

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI

**RATLARDA ANNE YOKSUNLUĞU SENDROMUNA  
ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ ÇEVRENİN ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Serap ATA**

**SAMSUN-2010**



T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI

**RATLARDA ANNE YOKSUNLUĞU SENDROMUNA  
ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ ÇEVRENİN ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Serap ATA**

**TEZ DANIŞMANI**

**Yrd. Doç. Dr. Hamit ÖZYÜREK**

**SAMSUN-2010**

## **TEŞEKKÜR**

Asistanlık eğitim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım tüm değerli hocalarıma; tez çalışmam süresince, her aşamada bana yol gösteren ve destek olan değerli hocam Dr. Hamit Özyürek ' e, her türlü yardım ve desteğini gördüğüm çalışma arkadaşım Dr. Fatih Turna'ya teşekkürlerimi sunarım .

## **İÇİNDEKİLER**

TEŞEKKÜR .....	I
İÇİNDEKİLER .....	II
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	V
ŞEKİLLER.....	VI
TABLolar .....	VIII
ÖZET.....	IX
ABSTRACT .....	XI
1. GİRİŞ ve AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1 Tanım.....	2
2.2 Tarihçe .....	3
2.3 Anne –bebek ilişkisi .....	3
2.3.1 Memelerdeki beyin gelişimi .....	4
2.3.2 Erken manipulasyonların uzun dönem etkileri .....	5
2.3.3 Anne –bebek ilişkisinde kesilmeler.....	7
2.3.4 Strese nöroendokrin cevaplar.....	8
2.3.5 Nörotrofinler ve etkileri.....	9
2.3.6 Anne yoksunluğu serotonerjik sistem etkileri.....	11
2.3.7 Hipokampal plastisite ve öğrenme üzerine etkisi.....	12
2.3.8 Etkide cinsiyet farklılığı.....	12
2.4 Zenginleştirilmiş çevre koruyucu etkisi.....	14
2.4.1 Zenginleştirilmiş çevre strese karşı etkisi .....	14
2.4.2 Zenginleştirilmiş çevre depresyona karşı etkisi.....	15

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
3.1 Dene Hayvanları.....	17
3.2 Anneden ayırma yöntemi ve gruplar.....	19
3.3 Deneiler.....	21
3.3.1 Fiziksel Gelişim.....	22
3.3.2 Refleks Değerlendirmesi.....	22
3.3.2.1 Righting Refleks.....	22
3.3.2.2.Negatif Geotaksis.....	22
3.3.3 Davranış Deneileri.....	23
3.3.3.1Açık Alan Aktivitesi.....	23
3.3.3.2 Yükseltilmiş Artı Labirent.....	24
3.3.3.3 Zorlu Yüzme Testi.....	25
3.3.3.4Pasif Sakınma .....	26
3.3.3 İSTATİKSEL ANALİZ .....	25
4. BULGULAR.....	27
4.1 Somatik Gelişim.....	28
4.2.Vücut Ağırlığı.....	28
4.3.Nörolojik Refleksler.....	35
4.4.Davranış Deneileri.....	39
4.4.1. Açık Alan aktivitesi.....	39
4.4.2.Yükseltilmiş Artı Labirent.....	44
4.4.3Zorlu Yüzme Testi.....	46
4.4.5 Pasif Sakınma .....	49
5.TARTIŞMA.....	51

6. SONUÇLAR.....	58
7. KAYNAKLAR.....	60

## **SİMGELER VE KISALTMALAR**

<b>AY:</b>	Anne Yoksunluğu
<b>ZÇ :</b>	Zenginleştirilmiş Çevre
<b>CRF:</b>	Korticotropin-Releasing Factor
<b>ACTH:</b>	Adrenocorticotropine Hormone
<b>BZ:</b>	Benzodiazepin
<b>GABA:</b>	Gama amino bütirik asit
<b>HPA:</b>	Hipotalamo-Pituiter Aks
<b>CORT :</b>	Kortizol
<b>GR mRNA:</b>	Glikokortikoid Reseptör messenger RNA
<b>NGF :</b>	Sinir büyüme faktörü
<b>BDNF:</b>	Beyinden Derive edilmiş Nörotrofik Faktör
<b>5-HT:</b>	Serotonin
<b>NCAM:</b>	Neuronal Cell Adhesion Molecule

<b>ŞEKİLLER</b>	<b>Sayfa No</b>
Şekil 1: Gen çevre etkileşimi	14
Şekil 2: Standart kafes modeli	19
Şekil 3: Zengin kafes modeli	20
Şekil 4 : Açık alan testinin yapıldığı düzenek	24
Şekil 5 : Yükseltilmiş artı labirent testinde kullanılan düzenek	25
Şekil 6 : Pasif Sakınma testinin yapıldığı düzenek	26
Şekil 7 : Somatik gelişim basamakları	27
Şekil 8: Gruplar arasında ortalama vücut ağırlığı	29
Şekil 9 : Gruplar arasında erkek cinsiyet ortalama vücut ağırlığı	30
Şekil 10 : Gruplar arasında dişi cinsiyet ortalama vücut ağırlığı	30
Şekil 11: Gruplar arasında cinsiyet farkı karşılaştırması	31
Şekil 12 : Gruplar arasında 10. hafta ortalama vücut ağırlığı	34
Şekil 13 : Onuncu haftadaki ortalama vücut ağırlığı –cinsiyet karşılaştırması	34
Şekil 14 :Gruplar arası righting refleks ortalama süresi.	35
Şekil 15: Gruplar arası erkek cinsiyet righting refleks ortalama süresi.	36
Şekil 16: Gruplar arası dişi cinsiyet righting refleks ortalama süresi	36
Şekil 17: Gruplar arası negatif geotaksis refleks ortalama süresi	37
Şekil 18: Erkek cinsiyet negatif geotaksis refleks süresi	38
Şekil 19 : Dişi cinsiyet negatif geotaksis refleks süresi	39
Şekil 20: Gruplar arasında ortalama kare değişim sayısı	40
Şekil 21 : Grup cinsiyetleri arasında ortalama kare değişim sayısı	41
Şekil 22: Gruplar arası vertikal aktivite karşılaştırması	42

Şekil 23: Merkezde kalma süresi gruplar arası karşılaşma	43
Şekil 24 : Kapalı kollarda geçirilen süre	44
Şekil 25: Kapalı kollarda geçirilen süre cinsiyet farkları	46
Şekil 26: Gruplar arasında hareketsiz kalma süresi	47
Şekil 27: Zorlu yüzme testi hareketsizlik süresi cinsiyet karşılaştırması	48
Şekil 28: Pasif sakınma testi. gruplar arası karşılaştırma	50

## **TABLolar**

## **Sayfa No**

Tablo I:Nörotrofinler tarafından regüle edilen yapılar	9
Tablo II:Grupların özellikleri	18
Tablo III: Motor ve davranış testlerinin yapıldığı günler	23
Tablo IV: Somatik Gelişim Basamakları	28
Tablo V :Postnatal günlere göre vücut ağırlıkları	29
Tablo VI :Gruplara göre ortalama vücut ağırlığı	31
Tablo VII: Gruplara göre 10. Hafta ortalama vücut ağırlığı	32
Tablo VIII: Gruplara göre 10. Hafta cinsiyet ortalama vücut ağırlığı	35
Tablo IX: Gruplar arası righting refleksi	35
Tablo X: Grup cinsiyetler arası Negatif Geotaksis refleksi	37
Tablo XI: Gruplar arası kare değişim sayısı	41
Tablo XII: Grup cinsiyetler arası kare değişim sayısı	41
Tablo XIII:Merkezde Kalış Süresi	43
Tablo XIV:Yükseltilmiş Artı Labirent Testi	44
Tablo XV: Yükseltilmiş Artı Labirent Testi cinsiyetler arası karşılaştırma	45
Tablo XVI:Zorlu yüzme testi gruplar	47
Tablo XVII :Zorlu yüzme testi grup cinsiyet	48
Tablo XVIII :Pasif Sakınma Testi gruplar	49
Tablo XIX :Pasif Sakınma Testi cinsiyet	49

## **ÖZET:**

**Giriş:** Deneysel ve klinik çalışmalar, yaşamın erken döneminde karşılaşılabilecek streslerin kortikotropin salgılatıcı faktör ve diğer nörotransmitter sistemlerinde kalıcı duyarlılığa yol açtığını göstermektedir. Bu duyarlılık sonucunda, yineleyici stresler depresyon, anksiyete bozuklukları ve psikofizyolojik bozuklukların oluşumunda önemli bir rol oynayabilir. Çevresel zenginleştirmenin anksiyeteyi uyaran belirli durumlara karşı cevapları hafifleterek yararlı nörobiyolojik, fizyolojik ve davranışsal etkileri bulunmaktadır. Zenginleştirilmiş çevre psikolojik ve/veya nörojenik stresörlerce oluşturulan davranışsal anksiyete-tipi cevapları ve hipotalamik-pitiüter adrenal (HPA) aks tarafından ayarlanan endokrin cevapları azaltmaktadır. Zenginleştirilmiş çevre sadece o andaki stresöre olan aşırı anksiyete cevabını azaltmakla kalmaz aynı zamanda prenatal stres veya erken anne yoksunluğu gibi daha önce yaşanan psikojenik streslerin de doğurduğu kalıcı etkileri de hafifletir.

**Amaç:** Bu çalışmada yaşamın erken döneminde anne yoksunluğuna maruz bırakılmanın, somatik gelişim, davranış özellikleri, refleks ve motor koordinasyonlarda oluşturabileceği olumsuzluklar üzerine zenginleştirilmiş çevrenin koruyucu etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Materyal-Method:** Çalışmada kontrol, anne yoksunluğu uygulanan ve anne yoksunluğu sonrası zengin çevreye konulan grup olmak üzere 3 grubumuz vardı. Kontrol dışındaki gruplardaki yavrular 2-14. günler arasında, günde 3 saat olmak üzere anneden ayrıldı. Zengin çevre grubu 14. günden, davranış testlerine kadar olan süre zarfında zengin kafeslerde izlendi. Doğum sonrası ilk 2 hafta vücut ağırlığı, göz ve kulak açılması, tüylenme zamanı gibi somatik gelişim parametrelerine ve erken neonatal reflekslere bakıldı. Açık alan aktivitesi, yükseltilmiş artı labirent testi, zorlu yüzme testi ve pasif sakinme testleri ise 5-8. haftalarda yapıldı. Normal dağılım gösteren değişkenler ortalama  $\pm$  ort. standart sapma(S.E.M) şeklinde ifade

edildi.Çoklu karşılaştırmalar için Tukey-Kramer post hoc testi ANOVA ile birlikte kullanıldı.  $p<0.05$  değeri anlamlı kabul edildi.

**Sonuçlar:** Somatik gelişim açısından gruplar arasında fark yok iken anne yoksunluğu grubunun righting ve negatif geotaksis refleks süreleri kontrol grubuna göre uzamıştı. Anne yoksunluğu grubunda kilo alımı kontrol grubuna göre daha fazla idi. En fazla kilo alımı anne yoksunluğu sonrası zengin çevreye konulan grupda izlendi. Anne yoksunluğu grubu kontrol ve zengin çevre grubuna göre açık alan aktivitesinde daha az hareket, daha az merkezde geçirilen zaman ve yükseltilmiş artı labirent testinde daha çok kapalı kollarda zaman geçirdi. Yine anne yoksunluğu grubu zorlu yüzme testinde artmış immobilizasyon süresine sahipti ve pasif sakınma testinde de daha kısa sürede karanlık odaya geçti. Anne yoksunluğu grubunun bu artmış anksiyete ve depresif davranışlarına karşın zenginleştirilmiş çevre grubu, açık alan aktivitesinde daha fazla hareket, zorlu yüzme testinde azalmış hareketsizlik süresi ve pasif sakınma testinde kontrol grubuyla aynı performansı sergiledi.

**Tartışma:** Yaşamın erken dönemindeki anne yoksunluğu, genç yetişkinlik döneminde depresyon ve anksiyete benzeri davranışlarla sonuçlanabilmektedir. Çalışmamız anne yoksunluğunun oluşturduğu negatif etkilerin zenginleştirilmiş çevre ile kompanse edilebileceğini gösteren ilk kapsamlı çalışma özelliği taşımaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Anne yoksunluğu, stres, nöromotor gelişim, davranış, zenginleştirilmiş çevre

## **ABSTRACT:**

**Introduction:** Experimental and clinical studies have shown that early life stressors result in permanent sensitivity in corticotropin releasing factor and other neurotransmitter systems. Consequently as a result of this sensitivity, repetitive stressors may have a crucial role in the pathogenesis of depression, anxiety disorders and psychophysiological disorders. Environmental enrichment has beneficial neurobiological, physiological and behavioral effects. Environmental enrichment attenuates anxiety-type behaviours evoked by psychogenic and/or neurogenic stressors, and endocrine responses mediated via the hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) axis. Environmental enrichment is not only able to protect from excessive anxiety in response to a present stressor, but also attenuates the persistent effects engendered by past psychogenic stressors such as prenatal stress or neonatal maternal separation.

**Aim:** To investigate the protective activity of environmental enrichment for the possible detrimental effects of early life maternal deprivation on somatic development, reflex and motor coordination, and behavioral characteristics.

**Materials and Methods:** There were three groups in our study including controls, rats subjected to maternal deprivation, and rats exposed to environmental enrichment after maternal deprivation. All pups except control group were deprived from their mothers from postnatal day 2–14, for 3 h daily. Environmental enrichment group was located into enriched cages after day 14 until the behavioural tests. Somatic development (weight gain, eye opening, ear unfolding, incisor eruption, fur development) and reflex development (righting reflex, negative geotaxis reflex) was tested during the first 2 weeks. Open-field, elevated plus maze, forced swim and passive avoidance tests were performed on postnatal weeks 5–8. Data are expressed as mean±standard error of the mean (S.E.M.). Statistical analysis was performed using two-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey–Kramer post hoc analysis. Results were considered significant when  $p < 0.05$ .

**Results:** Compared to control animals, maternally deprived rats showed an increase in reversal latency in negative geotaxis and righting reflexes. Whereas, in terms of somatic

development, there was no significant difference between the two groups. Weight gain was significantly higher in maternally deprived rats when compared to control animals. However, the most weight gain was observed in the enrichment group. Maternally deprived rats spent more time in the closed arms than in the open arms of elevated plus maze. In the open field test, they showed less motor activity and spent more time in the center compared to enriched and control animals. The deprived animals showed increased immobilization period in the forced swimming test and they entered the dark room after a shorter period during passive avoidance test. Although the maternally deprived rats showed the increased depressive and anxiety behaviours, the enriched animals performed more motor activity in the open field, less immobilization period in the forced swimming test and showed the same performance with the control group in the passive avoidance test.

**Conclusion:** Maternal deprivation in early life may lead the anxiety and depressive disorders seen during early adulthood. Currently this is the first extensive study showing that the detrimental effects of early life maternal deprivation can be compensated via environmental enrichment.

**Key words:** maternal deprivation, stressor, neuromotor development, behaviour, environmental enrichment

## 1.GİRİŞ ve AMAÇ

Hayatın erken döneminde ebeveyn kaybı veya ihmali gibi streslerin, erişkin dönemde çeşitli psikiyatrik hastalıkların gelişimine yatkınlığı artırdığı bilinmektedir. Depresyon, anksiyete, şizofreni gibi psikiyatrik hastalıkların yanı sıra diyabet, kalp hastalıkları ve immün sistem bozuklukları gibi genel tıbbi durumlar için de erken dönem streslerinin önemli bir risk etmeni olduğu gösterilmiştir. Davranışsal ve zihinsel işlevlerde oluşan bu olumsuz etki, nöronal yapılardaki hasar ile açıklanmaya çalışılmaktadır (1,2,3). Deneysel çalışmalarla da bu nöronal hasarlanmanın engellenebilme yolları bulunmaya çalışılmaktadır (4).

Değişik deneysel modellerde uygulanan zenginleştirilmiş çevrenin, morfolojik, nörobiyolojik, fizyolojik ve davranışsal olumlu değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir. Zenginleştirilmiş çevre kognitif yetiler üzerine artırıcı etkide bulunurken anksiyeteyi de azaltıcı etki yapmaktadır. Ayrıca beyin hasarının iyileşmesi üzerine de hızlandırıcı bir etkide bulunmaktadır.

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları pratiğinde, özellikle süt çocukluğu döneminde hastanelerde uzun süreli yatışlara bağlı olarak bebeklerde anne yoksunluğu ortaya çıkabilmektedir. Bu tür hastalara yönelik de bir koruyucu yaklaşım uygulanmamaktadır. Bu deneysel çalışmada anne yoksunluğunun neden olabileceği motor ve davranışsal gelişim bozukluklarına zenginleştirilmiş çevrenin olumlu etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu şekilde de uygulanabilirliği kolay ve ucuz olan bir yöntem olan zenginleştirilmiş çevre (işitsel ve duysal uyarılar) ile bu tür hastalara koruyucu bir yaklaşım sağlanabilecektir.

Çalışmamız; anne yoksunluğunun erken neonatal dönemde oluşturduğu somatik gelişim ,depresyon,anksiyete ,öğrenme üzerine olumsuz etkilerinin genç erişkinlik ve yetişkinlik döneminde araştırılması ve neonatal dönemde 15 günlük kısa bir zenginleştirilmiş çevrenin bu olumsuzlukları giderme üzerine etkisini göstermeye çalışılmaktadır.Literatürde daha önce normal deneklerde akut ve kronik stres yapıcı etmenlere zenginleştirilmiş çevrenin etkisi çalışılmış olumlu sonuçlar bulunmuştur.Bizim çalışma grubumuzda olan; anne yoksunluğuna zenginleştirilmiş çevrenin erken postnatal dönemde somatik gelişim ,depresyon ,anksiyete ,öğrenme

üzerine , kısa bir maruziyetten sonra etkisi daha önce literatürde gösterilmemiştir.Bizim çalışmamız bu anlamda literatüre yol gösterici olacaktır.Bu çalışmada daha önce çalışılmamış olan anne yoksunluğunun somatik ,davranışsal ve öğrenme üzerine olumsuz etkilerine karşın erken post natal dönemde uygulanan zenginleştirilmiş çevrenin genç yetişkin ve erişkin dönemdeki etkileri çalışılacaktır.

## **2.GENEL BİLGİLER**

### **2.1.Tanım**

Yaşamın erken döneminde meydana gelen travmatik olayların sinir sisteminin gelişimi ve bu gelişimin etkileyebildiği davranış ve zihinsel işlevler üzerine olan rolü son yıllarda ilgi çeken konulardan biridir. Erişkin psikopatolojilerinin oluşumunda çevresel ve genetik faktörlerin şekillendirici olmasının yanısıra ,yaşamın erken dönemindeki sağlıklı gelişim ve çevrenin bu patolojilerin oluşumu açısından koruma sağladığını bildiren çalışmaların sayısı da giderek artmaktadır (1). Bu çevresel faktörlerden biri olan olarak anne bakımı önemli bir yere sahiptir.

Yapılan bir çok çalışmada, erken dönemde yaşam olumsuzluklarına maruz kalan çocuklarda, erişkin dönemde depresyon, anksiyete ve diğer psikiyatrik (şizofreni ,bipolar bozukluk gibi) bozuklukların görülme oranının arttığı bulunmuştur.Deneysel ve klinik çalışmalar, erken yaşam streslerinin , merkezi sinir sisteminde, kortikotropin salgılatıcı faktör ve diğer nörotransmitter sistemlerinde kalıcı duyarlılığa yol açarak, endokrin,immun, otonom ve davranışsal stres yanıtına neden olduğunu göstermiştir.Bu duyarlılık sonucunda, yineleyici stresler depresyon,anksiyete bozukluklukları ve psikofizyolojik bozuklukların oluşumunda önemli bir rol oynayabilmektedir.

Toplum tarama çalışmalarında çocuklukta istismar yaşayanlarda yaşam boyu psikopatoloji gelişme riskinin arttığı bulunmuştur (1). Erken anne-baba kaybının ya da ayrılmasının anksiyete gelişiminde genetik etmenlerden daha önemli rol oynadığı düşünülmektedir (2,3). Belirtilen yaşam streslerinin sadece psikiyatrik bozukluklar değil, diyabet, kalp hastalıkları ve immün sistem bozuklukları gibi genel tıbbi durumlar için de önemli bir risk etmeni oldukları gösterilmiştir

Gelişim sırasında meydana gelen travmatik olayların ileride ortaya çıkacak streslerin etkisine yatkınlık sağlaması ve bireysel farklılıklara göre birçok farklı fiziksel ya da ruhsal rahatsızlığın ortaya çıkması olası görülmektedir.

Genetik, yaşamın erken dönemindeki stres etmenleri ve bireysel stres yanıtı hastalık oluşumunu belirleyen etmenleri oluşturmaktadır. Erken yaşam olayları var olan genetik yatkınlığı biçimlendirmekte ve kalıcı bir fenotip oluşturmaktadır. Oluşan bu fenotipin niteliği yineleyici stresörlere maruz kalındığında ileride hastalık olup olmayacağını belirlemektedir (4). Erken yaşam olaylarının, yatkın fenotipi biçimlendirmesi, ancak bu olayların nöronal yapılarda kalıcı duyarlılığa yol açması ile açıklanabilmektedir (4,5,6).

## **2.2. Tarihçe**

Erken yaşam olaylarının etkisine ilişkin ilk çalışma 2. Dünya Savaşı sırasında Bowlby adlı araştırmacı tarafından yürütülmüştür (7). İnsanlar üzerinde yapılmış bu çalışma günümüzde kemirgenler ve primatlar üzerinde yapılan araştırmalar için esin kaynağı olmuştur.

Bowlby'nin, erkek çocukların annelerinden erken yaşta ayrılmalarının ; ergenlik ve ileri yaşlardaki suçluluk oranını artırdığını gösteren çalışmasını sunmasının ardından, ebeveyn-çocuk iletişimi önemli bir gündem oluşturdu. Sonrasında Dünya Sağlık Örgütü 'nün yaşamın ilk 3 yılında , anne yoksunluğunun çocukları artan ölçüde fiziksel ve ruhsal hastalık riski altına soktuğuna dair raporu yayınlandı. Etkili olmasına ve kabul görmesine karşın bu raporun çok önemli bir eksikliği ; erken anne yoksunluğunun niçin ve nasıl böylesine kötüleştirici etkilere yol açtığını açıklayamamasıdır. Bunun devamında da bir çok çalışmada erişkin dönemi depresyon ,bipolar bozukluk ,şizofreni gibi hastalıklarında erken aile kaybı yaşamak risk faktörü olarak bildirilmiştir (8,9,10).

