

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ

PROJE NO: EÜBAP – TSA–11–3075

Proje Yöneticisi
Prof. Dr. Asuman GÖLGELİ

Araştırmacılar
Prof. Dr. Cem SÜER
Yard. Doç. Dr. Aişe Seda Artış,
Araş.Gör.Dr.Demet TİMUR, Soner BİTİKTAŞ

KASIM 2012

KAYSERİ

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ**

**GEBELİKTE ALKOL KULLANIMININ YENİDOĞANDA OLUŞTURACAĞI
DUYUSAL, MOTOR VE KOGNİTİF FONKSİYON BOZUKLUKLARINA
GEBELİK SÜRECİNDE UYGULANAN OMEGA ÜÇÜN ETKİSİ**

Proje Yöneticisi: Prof. Dr. Asuman GÖLGELİ

**Araştırmacılar: Prof. Dr. Cem SÜER, Yard. Doç. Dr. Aişe Seda
Artış,Araş.Gör.Dr.Demet TİMUR, Soner BİTİKTAŞ**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TSA-11-3705 nolu proje ile desteklenmiştir.**

KASIM-2012

KAYSERİ

ONAY

Bu projenin kabulü Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunun tarih vesayılı kararı ile onaylanmıştır.

..... / /

EÜBAP Komisyonu Başkanı

Mühür ve İmza

GEBELİKTE ALKOL KULLANIMININ YENİDOĞANDA OLUŞTURACAĞI DUYUSAL, MOTOR VE KOGNİTİF FONKSİYON BOZUKLUKLARINA GEBELİK SÜRECİNDE UYGULANAN OMEGA ÜÇÜN ETKİSİ

ÖZET

Bu çalışmada, gebelikte alkol kullanımının yenidoğanda oluşturacağı duysal, motor ve kognitif fonksiyon bozukluklarına, gebelik sürecinde uygulanan omega üçün etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır.

Çalışma;3 aylık 9 adet Sprague Dawley sıçandan doğacak 43 adet sıçan ile gerçekleştirildi. Hayvanlar üç gruba (kontrol(n:12), alkol (n:15)ve alkol+omega 3(n:16), her birinde) ve her bir grup 2 alt deney grubuna (davranış testleri, LTP kaydı) ayrıldı. Gebeliğin 5-17.günleri arasında 6 gr/kg/gün etanol ve 0.4gr/kg/gün omega 3 gava j ile verildi.

Açık alan testinde lokomotor aktiviteyi değerlendirmek için karelere ayrılmış plastik bir araç kullanıldı. Hayvanın aktivite seviyesi 5 dk süre içerisinde geçtiği kare sayısı iki arka ayağı üzerine kalkarak etrafı inceleme hareketi sayısı ile ölçüldü.

Morris water maze kaçma platformu içeren su tankı içinde dört ardışık gün her günde 4 yüzdürme yaptırılarak öğrenme periyodu ve beşinci gün platform kaldırılıp 2 dakika olacak şekilde bir kez yüzdürülerek öğrenme ve bellek test edildi.Öğrenme periyodunda sıçanın su tankında platformu bulana kadar kat ettiği toplam yol uzunluğu, platformu bulma süresi, yüzme hızı; test periyodunda ise platformun kaldırıldığı hedef kadranda geçirilen sürenin tankta geçirilen toplam sürenin %' si cinsinden değerleri ve yüzme hızı istatistiksel olarak analiz edildi.

Horizontal bar testi ile hayvan ön ekstremitelerinden cihaza asılarak motor kuvvete bakıldı.

Sıcak tabaka testi; hayvanların ısıtılmış cihazın üzerine konmalarından sonra ayaklarını kaldırma süresi termal uyarıya cevap olarak değerlendirildi.

Uretan anestezisinden sonrası sağ kalan 22 sıçan stereotaksik alete yerleştirildi. Bipolar tungsten elektrot ile medyal perforan yol uyarıldı. Aynı hemisferdeki dentat girusun granül hücre tabakasına yerleştirilen cam mikropipet ile eksitatör postsinaptik alan potansiyelleri (EPSP) kaydedildi. 15 dakikalık baseline EPSP kaydından sonra, uzun süreli potansiyasyon (LTP), yüksek frekanslı tetanik uyarı ile 5 dakikada bir 4 kez uyarılarak kaydedildi.

Anahtar Kelimeler: Ethanol, omega 3, öğrenme, davranış, duysal gelişim, motor gelişim, long term potansiyelizasyon

THE EFFECT OF THE OMEGA-THREE ALCOHOL USE DURING PREGNANCY CONSTITUTE A NEWBORN SENSORY, MOTOR AND COGNITIVE DYSFUNCTION DURING PREGNANCY

SUMMARY

In this study, alcohol use during pregnancy constitute a newborn sensory, motor and cognitive dysfunction during pregnancy, whether or not the effect of the omega-three, was investigated.

Study performed with 43 rats which was going to born 3-month old Sprague Dawley 9 rats. Three groups of animals (control (n = 12), alcohol (n = 15) and alcohol + omega-3 (n = 16), each), and each experimental group was lower in group 2 (behavioral tests, LTP registration) was separated. Days 5-17 of gestation to 6 grams / kilogram / day of ethanol and 0.4gram / kg / day were administered by gavage omega 3.

Locomotor activity in open field test was used to assess the squares separated by a plastic tool. The number of frames passed in the pet's activity level for 5 minutes and stood up on two legs around the back of the movement was measured by examination.

Morris water maze escape platform in the water tank containing four consecutive days every day and the fifth day of the period of four flotation learning platform has been built to be lifted once the float 2 minutes learning and memory were tested. In the learning period times until rats find a hot water tank platform, the total path length, finding the time and swimming speed was analyzed. In the test period, time spent in the target quadrant of the platform removed and the total time on the tank and swimming speed in% values were analyzed statistically.

Horizontal bar test animals by hanging the device front extremity motor strength were measured.

Hot-plate test, the animals are released to the heated device on their feet after the removal period in response to thermal warning were assessed.

Urethane after anesthesia, the right remaining 22 rats were placed in the stereotaxic instrument. the medial perforating way stimulated with bipolar tungsten electrode. The dentate gyrus granule cell layer of the glass micropipette placed in the same hemisphere and the excitatory postsynaptic potentials (EPSP) were recorded. After recording a 15-minute baseline EPSP, long-term potentiation (LTP), with the caveat that the high-frequency tetanic stimulation was recorded every 5 minutes four times

Keywords: ethanol, omega 3, öğrenme, davranış, duyuşal gelişim, motor gelişim, long term potansiyelizasyon.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
İÇ KAPAK.....	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI	iii
KABUL VE ONAY SAYFASI	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ÖZET	vi
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO LİSTESİ.....	xi
ŞEKİL VE GRAFİK LİSTESİ	xii
KISALTMALAR	xiii
 1.GİRİŞ VE AMAÇ	 1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1.YAĞLAR.....	2
2.2.ETİL ALKOL	2
2.2.1. Etil Alkolun Farmakokinetik Özellikleri	3
2.2.2.Etil Alkolun Davranış Üzerine Etkileri	4
2.2.3. Etil Alkolun Teratojenik Etkisi	4
2.3. FETOTOKSİSİTE	4
2.4. ÖĞRENMEVE BELLEK	5
2.4.1.Öğrenmede Rol Alan Beyin Bölgeleri	5
2.5. HİPOKAMPUS	5
2.5.1. Anatomisi	6
2.5.2. Hipokampusun Yapı ve Fonksiyonu	6
2.5.3. Hipokampusun Elektrofizyolojisi	7
2.6.UZUN SÜRELİ POTANSİYALİZASYON	7
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	9
3.1. Çalışma Grupları.....	9

3.2. Davranış, Öğrenme ve Hafıza Çalışmaları	9
3.2.1 Açık Alan (Open Field Area) Testi	10
3.2.2.Morris water maze	10
3.2.3.Sıcak Tabaka (Hot Plate) Testi	1
3.2.4.Yatay Bar (Horizontal Bar) Testi	12
3.3.Elektrofizyolojik Kayıtlar	12
3.3.1. Uyarı ve Kayıt.....	13
3.3.2. Tipik Elektriksel Yanıtın Elde Edilmesi	13
3.3.3. Veri Kazanımı ve Uyarım.....	14
3.3.4. Girdi-Çıktı Eğrileri “Input – Output (I/O) Curve”	14
3.3.5. Uzun Erimli Güçlenme	15
3.3.6. Veri Analizi ve İstatistik	15
4. BULGULAR.....	16
4.1.Açık Alan Test Sonuçları	16
4.2.Sıcak Tabaka ve Horizontal Bar Sonuçları	16
4.4.Uzun Dönemli Güçlenme ve Popülasyon Spike Kayıtlarının Sonuçları	18
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	22
6. KAYNAKLAR	24

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 4.1.	Açık alan düzeneğinde sıçanların davranış parametreleri ortalama $\pm$ standart hata, F ve p değerleri	
Tablo 4.2.	Sıcak tabaka ve Horizontal bardaki tutunma süreleri ortalama ve standart hata ,F,p değerleri	
Şekil.2.1.	Limbik sistem içerisinde incelenen yapılar arasındaki bağlantılar	
Şekil.3.1.	Deney hayvanlarına gavaj ile etanol ve omega3 uygulaması.....	
Şekil.3.2.	Açık alan test düzeneği	
Şekil.3.3.	Morris water maze test düzeneği.....	
Şekil.3.4.	Hot plate cihazı test düzeneği.....	
Şekil.3.5.	Tipik kaydın eldesi sırasında örnek bir deneyden kaydedilen elektiriksel aktivite	
Şekil.4.1.	Moris Water-maze su tankında kontrol, alkol alan ve alkol+omega-3 alan grupların, ilk 4 günlük öğrenme periyodunda ortalama yüzme mesafesi (cm).....	
Şekil.4.2.	Moris Water-maze su tankında kontrol, alkol alan ve alkol+omega-3 alan grupların, ilk 4 günlük öğrenme periyodunda ortalama yüzme hızı(cm/sn).....	
Şekil.4.3.	Moris Water-maze su tankında kontrol, alkol alan ve alkol+omega-3 alan grupların, ilk 4 günlük öğrenme periyodunda ortalama platformu bulma süreleri (sn).....	
Şekil.4.4.	EPSP-Uzun Dönemli Güçlenme sonuçları.....	
Şekil.4.5.	Popülasyon Spike-Uzun dönemli Güçlenme sonuçları	
Şekil.4.6.	Popülasyon Spike-In put-Out put eğrileri	
Şekil.4.7.	EPSP-In put-Out put eğrileri	

