ses basıncı 65-85 dB'dir. (55). 50 kHz diye de adlandırılan yüksek frekanslı vokalizasyonlar, 32-96 kHz frekans aralığındadır. 30-50 ms sürer. (56) Düşük frekanslı vokalizasyonlar; sıçan bir anksiyete veya depresyona neden olacak bir negatif uyarana maruz kaldığında ortaya çıkan negatif duygulanımı yansıtır. Erken gelişimsel süreçte aversif bir uyana maruz kalan sıçanların erişkin olduklarında düşük frekanslı USV çıkarmalarına neden olduğu gösterilmiştir.(57) Yüksek frekanslı USV pozitif duygulanımı yansıtmaktadır.

Bu sesler bir USV dedektör sistemi ile yakalanmaktadır. (Sonotrack®, Metris, Netherlands). Cihaz tüm çevresel sesleri filtreler. Sonotrackta 1 dB , 1 milivolt (mV)'a denk gelmektedir. Spektrogramda arka plandaki gürültü siyah renkle (10 mV veya 16 dB), en güçlü sinyal değeri (50 mV veya 31 dB) ise kırmızı renkle temsil edilmektedir. USV'nin başlangıcı ve sonundaki frekans sapmaları biyolojik bir ses için karakteristiktir. Aşağıdaki resimde GÜTF Nörobilim laboratuvarında yer alan Sonotrack cihazı görülmektedir.



Resim 4: Ultrasonik vokalizasyon kaydı yapmak için kullanılan Sonotrack cihazı

3.5.3. Sosyal Etkileşim Testi:

File ve Hyde tarafından 1978 yılında anksiyolitik ilaçların etkisini değerlendirmek amacıyla geliştirilmiş bir modeldir. Aynı zamanda azalmış sosyal etkileşim; Kay SR (1987) ve Sams-Dodd (1997) tarafından şizofrenide negatif semptomların potansiyel hayvan modeli olarak da gösterilmiştir. Sosyal etkileşim testi pek çok çalışmada çalışmanın yöntemine göre uyarlanmıştır. Daha önceki çalışmalarda yüksek ışık altında ve tanıdık olmayan bir ortamda sıçanların kaygı düzeyinin arttığı, plazma kortikosteron düzeylerinin yükseldiği gözlenmiştir. Bu nedenle de test başlamadan iki gün önce 4 dak/gün 100x100x50 cm boyutlarında açık alan kutusunda bırakılarak ortama alışması sağlanmıştır. Test başladığında birbirine yabancı, kilo farkları 15 g'dan daha fazla olmayan iki rat deney ortamına yerleştirilmiştir. 10 dakika boyunca davranışları kaydedilmiştir. Sosyal etkileşim verilerini değerlendirmek için veriler; aktif sosyal davranış (yakınlaşma, takip, koklama ve sosyal tımarlama, kaçma, sakınma, aşağı-yukarı tırmanma), aktivite (gezme ve inceleme) ve stresle ilişkili davranış (kendini tımarlama ve donma) şeklinde gruplandırılmıştır. Her test bitiminde alan %10 alkol ile temizlenmiştir. Sosyal etkileşim testi sıçanlar 67 günlükken yapılmıştır.



Resim 5: Sosyal Etkileşim Testi sırasındaki sıçanlar

3.5.4. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi:

Bu testin yapılandırılması ve test prosedürü Pellow ve File tarafından (1986) geliştirilmiştir. Bu aygıt, 50 cm yükseklikte, iki açık (50 X 10 cm), iki kapalı (50 X 10 cm ve 38 cm yükseklikte duvarları olan) koldan oluşan ve farklı tiplerdeki kolların birbirlerinin karşısında bulunacak şekilde ayarlanmış olan, artı şeklinde plexiglassdan yapılmış bir platformdur. Sıçanlar, yüzü kapalı kollardan birine dönük olacak şekilde aygıtın tam ortasına yerleştirilmiş ve 5 dakika süreyle hayvanların davranışları izlenmiştir. Normalde deney hayvanı kendini kapalı kollarda daha güvenli hisseder ve zamanının çoğunu kapalı kol ya da kollarda geçirir. Anksiyolitik etkili ilaçların açık kollara giriş sayısını veya kollarda kalma süresini arttırdığı gösterilmiştir. Bu deneyde hayvanların kollara giriş sayısı,

kollarda geçirdikleri süre ve kollarda kat ettikleri mesafe Webcam bağlı Video Tracking System ile izlenmiş ve kaydedilerek ve şu parametreler hesaplanmıştır:

$$\text{Kapalı (açık) kola girme yüzdesi} = \frac{\text{Kapalı (açık) kola girme sayısı}}{\text{Toplam kollara girme sayısı}} \times 100$$

$$\text{Kapalı (açık) kolda geçirilen süre (saniye) yüzdesi} = \frac{\text{Kapalı (açık) kolda geçirilen süre}}{\text{Kollarda geçirilen toplam süre (saniye)}} \times 100$$

Bu çalışmada yükseltilmiş artı labirent testi sıçanlar 72 günlükken yapılmıştır.



Resim 6: Anksiyete düzeyini ölçmek için kullanılan Yükseltmiş Artı Labirent

3.5.5. Yeni Nesne Tanıma Testi:

Sıçanlarda görsel tanıma belleği ile ilgili hazırlanmış birçok model bulunmaktadır. Bu çalışmada ilk defa Ennaceur ve Delacour tarafından 1988 yılında tanımlanan test protokolü uygulanmıştır. Bu test için 100 X 100 X 50 cm boyutlarında, tabanı kendinden küçük karelere bölünmüş mat beyaz açık alan (*open field*) kutusu kullanılmıştır. Tahtadan yapılmış farklı renk ve şekillerde 3'er kopyası bulunan nesnelere kullanılmıştır. (A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2, C3). Bu nesnelere sıçan tarafından hareket ettirilememesi amacıyla zemine takılıp çıkarılabilecek şekilde sabitlenmiştir. Yeni nesne tanıma testi 76-79. Günlerde yapılmıştır. Öncelikle her hayvan için 10'ar dakika süren 2 seans şeklinde, ortama alıştırma testi yapılarak yeni bir ortama girmeye bağlı oluşabilecek kaygının

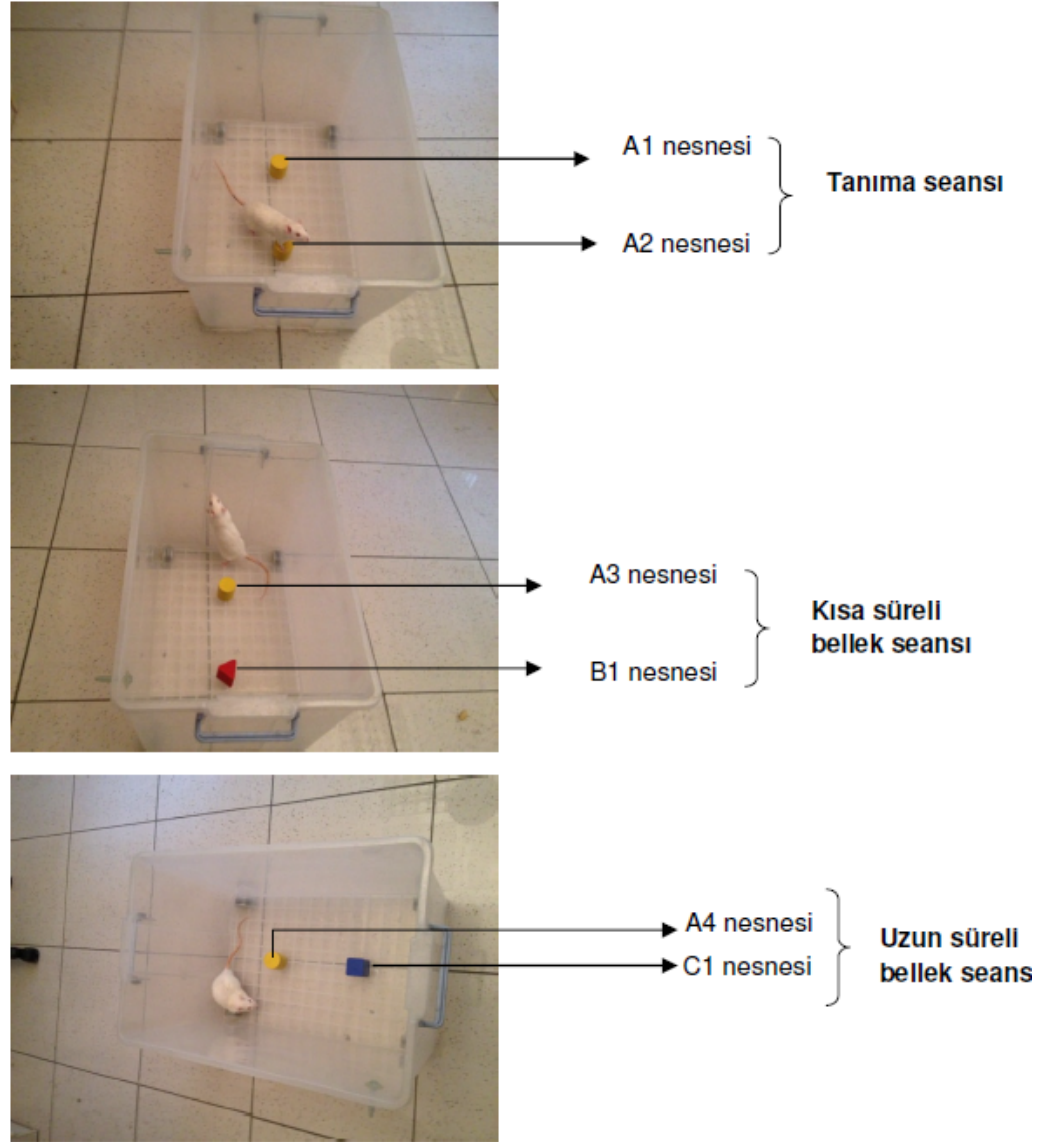
önüne geçilmesi hedeflenmiştir. Son alışma seansından 24 saat sonra test başlatılmıştır. Tüm testler video kamerasına kaydedilmiştir. Önce kutunun içine A1 ve A2 (iki aynı nesne) nesnelere, birbirine yakın (yaklaşık 10 cm) uzaklıkta, iki komşu kenara denk gelecek şekilde yerleştirilmiştir. (tanıma seansı). Daha sonra kutuya sıçan konulup 10 dakika kutuda tutulmuştur. Sonra sıçan çıkarılıp, nesnelere her ikisi de çıkarıldıktan sonra yerlerine bir aynı nesne (A3) ve yeni bir nesne (B) konmuştur. (diğerleriyle aynı yere). Kısa süreli bellek için tanıma seansından 1 saat sonra sıçan tekrar kutuya konmuş ve 5 dakika kutuda tutulmuştur. Bu arada her iki test durumunda da sıçan nesnelere inceleme için geçirdiği süreyi kaydedilmiştir. Nesneyi inceleme davranışı burnunu nesneye 2 cm kadar yaklaştırma ve nesneye dokunma olarak tanımlanır. Uzun süreli bellek için tanıma seansından 24 saat sonra aynı nesne (A4) ve yeni bir nesne (C) konarak (diğerleriyle aynı yere), sıçan 5 dakika kutuda tutulmuş ve nesnelere incelenme davranışı kaydedilmiştir. Tanıma belleği iyi olan bir sıçanın yeni nesnelere (B ve C) eski nesnelere göre (A3 ve A4) daha fazla zaman geçirmesi beklenmektedir.

Yeni Nesne Tanıma Belleği Testi ile sıçanların tanıdık nesne ile geçirdikleri zaman (*TF*), yeni nesne ile geçirdikleri zaman (*TN*) ve nesnelere geçirdikleri toplam süre saniye cinsinden kaydedilmiştir. Bu veriler kullanılarak iki indeks hesaplanmıştır. Tanıma İndeksi (*Recognition Index- RI*) hatırlamanın temel göstergesi olarak görülür ve yeni nesneyi inceleme süresinin toplam nesne inceleme süresine bölünmesi ile hesaplanır:

$$RI = \frac{TN}{TN + TF}$$

Diğer hesaplanan indeks Ayırma İndeksi (*Discrimination Index- DI*) dir. Yeni ve tanıdık nesnelere ayırma becerisini gösterir. Bu değer +1 ile -1 arasında bir değerdir. Pozitif bir skor yeni nesne ile daha fazla vakit geçirildiğini, negatif bir skor tanıdık nesne ile daha fazla zaman geçirildiğini, sıfır değeri her iki nesneyle de eşit zaman geçirildiğini gösterir. Bu indeks şu şekilde hesaplanır:

$$DI = \frac{TN - TF}{TN + TF}$$



Resim 7: Bellek işlevlerinin değerlendirilmesi için kullanılan Yeni Nesne

Tanıma Testi düzeneği

3.6. Hayvanların Öldürülmesi, Gövde Kanlarının Alınması ve Beyin

Dokularının Çıkarılması

Yeni nesne tanıma belleği uzun bellek değerlendirme seansından 2 saat

sonra Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezin’de hayvanlara letal dozda 30 mg/kg verildikten sonra kardiyak arresti takiben sıçanların beyin dokuları çıkarılmıştır. Prefrontal korteks ve hipokampus rat beyin atlasına uygun bir şekilde beyinden ayrılmıştır. Her bir doku örneği epandorflara kodlanarak yerleştirilmiş ve sıvı azottan geçirilerek Elisa analizine kadar -80 °C’ e yerleştirilmiştir. Plazma kortizol düzeyini ölçmek amacıyla bir enjektör aracılığıyla sıçan gövde kanları alınmıştır ve her bir kan kodlanarak biyokimya tüplerine alınmış aynı gün kortizol düzeylerine bakılmıştır.

3.7. Elisa

Dokular homojenizasyon tamponunda homojenize edildikten sonra elde edilen homojenatlar 14000 g’de 30 dakika süreyle santrifüje edilmiştir. Oluşan NMDAR2B analiz edildi. NMDAR2B düzeyleri bir sandviç EIA (enzyeme immunoassay) yöntemi ile hazır kit (NMDAR2B, Eastbiopharm) kullanılarak ölçülmüştür. NMDAR2B tahlil aralığı 0.5-10 ng/ml, duyarlılığı 0.02 ng/ml idi.

Çalışma takvimi, gruplara göre deneyler süresince cinsiyet dağılımı ve sıçan sayıları Tablo 1.’de gösterilmiştir.

Tablo 1. Çalışma Takvimi

	Kontrol Grubu	Hafif Stres Grubu	Ağır Stres Grubu	Ambivalan Anne Grubu
D1-14	Standart Bakım	Erken Elleme Yöntemi	Anneden Ayırma Yöntemi	Ambivalan Anne Yöntemi
D14-30	Standart Bakım			
D31	Annelerden ayırma ve erkek/ dişi sıçanların birbirinden ayırımı			
Cinsiyet Dağılımı	E: 6 D: 6	E: 6 D: 6	E: 9 D: 5	E: 5 D: 8
D32-60	Standart Bakım			
D61	Hayvanların Nörobilim Laboratuarına Getirilmesi			
D62	Davranış Gözlemi, Laboras Kaydı ve USV Kaydı			
D63-64	Standart bakım			
D65-D66	Sosyal Etkileşim Testi için Günlük 5 Dakika Ortama Alışma			
D67	Sosyal Etkileşim Testi			
D68-D71	Standart Bakım			
D72	Yükseltilmiş Artı Labirent			
D73-D75	Standart Bakım			
D76-D77	Yeni Nesne Tanıma Testi için Günlük 10 Dakika Ortama Alışma			
D78	Yeni Nesne Tanıma Testi- Kısa Süreli Bellek			
D79	Yeni Nesne Tanıma Testi- Uzun Süreli Bellek Beyin Dokularının Çıkarılması, Kan Alımı			
Cinsiyet Dağılımı	E: 6 D: 6	E: 6 D: 4	E: 8 D: 4	E: 5 D: 7

3.8. İstatistik Analizler

İstatistik değerlendirmeler *Statistical Packages for the Social Sciences* (SSPS) 21.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Tüm değerlendirmelerde non-parametrik testler kullanılmıştır. Gruplar arası karşılaştırma yaparken

Kruskal-Wallis analiz, hangi grubun fark yarattığını anlamak için *Mann Whitney U* analiz yöntemleri kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen hayvanların cinsiyet açısından karşılaştırmaları Tablo 2’de gösterilmiştir. Gruplar arasında cinsiyet dağılımı açısından anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur ($X^2=1.816$, $p=.611$).

Tablo 2. Gruplar arası cinsiyet karşılaştırılması

Değişkenler	Gruplar (N/Sütun yüzdesi)				X ²	p
	Kontrol	Hafif stres	Ağır stres	Ambivalan anne		
Erkek	6(50)	6(50)	5(35.7)	8(61.5)	1.816	.611
Dişi	6(50)	6(50)	9(64.3)	5(38.5)		

Grupların başlangıç ve son ağırlıkları kilo (gram) açısından karşılaştırılmış ve sonuçlar Tablo 3’de belirtilmiştir. Buna göre hem başlangıç ağırlık açısından ($X^2=2.403$, $p=.493$) hem de son ağırlık ($X^2=1.772$, $p=.621$) açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktur.

Tablo 3. Grupların başlangıç ve son ağırlıklarının kilo (gram) açısından karşılaştırılması

Değişkenler	Gruplar (Ortalama±Standard hata)				X ²	p
	Kontrol	Hafif stres	Ağır stres	Ambivalan anne		
Başlangıç ağırlık	126.83±16.81	119.25±30.62	125.71±35.07	111.85±39.91	2.403	.493

Son ağırlık	149.08±23.73	162.30±30.12	162.8±42.11	147.75±47.47	1.772	.621
-------------	--------------	--------------	-------------	--------------	-------	------

4.1. Davranış Analizleri

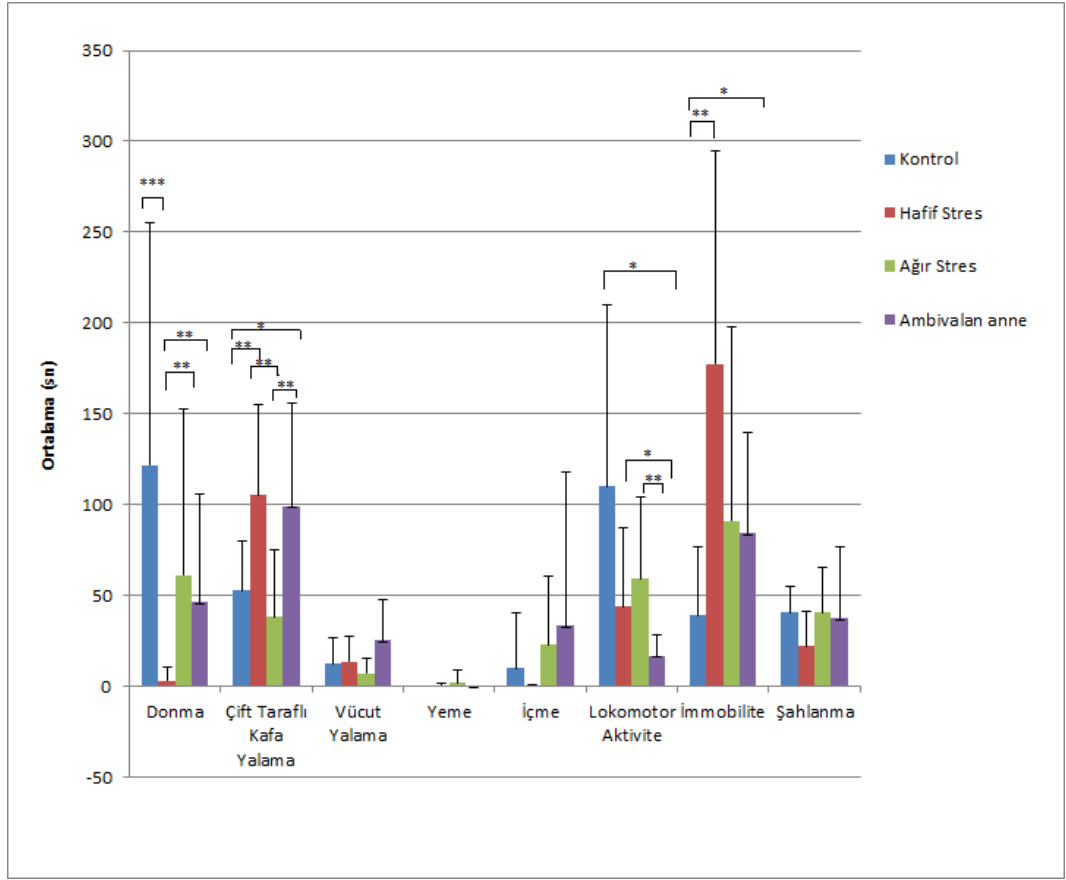
Tüm grupların Laboras'dan ve gözlemden elde edilen davranışlarının sonuçları Tablo 4 ve Grafik 1 ile sunulmuştur. Gözlem sonucu elde edilen davranışlardan; donma ($X^2=19.575$, $p<.001$) ve çift taraflı kafa yalama ($X^2=15.794$, $p<.01$) davranışları açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu bulunmuştur. Laboras kayıtlarından elde edilen bulgulara göre lokomotor aktivite ($X^2=13.672$, $p<.01$) ve immobilité ($X^2=11.459$, $p<.01$) açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir. Ortaya çıkan bu farkların kaynağını anlamak için *Mann-Whitney U* analizi yapılmıştır. Sonuçta; donma davranışı açısından bakıldığında, hafif stres grubundaki hayvanlar ($3.08±7.28$), kontrol ($121.83±133.6$, $Z=-3.765$, $p<.001$), ağır stres ($61±91.52$, $Z=-3.162$, $p<.01$) ve ambivalan anne ($46.08±59.6$, $Z=-3.468$, $p<.01$) gruplarına göre anlamlı olarak daha az donma davranışı göstermişlerdir. Kontrol grubundaki hayvanlar ($52.58±27.33$), hafif stres ($105.25±49.68$, $Z=-2.656$, $p<.01$) ve ambivalan anne ($99.15±56.67$, $Z=-2.122$, $p<.05$) grubundaki hayvanlara göre; ağır stres grubundaki hayvanlar da ($38.21±36.79$), hafif stres ($105.25±49.68$, $Z=-3.164$, $p<.01$) ve ambivalan anne ($99.15±56.67$, $Z=-2.669$, $p<.01$) grubundaki hayvanlara göre anlamlı olarak daha az çift taraflı kafa yalama davranışı sergilemişlerdir. Ambivalan anne grubundaki hayvanlar ($16.77±11.72$), kontrol ($110±100.22$, $Z=-2.586$, $p<.05$), hafif stres ($43.67±43.85$, $Z=-2.095$, $p<.05$) ve ağır

stres (59.21 ± 45.34 , $Z = -3.397$, $p < .01$) grubundaki hayvanlara göre anlamlı olarak daha az lokomotor aktivite davranışı gösterdikleri gözlenmiştir. İmmobilite davranış açısından bakıldığında ise kontrol grubundaki hayvanlar (38.92 ± 38.08) hem hafif stres (177.5 ± 117.03 , $Z = -3.149$, $p < .01$) hem de ambivalan anne (84.46 ± 55.02 , $Z = -2.232$, $p < .05$) grubundaki hayvanlara göre anlamlı olarak daha az immobilite davranışı göstermişlerdir.