## **2.3 Anne –Bebek ilişkisi**

Erken çevresel manipulasyonlar gelişmekte olan sinir sistemini etkileyebilmekte, çevresel zorluklara, fizyolojik ve davranışsal cevaplarda bireysel farklılıkların oluşmasına sebep olabilmektedir. Özellikle anne- infant ilişkisindeki kesilmeler, erişkin organizmada nöroendokrin, nörokimyasal ve davranışsal değişikliklere sebep olabilmektedir. Ancak bu değişikliklerin altında yatan temel mekanizmalar tam olarak ortaya konamamıştır.

Perinatal olayların çeşitli kısa ve uzun vadeli kognitif, emosyonel ve davranışsal sonuçlara yol açtığı bilinmektedir (11). Postnatal stres de hayatın daha sonraki dönemlerindeki anormal sensorimotor fonksiyonlarla ilişkili bulunmuştur.. Anneden

ayrılma gibi neonatal stresin hayvan modelleri ile, şizofreni, madde bağımlılığı- kötüye kullanım bozuklukları, gibi, insan psikiyatrik bozuklukları için önemli bir model olabilir (12,13,14,15,16,).

Postnatal dönemin erken evrelerinde beyin morfolojisi fonksiyonel olarak; henüz ayrılmamış, büyük ve orantısız topografik biçimlerden ibarettir. Bu ilk oluşan yapılar zaman içinde duyusal ve motor yaşantılar ile adaptif değişikliklere uğrarlar. “Deneyim-bağımlı ” (experience-dependent) ve “deneyim-beklentili olgunlaşma” (experience expectant) olarak tanımlanan iki ayrı süreçle birlikte beyin moleküler düzeydeki gelişimi gerçekleşir. Beyindeki nörotransmitter sistemlerinin başlıcaları olan asetilkolin, glutamat, GABA, serotonin, dopamin ve norepinefrin doğumla birlikte beyin topografik gelişimine paralel olarak değişim göstermekte ve bu değişim normal gelişim sürecinin bir parçasını oluşturmaktadır. Bu sistemlerde beklenenden farklı bir değişim olması çeşitli psikopatolojilerle ilişkili olmaktadır.

### **2.3.1 Anne- Bebek etkileşimi ve memelilerdeki beyin gelişimi**

Memeli infant için primer bakım veren kişi anne stimülasyonun en önemli kaynağı ve ayarlayıcısıdır (17,18,19). Anne- yavru etkileşimin oluşması için infantın maternal stimülasyonun pasif bir alıcısı olmaksızın anne –infant ikilisinin aktif bir komponenti olduğu kabul edilmelidir (20). Anne –infant arasındaki karşılıklı hareketler kısa dönemde infantın affektini regüle etmeye hizmet etmekte ve uzun dönemde yapısal değişikliklere sebep olmaktadır. Belirli kritik periyotlar boyunca annenin infantın immatur emosyonel sistemlerini , etkileyen ,düzenleyen esansiyel faktörü temsil ettiği iddia edilmektedir (21).

İnsan olmayan primat ve kemiricilerin insanlarda ki gibi bağlanmayı gösterip göstermedikleri hakkında oldukça çelişkili sonuçlar vardır. Hofer; anne ve infantı ayırarak immatur kemirgende maternal davranışların bazı spesifik ve fizyolojik sistemleri etkileyebildiğini göstermiştir (22,23). Bu çalışmalarda Hofer, anne- infant ilişkisinin sensöral ve nutrisyonel yönlerini çalışmanın ,annenin gelişen bir organizma için oynadığı rolü anlayabilmek için gerekli olduğunu vurgulamıştır. İlk defa bu çalışma annenin infant üzerinde dışardan bir düzenleyici olarak etki gösterdiğini kesin olarak göstermiştir (18).

Anne ve infant ilişkisindeki değişikliklerin beynin fonksiyonel ,yapısal ve nörokimyasal yapısını etkileyebileceğini gösteren bazı işaretler vardır(24)Örneğin hipokampal hücrelerin proliferasyonundaki artış maternal dokunma ile ilişkilendirilmiştir. Anne tarafından verilen taktıl stimulasyon; normal büyüme için gerekli olan enzimlerin bazal aktivite düzeylerini sağlamadan sorumludur(ornitin dekarboksilaz ,büyüme hormonu gibi) (25).

Anne –infant arasında ki ilişki infantın beyin organizasyonuna şekil verebileceğinden anne –infant ilişkisinin engellenmesi beyin plastisitesini engelleyebilmektedir.

Eğer doğru beyin gelişimi için belirli miktar stimulasyon gerekiyorsa ;anne infant ilişkisindeki uzamış bozukluğun psikopatolojiye artmış eğilime sebep olan negatif etkilerinin olabileceği kabul edilebilir (21).

### **2.3.2 Erken Manipulasyonların Uzun Dönem Etkileri**

İnsanlar üzerinde yapılan birçok klinik çalışmada , sendromal major depresyon ve anksiyete bozukluklarının çocuklukta kötüye kullanım öyküsü olan yetişkinlerde sık olduğu gösterilmiştir (26,27,28). Familyal ve genetik faktörlerin eşlik ettiği anksiyete bozuklukları ,unipolar ve bipolar depresyon gibi psikiatrik hastalıklarda da ; erken ebeveyn kaybının sorumlu olduğu gösterilmiştir (29,30,31).

Kemiricilerde yapılan çalışmalar göstermiştir ki anne yavru ilişkisindeki manipulasyonlar hayatın sonraki dönemlerinde nöroendokrin ve davranışsal cevaplarda uzun dönem sonuçlara neden olmaktadır.

Deneysel çalışmalardaki bulgular, erken yaşam deneyimlerinin CRF(corticotropin-releasing factor) ve diğer nöropeptit sistemlerinde kalıcı değişikliklere yol açtığını, bu yapılarda oluşan duyarlılığın depresyon ve anksiyete bozuklukları gibi hastalıkların etiolojisinde önemli olduğunu göstermiştir.

Merkezi sinir sisteminde stratejik dağılıma sahip olan CRF, 41 aminoasitten oluşan bir nöropeptittir.Davranışsal, otonom, immün ve endokrin sistemlerle ilişkili nöronlarda bulunmaktadır. CRF memelilerde öğrenme ve duygulanımla ilgili nöronal yapılarda bol miktarda bulunmakta, memelilerde stres yanıtında önemli bir rol

oyunmaktadır. CRF içeren nöronlar ve reseptörleri neokorteks, merkezi amigdala gibi bölgelerde daha fazla miktarda bulunmaktadır.

Sıçanlarda yenidoğan döneminde anneden tekrarlayan ayrılmaların sonucunda 10. ve 18. günlerinde plazma kortikosteron düzeylerinin anlamlı olarak arttığı, anneden ayrılmanın 12. gününde plazma ACTH' (adrenocorticotropine-hormone) sınıfı yüksek olduğu bulunmuştur (32). Bir başka çalışmada doğumdan sonra 2-14. günlerde 180 dk süre ile ayrılan sıçanlarda median eminens, portal kan ve BOS'da CRF artışı, hipotalamusun paraventriküler nükleusunda CRF mRNA'sında artış olduğu saptanmıştır. Anneden ayrılmanın etkileri beyin görüntüleme çalışmaları ile de incelenmiştir. 2-12 ay süreyle sosyal izolasyon uygulanan puberte öncesi primatlarda posterior korpus kallosum bölgesinin hacminde azalma olduğu saptanmıştır (36). Bu bulgular yazarlara göre erken dönemde meydana gelen yaşam olaylarının uzun dönemde beyinde nörobiyolojik ve yapısal oluşturabileceğini gösteren önemli kanıtlardır.

Bu sıçanlarda tatlı solüsyon tüketiminin azaldığı (anhedoni), yeni çevreye uyumun bozulduğu, akustik uyarana iritabilite yanıtının olduğu gözlenmiştir (33). Ayrılma sonrasında RN'daki serotonerjik nöronların tutuşma hızında azalma, 5-HT ve 5-HT1A reseptörlerinde kalıcı değişiklikler olduğu gözlenmiştir.

Görüldüğü üzere, özellikle serotonerjik sistem üzerinde yapılan çalışmalar, erken yaşam deneyimlerinin, serotonerjik işlev bozukluğuna yol açarak, daha sonra oluşacak nöroendokrin stres yanıtında artışa yol açabileceğini düşündürmektedir (34). Anneden ayrı kalan sıçanlarda merkezi BZ (benzodiazepin) ve GABA-A (gama amino bütirik asit) reseptörlerinin yoğunluğunda azalma olmaktadır. Daha çok prefrontal korteks, amigdala gibi beyin bölgelerinde bulunan bu reseptörlerin yoğunluğu normal stres cevabında artmaktadır (33). Diğer bir bulgu hipokampal glikokortikoid reseptörlerinin azaldığının gösterilmesidir (35). Bu bulgu HPA aksında negatif geri bildirim sonucu oluşan inhibisyonun bozulduğunu göstermektedir.

Erken yaşam deneyimleri yenidoğan sıçanların HPA (Hipotalamo-Pitüiter Aks) ekseninde kalıcı değişikliklere neden olmaktadır. Anne davranışının da bu ekseninde değişikliklere yol açtığı gözlenmiştir. Bu dönemdeki etkileşim, yavrunun ileride strese vereceği yanıtta önemli olacaktır. Anne davranışındaki değişiklikler, özellikle HPA ekseninin gelişimi tamamlanmadığı için strese yanıtın az olduğu dönemde daha etkili olmaktadır. Kemiricilerin gelişimindeki 4-14. günlerde strese karşı adrenal yanıt

ya çok azdır ya da hiç yoktur. Bu dönem "strese yanıtın azaldığı dönem" (stress hyporesponsive period) olarak adlandırılır (37). Annenin farklı davranışları HPA ekseninde farklı düzenlemelere yol açmaktadır.

Örneğin besleme davranışı yenidoğanda adrenal bezde "down regülasyon"a yol açarak strese karşı ACTH yanıtına duyarlılığı azaltır. Yirmi dört saat süre ile anne ile besleyici olmayan ilişki yenidoğanların HPA sisteminde down regülasyon"a neden olmuştur. Öte yandan annelerinden ayrılan sıçanlarda merkezi sinir sistemi gelişiminde önemli rolleri olan büyüme hormonu ve ornitin dekarboksilaz enziminde azalma olduğu gösterilmiştir (38). Bu azalmanın anneden kaynaklanan dokunma uyarısının eksikliğine bağlı olduğu düşünülmüştür. Anne davranışındaki değişikliklerin yavruda strese karşı yanıtı belirleyen bir fenotip oluşturduğu düşünülmektedir. Bu fenotip, strese karşı daha duyarlı ya da daha dirençli olabilmektedir.

Anne davranışındaki bazı bireysel farklılıkların gelecek kuşaklara genomik olmayan bir yolla aktarıldığı söylenebilir (39).

### **2.3.3 Anne- Bebek ilişkisinde kesilmeler: maternal davranış üzerine etkiler**

Erken manipülasyonların uzun dönem etkilerinde maternal bakımdaki farklı uygulamaların da etken olduğu iddia edilmektedir (40). Örneğin ,yuvadan bir rat yavrusunun ayrılması vücut sıcaklığında bir azalma ile sonuçlanır ve ultrasonik vokalizasyonların dağılımı ile anne stimule olur . Anne bir defada doğan yavrulara yaklaşıncı bir sokulma ve karşılıklı iletişim başlar, yavruları altına toplar ki memelerine tutunup beslenebilsinler ve bu anne yavruları yalayıp yuvadan ayrılınca biter (41). Gelişme boyunca maternal bakım da süregelen bir azalma olur. Uzun ayrılıklardan (4 saat) sonra yavrular anneye döndüğünde artmış yalama ve daha yoğun bir maternal bakım ile izlenir. Sanki normal bakımdan farklı olarak, uzun seperasyonlar maternal bakımın akut bir değişikliği ortaya çıkarmasına sebep olmaktadır.

Hennessy ve arkadaşları ilk defa annenin baskısının, yani anneye özgü davranışın adrenal glikokortikoid cevapta önemli olduğu sonucuna varmışlardır (42). Son zamanlarda yapılan çalışmalar ile maternal davranış ve çocuklarda strese reaksiyon karşısında ilgisiz /dikkatli olmayan bir ilişki gösteren ve bu maternal davranıştaki bireysel farklılıkların; bir jenerasyondan sonraki jenerasyondaki dişilere aktarıldığını doğrulanmıştır (43,44). İlk 10 günde daha çok yalama ve ve tımarlama gösteren annelerin yavruları, erişkin dönemde kısıtlayıcı strese daha az plazma ACTH

ve kortizol(CORT) cevabı ,artmış hipokampal GR mRNA (glikokortikoid reseptör mRNA) salınımı ve artmış glikokortikoid negatif feedback sensitivitesi göstermiştir (45).

Bu çalışmalardan elde edilen veriler ratlarda maternal bakımdaki değişikliklerin, HPA gelişimini ayarlayan kritik faktörlerden biri olduğunu göstermektedir.

#### **2.3.4 Strese nöroendokrin cevaplar ve maternal regülasyon**

Kemirgenlerde hayatın erken döneminde, erişkinde oldukça güçlü bir yanıt ortaya çıkaran uyarılara azalmış bir adrenokortikal cevap izlenmektedir.Bu period stres hiporesponsive (az cevaplı) period olarak adlandırılır (46,47). Her ne kadar neonatal ratlar bazı stresörlere yanıt olarak ACTH sekrete edebilirlerse de bu stimulus yaş bağımlı olduğu kadar stimulusun özelliğine de bağlıdır.Diğer taraftan adrenal bez yüksek doz ACTH ile uyarıldığında bile minimal CORT salgılanımı göstermektedir (48,49). Ratlarda stres hiporesponsif period postnatal (PND) 4. günden başlayıp, PND 14. güne kadar sürmektedir. Her ne kadar altta yatan mekanizmalar tam olarak anlaşılmamış da olsa sistemin kısmi immatüritesinin, aktif bir inhibitör uyarı ile birlikteliği (stres) CORT'un dolaşımdaki düzeylerinin rölatif olarak düşük olduğu ve yükseltilmesinin zor olduğu bir peryotla sonuçlanır (46).

Cirulli ve ark. yaptığı çalışmada, emziren bir dişi ile temasın oynadığı rolü nutrisyon ve emzirmenin yokluğunda incelemiştir. Anneyle kontakın başlı başına neonatal sıçandaki kortizol sekresyonunu rölatif olarak düşük seviyede tutmada sorumlu kritik bir değişken olabileceğini bu çalışma ile de göstermişlerdir (47).

Uzamış maternal ayrılık, stres cevap sisteminin santral komponentlerini değiştirmektedir (48,49). Yirmidört saatlik bir ayrılık sonrası hipotalamusun paraventriküler nükleusunda (PVN) c-fos mRNA indüksiyonu olmaktadır. Eş zamanlı olarak bazal GR mRNA düzeyinde CA1(ventral hipokampal alanda) bölgesinde azalma olmaktadır. C-fos ve c-jun, transkripsiyon etmeni genler ya da en erken genler (immediate early genes) olarak adlandırılırlar. Etkileri dakikalar saatler içinde ortaya çıkar. Bu transkripsiyon etmeni genlerin uyarılmasıyla kısa dönemde nörotransmitter, peptit ve reseptör düzeylerinde değişiklikler olurken, uzun dönemde yapısal değişiklikler meydana gelmektedir. C-fos ve diğer transkripsiyon faktörlerinin

uyarılması sonucu yapımları sağlanan nöropeptitler, proteinler ve reseptörler sayesinde uzun dönemli etkiler oluşturulabilmektedir, fakat bu sürecin mekanizması tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Anksiyete bozuklukları ve afektif bozuklukların nörobiyolojisinde CRF ve glukokortikoid reseptörleri önemli bir yere sahiptirler. Bu sistemdeki değişikliklerin klinik tablo değişkenlik gösterse dahi kalıcı olabileceği bildirilmektedir (50).

Sıçanlardaki yeni çalışmalar, 24 saatlik maternal seperasyonun 5HT reseptör gen ekspresyonlarında önemli değişiklikler yaptığını göstermiştir (51,52). Yani HPA regülasyonuna ek olarak annenin varlığı; aynı zamanda MSS nörokimyasal sistemlerinin fonksiyonunda önemli bir düzenleyici rol oynamaktadır. Maternal stimülasyonun kümülatif etkisi davranışsal uyarının sağlanması ve stresli stimülasyonlara daha düşük düzeyde HPA cevaplarını sağlanması şeklinde olmaktadır.

### **2.3.5. Nörotrofinlerin beyin gelişimi ve nöronal plastisite üzerine etkisi**

Sinir büyüme faktörü (NGF) gibi nörotrofinler; nöronal proliferasyonu, sağ kalımı ve hem periferal hem de merkezi sinir sistemindeki seçilmiş nöronal popülasyonların nörokimyasal diferansiyasyonlarını regüle ettiklerinden dolayı beyin gelişiminde temel bir rol oynamaktadırlar. (Tablo 1) (53). Nöronal sağ kalım ve diferasyondaki etkilerine ilave olarak nörotrofinler sinaptik ve morfolojik plastisitenin de önemli medyatörleridir (54,55) . NGF ve diğer bir fonksiyonel ilişkili nörotrofin olan beyinden derive edilmiş nörotrofik faktör (BDNF), bazal ön beyin kolinerjik nöronları için hedef alanlar olan ve hem gelişimsel ve erişkin sinaptik plastisitesi açısından iyi çalışılmış bölgeler olan hipokampus ve neokortekse lokalizedir (56,57).

Tablo I: Nörotrofinler tarafından beyinde düzenlenen yapılar

#### **Nörotrofinler tarafından regüle edilen nöronal yapılar**

---

Çoğalma ve farklılaşma prekürsörleri

Programlı hücre ölümü

Sinaptik etkinlik ve sinaptik yeniden düzenlenme

Akson büyümesi

Sinaptik yeniden düzenlenme

Dentritik dallanma

---

Nörotropinler dominant olarak nöronlarda sentezlenmekte ve nöronal depolarizyon ile salınmaktadır. Nörotropin sentezinin upregülasyonu glutamat üzerinden NMDA reseptörleri ve muskarinik reseptörler aracılığıyla da asetil kolin ile kontrol edilmektedir (58,59). Glutamat reseptör stimülasyonu NGF mRNA ekspresyonunu artırırken, GABA reseptör aktivasyonu ise azaltmaktadır. Bu sistem NGF ve BDNF'nin normal fizyolojik düzeylerini sağlamada önemlidir

Erken travmatik yaşantıların, uzun dönem adreno kortikal aktivite ve davranış üzerine olan etkileri; stres cevabına regülasyonda yer aldığı bilinen özellikle de hipokampus ve hipotalamus gibi yapılarda kalıcı değişikliklere bağlıdır. Anne-infant ilişkisindeki erken manipülasyonlardan kaynaklanan temel nörokimyasal ve nöroanatomik değişiklikleri açıklamaya yönelik sınırlı çalışma vardır. Nöronal büyüme faktörleri (NGF) oldukça spesifik olarak dentritik büyümenin kontrolünde yer aldığından beyin gelişimine olan erken manipülasyonların etkilerini yansıtan iyi bir aday olabilir. Nöronal büyüme faktörleri ile yapılan çalışmalardan birinde bir saat süreli maternal seperasyonun ardından 3 günlük ratlarda hipokampüsten NGF ekspresyonun arttığı gösterildi (60,61). Bir başka çalışmada daha uzun bir seperasyon süresi (3 saate kadar) kullanıldığında ve NGF ekspresyonundaki değişiklikler hipotalamus dahil olmak üzere 9 ve 16 günlük sıçanlarda birçok merkezi sinir sistemi bölgesinde değerlendirilmiştir (62). Bu çalışmalar gelişim sırasında NGF ekspresyonunun zaman bağımlı olarak, rat yavrularında kısa bir maternal ayrılığı takiben gibi basit bir manipülasyonla bile hipokampus, serebral korteks ve hipotalamusta arttığını göstermiştir (54,60).

### **2.3.6. Anne yoksunluğu seratonerjik sistem üzerine etkileri**

Serotonin (5-HT) iletimindeki bozukluklar, majör depresyon ve anksiyeteyi içeren psikiyatrik bozukluklar kapsamındadır. Yapılan pek çok çalışmada, anneden ayrılmış sıçanların hipokampüsündeki 5-HT içerikleri, kontrol gubu sıçanlarla karşılaştırıldığında belirgin derecede düşük bulunmuştur (63,64). İlk defa, Matthews ve ark. ratların neonatal periyodu boyunca periyodik olarak anneden ayrılmasının yetişkinlik döneminde hipokampüslerinde 5-HT içeriğini düşürdüğünü raporlamışlardır (65). Hipokampüsdeki 5-HT iletimi, HPA kontrolü altındadır. Hipokampüsteki glukokortikoidlerin negatif feedback aracılığıyla HPA eksen aktivitesini regüle ettiği

bilinir ve deneysel çalışmalarda 5-HT maruziyetinin hipokampal nöronlarda glukokortikoid reseptörünün mRNA seviyelerini belirgin olarak arttırdığı gösterilmiştir (66). Hipokampüsdeki azalmış 5HT nörotransmiyonu, neonatal anneden ayrılma modellerinde, muhtemel bir HPA eksen aktivitesindeki disfonksiyonla ilişkili olarak, davranışsal depresyon ve/veya anksiyetenin patofizyolojisinde rol alabilir.

### **2.3.7 Neonatal stres hipokampal plastisite öğrenme üzerine etkileri etkileri**

Strese maruz kalmak beyin yapı ve fonksiyonunda zararlı etkiler oluşturabilir. Bu zararlar, maruz kalmanın hemen sonrasında görülebilir veya kognitif defisitlerle ileri dönemlerde tespit edilebilir (67,68). Buna ek olarak stress deneyimlerinin psikolojik değişimler ve nöropsikiatrik bozulmalar ile yakından ilişkili olduğuna inanılır. Stres, düşünsel, duygusal durum ve hafıza arasındaki mekanizmaları anlayabilmek ilgi çekicidir. İnsanın ileriki hayatında düşünsel ve davranışsal bozukluklara yol açabilecek anne infant ilişkisi beyin gelişiminde ve hastalık duyarlılığında anahtar rol sahibi olabilir (69). Anneden ayrılma gibi gelişme süresince ki erken dönem istenmeyen durumların, ters etkilerinin nedeni olan beyin fonksiyonlarının çalışılması kullanışlı bir paradigma ortaya koyar. Nörobiyolojik çalışmalarla hipokampusun uzun dönem hafıza oluşumunda kritik bir öneme sahip olduğu gösterilmiştir. Plastisite ve hipokampal sirkülasyon (öğrenme ve hafızada bu fonksiyon gereklidir) stress dahil olmak üzere bir çok etkiden zarar görebilir (67). Sıçanlarda major olarak hipokampal nöronların gelişimi, aksonların uzanımı pyramidal hücreler arası innervasyon postnatal 1 ve 21. Günlerde olur. Nörogenesisin bu pik peryodu yoğun lifsel yapıların doğal gelişimi, stres hiporesponsive peryodla (pnd 4-14) eş zamanlıdır. Aisa ve arkadaşlarının anne yoksunluğunun hipokampal plastisite ve uzaysal öğrenme modeli için sıçanlarda yaptıkları çalışmada, hipokampüsteki sinaptik plastisite markerlarının neonatal strese bağlı olarak değişmesini ve Morris water maze test ile üç boyutlu öğrenme ile olan ilişkisi değerlendirilmiştir. Yaptıkları çalışmada Morris water maze test sonrası, nöronal plastisite markerlarından biri olan Neuronal Cell Adhesion Molecule (NCAM) miktarı hem kontrol hem de anne yoksunluğu grubunda yüksek bulunmuş; ancak anne yoksunluğu grubunda bu yükselme kontrol grubuna göre daha az miktarda olmuştur. Özellikle de anne yoksunluğu grubundaki sıçanların gyrus dentate bölgesinde hücre sayılarında belirgin azalma gözlenmiştir (70).