KISALTMALAR VE SİMGELER

ADH	Aldehid dehidrogenaz
AMPA	Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazol-propionik asit
ATP	Adenozin trifosfat
BOS	Beyin omurilik sıvısı
CO ₂	Karbondioksit
CREB-	cAMP response element binding
Ca	Kalsiyum
cAMP	Siklik adenilat mono fosfat
cGMP	Siklik guanilat mono fosfat
DHA	Docosaheptaenoic acid
dk	Dakika
EPA	Eicosapentaenoic acid
EPSP	Eksite edici postsinaptik potansiyel
FADH ₂	Flavinamid dinukleotid
FAS	Fetal Alkol Sendromu
FASB	Fetal Alkol Spektrumu Bozuklukları
gr	Gram
HFS	High frekans stimülasyon
kg	Kilogram
ip	İntraperitoneal (periton içine)
Hz	Hertz
LTP	Uzun süreli potansiyasyon (Long-Term potentiation)
Mg	Magnezyum
mRNA	Mesenger ribonükleik asit
Na	Sodyum
NaCl	Sodyum klorür
NAD	Nikotinamid dinukleotid
NADH	Nikotinamid dinukleotid (indirgenmiş)
NK	Natural killer
NMDA	N-methyl-aspartate
NO	Nitrik oksit

NOS	Nitrik oksit sentetaz
PK C	Protein kinaz C
PS	Population spike
s	Saniye
ms	milisaniye
SSS	Santral sinir sistemi
I-O	Input-Output değeri
PS	Popülasyon spike
mA	miliamper
YFU	Yüksek frekanslı uyaran

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Etanol tüm dünyada yaygın olarak tüketilmektedir. İnsanlarda ve kemirgenlerde yapılan çalışmalar, gebelik süresince etanol kullanımının fetal gelişimde zararlı etkiler oluşturduğunu göstermektedir. Gebelikte alkol kullanımı, abortus, ölü doğum, bebekte gelişme geriliği, baş ve yüz gelişim kusurları, zeka geriliği davranışsal gerilik gibi istenmeyen durumların oluşmasına neden olabilmektedir. Gelişmiş ülkelerde zeka geriliğinin belirlenebilen en önemli nedeni, annenin gebelikte alkol kullanmasıdır. Alkol kadınların vücudundan erkeklere göre daha uzun sürede atılır. Gebelik döneminde kullanılan alkolün bebekte istenmeyen durumlar oluşturması, alınan alkol miktarı ile doğru orantılıdır.

Omega 3 yağ asitleri DHA ve EPA olarak ikiye ayrılır ve bütün hücreler, temel yapı taşı olarak omega 3 yağ asidine sahiplerdir. Omega 3, glial hücre aktivasyonu, nöroenez ve miyelinizasyonun normal gelişimi için önemli bir yapı taşıdır. Gebelik ve emzirme dönemlerinde annelerin, omega 3 tüketmeleri bebeklerinin beyin gelişimlerini önemli ölçüde geliştirebilmektedir. Literatürde gebelikte alkol kullanımının fetus üzerindeki etkilerini gösteren çalışmalar varsa da alkol ile beraber omega 3 alımının nasıl etki ettiğini gösteren tek bir davranış çalışmasından başka araştırmaya rastlanmamıştır.

Bu projede gebelikte alkol kullanımının yenidoğanda oluşturacağı duyuşal, motor ve kognitif fonksiyon bozukluklarına, gebelik sürecinde uygulanan omega 3'ün etkisinin hem davranış testleri hem de beyinden kaydedilen uzun süreli potansiyalizasyon kayıtları ile araştırılması planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.YAĞLAR

Yağlar, insan organizması için gerekli olan en önemli unsurlardan biridir. Bunlar sadece yüksek enerji kaynağı olamayıp aynı zamanda yağda çözünen vitaminleri bulundurmaları, proteinlerle birleşerek lipoproteinleri oluşturmaları ve kan lipit düzeylerinde rol oynamaları bakımından oldukça önemlidirler. Doymuş ve doymamış yağ asitleri olarak iki çeşittirler. Yağ asitleri, yağın doymuşluk derecesini gösteren farklı uzunluktaki karbon zincirinden oluşan trigliseridler olduklarından hem kompleks lipitlerin önemli bir parçası hem de kendisinden kolayca enerji sağlanan bir kaynaktır. Doymuş yağ asitleri oda sıcaklığında katı halde bulundukları için vücutta birikebilirler. Doymamış yağ asitleri de tekli doymamış (monoansature) ve çoklu doymamış (poliansature) yağ asitleri olarak iki gruba ayrılır. Çoklu doymamış yağ asitleri ise oda sıcaklığında sıvı haldedirler ve aynı zamanda insan hayatının devamlılığı için de çok önemlidirler. Temel yağ asitleri, n-6 ve n-3 yağ asitleri olmak üzere iki gruba ayrılırlar. n-6'ların ana kaynağı yüksek oranda linoleik asit içeren mısır ve soya fasulyesi yağdır. n-3 ise keten tohumu, ceviz ve özellikle planktonlar ile yağlı balıklarda bol miktarda bulunur, keten tohumu ve cevizde alfa-linolenik asit, balık yağlarında ise Eikosapentaenoik asit (EPA) ve Dekosahegzaenoik asit (DHA) en önemli yağ asitleridir. n-3 serisi yağ asiti olan EPA ($C_{20}:5, n-3$), dekosapentaenoik asit (DPA- $C_{22}:5, n-3$) ve DHA ($C_{22}:6, n-3$), balıklarda bol olarak bulunur.

Balık yağlarının yağ asidi kompozisyonu üzerinde ilk çalışmalar 1952 yılında başlamıştır. Daha sonraki yıllarda yapılan araştırmalar balık yağlarının yapısının daha iyi anlaşılmasını sağlamış, son yıllarda yapılan balık yağlarının insan sağlığı üzerine olan olumlu etkileri balık lipidlerine olan ilgiyi artırmıştır. Bütün hücreler, temel yapı taşı olarak omega 3 yağ asidine sahiplerdir. Omega 3, glial hücre aktivasyonu, nörogenez ve miyelinizasyonun normal gelişimi için önemli bir yapı taşıdır. Gebelik ve emzirme dönemlerinde anneler, omega 3 tüketmeleri bebeklerinin beyin gelişimlerini önemli ölçüde geliştirebilmektedir. EPA ve DHA'nın mutlaka dışardan alınması gerekir. Çünkü vücut tarafından sentezlenemedikleri için elzem yağ asitleri olarak adlandırılırlar.

2.2.ETİL ALKOL

Alkol terimi, doymuş bir karbon atomuna bağlı hidroksil grubundan oluşan geniş bir grup organik molekülü kapsar. Halk arasında 'alkol' diye adlandırılan "etilalkol" ya da etil alkol içeren içecekler, ilk çağlardan itibaren insanlar tarafından kullanılan keyif verici maddeler arasında yer almaktadır. Alkol (etil alkol) basit bir moleküldür ve karbonhidratların fermantasyonu veya distilasyonu sonucu elde edilmektedir. Etil alkol ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$) renksiz, ucucu, kendine özgü kokusu ve tadı olan yanıcı bir sıvıdır. Günümüzde alkolün ergin insanlardaki etkileri bilinmektedir. Ancak etil alkolün özellikle embriyo gelişimine etkileri 1940'lara kadar üzerinde durulacak bir konu olarak değerlendirilmemiştir. Gebe kadınlarda alkol alındığında, alkol plasental fetal dolaşıma kolayca geçebilir ve fetus kan konsantrasyonu anne kanındakine eşit olabilir (1).

2.2.1. Etil Alkolün Farmakokinetik Özellikleri

İçilen düşük konsantrasyonlu (%5-30) etil alkolün %10 kadarı mide bağırsak kanalından pasif difüzyonla, geri kalanı ince bağırsaklardan hızlı bir şekilde absorbe olur. Emilme hızı alınan besinlere, alkolün konsantrasyonuna bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Etil alkol içildikten sonra ince bağırsaklardan, suyun emilmesine eşit hızda ve içerdiği alkol konsantrasyonuyla orantılı olarak hızlı bir şekilde emilir. Alkol bir kez içildiğinde mide boşalmasını azaltır, bağırsak kan akımını artırır ve midede irritasyona sebep olur. Alkol, vücutta bütü sıvı kompartmanlara kolayca geçer, ayrıca plazma proteinlerindeki bağlanma alanlarının sayısını değiştirerek veya albumin konsantrasyonunu azaltarak, ilaçların proteinlere bağlanmasını değiştirebilir. Alkol plasenta bariyerini kolayca geçebilir. İçilen etil alkolün yaklaşık % 90'ı karaciğerde

oksidasyon reaksiyonuyla biyotransforme olmakta ve geri kalanı böbrek ve akciğerler yoluyla değişmeden atılmaktadır. Etil alkolün vücuttan atılımı ilk olarak asetaldehite, daha sonra asetat (asetil – CoA ya aktive olur) su ve CO₂' e dönüşme sonucunda olmaktadır. Etil alkol yağ dokusunda toplanmaz. Kadınlarda vücut yağ oranı daha fazla olduğundan, etil alkolün sanal dağılım hacmi erkeklerinkinden daha azdır. Kadınlarda alkolün midede yıkılma hızı daha düşük olduğundan aynı miktar alkol alan kadınlarda kan alkol düzeyi daha yüksek olmaktadır. Kronik olarak fazla miktarda alkol alanlarda hepatositlerin oksijen ve ATP tüketimi hızlanır, hepatositlerde piruvat / laktat oranı 6.5 kez azalır. NAD⁺'nin rejenerasyon hızının kısıtlı olması nedeniyle NADH / NAD⁺ oranı yüksek olmaktadır. Alkol metabolize eden karaciğer dışı dokulardan en önemlisi olan mide mukozasında, alkol dehidrogenaz etkinliğinin, kadınlarda erkeklerinkinin yaklaşık yarısı kadar ve mide mukozasından absorbe edilen alkolün yıkılma hızının erkeklerinkinin yaklaşık 1/4'ü kadar olduğu saptanmıştır. Alınan alkol miktarına ve kandaki konsantrasyonuna bağlı olarak beyin inhibitor kontrol mekanizmalarının deprese olması sonucu, başlangıçta psişik daha sonraları sensöriyel ve nörolojik değişikliklere neden olmaktadır (1).

2.2.2.Etil Alkolün Davranış Üzerine Etkileri

En önemli etkisi SSS üzerinde depresyon ve disinhibisyon yapmasına bağlı olarak oluşan davranışsal etkilerdir. Az miktarlarda alındığında sedasyon, anksiyete, endişe, sıkılganlık ve sorumluluk duygusunun azalmasına neden olur. Yüksek doz alkol alındığında ise reflekslerde azalma, hipotermi ve koma gibi doza bağlı çeşitli bozukluklar gözlenmektedir. İnsanlarda ve hayvanlarda kronik olarak etil alkole maruz kalma sonucunda SSS ile ilgili olarak hassasiyette ve toleransta azalma gibi sonuçlar görülmektedir. Alkol etkisi altında olan kişilerde kognitif yeteneklerde azalma, zihinden aritmetik işlemleri ve beceri isteyen işleri hatasız yapmada zorlanma, psikomotor testlerdeki başarı oranında azalma ve atletik performansta düşme gözlenmektedir (1).

2.2.3.Etil Alkolün Teratojenik Etkisi

Etil alkol embriyotoksik ve fetotoksik etkili bir maddedir. Gebelik boyunca annenin sık alkol alması durumlarında spontan düşükler, normal kilonun altında doğan bebekler, mikrosefali, palpebra aralığının darlığı, burun basıklığı, üst dudak ve kalp-damar anomalileri, kognitif bozukluklar olduğu kadar bazı fiziksel anormallikler ve buna bağlı olarak ilk yılda gelişme ve zeka geriliği gibi çeşitli malformasyonlar ortaya çıkmaktadır.