Tablo 4. Grupların genel olarak Laboras'dan ve gözlemden elde edilen davranış analizlerinin (saniye ölçüsünde) karşılaştırılması

Değişkenler	Gruplar (Ortalama±Standard hata)				X ²	p
	Kontrol (N=12)	Hafif stres (N=12)	Ağır stres (N=14)	Ambivalan anne (N=13)		
Donma	121.83±133.6	3.08±7.28	61±91.52	46.08±59.6	19.575**	.000
Çift taraflı kafa yalama	52.58±27.33	105.25±49.68	38.21±36.79	99.15±56.67	15.794*	.001
Vücut yalama	12.42±14.62	13.42±14.19	7±8	25.62±22.29	3.326	.344
Yeme	0	0.42±1.44	1.93±7.22	0	1.975	.578
İçme	9.75±30.69	0.25±0.62	22.64±37.64	33.54±84.51	2.261	.520
Lokomotor aktivite	100±100.22	43.67±43.85	59.21±45.34	16.77±11.72	13.672*	.003
İmmobilite	38.92±38.08	177.5±117.03	90.93±107.15	84.46±55.02	11.459*	.009
Şahlanma	40.42±14.72	22.08±19.47	40.5±24.77	37.46±39.25	6.041	.110

* $p < .01$, ** $p < .001$



Grafik 1. Cinsiyet ayrımı olmadan grupların Laboras'dan ve gözlemden elde edilen davranışları (*p<.05, **p<.01, *p<.001)**

Erkek hayvanlara ait Laboras'dan ve gözlemden elde edilen davranış analiz sonuçları Tablo 5'de ve Grafik 2'de gösterilmiştir. Tablo incelendiğinde, gözlem sonucu elde edilen davranışlardan; donma ($X^2=9.983$, $p<.05$) ve çift taraflı kafa yalama ($X^2=9.467$, $p<.05$) davranışları açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu görülmektedir. Laboras kayıtlarından elde edilen bulgulara göre ise lokomotor aktivite ($X^2=13.016$, $p<.01$) ve immobilite ($X^2=8.923$, $p<.05$) açısından gruplar arasında anlamlı bir fark vardır. Ortaya çıkan farkların kaynağı incelendiğinde, hafif stres grubundaki erkek hayvanlar (0 ± 0), kontrol (59.33 ± 66.67 , $Z=-2.678$, $p<.01$), ağır stres (85.4 ± 141.23 , $Z=-2.545$, $p<.05$) ve

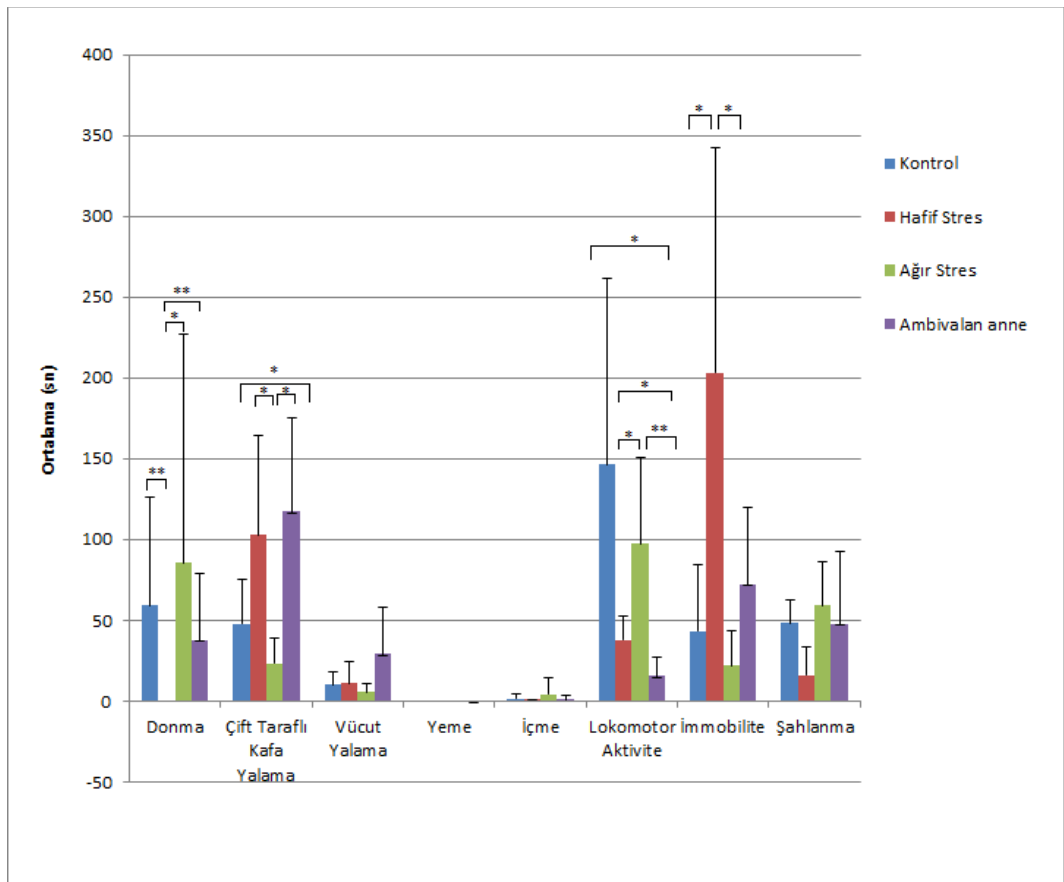
ambivalan anne (37.75 ± 40.88 , $Z = -2.895$, $p < .01$) grubundaki erkek hayvanlardan anlamlı olarak daha az donma davranışı göstermiştir. Çift taraflı kafa yalama davranışı açısından bakıldığında kontrol grubundaki erkek hayvanlar (47.67 ± 27.36) ambivalan anne grubundaki erkek hayvanlardan (117.25 ± 58.31 , $Z = -2.066$, $p < .05$), ağır stres grubundaki erkek hayvanlar (23.2 ± 15.93) ise hem hafif stres (102.83 ± 61.85 , $Z = -2.191$, $p < .05$) hem de ambivalan anne (117.25 ± 58.31 , $Z = -2.196$, $p < .05$) gruplarındaki erkek hayvanlardan anlamlı olarak daha az çift taraflı kafa yalama davranışı gösterdiği gözlenmiştir. Ambivalan anne grubundaki erkek hayvanlar (15.38 ± 11.41), kontrol (146.5 ± 115.39 , $Z = -2.132$, $p < .05$), hafif stres (37.67 ± 15.21 , $Z = -2.520$, $p < .05$) ve ağır stres (97.4 ± 53.64 , $Z = -2.932$, $p < .01$) grubundaki erkek hayvanlardan, hafif stres grubundaki erkek hayvanlar da (37.67 ± 15.21) ağır stres (97.4 ± 53.64 , $Z = -2.013$, $p < .05$) grubundaki erkek hayvanlardan anlamlı olarak daha az lokomotor aktivite davranışı göstermiştir. Hafif stres grubundaki erkek hayvanlar (203 ± 139.77) hem kontrol (43.17 ± 41.59 , $Z = -2.166$, $p < .05$) hem de ağır stres (22 ± 21.41 , $Z = -2.196$, $p < .05$) grubundaki erkek hayvanlardan anlamlı olarak daha fazla immobilitate davranışı sergilemişlerdir.

Tablo 5. Erkek hayvanların Laboras'dan ve gözlemden elde edilen davranış analizlerinin (saniye ölçüsünde) karşılaştırılması

Değişkenler	Gruplar (Ortalama±Standard hata)				X ²	p
	Kontrol (N=6)	Hafif stres (N=6)	Ağır stres (N=5)	Ambivalan anne (N=8)		
Donma	59.33±66.67	0	85.4±141.23	37.75±40.88	9.983*	.019
Çift taraflı kafa yalama	47.67±27.36	102.83±61.85	23.2±15.93	117.25±58.31	9.467*	.024
Vücut yalama	10.33±8.16	11.17±12.86	5.4±3.98	29±22.56	3.927	.269

Yeme	0	0	0	0	-	-
İçme	1.5±2.74	0.33±0.82	4.4±9.84	1.12±2.23	1.376	.711
Lokomotor aktivite	146.5±115.39	37.67±15.21	97.4±53.64	15.38±11.41	13.016**	.005
İmmobilite	43.14±41.59	203±139.77	22±21.41	72.5±47.43	8.923*	.030
Şahlanma	48.33±14.33	15.83±17.34	59±27.45	47.88±44.53	7.627	.054

*p<.05, **p<.01



Grafik 2. Erkek grupların Laboras'dan ve gözlemden elde edilen davranışları (*p<.05, **p<.01)

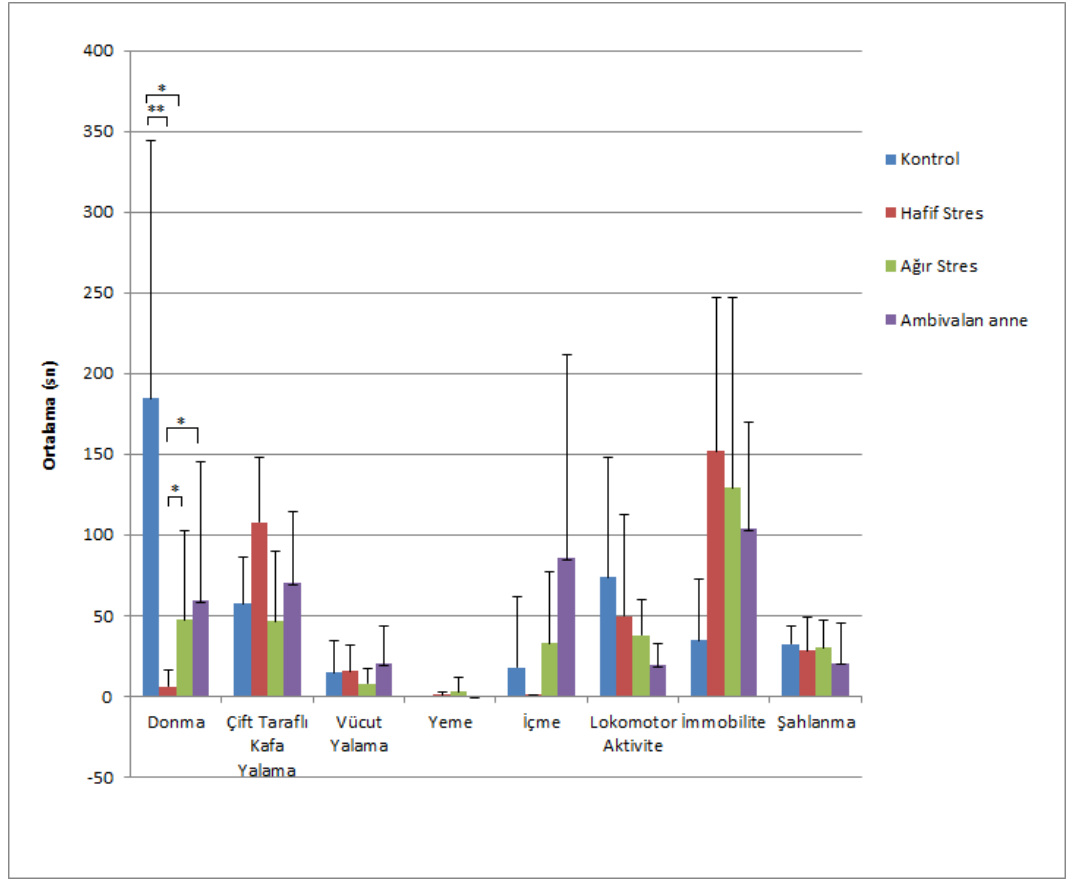
Dişi hayvanlara ait Laboras'dan ve gözlemden elde edilen davranış analiz sonuçları Tablo 6'de ve Grafik 3'de gösterilmiştir. Bulgulara göre; gözlem sonucu elde edilen davranışlardan sadece donma ($X^2=13.638$, $p<.01$) davranışları

açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır. Ortaya çıkan bu farkın kaynağını anlamak için yapılan inceleme sonucunda, hafif stres grubundaki dişi hayvanlar (6.17±9.68), kontrol (184.33±159.5, Z=-2.934, p<.01), ağır stres (47.44±55.3, Z=-2.132, p<.05) ve ambivalan anne (59.4±85.86, Z=-2.056, p<.05) grubundaki dişi hayvanlardan; ağır stres grubundaki dişi hayvanlar da (47.44±55.3) kontrol (184.33±159.5, Z=-2.538, p<.05) grubundaki dişi hayvanlardan anlamlı olarak daha az donma davranışı gösterdikleri gözlenmiştir.

Tablo 6. Dişi hayvanların Laboras'dan ve gözlemden elde edilen davranış analizlerinin (saniye ölçüsünde) karşılaştırılması

Değişkenler	Gruplar (Ortalama±Standard hata)				X ²	p
	Kontrol (N=6)	Hafif stres (N=6)	Ağır stres (N=9)	Ambivalan anne (N=5)		
Donma	184.33±159.5	6.17±9.68	47.44±55.3	59.4±85.86	13.638*	.003
Çift taraflı kafa yalama	57.5±28.92	107.67±39.87	46.56±43.05	70.8±44.52	7.213	.065
Vücut yalama	14.5±19.83	15.67±16.28	7.89±9.68	20.2±23.24	0.401	.940
Yeme	0	0.83±2.04	3±9	0	1.623	.654
İçme	18±43.6	0.17±0.41	32.78±43.93	85.4±126.3	2.073	.557
Lokomotor aktivite	73.5±74.72	49.67±62.54	38±22.02	19±13.19	3.344	.342
İmmobilite	34.67±37.65	152±95.07	129.22±117.51	103.6±66.35	5.643	.130
Şahlanma	32.5±11	28.33±20.96	30.22±16.95	20.8±24.24	2.147	.543

*p<.01



Grafik 3. Dişi grupların Laboras'dan ve gözlemden elde edilen davranışları
 (*p<.05, **p<.01)

4.2. Ultrasonik Ses Kaydı

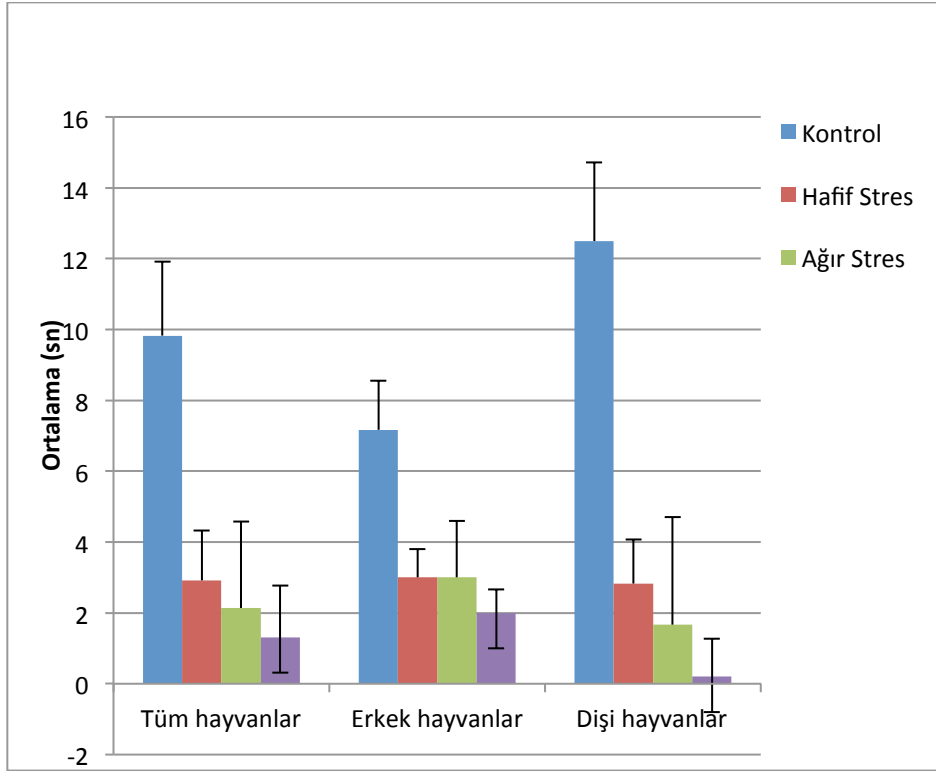
Hayvanların USV kayıtları, doğrudan gözlem ve laboras kaydı sırasında yapılmıştır. Hayvanlardan hiç biri doğrudan gözlem ve laboras kaydı sırasında ses çıkarmamıştır.

4.3. Yükseltilmiş Artı Labirent

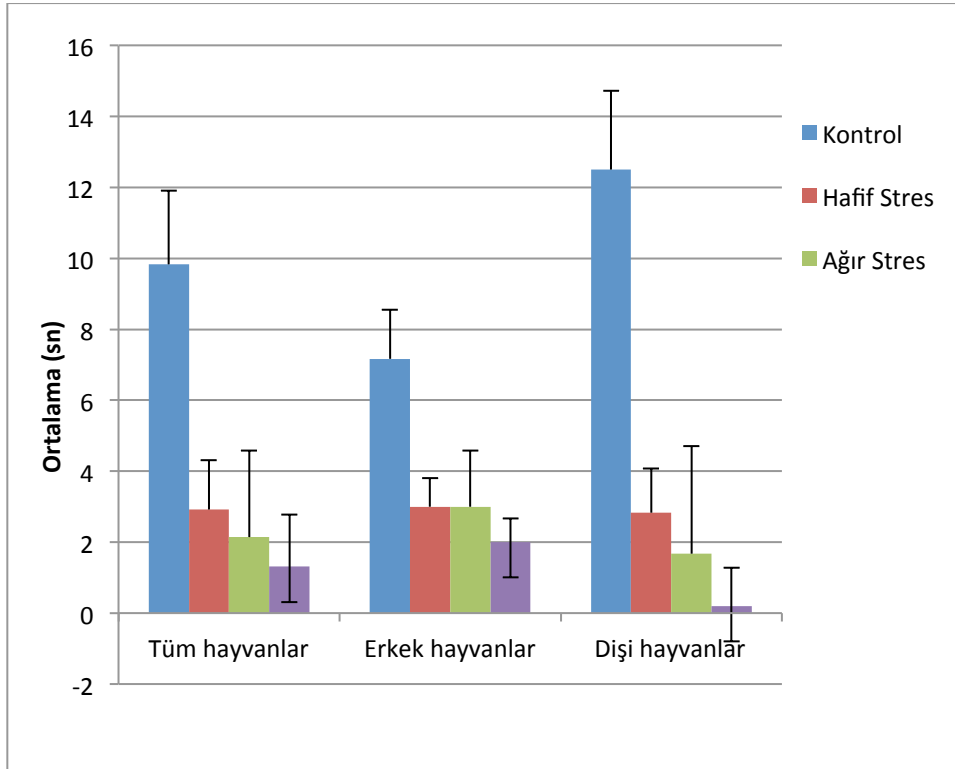
Gruplar genel olarak ve cinsiyete göre Yükseltilmiş Artı Labirent'te göstermiş oldukları performansları karşılaştırılmış ve sonuçlar Tablo 7'de gösterilmiştir. Tablo incelendiği, hem genel olarak hem de cinsiyetler bakımından Yükseltilmiş Artı Labirent'te göstermiş oldukları performanslar açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır.

Tablo 7. Grupların genel olarak ve cinsiyete göre Yükseltilmiş Artı Labirent'te göstermiş oldukları performansın karşılaştırılması

Değişkenler		Gruplar (Ortalama±Standard hata)				X ²	p
		Kontrol	Hafif stres	Ağır stres	Ambivalan anne		
Genel	Açık kollara girme yüzdesi	33.92±25.13	20.5±21.83	26.79±29.3	13.46±21.93	5.786	.123
	Açık kollarda vakit geçirme yüzdesi	9.83±14.38	2.92±5.28	2.14±3.21	1.31±2.63	6.033	.110
Erkek Sıçanlar	Açık kollara girme yüzdesi	33.33±25.82	20.67±23.11	30±29.91	15.62±22.9	2.740	.434
	Açık kollarda vakit geçirme yüzdesi	7.17±7.98	3±5.02	3±3.67	2±3.21	2.463	.482
Dişi Sıçanlar	Açık kollara girme yüzdesi	34.5±26.86	20.33±22.67	25±30.62	10±22.36	3.237	.357
	Açık kollarda vakit geçirme yüzdesi	12.5±19.34	2.83±6.01	1.67±3.04	0.2±0.45	4.353	.226



Grafik 4. Grupların açık kollara girme yüzdesi sonuçları



Grafik 5. Grupların açık kollarda vakit geçirme yüzdesi sonuçları

4.4. Yeni Nesne Tanıma Belleği Testi

Kısa süreli ve uzun süreli bellek için Yeni Nesne Tanıma Belleği Testi sonuçları Tablo 8 ve Tablo 9’da sunulmuştur.

4.4.1. Kısa Süreli Bellek

Cinsiyet ayrımı yapılmadan değerlendirmede; kısa süreli bellek için yapılan testte grupların tanıdık nesne ($X^2=10.601$, $p<.05$), yeni nesne ($X^2=9.044$, $p<.05$) ile geçirdikleri süre ve her iki nesneyle geçirdikleri toplam süre ($X^2=10.619$, $p<.05$) açısından gruplar arasında anlamlı bir fark vardır. Ayırma İndeksi ($X^2=4.285$, $p=.232$) ve Tanıma İndeksi ($X^2=3.969$, $p=.265$) açısından ise gruplar arasında fark olmadığı bulunmuştur. Tanıdık nesne ile geçirdikleri süre açısından ortaya çıkan farkın kaynağını anlamak için yapılan analiz sonucunda, kontrol grubundaki hayvanlar (12.5 ± 8.72), ağır stres (3.15 ± 4.16 , $Z=-2.872$, $p<.01$) ve ambivalan anne (4.33 ± 7.09 , $Z=-2.505$, $p<.05$) grubundaki hayvanlardan anlamlı olarak daha fazla tanıdık nesne ile zaman geçirmişlerdir. Yeni nesne ile geçirdikleri süre açısından ortaya çıkan farkın kaynağını anlamak için yapılan analiz sonucunda, kontrol grubundaki hayvanlar (17.83 ± 15.92), ağır stres (4.69 ± 4.68 , $Z=-2.785$, $p<.01$) ve ambivalan anne (5.67 ± 6.65 , $Z=-2.401$, $p<.05$) grubundaki hayvanlardan anlamlı olarak daha fazla yeni nesne ile zaman geçirmişlerdir. Son olarak her iki nesneyle geçirdikleri toplam süre açısından bakıldığında, kontrol grubundaki hayvanlar (30.33 ± 18.54), hafif stres (13.6 ± 12.75 , $Z=-2.080$, $p<.05$), ağır stres (7.85 ± 8.38 , $Z=-2.942$, $p<.01$) ve

ambivalan anne (10 ± 12.36 , $Z=-2.340$, $p<.05$) grubundaki hayvanlardan anlamlı olarak daha fazla her iki nesneyle ile zaman geçirdikleri saptanmıştır.