### **2.3.8. Anne yoksunluğu: Etkide cinsiyet farklılığı**

Maternal yoksunluğun nöronlar, glial hüreler ve endokannoboid sistemde dişilerden çok erkekleri etkilediği ve cinsiyet farkı gösterdiği ortaya konmuştur. Seksüel farklılık şizofrenin neonatal modelinde çalışılmış, yetişkin erkek sıçanlar dişilere göre sosyal davranışlarda, öğrenmede belirgin kayıplar göstermişlerdir. Serebellar disfonksiyonun şizofreni hastalarında gözlemlenen psikiyatrik, nörolojik ve kognitif semptomlardan bazıları için altta yatan sebep olabileceği bildirilmiştir. Özellikle cerebellar atrofinin erkek şizofrenik ve çocukluk başlangıçlı şizofreni ile birlikteliği saptanırken serebellumda cinsiyet spesifik bölgede şizofreni ile ilişkili genlerin farklı olduğu bildirilmiştir (71,72).

Anneden ayrılma endokrin özellikler ve HPA her iki cinsiyette de benzer etkiyi gösterir. Glikokortikoid reseptör yoğunluğunun en fazla olduğu iki bölge olan hipokampus ve serebellar korteks, cinsiyet farklılığı için en fazla araştırılan bölgeler olmuştur.

Wilber ve ark. çok kısa sürede dahi anne ayrışmasının cerebellumda cinsiyete bağlı etkisini raporlamışlardır. Anne yoksunluğunun hipokampus ve serebellar korteks de yenidoğan sıçanlarda nörodejeneratif ve astroglial değişikliklere sebep olduğu ve bu değişikliklerin dişilere oranla erkek sıçanlarda daha bariz olduğu sonucuna varmışlardır (75). Mutasyonların serebellar hücre kaybına sebep olduğu mutant hayvanlarla olan çalışmalarda; anne yoksunluğunun erkelerde daha ciddi fenotip gösterdiği bunda sebep olarak aromataz seviyesinin düşmesi gösterilmiştir (73,74).

Dişilerde anneden ayrılmanın daha az etkisinin olması, bu cinsiyette koruyucu mekanizmaların varlığını düşündürmektedir. Koruyucu mekanizmalar olarak da daha çok dişilerdeki gonadal steroidlerin varlığı düşünülmüştür(76).

### **2.4. Çevresel Zenginleştirme Teropatik ve Koruyucu Etkisi**

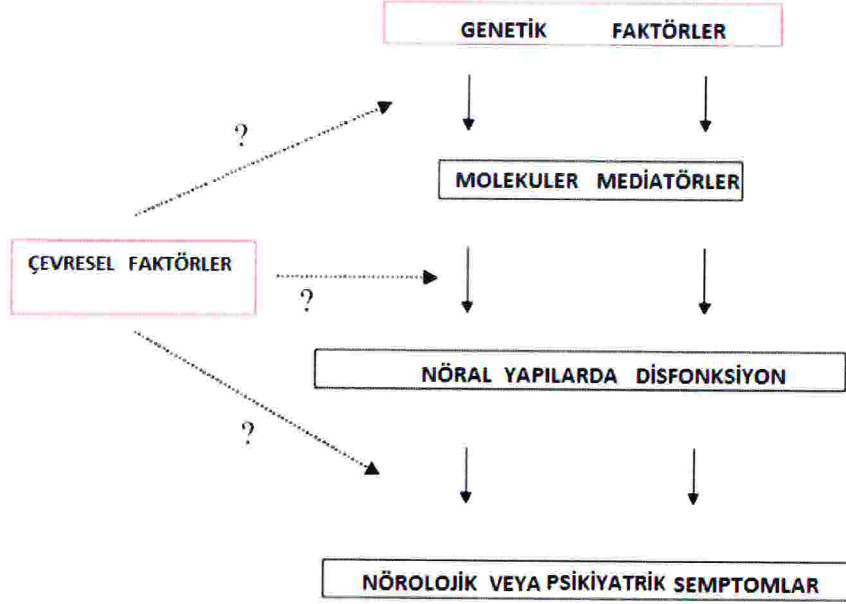
Gelişim boyunca çevresel stimülasyonlar, öğrenme bellek ve savunma yanıtlarını içeren nöro davranışsal sistemleri ayarlar. İnsanlardaki müdahale programları ailesel stres ile ilişkili entellektüel ve emosyonel gelişimdeki riski gidermeye yardımcı olabilir ve bu tarz etkiler özellikle de gelişimleri yaşamın erken dönemlerindeki sıkıntıların sonucunda zarar gören bireylerde belirgindir (77). İnsanlardaki çalışmalara bakıldığında zorlukların yarattığı sonuçlar yerleştikten sonra mı tersine dönmüş yoksa

çevresel müdahaleler zorlukların etkisini onlar henüz ciddi senaryolara sebep olmadan mı etkisiz hale getirmiş net değildir.

Hayvan çalışmaları yaşamın erken dönemindeki olayların etkilerinin belirgin olarak geriye döndürüldüğünü göstermektedir. Örneğin, iyi bir postnatal bakım prenatal stresin HPA aksındaki ve strese davranışsal reaktivitedeki etkilerini tersine döndürmektedir (78,79). Ayrıca süten kesme sonrasındaki gelişmiş ortam şartları yaşamın ilk bir haftasında maruz kalınan olumsuzlukların etkilerini tersine çevirebilmektedir(80). Bu çalışmalar fonksiyon seviyesindeki geri dönüşümü göstermekte ve bu fonksiyonel geri dönüşüm ; altta yatan nöral mekanizmaların da değişip değişmediği sorusunu ortaya atmaktadır.Francis ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada postnatal 1-14 .günlerde anneden ayrılmış sıçanlar daha sonra zenginleştirilmiş kafeslere konularak peri pubertal dönemde anne yoksunluğu grubu ve zengin çevre grubunda kortikosteron ve CRF mRNA bakmışlardır. Peripubertal period boyunca çevresel zenginleştirmenin stresin hem HPA hem de davranışsal cevaplara etkisini tamamen tersine çevirdiğini ve bunu CRF m RNA ekspresyonuna hiç bir etki göstermeden gerçekleştirdiği sonucuna varmışlardır.Çevresel zenginleştirme , maternal seperasyonun etkilerini fonksiyonel olarak geri döndürerek hayatın erken döneminde ; nöral kötü etkilere tersine döndürmeden çok kompensasyon yoluyla etki ettiği sonucuna varmışlardır. (81).

Genetik faktörler ve diğer moleküler mediatörlerin çeşitli beyin bozukluklarına nasıl katkıda bulduklarını anlamada son yıllarda birçok çalışma yapılmışsa da, çevresel faktörler ve ilişkili deneyim-bağımlı plastisite modülasyonu, patogenezi ve hastalık ilerlemesi hakkında bilinenler henüz yeterli değildir. İnsan genomunu oluşturan genlerin keşfi ile 135 (Lander et al., 2001) çevresel faktörlerin hem bireysel fenotip belirlenmesinde hem de hastalık etiolojisinde önemli rol oynayabileceği üzerine olan tartışma yenilenmiştir(82). Birçok beyin hastalığının etiolojisi genellikle multifaktöriyel olup yaşam deneyimleri ve genetik alt yapı arasındaki kompleks etkileşimlerle içiçedir. Genetik ve epigenetik faktörlerin yaşam deneyimleri ve patojenik etkileri arasındaki kompleks etkileşimler ise henüz bilinmemektedir(şekil 1)

## Nörolojik ve Psikiyatrik Hastalıklarda Gen - Çevre Etkileşimi



Şekil 1:Gen-çevre etkileşimi .Nörolojik ve psikiyatrik hastalıklar genetik bir predispozisyondan kaynaklanır ve her ikisi de prenatal postnatal ve yetişkin hayattaki çevresel değişikliklerden etkilenir.

### 2.4.1. Çevresel zenginleştirmenin strese olan etkisi

Zenginleştirilmiş çevrenin (ZÇ) stres cevaba olan etkileri tam olarak anlaşılammıştır (83,84) ; ancak, bulguların çoğunluğu ZÇ 'nin yoğun veya kontrol edilemeyen stresörlere maruziyetteki gibi negatif faktörlerin etkilerinden koruyabileceğini ve hatta bu etkileri tersine çevirebileceğini göstermektedir. Çalışmaların büyük çoğunluğu ZÇ 'nin hayvanların stresörlere karşı emosyonel reaktivitesini azalttığını ortaya çıkarmıştır (85,86).

Zenginleştirilmiş çevreler “kompleks cansız ve sosyal stimülasyonun bir kombinasyonudur” ve genellikle dönen bir tekerlek ve periyodik olarak hayvanların merak ve aramalarını değiştiren birkaç oyuncaktan oluşan daha büyük barınaklardan kurulmuştur (87). Zenginleştirilmiş çevreler beyin fonksiyonları ve yapısı üzerine güçlü etkilere sahiptir. Ancak zenginleştirilmiş çevreler kullanılan birçok çalışma, davranışsal

düzeyde öğrenme veya hafıza fonksiyonları üzerine ve moleküler düzeyde de, hafıza ve öğrenmeyi içeren hipokampus gibi beyin yapıları üzerine odaklanmıştır. Açık alan testini kullanan bir çalışma da ZÇ ' nin anksiyeteye etkisi olduğunu doğrulamıştır (88). Zenginleştirilmiş çevrenin bu anksiyolitik etkisi uzun dönemlidir ve hayvanlar sadece erişkinlikte zenginleştirilmeye maruz kalsalar da geniş kapsamlı deneysel sitümulasyona dirençlidir. Zenginleştirilmiş çevrenin etkileri zenginleştirilmenin kaldırılmasından sonra en az 3 ay devam etmekte, epigenetik olabilmekte ve sonraki kuşaklara aktarılabilir. Zenginleştirilmiş çevrenin etkileri zenginleştirilmenin kaldırılmasından sonra en az 3 ay devam etmekte, epigenetik olabilmekte ve sonraki kuşaklara aktarılabilir.

İlginç olarak ZÇ prenatal olarak stres yaşamış hayvanlarda plazma kortikosteron değerlerini azaltırken stres yaşamamış hayvanlarda azaltmamaktadır. Ancak, zenginleştirme her iki grupta da sosyal etkileşimi artırmıştır. Bu da zenginleştirilmiş çevrenin hayvandaki stresör geçmişine bağlı olarak, farklı biyokimyasal bir etkisi olduğunu göstermektedir(89) . Bu sonuçlar ZÇ 'nin sadece anksiyeteye sebep olabilecek yeterli yükseklikteki stres düzeyinde teropatik olarak anksiyolitik olduğunu düşündürmektedir. Zenginleştirilmiş çevrenin strese olan etkisi psikojenik veya nörojenik bir strese maruziyet sonrası hormonlar (örn. ACTH, kortikosteron, vs.) veya davranışsal testler (örn. Eleve plus maze, açık alan v.s.) kullanılarak ölçülebilir. Genel anlamda ZÇ bir çok stresörün zararlı etkilerine karşı direnci artırarak başa çıkmayı kuvvetlendiriyor görünmektedir (90).

#### **2.4.2.Zenginleştirilmiş çevrenin depresyon üzerine etkileri**

Zayıflatıcı bir hastalık olan depresyon patofizyolojisi, yatkın genotip ve 3 ya da daha fazla major istenmeyen yaşam olaylarının oluşumu arasındaki etkileşime bağlı olarak görülür. Olumsuz çevre gibi koşullar, depresyon başlangıcının prespitan faktörüdür. Olumlu bir yetiştirme de ruhsal bozuklukların ortaya çıkması üzerine koruyucu ve faydalı etkiler sağlayabilmektedir. Bu nedenle nörologların depresyonun biyolojik temeline yaklaşmasıyla, psikiyatristler de davranışsal/kognitif terapilerin depresyon semptomlarını hafifletmesinde etkili olduğunu düşünmeye başlamıştır (91).

Bebeklikteki streslerin yetişkinlikteki mood bozukluğu için predispozan olabileceği kavramı yeni bir fikir değildir. 1918'de Sigmund Freud yetişkinlerdeki her nevrozun çocukluk çağında meydana gelmiş olan bir nevroz üzerine inşa edildiğini öne sürmüştür (92).

Böylece maternal mahrumiyet gibi neonatal çevrenin basit bir manipülasyonunun, depresyonun patofizyolojisi içinde geçen davranışsal ve nöroendokrin sistemlerin gelişimini persistan olarak modifiye edebileceği düşünülmüştür. Bunun üzerine yüzlerce çalışma, memelilerdeki stres cevap sistemlerinin gelişimi üzerine, çeşitli uzunluklardaki neonatal anne yavru ayrılığının etkilerine incelemeye yönelik olmuştur.

#### **2.4.3 Çevresel Zenginleştirmenin Sistemik Stresörlere Etkisi**

Az sayıda çalışma sitokin (örn.interlokinler (IL)) maruziyeti gibi sistemik stresörlere, çevresel zenginleştirmenin etkisine bakmıştır. Bir çalışmada zenginleştirilmiş veya süper zenginleştirilmiş ortamı IL-2 IL-4 IL-10 değerlerini değiştirmedeği ancak başka bir çalışma IFR-gamma ,IL-10, IL-2, IL-4 oranlarını standart laboratuvar ortamında yetiştirilen farelerden süper zenginleştirilmiş ortamda yetiştirilen farelerden daha düşük olduğunu göstermiştir (93).

Zenginleştirilmiş çevrenin birçok sistemi stresöre olan etkisini açıklamak için ileri araştırmalar gerektirmektedir. Ancak, ZÇ 'nin davranışsal ve fizyolojik anksiyete birimlerini önceden tartışıldığı gibi körelttiği düşünüldüğünde ZÇ 'nin sistemik stresörlere de benzer bir etkisi olacağı beklenir.

Sonuç olarak; zenginleştirme protokollerindeki belirgin farklıklar ZÇ 'nin davranış ve fizyoloji üzerine olan etkilerindeki uyumsuzlukların bazılarında sorumlu olabilir.

Davranışsal olarak çalışmaların çoğunluğu ZÇ 'nin dinlenme veya bazal anksiyete değerlerini azalttığını göstermektedir. Benzer olarak bir stresöre cevap olarak çoğunlukla ZÇ 'ye maruz bırakılan hayvanların karşılarındaki kontrollerinden rölatif olarak daha az anksiyete gösterdikleri bildirmişlerdir. İlginç olarak aşırı zenginleştirme ilişkili stimülasyon bazı tür hayvanlar ve suşlarda stresli veya zararlı etkiler ürettiği bildirilmiştir bu da zenginleştirme etkilerinin "tersine çevrilmiş (inverted) U dozu cevap eğrisi" oluşturabildiğini düşündürmektedir (104). Türe özgü uygun 'doz' zenginleştirmenin yapılabilmesi için özel dikkat gerekmektedir (81).

Bazı uyumsuzluklara ve ileri çalışmalara gereksinime rağmen hayvan araştırmalarının çoğunluğu ZÇ 'nin psikojenik ve nörojenik stresörlere karşı önemli davranışsal ve fizyolojik anksiyolitik etkiler gösterdiğine işaret etmektedir.

Zenginleştirilmiş çevre aynı zamanda önceki stressörlerin (prenatal stresörler de dahil) zararlı etkilerini hafifletmektedir ve bireyi sonraki stresörlere karşı daha dirençli hale getirmektedir.

Çalışmamızda erken neonatal dönemde anneden ayrılma stresine maruz kalmış ve sonrasında daha çok uyarının bulunduğu zenginleştirilmiş kafeslere alınmış, her iki cinsten sıçanların genç erişkinlik ve yetişkinlik döneminde somatik gelişim, erken neonatal refleksler, anksiyete ve depresyon, hafıza açısından değerlendirilerek zenginleştirilmiş çevrenin bunlar üzerine olan etkisi incelenmek istenmiştir.

### **3.GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1 Deney Hayvanları**

Çalışmada Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu Araştırma Amacıyla Hayvan Kullanma Protokolü 2010/10 sayılı izni alınarak OMÜ Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezinden elde edilen 15 adet Sprague Dawley türü gebe sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar ortam değişikliği ve stresi yaşamamak için deney süresince OMÜ Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma merkezinde 12 saat aydınlık ve karanlık döngüsünde, da ısısı  $22\pm 1^{\circ}\text{C}$  ve nem %55-60 olacak şekilde tutulmuşlardır. Sıçanlar standart sıçan yemi ve musluk suyu ile beslenmişlerdir.

#### **3.2 Anneden ayırma yöntemi ve Gruplar**

Çalışmaya 15 adet gebe Sprague-Dawley sıçan alındı. Anneler normal doğuma bırakıldı ve doğumdan 24 saat sonra anne ve yavru sıçanlardan 3 grup oluşturuldu. Her anne ve yavruları için birer kafes kullanıldı.

Grup I: Anne ve yavrularının kafes temizliği dışında rahatsız edilmeyeceği grup (n:5)

Grup II: Anne ve yavrularının sabah 09:00-12:00 saatleri arasında 3 saat süre ayırma işleminin yapılacağı grup(n:5)

Grup III: Anne ve yavrularının sabah 09:00-12:00 saatleri arasında 3 saat süre ile aynı şekilde ayırma işleminin yapılacağı ve sonrasında zenginleştirilmiş kafeste izlenecek olan grup (n:5)

Tablo II :Grupların özellikleri

<b>Grup1 (kontrol grup)</b>	<b>1A</b> 5 dişi 4 erkek	<b>1B</b> 7 dişi 5 erkek	<b>1C</b> 7 dişi 7 erkek	<b>1D</b> 5 dişi 4 erkek	<b>1E</b> 4 dişi 5 erkek	<b>T :53</b> 28 dişi 25erkek
<b>Grup 2 (anne yoksunluk)</b>	<b>2A</b> 4 dişi 4 erkek	<b>2B</b> 7 dişi 4 erkek	<b>2C</b> 6 dişi 7 erkek	<b>2D</b> 7 dişi 3 erkek	<b>2E</b> 4 dişi 2 erkek	<b>T:48</b> 25 dişi 23erkek
<b>Grup 3 (anne yoksunluğu +zengin Ç.)</b>	<b>3A</b> 6 dişi 6 erkek	<b>3B</b> 7 dişi 7 erkek	<b>3C</b> 6 dişi 6 erkek	<b>3D</b> 4 dişi 3 erkek	<b>3E</b> 6 dişi 4 erkek	<b>T: 55</b> 29dişi 26 erkek
						<b>T: 156</b> <b>E:74 D: 82</b>

Annelerden yavruları ayırma işlemi yavrular iki günlük iken başlayıp 14. gün sonuna kadar her gün tekrarlandı. Ondördüncü günün sonunda grup III'deki anne ve yavrular davranış ve motor değerlendirmeye kadar geçen sürede daha büyük ve zenginleştirilmiş çevreye sahip olan kafeslerde izleme alındı. (şekil2,3a,3b,3c)

Doğum günü yavru sıçanlar için 1.gün olarak kabul edildi. Anneden ayırma stresi grup 2 ve 3 e (2-14. Günlerde) her gün 9:00 ve 12 :00 saatleri arasında 3 saat süre ile uygulandı.

Ayırma işlemi sırasında anneler, başka kafeslere alınarak, başka odaya taşındı. Ayırma periyodunun sonunda, anne sıçanlar yine eski kafeslerine, yavru sıçanların yanına kondu. Gruptaki tüm yavrular 30. Günde süttten kesildi ve anneler kafeslerden alındı.



Şekil 2:Standart kafes modeli 20x40x30 cm boyutlarında



Şekil 3a: Zengin Kafes Modeli. Kafes içinde hayvanların görsel ,fiziksel uyarılar alabileceği oyuncaklar(tırmanmak için merdivenler, dönen silindir biçimli tekerlek oyuncaklar,kaydraklar) bulunduğu kafes (Boyutlar 50x35x52 cm)



Şekil 3b,c :Zengin kafes modeli



### 3.3 Deneyler

Her annenin bütün yavrularında fiziksel gelişim, motor ve davranış parametreleri incelendi ve gruplar arasındaki farklar belirlendi.

**3.3.1 Fiziksel Gelişim:** Yavru sıçanların doğum sonrası 2,4,7,14,21 ve 28. günlerde kilo ölçümleri yapıldı. Ayrıca yavru sıçanlarda günlük olarak kulak kepçe serbestleşmesi, göz ve kulak açılması, tüylerinin belirginleşmesi değerlendirilerek kayıt yapıldı.

**3.3.2 Refleks Gelişimi:** Yavru sıçanlar anneden ayırma döneminde refleks gelişimi açısından değerlendirildi. Refleks değerlendirmeleri saat 14:00-15:00 saatleri arasında yapıldı.

**3.3.2.1 Righting refleksi:** Bu refleks motor fonksiyon ve koordinasyonu ölçmektedir. Doğum sonrası 2-6. günler arasında hergün yapıldı ve sırt üstü düz bir yüzeye konan yavrunun 4 ayağı üzerine dönme süresi kaydedildi.

**3.3.2.2 Negatif Geotaksis:** Vestibüler ve proprioseptif fonksiyonun değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Doğum sonrası 2,4,6 ve 8. günlerde yapıldı. 25 derece eğilimli bir yüzeye baş aşağı gelecek şekilde yerleştirilen yavru sıçanın tam 180 derece dönmesi için geçen süre kaydedildi.

**3.3.3 Motor ve Davranışsal Değerlendirme:** Motor ve davranışsal değerlendirme için her bir anneden 2 erkek ve 2 dişi yavru alındı. Bundan sonraki davranış deneyleri bu yavrular üzerinde yapıldı (tablo II).

