

757082

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DAVRANIŞIN KALITSAL TEMELİNİN BALB/c VE
C3H/HenBOM SOYU FARELERİ İLE BU
FARELERİN MELEZLERİ VE
KAYMERALARINDA İNCELENMESİ**

Kerem Tuncay ÖZGÜNEN

DOKTORA TEZİ

DANIŞMANI

Prof. Dr. Tuncay ÖZGÜNEN

Bu Tez Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Tarafından
TF.2003.D1 nolu proje olarak desteklenmiştir.

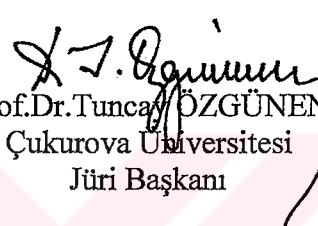
Tez No:.....

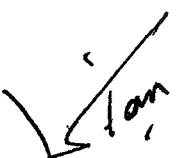
ADANA – 2004

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kerem Tuncay ÖZGÜNEN'in Doktora çerçevesinde yürütülmüş olan "Davranışın kalıtsal temelinin, Balb/c ve C3H/NeNBom soyu fareler ile bu farelerin melezleri ve kaymeralarında incelenmesi" adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.


Tez Savunma Tarihi : 26.10.2004


Prof.Dr.Tunca ÖZGÜNEN
Çukurova Üniversitesi
Jüri Başkanı


Prof.Dr.Üner TAN
Çukurova Üniversitesi


Prof.Dr.M.Hanifi EMRE
İnönü Üniversitesi


Prof.Dr.Kıymet AKSOY
Çukurova Üniversitesi


Prof.Dr.Ayşe DOĞAN
Çukurova Üniversitesi

Yukarıdaki tez Yönetim Kurulunun 17.11.2004. tarih ve 30/12-5... sayılı kararı ile kabul edilmiştir.


Prof.Dr.Sait POLAT
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Öncelikle doktora çalıŐmalarımın tamamlanmasında büyük emeği geçen hocam sayın Prof. Dr. Tuncay Özgüner'e ve tezimin gerek planlama gerekse uygulama aŐamalarında hep yanımda olup her türlü desteği veren Prof. Dr. Enver Melik'e teşekkür ederim. Tezimin uygulama aŐamalarında pratik anlamda her türlü yardımı bulunan .Ü.T.F. Biyofizik Anabilim Dalından Sayın Öğr. Gör. Dr. Mustafa Güven'e teŐekkürü ayrı bir borç bilirim. Deneylerimin her aŐamasında yanımda bulunup bana her konuda yardımcı olan Sayın Mustafa apar'a da içtenlikle teŐekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimimin hem ders hem de tez dönemi süresince göstermiş oldukları sabır ve samimi yardımlarından dolayı .Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün değerli yöneticileri ve personeline de teŐekkürü bir borç bilirim.



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	4
2.1. Kaymerizm.....	4
2.1.1. Kaymerizm Hakkında Genel Bilgiler.....	4
2.1.2. Kaymera oluşturma yöntemleri.....	6
2.1.3. Hücre İşaretleme Teknikleri.....	8
2.1.3.1. Genel Bilgiler.....	8
2.1.3.2. Uygulanan İşaretleyiciler.....	8
2.2. Kullanılan Model Hayvan: Fare	12
2.2.1. Farenin Laboratuvarında Kullanımı	12
2.2.2. Kullanılan Fare Soyları Hakkında Genel Bilgi.....	13
2.2.2.1 Balb/c.....	13
2.2.2.2. C57BL/6J.....	14
2.2.3. Farenin Kaymera Üretiminde Kullanımı.....	14
2.3. Davranış Testleri.....	15
2.3.1. Genel Bilgi.....	15
2.3.2. Rota Rot.....	17
2.3.3. Açık Alan.....	18
2.3.4. Yükseltmiş Artı Labirent.....	18
2.3.5. Aydınlık Karanlık Tercih Testi.....	19
2.3.6. Morris Su Tankı.....	19
2.3.7. Pasif Sakınma Testi.....	19
2.3.8. Karanlık Kutu Testi.....	20
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	21
3.1. Kullanılan Soylar.....	21
3.2. Kullanılan Soyların Bakımı ve Üretilmesi.....	23
3.3. Uygulanan Davranış Testleri.....	23
3.3.1. Rota Rot Testi.....	26
3.3.2. Açık Alan (Open Field) Testi.....	26
3.3.3. Yükseltmiş Artı Labirent (Elevated Plus Maze)Testi	27
3.3.4. Aydınlık Karanlık Tercih Testi.....	28
3.3.5. Morris Su Tankında Uzaysal Bellek Testi.....	29
3.3.6. Kısa Süreli Pasif Sakınma Testi.....	31
3.3.7. Uzun Süreli Pasif Sakınma Testi.....	32
3.3.8. Kısa Süreli Karanlık Kutu Testi.....	32
3.3.9. Uzun Süreli Karanlık Kutu Testi.....	33
3.4. Ovulasyon İndüksiyonu için Hormon Hazırlanması, Enjeksiyon ve Embriyo Vericileri ile Taşıyıcı Dişilerin Hazırlanması.....	34