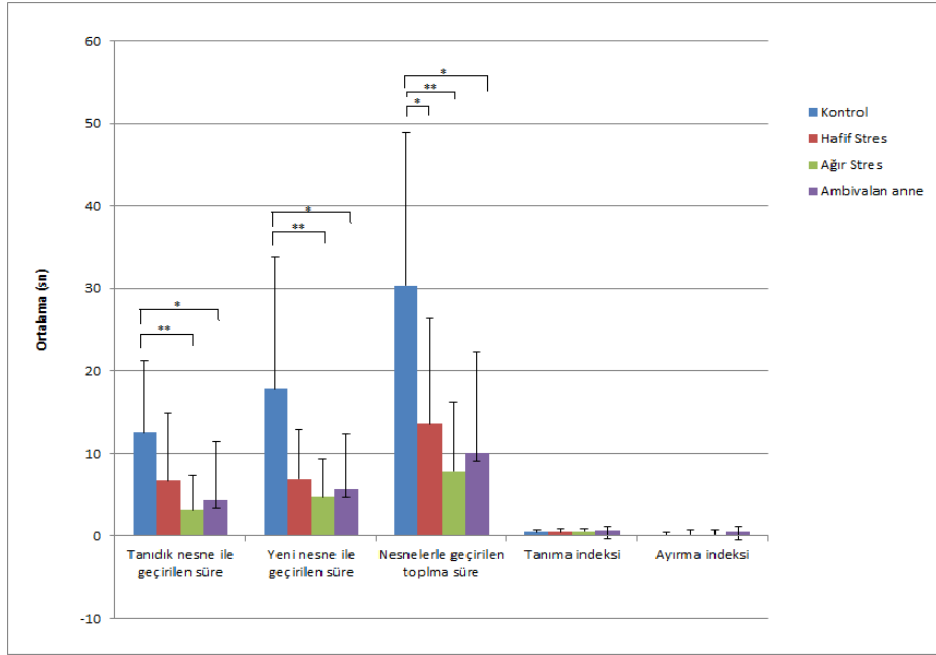
Erkek hayvanlar için yapılan değerlendirmede; grupların tanıdık nesne ($X^2=3.838$, $p=.279$) ve yeni nesne ($X^2=6.233$, $p=.101$) ile geçirdikleri süre ile her iki nesneyle geçirdikleri toplam süre ($X^2=5.286$, $p=.152$), Ayırma İndeksi ($X^2=1.241$, $p=.743$) ve Tanıma İndeksi ($X^2=1.277$, $p=.735$) açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur.

Dişi hayvanlar için yapılan analiz sonucunda, gruplar arasında Ayırma İndeksi ($X^2=8.307$, $p<.05$) açısından anlamlı bir fark varken, tanıdık nesne ($X^2=6.791$, $p=.079$) ve yeni nesne ($X^2=5.651$, $p=.130$) ile geçirdikleri süre ile her iki nesneyle geçirdikleri toplam süre ($X^2=5.601$, $p=.133$) ve Tanıma İndeksi ($X^2=7.125$, $p=.068$) açısından anlamlı bir fark yoktur. Ayırma İndeksi açısından ortaya çıkan farkın kaynağını anlamak için yapılan *Mann Whitney U* analizi sonucunda; ambivalan anne grubundaki dişi hayvanlar (0.59 ± 0.34), kontrol (-0.03 ± 0.37 , $Z=-2.132$, $p<.05$), hafif stres (-0.24 ± 0.22 , $Z=-2.309$, $p<.05$) ve ağır stres (0.1 ± 0.43 , $Z=-1.970$, $p<.05$) grubundaki dişi hayvanlardan anlamlı olarak daha fazla puan almıştır.

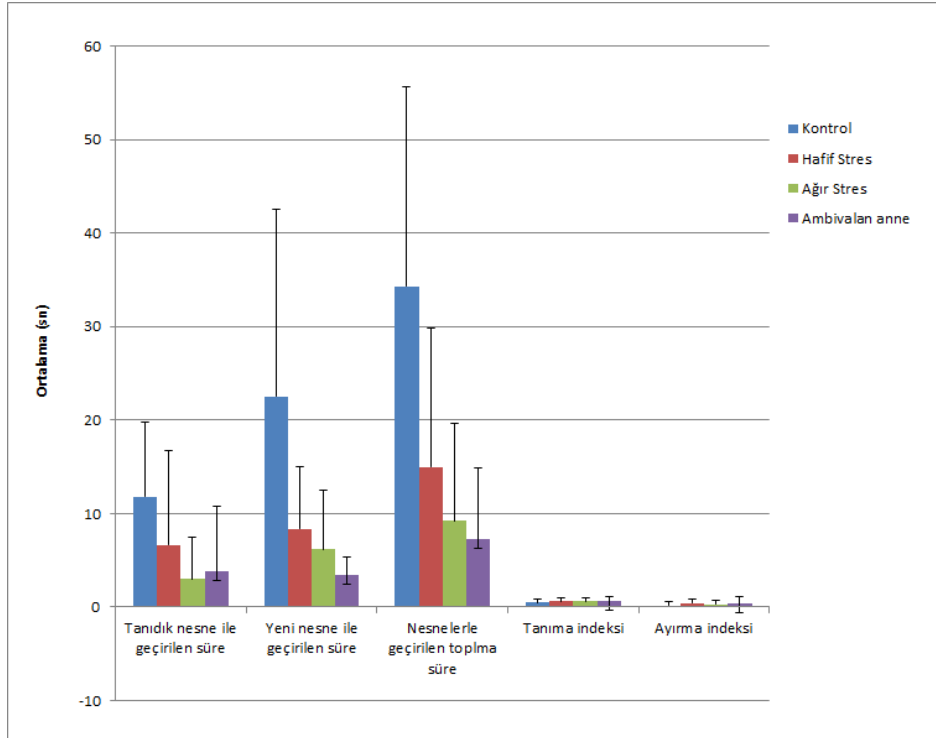
Tablo 8. Yeni Nesne Tanıma Belleği Testi-Kısa süreli bellek sonuçlarının gruplar arasında ve genel olarak ve cinsiyetlere göre karşılaştırılması (saniye ölçüsünde)

Değişkenler		Gruplar (Ortalama±Standard hata)				X ²	p
		Kontrol	Hafif stres	Ağır stres	Ambivalan anne		
Genel	TF	12.5±8.72	6.7±8.19	3.15±4.16	4.33±7.09	10.601*	.014
	TN	17.83±15.92	6.9±6.06	4.69±4.68	5.67±6.65	9.044*	.029
	TF+TN	30.33±18.54	13.6±12.75	7.85±8.38	10±12.36	10.619*	.014
	Rİ	0.5±0.25	0.5±0.31	0.52±0.36	0.7±0.25	3.969	.265
	Dİ	0.08±0.38	0.16±0.5	0.17±0.57	0.49±0.57	4.285	.232
Erkek Sıçanlar	TF	11.83±7.96	6.67±10.07	3±4.53	3.88±6.85	3.838	.279
	TN	22.5±20.11	8.33±6.74	6.2±6.26	3.38±2	6.233	.101
	TF+TN	34.33±21.33	15±14.83	9.2±10.5	7.25±7.63	5.286	.152
	Rİ	0.51±0.32	0.59±0.38	0.64±0.39	0.66±0.42	1.277	.735
	Dİ	0.18±0.4	0.42±0.46	0.28±0.78	0.45±0.67	1.277	.735
Dişi Sıçanlar	TF	13.17±10.15	6.75±5.68	3.25±4.23	5.25±8.54	6.791	.079
	TN	13.17±10.07	4.75±4.92	3.75±3.54	10.25±10.53	5.651	.130
	TF+TN	26.33±16.21	11.5±10.54	7±7.44	15.5±19.07	5.601	.133
	Rİ	0.48±0.19	0.38±0.11	0.44±0.34	0.79±0.17	7.125	.068
	Dİ	-0.03±0.37	-0.24±0.22	0.1±0.43	0.59±0.34	8.307*	.040

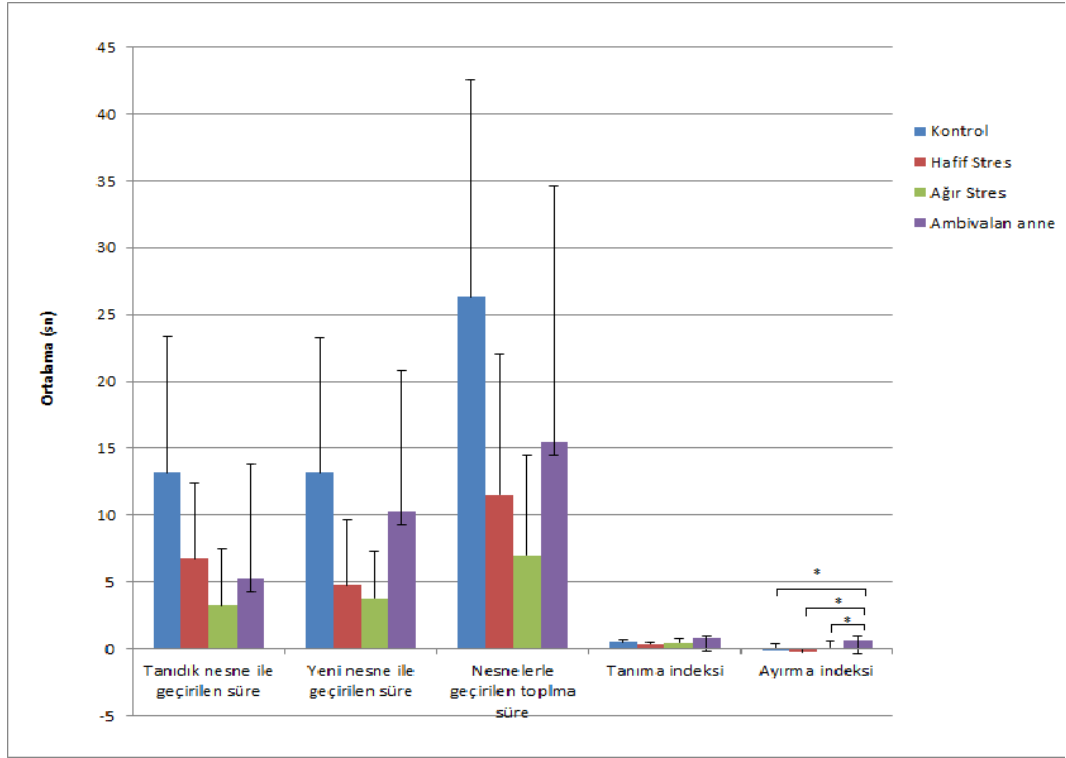
*p<.05, TF: Tanıdık nesne ile geçirilen süre, TN: Yeni nesne ile geçirilen süre, Rİ: Tanıma İndeksi, Dİ: Ayırma İndeksi



Grafik 6. Tüm grupların yeni nesne tanıma belleği-Kısa süreli bellek sonuçları (*p<.05, **p<.01)



Grafik 7. Erkek hayvanların yeni nesne tanıma belleği-Kısa süreli bellek sonuçları



Grafik 8. Dişi hayvanların yeni nesne tanıma belleği-Kısa süreli bellek sonuçları (*p<.05)

4.4.2. Uzun Süreli Bellek

Cinsiyet ayrımı yapılmadan değerlendirmede; uzun süreli bellek için yapılan testte gruplar arasında yeni nesne ($X^2=8.710$, $p<.05$) ile geçirdikleri süre açısından anlamlı bir fark olduğu bulunmuştur. Tanıdık nesne ($X^2=5.759$, $p=.124$) ve her iki nesneyle geçirdikleri toplam süre ($X^2=7.655$, $p=.054$), Ayırma İndeksi ($X^2=7.216$, $p=.065$), Tanıma İndeksi ($X^2=6.819$, $p=.078$) açısından ise gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Yeni nesne ile geçirdikleri süre açısından ortaya çıkan farkın kaynağını anlamak için yapılan analiz sonucunda, kontrol grubundaki hayvanlar (13.17 ± 12.78), ağır stres (2.25 ± 3.02 , $Z=-2.501$,

$p<.05$) ve ambivalan anne (2.75 ± 3.47 , $Z=-2.243$, $p<.05$) grubundaki hayvanlardan anlamlı olarak daha fazla yeni nesne ile zaman geçirmişlerdir.

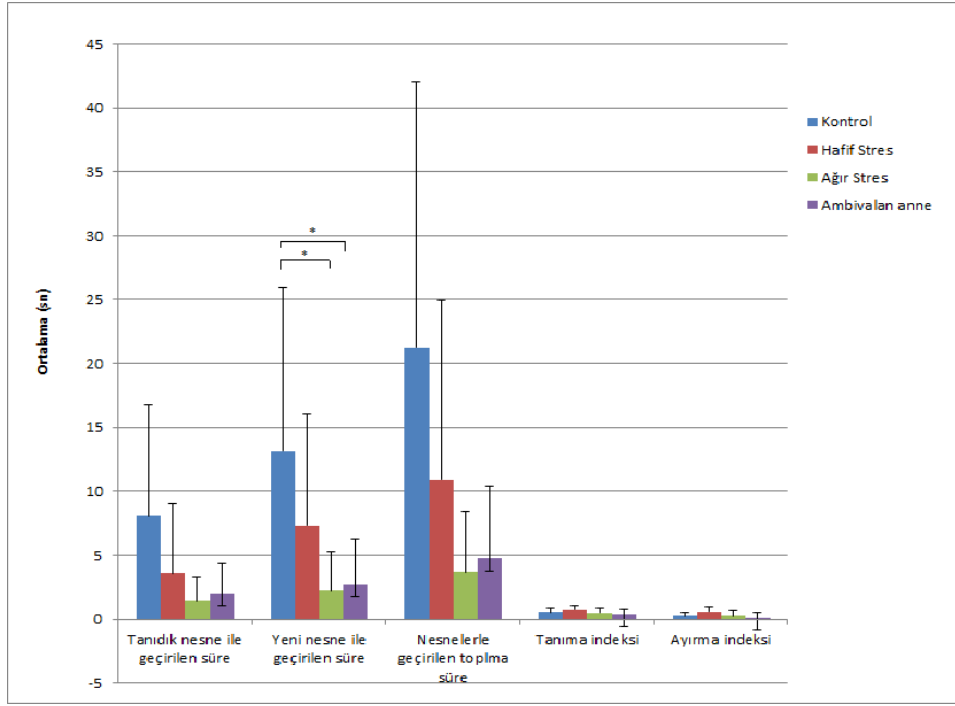
Erkek hayvanlar için yapılan analiz sonucunda, gruplar arasında Ayırma İndeksi ($X^2=8.220$, $p<.05$) ve Tanıma İndeksi ($X^2=8.666$, $p<.05$) açısından anlamlı bir fark varken, tanıdık nesne ($X^2=5.589$, $p=.133$), yeni nesne ($X^2=4.529$, $p=.210$) ile geçirdikleri süre ve her iki nesneyle geçirdikleri toplam süre ($X^2=4.713$, $p=.194$) açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktur. Ayırma İndeksi açısından ortaya çıkan farkın kaynağını anlamak için yapılan *Mann Whitney U* analizi sonucunda; hafif stres grubundaki erkek hayvanlar (0.73 ± 0.33), kontrol (0.17 ± 0.24 , $Z=-2.262$, $p<.05$), ağır stres (0.22 ± 0.47 , $Z=-1.967$, $p<.05$) ve ambivalan anne (0.07 ± 0.25 , $Z=-2.560$, $p<.05$) grubundaki erkek hayvanlardan anlamlı olarak daha fazla puan almıştır. Benzer şekilde, Tanıma İndeksi açısından da, hafif stres grubundaki erkek hayvanlar (0.87 ± 0.16), kontrol (0.5 ± 0.27 , $Z=-2.262$, $p<.05$), ağır stres (0.51 ± 0.36 , $Z=-1.967$, $p<.05$) ve ambivalan anne (0.48 ± 0.23 , $Z=-2.786$, $p<.01$) grubundaki erkek hayvanlardan anlamlı olarak daha fazla puan almıştır.

Dişi hayvanlar için yapılan değerlendirmede; tanıdık nesne ($X^2=5.954$, $p=.114$) ve yeni nesne ($X^2=6.624$, $p=.085$) ile geçirdikleri süre ve her iki nesneyle geçirdikleri toplam süre ($X^2=6.669$, $p=.083$), Ayırma İndeksi ($X^2=1.092$, $p=.779$) ve Tanıma İndeksi ($X^2=1.688$, $p=.640$) açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur.

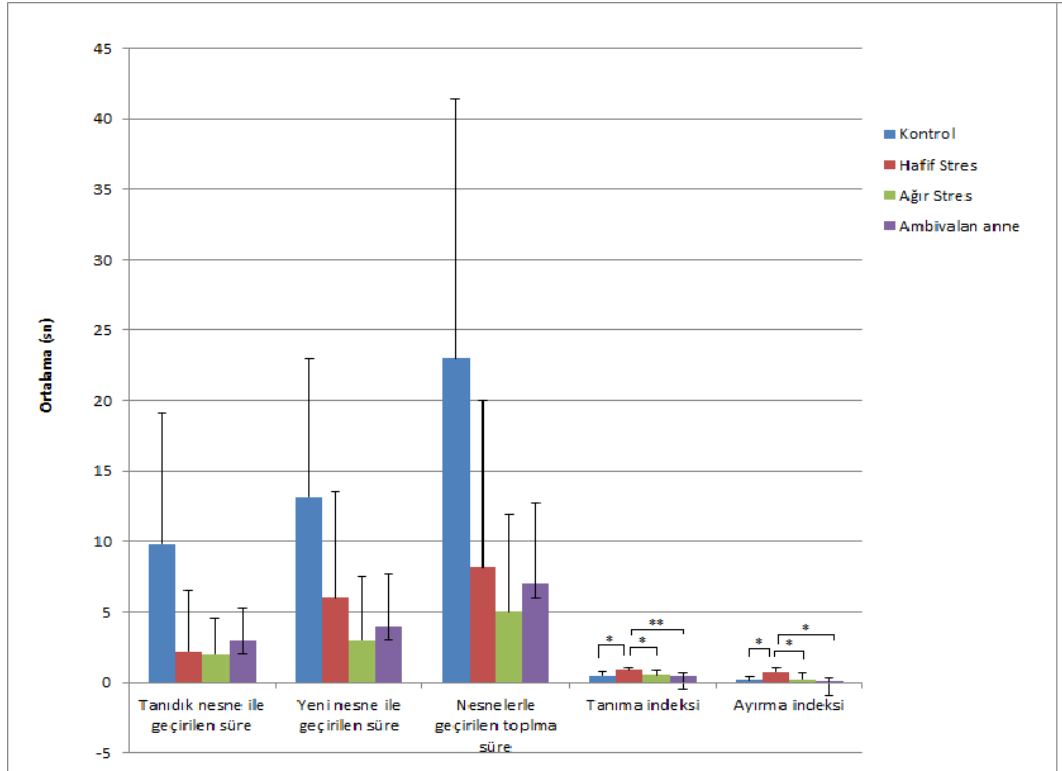
Tablo 9. Yeni Nesne Tanıma Belleği Testi-Uzun süreli bellek sonuçlarının gruplar arasında ve genel olarak ve cinsiyetlere göre karşılaştırılması (saniye ölçüsünde)

Değişkenler		Gruplar (Ortalama±Standard hata)				X ²	p
		Kontrol	Hafif stres	Ağır stres	Ambivalan anne		
Genel	TF	8.08±8.66	3.6±5.4	1.42±1.83	2±2.34	5.759	.124
	TN	13.17±12.78	7.3±8.76	2.25±3.02	2.75±3.47	8.710*	.033
	TF+TN	21.25±20.79	10.9±14.02	3.67±4.70	4.75±5.67	7.655	.054
	Rİ	0.54±0.28	0.74±0.31	0.49±0.35	0.4±0.34	6.819	.078
	Dİ	0.25±0.26	0.58±0.41	0.24±0.41	0.13±0.34	7.216	.065
Erkek Sıçanlar	TF	9.83±9.3	2.17±4.36	2±2.55	3±2.27	5.589	.133
	TN	13.17±9.77	6±7.56	3±4.53	4±3.66	4.529	.210
	TF+TN	23±18.44	8.17±11.86	5±6.96	7±5.76	4.713	.194
	Rİ	0.5±0.27	0.87±0.16	0.51±0.36	0.48±0.23	8.666*	.034
	Dİ	0.17±0.24	0.73±0.33	0.22±0.47	0.07±0.25	8.220*	.042
Dişi Sıçanlar	TF	6.33±8.43	5.75±6.75	1±1.15	0	5.954	.114
	TN	13.17±16.24	9.25±11.24	1.71±1.5	0.25±0.5	6.624	.085
	TF+TN	19.5±24.57	15±17.83	2.71±2.36	0.25±0.5	6.669	.083
	Rİ	0.58±0.31	0.55±0.41	0.47±0.37	0.25±0.5	1.688	.640
	Dİ	0.33±0.28	0.35±0.45	0.26±0.4	0.25±0.5	1.092	.779

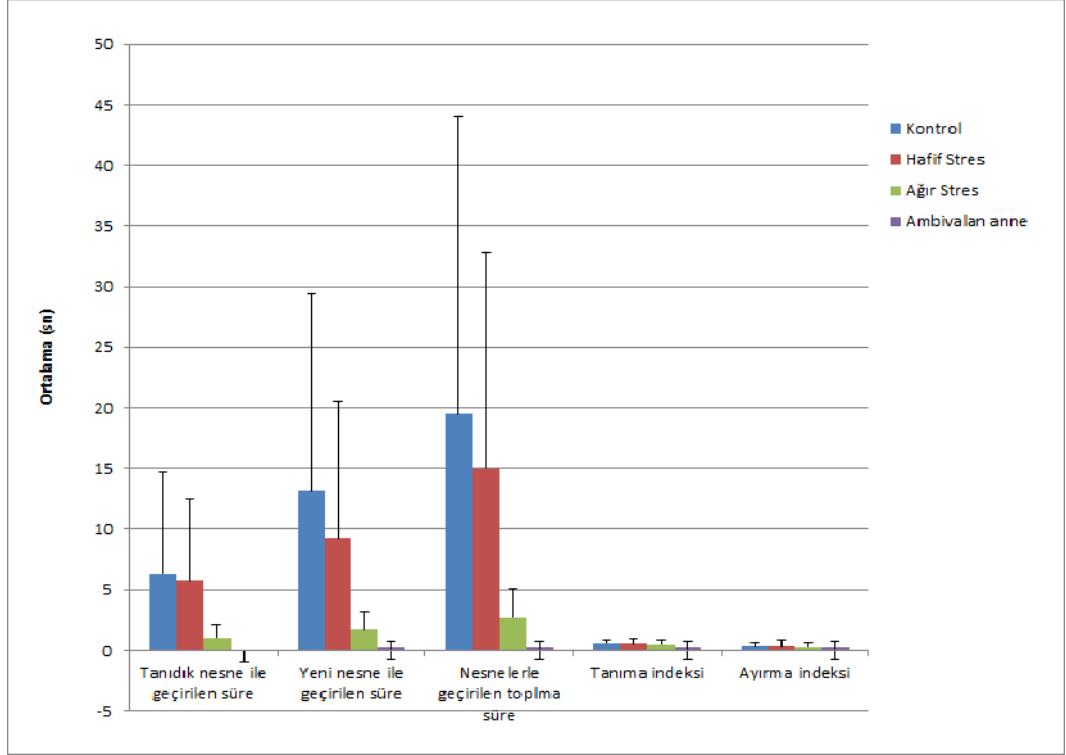
*p<.05, TF: Tanıdık nesne ile geçirilen süre, TN: Yeni nesne ile geçirilen süre, Rİ: Tanıma İndeksi, Dİ: Ayırma İndeksi