Tablo III: Motor ve davranışsal testlerin yapıldığı günler

Test	Postnatal günler
Açık alan testi	35
Yükseltilmiş artı labirent	40
Zorlu yüzme testi	50
Pasif sakınma	
Deneme	60
Test	61

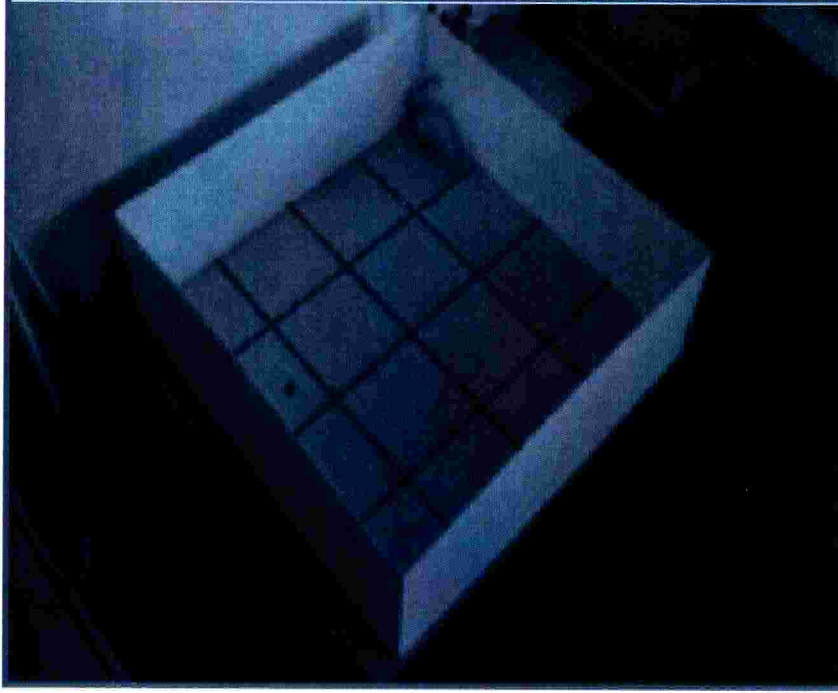
#### **3.3.4 Açık Alan Testi ( open field test ):**

Deney hayvanının herhangi bir işlem öncesi duygusal durumunu ve işlem sonrasında meydana gelebilecek değişiklikleri saptamak için en çok kullanılan testlerden biridir.

Anksiyeteye bağlı gelişen duyguların, lokomotor aktivite (kare değişim sayısı, şahlanma sayısı) ve sedasyonun tespitinde de kullanılabilen bir testtir. Açık ve geniş ortam kemirgenlerde sıkıntı yaratan bir durumdur. Deney sırasında hayvanın açık alanda bırakılma süresi 2-20 dakika arasında değişmekle birlikte genellikle 5 dakikadır. Bu süre içerisinde hayvanın horizontal düzlemdeki hareketleri (bir kareden diğerine geçiş; kare değişim sayısı), vertikal düzlemdeki hareketleri (arka ekstremiteleri üzerinde yükselme; şahlanma, araştırma davranışı) tespit edilir. Açık alan düzeneğindeki hayvanın kenarlarda mı yoksa merkezde mi daha fazla gezdiği önemlidir. Kenarlarda yer almak daha fazla anksiyete işareti iken , merkezde geçirilen süre daha çok anksiyolitik etki ile ilgilidir (128) .

Yavru sıçanlar 35 günlük iken bu test yapıldı. 100x100 ebatlarında kare zemin 16 eşit parçaya bölünerek deney düzeneği oluşturuldu. Her hayvan bireysel olarak

alanın ortasına aynı tarafa bakacak şekilde konarak 5 dakika boyunca hareketleri izlendi. Kare değişim sayısı, şahlanma hareketi, merkezde kalış süreleri kaydedildi. Her denekten sonra deney düzeneği %80 lik alkolle temiz bir bez yardımı ile temizlendi.



Şekil 4 : Açık alan testinin yapıldığı düzeneğe

### **3.3.5Yükseltilmiş artı labirent(elevated plus maze test):**

Yükseklik ve açık alanın hayvan üzerinde anksiyete yaratması prensibine dayanan bir testtir. Açık alandan kaçma ve daha çok kapalı kollarda geçirilen süre anksiyete göstergesidir (129).

Düzenek: Test düzeneği iki açık kol (50x10 cm) ve 40 cm yüksekliğinde duvarları olan iki kapalı kollardan(50x10) oluşur. Açık kollarda kenarları sıçanın düşmesini engellemek amacıyla yükseltilmiştir. Düzenek yerden 50 cm yükseltilmiştir.(şekil 5)

Yavru sıçanlar 40 günlük iken bu test yapıldı. Her yavru sıçan labirentin merkezine aynı açık kola bakacak şekilde yerleştirilerek 5 dk süre ile davranışları kaydedildi. Açık ve kapalı kollarda geçirilen süreler kaydedildi. Her denekten sonra deney düzeneği %80 lik alkolle temizlendi.



Şekil 5: Yükseltilmiş artı labirent testinde kullanılan düzenek

### **3.3.6 Zorlu yüzme testi:**

Deney hayvanlarında öğrenilmiş çaresizlik temeline dayanan ve kaçınılmaz stres oluşturarak deney hayvanını hareketsizliğe teşvik eden bir testtir. Deneysel olarak depresif ruh hali hareketsizliğe başlama süresini kısaltıp, hareketsizlik toplam süresini artırırken; antidepresan ilaçların bu süreyi tersine çevirdiği gösterilmiştir (130).

Düzenek: Deneysel oda ışığında 45 cm yüksekliğinde 25 °C sıcaklığında su ile dolu 28 cm çaplı plastik silindirlere gerçekleştirildi. Su derinliği sıçan boyuna göre ayarlanmıştır.

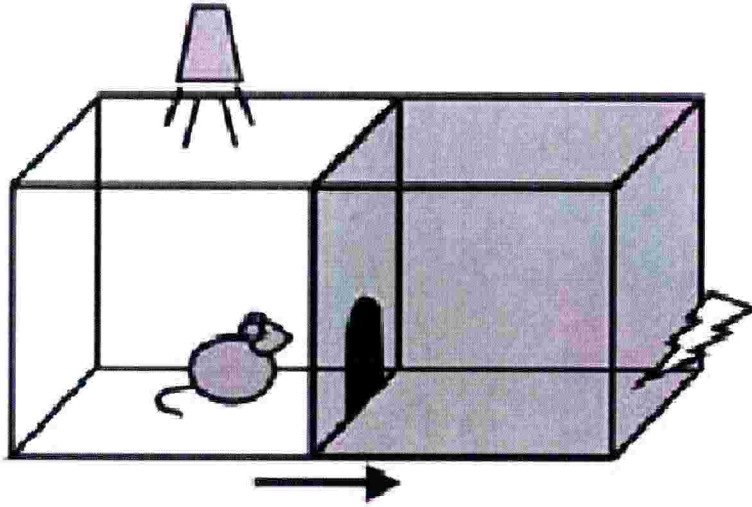
Test yavru sıçanlar 50 günlük iken yapıldı. Deneyin gerçekleştirilmesinden 24 saat önce yavru sıçanlar tek tek 15 dak boyunca alışmaları amacıyla yüzdürüldü. 24 saat sonra hayvanlar tekrar suya konarak 5 dak boyunca suyun içerisindeki davranışları gözlemlendi. Her denekten sonra deney düzeneğindeki su değiştirildi. Hareketsiz kalma süresi kullanılacak parametredir.

### **3.3.7 Pasif Sakınma testi:**

Öğrenme ve hafızayı değerlendirmek için kullanılan bir testtir.

Bu testte kullanılan düzenek iki bölmedir. Bölmelerden biri büyük, karanlık ve hayvana elektrik şoku uygulanmasına uygun şekilde tasarlanmış, diğeri küçük, aydınlık ve hayvanın elektrik şoku almadığı bölmedir. Küçük ve aydınlık bölmeye konulan hayvanın karanlık bölmeye geçmesi için geçen süre kaydedilir. 24 sonra işlem tekrarlanır. Eğer 2. kez aydınlık bölmeye konulan hayvan elektrik şoku alacağını anlayarak karanlık bölmeye geçmez ise olayı öğrenmiş kabul edilir.

Birinci günde (deneme) hayvanın karanlık odaya geçiş süresi kaydedilir. Yirmidört saat sonra aynı işlem tekrarlanır (test). Sürenin uzaması hayvanın olayı öğrendiğini gösterir. Her iki deney için de süreler kaydedilir.



Şekil 6 : Pasif Sakınma testinin yapıldığı düzenek

### 3.4 İstatiksel Analiz

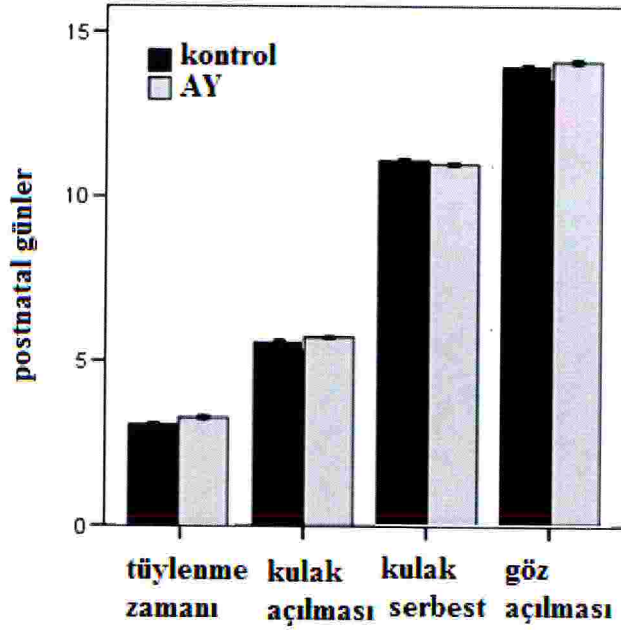
Araştırmadan elde edilen veriler SPSS 15.0 paket programı kullanılarak analiz edildi. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediğine Shapiro-Wilk Normallik Testi ile bakıldı. Normal dağılım gösteren değişkenler ortalama  $\pm$  ort.standart sapma(S.E.M) şeklinde ifade edildi.Çoklu karşılaştırmalar için Tukey-Kramer post hoc testi ANOVA ile birlikte kullanıldı.  $p < 0.05$  değeri anlamlı kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Deneyleerde olgunlaşmış 12 -14 haftalık dişi Spraque- Dawley cinsi sıçanlar kullanıldı. Gebe sıçanların kilo ve yavru sayıları arasında anlamlı fark yoktu. Doğum günleri postnatal 1.gün kabul edilerek, 2. günden itibaren somatik gelişim ve davranışsal testler yapıldı.

##### 4.1 Somatik gelişim

Toplam 3 grupta 155 yavru sıçan ile somatik gelişim ve erken nörodavranışsal deneyler yapıldı. Tüylene, kulak açılma, kulak kepçe serbestleşme ve göz açılma zamanları gruplar arasında karşılaştırıldı ve anlamlı fark bulunmadı.(şekil7)



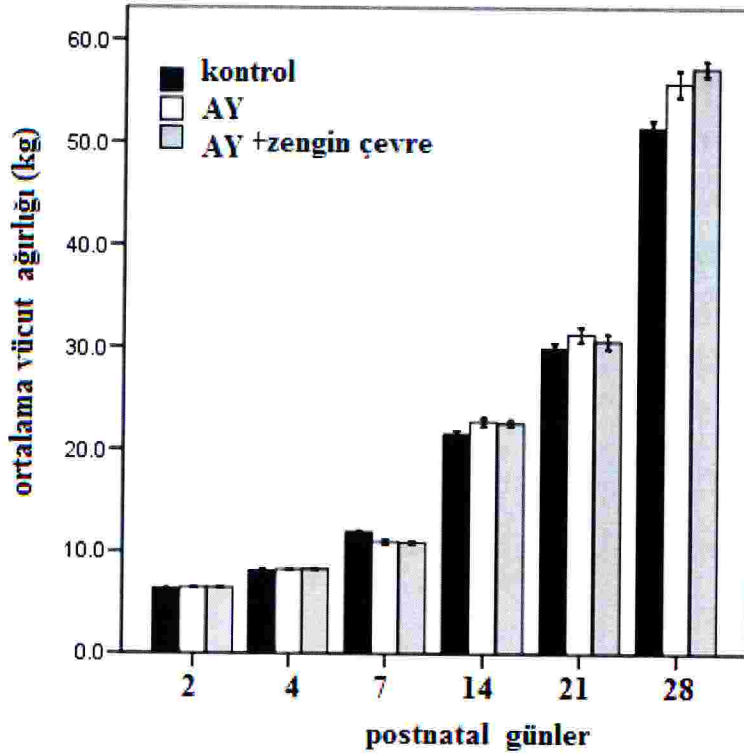
Şekil 7 : Somatik gelişim basamakları

**Tablo IV:Somatik gelişim basamakları**

	<b>Günler ± S.E.M</b>	
	<b>kontrol</b>	<b>MS</b>
Kulak serbestleşmesi(günler)	3.1 ± 0.3	3.6 ± 0.6
Kulak açılması (günler)	11.9 ± 0.1	11.3 ± 0.06
Göz açılması (günler)	14.2 ± 0.1	14.5 ± 0.09
Tüylenme zamanı (günler)	5.2 ± 0.4	6.5 ± 0.5

#### **4.2 Vücut Ağırlığı**

Grupların 2. gün ağırlıkları arasında anlamlı fark yoktu. Anneden ayırma işleminin 7. gününde; anneden ayrılmış gruplar arasında fark yok iken, her iki grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha az kilo alımı vardı. ( $p<0.0001$ ). İki ve 3. haftalarda kilo alımında gruplar arasında anlamlı fark yok iken; postnatal 28. Günde gruplar arasında ciddi anlamlı farklar görüldü. Bütün gruplar kilo alırken; en fazla kilo alım anneden ayrıldıktan sonra zengin kafeslere yerleştirilen grupta oldu. Zengin kafeslerdeki grup kontrol grubuna göre anlamlı derecede fazla kilo alırken ( $p<0.0001$ ); anne yoksunluğu grubuyla aralarında fark yoktu. Anne yoksunluğu grubu da kontrol grubuna göre anlamlı kilo aldı ( $p<0.05$ )(şekil 6 ,tablo 4)



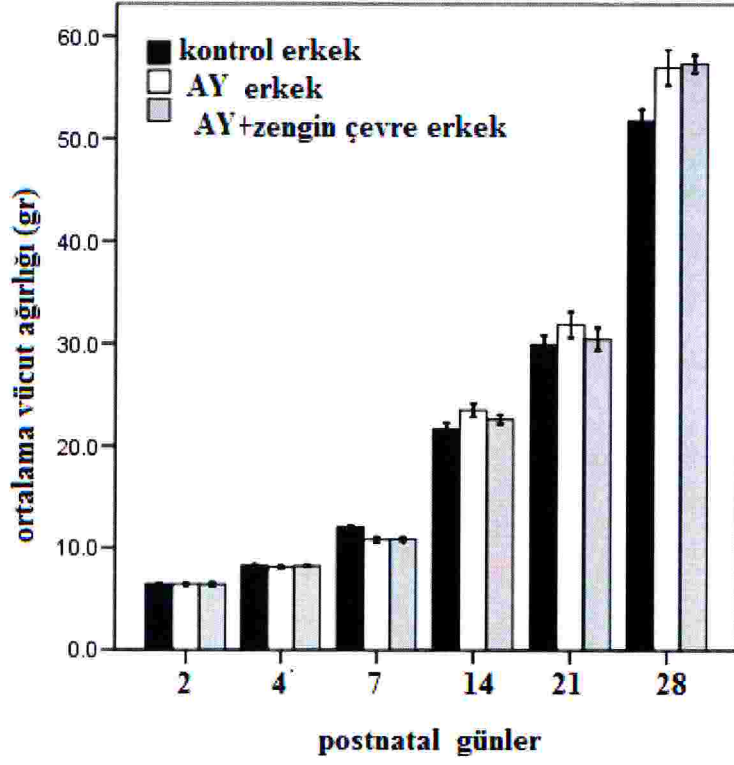
**Şekil 8:** Gruplar arasında ortalama vücut ağırlığı  $\pm$ S.E.M.

Hem kontrol grubu hem de anneden ayrılmış erkek ve dişi ratların 2. gün vücut ağırlıkları arasında fark yoktu. Kontrol grubu erkek ve dişi cinsiyette 7. günde diğer gruplara oranla anlamlı kilo alımı mevcuttu ( $p<0.001$ ). 14-21. günlerde gruplar arasında fark yokken, 28. günde de zengin çevredeki dişi yavrular kontrol ve AY gruba göre anlamlı derecede fazla kilo almışlardı.

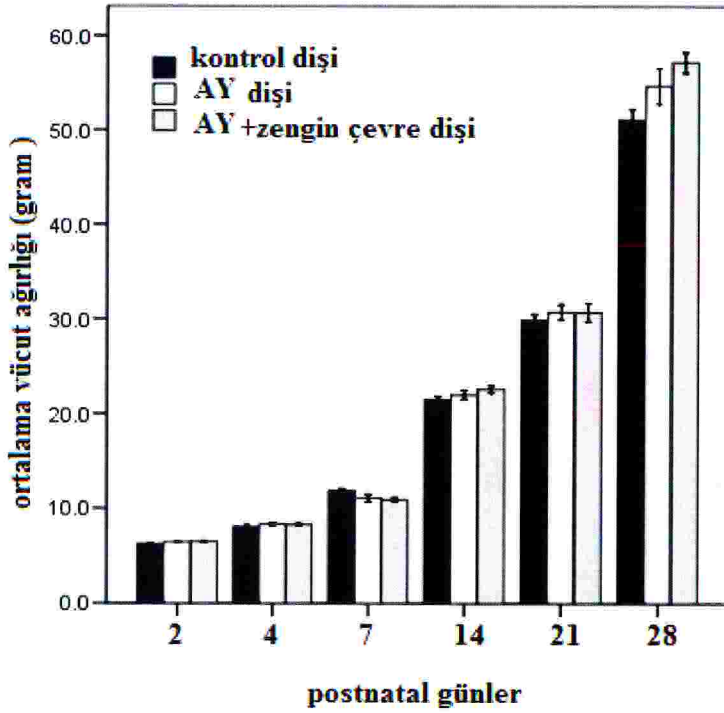
Gruplar kendi içlerinde erkek ve dişi cinsiyet olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark görülmedi.(tablo V)

**Tablo V:** Postnatal günlere göre vücut ağırlıkları (\* $p<0.001$ , \*\* $p<0.005$ , \*\*\* $p<0.0001$ )

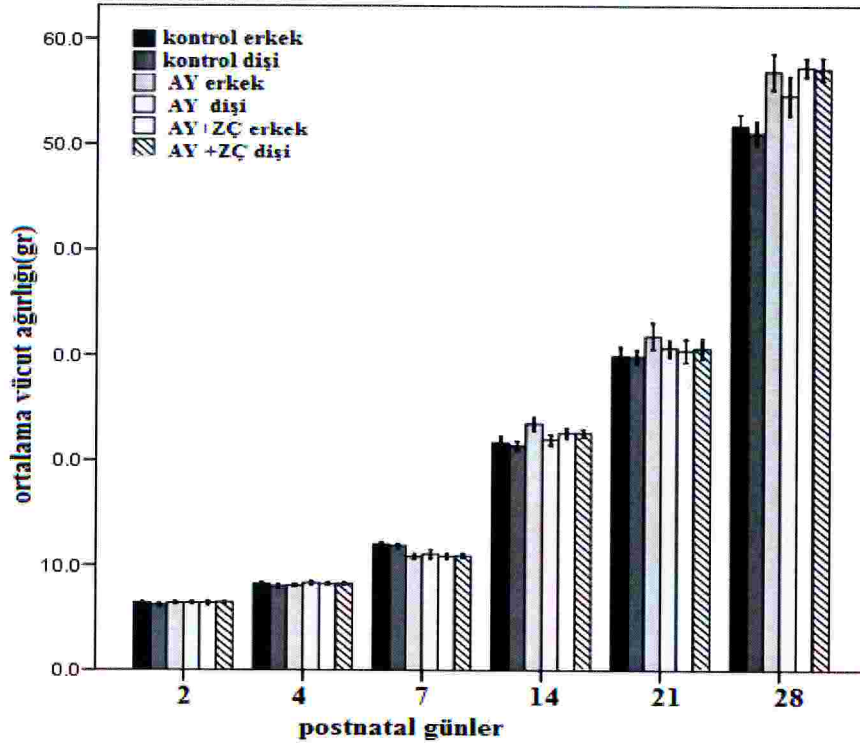
Grup	postnatal günler vücut ağırlığı (gr) $\pm$ S.E.M					
	2	4	7	14	21	28
Kontrol	6.3±0.8	8.1±0.7	11 ± 0.13	21 ± 0.33	30±0.49	51±0.78
AY	6.4±0.8	8.1±0.1	10 ± 0.42	22± 0.4	29±0.4	55±1.2**
AY+ZÇ	6.4± 0.5	8.2±0.7	10±0.11	22 ± 0.2	30±0.3	57±0.72***



Şekil 9: Gruplar arasında erkek cinsiyet ortalama vücut ağırlığı  $\pm$ S.E.M



Şekil 10 : Gruplar arasında dişi cinsiyet ortalama vücut ağırlığı  $\pm$  SE



Şekil 11 : Gruplar arasında cinsiyet farkı karşılaştırması . Gruplar kendi içlerinde erkek ve dişi cinsiyet açısından karşılaştırıldığında fark görülmedi.