Alkol, fetusta somatik ve mental fonksiyonları geciktirici bir etki yapar. Bu durum alkolik kadınlardan doğan çocuklarda çok sık görülür. Gebelik sırasında, güvenli alkol içme miktarı yoktur (1).

2.3. FETOTOKSİSİTE

Gelişen embriyoyu etkileyerek fetal anomalilere neden olan teratojen etki oluşturan maddelerin başında alkol, nikotin, eroin ve ilaçlar gelmektedir. Bu maddeler etkilerini direk veya indirek şekilde göstermektedir . Üçüncü ayın başından doğuma kadar olan, fetus'un hızlı büyümesi, doku ve organların olgunlaşması ile karakterize döneme fetal dönem denir (2). Fetotoksosite, fetus normal gelişiminin bir takım etkenler sonucu (vücut ağırlığında kayıp, kemik gelişiminde veya organ gelişiminde gerilik vb.) bozukluğu olarak tanımlanmaktadır. Fetotoksosite genel olarak anneye ait toksisite sonucu ortaya çıkmaktadır. Embriyotoksosite ve fetotoksitenin ortaya çıkmasında anne, plasenta ve fetus faktörlerinin ayrı ayrı önemleri vardır(3).

2.4. ÖĞRENME VE BELLEK

Öğrenme , deneyimler sonucu davranışın değiştirildiği sinirsel bir mekanizmandır. Merkezi sinir sisteminin yüksek seviyeli işlevlerinden olan bellek, deneyimlerin sonucunda organizmanın geliştirdiği, değiştirdiği davranışın (öğrenmenin) bir süre için (anlık, kısa veya uzun süreli) daha kolayca ve daha mükemmel şekilde tekrarlanabilmesi ve davranış üzerindeki stabil bir değişimin kazanımı olarak tanımlanabilir. Bellek bu bilginin depolandığı ve geri çağırıldığı bir süreçtir (4). Öğrenme ve belleği gerçekleştiren nöronal süreçle, çevreye karşı bireyin adaptasyonu için önemlidir. Kandel'e göre bellek dış dünya hakkındaki bilginin kodlandığı, saklandığı ve geri çağırıldığı sürece denir (5). Bir başka ifade ile nöronal ağlar vasıtasıyla yeni bir bilginin kodlanması veya ağın yeni uyarılar ile modifiye edilmesi *öğrenme* , kodlanan ya da modifiye edilen bilginin geri çağırılması *bellek* olarak tanımlanabilir.

2.4.1. Öğrenmede Rol Alan Beyin Bölgeleri

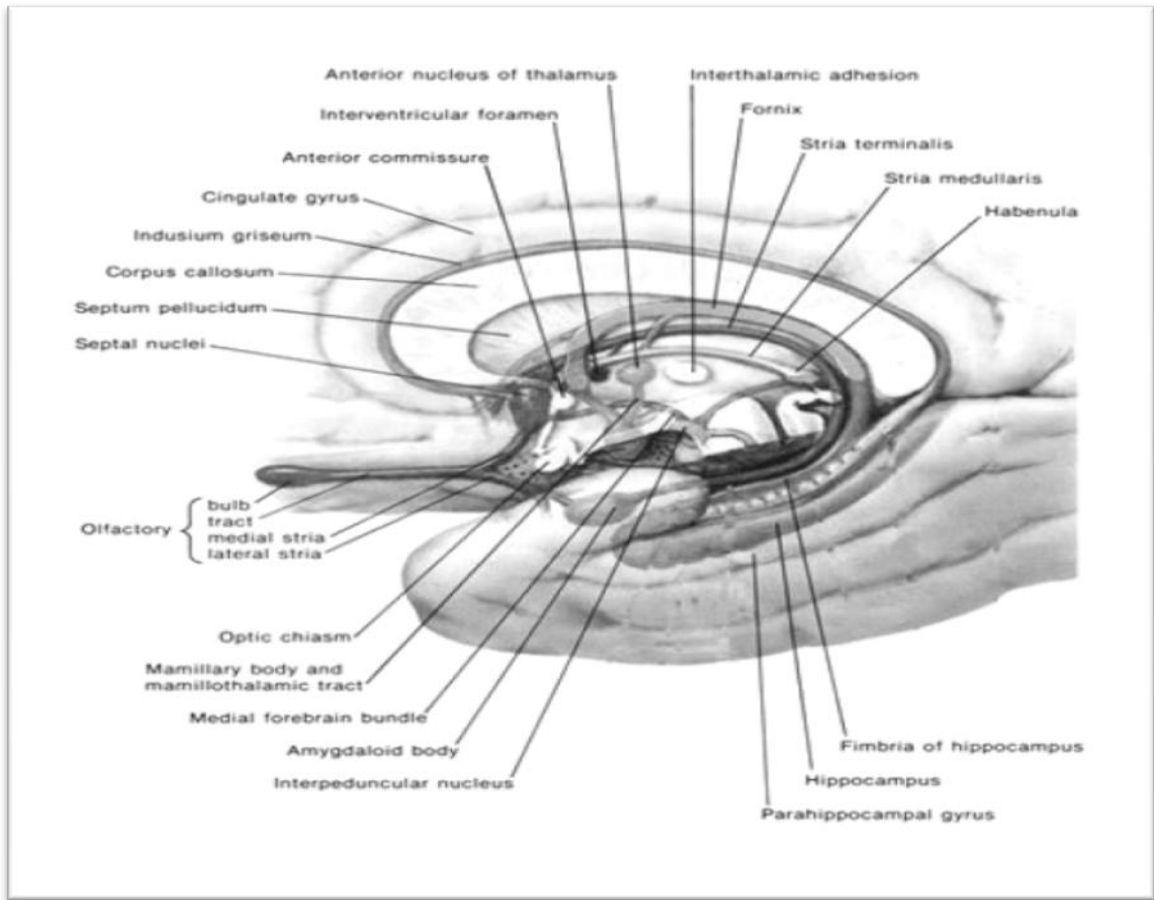
Neokorteks, bazal gangliyonlar, talamus, frontal loblar, amigdala, serebellum, hipokampus öğrenmede rol alan önemli beyin yapılarıdır. Neokorteks implisit (örtülü) ve prosedural (yöntemsel) bellekte önemli rol oynar (6). Emosyonel bellekte amigdala, motor programların öğrenilmesinde, hareketlerin planlanmasında, bilişsel-uzamsal

ilişkilerin ayarlanmasında serebellum, çalışma belleğinde prefrontal korteks, hafızanın depolanması ve yeni bilgilerin öğrenilmesinde de hipokampus önemli rol oynar. Hipokampus lezyonu spasyal öğrenmeyi bozar.

2.5.HİPOKAMPUS

2.5.1.Anatomisi

Hipokampus, temporal korteksin lateral ventrikülünün alt boynuzunun tabanı boyunca uzanan, kıvrılmış bir gri cevher kabartısıdır (şekil 1).



Şekil 2.1. Limbik sistem içerisinde incelenen yapılar arasındaki bağlantılar.

2.5.2.Hipokampusun Yapısı ve Fonksiyonları

Hipokampus, limbik sistem içerisinde önemli fonksiyonlarıyla odak noktasını oluşturmaktadır. Hipokampus ve ona bağlı temporal lop yapıları; serebral korteks, amigdala, hipotalamus, septum, mamiller cisimler gibi temel limbik sistem bölgeleriyle sayısız indirekt bağlantılar gösterir ve "hipokampal formasyon" adını alır. Hipokampus,

hiperekstabilite özelliğine sahiptir. Hafif elektriksel uyarılmasında, uyarı bittikten sonra saniyelerce süren bir epileptik nöbet gözlenir. Bu da hipokampüsün normal koşullarda bile uzun süren sinyaller yaydığını gösterir. Hareket, yürüme ve diğer motor işlerde major rol oynamaktadır. Öğrenme ve hafıza, limbik sistem de dahil olmak üzere, SSS'nin birçok bölgeleri ile ilgili kompleks fonksiyonlardır. Yeni edinilen bilgilerin depolanmasında hipokampal formasyonun önemli rolü olduğu bilinmektedir. Hipokampusu etkileyen lezyonu olan hastalarda kısa süreli hafızanın uzun süreli hafızaya dönüştürülemediği gözlemlenmiştir. Lezyonun sol hipokampusta olduğu zamanda daha çok sözel hafıza etkilenirken, sağda olduğu durumlarda görsel hafıza etkilenmektedir. Hipokampusun iki taraflı ablasyonunda kişi, hergün gördüğü insanların bile yüz ve isimlerini hatırlamayabilir. Ancak hiç ilgisiz, başka bir faaliyet sırasında bir anlık bir hatırlama olabilir (7).

2.5.3.Hipokampusun Elektrofizyolojisi

Hipokampal formasyonun tüm nöron ve internöronları, kronik elektrot yerleştirilmiş serbestçe hareket edebilen deney hayvanlarında kaydedilebilen bir elektriksel aktivite gösterir. Böyle bir kayıta hipokampüse yerleşmiş olan elektrodun etrafındaki nöron topluluğunun ortak aktivitesinden doğan ekstrasellüler akımlar, yerel alan potansiyeli (YAP) denilen bir potansiyel değişiminin kaydına neden olur (8). Sıçan hipokampusundan kaydedilen YAP'leri, ritmik ve ritmik olmayan iki çeşit aktivite gösterir. Ritmik aktivite delta (1-4 Hz), teta (5-12 Hz), gama (30-100 Hz) ve dalga (100-200 Hz) frekans bantları olarak 4'e ayrılabilir. Bu tür ritmik aktiviteler, nöronal popülasyonun senkronize periyodik aktivitesinden ve hipokampal formasyonun afferent girdilerinden meydana gelir. Bunun aksine, ritmik olmayan aktivite hipokampal nöronların periyodik olmayan aktivitesinden kaynaklanır. Ritmik olmayan küçük ve büyük genlikli aktivite (SIA ve LIA) olarak adlandırılan iki tipi vardır. Ritmik olmayan genellikle delta dalga aktivitesi gibi, pasif ya da tamamlayıcı davranışsal durumlar ile ilişkilidir. Bunun aksine, teta, beta ve gama aktiviteleri hareketli ve aktif davranışlar ile ilişkilidir (8).

Teta aktivitesi, piramidal ve granül hücre sinapslarının potansiyasyonunu ya da depotansiyasyon gücünü değiştirmesi nedeni ile özellikle önemlidir (9). Sinaptik etkinliğin saatlerden günlere uzanansürelerde güçlenmesi şeklinde tanımlanabilen ve hipokampal sinapsların en önemli özelliği olan Uzun Süreli Potansiyalizasyon (USP,

LTP-Long Term Potentiation) (10) invitro koşullarda teta frekansında uyarılarla indüklenebilir (9).Yüksek frekanslı uyarı, teta aktivitesini oluşturandalganın zirvesi ile senkronize olursa, en belirgin şekilde ortaya çıkar; teta bandının çukuru ile senkronize olursa USP meydana gelmez hatta sinaptik etkinlik azalır (11-13).