Grafik 9. Tüm hayvanların yeni nesne tanıma belleği-Uzun süreli bellek sonuçları (*p<.05)



Grafik 10. Erkek hayvanların yeni nesne tanıma belleği-Uzun süreli bellek sonuçları (*p<.05, **p<.01)



Grafik 11. Dişi hayvanların yeni nesne tanıma belleği-Uzun süreli bellek sonuçları

4.5. Sosyal Etkileşim Testi

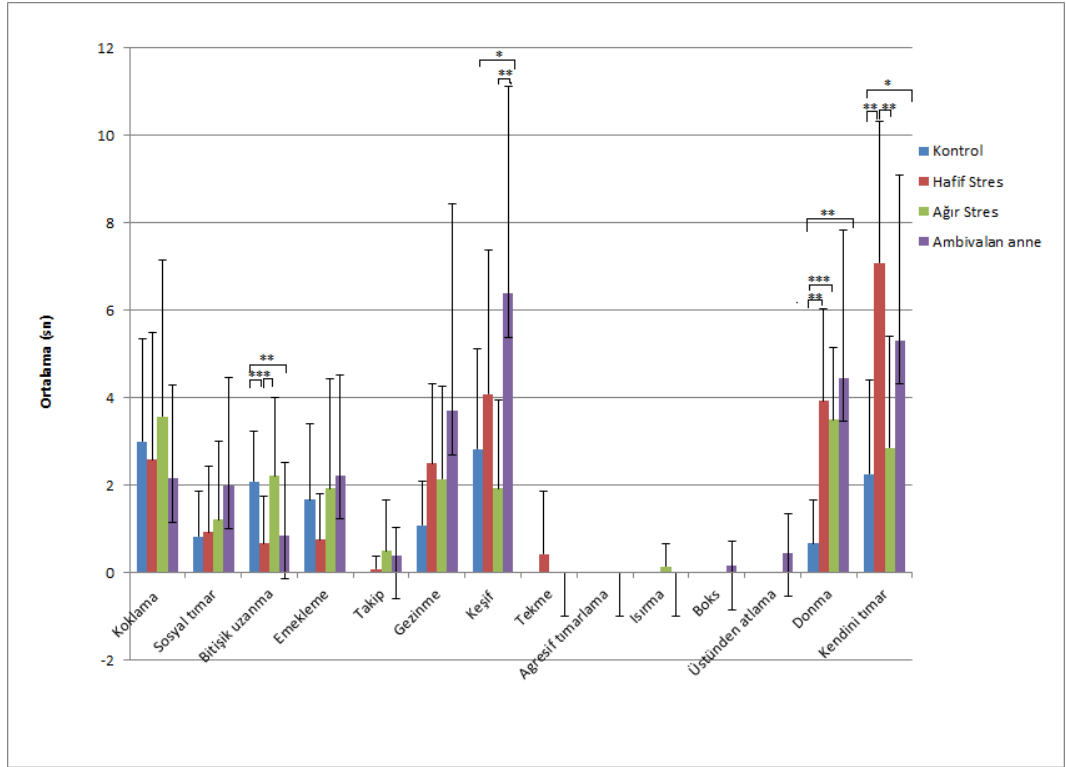
Gruplar genel olarak sosyal etkileşim testi puanları açısından karşılaştırılmış olup, sonuçlar Tablo10'da gösterilmiştir. Buna göre; bitişik uzanma ($X^2=11.729$, $p<.01$), keşif ($X^2=9.817$, $p<.05$), üstünden atlama ($X^2=9.135$, $p<.05$), donma ($X^2=17.568$, $p<.01$) ve kendini tımarlama ($X^2=16.848$, $p<.01$) açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir. Ortaya çıkan bu farkların kaynağını anlamak için *Mann-Whitney U* analizi yapılmıştır. Sonuçta;

bitişik uzanma sosyal etkileşimi açısından bakıldığında, hafif stres grubundaki hayvanlar (0.67 ± 1.07), kontrol (2.08 ± 1.16 , $Z = -2.730$, $p < .01$) ve ağır stres (2.21 ± 1.8 , $Z = -2.280$, $p < .05$); ambivalan anne grubundaki hayvanlar da (0.85 ± 1.68) kontrol (2.08 ± 1.16 , $Z = -2.760$, $p < .01$) gruplarındaki hayvanlara göre anlamlı olarak daha az bitişik uzanma sosyal etkileşim göstermişlerdir. Ambivalan anne grubundaki hayvanlar (6.38 ± 4.74) grubundaki hayvanlar, hem kontrol (2.81 ± 2.29 , $Z = -2.025$, $p < .05$) hem de ağır stres (1.93 ± 2.02 , $Z = -2.745$, $p < .01$) grubundaki hayvanlara göre anlamlı olarak daha fazla keşif sosyal etkileşimi sergilemişlerdir. Kontrol grubundaki hayvanlar (0.67 ± 0.98), hafif stres (3.92 ± 2.11 , $Z = -3.425$, $p < .01$), ağır stres (3.5 ± 1.65 , $Z = -3.873$, $p < .001$) ve ambivalan anne (4.46 ± 3.38 , $Z = -3.020$, $p < .01$) grubundaki hayvanlara göre anlamlı olarak daha az donma sosyal etkileşimi gösterdikleri gözlenmiştir. Kendini tımarlama sosyal etkileşimi açısından bakıldığında kontrol grubundaki hayvanlar (2.25 ± 2.14) hem hafif stres (7.08 ± 3.23 , $Z = -3.462$, $p < .01$) hem de ambivalan anne (5.31 ± 3.79 , $Z = -2.588$, $p < .05$) grubundaki hayvanlara göre, ağır stres grubundaki hayvanlar da (2.86 ± 2.54) hafif stres (7.08 ± 3.23 , $Z = -2.999$, $p < .01$) grubundaki hayvanlara göre anlamlı olarak daha az kendini tımarlama sosyal etkileşimi göstermişlerdir.

Tablo 10. Grupların genel olarak sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış frekanslarının karşılaştırılması

Değişkenler	Gruplar (Ortalama±Standard hata)				X ²	P
	Kontrol (N=12)	Hafif stres (N=12)	Ağır stres (N=14)	Ambiyalan anne (N=13)		
Koklama	3±2.34	2.58±2.91	3.57±2.98	2.15±2.76	2.208	.530
Sosyal tımar	0.83±1.03	0.92±1.5	1.21±1.8	2±2.45	1.996	.573
Bitişik uzanma	2.08±1.16	0.67±1.07	2.21±1.8	0.85±1.68	11.729**	.008
Emekleme	1.67±1.72	0.75±1.06	1.93±2.5	2.23±2.28	3.494	.321
Takip	0	0.08±0.29	0.5±1.16	0.39±0.65	5.166	.160
Gezinme	1.08±1.01	2.5±1.83	2.14±2.11	3.69±4.73	3.885	.274
Keşif	2.83±2.29	4.08±3.29	1.93±2.02	6.38±4.74	9.817*	.020
Tekme	0	0.42±1.44	0	0	3.250	.355
Agresif tımarlama	0	0	0	0	-	-
Isırma	0	0	0.14±0.53	0	2.643	.450
Boks	0	0	0	0.15±0.56	2.923	.404
Üstünden Atlama	0	0	0	0.46±0.88	9.135*	.028
Donma	0.67±0.98	3.92±2.11	3.5±1.65	4.46±3.38	17.568**	.001
Kendini tımar	2.25±2.17	7.08±3.23	2.86±2.54	5.31±3.79	16.848**	.001

*p<.05, **p<.01



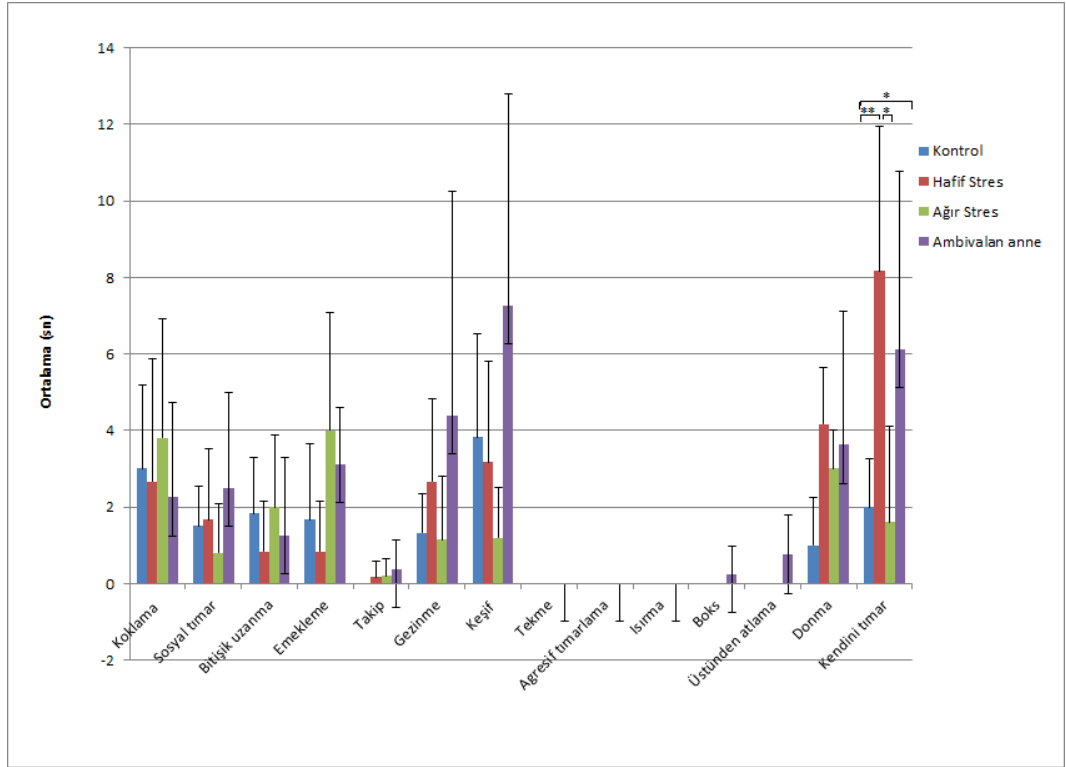
Grafik 12. Grupların genel olarak sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış frekans sonuçları (*p<.05, **p<.01, *p<.001)**

Erkek hayvanlar için yapılan analiz sonucunda (Tablo 11), gruplar arasında sadece kendini tımar ($X^2=11.387$, $p<.05$) açısından anlamlı bir fark vardır. Ortaya çıkan farkın kaynağını anlamak için yapılan *Mann Whitney U* analizi sonucunda; kontrol grubundaki erkek hayvanlar (2 ± 1.26), hafif stres (8.17 ± 3.76 , $Z=-2.670$, $p<.01$) ve ambivalan anne (6.12 ± 4.64 , $Z=-2.084$, $p<.05$) grubundaki erkek hayvanlara göre, ağır stres grubundaki erkek hayvanlar ise (1.6 ± 2.51), hafif stres (8.17 ± 3.76 , $Z=-2.390$, $p<.05$) grubundaki erkek hayvanlardan anlamlı olarak daha az puan almıştır.

Tablo 11. Erkek hayvanların sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış frekanslarının karşılaştırılması

Değişkenler	Gruplar (Ortalama±Standard hata)				X ²	p
	Kontrol (N=6)	Hafif stres (N=6)	Ağır stres (N=5)	Ambivalan anne (N=8)		
Koklama	3±2.19	2.67±3.2	3.8±3.11	2.25±2.49	1.073	.784
Sosyal tımar	1.5±1.05	1.67±1.86	0.8±1.3	2.5±2.93	1.705	.636
Bitişik uzanma	1.83±1.47	0.83±1.33	2±1.87	1.25±2.05	2.642	.450
Emekleme	1.67±1.97	0.83±1.33	4±3.08	3.12±2.48	6.004	.111
Takip	0	0.17±0.41	0.2±0.45	0.38±0.74	1.695	.638
Gezinme	1.33±1.03	2.67±2.16	1.4±1.67	4.38±5.88	1.505	.681
Keşif	3.83±2.71	3.17±2.64	1.2±1.3	7.25±5.55	6.144	.105
Tekme	0	0	0	0	-	-
Agresif tımarlama	0	0	0	0	-	-
Isırma	0	0	0	0	-	-
Boks	0	0	0	0.25±0.71	2.125	.547
Üstünden Atlama	0	0	0	0.75±1.04	6.955	.073
Donma	1±1.26	4.17±1.47	3±1	3.62±3.5	7.626	.054
Kendini tımar	2±1.26	8.17±3.76	1.6±2.51	6.12±4.64	11.378*	.010

*p<.05



Grafik 13. Erkek hayvanların sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış frekans sonuçları (*p<.05, **p<.01)

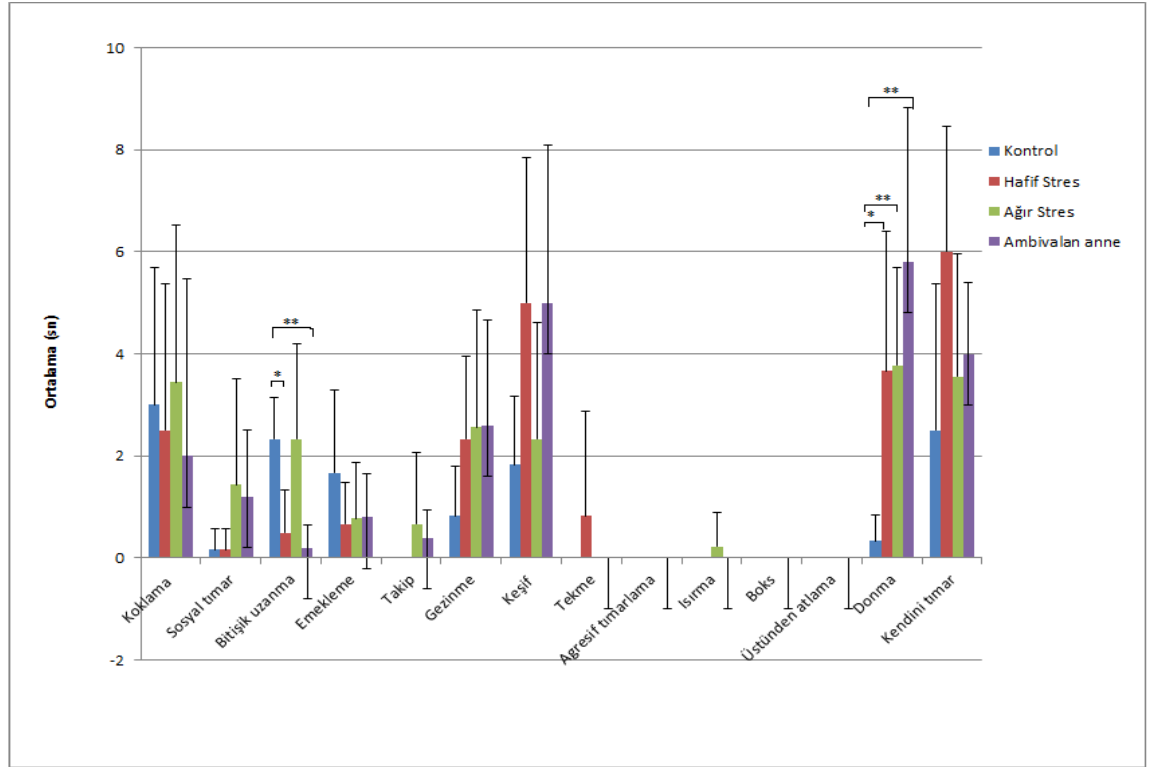
Dişi hayvanlar için yapılan analiz sonucunda, bitişik uzanma ($X^2=10.384$, $p<.05$) ve donma ($X^2=12.286$, $p<.01$) açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır. Bitişik uzanma açısından ortaya çıkan farkın kaynağını anlamak için yapılan *Mann Whitney U* analizi sonucunda; kontrol grubundaki dişi hayvanlar (2.33 ± 0.82), hafif stres (0.5 ± 0.84 , $Z=-2.569$, $p<.05$) ve ambivalan anne (0.2 ± 0.45 , $Z=-2.749$, $p<.01$) grubundaki dişi hayvanlardan anlamlı olarak daha fazla bitişik uzanma sosyal etkileşimi gösterdiği bulunmuştur. Donma sosyal etkileşimi açısından bakıldığında ise, kontrol grubundaki dişi hayvanlar (0.33 ± 0.52), hafif stres (3.67 ± 2.73 , $Z=-2.179$, $p<.05$), ağır stres (3.78 ± 1.92 , $Z=-3.115$, $p<.01$) ve ambivalan anne (5.8 ± 3.03 , $Z=-2.648$, $p<.01$) grubundaki dişi

hayvanlardan anlamlı olarak daha az donma sosyal etkileşimi gösterdikleri saptanmıştır. Sonuçlar Tablo 12’de gösterilmiştir.

Tablo 12. Dişi hayvanların sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış frekanslarının karşılaştırılması

Değişkenler	Gruplar (Ortalama±Standard hata)				X ²	p
	Kontrol (N=6)	Hafif stres (N=6)	Ağır stres (N=9)	Ambivalan anne (N=5)		
Koklama	3±2.68	2.5±2.88	3.44±3.09	2±3.46	1.573	.666
Sosyal tımar	0.17±0.41	0.17±0.41	1.44±2.07	1.2±1.3	4.370	.224
Bitişik uzanma	2.33±0.82	0.5±0.84	2.33±1.87	0.2±0.45	10.384*	.016
Emekleme	1.67±1.63	0.67±0.82	0.78±1.09	0.8±0.84	1.769	.622
Takip	0	0	0.67±1.41	0.4±0.55	4.263	.234
Gezinme	0.83±0.98	2.33±1.63	2.56±2.3	2.6±2.07	3.712	.294
Keşif	1.83±1.33	5±2.85	2.33±2.29	5±3.08	5.831	.120
Tekme	0	0.83±2.04	0	0	3.333	.343
Agresif tımarlama	0	0	0	0	-	-
Isırma	0	0	0.22±0.67	0	1.889	.596
Boks	0	0	0	0	-	-
Üstünden Atlama	0	0	0	0	-	-
Donma	0.33±0.52	3.67±2.73	3.78±1.92	5.8±3.03	12.286**	.006
Kendini tımar	2.5±2.88	6±2.45	3.56±2.4	4±1.41	6.352	.096

*p<.05, **p<.01



Grafik 14. Dişi hayvanların sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış frekans sonuçları (*p<.05, **p<.01)

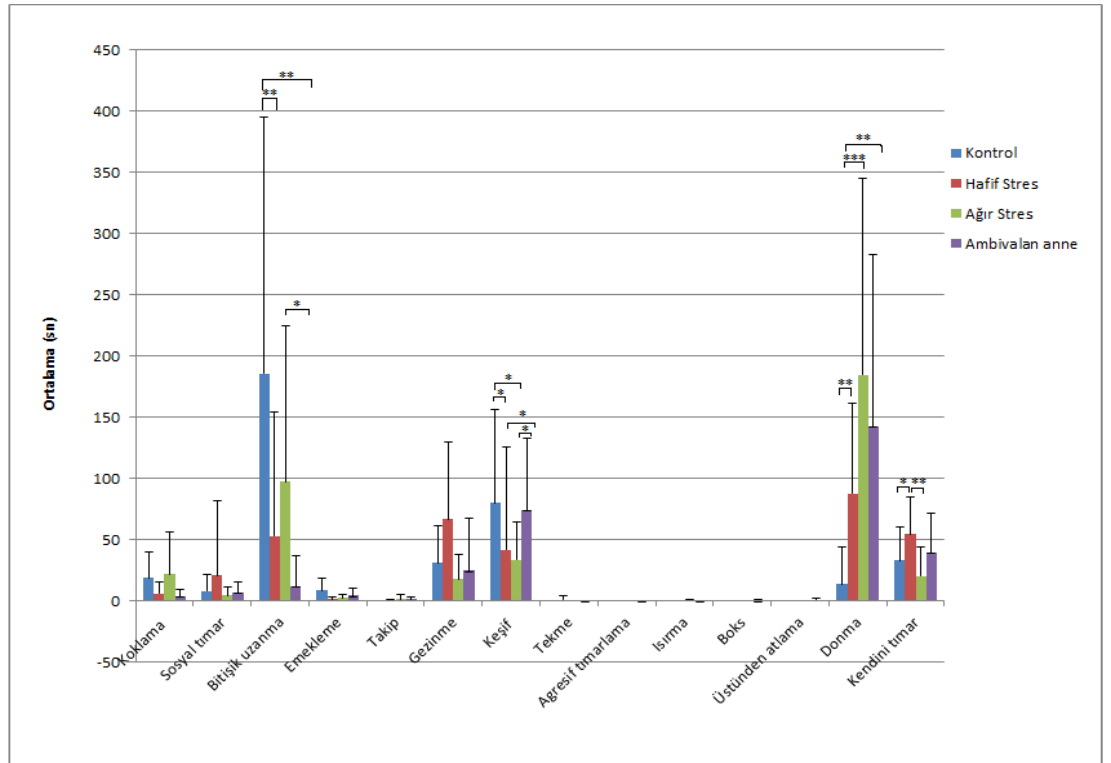
Gruplar genel olarak sosyal etkileşim testi süreleri açısından karşılaştırılmış olup, sonuçlar Tablo13’de gösterilmiştir. Buna göre; bitişik uzanma ($X^2=13.356$, $p<.01$), keşif ($X^2=10.317$, $p<.05$), üstünden atlama ($X^2=9.127$, $p<.05$), donma ($X^2=18.719$, $p<.001$) ve kendini tımarlama ($X^2=9.809$, $p<.05$) sosyal etkileşim süreleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir. Ortaya çıkan bu farkların kaynağını anlamak için yapılan *Mann-Whitney U* analizi sonucunda; bitişik uzanma sosyal etkileşim süresi açısından bakıldığında, hafif stres grubundaki hayvanlar (52.75 ± 101.59), kontrol (185.58 ± 209.01 , $Z=-2.609$, $p<.01$) grubundaki hayvanlara göre, ambivalan anne grubundaki hayvanlar (12.08 ± 24.79), kontrol (185.58 ± 209.01 , $Z=-3.314$, $p<.01$)

ve ağır stres (97.07 ± 127.57 , $Z = -2.110$, $p < .05$) gruplarındaki hayvanlara göre anlamlı olarak daha az bitişik uzanma sosyal etkileşim süresi göstermişlerdir. Hafif stres grubundaki hayvanlar (41.92 ± 83.51) grubundaki hayvanlar, hem kontrol (79.92 ± 75.92 , $Z = -2.166$, $p < .05$) hem de ambivalan anne (74.38 ± 58.57 , $Z = -2.421$, $p < .05$) grubundaki hayvanlara göre; ağır stres grubundaki hayvanlar (33.29 ± 30.69) da, hem kontrol (79.92 ± 75.92 , $Z = -1.986$, $p < .05$) hem de ambivalan anne (74.38 ± 58.57 , $Z = -2.286$, $p < .05$) grubundaki hayvanlara göre anlamlı olarak daha düşük keşif sosyal etkileşim süresi sergilemişlerdir. Kontrol grubundaki hayvanlar (13.67 ± 30.57), hafif stres (87.75 ± 74 , $Z = -3.206$, $p < .01$), ağır stres (184.5 ± 160.24 , $Z = -3.947$, $p < .001$) ve ambivalan anne (142.77 ± 140.18 , $Z = -2.840$, $p < .01$) grubundaki hayvanlara göre anlamlı olarak daha az donma sosyal etkileşim süresi gösterdikleri gözlenmiştir. Kendini tımarlama sosyal etkileşim süresi açısından bakıldığında hafif stres grubundaki hayvanlar (54.33 ± 30.75) hem kontrol (32.83 ± 27.34 , $Z = -2.109$, $p < .05$) hem de ağır stres (20.21 ± 24.12 , $Z = -2.833$, $p < .01$) grubundaki hayvanlara göre anlamlı olarak daha fazla kendini tımarlama sosyal etkileşim süresi göstermişlerdir.