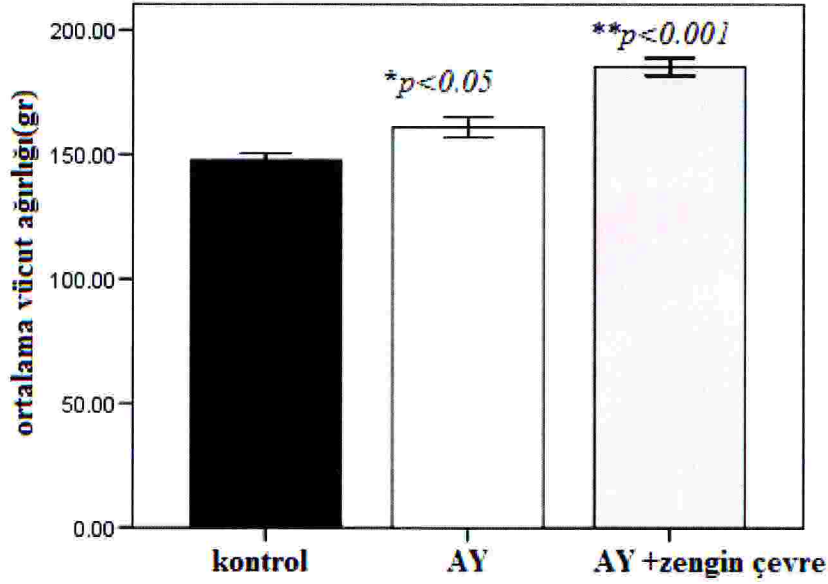
**TabloVI:**Gruplara göre ortalama vücut ağırlığı.Yedinci günde kontrol grubu ile karşılaştırılınca anneden yoksun grup erkekleri ve zengin çevre erkek-dişilerinde kontrol grubuna göre anlamlı kilo azalması( $p<0.001$ ); zengin çevre grubunda dişilerde kontrol grubu dişilere göre anlamlı kilo alımı görüldü (\*\* $p<0.005$ )

GRUPLAR	2. gün	4.gün	7.gün	14.gün	21.gün	28.gün
<b>Kontrolerkek(n:25)</b>	6.4± 0.12	8.2±0.12	12.±0.19	21.6±0.6	29.3±0.86	52±1.3
<b>Kontrol dişi(n:28)</b>	6.2 ± 0.12	8.07±0.13	11.±0.18	21.4±0.38	29.3±0.60	51.1±1.1
<b>AY erkek(n:23)</b>	6.4± 0.14	8.11±0.11	10.±0.26*	23.5±0.48	31.2±1.24	56.9±1.7
<b>AY dişi(n:25)</b>	6.4 ± 0.18	8.35±0.14	11±0.40	21.9±0.45	30.6±0.78	54.7±1.8
<b>Z.Ç erkek(n:26)</b>	6.3± 0.15	8.24±0.12	10.±0.21*	22.6±0.68	30.7±1.09	57.3±1
<b>Z.Ç. dişi(n:29)</b>	6.5± 0.07	8.39±0.16	10±0.18*	22.6±0.13	30.8±0.97	**57.2±1

Grupların postnatal 10. hafta vücut ağırlıklarını anne yoksunluğunun geç dönem etkilerini tartışmak açısından ayrıca değerlendirmek istedik. Anne yoksunluğu grubu ve zengin çevreye konulan grupta kontrol grubuna göre daha fazla kilo artışı oldu. Grupların ortalama vücut ağırlığı  $\pm$ (S.E.M) değerleri; kontrol grubunda  $147 \pm 2.6$  gr, anneden yoksun grupta  $161 \pm 4$ gr, AY +zengin çevre grubunda  $185 \pm 3.5$  gr idi (şekil 9). Gruplar birbirleri ile karşılaştırılınca zengin çevre grubu diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı şekilde fazla kilo almıştı.( $p<0.0001$ ). Anne yoksunluğu grubu da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı kilo almıştı ( $p<0.05$ ) . (şekil10,tablo VI)

**Tablo VII:**Anne yoksunluğu grubu( $p<0.05$ ) ve zengin çevre grubunda( $**p<0.0001$ ) kontrol grubuna göre anlamlı kilo alımı görüldü.

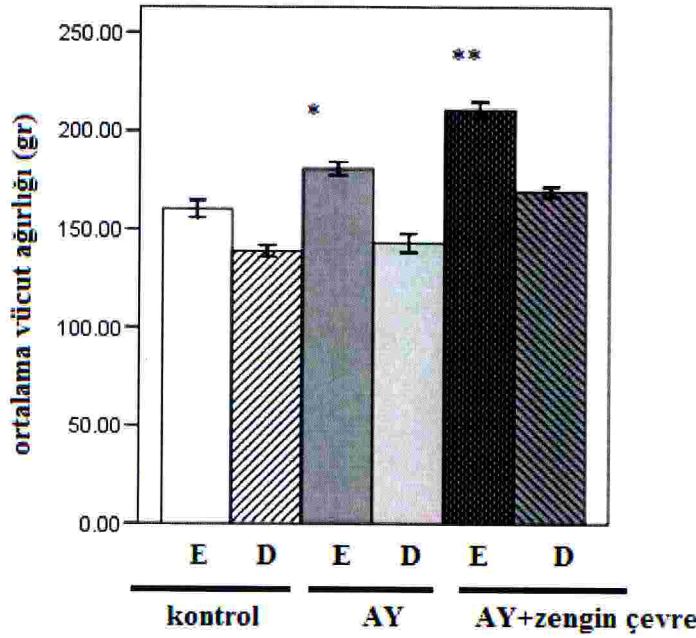
Gruplar	Denek sayısı(n)	Ortalama vücut ağırlığı $\pm$ S.E.M
<b>Kontrol</b>	53	$147 \pm 2.8$ gr
<b>Anne Yoksunluğu</b>	48	$161 \pm 4.2$ gr*
<b>Zenginleştirilmiş Çevre</b>	55	$185 \pm 3.5$ gr**



Şekil 12 : Gruplar arasında 10. hafta ortalama vücut ağırlığı  $\pm$  S.E.M değerleri

**Tablo VIII:**Grup cinsiyetler arasında 10. Hafta kilo farkları anneden yoksun erkek(\* $p<0.005$ ),zengin çevre erkek (\*\* $p<0.0001$ )ve dişilerde (\*\* $p<0.0001$ )kontrol grubuna göre anlamlı kilo artışı görüldü

Gruplar	Denek Sayısı(n)	OrtalamaVücut ağırlığı $\pm$ SEM
Kontrol erkek	25	160 $\pm$ 4.4
Kontrol dişi	28	138 $\pm$ 2.9
Anneden Yoksun Erkek	23	180 $\pm$ 3.4*
Anneden Yoksun Dişi	25	143 $\pm$ 4.8
Zengin Çevre Erkek	26	210 $\pm$ 4.2**
Zengin Çevre Dişi	29	169 $\pm$ 2.5***



Şekil 13 : Onuncu haftadaki ortalama vücut ağırlığı –cinsiyet karşılaştırması

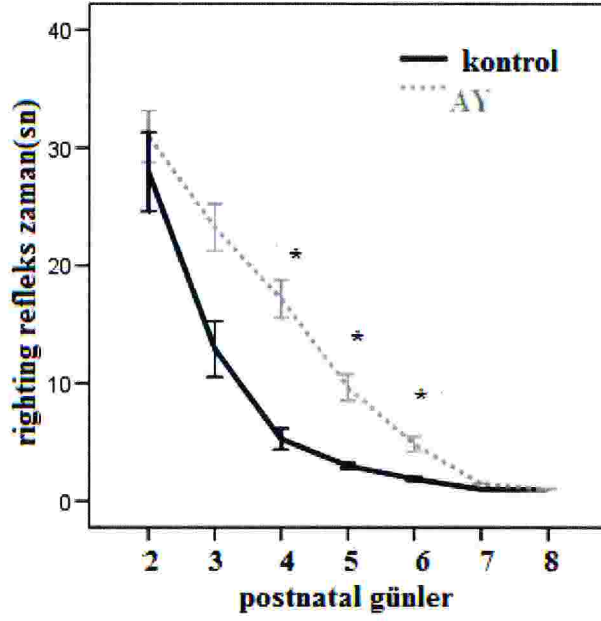
\* anne yoksun erkek grup kontrol grubuna anlamlı kilo almış

\*\*zengin çevre grubu erkekleri diğer gruplara göre anlamlı derecede fazla kilo almış.

Cinsiyet faktörüne bakılınca; gruplar arasında kilo alımında en fazla artış zengin çevreye konulan erkek ratlarda oldu. Vücut ağırlıkları hem zengin çevre dişilere ,hem de diğer grulardaki erkek ve dişilere göre anlamlı derecede yüksekti.( $p < 0.0001$ ) Anne yoksunluğu grubunda erkekler; dişilere göre ve kontrol grubuna göre daha fazla kilo almışlardı. Dişilerde kontrol dişilere göre daha fazla kilo almalarına rağmen istatistiksel olarak aralarında anlamlı fark yoktu.(tablo VII,şekil 13)

#### 4.3 Nörolojik refleksler

Anneden ayrılmış yavru sıçanların yenidoğan refleks sürelerinde kontrol grubuna göre anlamlı derecede gecikme tespit edildi. Righting refleksde anneden ayrılmış grupta kontrole göre anlamlı gecikme vardı.

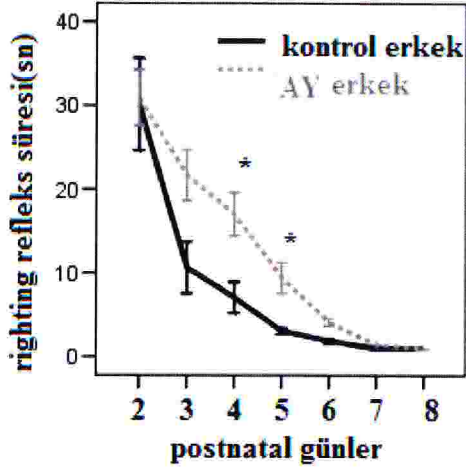


Şekil 14: Righting refleksi ortalama süresi (sn) ± (S.E.M) (\* p<0.001)

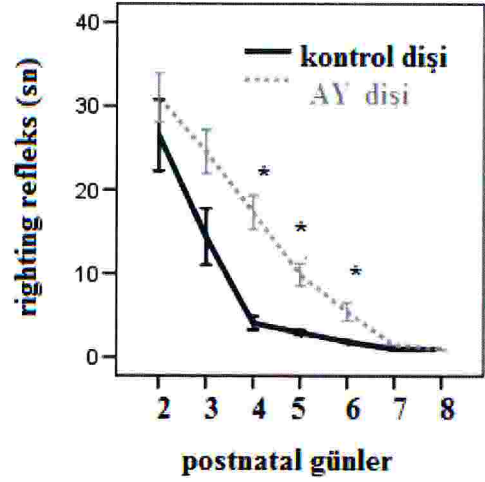
Righting refleksi hem dişi hem de erkek yavruların değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark tespit edildi. Anneden ayrılmış erkekler dişilere oranla daha az etkilenirken (şekil 12,13), kontrol grubunda dişilerin refleksi süreleri daha kısa olmakla birlikte cinsiyetler arasında anlamlı fark yoktu. (tablo 9)

Tablo IX: Grup cinsiyetler arası righting refleksi süresi

Gruplar righting refleksi süresi (sn) ± S.E.M				
günler	kontrol erkek	kontrol dişi	AY erkek	AY dişi
2	30 ± 5.4	26 ± 4.2	30 ± 3.3	30 ± 2.9
3	15 ± 3	14 ± 3.3	21 ± 3.03	24 ± 2.6
4	7 ± 1.8	4 ± 0.8	14 ± 2.5	17 ± 1.2
5	3 ± 0.36	2.9 ± 0.29	9 ± 1.8	10 ± 1.3
6	1.9 ± 0.2	1.8 ± 0.9	4 ± 0.45	6 ± 1

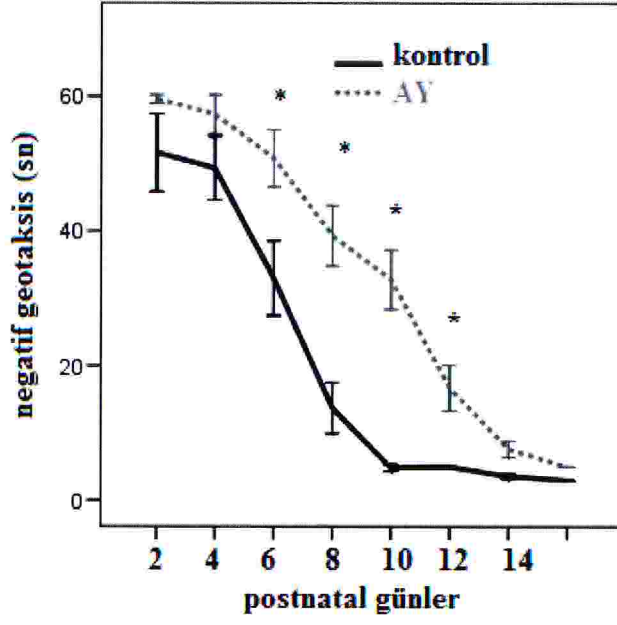


Şekil 15: Gruplar arasında erkek cinsiyet karşılaştırması (\*p<0.001)



Şekil 16: Gruplar arasında dişi cinsiyet karşılaştırması (\*p<0.001)

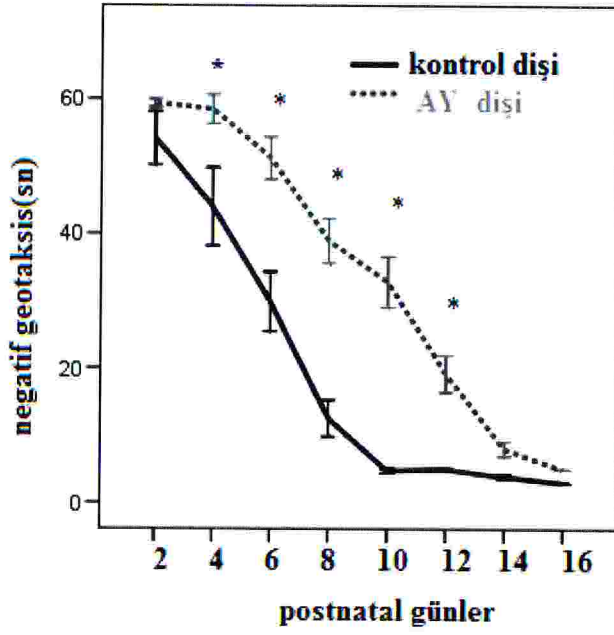
Negatif geotaksis refleks süresinde anneden ayrılmış grupta kontrol grubuna göre anlamlı gecikme vardı. Erkek AY grubun süresi dişi anne yoksun grubuna göre daha az etkilenmişti. 6 ve 12. Günler arasında istatistiksel olarak hem gruplarda hem de grup cinsiyetlerde farklılık vardı.(şekil 14,15,16) Kontrol grubunda ise dişilerin süreleri erkeklere oranla daha kısa olup aralarında anlamlı fark yoktu.



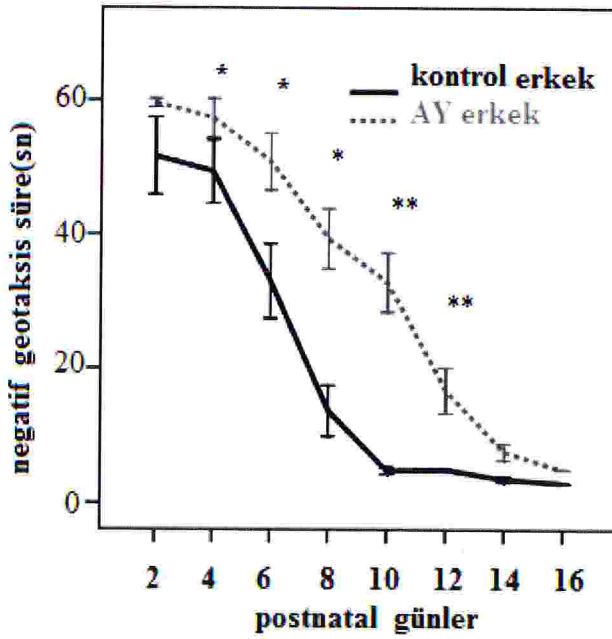
Şekil 17: Negatif geotaksis refleksi ortalama süresi(sn) ± (S.E.M) (\* p<0.001).

**TabloX:** Grup cinsiyetler arası negatif geotaksis süre karşılaştırması(\*p<0.005,\*\*p<0.0001)

Günler	Kontrol erkek	Kontrol dişi	AY erkek	AY dişi
2	51±2.8	54.1 ±1.9	59 ±0.3	59 ± 0.2
4	49.3 ±2.3	43 ±2.9	57 ±1.4*	58 ±1.09**
6	33 ±2.7	29 ±2.2	50 ±2.8*	51 ±1.5 **
8	13 ±1.8	12 ±1.3	42 ±2.5*	44±2.1**
10	8.2 ±0.3	7.5 ±0.4	40 ±2.6**	40 ±2.5**
12	5 ±0.3	4 ±0.3	18 ±2.9**	20±2.38**
14	4.8 ±0.4	4 ±0.2	8.4 ±0.2	7.6 ±0.3



Şekil 18: Negatif geotaksis dişi ortalama süresi(sn)  $\pm$  (S.E.M) (\* p<0.001)

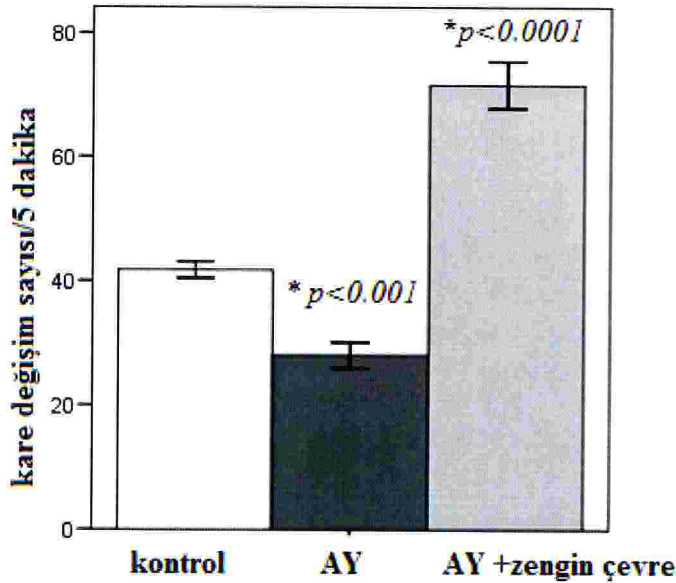


Şekil 19: Negatif geotaksis erkek gruplarda refleks ortalama süresi(sn)  $\pm$  S.E.M (\*\* p<0.001 \* p<0.05)

#### 4.4 Davranış Deneyleri

##### 4.4.1 Açık alan aktivitesi

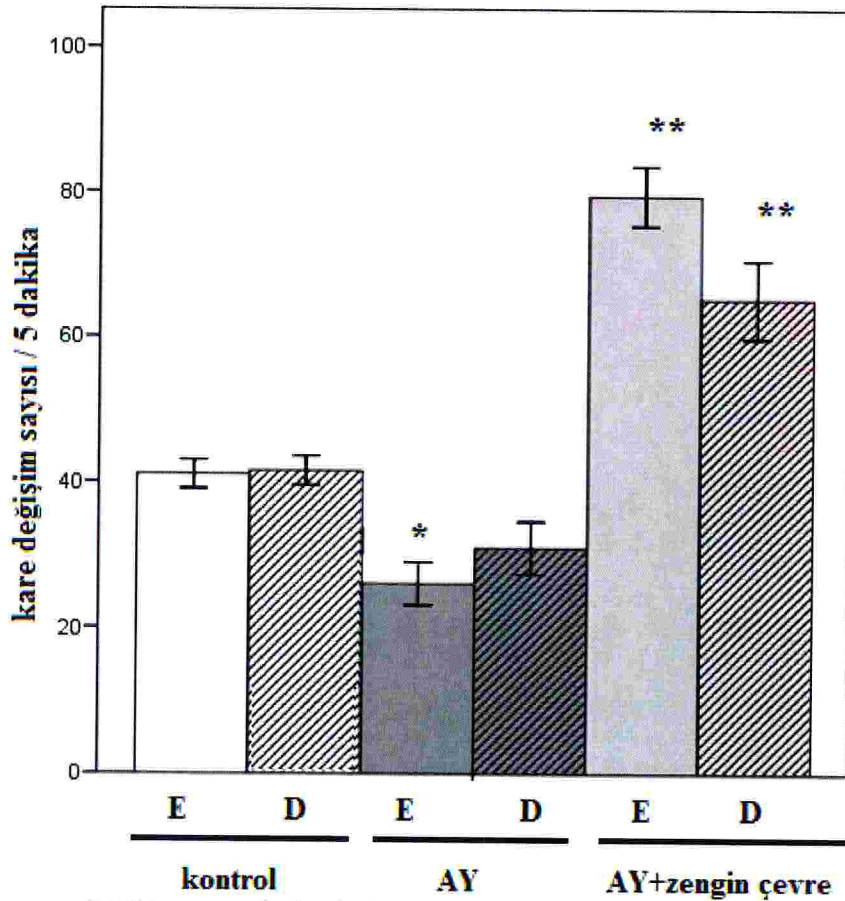
Açık alan aktivitesinde, kare değişim, vertikal aktivite(şahlanma) sayısı ve merkezde geçirilen süre bakıldı. Kare değişim sayısı parametresi gruplar arasında anlamlı olarak farklı idi. (şekil 18) Grupların ortalama kare değişim sayısı  $\pm$ S.E.M/5 dakika değerleri sırasıyla kontrol grubunda  $41 \pm 1.3$ , AY grubunda  $28 \pm 2.0$ , AY+zengin çevre grubunda  $71 \pm 3.7$  olarak bulundu. AY grubunda kontrol grubuna göre kare değişim sayısı anlamlı olarak azalmış iken ( $p < 0.001$ ), Zengin çevre grubunda her iki gruba oranla anlamlı olarak artmıştı. (\*\* $p < 0.0001$ )(şekil 18) Kare değişim sayısı en fazla AY erkeklerde azalmış iken ( $27 \pm 2.5$ ), kontrol grubuna göre en çok artış AY+zengin çevre erkeklerde oldu( $77 \pm 4.3$ ). AY erkeklerin kontrol grubu erkeklerine göre kare değişim sayısı anlamlı derecede azalmıştı. (\* $p < 0.05$ ) AY dişilerde ise kontrol grubuna göre kare değişim sayısında anlamlı fark yoktu. AY+zengin çevre dişiler her iki grup dişilere göre anlamlı derecede aktiftiler (\*\* $p < 0.0001$ ) (şekil 18,tabloIX,X). Her 3 grubunda kendi içinde erkek ve dişi cinsiyet karşılaştırması açısından anlamlı fark yoktu.