3.4.1. Hormon Hazırlanması ve Enjeksiyon.....	34
3.4.2. Embriyo ile Transfer Yapılacak Farelerin Senkronizasyonu.....	34
3.5. Embriyoların Toplanması ve Kaymeraların Hazırlanması.....	34
3.5.1. Embriyo Toplanması	35
3.5.2. Kaymera Oluşturulması.....	35
3.5.2.1. Yapıştırma Kabının Hazırlanması.....	35
3.5.2.2. Agregasyon Kaymerasının Oluşturulması.....	36
3.6. Embriyo Transferi.....	37
3.7. Transfer Sonrası Bakım.....	39
3.8. Kullanılan Çözeltiler.....	41
3.9. İstatistik.....	41
4. BULGULAR.....	42
4.1. Kaymera Oluşturulması.....	42
4.2. Davranış Testleri.....	42
4.2.1. Rota Rot Testi.....	42
4.2.2. Açık Alan Testi.....	48
4.2.3. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi.....	53
4.2.4. Aydınlık Karanlık Tercih Testi.....	62
4.2.5. Morris Su Tankı Testi.....	70
4.2.6. Kısa Süreli Pasif Sakınma Testi.....	76
4.2.7. Uzun Süreli Pasif Sakınma Testi.....	81
4.2.8. Kısa Süreli Karanlık Kutu Testi.....	86
4.2.9. Uzun Süreli Karanlık Kutu Testi.....	87
5. TARTIŞMA.....	89
5.1. Davranış Testleri.....	89
5.1.1. Rota Rot Testi.....	89
5.1.2. Açık Alan Testi.....	91
5.1.3. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi.....	93
5.1.4. Aydınlık Karanlık Tercih Testi.....	96
5.1.5. Morris Su Tankı Testi.....	99
5.1.6. Kısa Süreli Pasif Sakınma Testi.....	101
5.1.7. Uzun Süreli Pasif Sakınma Testi.....	102
5.1.8. Kısa Süreli Karanlık Kutu Testi.....	103
5.1.9. Uzun Süreli Karanlık Kutu Testi.....	104
5.1.10. Davranışın Kalıtsal Temelleri.....	104
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	106
7. KAYNAKLAR.....	107
8. ÖZGEÇMİŞ.....	113

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Albino - Pigmente Xenopus kaymerası.....	7
Şekil 2.2.	Tavuk - bıldırcın spinal kord kaymerası.....	10
Şekil 2.3.	Fare kaymerasında $Gus-s^h$ - $Gus-s^b$ kaymerası karaciğerinde β -glukuronidaz histokimyasal işaretleyicisi.....	11
Şekil 3.1.	Balb/c soyu fare.....	21
Şekil 3.2.	C57BL/6J soyu fare.....	21
Şekil 3.3.	F ₁ (Balb/c x C57BL/6J) soyu fere.....	22
Şekil 3.4.	F ₁ (C57BL/6J x Balb/c) soyu fare.....	22
Şekil 3.5.	Rota Rot test düzeneği.....	26
Şekil 3.6.	Açık Alan test düzeneği.....	27
Şekil 3.7.	Yükseltilmiş Artı Labirent test düzeneği.....	28
Şekil 3.8.	Aydınlık Karanlık tercihi test düzeneği.....	29
Şekil 3.9.	Morris su tankı test düzeneği.....	29
Şekil 3.10.	Pasif sakinme test düzeneği.....	32
Şekil 3.11.	Karanlık kutu test düzeneği.....	33
Şekil 3.12.	8 Hücreli Fare Embriyosu.....	35
Şekil 3.13.	Kaymera üretiminde kullanılan özel petri kabı.....	36
Şekil 3.14.	Özel hazırlanmış petride zonası uzaklaştırılmış halinde bulunan 2 embriyo.....	37
Şekil 3.15.	Kaynaşmış 2 embriyonun oluşturduğu tek kaymerik embriyo	37
Şekil 3.16.	Transfer için uygun kaymerik blastula.....	38
Şekil 3.17.	Transfer pipetinin görüntümü.....	38
Şekil 3.18.	Diseksiyon mikroskopunun altında transfer pipetinin görüntümü.....	39
Şekil 3.19.	1 numaralı Kaymera.....	40
Şekil 3.20.	2 numaralı Kaymera	40
Şekil 4.1.	Tüm grupların rota rot testinde denemeler boyunca ilk düşüş süreleri.....	43
Şekil 4.2.	Tüm grupların rota rot testinde denemeler boyunca aktif süreleri.....	45
Şekil 4.3.	Tüm grupların rota rot testinde denemeler boyunca düşüş sayıları.....	47
Şekil 4.4.	Tüm grupların açık alan testindeki merkezden geçiş sayıları..	49