2.6.UZUN SÜRELİ POTANSİYALİZASYON

Öğrenme ve belleğin elektrofizyolojik göstergesi olarak kullanılmaktadır. Yarım yüzyıldan daha fazla bir zaman önce pre ve postsinaptik nöronlar arasındaki koordine bir faaliyetin, bu nöronlar arasındaki sinapsın gücünde değişme yapabileceği bununda öğrenme ve hafıza için hücresel bir hipotez olarak ortaya atıldığı görölmektedir (Hebb 1949). Bir presinaptik nöronun bir aksonu possinaptik bir nöronu sürekli ve kalıcı olarak uyarıyorsa, hücrelerden birinde veya herikisinde öyle bir gelişme veya metabolik bir değişim meydana gelirki presinaptik nöronun etkinliğinde bir artışa sebep olur (14). Hebbian sinaps denen bu sinapslar, presinaptik nöronun eş zamanlı uyarımı süresince postsinaptik nöronun depolarizasyonunu gerektirir. Hebb'in kuramı öğrenmeyi hem bilişsel hem de nörofizyolojik bir yaklaşımla incelenmesinden dolayı önem taşımaktadır.Sinaptik güçteki değişiklikleri altında yatan mekanizmaları anlamak için 1973 yılında Bliss ve Lomo LTP kayıt modelini, 1982 yılında ise Ito ve arkadaşları LTD (Long Term Depresyon) modellerini geliştirdi (15).

Birçok araştırmacı LTP 'in ilk gösterildiği yer olmasından dolayı CA1 bölgesinde çalışmaktadır (16). Hipokampusta LTP yaygın şekilde presinaptik aksonların tetanik ya da yüksek frekanslı uyarıları (YFU, HFS"High-Frequency stimulation) ile oluşturulur. Bu şekilde bir uyarı hipokampusta glutamatın serbestlenmesi ile postsinaptik NMDA reseptör aktivasyonu için yeterlidir. Postsinaptik Ca²⁺ girişi LTP oluşması için çok önemlidir. Nöronlar LTP 'nin oluşturulma protokolleri ile aktive olan çeşitli Ca²⁺ kaynaklarına sahiptir (17).

Deneyssel olarak LTP çeşitli yöntemlerle oluşturulabilir ama en yaygın yöntem yüksek frekanslı (tetanik) ve/ ya da afferent lifler, elektriksel olarak uyarılmasıdır. Orijinal çalışmada 15-20 s süreyle 15 Hz'lik uyarı ya da 3-4 s süreyle 100 Hz'lik uyarı DG'ü projekte eden perforan yol uyarılmıştır. Daha sonraki çalışmalarda LTP ündüksiyn güvenilirliğini artırmak için farklı şekilde denenmiştir ancak yaygın olarak DG'da 200-400 Hz'lik kısa (20-40 ms) süreli uyarı kullanılmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMA GRUPLARI

Deneylerde Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinden(DEKAM) temin edilen 200–250 g ağırlığında 3 aylık 9 adet Sprague Dawley türü dişi sıçanlardan doğan toplam 43 adet sıçan kullanıldı. Çalışma sıçanları üç gruba (kontrol, alkol ve alkol+omega3 grupları) ve her bir grup eşit sayıda olmak üzere 2 deney grubuna (davranış testleri, LTP kaydı) gruplarına ayrıldı.

Bu sıçanlar çiftleştirilip gebeliğin 5. Gününden 17.gününe kadar 6 gr/kg/gün etanol ile 0.4gr/kg/gün omega 3 (DHA+EPA) uygulamaları gavaj ile yapıldı.



Şekil 3.1. Deney hayvanlarına gavaj ile etanol ve omega3 uygulaması

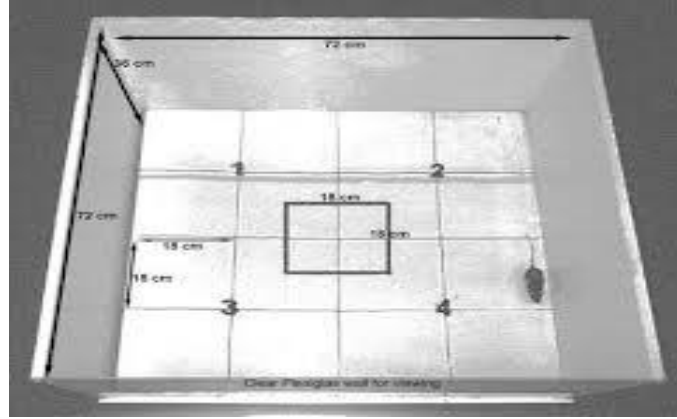
3.2.DAVRANIŞ, ÖĞRENME VE HAFIZA ÇALIŞMALARI

Çalışmada hayvanlara ilk olarak davranış parametrelerinin elde edildiği test bataryası uygulanmıştır. Açık alan düzeneğinde lokomotor aktivite ve otonom yanıtları alınmış, Morris su labirentinde öğrenme ve hafıza değerlendirilmiş, sıcak tabaka düzeneğinde ağrı eşikleri bulunarak duysal performansları değerlendirilmiş, horizontal barda da kas kuvveti ve dayanıklılıkları test edilmiştir.

3.2.1 Açık Alan (Open Field Area) Testi

Spontan lokomotor aktiviteyi değerlendirmek için 100x100 cm ebatlarında plastikten yapılmış 16 eşit kareye ayrılmış ve kenarları 30 cm yüksekliğinde yine plastik ile kapatılmış üzeri açık bir araçtır. Rat açık alanın bir köşesine bırakılarak bu alanı araştırmalarına izin verilir. Hayvanın aktivite seviyesi(lokomotor yanıt) 5 dk süre içerisinde geçtiği kare sayısı ile araştırma aktivitesi yine aynı sürede iki arka ayağı üzerine kalkarak etrafı inceleme hareketi sayısı ile ölçülür. Korku seviyesi 5 dk içerisinde bu alan içerisinde yaptığı defekasyon sayısı ile değerlendirilir.Lokomotor yanıt ve araştırma aktivitesinde artış ile defekasyon sayısındaki düşme ,emosyonel

aktivitede azalma olarak tersi durum yani lokomotor yanıt ve araştırma aktivitesinde azalma ile defekasyon sayısındaki fazlalık ise emosyonel aktivitede artış yani anksiyete olarak değerlendirilir (18).

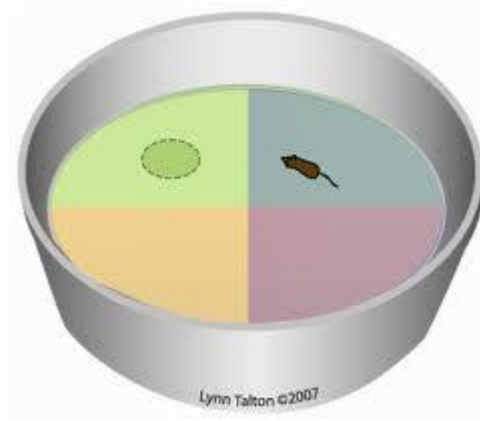


Şekil.3.2. Açık alan test düzeneği

3.2.2.Morris Su Labirenti (Morris water maze)

Öğrenme deneyleri için 130 cm çapında, 45 cm derinliğinde Morris Su Tankı kullanıldı. Deneyler için tank süt tozu ile opaklaştırılmış su ile yarısına kadar dolduruldu. Su sıcaklığı 26 ± 2 derece olarak ayarlandı. Su yüzeyindeki sıçanın görüş alanında olacak şekilde üç ayrı yönde duvarlara siyah ve siyah ile kontrast oluşturacak şekilde beyaz, kırmızı panolar asıldı. Tank içerisine 10 cm çapında ve silindir şeklinde, öğrenme deneyleri sırasında suyun bir cm yüzeyinde, öğrenmenin test edilmesi periyodunda suyun bir cm altında kalacak şekilde ve havuz kenarından 20 cm uzaklıkta bir kaçış platformu yerleştirildi. Platform, sıçan üzerine çıktığında kendini emin hissedeceği ve pençelerini yerleştireceği lifli bir kumaş ile kaplandı. Sıçanlar suya platformsuz yarı alanda ve platformun tam karşısından başı platform tarafına gelecek şekilde tankın kenarından 20 cm uzaklıktan suya bırakıldı. Böylece, platformsuz ve platformlu yarı alanda katedilen mesafeden kaynaklanacak süre farklılığı İlk denemelerde sıçanın platformu bulması için en fazla 2 dakika yüzmesine izin verildi. Sıçan bu süre içinde platformu bulmayı başaramadığında yardımla platforma alındı. Platformda 30 saniye kalması sağlandı (19). Deneyler; sıçanlara sabah 9:00-12:00 saatleri arasında, 30'ar dakika aralarla, günde 4 yüzdürme yaptırılarak ardışık 4 gün öğrenme periyodu, 5. gün görünmez platforma öğrenme periyodundaki işlemler aynen uygulanarak test periyodu

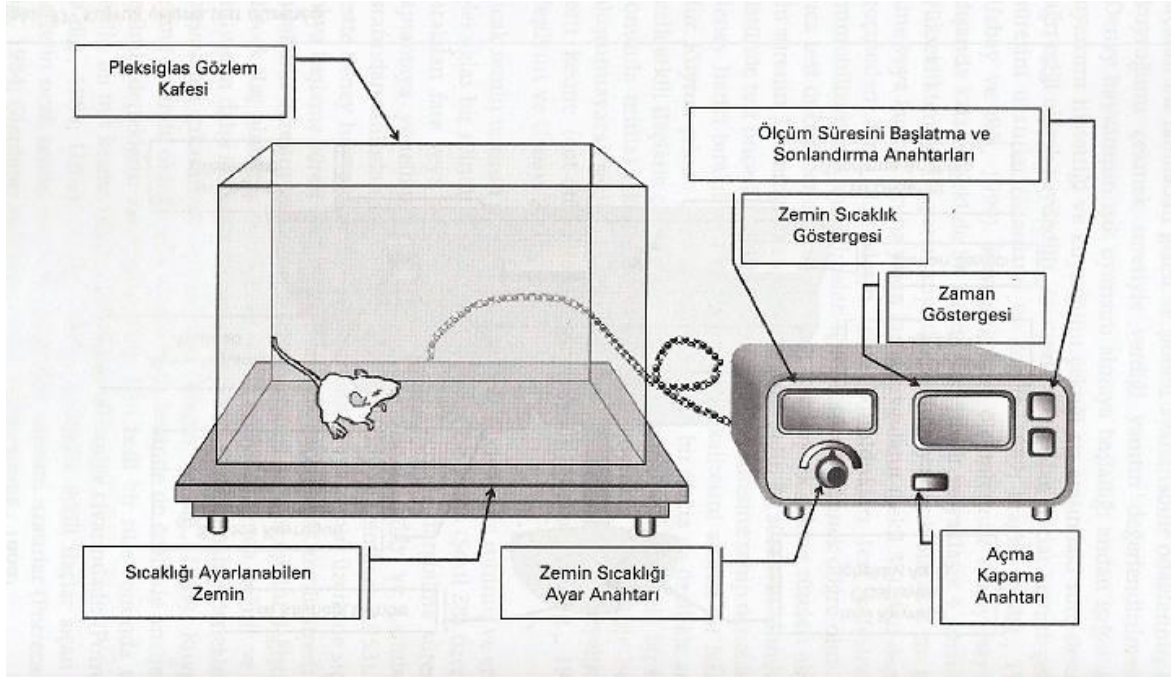
şeklinde yürütüldü. Deneylerde sıçanın kaçış platformunu bulma süresi ve platformlu yarı alanda geçirdiği süre bilgisayar ile kaydedildi. Değerlendirme için sıçanların kaçış platformunu bulma süreleri ve platformlu yarı alanda geçirdikleri sürenin toplam sürenin %'si cinsinden değerleri istatistiksel olarak değerlendirildi (20).