Tablo 13. Grupların genel olarak sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış sürelerinin (saniye cinsinden) karşılaştırılması

Değişkenler	Gruplar (Ortalama±Standart hata)				X ²	p
	Kontrol (N=12)	Hafif stres (N=12)	Ağır stres (N=14)	Ambivalan anne (N=13)		
Koklama	18.5±21.74	6±9.54	21.93±34.65	3.92±5.2	7.251	.064
Sosyal tımar	8±13.16	21±60.56	4.29±7.18	7±8.27	1.389	.708
Bitişik uzanma	185.58±209.01	52.75±101.59	97.07±127.57	12.08±24.79	13.356**	.004
Emekleme	8.42±10.01	1.25±2.34	2.5±2.9	4.23±5.63	5.563	.135
Takip	0	0.33±1.16	1.36±3.54	1.23±2.2	5.042	.169
Gezinme	31.17±30.07	66.67±63.46	17.79±19.8	25.08±42.26	5.196	.158
Keşif	79.92±75.92	41.92±83.51	33.29±30.69	74.38±58.57	10.317*	.016
Tekme	0	0.92±3.18	0	0	3.250	.355
Agresif tımarlama	0	0	0	0	-	-
Isırma	0	0	0.14±0.53	0	2.643	.450
Boks	0	0	0	0.15±0.56	2.923	.404
Üstünden Atlama	0	0	0	0.62±1.19	9.127*	.028
Donma	13.67±30.57	87.75±74	184.5±160.24	142.77±140.18	18.719***	.000
Kendini tımar	32.83±27.34	54.33±30.75	20.21±24.12	39.54±32.48	9.809*	.020

*p<.05, **p<.01, ***p<.001



Grafik 15. Tüm hayvanların sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış sürelerinin sonuçları (*p<.05, **p<.01, *p<.001)**

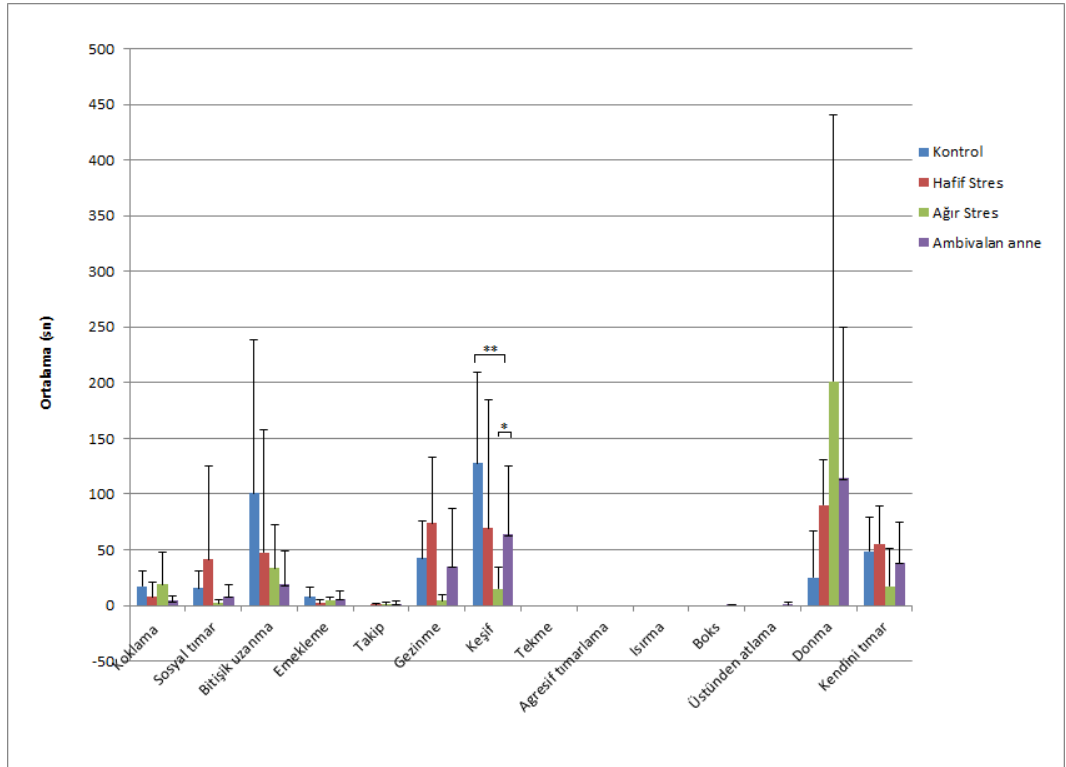
Erkek hayvanlar için yapılan analiz sonucunda (Tablo 14), keşif ($X^2=8.945$, $p<.05$) sosyal etkileşim süresi açısından gruplar arasında anlamlı bir fark vardır. Ortaya çıkan farkın kaynağını anlamak için yapılan analiz sonucunda; ağır stres grubundaki erkek hayvanlar (15 ± 19.44), hem kontrol (127.67 ± 81.43 , $Z=-2.659$, $p<.01$) hem de ambivalan anne (63.62 ± 61.53 , $Z=-2.061$, $p<.05$) grubundaki erkek hayvanlara göre anlamlı olarak daha az puan almıştır.

Tablo 14. Erkek hayvanların sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış sürelerinin (saniye cinsinden) karşılaştırılması

Değişkenler	Gruplar (Ortalama±Standard hata)				X ²	p
	Kontrol (N=6)	Hafif stres (N=6)	Ağır stres (N=5)	Ambivalan anne (N=8)		
Koklama	17±14.26	7.83±13.03	18.8±28.58	4.12±4.7	3.190	.363
Sosyal tımar	15.67±15.47	41.5±84.01	2.2±3.49	8.25±9.95	3.171	.366
Bitişik uzanma	100.83±137.56	47.67±110.51	33.4±39.5	18.75±30.26	3.691	.297
Emekleme	7.83±8.86	1.83±3.25	4.8±2.95	6.25±6.45	3.576	.311
Takip	0	0.67±1.63	0.8±1.79	1.38±2.67	1.695	.638
Gezinme	42.33±33.46	73.83±59.04	4.4±4.83	35±52.37	6.273	.099
Keşif	127.67±81.43	69.5±115.61	15±19.44	63.62±61.53	8.945*	.030
Tekme	0	0	0	0	-	-
Agresif tımarlama	0	0	0	0	-	-
Isırma	0	0	0	0	-	-

Boks	0	0	0	0.25±0.71	2.125	.547
Üstünden Atlama	0	0	0	1±1.41	6.929	.074
Donma	24.83±41.59	90±40.91	201±239.66	114.38±135.33	5.566	.135
Kendini tımar	48.83±303	55.17±34.4	17±34.15	38.5±35.74	5.454	.141

*p<.05



Grafik 16. Erkek hayvanların sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış sürelerinin sonuçları (*p<.05, **p<.01)

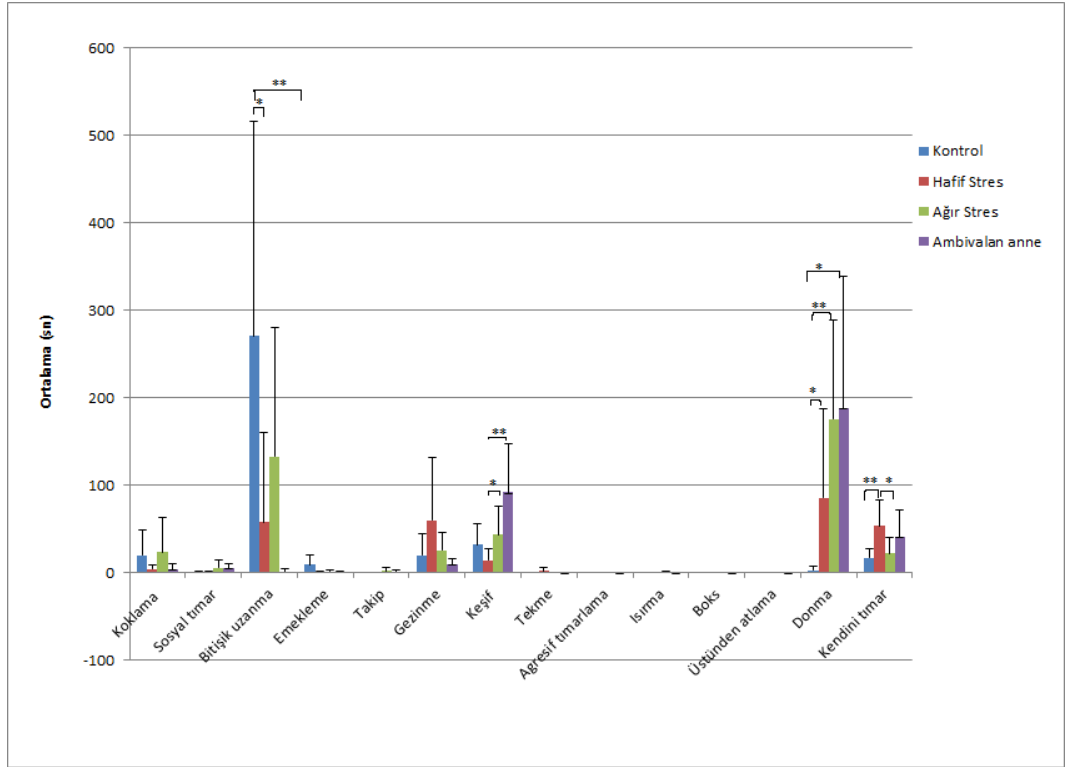
Dişi hayvanlar için yapılan analiz sonucunda, gruplar arasında bitişik uzanma ($X^2=9.839$, $p<.05$), keşif ($X^2=10.151$, $p<.05$), donma ($X^2=12.844$, $p<.01$) ve kendini tımar ($X^2=8.188$, $p<.05$) sosyal etkileşim süreleri açısından anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır. Bitişik uzanma açısından ortaya çıkan farkın kaynağını anlamak için yapılan *Mann Whitney U* analizi sonucunda; kontrol grubundaki dişi hayvanlar ($270.33±244.84$), hafif stres ($57.83±102.13$, $Z=-2.119$, $p<.05$) ve

ambivalan anne (1.4 ± 3.13 , $Z = -2.803$, $p < .01$) grubundaki dişi hayvanlardan anlamlı olarak daha fazla bitişik uzanma sosyal etkileşim süresi gösterdiği bulunmuştur. Hafif stres (14.33 ± 12.23) grubundaki dişi hayvanlar, ağır stres (43.44 ± 31.88 , $Z = -2.011$, $p < .05$) ve ambivalan anne (91.6 ± 55.35 , $Z = -2.739$, $p < .01$) grubundaki dişi hayvanlardan anlamlı olarak daha az keşif sosyal etkileşim süresi gösterdikleri saptanmıştır. Donma sosyal etkileşim süresi açısından bakıldığında ise, kontrol grubundaki dişi hayvanlar (2.5 ± 5.21), hafif stres (85.5 ± 101.79 , $Z = -2.159$, $p < .05$), ağır stres (175.33 ± 112.87 , $Z = -3.211$, $p < .01$) ve ambivalan anne (188.2 ± 150.68 , $Z = -2.429$, $p < .05$) grubundaki dişi hayvanlardan anlamlı olarak daha az donma sosyal etkileşim süresi gösterdikleri bulunmuştur. Son olarak, hafif stres grubundaki dişi hayvanlar (53.5 ± 29.91), hem kontrol (16.83 ± 10.57 , $Z = -2.812$, $p < .01$) hem de ağır stres (22 ± 18.76 , $Z = -2.127$, $p < .05$) grubundaki dişi hayvanlara göre anlamlı olarak daha fazla kendini tımar sosyal etkileşim süresi harcamışlardır. Sonuçlar Tablo 15’de gösterilmiştir.

Tablo 15. Dişi sıçanların sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış sürelerinin (saniye cinsinden) karşılaştırılması

Değişkenler	Gruplar (Ortalama±Standard hata)				X ²	p
	Kontrol (N=6)	Hafif stres (N=6)	Ağır stres (N=9)	Ambivalan anne (N=5)		
Koklama	20±28.82	4.17±4.71	23.67±39.16	3.6±6.5	4.825	.185
Sosyal tımar	0.33±0.82	0.5±1.22	5.44±8.58	5±4.85	4.860	.182
Bitişik uzanma	270.33±244.84	57.83±102.13	132.44±147.39	1.4±3.13	9.839*	.020
Emekleme	9±11.85	0.67±0.82	1.22±2.05	1±1	3.543	.315
Takip	0	0	1.67±4.3	1±1.41	4.513	.211
Gezinme	20±23.88	59.5±72.46	25.22±21.25	9.2±6.83	2.843	.416
Keşif	32.17±24.07	14.33±12.23	43.44±31.88	91.6±55.35	10.151*	.017
Tekme	0	1.83±4.49	0	0	3.333	.343
Agresif tımarlama	0	0	0	0	-	-
Isırma	0	0	0.22±0.67	0	1.889	.596
Boks	0	0	0	0	-	-
Üstünden Atlama	0	0	0	0	-	-
Donma	2.5±5.21	85.5±101.79	175.33±112.87	188.2±150.68	12.844**	.005
Kendini tımar	16.83±10.57	53.5±29.91	22±18.76	41.2±30.38	8.188*	.042

*p<.05, **p<.01



Grafik 17. Dişi hayvanların sosyal etkileşim testinden elde edilen davranış sürelerinin sonuçları (*p<.05, **p<.01)

4.5.1. Sosyal Davranış Performansları

Cinsiyet ayrımı yapılmadan sosyal davranış performansı değerlendirmesinde; sosyal davranış ($X^2=12.505$, $p<.01$) ve stres davranışı ($X^2=13.508$, $p<.01$) açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu bulunmuştur. Aktivite ($X^2=6.634$, $p=.085$) ve agresif davranış ($X^2=6.936$, $p=.074$), açısından ise gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur. Sosyal davranış açısından ortaya çıkan farkın kaynağını anlamak için yapılan analiz sonucunda, hafif stres grubundaki hayvanlar (13.56 ± 18.08), kontrol (36.75 ± 33.56 , $Z=-2.310$, $p<.05$); ambivalan anne grubundaki hayvanlar ise

(5.14±5.56) hem kontrol (36.75±33.56, $Z=-3.466$, $p<.01$) hem de ağır stres (21.19±22.90, $Z=-2.034$, $p<.05$) grubundaki hayvanlardan anlamlı olarak daha az sosyal davranış performansı göstermişlerdir. Kontrol grubundaki hayvanlar (7.75±8.18), hafif stres (23.68±16, $Z=-3.176$, $p<.01$), ağır stres (34.12±27.08, $Z=-3.292$, $p<.01$) ve ambivalan anne (30.38±23.78, $Z=-2.369$, $p<.05$) gruplarındaki hayvanlardan anlamlı olarak daha az stres davranış performansı gösterdikleri gözlenmiştir.

Erkek hayvanlar için yapılan analiz sonucunda, sosyal davranış ($X^2=2.967$, $p=.397$) ve stres davranış ($X^2=2.264$, $p=.519$) performansları açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yokken, aktivite ($X^2=11.986$, $p<.01$) ve agresif davranış ($X^2=11.079$, $p<.05$) açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu görülmüştür. Aktivite açısından ortaya çıkan farkın kaynağını anlamak için yapılan analiz sonucunda, ağır stres grubundaki erkek hayvanlar (3.23±3.97), kontrol (28.33±14.7, $Z=-2.745$, $p<.01$), hafif stres (23.89±14.46, $Z=-2.745$, $p<.01$) ve ambivalan anne (18.79±10.83, $Z=-2.684$, $p<.01$) grubundaki erkek hayvanlardan anlamlı olarak daha az aktivite performansı göstermişlerdir. Ambivalan anne grubundaki erkek hayvanlar (0.24±0.23), kontrol (0±0, $Z=-2.102$, $p<.05$) hafif stres (0±0, $Z=-2.102$, $p<.05$) grubundaki erkek hayvanlardan anlamlı olarak daha fazla agresif davranış performansı göstermişlerdir.

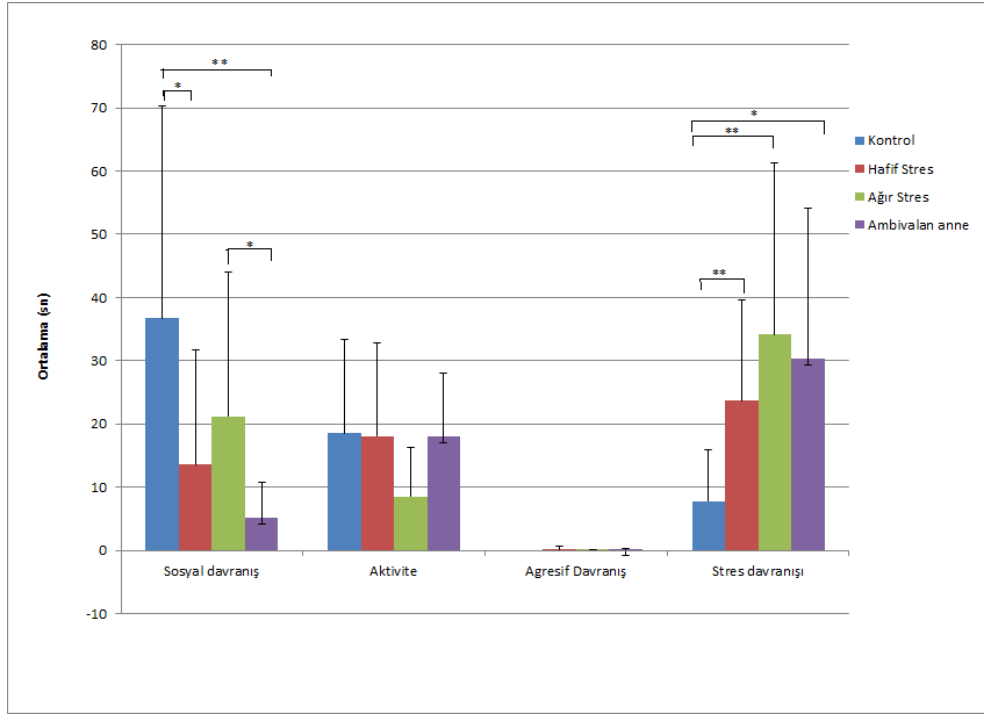
Dişi hayvanlar için yapılan değerlendirmede; sosyal davranış ($X^2=9.370$, $p<.05$) ve stres davranış ($X^2=14.818$, $p<.01$) performansları açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmuştur. Aktivite ($X^2=1.963$, $p=.580$) ve agresif davranış ($X^2=1.739$, $p=.628$) açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı

bulunmuştur. Ortaya çıkan farkın kaynağını anlamak için yapılan analiz sonucunda kontrol grubundaki dişi hayvanlar (49.94±40.59), hafif stres (10.53±17.07, Z=-2.085, p<.05) ve ambivalan anne (2±1.84, Z=-2.739, p<.01) grubundaki dişi hayvanlardan anlamlı olarak daha fazla sosyal davranış performansı göstermişlerdir. Stres davranış performansı açısından bakıldığında kontrol grubundaki dişi hayvanlar (3.22±2.34), hafif stres (23.17±21.13, Z=-2.882, p<.01), ağır stres (32.89±18.53, Z=-3.182, p<.01) ve ambivalan anne (38.23±24.24, Z=-2.739, p<.01) gruplarındaki dişi hayvanlardan anlamlı olarak daha az stres davranış performansı gösterdikleri gözlenmiştir.