Şekil 4.5.	Tüm grupların açık alan testindeki çevre karelerden geçiş sayıları.....	50
Şekil 4.6.	Tüm grupların açık alan testindeki doğrulma sayıları.....	51
Şekil 4.7.	Tüm grupların açık alan testindeki toplam dışkı sayıları.....	52
Şekil 4.8.	Tüm grupların yükseltilmiş artı labirent testindeki açık kollara ilk giriş süreleri.....	54
Şekil 4.9.	Tüm grupların yükseltilmiş artı labirent testindeki açık kollara giriş sayıları.....	55
Şekil 4.10.	Tüm grupların yükseltilmiş artı labirent testindeki kapalı kollara giriş sayıları.....	56
Şekil 4.11.	Tüm grupların yükseltilmiş artı labirent testindeki açık kollarda geçtikleri çizgi sayıları.....	57
Şekil 4.12.	Tüm grupların yükseltilmiş artı labirent testindeki açık kollarda geçirdikleri süre.....	58
Şekil 4.13.	Tüm grupların yükseltilmiş artı labirent testindeki kapalı	59
Şekil 4.14.	Tüm grupların yükseltilmiş artı labirent testinde orta bölmede geçirdikleri süre.....	60
Şekil 4.15.	Tüm grupların yükseltilmiş artı labirent testindeki dışkı sayıları.....	61
Şekil 4.16.	Tüm grupların karanlık bölmeye ilk giriş süreleri.....	63
Şekil 4.17.	Tüm grupların aydınlık bölmede geçirdikleri toplam süre.....	64
Şekil 4.18.	Tüm grupların bölmeler arası geçiş sayısı.....	65
Şekil 4.19.	Tüm grupların aydınlık bölmede doğrulma sayısı.....	66
Şekil 4.20.	Tüm grupların aydınlık bölmede dışkılama sayısı.....	67
Şekil 4.21.	Tüm grupların karanlık bölmede dışkılama sayısı.....	68
Şekil 4.22.	Tüm grupların toplam dışkılama sayısı.....	69
Şekil 4.23.	Grupların Morris su tankındaki günler boyu performansları	71
Şekil 4.24.	Grupların testte platformun bulunduğu çeyreğe ilk geliş süreleri	73
Şekil 4.25.	Grupların testte platformun bulunduğu bölgeye ilk geliş süreleri	74
Şekil 4.26.	Grupların test süresince platform bölgesinde geçirdikleri süre.....	75
Şekil 4.27.	Grupların görme keskinliği testinde platformu bulma süreleri....	76
Şekil 4.28.	Grupların karanlık bölmeye ilk giriş süreleri (Kaçış Süresi).....	77
Şekil 4.29.	Grupların ilk ileri adım süreleri.....	78
Şekil 4.30.	Grupların donma süreleri.....	79
Şekil 4.31.	Grupların sok sonrası aydınlık bölmede kalma süreleri.....	80
Şekil 4.32.	Grupların karanlık bölmeye ilk giriş süreleri.....	82

Şekil 4.33.	Grupların ilk ileri adım süreleri.....	83
Şekil 4.34.	Grupların donma süreleri.....	84
Şekil 4.35.	Grupların şoktan sonra aydınlık bölmeye girme süreleri.....	85
Şekil 4.36.	Grupların donma süreleri.....	86
Şekil 4.37.	Grupların donma süreleri.....	88