Şekil.3.3. Morris water maze test düzeneği

3.2.3.Sıcak Tabaka (Hot Plate) Testi

İlk olarak 1953 yılında Eddy ve Leimback tarafından tanımlanmış ve kullanıma girmiştir (21). Hot plate testi rodentlerin ağrı eşiğinin değerlendirilmesinde günümüzde en çok kullanılan yöntemlerdendir. Sıcak tabaka; ısı kaynağı, zamanlayıcı ve güç kaynağından oluşan, 30x30 cm ebatlarında, kare şeklinde bir düzendir. Temel olarak 50–56°C'ye kadar ısıtılmış bir yüzeyden (bakır veya alüminyum) oluşur. Hayvanın, ısıtılan yüzey üzerinde belli bir bölge sınırlarında kalması için hareket kabiliyetini sınırlamayacak büyüklükte, cam veya pleksiglas silindirler kullanılır. Yüzeye bırakılmasından hayvanın ayağını çekmesine kadar olan süre hesap edilir. Davranış sadece arka ayağın çekilmesi olabileceği gibi ayak çekme ve yalama, sallama veya sıçrama şeklinde olabilir. Normal reaksiyon süresi ortalama 5 ile 20 saniye arasında değişir. Hayvanları oluşacak herhangi bir hasardan korumak için cut-off zamanı 45 sn olarak belirlendi ve bu süre içerisinde teste cevap vermeyen hayvanlar cihazdan alındılar. Testin duyarlılığı, sıcaklığın azaltılması ilk uyarılan davranışın reaksiyon zamanının ölçülmesi ile artırılabilir, reaksiyon zamanındaki değişiklik anksiyolitik etki için belirleyici olmaktadır (21,22)



Şekil.3.4.Hot plate cihazı test düzeneği

3.2.4.Yatay Bar (Horizontal Bar) Testi

Bu test ile hayvan ön motor ekstremitelerinden düzeneğin yere paralel olan yüksek kısmına asılı olacak şekilde yerleştirilecek, daha sonra hayvan serbest bırakılarak asılı kalması sağlanacak ve düşene kadar geçen süre kaydedilecektir. Deney üç kez ard arda tekrarlanarak bulunan asılı kalma sürelerinin ortalamaları alınıp bu süre motor kuvvetin değerlendirilmesinde kullanılacaktır.

3.3.ELEKTROFİZYOLOJİK KAYITLAR

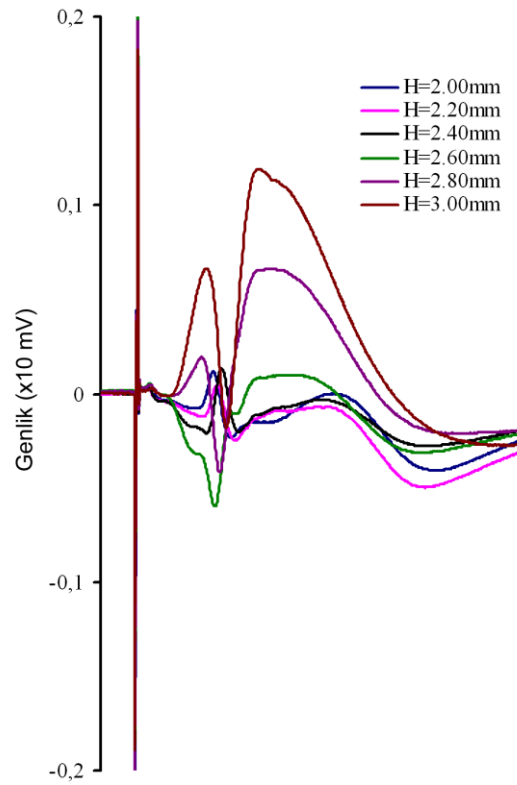
Sıçanlar ürethan (1.5 g/kg ip) ile anestezi edildikten sonra stereotaksik alete (Kopf Instruments, Tjunga, CA, ABD) alındı. Kulak çubukları ve ağız sabitleyicisi kullanılarak hayvanın başı cihaza sabitlendi, saçlı derisi traşlandı, deri ve deri altı dokular orta hattan insizyonla açıldı. Kafa tası kemiğine ulaşıldı ve sağ hemisferin üstündeki kemik doku matkap yardımı ile kaldırıldı.Beyin üzerindeki dura temizlendikten sonra uyarıcı ve kaydedici elektrotlar elektrod tutucuya yerleştirildi.

3.3.1. Uyarı ve Kayıt

Cerrahi prensiplere uygun olarak yapılan sağ kranyotomiden sonra bir bipolar elektrot (Teflon kaplı, paslanmaz çelik, 127 µm çaplı, ucu dışında izole edilmiş) vasıtasıyla medyal perforan yol (bregmaya göre mm; AP: -8.0, ML: 4.2) uyarıldı. Uyarıcı elektrotun iki kutbu düşük dirençli kablolar ile bir uyarım izolatörüne (A385, World Precision Instruments, USA) bağlandı. Dış çapı 1,5 mm ve uzunluğu 10 mm olan Borosilikate kapiller tüplerden (World Precision Instruments) dikey bir mikropipet çekici (P30, Sutter Instrument Co, USA) ile hazırlanan ve içi 3M NaCl ile doldurulan cam mikropipet (uç direnci 2–10 MΩ) dentat girusun hilusuna (bregmaya göre mm: AP: -3.5, ML: 2.15) yerleştirildi. Bir Ag-AgCl disk elektrot boyun derisi altına kondu ve referans elektrot olarak kullanıldı. Kayıt elektrodunun içine yerleştirilen klorlanmış bir gümüş tel ve referans elektrodu bir head-stage kullanılarak tek kanal epitelyal voltaj/akım kısaç yükselteci (VCC600, Physiological Instruments) bağlandı. Bütün sistem bir Faraday kafesi kullanılarak topraklandı.

3.3.2. Tipik Elektriksel Yanıtın Elde Edilmesi

Hem uyarıcı hem de kayıt elektrodu, pozitif yönlü bir sapmayı (EPSP) takip eden negatif yönlü bir sapma (PS) elde edilene kadar derin yapılara indirildi. Granül hücre tabakasının tipik yanıtı elde edilmeye başlandığında elektrotların derinlikleri 0,1 mm artırarak en büyük cevabın eldesi sağlandı. Bütün deneyler sonucu ortalama elektrot derinlikleri uyarıcı elektrot için 2,51 mm kayıt elektrodu için 2,97 mm idi. Tipik kaydın eldesi sırasında örnek bir deneyde kaydedilen elektriksel aktivite, Şekil 3.5’de görülmektedir.



Şekil.3.5. Tipik kaydın eldesi sırasında örnek bir deneyden kaydedilen elektriksel aktivite

3.3.3. Veri Kazanımı ve Uyarım

Veri kazanımı ve uyarım işleminin kontrolü “Scope” yazılımı (AD Instruments, Colorado Springs, CO, USA) ile yapıldı. Tek fazlı 10 V 0,175-ms süreli palslar A/D çevirici (Powerlab/8SP, AD Instruments, Colorado Springs, CO, USA) vasıtasıyla oluşturuldu ve uyarı izolatörünün tetiklenmesinde kullanıldı. Kaydedilen biyolojik sinyaller 0.1-10 kHz band-genişliğinde bir yükselticide 1000x kez yükseltildi. Aktivite 20 ms için 40 kHz hızında çevirim-içi olarak rakamsallaştırıldı.

3.3.4. Girdi-Çıktı Eğrileri “Input – Output (I/O) Curve”

Elektrotların yerleştirilmesinden 15 dakika sonra 175 μ s süreli tek-fazlı sabit akım palsları her 20 saniyede bir verilerek I/O eğrileri elde edildi. Bu sırada akım şiddeti 0,1 mA’dan 1,5 mA’e kadar 0,2 mA adımlarla artırıldı. Her akım şiddeti için kaydedilen 3 ardıl yanıtın ortalaması akım şiddetine karşı grafiklendi. En yüksek PS genliğinin yarısını oluşturan akım şiddeti test uyaran şiddeti olarak belirlendi ve deneyin sonraki aşamalarında bu akım şiddeti kullanıldı.

3.3.5. Uzun Dönemli Güçlenme

Test uyarını ile 30 sn'de bir uyarı verilerek 15 dakika süren bazal kayıt alındı. Bazal kaydın ardından 5'er dakika ara 100 Hz frekansında 1 sn süren yüksek frekanslı uyarım (YFU) ile uzun dönemli güçlenme (UDG) indüklendi. Son HFS uyarımını takiben toplam 90 dakika olacak şekilde 30 sn'de bir test uyarını ile uyarıma devam edildi.

3.3.6. Veri Analizi ve İstatistik

EPSP dalgasının eğimi, dalganın başlangıcı ve PS dalgasının başlangıcı arasındaki voltaj farkının %20–80 arasında hesaplandı. PS genliği ilk pozitif yükseltiden sonraki negatif yükselti arasındaki farktan hesaplandı. Başlangıçtaki 15 dakikalık sürede tetiklenen 30 alan potansiyelinin EPSP ve PS'larından oluşan ortalama eğim ve genlik değerleri 100 kabul edildi; YFU sonrasındaki her EPSP ve PS bunun yüzdesi cinsinden hesaplandı. UDG'nin indüksiyonu için YFU sırasında oluşan eğim ve genliklerin; idame dönemi için ise son YFU'dan deney sonuna kadarlık bölümde oluşan eğim ve genlik değerlerinin ortalamaları alındı. İstatistik karşılaştırmalar için, uygun olduklarında Mann-Whitney U testi, Unpaired Student t-testi ve Tek Yönlü varyans analizi (ANOVA) testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak seçildi.

4. BULGULAR

4.1.AÇIK ALAN TEST SONUÇLARI

Açık alan testinde her üç grupta yer alan sıçanların çizgi geçme sayısı, merkezde geçirdiği süre, doğrulma sayısı, kaşınma ve defekasyon sayıları Tablo 4.1 de yer almıştır.