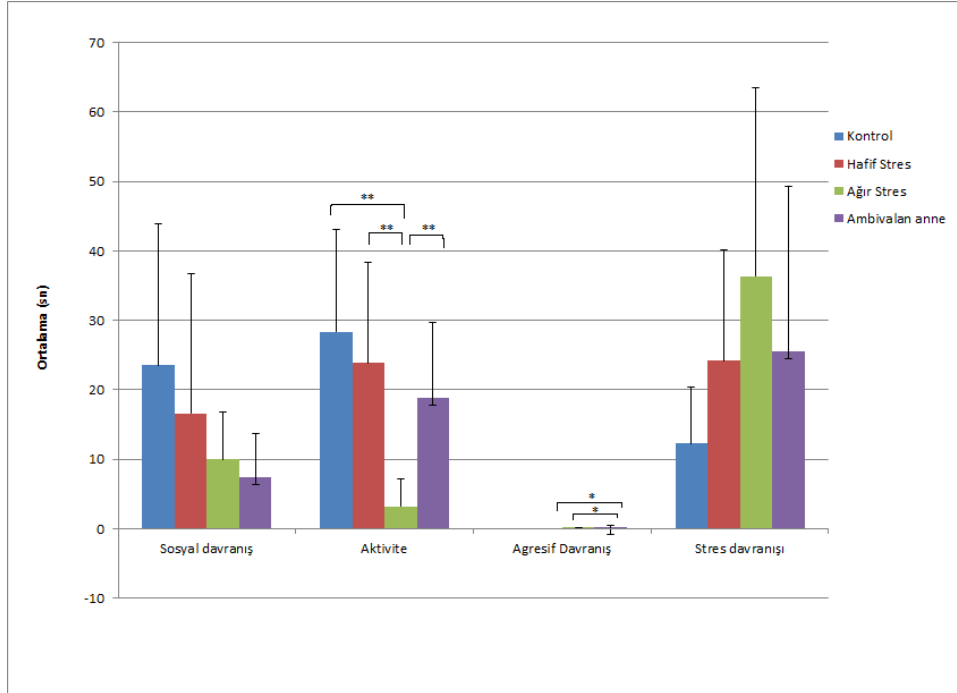
Tablo 16 Grupların genel olarak ve cinsiyete göre sosyal davranış performanslarının karşılaştırılması

Değişkenler		Gruplar (Ortalama±Standard hata)				X ²	p
		Kontrol	Hafif stres	Ağır stres	Ambivalan anne		
Genel	Sosyal davranış	36.75±33.56	13.56±18.08	21.19±22.9	5.14±5.56	12.505**	.006
	Aktivite	18.51±14.94	18.10±14.75	8.51±7.77	17.96±10.08	6.634	.085
	Agresif davranış	0	0.15±0.53	0.02±0.09	0.14±0.21	6.936	.074
	Stres davranışı	7.75±8.18	23.68±16	34.12±27.08	30.38±23.78	13.508**	.004
Erkek Sıçanlar	Sosyal davranış	23.56±20.32	16.58±20.15	10±6.76	7.38±6.35	2.967	.397
	Aktivite	28.33±14.7	23.89±14.46	3.23±3.97	18.79±10.83	11±986**	.007
	Agresif davranış	0	0	0.02±0.09	0.24±0.23	11.079*	.011
	Stres davranışı	12.28±9.63	24.19±10.78	36.33±41.08	25.45±23.71	2.264	.519
Dişi Sıçanlar	Sosyal davranış	49.94±40.59	10.53±17.07	27.41±26.6	2±1.84	9.370*	.025
	Aktivite	8.69±6.59	12.31±13.76	11.44±7.95	16.8±10.04	1.963	.580
	Agresif davranış	0	0.31±0.75	0.04±0.11	0	1.739	.628
	Stres davranışı	3.22±2.34	23.17±21.13	32.89±18.53	38.23±24.24	14.818**	.002

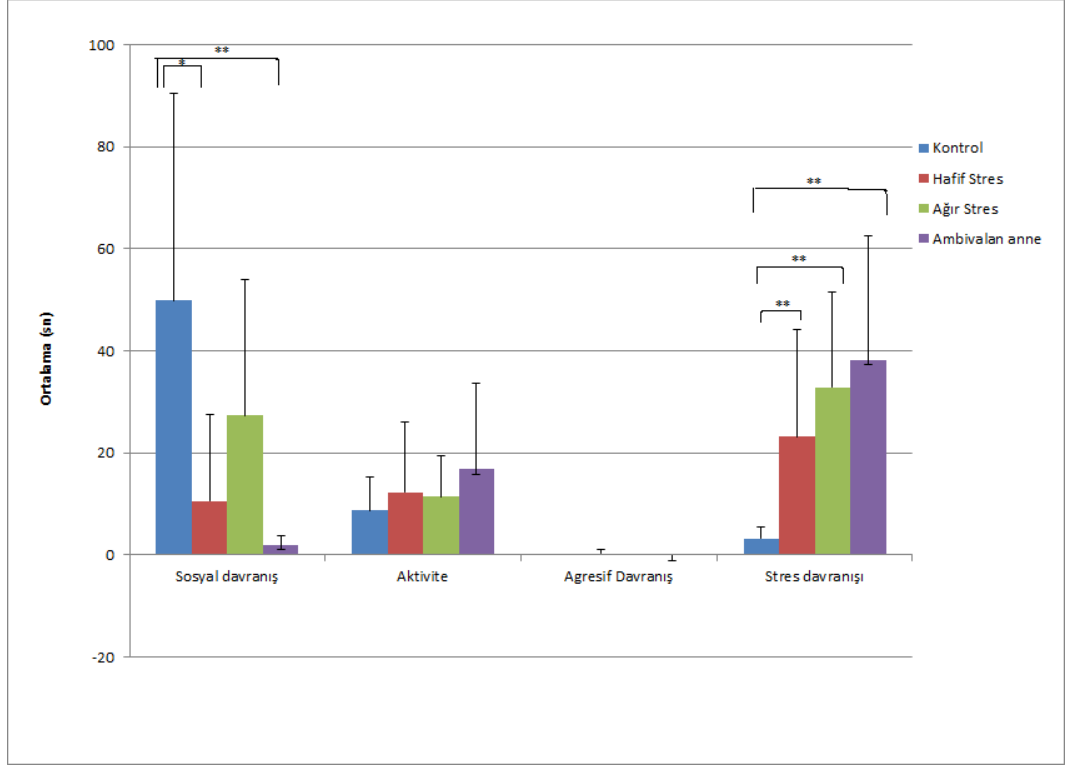
*p<.05, **p<.01



Grafik 18. Tüm hayvanların sosyal davranış performans sonuçları
(*p<.05, **p<.01)



Grafik 19. Erkek hayvanların sosyal davranış performans sonuçları
(*p<.05, **p<.01)



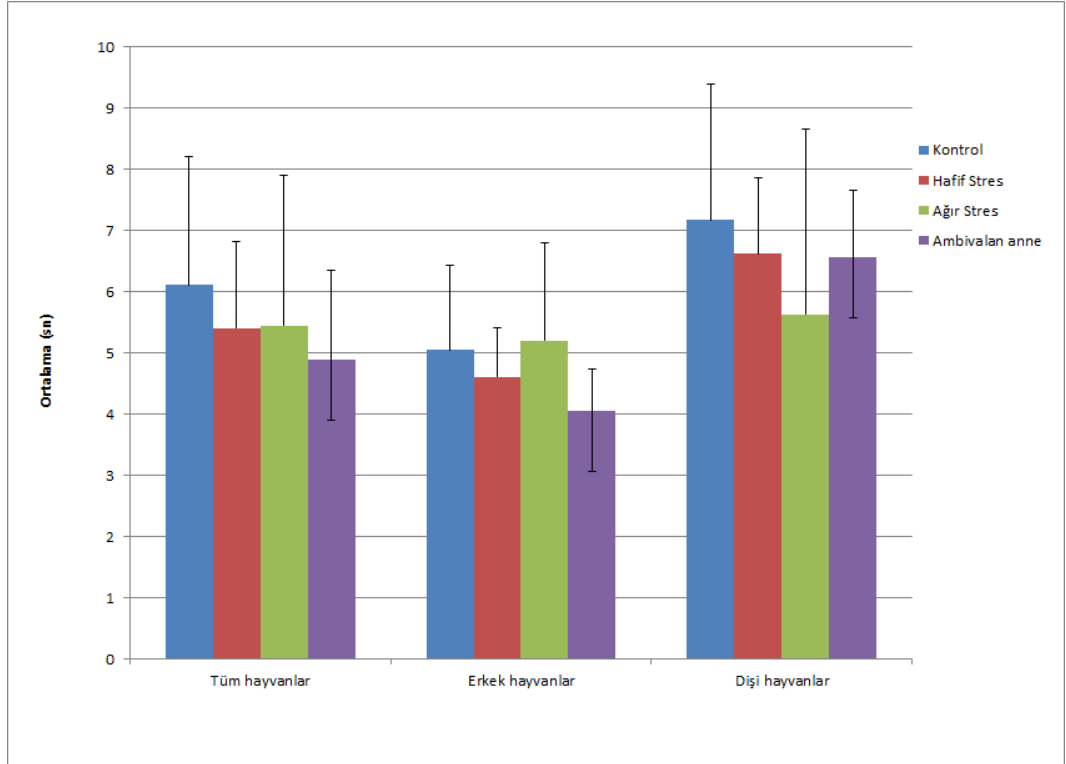
Grafik 20. Dişi hayvanların sosyal davranış performans sonuçları
(*p<.05, **p<.01)

4.6. Plazma Kortizol Düzeyi

Son olarak gruplar hem genel olarak hem de cinsiyete göre kortizol düzeyleri karşılaştırılmış ve sonuçlar Tablo 17'de gösterilmiştir. Genel olarak ($X^2=2.086$, $p=.555$), erkek hayvanlarda ($X^2=3.497$, $p=.321$) ve dişi hayvanlarda ($X^2=1.135$, $p=.769$) gruplar arasında kortizol düzeyleri açısından anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır.

Tablo 17 Grupların genel olarak ve cinsiyete göre Kortizol düzeylerinin karşılaştırılması

Değişkenler	Gruplar (Ortalama±Standard hata)				X ²	p
	Kontrol	Hafif stres	Ağır stres	Ambivalan anne		
Genel	6.11±2.09	5.41±1.4	5.45±2.44	4.89±1.46	2.086	.555
Erkek	5.05±1.39	4.61±0.8	5.2±1.59	4.06±0.67	3.497	.321
Dişi	7.17±2.22	6.62±1.24	5.63±3.03	6.57±1.08	1.135	.769



Grafik 21. Grupların genel olarak ve cinsiyete göre Kortizol düzeylerinin sonuçları

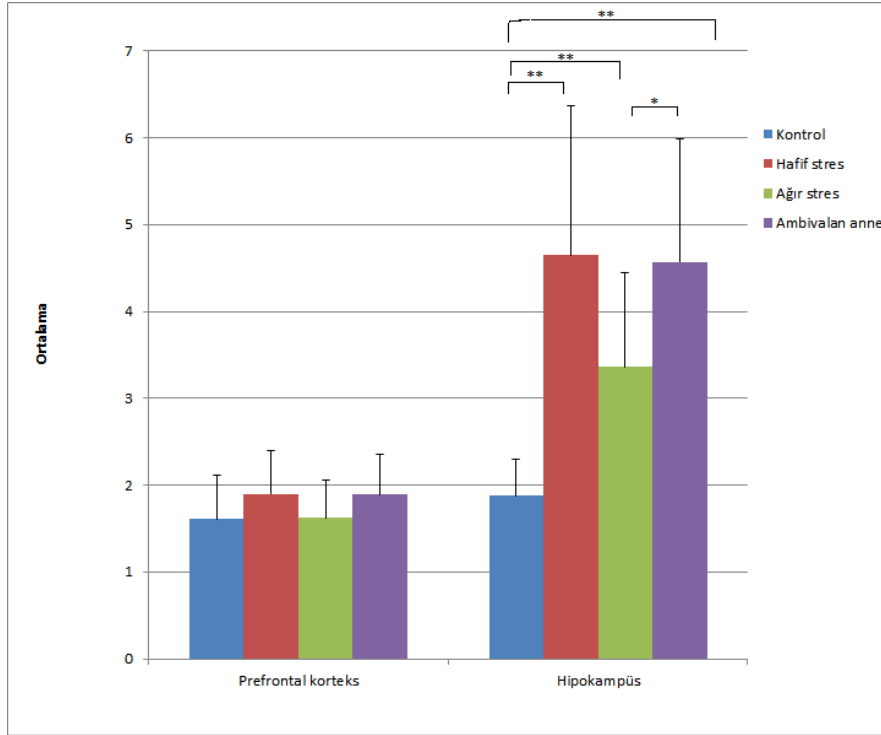
4.7. ELISA

Hayvanların prefrontal korteks ve hipokampuslarından elde edilen NMDAR2B proteini düzeylerinin ELISA yöntemi ile analizinin tüm gruplar için sonuçları Tablo 28 ve Grafik 22’de verilmektedir. Bu sonuçlara göre, hafif stres, ağır stres ve ambivalan anne grupları, kontrol grubuna göre, ambivalan anne ise ağır stres grubunun grubuna göre hipokampus beyin bölgesinde anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır ($X^2=31.416$, $p<.001$).

Tablo 18 Grupların NMDAR2B protein düzeyleri için yapılan ELISA test sonuçlarının karşılaştırılması (ng/mL)

Değişkenler	Gruplar (Ortalama±Standard hata)				X ²	p
	Kontrol	Hafif stres	Ağır stres	Ambivalan anne		
Prefrontal korteks	1.61±0.5	1.9±0.49	1.62±0.44	1.89±0.47	4.219	.239
Hipokampus	1.88±0.42	4.65±1.71	3.36±1.08	4.57±1.41	31.416*	.000

*p<.001



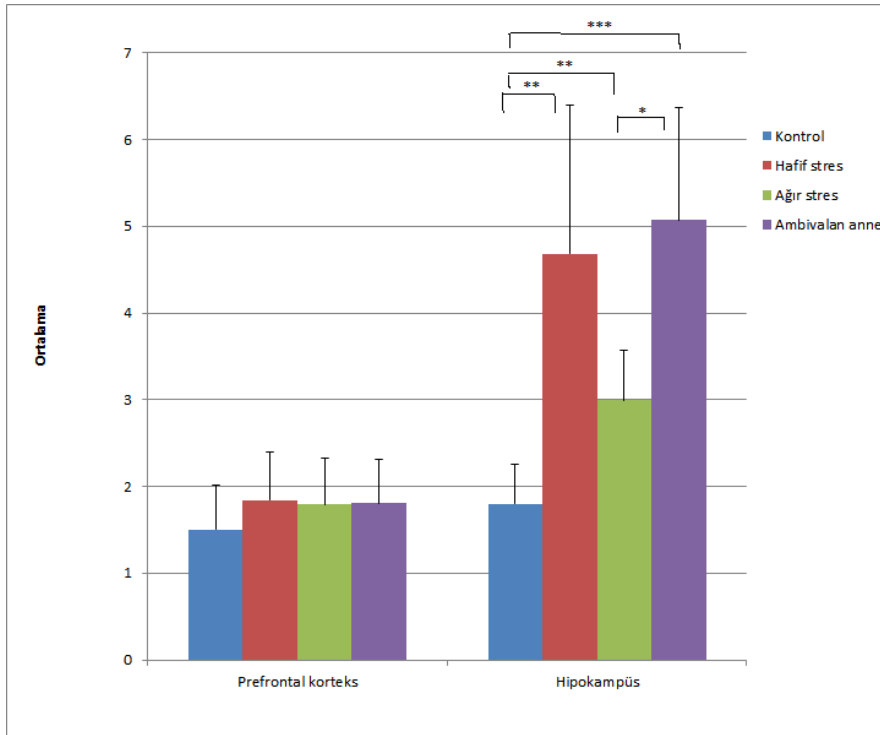
Grafik 22. Grupların genel olarak NMDAR2B protein düzeyleri için yapılan ELISA test sonuçları (*p<.05, **p<.01)

Erkek hayvanların prefrontal korteks ve hipokampuslarından elde edilen NMDAR2B proteini düzeylerinin ELISA yöntemi ile analizinin sonuçları Tablo 29 ve Grafik 23’de verilmektedir. Bu sonuçlara göre hafif stres, ağır stres ve ambivalan anne grupları, kontrol grubuna göre, ambivalan anne ise ağır stres grubunun grubuna göre hipokampus beyin bölgesinde anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır ($X^2=18.986$, $p<.001$).

Tablo 19. Erkek grupların NMDAR2B protein düzeyleri için yapılan ELISA test sonuçları

Değişkenler	Gruplar (Ortalama±Standard hata)				X ²	p
	Kontrol	Hafif stres	Ağır stres	Ambivalan anne		
Prefrontal korteks	1.5±0.51	1.84±0.56	1.79±0.54	1.81±0.5	1.429	0.699
Hipokampus	1.8±0.45	4.68±1.71	2.99±0.58	5.07±1.3	18.986*	.000

*p<.001



Grafik 23. Erkek grupların genel olarak NMDAR2B protein düzeyleri için yapılan ELISA test sonuçları (*p<.05, **p<.01, *p<.001)**

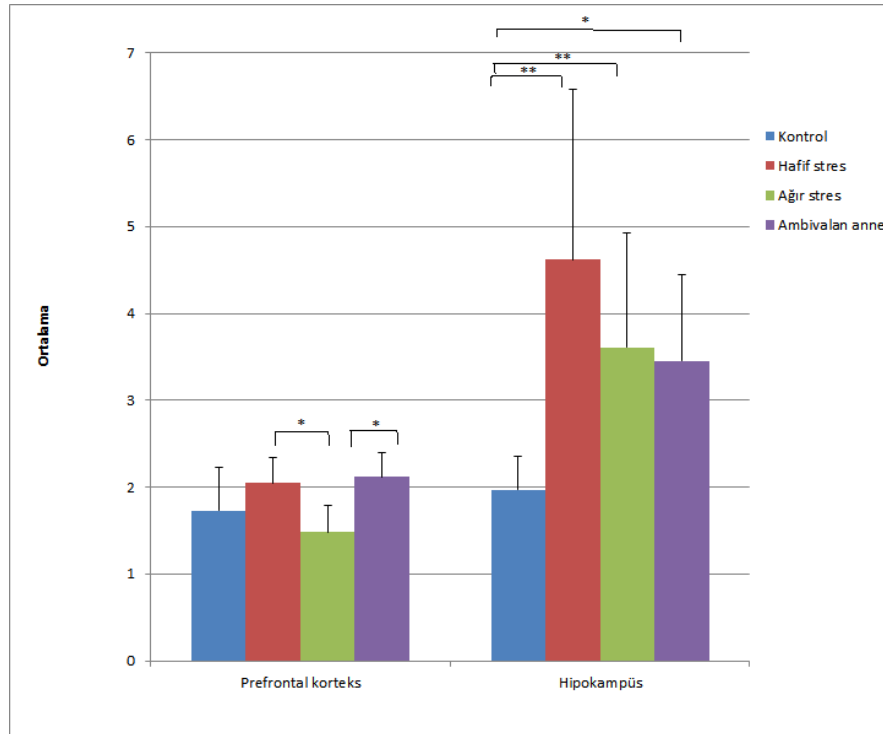
Son olarak, dişi hayvanların prefrontal korteks ve hipokampuslarından elde edilen NMDAR2B proteini düzeylerinin ELISA yöntemi ile analizinin sonuçları Tablo 20 ve Grafik 24’de verilmektedir. Bu sonuçlara göre ağır stres grubundaki dişi hayvanların, hem hafif stres düzeyindeki hem de ambivalan anne grubundaki dişi hayvanlara göre prefrontal korteks beyin bölgesinde anlamlı

olarak daha düşük olduğu saptanmıştır ($X^2=7.869$, $p<.05$). Hafif stres, ağır stres ve ambivalan anne grupları ise kontrol grubuna göre hipokampus beyin bölgesinde anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır ($X^2=12.503$, $p<.01$).

Tablo 20. Dişi grupların NMDAR2B protein düzeyleri için yapılan ELISA test sonuçları

Değişkenler	Gruplar (Ortalama±Standard hata)				X ²	p
	Kontrol	Hafif stres	Ağır stres	Ambivalan anne		
Prefrontal korteks	1.73±0.49	2.05±0.29	1.48±0.31	2.12±0.28	7.869*	.049
Hipokampus	1.97±0.39	4.62±1.96	3.61±1.32	3.45±0.99	12.503**	.006

* $p<.05$, ** $p<.01$



Grafik 24. Dişi grupların genel olarak NMDAR2B protein düzeyleri için yapılan ELISA test sonuçları (* $p<.05$, ** $p<.01$)

5. TARTIŞMA

Bu modeli bir erken dönem manipülasyonu olarak öneren bir önceki çalışma(85) ile bu çalışma arasında yöntem ve elde edilen sonuçlar arasında farklılıklar vardır. Bir önceki çalışmada ağır stres ve ambivalan anne modellerinin doğumdan sonra 7-21'inci günlerde uygulanması nedeniyle doğumdan sonra nörogenezin devam ettiği strese az duyarlı dönemin sadece belli bir kısmında sıçanlar strese maruz kalmıştır. Bu çalışmada sıçanlar erken dönem stresli yaşam olaylarına 1 saat maruz kalmasına rağmen -ki önceki çalışmada strese maruz kalınan süre 3 saatti- strese maruz kalınan periyot nedeniyle nörobiyolojik açıdan beklenen olumsuz etkiler ortaya çıkmış olabilir. Bahsi geçen çalışmada 3 saatlik süreyle ambivalan ve ağır stres grubundaki sıçanların anneden ayrıldıktan sonra hayatta kalmaları için saatlik ısı kontrolü yapılmış ve ağızdan insülin enjektörü aracılığıyla %5 dekstroz ile beslenmiştir. Bu durum erken dönem olumsuz olayların etkisini tersine çevirmiş olabilir. Bu düşünce ile de bu çalışmada literatür bilgisi ışığında süre 1 saate düşürülerek yavrularla temastan kaçınılmıştır. Yöntemdeki farklılıklar sonuçları da etkilemiş olabilir. Bir önceki çalışmada ağır stres ve ambivalan anne grubunun; yapılan davranış deneyleri sonucuna göre yaşamın erken döneminde herhangi bir strese maruz kalmamış kontrol grubu ile hafif strese maruz kalmış gruptan anksiyete ve depresif belirti düzeylerinin daha düşük olduğu sonucuna varılmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar aşağıda tartışılmıştır:

5.1. Davranış Analizi

Deneyle öncesi direk gözlem ve laboras kaydı ile yapılan davranış analizleri incelendiğinde donma, çift taraflı kafa yalama, lökomotor aktivite ve immobilite davranışlarında gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmıştır. Bu davranışlar genel olarak sıçanın anksiyete düzeyi hakkında fikir vermektedir.

Donma davranışı, kaçılmaz bir tehdit veya stres etkeni karşısında verilen tepkisel bir başa çıkma cevabıdır. (90) Solunum haricinde hareketin olmaması halidir. Donma, uyarının şiddetine, hayvanın öğrenme beceresine, korkuya neden olacak etkene kaç kere maruz kaldığına bağlı olarak bir kaç saniye sürdüğü gibi dakikalar da sürebilir. Bu çalışmada hafif stres grubu cinsiyetten bağımsız olarak donma davranışını kontrol grubu, ağır stres ve ambivalan anne gruplarına göre daha az sergilemiştir.

Kendini yalama stres etkeni ile karşılaştığında gözlenen bir davranıştır. (58) Bu çalışmada kendini yalama davranışı çift taraflı kafa yalama ve vücut yalama şeklinde ayrı ayrı kaydedilmiştir. Buna göre hafif stres grubu, kontrol grubu ve ağır stres grubuna göre; ambivalan anne grubu da kontrol ve ağır stres grubuna göre daha fazla kafa yalama davranışında bulunmuştur. Bu farkın erkek sıçanlardan kaynaklandığı düşünülmüştür. Tek başına bu davranış değerlendirildiğinde, hafif stres grubu ve ambivalan anne grubu erkeklerinin daha anksiyeteli oldukları düşünülebilir.

Lökomotor aktivite, yeni bir ortama giren sıçanın merakla ilgili sergilediği davranıştır ve düşük anksiyete göstergesidir.(59) Çalışmada toplam lökomotor

aktivite süresi ambivalan anne grubunda, diğer üç gruptan da daha düşük olduğu gözlenmiştir. Bu fark özellikle erkek sıçanlardan kaynaklanmaktadır.

İmmobilizasyon davranışı kontrol grubunda diğer gruplara göre daha düşük olduğu ve bu farkın da erkek sıçanlardan kaynaklandığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak deneyin ilk günü yapılan davranış analizlerine göre ambivalan anne grubunun donma davranışının fazla, lökomotor aktivitelerinin de düşük olması sebebiyle diğeri gruplara kıyasla daha anksiyeteli oldukları söylenebilir.