Şekil 20: Gruplar arasında ortalama kare değişim sayısı  $\pm$ S.E.M(\* $p < 0.0001$ )

**Tablo XI:**Gruplar arası kare değişim sayısı .Anne yoksunluğu grubu kontrol grubuna göre azalmış kare değişim sayısı izlenmekte (\*p<0.001),zengin çevre grubunda kontrol grubuna göre artmış kare değişim sayısı izlenmekte(\*\*p<0.0001)

Gruplar	Denek sayısı(n)	Ortalama kare değişim±S.E.M
Kontrol	53	41 ±1.3 .
Anne Yoksunluğu	48	28 ±2.8 *
Zenginleştirilmiş Çevre	55	71 ±3.7 **



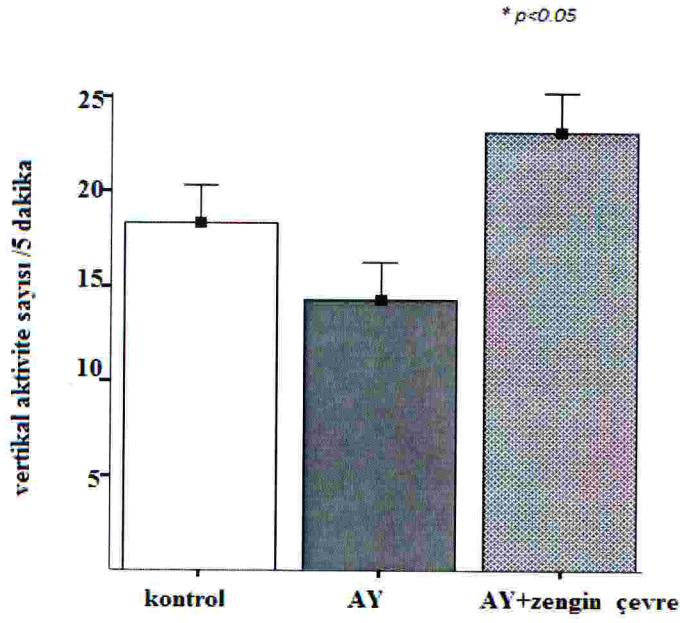
Şekil 21.Grup cinsiyetleri arasında ortalama kare değişim sayısı

**Tablo XII:**Grup cinsiyetler arası kare değişim sayısı

<b>Gruplar</b>	<b>Denek Sayısı(n)</b>	<b>OrtalamaKareDeęişimS±SEM</b>
<b>Kontrol erkek</b>	25	43±1.4
<b>Kontrol dişi</b>	28	40±2.3
<b>Anneden Yoksun Erkek</b>	23	27±2.5*
<b>Anneden Yoksun Dişi</b>	25	29±3.4
<b>Zengin Çevre Erkek</b>	26	77±4.2**
<b>Zengin Çevre Dişi</b>	29	66±5.8**

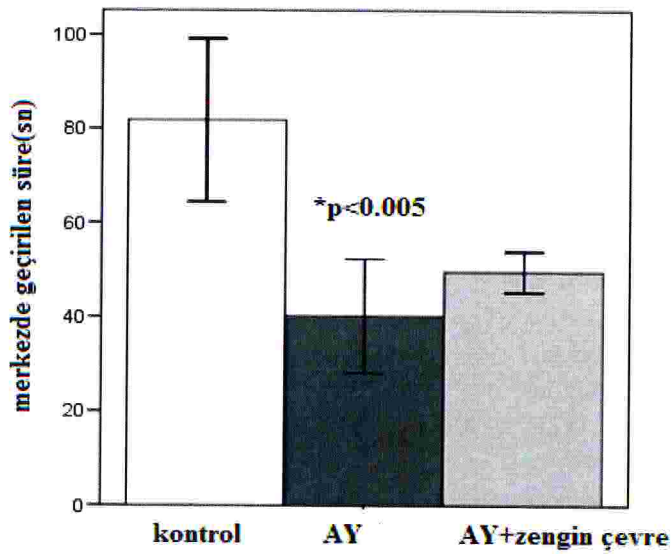
Açık alan aktivitenin bir diğer parametresi olan vertikal aktivite (şahlanma ) davranışı AY grupta azalmış ancak kontrol gruba göre istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kontrol grupta ortalama  $\pm$ S.E.M sayısı  $18 \pm 1.9$  , AY grupta  $14 \pm 2$ , zengin çevre grubunda  $23 \pm 2$  idi. Zengin çevre grubundaki bu artış kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamsız iken ; AY grupla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı idi.( $p<0.05$ )( şekil 19)

Cinsiyet farklılığı karşılaştırmasında kontrol ,AY ve zengin çevre grupları arasında ve grupların kendi içinde cinsiyetler arası fark bulunmadı.



Şekil 22: Gruplar arası vertikal aktivite karşılaştırması

Açık alan aktivitesinin anksiyete parametresi olan merkezde geçirilen zaman AY grubunda, kontrol ve zenginleştirilmiş çevre grubuna oranla oldukça azalmıştı. Azalmış merkezde geçirilen zaman anksiyete göstergesi olarak kabul edildi. Kontrol grubu ve zenginleştirilmiş çevre grubu arasında fark yoktu.



Şekil 23 : Merkezde kalma süres MS grubu kontrol ve zengin çevre grubuna göre azalmış merkezde kalış süresi sergilemektedir ( $p<0.005$ )

Merkezde kalma süresi açısından gruplar arasında ve grupların kendi içinde cinsiyet açısından fark bulunamadı.

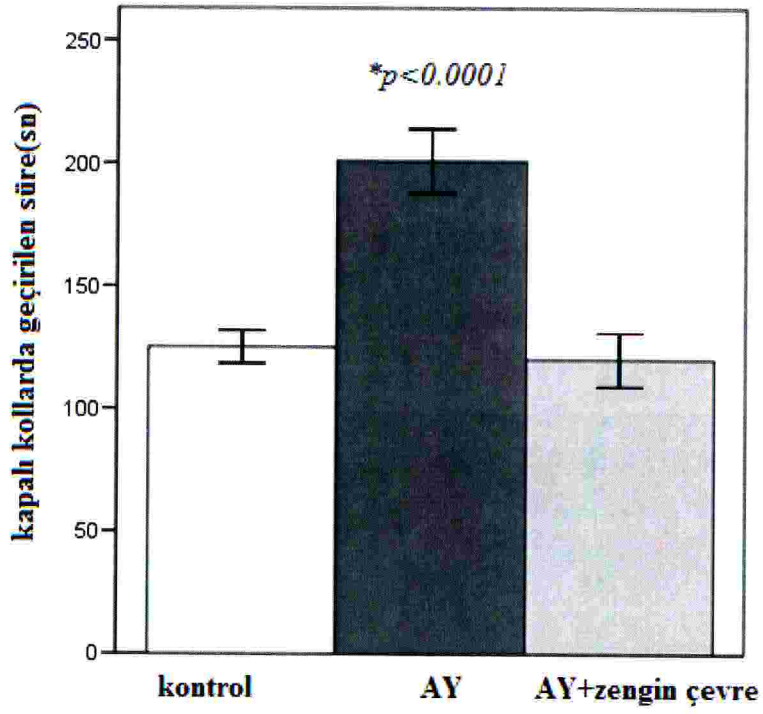
**Tablo XIII:**Merkezde kalış süresi (sn)Anne yoksunluğu grubunda azalmış merkezde kalış süresi görülmekte(\*p<0.005)

Gruplar	Denek sayısı(n)	Merkezdegeçirilen süre ±S.E.M
Kontrol	53	48 ±6.3
Anne Yoksunluğu	48	24±3.6 *
Zenginleştirilmiş Çevre	55	45 ±4.2

#### 4.4.2Yükseltilmiş artı labirent testi

Anne yoksunluğu grubunda kapalı kollarda geçirilen süre kontrol grup ve zengin çevre grubuna göre anlamlı yüksekti. Zengin çevre grubunda ve kontrol grubu arasında ise fark yoktu. Anne yoksunluğu grubunda erkek ve dişiler arasında fark yokken ;erkekler ve dişiler kontrol ve zenginleştirilmiş çevre grubuna göre anlamlı uzamış süreye sahiptiler.(p<0.05)

Zenginleştirilmiş çevre erkek ve dişileri arasında anlamlı fark yokken ,bu grup anne yoksunluğu grubuna göre istatistiksel anlamlı daha az kapalı kollarda zaman geçirmiş(p<0.05) olup kontrol grubu ile arasında fark yoktur.Zenginleştirilmiş çevre grubunun hem erkek hem de dişileri AY grup erkek ve dişilerine göre istatistiksel olarak farklıdır(p<0.05)(şekil 25,Tablo XIII)



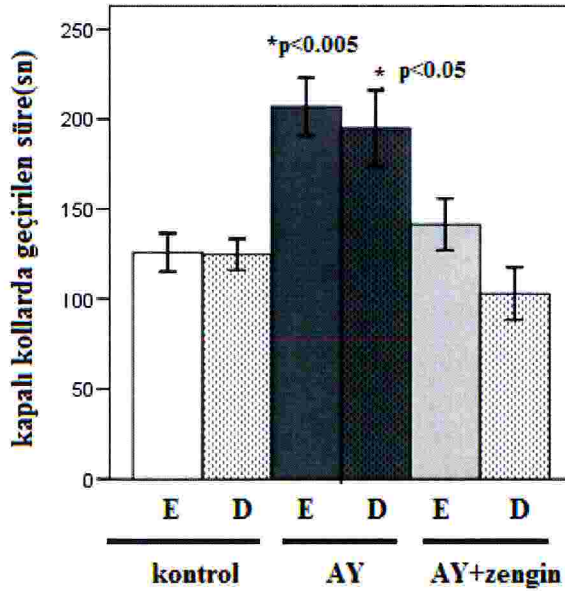
Şekil 24:Kapalı kollarda geçirilen süre

**Tablo XIV:**Yükseltilmiş artı labirent testi Anne yoksunluğu grubunda artmış kapalı kollarda geçirilen süre görülmekte.( $p < 0.0001$ )

Gruplar	Denek sayısı(n)	Kapalı kollarda süre ±S.E.M
<b>Kontrol</b>	53	125 ±6.3 .
<b>Anne Yoksunluğu</b>	48	201±13 *
<b>Zenginleştirilmiş Çevre</b>	55	120 ±10

**Tablo XIII:**Yükseltilmiş Artı Labirent testi cinsiyet farkları Anneden yoksun erkek ve dişilerin kontrol grubuna göre anlamlı kapalı kollarda geçirilen süresi görülmekte

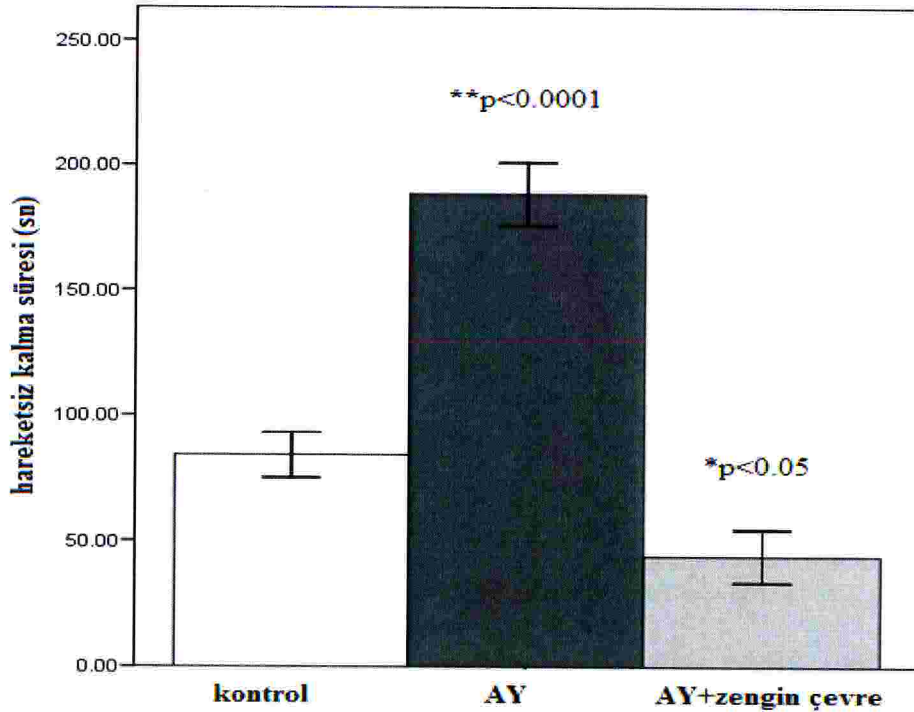
Gruplar	Denek Sayısı(n)	Kapalı kollarda süre $\pm$ SEM
Kontrol erkek	25	125 $\pm$ 10,6
Kontrol dişi	28	124 $\pm$ 8.8
Anneden Yoksun Erkek	23	207 $\pm$ 15 (*p<0.005)
Anneden Yoksun Dişi	25	195 $\pm$ 21 (**p<0.05)
Zengin Çevre Erkek	26	141 $\pm$ 14
Zengin Çevre Dişi	29	102 $\pm$ 14



Şekil 25:Kapalı kollarda geçirilen süre cinsiyet farkları MS erkekler ve dişilerde kontrol gruna oranla artmış anksiyete görülmekte.

#### 4.4.3 Zorlu yüzme testi

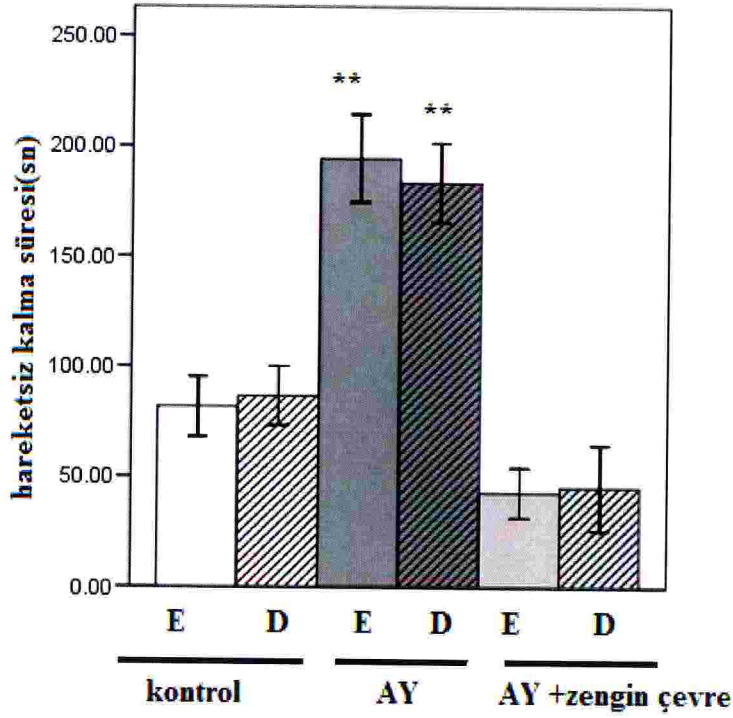
Çalışmamızda AY ratlar istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek hareketsizlik süresine sahiptiler. Hareketsizlik süresi  $\pm$  S.E.M kontrol ratlarda  $84 \pm 9$  sn, MS ratlarda  $188 \pm 12$ sn, zengin çevre ratlarda  $44 \pm 10$  sn idi. Anneden yoksun grup kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmış hareketsizlik süresine sahipti. ( $p < 0.0001$ ). Zengin çevre grubu kontrol grubuna göre daha aktif olup, hareketsiz kalma süresi kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalmıştı. ( $p < 0.05$ ). Gruplar arası cinsiyet farkına bakınca erkek ve dişi anneden yoksun grup bütün diğer gruplara oranla anlamlı derecede yüksek hareketsizlik süresine sahipti. Anneden yoksun grubun erkek ve dişileri arasında ise anlamlı fark yoktu. Kontrol grubu ve zengin çevre grubunun erkek ve dişileri ve grupların kendi arasında cinsiyet açısından istatistiksel anlamlı fark yoktu.



Şekil 26: Gruplar arasında hareketsiz kalma süresi

**Tablo XVI:**Zorlu yüzme testi Hareketsiz kalma süresi Anne yoksunluğu grubunda ve zengin çevre grubunda kontrol grubla karşılaştırılınca süreler görülmektedir.

Gruplar	Denek sayısı(n)	Hareketsiz kalma S. ±S.E.M
<b>Kontrol</b>	53	84 ±9 .
<b>Anne Yoksunluğu</b>	48	188±12**(p<0.0001)
<b>Zenginleştirilmiş Çevre</b>	55	44 ±10*(p<0.05)



**Şekil 27:** Zorlu yüzme testi hareketsizlik süresi AY erkek ve dişi cinsiyette artmış depresif davranış görülmekte(\*\* p<0.0001)

**Tablo XVII:**Zorlu yüzme testi anneden yoksun erkek ve dişilerde artmış hareketsizlik süresi görülmektedir.

Gruplar	Denek Sayısı(n)	Hareketsizlik süresi $\pm$ SEM
<b>Kontrol erkek</b>	25	81 $\pm$ 13,6
<b>Kontrol dişi</b>	28	86 $\pm$ 13,4
<b>Anneden Yoksun Erkek</b>	23	194 $\pm$ 19 (*p<0.005)
<b>Anneden Yoksun Dişi</b>	25	183 $\pm$ 18 (*p<0.005)
<b>Zengin Çevre Erkek</b>	26	42 $\pm$ 11
<b>Zengin Çevre Dişi</b>	29	45 $\pm$ 19

#### **.4.5 Pasif sakınma testi**

Deneyin ilk denemesinde (alıştırma) deneklerin karanlık odaya girmeleri için geçen süre; Anne yoksunluğu grupta kontrol ve zenginleştirmiş çevreye göre biraz daha uzun olmasına rağmen istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı fark yoktu. İlk deneyden 24 saat sonra yapılan ikinci denemede Anne yoksunluğu grup kontrol ve zengin çevre grubuna göre anlamlı ölçüde daha kısa sürede karanlık tarafa geçmektedir. Kontrol grubu ve zengin çevre grubu arasında fark yokken, anne yoksunluğu grubu kontrol grubuna ( $p<0.05$ ) ve zengin çevre grubuna göre ( $p<0.001$ ) daha kısa sürede karşıya geçmiştir.

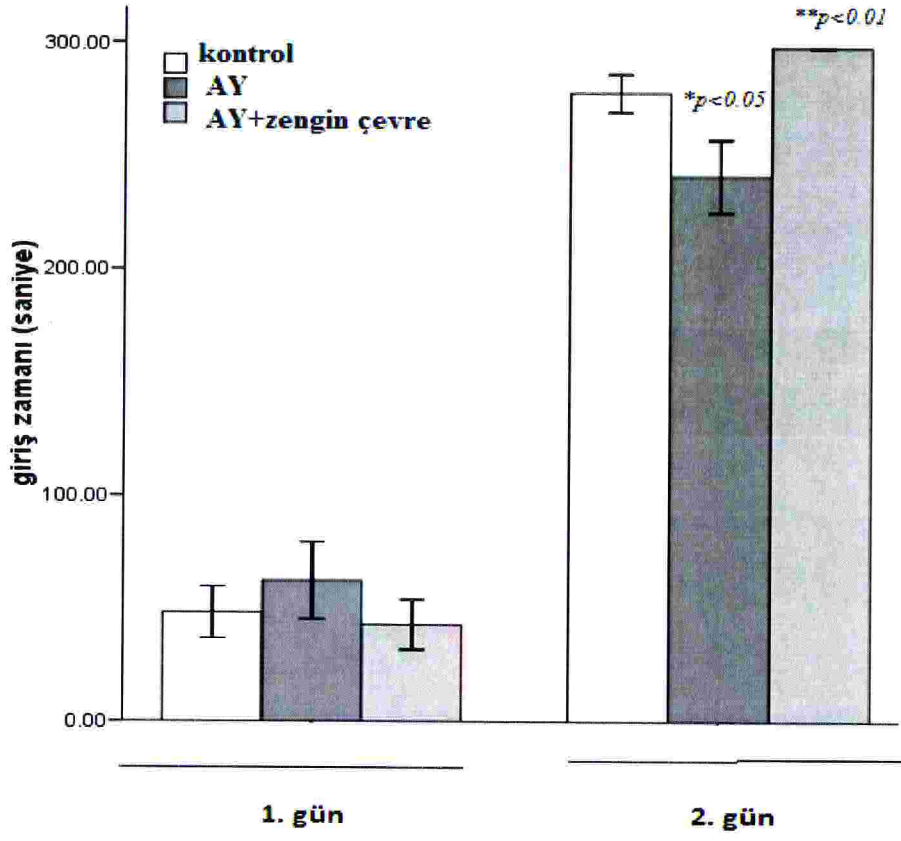
**Tablo XVIII:**Pasif sakınma gruplar arası farklılıklarAnne yoksunluğu grubunda kontrol grubuna göre azalmış süre (\*p<0.05) görülmektedir.

Gruplar	Deneme Süresi	Test süresi(sn) ±SEM
<b>Kontrol(n:53)</b>	47 ± 10	277 ±8.
<b>Anne Yoksunluk(n:48)</b>	63 ± 17	241±16*(p<0.05)
<b>Zengin çevre(n:55)</b>	42 ± 11	298 ±0.1

Pasif sakınma testinde hem grupların kendi içinde hem de gruplar arasında cinsiyet açısından anlamlı fark yoktu.

**Tablo XVIII:**Pasif sakınma cinsiyetler arasında fark yok

Gruplar	Deneme süresi	Test süresi (sn)±SEM
<b>Kontrol erkek(n:25)</b>	46±11	270±14
<b>Kontrol dişi(n:28)</b>	48±19	286±9
<b>AY Erkek(n:23)</b>	53±25	236±34
<b>AY Dişi (n:25)</b>	70±25	244±15
<b>ZÇ Erkek(n:26)</b>	65±22	298±0.01
<b>ZÇ Dişi(n:29)</b>	24±6	298±0.01



Şekil 28

Şekil 28:Pasif sakınma testi. Gruplar arası karşılaştırma Anne yoksunluğu grubu kontrol grubuna göre (\* $p<0.05$ ) ve zenginleştirilmiş çevreye göre daha kısalmış süreye sahip(\*\* $p<0.01$ )

## 5. TARTIŞMA

Uzamış anne ayrılığı periyotları, yaşamın erken dönemlerinde strese olan nöroendokrin ve korku yanıtlarının şiddetini artırmakta ve bu da stresle ilişkili hastalıklara yatkınlığa neden olmaktadır. Anne yoksunluğu erken gelişimsel dönemdeki travmatik olayların sonraki hayattaki psikopatoloji ile ilişkilerini açıklamak açısından iyi bir hayvan modeli oluşturmaktadır. Biz de çalışmamızda maternal ayrılmanın erken ve geç dönem davranışsal ve nörolojik etkilerini ve bunlar üzerinde de zenginleştirilmiş çevrenin koruyucu etkinliğini belirlemeye çalıştık.

Birçok deneysel çalışmada erken dönem maternal ayrılmanın yetişkinlikteki etkileri araştırılmıştır. Nörodavranışsal gelişimin erken özellikleri ise çok az çalışmada tartışılmıştır.

Çalışmamızın ilk bölümünde anneden ayrılmış erkek ve dişi yenidoğan sıçan deneklerin erken nörodavranışsal gelişimini değerlendirdik. Anneden ayrılmanın erken neonatal refleksler ve motor koordinasyonun maturasyonunda gecikmeye sebep olduğunu gördük. Göz ve kulak açılması, tüylenme zamanı gibi somatik gelişim bulguları açısından bir gecikme tespit edilmedi. Anneden ayrılmış erkek ve dişi sıçanların her ikisinde de kontrol grubuna göre reflekslerde 2-3 günlük bir gecikme tespit edildi ve anneden ayrılmış erkeklerde, righting ve negatif geotaksis reflekslerinde dişilere göre süreler daha az etkilenmişti. Kontrol grubunda ise dişiler, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha iyi performans sergilediler. Ancak her iki reflekste de 2-3 günlük gecikme ile de olsa kontrol grubunun süre ve performansına ulaşıldığı gösterildi. Maternal ayrılmanın erken davranışsal etkileri, maternal ayrılmanın daha şiddetli bir formu olan 24 saatlik tek bir ayrılma modelinde çalışılmış ve ayrılmanın gecikmiş göz açma, vücut ağırlığında azalma, yürüme ve şahlanma aktivitesinde azalma, negatif geotaksis ve amfetamine davranışsal cevabın ortaya konulmasında gerilemeye neden olduğu gösterilmiştir (94). Yapılan diğer çalışmalarda elde edilen sonuçlarla ayrılmanın günün hangi saatinde olduğu, ortam sıcaklığı, ayrı kalma süresi, genetik alt yapı ve yavruların cinsiyeti gibi faktörlerin somatik ve davranışsal gelişimin etkilenmesinde önemli faktörler olduğu vurgulanmıştır(95,96,97).