Tablo 4.1. Açık alan düzeneğinde sıçanların davranış parametreleri ortalama $\pm$ standart hata, F ve p değerleri

Gruplar	Çizgi sayısı	Merkezde geçirilen süre	Doğrulma sayısı	Kaşınma sayısı	Defekasyon sayısı
Kontrol (n=12)	39,08 $\pm$ 16,65	9,83 $\pm$ 10,45	14,17 $\pm$ 6,67	4,58 $\pm$ 2,75	1,25 $\pm$ 1,29
Alkol alan (n=15)	68,20 $\pm$ 20,64*	20,73 $\pm$ 13,36*	15,87 $\pm$ 4,91	4,47 $\pm$ 1,46	5,60 $\pm$ 2,38*
Alko+omega3 alan (n=16)	62,19 $\pm$ 17,15*	8,68 $\pm$ 5,09	13,81 $\pm$ 5,81	5,06 $\pm$ 1,39	2,50 $\pm$ 2,48**
F	9,139	6,421	0,543	0,433	14,730
P	0,001	0,004	0,585	0,652	0,000

* Kontrollden istatistiksel olarak farklı p<0,05 ** Alkol alan gruptan farklı p<0,05

4.2.SICAK TABAKA VE HORIZONTAL BAR SONUÇLARI

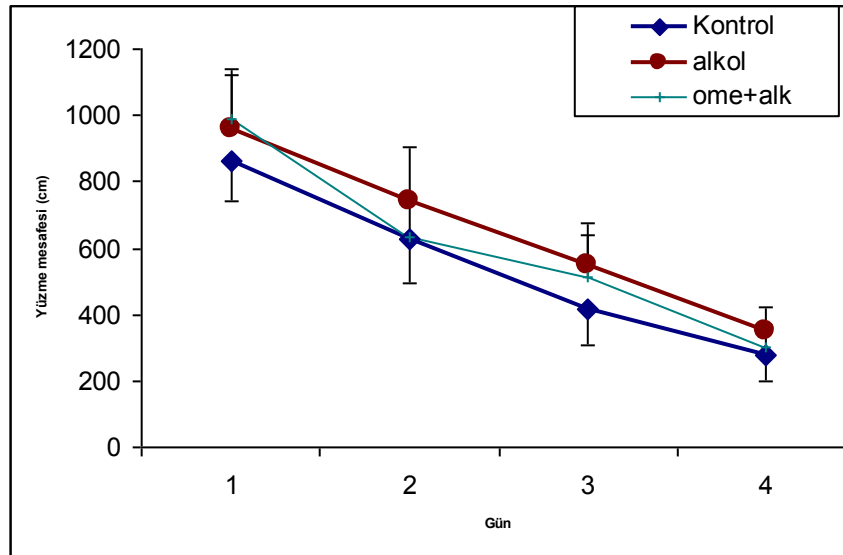
Sıcak tablada deney hayvanlarının ayaklarını kaldırıp yalamaları şeklinde değerlendirilen davranışlarını yapma süresi ve horizontal barda ön ekstremiteleri ile asılı durma süreleri ni (3 uygulamanın ortalama süresi) çalışılan kontrol, alkol alan ve alkolle birlikte omega3 alan annelerin yavrularındaki değerleri olarak Tablo 4.2 de görülmektedir.

Tablo 4.2.Sıcak tabla ve Horizontal bardaki tutunma süreleri ortalama ve standart hata ,F,p değerleri

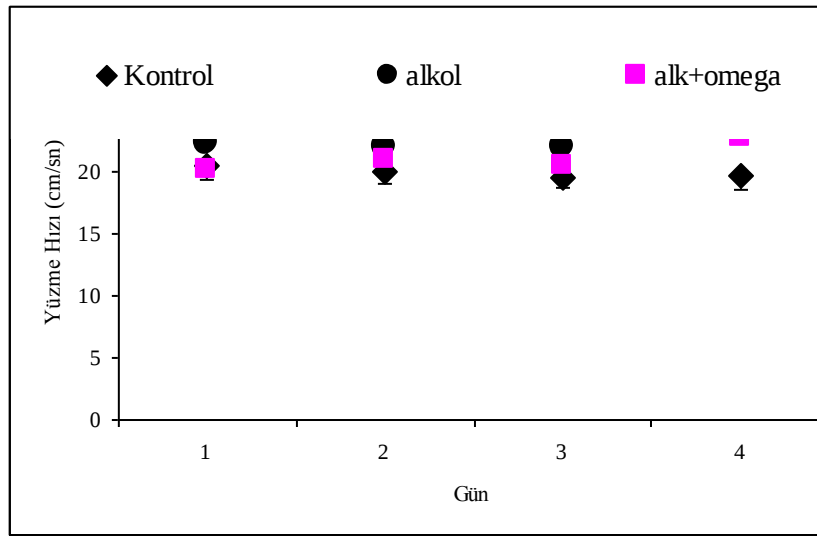
Grup	Sıcak tabla değeri (sn)	Horizontal bar değeri (sn)
Kontrol (n=12)	18,41 ± 9,80	48,67 ± 27,83
Alkol alan (n=15)	10,27 ± 3,67*	8,29 ± 7,09*
Alko+omega3 alan (n=16)	12,52 ± 2,91*	7,52 ± 2,08*
F	6,719	30,982
P	0,003	0,000

* Kontrolten istatistiksel olarak farklı $p < 0,05$

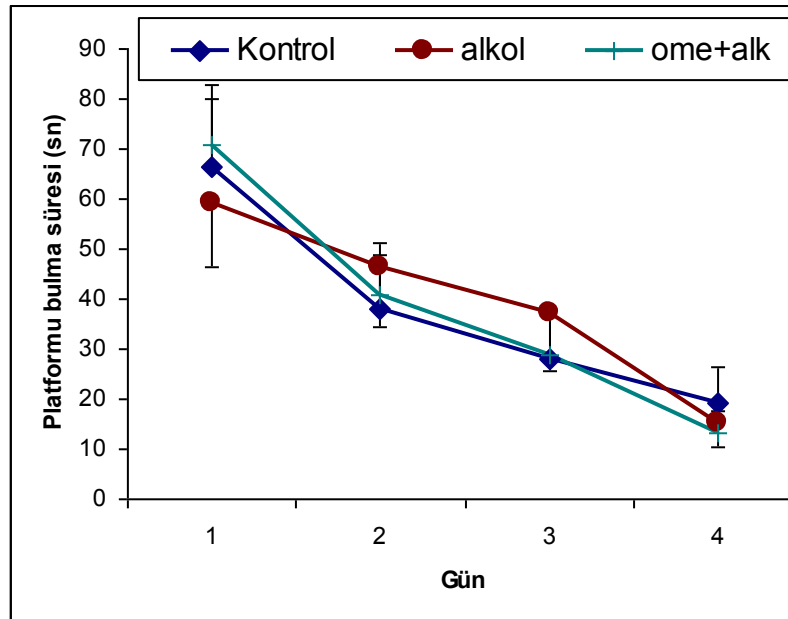
4.3. MORRIS SU LABİRENTİ SONUÇLARI



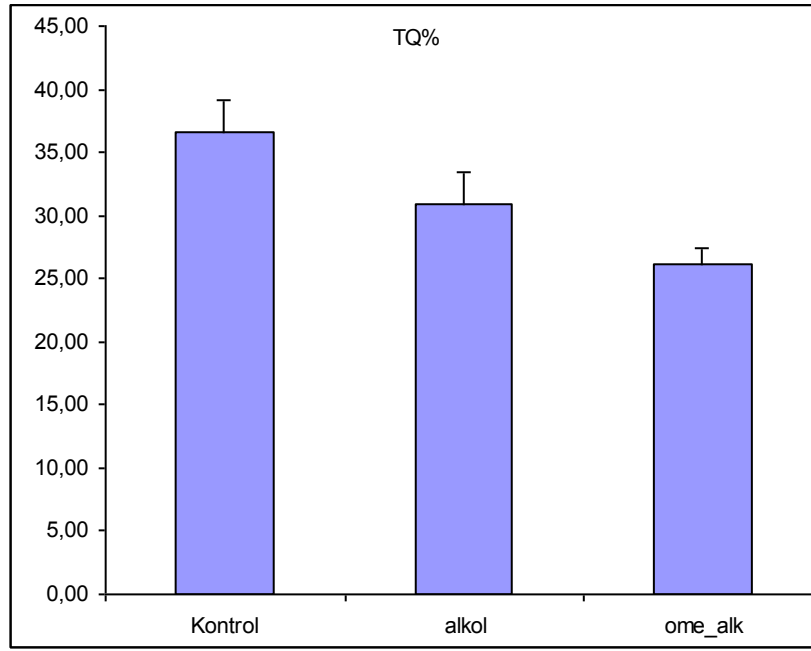
Şekil 4.1.Moris Water-maze su tankında kontrol, alkol alan ve alkol+omega-3 alan grupların, ilk 4 günlük öğrenme periyodunda ortalama yüzme mesafesi (cm)



Şekil 4.2. Moris Water-maze su tankında kontrol, alkol alan ve alkol+omega-3 alan grupların, ilk 4 günlük öğrenme periyodunda ortalama yüzme hızı(cm/sn)



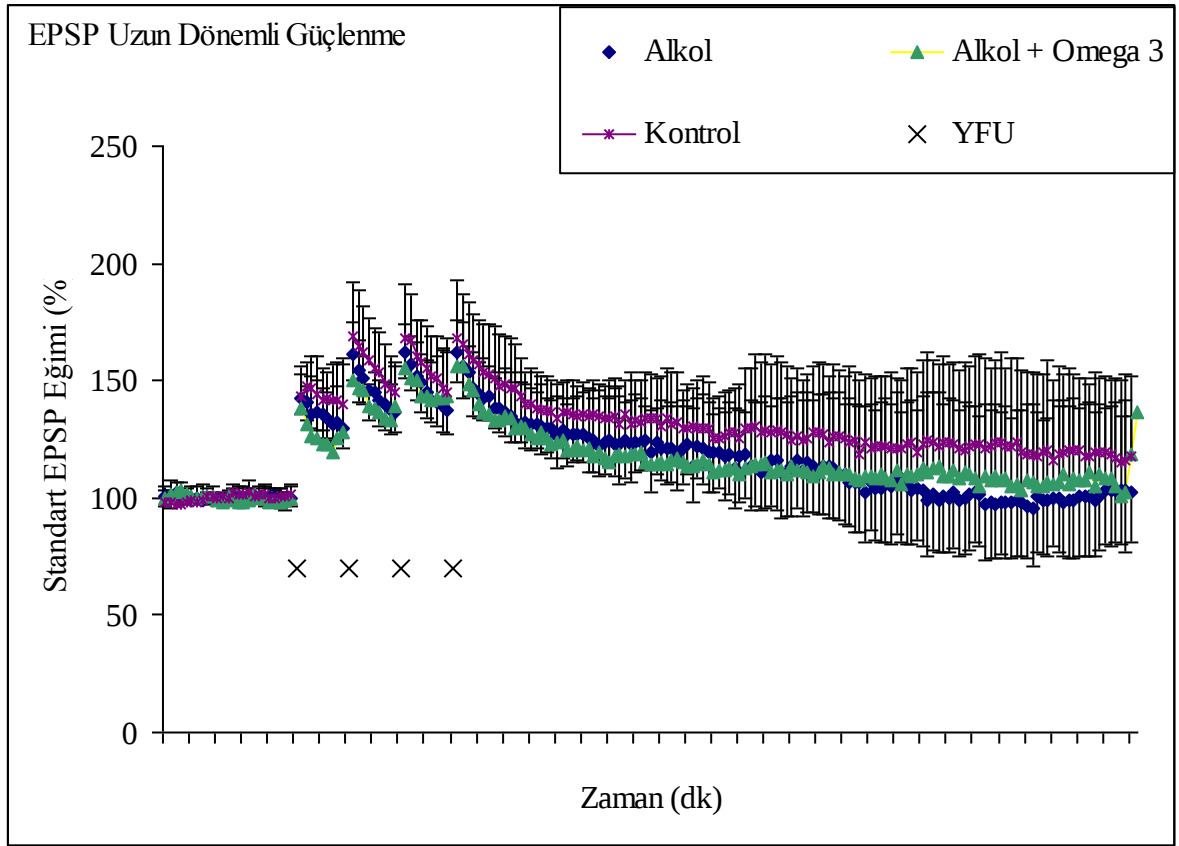
Şekil 4.3. Water-maze su tankında kontrol, alkol alan ve alkol+omega-3 alan grupların, ilk 4 günlük öğrenme periyodunda ortalama platformu bulma süreleri (sn)