5.2. Sosyal Etkileşim Testi

Sosyal etkileşim testi ilk defa karşılaşan iki sıçan arasındaki sosyal etkileşim süresini değerlendirmektedir ve insandaki sosyal anksiyeteye karşılık geldiği düşünülmektedir. (60)Yeni doğan döneminde içinde bulunulan çevrenin niteliği sosyal davranış ve onunla ilişkili nöronal yollar üzerinde etkilidir. (61) Yeni doğan elleme yöntemi, sosyal davranış ile ilgili nöral devreleri olumsuz etkiler. Karşılıklı tımar ve koklama gibi sosyal davranışlar azalırken agresif davranışlar artmaktadır. (50) Anneden ayırma yöntemi uygulanan sıçanlarda sosyal etkileşim testinin manipülasyondan etkilenmediği sonucuna ulaşan bir çalışma vardır(62)

Sosyal etkileşim testinin verileri değerlendirilirken her bir davranışın süre ve frekansları değerlendirilmiştir. Ayrıca bu davranışlar aktif sosyal davranış (

koklama, sosyal yalanma, bitişik uzanma, emeklemek, takip), aktivite (gezinme, keşif), agresif davranış (ısırma, boks, üstüne atlama, tekme, agresif yalanma) ve stresle ilişkili davranış (donma ve kendini yalama) olmak üzere 3 başlıkta değerlendirilmiştir. Bitişik uzanma frekansı hafif stres ve ambivalan anne grubu dişilerinde kontrol grubu dişilerine göre daha yüksektir, fakat süre bakımından kıyaslandığında her iki grup kontrol grubundan daha az bitişik uzanma davranışı sergilemiştir. Ambivalan anne grubu, kontrol ve ağır stres grubuna kıyasla daha az sıklıkta keşif davranışında bulunurken daha sık donma ve kendilerini yalama davranışı sergilemişlerdir. Keşif süresi ambivalan anne grubunda; kontrol ve ağır stres grubuna göre daha kısadır. Hafif stres, ağır stres ve ambivalan anne grubu, kontrol grubuna kıyasla daha uzun süre donma davranışı sergilemiştir ve bu fark dişi sıçanlardan kaynaklanmaktadır. Ambivalan anne ve hafif stres grubu sıçanları kontrol grubuna kıyasla daha kısa süre sosyal davranış sergilerken daha uzun süre stres davranışı sergilemiştir. Ambivalan anne grubunda sosyal davranış ağır stres ve kontrol grubuna göre düşük, bu grubun erkek sıçanlarında agresif davranış diğer grup erkek sıçanlarından daha yüksektir. Yani tüm stres modelleri özellikle de ambivalan anne grubu sosyal davranışını olumsuz etkilemiştir.

5.3. Yükseltilmiş Artı Labirent

Yükseltilmiş Artı Labirent Testi, sıçanların anksiyete düzeylerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Açık kollara girme yüzdesi ve açık kollarda kalma süreleri hesaplanmıştır.

Yeni doğan elleme yönteminin anksiyete benzeri davranışı azalttığı ve bu nedenle erişkin dönemde yükseltilmiş artı labirentin açık kollarında daha çok zaman geçirdiklerini ifade eden pek çok çalışma vardır. (34,63,64,65,66) Fakat azalmış anksiyete her zaman gözlenen bir bulgu değildir. (67,68) İlk üç hafta yeni doğan elleme yöntemi uygulanan sıçanların yükseltilmiş artı labirentte kontrol grubundan farklı olmadıkları bir çalışmada gösterilmiştir. (38) Anneden ayırma yöntemi uygulanan sıçanlarla şimdiye kadar yapılan çalışmalarda kontrol grubuna kıyasla daha çok anksiyeteli oldukları bu nedenle de açık kollarda daha az vakit geçirdikleri bildirilmiştir. (69,70,71) Baskın olan görüş her ne kadar erken dönem stresli yaşam olaylarının erişkin dönemde yükseltilmiş artı labirent performansını olumsuz etkileyeceği yönünde olsa da aksi sonuçlara ulaşan çalışmalar da vardır. Doğumdan sonra ilk iki hafta günde 3 saat süreyle anneden ayırma yöntemi uygulanan sıçanlarda erişkin dönemde yükseltilmiş artı labirentte artmış anksiyete saptanmayan çalışmalar vardır. (53,62, 70). Bu çalışmada en az ağır stres grubu kadar ağır stres oluşturulduğu düşünülerek oluşturulan ambivalan anne grubu ve diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Diğer çalışmalarda daha uzun süreli ayırmaya rağmen gruplar arası farklılığın olmaması, sonuçların maruziyetin kısa süreli olması ile ilişkili olabileceği fikrinden uzaklaştırmaktadır.

5.4. Yeni Nesne Tanıma Testi

Erken dönem yaşantılar erişkin dönem öğrenme ve bellek üzerine de etkilidir. Yeni doğan elleme yöntemi uygulanan sıçanlarda öğrenme ve bellek

belirlenen göreve (task) göre değişmektedir. Bu yöntem uzamsal öğrenme/belleği geliştirirken aversif öğrenme/belleği bozmaktadır. (63) Yeni nesne tanıma testinde yeni doğan elleme yöntemi uygulanan sıçanlar kontrol grubuna göre daha iyi performans sergilerken, dişiler nesne tanıma erkekler göre daha kötüdür. Manipülasyonun süresi uzadıkça nesne tanıma testinde sıçanların gösterdiği performans da düşmektedir. (72,73) Anneden ayırma yöntemi uygulandığında dişiler sıçanların nesnelere vakit geçirme sürelerinde değişiklik olmadığını fakat bu manipülasyonla yeni nesneyi ayırt etmenin bozulduğunu belirten bir çalışma vardır. (74,75) Bir çalışmada da kontrol grubundan herhangi bir farklılık olmadığı belirtilmiştir. (62)

Kısa süreli bellek sonuçları değerlendirildiğinde diğer grupların kontrol grubuna kıyasla nesnelere daha az zaman geçirdikleri tespit edilmiştir. Nesnelere daha fazla vakit geçirme kontrol grubunun anksiyete düzeyinin daha düşük olması ile ilişkili olabilir. Tanıma indeksi açısından gruplar arası herhangi bir farklılık yoktur. Ambivalan anne grubundaki dişilerde ayırma indeksinin yüksek olduğu bulunmuştur bu da ambivalan anne grubundaki dişilerde kısa bellek işlevlerinin daha iyi olduğunu düşündürmektedir.

Uzun süreli bellek sonuçlarına bakıldığında ambivalan anne grubu ve ağır stres grubunun, kontrol grubuna göre yeni nesne ile daha az vakit geçirdikleri tespit edilmiştir. Hafif stres grubundaki erkek sıçanların diğer gruplara kıyasla tanıma ve ayırma indekslerinin daha yüksek olması nedeniyle uzun süreli bellek işlevlerinin daha iyi olduğu düşünülebilir.

5.5. Cinsiyet Farkı

Erken dönem manipülasyon sonrası erişkinlerde bellek, davranış ve hormonlarda cinsiyete bağlı farklılıklar görülmektedir. Bu farklılıklar erken dönem yaşam olayları ile dişi ve erkekte HPA aks aktivitesi ilişkisine bağlanmaktadır. (72;76,77,78) Fakat çalışma sonuçları çok tutarlı değildir.

Literatür bilgileri doğrultusunda çalışmada dişi ve erkek performansları kıyaslanmıştır. Deneyin ilk günü hafif stres, ağır stres ve ambivalan anne grubu erkek sıçanlarının; kontrol grubu erkeklerine kıyasla daha uzun süre immobilizasyon davranışı sergiledikleri, hafif stres grubu erkelerinin uzun süreli bellekte daha iyi oldukları, ağır stres grubu erkeklerinin sosyal etkileşim testinde daha az aktivite davranışı sergiledikleri; ambivalan anne grubu erkeklerinin deneyin ilk günü lökomotor aktivitelerinin daha az olduğu ve sosyal etkileşim testinde daha az sosyal davranış sergiledikleri ve daha agresif davrandıkları, dişilerinin kısa bellekte daha iyi olduğu tespit edilmiştir. Çoğunlukla gruplar arası farklılıklar erkek sıçanlardan kaynaklanmıştır.

5.6. Plazma Kortizol Düzeyi

Erken dönem manipülasyonların erişkin sıçanların HPA aktivitesini ve strese verdikleri yanıtı değiştirdiği düşüncesi hakim olan düşüncedir. (79;80) Bu çalışmalar çoğunlukla erkek sıçanlarla yapılan çalışmalardır. Fakat HPA aksında önemli değişiklikler olmadığını gösteren çalışmalar da vardır . (54,81). Dişi sıçanlarla yapılan bir çalışmada yavruyken anneden ayırmaya maruz kalıp erişkin

dönemde strese maruziyet sonrası beklenen kortikosteron yüksekliğinin gözlenmediği belirtilmiştir. (41) Doğumdan sonra 3-12'nci günlerde, anneden ayrılma yöntemi uygulanan erişkin erkek ve dişi sıçanlarda bazal ACTH ve kortikosteron düzeylerinde bir değişiklik olmadığı, erkeklerde yükseltilmiş artı labirent testi sonrası artmış ACTH cevabı olduğunu belirten bir çalışma vardır. (82) Bu çalışmada erişkin dönem stres yanıtlarında değişiklikler olsa da plazma kortizol düzeyi açısından hafif stres, ağır stres ve ambivalan anne gruplarında hem erkek hem de dişi sıçanlar arasında farklılık olmadığı tespit edilmiştir.

5.7. ELISA

NMDAR2B alt ünitesinin öğrenme ve bilişsel becerileri geliştirdiğini gösteren pek çok çalışma vardır. (91,92,93) Bir çalışmada doğumdan sonra ilk 1-21'inci günler arasında 15 dakika ve 6 saat süreyle anneden ayrılan sıçanlarla yapılan bir çalışmada erişkin dönemde prefrontal kortekste NMDAR2B düzeylerinin gruplar arasında farklılık göstermediği, uzun süreli anneden ayrı kalan sıçanların hipokampus NMDAR2B düzeylerinin ise azaldığı ifade edilmiştir. Hipokampus dahil ön beyin bölgelerinde artmış NMDAR2B düzeyinin sosyal tanıma hafızasını arttırdığı ifade edilmektedir. (94) NMDAR2B, yavru sıçanlarda erişkin sıçanlara kıyasla daha yüksektir. (95) Bu bağlamda erişkinde artmış NMDAR2B artmış sinaptik plastisite, bellek ve biliş demektir denebilir. Aksi çalışmalar da vardır. Yüksek anksiyete düzeyine sahip sıçanlarda hipokampus

ve prefrontal kortekste NMDAR2B düzeyinin düşük anksiyeteye sahip sıçanlardan daha yüksek olduğu ifade edilmektedir.(98) Nöronların yoğun glukokortikoid maruziyeti, mir-132 ifadesini baskılayarak NMDAR2B gibi post sinaptik protein ifadesinde artışa neden olmaktadır. (99)

Bu çalışmada prefrontal korteks ve hipokampüste NMDAR2B düzeylerine bakılmıştır. Gruplar arasında prefrontal kortekste NMDAR2B düzeyi açısından bir farklılık tespit edilmemiştir. Hafif stres, ağır stres ve ambivalan anne grubu sıçanlarının hipokampüsünde NMDAR2B yoğunluğu kontrol grubuna göre daha fazladır. Ayrıca Ambivalan anne grubu sıçanlarının hipokampüsünde NMDAR2B yoğunluğu ağır stres grubu sıçanlarınınkinden de daha fazla çıkmıştır. Bu çalışmada literatürden farklı olarak erken dönem stresli yaşam olaylarına maruziyet hipokampüste NMDAR2B yoğunluğunda artışa neden olur sonucuna ulaşılmıştır. Bu da erken dönem olumsuz yaşam olaylarının aşırı aktive glukokortikoid üzerinden korku koşullanması ve nörojenezi etkileyebileceğini düşündürmektedir.

6. SONUÇ

Erken dönem stresli yaşam olayları hayatın geç döneminde görülen bilişsel ve duygusal bozukluklarla ilişkili olabilir. Altta yatan mekanizmaya yönelik hayvan modelleri kısıtlıdır. Kısa ve uzun süreli anneden ayırma, yetersiz yuva

yapma materyali ile oluşturulan kısıtlı bakım verme modelleri ile pek çok çalışma yapılmıştır. Bu modelde bakım verenin yuvada olduğu hissini uyandıran koku varlığına rağmen bakım alamama ile bir ambivalans oluşturulmak istenmiştir. Bu ambivalansa maruz kalan yenidoğan sıçanların erişkin dönemde strese yanıtı, bellek fonksiyonları, sosyal etkileşimleri ve oluşturulduğu düşünülen ambivalansın nöroenez üzerine etkisinin olumsuz olacağı düşünülmüştür. Bu çalışmada çarpıcı iki sonuç vardır:

- Ambivalan anne grubunun ve ağır stres grubu sıçanlarının maruz kaldıkları olumsuz yaşam olayları sonucunda erişkin döneme geldiklerinde daha az sosyal davranış sergilemeleri
- Ambivalan anne grubu erkeklerinin ağır stres grubundan da farklı olarak daha agresif davranışlarıdır.

Anne kokusuna karşı tiksinti ve kaçınma davranışının olmaması SHP döneminde kortikosteron düzeyinin azalmasına bağlı baskılanmış amigdala aktivitesi ile ilişkilendirilmektedir. (86,87)

Kokuya yönelmek anneye ulaşmak ve hayatta kalabilmek için gereklidir. Bu çalışmada yenidoğan için tanıdık bir koku olan anne kokusu ve hayatta kalabilmek için bu kokuya yönelme davranışı olmasına rağmen kokuyu yayan nesnenin sergilediği annelik davranışları bulunmayan bir durum oluşturulmuştur. Annenin ortamda kokusu olmasına rağmen bu koku ile eşleşen bir annenin olmadığına gelişimsel süreçler nasıl işlemiş olabilir? Sıçanları anneden ayırarak HPA aksının baskılandığı ve dolayısıyla da amigdala aktivitesinin baskılanmadığı

bir durum oluşturulmuş olabilir bu da kaçınma ve korku öğrenmesine izin veren bir durumdur. Fakat tek başına bu dönemde artmış amigdala aktivitesi agresif davranışı açıklamaya yeterli değildir. Agresyon yüksek duyuşsal aktivasyon gerektiren savaş veya kaç şeklinde davranış cevabı gösteren bir tablodur. Bu tablo artmış sempatik aktivite ve düşük HPA aktivasyonunun bir sonucudur. Bu bilgiler ışığında beklenen, erişkin döneme geldiklerinde sıçanlar korkuya neden olacak bir stres etkenine maruz kaldıklarında agresyon yerine artmış HPA aktivasyonunun bir sonucu olan donma davranışını sergileyebilirlerdi. (88) Koku-beslenme ilişkisi annenin olmadığı dönemlerde bozulmuş, ekstra bir stres etkeni haline gelmiştir.

Evrimsel perspektiften bakıldığında belirli davranışlar ortak nöroendokrin, nörobiyolojik ve genetik mekanizmaları paylaşmaları nedeniyle birbirleriyle ilişkilidir.(89) Bir durum veya nesnenin tehdit ya da tehdit olmamasına bağlı ortaya çıkacak davranışlar genetik kayda bağlıdır. Annenin kokusu ortamda tehdit edici bir durum olmadığının kanıtı olarak kayıtlıysa (kokuyla birlikte ısı ve beslenmenin gelmesi) memeli annenin bulunduğu ortamın tehditkar olmayacağını öğrenir. Erken dönemde maruz kalınan bu stres etkeni koku- tanıdık nesne eşleşmesinin etkili olduğu subkortikal beyin bölgelerinde nörogelişimsel değişikliklere neden olmuş olabilir. Bu çalışmada hipokampüste artmış NMDAR2B düzeyi oluşturulan ambivalan anne modelinin glutamaterjik yollar üzerinde etki gösterdiğini ve bu artışın bozulmuş öğrenme deneyimi ilişkili olabileceği düşünülebilir. İyi olanın aynı anda iyi olmaması demek olan

ambivalan model sıçanda iyi ipuçlarının iyi sonuçlar vereceği öğrenme kalıbını bozmuş olabilir. Bu durumda ortaya çıkması beklenen emosyon anksiyete olmalıdır. Çünkü anksiyete belirsizlik durumunda ortaya çıkar. Bu durumda bozulan öğrenmenin karşılaşılan bir durumun iyi (güvenli) ya da kötü (tehditkar) olup olmadığına karar verme süreci ile ilgili yani korku koşullanması ile ilgili olduğu varsayılabilir.

Şizofreni de hastaların uyararı değerlendirme süreçlerinin bozulduğunu hatırlarsak, (gerçekte tehdit edici olmayan bir uyarının tehditmiş gibi algılanması) bu iki gözlemi birleştirebiliriz. (96,97) Bir yandan uyarılara verilen emosyonel yanıtlar uyarının niteliğiyle ilişkisiz hale gelmekte aynı anda uyarının anlamlandırılması da bu ilişkisizliğin belirlenmesi altında olmaktadır. Gerçekte tehdit edici olmayan bir uyarı olumsuz bir emosyonu başlatırsa emosyonun etkisi altında o uyarının tehditkar olduğu yargısına varılabilmektedir. Bu durumda şizofreninin temel olarak bir öğrenme bozukluğu olduğunu söylemek mümkün olabilir.

7. KAYNAKLAR

1. C. Heim, E.B. Binder Current research trends in early life stress and depression: review of human studies on sensitive periods, gene-environment interactions, and epigenetics *Exp. Neurol.*, 233 (2012), pp. 102–111,
2. M.M. Loman, M.R. Gunnar, Early Experience, Stress, and Neurobehavioral Development Center Early experience and the development of stress reactivity and regulation in children *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 34 (2010), pp. 867–876,
3. T.G. O'Connor, Y. Ben-Shlomo, J. Heron, J. Golding, D. Adams, V. Glover Prenatal anxiety predicts individual differences in cortisol in pre-adolescent children *Biol. Psychiatry*, 58 (2005), pp. 211–217
4. Early experience and the development of stress reactivity and regulation in children *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 34 (2010) 867–876
5. Hofer, M.A., 1994. Hidden regulators mediating attachment, separation and loss. *Monogr. Soc. Res. Child Dev.* 59, 192–207.
6. Cirulli, F., Alleva, E., Antonelli, A., Aloe, L. NGF expression in the developing rat brain: effects of maternal separation. *Brain Res. Dev.* 2000; 123, 129–134.
7. Rosenfeld, P., Suchecki, D., Levine, S. Multifactorial regulation of the hypothalamic– pituitary–adrenal axis during development. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1992;16, 553–568.-

8. Whishaw IQ and Kolb B. The behaviour of the laboratory rat- A handbook with tests. 2005; Chapter 27: 287- 297
9. Maternal care during infancy regulates the development of neural systems mediating the expression of fearfulness in the rat. Caldji C, Tannenbaum B, Sharma S, Francis D, Plotsky PM, Meaney MJ Proc Natl Acad Sci U S A. 1998 Apr 28; 95(9):5335-40.
10. Maternal care, hippocampal synaptogenesis and cognitive development in rats. Liu D, Diorio J, Day JC, Francis DD, Meaney MJ Nat Neurosci. 2000 Aug; 3(8):799-806.
11. Effects of social deprivation on maternal behavior of rhesus monkeys. Arling GL, Harlow HF J Comp Physiol Psychol. 1967 Dec; 64(3):371-7.
12. Maternally separated rats show deficits in maternal care in adulthood. Lovic V, Gonzalez A, Fleming AS Dev Psychobiol. 2001 Jul; 39(1):19-33.
13. Artificial rearing causes changes in maternal behavior and c-fos expression in juvenile female rats. Gonzalez A, Fleming AS Behav Neurosci. 2002 Dec; 116(6):999-1013
14. Feldman ML. Changes in the ear. In: Mohr U, Dungworth DL, Capen CC, editors. Pathobiology in the Aging Rat, Volume 2, Washington, D.C.: ILSI Press; 1992. p. 121–147.
15. Weisse, I. Aging and ocular changes. In: Mohr U, Dungworth DL, Capen CC, editors. Pathobiology in the Aging Rat, Volume 2, Washington, D.C.: ILSI Press; 1992. p. 65-119

16. Rodent Model of Infant Attachment Learning and Stress Stephanie Moriceau, Tania L. Roth, and Regina M. Sullivan *Dev Psychobiol.* 2010 November ; 52(7): 651–660. doi:10.1002/dev.20482.
17. Sullivan RM, Holman PJ. Transitions in sensitive period attachment learning in infancy: the role of corticosterone. *Neurosci Biobehav Rev* 2010; 34:835–44. doi:10.1016/j.neubiorev.2009.11.010
18. Cheslock SJ, Varlinskaya EI, Petrov ES, Spear NE. Rapid and robust olfactory conditioning with milk before suckling experience: Promotion of nipple attachment in the newborn rat. *Behavioral Neuroscience.* 2000; 114:484–495. [PubMed: 10883799]
19. Rainecki C, Cortes MR, Belnoue L, Sullivan RM. Effects of early-life abuse differ across development: infant social behavior deficits are followed by adolescent depressive-like behaviors mediated by the amygdala. *J Neurosci.* 2012; 32:7758–65. doi:10.1523/JNEUROSCI.5843-11.2012
20. Sullivan RM. Developing a sense of safety: the neurobiology of neonatal attachment. *Ann N Y Acad Sci.* 2003; 1008:122–31. doi:10.1196/annals.1301.013
21. The role of the dorsal and ventral hippocampus in olfactory working memory Raymond P. Kesner , Michael R. Hunsaker , Warren Ziegler *Neurobiology of Learning and Memory* 96. 2011; 361–366
22. Corkin S, Sullivan EV, Carr FA Prognostic factors for life expectancy after penetrating head injury. *Arch Neurol.* 1984; 41: 975–977.

23. deLima, M.N.M., Presti-Torres, J., Vedana, G., Alcalde, L.A., Stertz, L., Fries, G.R., Roesler, R., Andersen, M.L., Quevedo, J., Kapczinski, F., Schroder, N. Early life stress decreases hippocampal BDNF content and exacerbates recognition memory deficits induced by repeated D-amphetamine exposure. *Behavioural Brain research* 2011; 224, 100–106
24. Lukas, M., Bredewold, R., Landgraf, R., Neumann, I.D., Veenema, A.H. Early life stress impairs social recognition due to a blunted response of vasopressin release within the septum of adult male rats. *Psychoneuroendocrinology*. 2011; 36, 843–853.
25. Wilber, A. A., & Wellman, C. L. Neonatal maternal separation alters the development of glucocorticoid receptor expression in the interpositus nucleus of the cerebellum. *International Journal of Developmental Neuroscience*. 2009; 27(7), 649-654.
26. Lippmann, M., Bress, A., Nemeroff, C. B., Plotsky, P. M., & Monteggia, L. M. Long-term behavioural and molecular alterations associated with maternal separation in rats. *The European Journal of Neuroscience*, 2007; 25(10), 3091-3098.
27. Weigert, AJ. *Mixed emotions: Certain steps toward understanding ambivalence*. State University of New York Press; New York: 1991.
28. Uchino BN, Holt-Lunstad J, Smith TW, Bloor L. Heterogeneity in social networks: A comparison of different models linking relationships to psychological outcomes. *Journal of Social and Clinical Psychological* 2004;23:123–139.