Daha önceki çalışmalar neonatal period esnasında tekrarlayan anneden ayrılmanın yavrulardaki vücut ağırlığı kazanımını geçici olarak değiştirdiğini

göstermiştir. Anneden ayrılmış erkek yavrular ayrılma periodundan kısa bir süre sonra kontrol grubu erkeklerinden anlamlı olmayacak derecede daha hafif bulunmuş ve kısa bir süre sonra da anneden ayrılmış erkekler daha ağır olma eğilimi göstermişlerdir (15,97). Bizim ayırma modelimizde hayvanlarda 2,4,7,14,21 ve 28. günlerde ve geç dönem etki açısından 10 haftalık iken kilo takibi yaptık. Bu nedenle anneden ayırmanın ve zenginleştirilmiş çevrenin ; vücut ağırlığı üzerine erken ve geç dönem etkilerini değerlendirmiş olduk. Üç grubunda 2. gün ağırlığı birbirinden farksızdı. Anneden ayrılmış gruplar yaklaşık 7. günde kontrol grubuna oranla %10 daha az kilo almışlardı. İkinci haftadan itibaren anne yoksunluğu olan grupta kilo artımı kontrol grubuna göre daha fazla idi. Ondördüncü günden sonra zengin kafeslere konulan grupta da benzer etkiler saptandı. Özellikle de anne yoksunluğu+zengin çevre grubunda kilo artımı en fazla oldu. Daha önce Lee ve arkadaşlarının anne yoksunluğunun seratonerjik sistem üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmasında, Sprague–Dawley cinsi sıçanlarda postnatal 1-14. günlerde günde 3 saatlik anneden ayırma modeli uygulanmış, 36. postnatal günden başlayan vücut ağırlık kazanımında belirgin artışlar saptamışlardır. Beraberinde günlük yiyecek alımında artış saptanan hayvanların bu ağırlık artımının postnatal 61. güne kadar devam ettiği görülmüştür(176). Bizim çalışmamızda benzer sonuçlar elde edilmiştir. Postnatal 10. haftada maternal yoksun grupta kontrol grubuna göre anlamlı kilo artışı vardı. Seratoninin anorektik bir molekül olarak beslenme davranışındaki rolünün anlaşılmasından beri anneden ayrılmış sıçanlardaki artmış yiyecek ve kilo alımının, bu hayvanların beyinlerindeki düşük seratonin reuptake transporter salınımı ve düşük seratonin nörotransmisyonu gibi düşük seratonerjik aktivitelerle ilişkili olabileceği görülmüştür (98). Ayrıca anorektik etkilerin ortaya çıkması için seratoninin kullanıldığı yer olan hipotalamustaki turnover hızı, kontrol grubu sıçanlarıyla kıyaslandığında anneden ayrılmış sıçanlarda düşük bulunmuştur (99). Depresyon benzeri davranışlar gösteren anneden ayrılmış sıçanlardaki artmış yiyecek alımı depresyon semptomlarına eşlik eden aşırı yeme davranışının çalışılması için de bir hayvan sistem modeli olarak sunulabilir (100). Çalışma gruplarında en fazla kilo alımı anne yoksunluğu+zengin çevre grubunda oldu. Zenginleştirilmiş çevrenin daha önce bir çalışma dışında (101) kilo alımına olumlu katkıları gösterilmiştir. Farelerde yapılan çalışmalarda zenginleştirilmiş çevreye konulan hayvanlar daha hızlı kilo almışlar ve standart ortamdaki hayvanlara göre daha fazla kilolu bulunmuşlardır

(102,103). Bizim zenginleştirilmiş çevre grubunda saptadığımız kilo artışının kontrol ve maternal seperasyon grubuna göre anlamlı derecede yüksek olması hem maternal seperasyonun hem de zenginleştirilmiş çevrenin aditif etkilerinden kaynaklanıyor olabilir. Van de Weerd ve ark. larının yaptığı çalışmada zenginleştirilmiş ortamdaki fareler tek geceliğine bireysel kafeslere alındıklarında kontrol hayvanlarından daha fazla kilo kaybettikleri görülmüş ve zenginleştirme elemenlarının ortamdaki kaldırılmasının ters etki yapabildiği tespit edilmiştir (103). J.Chu kronik ve akut streslerin yeme bozuklukları üzerine oluşturduğu olumsuz etkinin, zenginleştirilmiş çevre modeliyle giderilmesine yönelik ratlarda yaptığı çalışmada kronik stress uygulanıp sonrasında zenginleştirilmiş çevreye konulan hayvanlarının standart kafeslerde yetiştirilen stress ve kontrol grubuna göre daha fazla kilo alımları olduğu görülmüştür Akut stres durumuna ise etkili olmadığı görülmüştür.(104).

Neonatal maternal ayrılmanın genç yetişkinlik döneminde depresyon ve anksiyete benzeri davranışlarla sonuçlanabileceği çalışmamızda gösterilmiştir. Çalışmamızda anneden ayrılmış grubun, daha düşük açık alanda gezinme aktivitesi, zorlu yüzme testinde artmış immobilizasyon , yükseltilmiş artı labirent testinde daha fazla kapalı kollarda, daha az açık kollarda zaman geçirdiklerini tespit edildi. Bir anksiyete parametresi olan merkezde geçirilen zaman anne yoksunluğu grubunda bariz azalmıştı. Bizim sonuçlarımız benzer ayrılma modelini kullanan diğer çalışmalarla uyum göstermektedir (105,106,107). Kalinichev ve ark., 2 hafta süresince günde 3 saat anne- yavru ayrılmasının erkek sıçanlarda yükseltilmiş artı labirent testinde depresif davranışlar ve kontrol grubuna göre beş kat artmış kortikosterone seviyesine neden olduğunu göstermişlerdir (15). Fuente ve ark., anne yoksunluğunun nörolojik, immunolojik ve endokrinolojik etkilerine postnatal 9. Günde 24 saatlik tek bir ayrılık periyodu uygulanarak 13 günlük ratlarda (erken adölesan dönemde) baktılar. Ayrılan grupta kontrole göre önemli ölçüde artmış plazma kortikosteron değerleri, zorlu yüzme testinde artmış hareketsizlik süresi, lokomotor aktivitede azalma ve özellikle erkek ratlarda hipokampal hücre sayısında azalma ve bozulmuş immun cevabı tespit ederek anne yoksunluğunun periyadölesan dönem gibi erken etkilerini ve bu modelin şizofreni gelişim modeli için kullanılabilceğini sonucuna vardılar (108). Farkas ve ark. yapmış olduğu neonatal anneden ayrılma modelinde ise PND (1-14) günlük 3 saat anneden ayırma uygulanan sıçanlarda, anne yoksunluğunun etkilerine postnatal 3-5 . haftalarda

bakılmış ve maternal mahrumiyetin erken nörodavranışsal bozukluklara yol açmadığı sonucuna varılmıştır. Gerçekten maternal yoksunluğun sonuçlarını değerlendirmek için uygun zaman önemlidir. Yapılan çalışmalarda anne yoksunluğunun erken ve geç dönem etkileri birbirinden farklı bulunmuştur. Erken dönem postnatal değerlendirmede vücut ağırlığı, nöromotor gelişim açısından fark bulunmazken, geç dönemde anksiyete, depresyon ve vücut ağırlığı üzerine etkileri pek çok çalışmada gösterilmiştir(109,110,111,112).

Açık alan aktivite testinde, anneden ayrılmış deneklerde horizontal lokomotor aktivite (kare değişim sayısı) kontrol grubuna göre azalmış olarak bulunurken, zengin çevre grubunda ise horizontal aktivite, her iki gruba göre anlamlı derecede yüksekti. Vertikal aktivite ise araştırma davranışını gösteren bir parametre olup sadece zenginleştirilmiş çevre grubunda diğer gruplara oranla yüksekti. Anneden ayrılmanın lokomotor aktivite üzerine etkilerinin bildiren bir çok çalışmada vertikal aktivite farklı bulunmazken horizontal aktivite daha düşük bulunmuştur (113,114). Çalışmaların bir çoğunda ise anneden ayrılmış dişilerin horizontal aktiviteleri etkilenmemiş bulunurken, erkeklerin azalmış olarak tespit edilmişti (112,116). Ellenbroek ve ark. sıçanlarda anne yoksunluğu grubunda açık alan testinde azalmış vertikal ve horizontal aktivite saptamışlar, bu durumu da dopaminerjik sistemin gelişmesinde gecikme ve cerebellar yapıların anne yoksunluğunun oluşturduğu stresle hasar görmesi ile açıklamışlardır (115). Lee ve ark. yaptığı çalışmada ise benzer ayrılma modeli kullanılan sıçan deneklerde horizontal lokomotor aktiviteyi azalmış bulmuşlar ve bunu anne yoksunluğunun serotonerjik sistem üzerinden oluşturduğu anksiyete ve depresyon etkisi ile açıklamışlardır (95). Benzer bulgular bizim ve önceki diğer bir çok çalışmada da bildirilmiştir (118,119,120). Bizim çalışma grubumuzda da maternal ayrılma yaşayan erkekler dişilere göre daha az aktifti. Ancak istatikselsel olarak her iki cinsiyette kontrol grubundan farksızdı. Farklı olan zenginleştirilmiş çevredeki özellikle erkeklerde hem MS hem de kontrol grubuna oranla bariz hareket artışı idi. Daha önceki çalışmalar zenginleştirilmiş çevrenin keşif davranışlarını, lokomasyon ve şahlanma davranışının sıklığını artırdığını göstermiştir (121). Marachi ve ark. yaptığı çalışmada özellikle zenginleştirilmiş kafeslerde büyütülen erkek farelerde saldırganlık, sıçrama davranışında artma gözlemlenmiş, bunu da uzaysal zenginleştirilmenin hayvanların davranışı üzerine etkisi ile yorumlamışlardır. Özellikle

super zengin kafeslerde yetiştirilen erkek ratlarda bu davranış daha fazla olmuş, kafeslerde aşırı uyaran olmasına bağlanmıştır. Buna rağmen sosyopozitif ve oyun davranışı da zengin kafes hayvanlarında daha sık gözlenmiştir. Zenginleştirilmiş ortamdaki genişlik hayvanların dağınık ve uzak durmaları ve türlerinden kaçmaları için uygun ortam sağlamıştır. Yani zenginleştirilmiş kafeslerdeki fareler agresif karşılaşmaların oluşmasını kontrol etme ve öngörme kabiliyetine sahiptirler (126). Gerçekten de modern stres araştırmaları göstermiştir ki stresörlerin öngörülebilirlik kontrol edilebilmesinin iyilik halinin elde edilmesi için önemli bir ön ihtiyaçtır (122).

Çalışmamızda maternal seperasyona maruz kalan hayvanların yükseltilmiş artı labirent testinde daha çok kapalı kollarda kalma, lokomotor aktivite testinde de daha çok periferde zaman geçirme gibi oluşturduğu anksiyete etkilerini çevresel zenginleştirmenin geri çevirdiğini gördük. Anne yoksunluğuna maruz bırakılan grup ile karşılaştırılınca anne yoksunluğu sonrası zengin çevreye konulan grup, kontrol grubuyla aynı sürede testleri tamamladı. Bu da zenginleştirilmiş çevrenin anksiyolitik etkisini desteklemektedir (123). Aynı etki zorlu yüzme testinde anne yoksunluğu grubunun uzamış immobilizasyon süresiyle karşılaştırılınca, zengin çevre grubundaki daha fazla yüzme, daha az immobilizasyon ve kontrol grubuyla aynı hatta daha iyi bir performans sergilemesi zenginleştirilmiş çevrenin antidepresan etkilerini de göstermektedir. Genel anlamda zenginleştirilmiş çevre bir çok stress yapıcı etmenin zararlı etkilerine karşı direnci artırarak başa çıkmayı kuvvetlendiriyor gözükmektedir (124). Aynı durum zenginleştirilmiş çevrenin pasif sakınma testindeki bellek ve öğrenme üzerindeki olumlu etkisinde de belirgindir. Zenginleştirilmiş çevre hayvanları hem kontrol hem de MS gruba göre daha iyi bir performans sergilemişlerdir (125).

Çalışmamızın diğer önemli bir amacı da, hem anne yoksunluğu geç dönem etkilerinde hem de zenginleştirilmiş çevre modelinde cinsiyet farklılıklarını ortaya koyabilmektir. Cinsiyet farklılıklarının birçok yönü nörolojinin çeşitli alanlarında çalışılmakta ve bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar, stres bağımlı bozuklukların oluşumu, prevalansı ve çeşitliliğindeki cinsiyet farklılıklarını incelemeye yardımcı olabilmektedir.

Daha önceki çalışmalarda anneden ayrılmanın, erkeklerde belirgin, hipokampal ve cerebellar korteksde cinsiyet bağımlı nöronal ve astroglial değişiklikleri indüklediği

gösterilmiştir. Viveros ve ark. anne yoksunluğunun 24 saatlik PND 9. günde tek bir ayrılma modeli uyguladıkları, davranış ,endokrin ve immun sistem üzerine cinsiyet etkilerini saptamak için yaptıkları çalışmada, anneden ayrılmış erkek sıçanlarda, dişilere oranla lokomotor aktivitede ve yükseltilmiş artı labirent testinde daha fazla deprese davranışlar gözlemlenmişlerdir. Zorlu yüzme testinde her iki cinsiyette de benzer etkiler saptanmıştır. Aynı çalışmada PND 9. günde tek bir 24 saatlik ayrılmanın her iki cinsiyette de plazma leptin düzeyini bariz azalttığını ve anorektik etkileri olduğunu gösterdiler. Aynı modelde cerebellar GFAP (+) hücreler erkeklerde dişilere oranla daha fazla idi. Anne yoksunluğunun cinsiyet ve kilo alımı ve leptin üzerine etkileri daha çok anne yoksunluğunun uygulandığı postnatal güne ve uygulanma modeline bağlı olarak farklıdır. Gruss ve arkadaşları PND 4,9 ve 18 . günlerde bir kez 24 saatlik anneden ayırma uygulamışlar;PND 9 ve 18. günde aynı etkiyi saptamamışlardır Bu durumda leptinin kanda pik yaptığı dönemin postnatal ilk 10 gün olduğu düşünülerek 24 saatlik ,bir kez uygulanan, anneden ayırma modelinde kilo alımı üzerine kritik bir dönemden bahsedilebilir ( 127). Biz de çalışmamızda cinsiyet bağımlı bir kaç farklılık tespit ettik. 10. Hafta vücut ağırlıklarında erkek anne yoksunluğu grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede farklı kilo artışı gördük. Yükseltilmiş artı labirent testinde erkek AY grubun kapalı kollarda geçirdiği süre tüm diğer cinsiyet gruplarına göre anlamlı derecede fazla idi. Zenginleştirilmiş çevre grubundaki dişiler ise tüm gruplar içinde en az kapalı kollarda süre geçiren gruptu.

Anne yoksunluğu modeli şizofreni, anksiyete/depresyon bozuklukları, saldırganlık, yeme bozuklukları ve ilaç kötüye kullanımı gelişmesi gibi psikopatolojilerin erken hayat tecrübesiyle nasıl ilişkili olduğunu anlamamıza yardımcı olabilir. Bizim çalışmamızda edindiğimiz sonuçlarda anne yoksunluğu modelinin bu hastalıkların patofizyolojisini açıklamak için kullanılabilecek iyi bir model olduğunu destekler niteliktedir.

İnsanlardaki müdahale programları ailesel stres ile ilişkili entelektüel ve duygusal gelişimdeki riski gidermeye yardımcı olabilir ve bu programların etkileri özellikle de gelişimleri yaşamın erken dönemlerindeki sıkıntıların sonucunda zarar gören bireylerde belirgindir(125). Klinik çalışmalara bakıldığında zorlukların yarattığı sonuçlar yerleştikten sonra mı tersine dönmekte yoksa çevresel zenginleştirme, zorlukların etkisini onlar henüz ciddi sonuçlar doğurmadan mı etkisiz hale

getirmektedir, bu net değildir. Strese davranışsal ve nöroendokrin cevapların bireysel farklılıklarının gelişimi peripubertal periyot dahi hayatın birçok evresinde olan olaylardan etkilenebilmekte ve bu etkiler ilgili nöral sistemlerin farklı seviyelerindeki değişikliklerin bir sonucu olarak oluşmaktadır.

Bizim çalışmamız anne yoksunluğunun oluşturduğu negatif etkilerin iyi çevre şartları ile kompanse edebileceğini gösteren ilk kapsamlı çalışma olma açısından dikkat çekicidir. Çocuk hastalıkları pratiğinde sıkça rastladığımız uzun dönem hastanede yatırılarak izlenen çocuk hastalarımızın hastane izleminde ve taburculuk sonrası dönemlerinde basit ve ucuz bir uygulama olan zenginleştirilmiş çevre modelini hastanede uzun süre kalmanın neden olduğu olumsuzlukları azaltmak açısından önemli olabilir.

## 6. SONUÇLAR

1. Çalışmaya alınan, anne yoksunluğu uygulanan grup ve kontrol grupları arasında somatik gelişim parametreleri açısından anlamlı fark bulunmadı.
2. Anneden ayrılmanın erken neonatal refleksler ve motor koordinasyonun maturasyonunda gecikmeye sebep olduğunu görüldü. Anneden ayrılmış grup kontrol grubuna göre daha geç sürede testleri tamamladı ( $p<0.0001$ ).
3. Gruplar arası vücut ağırlığı karşılaştırmasında 28. günde hem anne yoksunluğu grubunda hem de zenginleştirilmiş çevre grubunda kontrol grubuna göre daha fazla kilo alımı oldu. Ancak en fazla kilo alımı zengin çevre grubunda oldu ( $p<0.0001$ ).
4. Anne yoksunluğunun geç dönem etkisi açısından, 10 .haftada bakılan vücut ağırlıklarında anne yoksunluğu grubunda ( $p<0.05$ ) ve zengin çevre grubunda ( $p<0.0001$ ) kontrol grubuna anlamlı kilo artışı saptandı .En fazla kilo alımı zengin çevreye konulan erkek grupta oldu ( $p<0.001$ ). Zengin çevreye konulan erkekler, aynı gruptaki dişilere ve diğer grup cinsiyetlere göre de anlamlı derecede fazla kilo almışlardı ( $p<0.0001$ )
5. Bakılan açık alan aktivitesinde, anne yoksunluğu grubu; kare değişim sayısı açısından, anlamlı olarak kontrol ( $p<0.001$ )ve zengin çevre grubuna göre daha az aktifdi ( $p<0.0001$ ). Anne yoksunluğu grubunda erkek cinsiyet aktivitesi dişilere göre daha çok etkilenmişti ( $p<0.05$ ) Zengin çevre grubu ise bütün diğer gruplara göre daha aktif olup özellikle erkekler diğer cinsiyetlere göre en aktifti ( $p<0.0001$ ). Bir araştırma davranışı olan vertikal aktivite sayısı, zengin çevre grubunda kontrol ve anne yoksunluğu grubuna göre artmış olup ( $p<0.05$ ) ,diğer gruplar arasında ise anlamlı fark yoktu.
6. Açık alan aktivitesinin bir diğer anksiyete parametresi olan merkezde geçirilen zaman; kontrol ve zengin çevre grubunda farklı değilken; anne yoksunluğu grubunda her iki gruba göre anlamlı derecede azalmıştı ( $p<0.005$ ).
7. Yükseltilmiş artı labirent testinde anne yoksunluğu grubunda kapalı kollarda geçirilen süre kontrol grup ve zengin çevre grubuna göre anlamlı yüksekti ( $p<0.0001$ ).

Zengin çevre grubunda ve kontrol grubu arasında ise fark yoktu. Zengin çevre grubunun hem erkek hem de dişileri arasında fark yok iken; anne yoksunluğu grubunun erkekleri en fazla kapalı kollarda geçirilen süreye sahiptiler( $p<0.0001$ ).

8. Zorlu yüzme testinde; anne yoksunluğu grubunda her iki gruba göre artmış hareketsizlik süresi ( $p<0.0001$ ) görüldü. Anne yoksunluğu grubunun hem erkek hem de dişileri arasında fark yok iken ,her ikisi de diğer grup erkek ve dişilere oranla anlamlı depresif davranışlar sergilediler.

9. Bellek ve öğrenme açısından yaptığımız pasif sakınma testinde ise, deneme kısmında gruplar arasında anlamlı fark yok iken; 2. gün yapılan test aşamasında kontrol grubu ve zengin çevre grubu arasında fark olmayıp, anne yoksunluğu grubunda kontrol grubuna ( $p<0.05$ ) ve zengin çevre grubuna göre ( $p<0.001$ ) daha kısa süreye sahipti.

Özetle;çalışmamızda daha önce çalışılmamış olan anne yoksunluğunun somatik ,davranışsal ve öğrenme üzerine olumsuz etkilerine; erken post natal dönemde uygulanan 15 günlük kısa süreli zenginleştirilmiş çevrenin genç yetişkin ve erişkin dönemde olumlu etkilerinin olduğu göstermiştir.

## KAYNAKLAR

1. McMillan LH, Fleming EJ, Boyle MH et al. Childhood abuse and lifetime psychopathology in a community sample. (2001) *Am J Psychiatry*, 158: 1878-1883.
2. Agid O, Kohn Y, Lerer B (2000) Environmental stress and psychiatric illness. *Biomed Pharmacoter*, 54: 135-141.
3. Kenneth S. Kendler, MD; Michael C. Childhood Parental Loss and Adult Psychopathology in Women A Twin Study Perspective *Arch Gen Psychiatry*. 1992;49(2):109-116.
4. Ladd CO, Hout RL, Thirivikraman KV, Longterm behavioral and neuroendocrine adaptations to adverse early experience. *Prog Brain Res*. 2000; 122:81-103.
5. Francis DD, Caldji C, Champagne F et al. The role of corticotropin-releasing factor-norepinephrine systems in mediating the effects of early experience on the development of behavioral and endocrine responses to stress. *Biol Psychiatry*, 2003 46: 1153-166.
6. Kaufman J , Birmaher B , Perel J ve et al The corticotropin-releasing hormone challenge in depressed abused , depressed nonabused and normal control children. *Biol Psychiatry* (1997), 42 : 669-679
7. Bowlby j. Maternal care and mental health *World Health Organ*(1951):3 355-533
8. Finkelstein, H., 1988. The long-term effects of early parent death: and clinical studies. *Biol. Psychiatry* 49, 1023–1039.
9. Patten, S., 1991. The loss of a parent during childhood as a risk factor for depression. *Can. J. Psychiatry* 36, 706–711.
10. Roberts, J.E., Gotlib, I.H., 1997. Lifetime episodes of dysphoria: gender, early childhood loss and personality. *Br. J. Clin. Psychol.* 36, 195–208
11. M. Koehl, V. Lemaire, M. Vallee, et al. Long term neurodevelopmental and behavioral effects of perinatal life events in rats, *Neurotox. Res.* 3 (2001) 65–83.