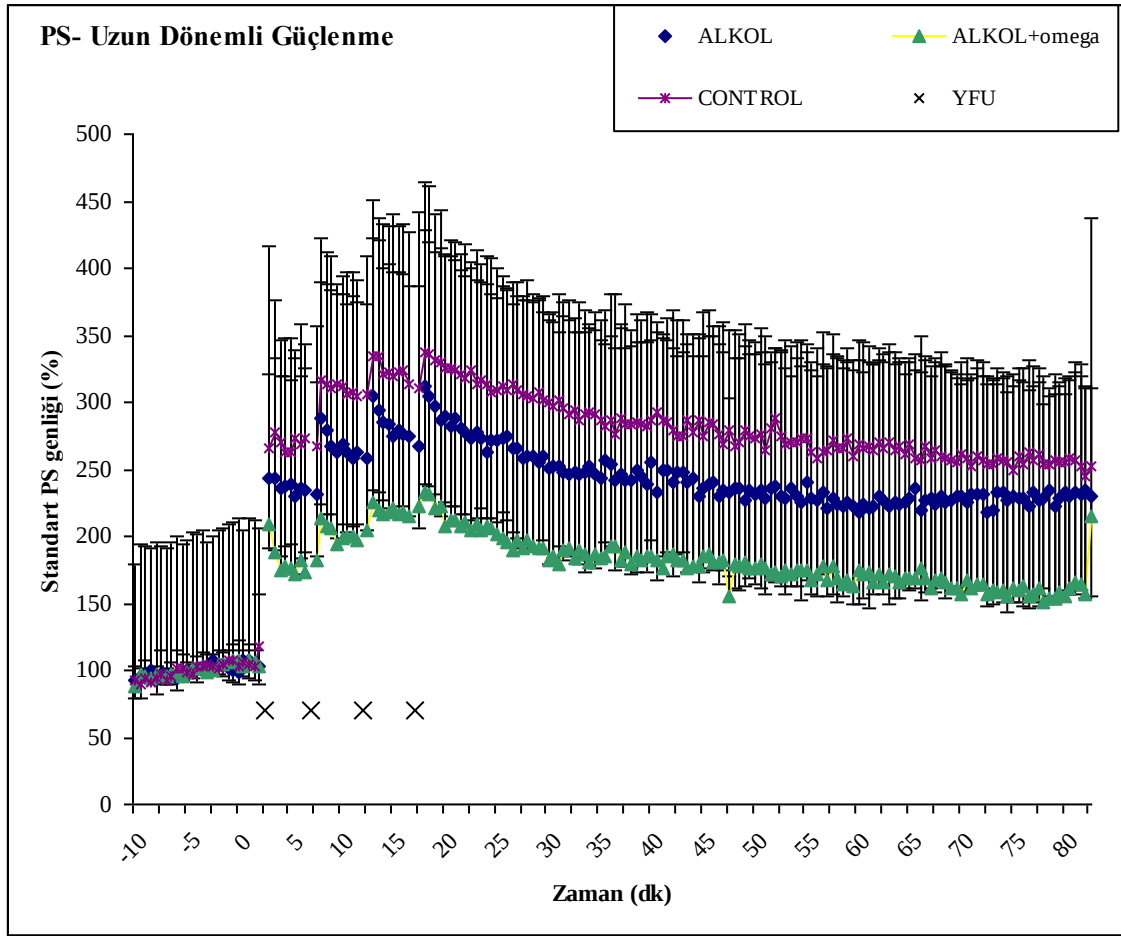
Şekil 4.4. Water-maze su tankında kontrol, alkol alan ve alkol+omega-3 alan grupların, 5. günde hatırlama fazında platformun bulunduğu kadranda geçirdikleri sürenin total süreye oranı

4.4.UZUN DÖNEMLİ GÜÇLENME VE POPÜLASYON SPIKE KAYITLARININ SONUÇLARI

Uzun Dönemli Güçlenme deneylerinde elde edilen kontrol (erkek ve dişi), alkol alan ve alkol ile birlikte omega 3 alan anne sıçanların yavrularına ait eksitator postsinaptik potansiyel eğim değişiminin ve Popülasyon Spike genliklerinin deney sürecince olan değişimi sırasıyla Şekil 4.5 ve Şekil 4.6’da verilmiştir.

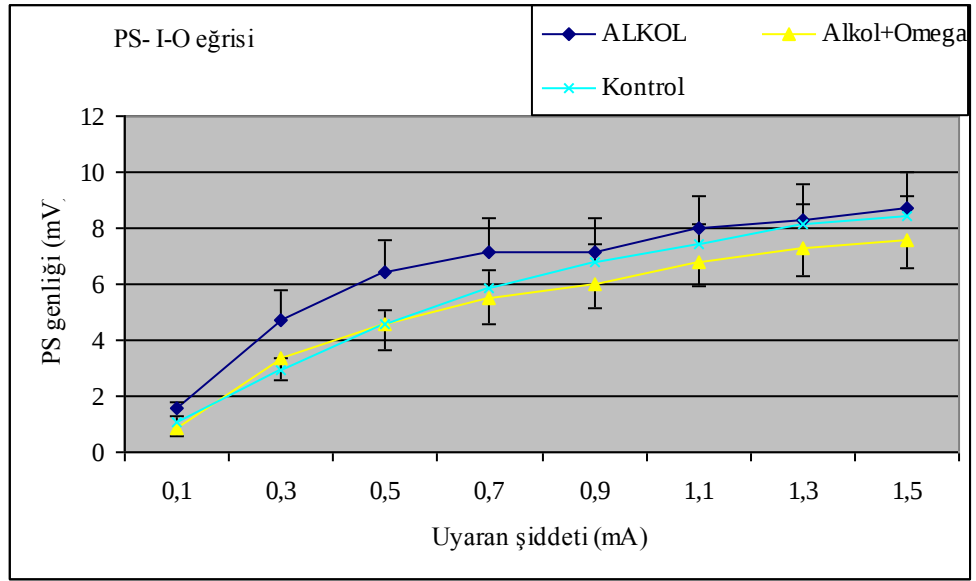


Şekil 4.5. EPSP-Uzun Dönemli Güçlenme sonuçları. Uzun dönemli güçlenme deneylerinde elde edilen kontrol, alkol alan ve alkol+omega-3 alan sıçanlara ait eksitator postsinaptik potansiyel (EPSP) eğimlerinin deney süreçlerinin ortalaması . x eksenini dakika cinsinden zaman, 0 anı ilk YFU uyarının (100 Hz, 1 sn, X) verildiği an. Y eksenini: EPSP eğiminin -15 ila 0 anı arasındaki ortalama değerine göre yüzde değişimi.

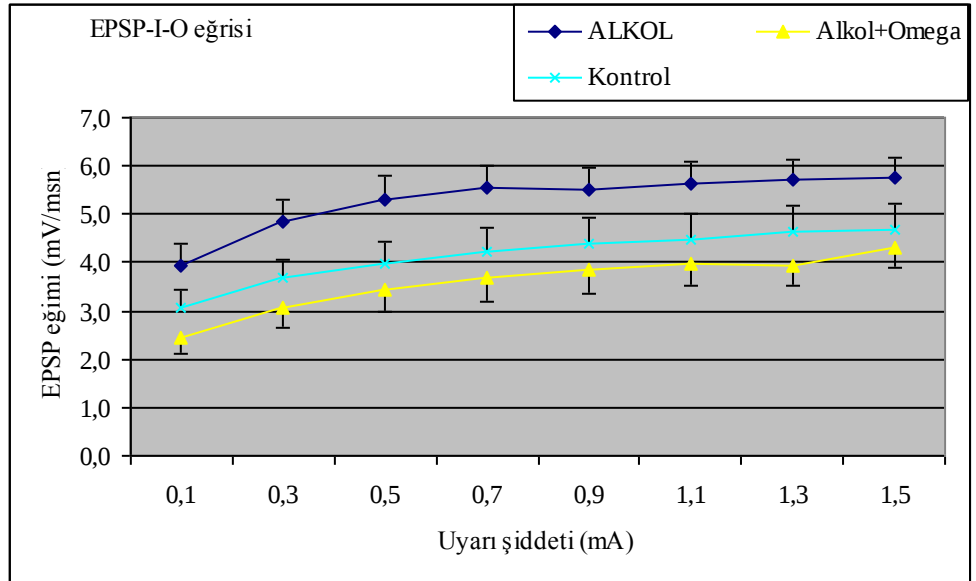


Şekil.4.6. Popülasyon Spike-Uzun dönemli Güçlenme sonuçları

Uzun Dönemli Güçlenme deneylerinde elde edilen kontrol, alkol alan ve alkol+omega3 alan sıçanlara ait Popülasyon Spike (PS) genliklerinin deney süreçlerinin ortalaması. X ekseni:dakika cinsinden zaman, 0 anı ilk YFU uyarısının (100 Hz, 1 sn, X) verildiği an, Y ekseni:PS genliğinin -15 ile 0 anı arasındaki ortalama değerine göre yüzde değişimi



Şekil.4.7.Popülasyon Spike-İnput-Output eğrileri, Kontrol, alkol alan ve alkol+omega3 alan sıçanlarda 0.1-1,5 mA arasında değişen uyari şiddeti ile oluşan PS genlikleri. X eksenı uyaran şiddeti (mA), Y eksenı:PS genliğı (mV).



Şekil.4.8. EPSP-In put-Out put eğrileri, Kontrol, alkol alan ve alkol+omega3 alan sıçanlarda 0.1-1,5 mA arasında değişen uyari şiddeti ile oluşan EPSP eğimleri. X eksenı uyaran şiddeti (mA), Y eksenı:EPSP eğimi (mV/msn).