29. Fingerman KL, Chen PC, Hay EL, Cichy KE, Lefkowitz ES. Ambivalent reactions in the parent and offspring relationship. *Journals of Gerontology: Psychological Sciences* 2006;61B:152–160.
30. Rusbult CE, Van Lange PAM. Interdependence, interaction, and relationships. *Annual Review of Psychology* 2003;54:351–375.
31. Rosenfeld, P., Wetmore, J. B., & Levine, S. Effects of repeated maternal separations on the adrenocortical response to stress of preweanling rats. *Physiology and Behavior* 1992; 52(4), 787-791
32. Sapolsky, R. M., & Meaney, M. J. Maturation of the adrenocortical stress response: Neuroendocrine control mechanisms and the stress hypo-responsive period. *Brain Research*, 1986; 396(1), 64-76
33. S. Levine Infantile experience and resistance to physiological stress *Science*, 126 (1957); pp. 405–406
34. S. Levine, G.C. Haltmeyer, G.G. Karas, V.H. Denenberg Physiological and behavioral effects of infantile stimulation *Physiol. Behav.*, 2 (1967), pp. 55–63
35. R. Ader, L.J. Grotta Effects of early experience on adrenocortical reactivity *Physiol. Behav.*, 4 (1969), pp. 303–305
36. A. Stamatakis, E. Toutountzi, K. Fragioudaki, E.D. Kouvelas, F. Stylianopoulou, A. Mitsacos Selective effects of neonatal handling on rat brain N-methyl-d-aspartate receptors *Neuroscience* Volume 164, Issue 4, 29 December 2009, Pages 1457–1467

37. Wurbel H (2001) Ideal homes? Housing effects on rodent brain and behaviour *TRENDS in Neurosciences* Vol24 No4 April 2001 207-211.
38. Durand M, Sarrieau A, Aguerre S, Mormède P, Chaouloff F. Differential effects of neonatal handling on anxiety, corticosterone response to stress, and hippocampal glucocorticoid and serotonin (5HT) 2A receptors in Lewis rats. *Psychoneuroendocrinology* 1998; Vol 23, No4 323-335. Elsevier Science Ltd, Great Britain
39. S. Levine Plasma free corticosteroid response to electric shock in rats stimulated in infancy *Science*, 1962; 135, pp. 795–796
40. M.J. Meaney, V. Viau, S. Bhatnagar, K. Betito, L.J. Iny, D. O'Donnell, J.B. Mitchell Cellular mechanisms underlying the development and the expression of individual differences in the hypothalamic-pituitary-adrenal stress response *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 39 (1991), pp. 265–274
41. Arborelius, L., & Eklund, M. B. Both long and brief maternal separation produces persistent changes in tissue levels of brain monoamines in middle-aged female rats. *Neuroscience*, 2007; 145(2), 738-750.
42. Monyer, H., Burnashev, N., Laurie, D. J., Sakmann, B., & Seeburg, P. H. Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of the four NMDA receptors. *Neuron* 1994; 12, 529–540.
43. Jacobs SA, Tsien JZ. Genetic Overexpression of NR2B Subunit Enhances Social Recognition Memory for Different Strains and Species. 2012; *PLoS ONE* 7(4): e36387. doi:10.1371/journal.pone.0036387

44. Marais, L, van Rensburg, S. J, van Zyl, J. M, Stein, D. J., & Daniels, W. M. Maternal separation of rat pups increases the risk of developing depressive-like behavior after subsequent chronic stress by altering corticosterone and neurotrophin levels in the hippocampus. *Neuroscience Research*, 2008; 61(1), 106-112.
45. Lee, P.R., Brady, D. & Koenig, J.I. Corticosterone alters N-methyl-D-aspartate receptor subunit mRNA expression before puberty. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 115, 55–62 (2003).58.
46. Pickering C, Gustafsson L, Cebere A, Nylander I, Liljequist S. Repeated maternal separation of male Wistar rats alters glutamate receptor expression in the hippocampus but not the prefrontal cortex. *Brain Res.* 2006 Jul 12;1099(1):101-8. Epub 2006 Jun 19
47. Roceri M, Hendriks W, Racagni G, Ellenbroek BA, Riva MA. Early maternal deprivation reduces the expression of BDNF and NMDA receptor subunits in rat hippocampus. *Mol Psychiatry.* 2002;7(6):609-16.
48. Levine, E. S., & Kolb, J. E. Brain-derived neurotrophic factor increases activity of NR2B containing N-methyl-D-aspartate receptors in excised patches from hippocampal neurons. *J Neurosci Res* 2000; 62,357–362
49. A. Fernandez-Teruel, R.M. Escorihuela, B. Castellano, B. Gonzalez, A. Tobena Neonatal handling and environmental enrichment effects on emotionality, novelty/reward seeking, and age-related cognitive and hippocampal impairments: focus on the Roman rat lines *Behav. Genet*, 1997; 27, pp. 513–526

50. Todeschin, A. S., Winkelmann-Duarte, E. C., Jacob, M. H. V., Aranda, B. C. C., Jacobs, S., Fernandes, M. C., ... Lucion, A. B. Effects of neonatal handling on social memory, social interaction, and number of oxytocin and vasopressin neurons in rats. *Hormones and Behavior*, 2009;56,93–100
51. Aisa, B., Elizalde, N., Tordera, R., Lasheras, B., Del Río, J., & Ramírez, M. J. Effects of neonatal stress on markers of synaptic plasticity in the hippocampus: Implications for spatial memory. *Hippocampus*, 2009; 19(12), 1222-1231.
52. Faure, J., Uys, J. D., Marais, L., Stein, D. J., & Daniels, W. M. Early maternal separation alters the response to traumatization: Resulting in increased levels of hippocampal neurotrophic factors. *Metabolic Brain Disease*, 2007; 22(2), 183-195.
53. Grace, L., Heschem, S., Kellaway, L. A., Bugarith, K., & Russell, V. A. Effect of exercise on learning and memory in a rat model of developmental stress. *Metabolic Brain Disease*, 2009;24(4), 643-657.
54. Slotten, H. A., Kalinichev, M., Hagan, J. J., Marsden, C. A., & Fone, K. C. Long-lasting changes in behavioural and neuroendocrine indices in the rat following neonatal maternal separation: Gender-dependent effects. *Brain Research*, 2006; 1097(1), 123-132.
55. Borta, A., Wöhr, M. & Schwarting, R.K.W. Rat ultrasonic vocalization in aversively motivated situations and the role of individual differences in anxiety-related behavior. *Behavioural Brain Research*, 2005;166, 271-80.

56. Brudzynski, S.M. & Pniak, A. Social contacts and production of 50-kHz short ultrasonic calls in adult rats. *Journal of Comparative Psychology*, 2002; 116, 73-82.
57. Yee, N., Schwarting, R.K.W., Fuchs, E. & Wöhr, M. Juvenile stress potentiates aversive 22-kHz ultrasonic vocalizations and freezing during auditory fear conditioning in adult male rats. *Stress*, 2012;15, 533-544.
58. Spruijt, B. M., van Hooff, J. A. R. A. M., & Gispen, W. H. The ethology and neurobiology of grooming behavior. *Physiological Reviews*, 1992; 72, 825-852
59. Klejbor I, Turlujski K. Different strategies of exploration and phenotypic variability of the locomotor behavior in new environment: Comparative study of the laboratory opossum and Wistar rats. *Acta Neurobiol Exp* 2011; 72: 452-60.
60. File, S.E. The use of social interaction as a method for detecting anxiolytic activity of chlorodiazepoxide-like drugs. *J. Neurosci. Methods* 1980; 2, 219–238.
61. Veenema, A. H. Toward understanding how early-life social experiences alter oxytocin- and vasopressin-regulated social behaviors. *Hormones and Behavior*, 2012; 61, 304– 312.
62. Hulshof HJ1, Novati A, Sgoifo A, Luiten PG, den Boer JA, Meerlo P. Maternal separation decreases adult hippocampal cell proliferation and impairs cognitive performance but has little effect on stress sensitivity and

- anxiety in adult Wistar rats. *Behav Brain Res.* 2011 Jan 20;216(2):552-60.
doi: 10.1016/j.bbr.2010.08.038. Epub 2010 Sep 8
63. Kosten, T. A., Kim, J. J., & Lee, H. J. Early life manipulations alter learning and memory in rats. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 2012; 36, 1985–2006.
64. Núñez, J. F., Ferré, P., García, E., Escorihuela, R. M., Fernández-Teruel, A., & Tobena, A. Postnatal handling reduces emotionality ratings and accelerates two-way active avoidance in female rats. *Physiology and Behavior*, 1995; 57, 831–835.
65. Madruga, C., Xavier, L. L., Achaval, M., Sanvitto, G. L., & Lucion, A. B. Early handling, but not maternal separation, decreases emotional responses in two paradigms of fear without changes in mesolimbic dopamine. *Behavioral Brain Research*, 2006; 166, 241–246.
66. Padoin, M. J., Cadore, L. P., Gomes, C. M., Barros, H. M. T., & Lucion, A. B. Long-lasting effects of neonatal handling stimulation in the behavior of rats. *Behavioral Neuroscience*, 2001; 115, 1332–1340.
67. Silveira, P. P., Portella, A. K., Clemente, Z., Gamaro, G. D., & Dalmaz, C. The effect of neonatal handling on adult feeding behavior is not an anxiety-like behavior. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 2005; 23, 93–99.
68. Stevenson, C. W., Meredith, J. P., Spicer, C. H., Mason, R., & Marsden, C. A. Early life programming of innate fear and fear learning in adult female rats. *Behavioral Brain Research*, 2009; 198, 51–57.

69. Aisa, B., Tordera, R., Lasheras, B., Del Río, J., & Ramírez, M. J. Cognitive impairment associated to HPA axis hyperactivity after maternal separation in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 2007; 32(3), 256-266.
70. Kallinichev, M., Easterling, K. W., Plotsky, P. M., & Holtzman, S. G. Long-lasting changes in stress-induced corticosterone response and anxiety-like behaviors as a consequence of neonatal maternal separation in Long Evans rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 2002; 73(1), 131-140
71. Lee, J. H., Kim, H. J., Kim, J. G., Ryu, V., Kim, B. T., Kang, D. W., & Jahng, J. W. Depressive behaviors and decreased expression of serotonin reuptake transporter in rats that experienced neonatal maternal separation. *Neuroscience Research*, 2007; 58(1), 32-39.
72. Kosten, T. A., Kim, J. J., & Lee, H. J. Neonatal handling alters learning in adult male and female rats in a task-specific manner. *Brain Research*, 2007; 1154, 144– 153.
73. F. Benetti, P.B. Mello, J.S. Bonini, S. Monteiro, M. Cammarota, I. Izquierdo Early postnatal maternal deprivation in rats induces memory deficits in adult life that can be reversed by donepezil and galantamine *International Journal of Developmental Neuroscience*, 27 (2009), pp. 59–64
74. B. Aisa, R. Tordera, B. Lasheras, J. Del Río, M.J. Ramírez Effects of maternal separation on hypothalamic–pituitary–adrenal responses,

cognition and vulnerability to stress in adult female rats *Neuroscience*
Volume 154, Issue 4, 17 July 2008, Pages 1218–1226;

75. Oomen CA, Soeters H, Audureau N, Vermunt L, van Hasselt FN, Manders EMM, et al. Early maternal deprivation affects dentate gyrus structure and emotional learning in adult female rats. *Psychopharmacology* 2011; 214: 249-60.
76. Akers, K.G., Reeba, B.C., Tang, A.C. Developmentally stable sex-dependent modulation of turning asymmetry by neonatal novelty exposure. *Behav. Brain Res.* 2004; 155, 257–263
77. Cameron, N., Del Corpo, A., Diorio, J., McAllister, K., Sharma, S., Meaney, M.J. Maternal programming of sexual behavior and hypothalamic–pituitary–gonadal function in the female rat. 2008 *PLoS ONE* 3 (5), e2210.Cushing.
78. Stamatakis, A., Pondiki, S., Kitraki, E., Diamantopoulou, A., Panagiotaropoulos, T., Raftogianni, A., Stylianopoulou, F. Effect of neonatal handling on adult ratspatial learning and memory following acute stress. *Stress* 2008; 11, 148–159
79. Biagini, G., Pich, E. M., Carani, C., Marrama, P., & Agnati, L. F. Postnatal maternal separation during the stress hyporesponsive period enhances the adrenocortical response to novelty in adult rats by affecting feedback regulation in the CA1 hippocampal field. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 1998; 16(3-4), 187-197.

80. Vazquez, V., Farley, S., Giros, B., & Daugé, V. Maternal deprivation increases behavioural reactivity to stressful situations in adulthood: suppression by the CCK2 antagonist L365, 260. *Psychopharmacology (Berl)*, 2005;181(4), 706-713.
81. Mirescu C, Peters JD, Gould E. Early life experience alters response of adult neurogenesis to stress. *Nature Neuroscience* 2004;7(8):841–6.
82. Alexandra Wigger, Inga D Neumann Periodic Maternal Deprivation Induces Gender-Dependent Alterations in Behavioral and Neuroendocrine Responses to Emotional Stress in Adult Rats *Physiology & Behavior* Volume 66, Issue 2, April 1999, Pages 293–302.
83. Burgoyne, R.D., Graham, M.E., Cambray-Deakin, M. Neurotrophic effects of NMDA receptor activation on developing cerebellar granule cells. *J. Neurocytol.* 1993; 22, 689–695.
84. Goebel, D. J., & Poosch, M. S. NMDA receptor subunit gene expression in the rat brain: a quantitative analysis of endogenous mRNA levels of NR1Com, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D and NR3A. *Brain Res Mol Brain Res* 1999; 69, 164–170.
85. Dönmez A. Erken Dönem Stresli ve Ambivalan Yaşam Olaylarının Davranışsal ve Nörogelişimsel Etkileri. *Nörobilim Doktora Tezi*. Ankara: Gazi Üniversitesi, 2013
86. Moriceau S, Roth TL, Okotoghaide T, Sullivan RM. Corticosterone controls the developmental emergence of fear and amygdala function to

- predator odors in infant rat pups. *International Journal of Developmental Neuroscience*. 2004; 22:415–422.
87. Wiedenmayer CP, Magarinos AM, McEwen BS, Barr GA. Age-specific threats induce CRF expression in the paraventricular nucleus of the hypothalamus and hippocampus of young rats. *Hormones and Behavior*. 2005; 47:139–150.
88. Carere C. Maestripieri D. Neuroendocrin and Autonomic Correlates of Animal Personalities. In: *Animal Personalities: Behavior, Physiology and Evolution* Chicago and London: The University of Chicago Press, 2013; 353-55
89. Bell A. M. Future directions in behavioural syndromes research. *Proc. R. Soc. B* 2007; 274, 755–761
90. J.M Koolhaas, S.M Korte, S.F De Boer, B.J Van Der Vegt, C.G Van Reenen, H Hopster, I.C De Jong, M.A.W Ruis, H.J Blokhuis. Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* Volume 23, Issue 7, November 1999, Pages 925–935
91. Philpot BD, Weisberg MP, Ramos MS, Sawtell NB, Tang YP, et al. Effect of transgenic overexpression of NR2B on NMDA receptor function and synaptic plasticity in visual cortex. *Neuropharmacology* 2001;41: 762–770.

92. Tang YP, Wang H, Feng R, Kyin M, Tsien JZ (2001) Differential effects of enrichment on learning and memory function in NR2B transgenic mice. *Neuropharmacology* 41: 779–790.
93. Tang YP, Wang H, Feng R, Kyin M, Tsien JZ. Differential effects of enrichment on learning and memory function in NR2B transgenic mice. *Neuropharmacology* 1999; 41: 779–790.
94. Jacobs SA1, Tsien JZ. Genetic overexpression of NR2B subunit enhances social recognition memory for different strains and species. *PLoS One*. 2012;7(4):e36387. doi: 10.1371/journal.pone.0036387. Epub 2012 Apr 27.
95. Monyer H, Burnashev N, Laurie DJ, Sakmann B, Seeburg PH. Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors. *Neuron* 1994;12: 529–540
96. Blair RJR, Morris JS, Frith CC, Perrett DI, Dolan RJ. Dissociable neural responses to facial expressions of sadness and anger. *Brain* 1999;122(5):883 – 93.
97. Morris JS, Frith CD, Perrett DI, Rowland D, Young AW, Calder AJ, Dolan R. A differential neural response in the human amygdala to fearful and happy facial expressions. *Nature* 1996; 383(31):812 – 5.
98. Lehner M1, Wislowska-Stanek A, Skorzewska A, Maciejak P, Szyndler J, Turzynska D, Sobolewska A, Krzascik P, Plaznik A. Expression of N-methyl-D-aspartate (R)(GluN2B) - subunits in the brain structures of rats selected for low and high anxiety. *J Physiol Pharmacol*. 2011 Aug;62(4):473-82.

99. H. Kawashima, T. Numakawa, E. Kumamaru, N. Adachi, H. Mizuno, M. Ninomiya, H. Kunugi, K. Hashido Glucocorticoid attenuates brain-derived neurotrophic factor-dependent upregulation of glutamate receptors via the suppression of microRNA-132 expression *Neuroscience* Volume 165, Issue 4, 17 February 2010, Pages 1301–1311

8. ÖZET

Küçükkarapınar, M., Erken Dönem Ambivalan ve Stresli Yaşam Olaylarının Davranışsal ve Nörogelişimsel Etkileri, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara, 2015

Yaşamın erken döneminde stresli yaşam olaylarına maruziyet erişkin dönemde artmış stres duyarlılığı, bilişsel ve davranışsal bozukluklarla ilişkilidir. Bu dönemde birden fazla stres etkenine maruz kalılabileceğinden erişkin dönemde ortaya çıkan bozukluğu tek bir etkene bağlamak mümkün değildir. Erken dönem stresli tek bir yaşam olayının erişkin dönemde davranışsal ve nörokimyasal etkilerinin anlaşılması hayvan deneyleri ile daha mümkündür. Bu çalışmanın amacı erken dönem stresli yaşam olaylarının erişkin dönemde sosyal etkileşim, bellek anksiyete düzeyleri ve beyin belirli bölgelerindeki nörogenez üzerine etkilerini incelemektir.

Çalışmada sıçanlar kontrol grubu (12), hafif stres grubu (12), ağır stres grubu (14) ve ambivalan anne grubu (13) olmak üzere dört grubu ayrılmıştır. Kontrol grubuna herhangi bir müdahalede bulunulmamış, hafif stres grubu erken elleme yöntemine, ağır stres grubu anneden ayırma yöntemine ve ambivalan anne grubu ambivalan anne modeline maruz bırakılmıştır.

Erişkin dönemde sıçanların davranış analizi yapılmış, sosyal etkileşim testi, yükseltilmiş artı labirent ve yeni nesne tanıma testi performansları değerlendirilmiştir. Nörogelişimlerini değerlendirmek amacıyla prefrontal korteks

ve hipokampus NMDA R2B düzeyleri ELISA yöntemi aracılığıyla bakılmıştır. Plazma kortizol düzeylerine bakılmıştır.

Davranış analizi ve davranış deneyleri sonucuna göre ambivalan anne grubu ve ağır stres grubu daha anksiyeteliydi. Ambivalan anne grubu sıçanlarının sosyal etkileşim testinde diğer gruplara kıyasla daha az sosyal davranış davranış sergiledikler, erkek sıçanlarının daha agresif olduğu, uzun süreli bellek işlevlerinin daha düşük olduğu sonucuna varılmıştır. Çoğunlukla gruplar arası farklılıklar erkek cinsiyetten kaynaklanmaktaydı. Plazma kortizol düzeyi bakımından gruplar arası bir farklılık saptanmadı. NMDAR2B düzeyi hipokampuste erken dönem stresli yaşam olaylarına maruz kalan sıçanlarda artmıştır.

Bu çalışma ambivalan anne grubunun sıçanlarının en az ağır stres grubu kadar erişkin dönemde anksiyeteye duyarlı hale geldiği hipotezini desteklemektedir.

Anahtar kelimeler: erken dönem yaşam olayları, anksiyete, sosyal etkileşim testi, yeni nesne tanıma testi, NMDA R2B, kortizol

9. SUMMARY

Küçükkarapınar, M., Behavioral and Neurodevelopmental Effects of Early Stressful and Ambivalence Life Events, Gazi University Faculty of Medicine, Department of Psychiatry, Dissertation Thesis, Ankara, 2015

Exposure to stressful life events in early life is associated with in adulthood increased stress sensitivity, cognitive and behavioral disorders. During this period multiple stressful factors may be exposed. Therefore disorders which occur in adulthood are not able to correlate to one reason. Understanding of behavioral and neurochemical effects of early stressful life events in adulthood is possible with the animal experiments. The aim of the study was to investigate whether early stressful life events might effect social interaction, memory, anxiety levels, neurogenesis in specific brain regions.

In this study rats divided into four groups: control group (n:12), mild stress group (n:12), severe stress group (n:14) and ambivalent mother(n:13). Control group was raised with standart care, mild stress group was exposed to early handling model, severe stress group was exposed to maternal separation, ambivalent mother group was exposed to fake mother during an hour.

In adulthood analysis of behavior was made and social interaction test, elevated plus maze and new object recognition test performances have been evaluated. To assess the neurodevelopment of rats NMDA R2B levels in prefrontal cortex and hippocampus were evaluated by using ELISA.

According to the results of behavior analysis and behavioral experiments, ambivalent mother group and severe stress group were anxious than other groups. The rats of the ambivalent mother group exhibited less social behavior and more aggressive behavior than the other groups in the social interaction test. Their long-term memory functions were lower than other groups. Mostly the differences between the groups were due to male gender. There were not statistically differences between the groups with regard to plasma cortisol levels. The level of NMDAR2B in the hippocampus increased in rats exposed to early stressful life events.

These results support that being raised by ambivalent mother increase anxiety level in adulthood.

Key words: Early life events, anxiety, social interaction test, new object recognition test, NMDA R2B, cortisol

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı : Melike

Soyadı : Küçükkarapınar

Doğum Yeri ve Tarihi : Ankara/ 22.07.1986

Eğitimi :

2011- 2015 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri Anabilim Dalı Arş. Gör. Dr.

2004-2010 Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

2001-2004 Eskişehir Fatih Fen Lisesi

Yabancı Dili : İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar : Türkiye Psikiyatri Derneği

Bilimsel Etkinlikleri :

Küçükkarapınar M., Kaya B. IFN kullanan bir Melanom Hastasında tedavide EKT'nin yeri. Olgu Poster, 49. Ulusal Psikiyatri Kongresi İzmir

Altınöz E., Altınöz Tosun Ş., Küçükkarapınar M., Coşar B. Paliperidone: another treatment option for delusional parasitosis. Australas Psychiatry. 2014 Dec;22(6):576-8. doi: 10.1177/1039856214546390. Epub 2014 Aug 21.

Küçükkarapınar M., Coşar B. Dhat Sendromu Depresyonun bir ifadesi mi? Olgu Poster, 2014 yılı Psikosomatik Tıp Kongresi Konya