12. W.G. Brake, T.Y. Zhang, J. Diorio, et al. Influence of early postnatalrearing conditions on mesolimbic dopamine and behavioural responses to psychostimulants and stressors in adult rats, *Eur. J. Neurosci.* 19 (2004) 1863–1874.
13. T.L. Finamore, R.L. Port. Developmental stress disrupts habituation but spares prepulse inhibition in young rats, *Physiol. Behav.* 69 (2000) 527–530.
14. M. Kalinichev, K.W. Easterling, S.G. Holtzman. Early neonatal experience of Long–Evans rats results in long-lasting changes in reactivity to a novel environment and morphine-induced sensitization and tolerance, *Neuropsychopharmacology* 27 (2002) 518–533.
15. M. Kalinichev, K.W. Easterling, S.G. Holtzman. Long-lasting changes in morphine-induced locomotor sensitization and tolerance in Long–Evans mother rats as a result of periodic postpartum separation from the litter: a novel model of increased vulnerability to drug abuse? *Neuropsychopharmacology* 28(2003) 317–328.
16. P. Eriksson, E. Ankarberg, H. Viberg, et al. The developing cholinergic system as target for environmental toxicants, nicotine and polychlorinated biphenyls (PCBs): implications for neurotoxicological processes in mice, *Neurotox. Res.* 3 (2001) 37–51. (1) 65–83.
17. Anderson P, Doyle L.W. Neurobehavioral outcomes of school-age children born extremely low birth weight or very preterm in the 1990s. *JAMA* 2003;289(24):3264–3272. [PubMed: 12824207]
18. Hofer MA. Relationships as regulators: a psychobiologic perspective on bereavement. *Psychosom Med* 1984;46:183–97.
19. Schore AN. Attachment and the regulation of the right brain. *Attach Hum Dev* 2000; 2:23–47.
20. Trevarthen C, Aitken K.J. Infant intersubjectivity: research, theory, and clinical applications. *J Child Psychol Psychiatry* 2001;42:3–48.

21. Schore AN. Affect regulation and the origin of the self. Hillsdale, NJ:Lawrence Erlbaum Associates; 1994.
22. Hofer MA. Relationships as regulators: a psychobiologic perspective on bereavement. *Psychosom Med* 1984;46:183–97.
23. Kuhn CM, Butler SR, Schanberg SM. Selective depression of serum growth hormone during maternal deprivation in rat pups. *Science* 1978;20:1034–6.
24. Gunzenhauser N. Infant stimulation: for whom, what kind, when, and how much? Johnson and Johnson: Safe Harbor, CT; 1987.
25. Kuhn CM, Pauk J, Schanberg SM. Endocrine responses to mother–infant separation in developing rats. *Dev Psychobiol* 1990;23:395–410.
26. Mullen, P.E., Martin, J.L., Anderson, J.C., Romans, S.E., Herbison, G.P., 1996. The long-term impact of the physical, emotional, and sexual abuse of children: a community study. *Child Abuse Negl.* 20, 7–21.
27. Stein, M.B., Koverola, C., Hanna, C., et al. 1997. Hippocampal volume in women victimized by childhood sexual abuse. *Psychol. Med.* 27, 951–959.
28. Felitti, V.J., Anda, R.F., Nordenberg, D., et al. J.S., 1998. Relationship of childhood abuse and household dysfunction to many of the leading causes of death in adults. The Adverse Childhood Experiences (ACE) Study. *Am. J. Prev. Med.* 14, 245–258.
29. Kendler KS, Neale MC, Kessler RC et al. (1992) Childhood parental loss and adult psychopathology in women. A twin study perspective. *Arch Gen Psychiatry*, 49: 109-116.
30. Agid O, Kohn Y, Lerer B (2000) Environmental stress and psychiatric illness. *Biomed Pharmacoter*, 54: 135-141.
31. Heim C, Newport DJ, Bonsall R et al. (2001) Altered pituitary-adrenal axis responses to provocative challenge tests in adult survivors of childhood abuse: The role of comorbid depression. *Am J Psychiatry*, 158: 575-581.
32. Dent GW, Okimoto DK, Smith MA et al. (2000) Stress-induced alterations in corticotropin-releasing hormone and vasopressin gene expression in the paraventricular nucleus during ontogeny. *Neuroendocrinology*, 71: 333-342.

33. Caldji C, Francis D, Sharma S et al. (2000) The effects of early rearing environment on the development of GABA and central benzodiazepine receptor levels and novelty-induced fearfulness in rat. *Neuropsychopharmacology*, 22: 219-229.
34. Arborelius L, Plotsky PM, Nemeroff CB et al. (2000) Increased 5-HT cell firing responsiveness to citalopram in adult rats previously subjected to maternal separation. *Soc Neurosci Abstr*, 26: 867-77.
35. Meaney MJ, Diorio J, Francis D et al. (2000) Postnatal handling increases the expression of cAMP-inducible transcription factors in the rat hippocampus: The effects of thyroid hormones and serotonin. *J Neurosci*, 20: 3926-3395.
36. Sanchez MM, Aguado F, Sanchez-Toscano F et al. (1998) Neuroendocrine immunocytochemical demonstrations of decreased hypothalamo-pituitary-adrenal axis responsiveness to restraint stress after long-term social isolation. *Endocrinology*, 139:579-587.
37. Wilson DA, Willner J, Kurz EM et al. (1986) Early handling increases hippocampal long term potentiation in young rats. *Behav Brain Res*, 21: 223-227.
38. Levine S, Huchton DM, Wiener SG, et al. Time course of the effect of maternal deprivation on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the infant rat. *Dev Psychobiol* 1991;24:547-58.
39. Francis DD, Caldji C, Champagne F et al. (1999) The role of corticotropin-releasing factor-norepinephrine systems in mediating the effects of early experience on the development of behavioral and endocrine responses to stress. *Biol Psychiatry*, 46: 1153-166.
40. Schreiber HL, Bell RW, Kufner M, et al. Maternal behavior: a determinant of amphetamine toxicity in rats. *Psychopharmacology*. 1977;52:173-6
41. Leon M, Croskerry PG, Smith GK. Thermal control of mother-young contact in rats. *Physiol Behav* 1978;21:790-811.

42. Hennessy MB, Vogt J, Levine S. Strain of foster mother determines long-term effects of early handling: evidence for maternal mediation. *Physiol Psychol* 1982;10:153–7.
43. Francis D, Diorio J, Liu D, et al. Nongenomic transmission across generations of maternal behavior and stress responses in the rat. *Science* 1999;286:1155–8.
44. Francis D, Meaney MJ. Maternal care and the development of stress responses. *Curr Opin Neurobiol* 1999;9:128–34.
45. Liu D, Diorio J, Tannenbaum B, et al. Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science* 1997;277:1659–62.
46. Sapolsky RM, Meaney MJ. Maturation of the adrenocortical stress response: neuroendocrine control mechanisms and the stress hypo-responsive period. *Brain Res Rev* 1986;11:65–76.
47. Cirulli F, Gottlieb S, Levine S. Maternal factors regulate stress responsiveness in the neonatal rat. *Psychobiology* 1992;20:143–52.
48. Cirulli F, Gottlieb S, Levine S. Maternal factors regulate stress responsiveness in the neonatal rat. *Psychobiology* 1992;20:143–52.
49. Van Oers HJJ, de Kloet ER, Whelan T, et al. Maternal deprivation effect on the infant's neural stress markers is reversed by tactile stimulation and feeding but not suppressing corticosterone. *J Neurosci* 1998;18:10171–9.
50. Nemeroff CB (1999) The preeminent role of early untoward experience on vulnerability to major psychiatric disorders: The nature-nurture controversy revisited and soon to be resolved. *Mol Psychiatry*, 4: 106-108.
51. Vazquez DM, Lopez JF, Van Oers H, et al. Maternal deprivation regulates serotonin 1A and 2A receptors in the infant rat. *Brain Res* 2000;855:76–82.
52. Dent GW, Smith MA, Levine S. Rapid induction of corticotrophin releasing hormone gene transcription in the paraventricular nucleus of the developing rat. *Endocrinology* 2000;141:1593–8.

53. Levi-Montalcini R. The nerve growth factor: thirty-five years later. *Science* 1987;237:1154–62.
54. Thoenen H. Neurotrophins and neuronal plasticity. *Science* 1995;270:593–8.
55. McAllister AK, Katz LC, Lo DC. Neurotrophins and synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* 1999;22:295–318.
56. Large TH, Bodary SC, Clegg DO, et al. Nerve growth factor gene expression in the developing rat brain. *Science* 1986;234:35–5.
57. Yan Q, Rosenfeld RD, Matheson CR, et al. Expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein in the adult rat central nervous system. *Neuroscience* 1997;78:431–8.
58. Lindholm D, Castren E, Berzaghi MP, Blockl A, Thoenen H. Activity-dependent and hormonal regulation of neurotrophin mRNA levels in the brain—implications for neural plasticity. *J Neurobiol* 1994;25:1362–72.
59. Zafra F, Hengerer B, Leibrock J, et al. Activity-dependent regulation of BDNF and NGF mRNAs in the rat hippocampus is mediated by non-NMDA glutamate receptors. *EMBO J* 1990;9:3545–50.
60. Cirulli F, Alleva E, Antonelli A, et al. NGF expression in the developing rat brain: effects of maternal separation. *Dev Brain Res* 2000;123:129–34.
61. Mann, J.J., McBride, P.A., Malone, K.M., et al. 1995. Blunted serotonergic responsivity in depressed inpatients. *Neuropsychopharmacology* 13, 53–64.
62. Drevets, W.C., Frank, E., Price, J.C., et al. 2000. Serotonin type-1 A receptor imaging in depression. *Nucl. Med. Biol.* 27, 499–507.
63. Graeff, F.G., 1997. Serotonergic systems. *Psychiatr. Clin. N. Am.* 20, 723–79
64. Nutt, D.J., 2001. Neurobiological mechanisms in generalized anxiety disorder.
65. Matthews, K., Dalley, J.W., Matthews, C., Tsai, T.H., Robbins, T.W., 2001. Periodic maternal separation of neonatal rats produces region- and

gender-specific effects on biogenic amine content in postmortem adult brain. *Synapse* 40, 1–10. pp. 11), 22–27.

66. Erdeljan, P., Andrews, M.H., MacDonald, J.F., et al. 2005. Glucocorticoids and serotonin alter glucocorticoid receptor mRNA levels in fetal guinea-pig hippocampal neurons, in vitro. *Reprod. Fertil. Dev.* 17, 743–749.

67. McEwen BS. 1999. Stress and hippocampal plasticity. *Annu Rev Neurosci* 22:105–122. 75. Mazure CM. 1995. Does stress cause psychiatric illness? In: Spiegel D, editor. *Progress in Psychiatry*. Washington DC: American Psychiatric Press. p 270.

68. Singer BH, Ryff CDE. 2001. *New Horizons in Health: An Integrative Approach*. Washington, DC: National Research Council, National Academy Press.

69. Heim C, Nemeroff CB. 2001. The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: Preclinical and clinical studies. *Biol Psychiatry* 49:1023–1039.

70. Aisa B, Elizalde N, Tordera R, et al. Neonatal Stress on Markers of Synaptic Plasticity in the Hippocampus: Implications for Spatial Memory *Hippocampus* 19:1222–1231 (2009)

71. Levine, S., 2005. Developmental determinants of sensitivity and resistance to stress. *Psychoneuroendocrinology* 30, 939–946.

72. Tyrka, A.R., Wier, L., Price, L.H., et al. 2008. Childhood parental loss and adult hypothalamic—pituitary—adrenal function. *Biol. Psychiatry* 63, 1147–1154.

73. McCarthy, M.M., Schwarz, J.M., Wright, C.L., et al., 2008. Mechanisms mediating oestradiol modulation of the developing brain. *J. Neuroendocrinol.* 20, 777–783.

74. Dean, S.L., McCarthy, M.M., 2008. Steroids, sex and the cerebellar cortex: implications for human disease. *Cerebellum* 7, 38–47.

75. Wilber, A.A., Southwood, C.J., Sokoloff, G., et al. 2007. Neonatal maternal separation alters adult eyeblink conditioning and glucocorticoid receptor expression in the interpositus nucleus of the cerebellum. *Dev. Neurobiol.* 67, 1751—1764.
76. McEwen, B.S., 2000. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain Res.* 886, 172—189
77. Rasmuson, S., Olsson, T., Henriksson, B.G., et al. 1998. Environmental enrichment selectively increases 5-HT<sub>1A</sub> receptor mRNA expression and binding in the rat hippocampus. *Mol. Brain Res.* 53, 285–290.
78. Maccari, S., Darnaudery, M., Morley-Fletcher, S., Zuena et al. 2003. Prenatal stress and long-term consequences: implications of glucocorticoid hormones. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 27, 119–127.
79. Weinstock, M., 1997. Does prenatal stress impair coping and regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis? *Neurosci. Biobehav. Rev.* 21, 1–10.
80. Whimbey AE, Denenberg VH (1967) Experimental programming of life histories *Behaviour* 29:296-314
81. Francis, D.D., Diorio, J., Plotsky, P.M., et al. 2002. Environmental enrichment reverses the effects of maternal separation on stress reactivity. *J. Neurosci.* 22, 7840–7843.
82. Lander, E.S., Linton, L.M., et al., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409, 860–921
83. Benaroya-Milshtein N, Hollander N, Apter A, et al. Environmental enrichment in mice decreases anxiety, attenuates stress responses and enhances natural killer cell activity. *Eur J Neurosci* 2004;20:1341–7.
84. Roy V, Belzung C, Delarue C, et al. Environmental enrichment in BALB/c mice: effects in classical tests of anxiety and exposure to a predatory odor. *Physiol Behav* 2001;74:313–20.

85. Martinez-Cue C, Rueda N, Garcia E, et al. Behavioral, cognitive and biochemical responses to different environmental conditions in male Ts65Dn mice, a model of Down syndrome. *Behav Brain Res* 2005;163:174–85.
86. Chamove AS. Cage design reduces emotionality in mice. *Lab Anim* 1989;23:215–9.
87. Rosenzweig MR, Bennett EL. Psychobiology of plasticity: effects of training and experience on brain and behavior. *Behav Brain Res* 1996;78:57–65.
88. Larsson F, Winblad B, Mohammed AH. Psychological stress and environmental adaptation in enriched vs. impoverished housed rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2002;73:193–207.
89. Fernandez-Teruel A, Gimenez-Llort L, Escorihuela RM, et al. Early-life handling stimulation and environmental enrichment: are some of their effects mediated by similar neural mechanisms? *Pharmacol Biochem Behav* 2002;73:233–45.
90. Hollon S.D., Munoz, R.F., Barlow, D.H., et al., 2002. Psychosocial intervention development for the prevention and treatment of depression: promoting innovation and increasing access. *Biol. Psychiatry* 52, 610–630.
91. Hollon S.D., Munoz, R.F., Barlow, D.H., et al., 2002. Psychosocial intervention development for the prevention and treatment of depression: promoting innovation and increasing access. *Biol. Psychiatry* 52, 610–630.
92. Freud S., 1918. From the history of an infantile neurosis. Hogarth Press, London.
93. Weininger, O., 1954. Physiological damage under emotional stress as a function of early experience. *Science* 119, 285–286.
94. B.A. Ellenbroek, N. Derks, H.J. Park, Early maternal deprivation retards neurodevelopment in Wistar rats, *Stress* 8 (2005) 247–257.
95. B.A. Ellenbroek, A.R. Cools, The long-term effects of maternal deprivation depend on the genetic background, *Neuropsychopharmacology* 23 (2000) 99–106.

96. H.A. Slotten, M. Kalinichev, J.J. Hagan, et al. Fone, Long-lasting changes in behavioural and neuroendocrine indices in the rat following neonatal maternal separation: gender-dependent effects, *Brain Res.* 1097 (2006)123–132.
97. Iwasaki, S., Inoue, K., Kriike, N., et al. 2000. Effect of maternal separation on feeding behavior of rats in later life. *Physiol. Behav.* 70, 551–556.
98. Curzon, G., 1990. Serotonin and appetite. *Ann. NY Acad. Sci.* 600, 521–530.
99. Lee, J.H., Kim, H.J., Kim, J.G., et al. 2007. Depressive behaviors and decreased expression of serotonin reuptake transporter in rats that experienced neonatal maternal separation. *Neurosci. Res.* 58, 32–39
100. Leibowitz, S.F., Alexander, J.T., 1998. Hypothalamic serotonin in control of eating behavior, meal size, and body weight. *Biol. Psychiatr.* 44,851–864.
101. Chapillon P, Manneche C, Belzung C, et al Rearing environmental enrichment in two inbred strains of mice. 1. Effects on emotional reactivity. *Behav Genet* 1999;29:41–6.
102. Roy V, Belzung C, Delarue C, et al. Environmental enrichment in BALB/c mice: effects in classical tests of anxiety and exposure to a predatory odor. *Physiol Behav* 2001;74:313–20.
103. Van de Weerd HA, Aarsen EL, Mulder A, et al. Effects of environmental enrichment for mice: variation in experimental results. *J Appl Anim Welf Sci* 2002;5:87–109.
104. Chu J .Y .The effects of environmental enrichment on stress- induced eating disturbances in rats .A thesis in psychology 2008 .University of Canterbury
105. Newport, J.D., Stowe, Z.N., Nemeroff, C.B., 2002. Parental depression: animal models of an adverse life event. *Am. J. Psychiatr.* 159, 1265–1283.
106. Daniels, W.M., Pietersen, C.Y., Carstens, M.E., et al 2004. Maternal separation in rats lead to anxiety-like behavior and a blunted ACTH response and altered neurotransmitter levels in response to a subsequent stressor. *Metab. Brain Dis.* 19, 3–14.
107. Khoury, A.E., Gruber, S.H.M., Mork, A., et al 2006. Adult life behavioral consequences of early maternal separation are alleviated by escitalopram treatment in a rat model of depression. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatr.* 30, 535–540.

108. Fuente. M. ,Liorente R, I. Baeza, D. N., et al. Early maternal deprivation in rats a proposed animal model for the study of developmental neuroimmunoendocrine interactions .*Neuroimmunomodulation*: 2009 176–183
109. Daniels, W.M., Pietersen, C.Y., Carstens, M.E., et al. 2004. Maternal separation in rats lead to anxiety-like behavior and a blunted ACTH response and altered neurotransmitter levels in response to a subsequent stressor. *Metab. Brain Dis.* 19, 3–14.
110. Farkas, J. Reglodi D, Szogyi D. 2009. Effects of maternal separation on the neurobehavioral development of newborn Wistar rats *Brain Research Bulletin* 79 , 208–214
111. Zhang L-X, Levine S, Dent G, et al. Maternal deprivation increases cell death in the infant rat brain. *Dev Brain Res* 2002;133:1–11.
112. Pham TM, Soderstrom S, Henriksson BG, et al. Effects of neonatal stimulation on later cognitive function and hippocampal nerve growth factor. *Behav Brain Res* 1997;86:113–20.
113. M. Marmendal, E. Roman, C.J. Eriksson, et al. Maternal separation alters maternal care, but has minor effects on behavior and brain opioid peptides in adult offspring, *Dev. Psychobiol.* 45 (2004) 140–152.
114. H.A. Slotten, M. Kalinichev, J.J. Hagan, et al. Long-lasting changes in behavioural and neuroendocrine indices in the rat following neonatal maternal separation: gender-dependent effects, *Brain Res.* 1097 (2006)123–132.
115. Plotsky, P.M., Meaney, M.J., 1993. Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. *Mol. Brain Res.* 18, 195–200.
116. Liu, D., Diorio, J., Tannenbaum, et al. 1997. Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science* 277,1659–1662.
117. Macri, S., Mason, G.J., Wurbel, H., 2004. Dissociation in the effects of neonatal maternal separations on maternal care and the offspring's HPA and fear responses in rats. *Eur.J. Neurosci.* 20, 1017–1024.

118. Plotsky, P.M., Meaney, M.J., 1993. Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. *Mol. Brain Res.* 18, 195–200.
119. Liu, D., Diorio, J., Tannenbaum, et al 1997. Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science* 277,1659–1662.
120. Macri, S., Mason, G.J., Wurbel, H., 2004. Dissociation in the effects of neonatal maternal separations on maternal care and the offspring's HPA and fear responses in rats. *Eur.J. Neurosci.* 20, 1017–1024.
121. Roy V, Chapillon P. Further evidences that risk assessment and object exploration behaviours are useful to evaluate emotional reactivity in rodents. *Behav Brain Res* 2004;154:439–48.
122. Roy V, Chapillon P. Further evidences that risk assessment and object exploration behaviours are useful to evaluate emotional reactivity in rodents. *Behav Brain Res* 2004;154:439–48.
123. Laviola G, Hannan AJ, Macri` S, et al (2008) Effects of enriched environment on animal models of neurodegenerative diseases and psychiatric disorders. *Neurobiol Dis* 31:159–16
124. Roy V, Belzung C, Delarue C, et al. Environmental enrichment in BALB/c mice: effects in classical tests of anxiety and exposure to a predatory odor. *Physiol Behav* 2001;74:313–20.
125. Ramey CT, Ramey SL (1998) Early intervention and early experience. *Am Psychol* 53:109–120.
126. Marashi V., Barnekow A., Ossendorf E. Effects of different forms of environmental enrichment on behavioral, endocrinological, and immunological parameters in male mice. *Hormones and Behavior* 43 (2003) 281–292
127. Gruss, M., Braun, K., Frey, J.U., et al. 2008. Maternal separation during a specific postnatal time window prevents reinforcement of hippocampal long-term potentiation in adolescent rats. *Neuroscience*
128. Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review *Euro J Pharmacol* 2003; 463: 3-33

129. Espejo EF. Structure of the mouse behaviour on the elevated plus-maze test of anxiety. *Behav Brain Res* 1997; 86: 105-112
130. File SA, Andrews N, Hoggs S. New developments in animal tests of anxiety. In: Westenberg HGM, Den Boer JA, Murphy DL, editors, *Advances in the Neurobiology of Anxiety Disorders*, Wiley, Chichester 1996: 61-79