5. TARTIşMA VE SONUÇ

Dursun ve ark.(23) gebelik süresince yüksek dozlarda alkol alan annelerden doğan yavrularda erişkin döneme geldiklerinde davranışsal değişiklikler gözleendiğini belirtmişlerdir. Yapılan bir çalışmada gebeliğin 7-20. günleri arasında dişi sıçanlara 6g/kg/gün etil alkol verilmiş ve doğum sonrası 0. günde yavruların vücut ağırlıklarının ölçülmesi sonucunda kontrol grubu ve etil alkol verilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşunu gözlemlemişlerdir. Bu farklılık 5. günde de devam ederken doğum sonrası 10. gün yapılan ölçümde iki grup arasında kilo bakımından bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Buna paralel olarak Tran ve ark. (24) yaptıkları çalışmada gebelik süresince ve doğum sonrası 10 gün süre ile sıçanlara 4.5 g/kg/gün etil alkol vererek 90. günde vücut ağırlıklarını ölçtükleri çalışmada kontrol grubu ile etil alkol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Gebelik süresince makul miktarlarda etil alkol alımının doğum sonrası dönemde morfolojik zararları ile ilgili net bir kanıt yokken, davranışsal bozukluklar oluşturduğu belirtilmiştir(25). Gebelikte alkol ve omega 3 alımının birlikte incelendiği kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Omega üçün gebelikte alkol ile beraber alımı maternal kilo alımında artış, perinatal sağkalım ve yavruların vücut ağırlığında artış, duyusal gelişimde artış meydana getirdiği çalışmalarda gösterilmiştir(26). Bu çalışmalardan birinde beyin ağırlığı ve motor gelişim üzerinde omega 3 etkisi bulunamamışken kan alkol konsantrasyonunun omega 3 alan grupta daha düşük olmasıdır,omega 3 takviyesinin etkileri sadece genel büyüme ve seçici duyusal gelişim üzerinde vardır. Gebelikte alkol alımının annelik davranışını etkilediği görülmüştür. Alkolün fetus

üzerindeki toksik etki mekanizmalarının aydınlatılmasında hayvan çalışmaları çok önemlidir. Uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerinin gelişmekte olan beyin tarafından kullanılabilirliğinin azalmasında etanolün olası etkisini ele alan bir çalışmada alkolün bu etkisi omega 3 takviyesi ile bir miktar azaltabilmektedir(27). Gebelikte alkol kullanımının yavrulardaki lokomotor aktiviteye nasıl etki ettiğine açık alan testi ile bakılarak aktivitelerde azalma ve yavaşlama görülmüştür(23). Öğrenme ve hafıza performansında omega üçün yeri çok önemli bulunmuştur(27). Alzheimer hastalığında hipokampusta omega üç seviyesinin düşük bulunması bunu desteklemektedir(28). Gebelikte üç aya doğru NK aktivitesi azalmaktadır. Başarılı bir gebeliğin devamı için NK aktivitesinin inhibisyonu gereklidir. NK(CD16,CD56) hücre aktivitesinin yüksek olmasının etanol uygulanan gebe sıçanların abortusa meyillerinin fazla olmasına neden olabileceği ileri sürülmektedir(29). Gebede alkol alımının yavrularındaki duysal gelişimine etkisi olduğu görülmüştür. Duyusal değişimi göstermek için hot plate testide çalışmalarda kullanılmış testlerdendir (23). Alkol uygulanan ratlarda hot plate testinde latans süresi uzamış bulunmuştur (23). Omega 3 ile beraber alkol alan annelerin yavrularında duysal gelişimin olumlu etkilendiği görülmüştür(26). Gebelikte alkol uygulanan sıçanların yavrularında grip strength testi ile tutunma süresindeki gecikmeler hesaplanarak motor kuvvete bakılabilmektedir(30). Alkol alan annelerin yavrularında bu sürede kısalma yani motor kuvvetinde azalma görülmüştür(31). LTP ile öğrenmeye elektrofizyolojik olarak dentat gyrustan kayıtlar alınarak bakılabilmektedir(32). Alkol alanlarda genelde CA1 bölgesinden invivo kayıtlar alınmıştır. Alkol hücre proliferasyonunun düzenlenmesinde önemli olan siklin bağımlı kinazları etkileyerek bütün santral sinir sisteminde olduğu gibi serebellumdaki nörogenezisi inhibe ederek serebellar ağırlık ve granüler hücre sayısında (33) ve vücut ağırlığında da azalmaya yol açmaktadır(23).

6. KAYNAKLAR

1. Özcan F .Gebelik sırasında uzun dönem etil alkol, metil alkol ve etilen glikol'e maruz kalmanın yenidoğan yavrular üzerine toksik etksinin incelenmesi .Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi 2008.
2. Desdicioğlu K, Malas MA. Fetal büyümeye etki eden maternal faktorler S.D.U. Tıp Fak. Derg. 2006;13(2):47-54.
3. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yonunden tıbbi Farmakoloji. 11. Basım. Ankara:Hacettepe-Taş, 2005; s 739-50
4. Sharma, S., S. Rakoczy, and H. Brown-Borg, Assessment of spatial memory in mice. Life Sci, 2010; 87: 521-36.
5. Kandel, E.R., The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. Science, 2001; 294: 1030-8.
6. Meeter M, Veldkamp R, Jin Y. Multiple memory stores and operant conditionin A rationale for memory's complexity. Brain Cogn. 2009;69:200-208.
7. Dere F. Nöroanatomi ve Fonksiyonel Nöroloji, Okullar Pazarı Kitabevi, 1990
8. Buzsaki, G., Theta oscillations in the hippocampus. Neuron, 2002; 33: 325-40.
9. Rose, G.M. and T.V. Dunwiddie, Induction of hippocampal long-term potentiation using physiologically patterned stimulation. Neurosci Lett, 1986; 69: 244-8.

10. Bliss, T.V. and T. Lomo, Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol*, 1973; 232: 331-56.
11. Pavlides, C., et al., Long-term potentiation in the dentate gyrus is induced preferentially on the positive phase of theta-rhythm. *Brain Res*, 1988; 439: 383-7.
12. Huerta, P.T. and J.E. Lisman, Heightened synaptic plasticity of hippocampal CA1 neurons during a cholinergically induced rhythmic state. *Nature*, 1993; 364: 723-5.
13. Holscher, C., R. Anwyl, and M.J. Rowan, Stimulation on the positive phase of hippocampal theta rhythm induces long-term potentiation that can be depotentiated by stimulation on the negative phase in area CA1 in vivo. *J Neurosci*, 1997; 17: 6470-7.
14. Hebb, D.O., *The organization of behavior*. 1949, New York: Wiley & Sons.
15. Parsley SL, Pilgram SM, Soto F, Giese KP, Edwards FA. Enriching the environment of α CaMKII T286A mutant mice reveals that LTD occurs in memory processing but must be subsequently reversed by LTP. *Learning & Memory*. 2007;14:75-83.
16. Palizvan MR, Fathollahi Y, Semnanian S, Hajezadeh S, Mirnajafizad J. Differential effects of pentylentetrazol-kindling on long term potentiation of population excitatory postsynaptic potentials and population spikes in the CA1 region of rat hippocampus. *Brain research*. 2001; 898: 82-90.
17. Raymond CR. LTP forms 1, 2 and 3: different mechanisms for the “long” in long term potentiation. *TRENDS in Neurosciences*. 2007; 30 (4): 167-175.
18. Erdoğan F, Küçük A, Gölgeli A, Liman N, Sağsöz H. Ratlarda pentilentetrazol ile oluşturulan kindlingin davranış ve emosyonel öğrenme üzerine etkisinin değerlendirilmesi. *Assesment of The Effect of Pentylene tetrazole-induced Kindling on Behavior and Emotional Learning in Rats Integrative Physiology. Epilepsi*. 2007; 13(2) : 66-72.
19. Frisone DF, Frye CA, Zimmerberg B. Social isolation stress during the third week of life has age – dependent effects on spatial learning in rats. *Behav Brain Res* 2002, 128
20. Durmuş L, Aşçıoğlu M. Erkek yavru sıçanlarda sosyal izolasyon stresinin öğrenmeye etkisi the effect of social isolation stress on learning in male juvenile rats. *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences)* 2005, 14(1) 52-56.

21. Bispo MD, Mourao RH, Franzotti EM, Bomfim KB, Arrigoni-Blank MF, Moreno MP, Marchioro M, Antonioli AR. Antinociceptive and antiedematogenic effects of the aqueous extract of *Hyptis pectinata* leaves in experimental animals J Ethnopharmacol. 2001; 76(1):816.
22. Kucuk A, Golgeli A. Deney hayvanlarında anksiyete modelleri ve anksiyetenin değerlendirilmesi. Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences) 2005; 14(3)209-17.
23. Dursun I, Jakubowska-Doğru E, Uzbay T. Effects of prenatal exposure to alcohol on activity, anxiety, motor coordination, and memory in young adult Wistar rats. Pharmacol Biochem Behav. 2006; 85(2):345-55.
24. Tran TD, Cronise K, Marino MD, Jenkins WJ, Kelly SJ. Critical periods for the effects of alcohol exposure on brain weight, body weight, activity and investigation. Behav Brain Res. 2000; 116(1):99-110.
25. Burd L, Cotsonas-Hassler TM, Martsolf JT, Kerbeshian J. Recognition and management of fetal alcohol syndrome. Neurotoxicol Teratol. 2003; 25(6):681-8.
26. Wainwright P.E., Ward G.R., Winfield D., Huang YS, Mills D.E, Ward R.P, McCutcheon D. Effects of prenatal ethanol and long chain n-3 fatty acid supplementation on development in mice. 1 body and brain growth, sensorimotor development and water t maze learning, Alcoholism: clinical and experimental research. Vol 14, No 3, 1990, pp 405-412.
27. Joshi S, Rao S, Girigosavi S, Daware M, Kale A, Hedge M. Differential effects of fish oil supplementation during pregnancy in rats on cognitive performance and serum glucose in their offspring. Nutrition volume 20 ,issue 5 May 2004, Pages 465-472
28. Su H.M. Mechanism of n-3 fatty acid-mediated development and maintenance of learning memory performance. Journal of nutritional biochemistry 21(2010)364-373.
29. Akyol S, Tunalı H, Kıran B, İlter Ö. Alkolik yapılan gebe sıçanla ve yavrularında NK aktivasyonu ile IL2 ,IFN-alfa ve CD19 etkileşimi. Cerrahpaşa tıp dergisi ; cilt 32. sayı 1
30. Dunnett S.B, Torres E.M, Annett L.E. A lateralised grip strength test to evaluate unilateral nigrostriatal lesions in rats. Neuroscience Letters Volume 246, Issue 1, 17 April 1998, Pages 1-4.
31. Ba A, Serı BV, Han SA. Thiamine administration during chronic alcohol intake in pregnant and lactating rats: effects on the offspring neurobehavioural development Alcohol ve alcoholism, Vol.31, No.1, pp.27-40, 1996

32. Suer C, Dolu N, Artis A.S, Sahin L, Aydogan S. Electrophysiological evidence of biphasic action of carnosine on long-term potentiation in urethane-anesthetized rats. *Neuropeptides*. February 2011; Volume 45, Issue 1, Pages 77-81.
33. Li Z, Miller M. W, Luo J. Effects of prenatal exposure to ethanol on the cyclin dependent kinase system in the developing rat cerebellum. *Development Brain Research*. volume 139, issue 2, 15 december 2002, pages 237-245