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.	Genel kullanılan davranış testleri.....	17
Çizelge 3.1.	Davranış testlerinin programı.....	25
Çizelge 4.1.	Transfer sonrası gebelik oluşturma ve kaymerik yavru elde etme yüzdesi.....	42
Çizelge 4.2.	Tüm grupların rota rot testi düşüş süresi değerleri.....	42
Çizelge 4.3.	Tüm grupların rota rot testi aktif süre değerleri.....	44
Çizelge 4.4.	Tüm grupların rota rot testi düşüş sayısı değerleri.....	46
Çizelge 4.5.	Tüm grupların açık alan testi davranış parametrelerine ait değerler.	48
Çizelge 4.6.	Tüm grupların yükseltilmiş artı labirent testindeki açık kola ilk giriş süresi, açık ve kapalı kollara giriş sayıları ve açık kolda kat edilen çizgi sayısına ait değerler.....	53
Çizelge 4.7.	Tüm grupların yükseltilmiş artı labirent testindeki açık, kapalı kollar ile orta bölümde geçirdiği süreler ve toplam dışkı sayılarına ait değerler.....	58
Çizelge 4.8.	Tüm grupların aydınlık karanlık tercih testindeki farelerin karanlık bölmeye ilk giriş süresi, aydınlık bölümde geçirdiği zaman, bölmeler arası geçiş sayısı ve aydınlık bölümde doğrulma sayılarına ait değerler.....	62
Çizelge 4.9.	Tüm grupların aydınlık karanlık tercih testinde aydınlık ve karanlık bölmedeki toplam dışkı sayılarına ait değerler.....	67
Çizelge 4.10.	Tüm grupların Morris su tankı testinde günler boyunca performansları.....	70
Çizelge 4.11.	Tüm grupların Morris su tankında test günü performansları ile görme keskinliği sonuçları	72
Çizelge 4.12.	Tüm grupların kısa süreli pasif sakinme testindeki kaçış süreleri, ilk ileri adım süreleri, donma ve toplam süreleri....	77
Çizelge 4.13.	Tüm grupların uzun süreli pasif sakinme testindeki kaçış süreleri, ilk ileri adım süreleri, donma ve toplam süreleri....	81
Çizelge 4.14.	Tüm grupların kısa süreli karanlık kutu testindeki donma süreleri.....	86
Çizelge 4.15.	Tüm grupların uzun süreli karanlık kutu testindeki donma süreleri.....	87

ÖZET

Davranışın kalıtsal temelini Balb/c ve C3H/HenBom Soyu Fareleri ile Bu Farelerin Melezleri ve Kaymeralarında İncelenmesi

Davranışın kalıtsal ve çevresel faktörler tarafından şekillendirildiği bilinmektedir. Davranışın genetik temeli konusunda yapılacak araştırmalarda ideal modeller, bir yandan tek yumurta ikizleri iken diğer yandan genomun melez olmayıp aksine, iki aynı genomun tek bir bedende, herhangi bir sinir devresinin birbirini tamamlayan parçalarını aynı ama tümleşik şekilde oluşturduğu kaymerik canlılar olacaktır. Bu çalışmada, iki inbred fare soyu kullanarak oluşturulan kaymeralarda ve 1. kuşak melezlerde fare soylarında farklılık gösteren davranışların incelenmesi amaçlandı.

Embriyonik agregasyon yöntemi ile kaymerik fareler oluşturuldu ve davranış fizyolojisinde sıkça kullanılan bir dizi test, iki inbred fare soyu ve bu farelerden üretilen melez ve kaymeralara uygulandı.

Sonuçlar, inbred fare soylarında kimi testlerin sonuçlarında farklılık olsa da bu testlerin kaymerik fareleri ayırt etmede yetersiz kaldığını göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Kaymera, Davranış, Üreme fizyolojisi, Davranış fizyolojisi

ABSTRACT

investigation of the Genetic Basis of Behavior in Balb/c and C3H/HenBom Mice and in Their Crossbred and Chimeras

It is well known that both hereditary factors and environment give behavior its shape. Ideal models to search the genetic basis of behavior is both monozygotic twins and chimeric creatures in which genome is not hybrid but two different genomes are found in the same body. In this study, it is aimed to search different behaviors in two inbred strains of mice, their aggregation chimeras and first generation hybrids.

Chimeric mice were produced with embryonic aggregation technique and a number of tests were performed to the inbred strains and their chimeras and hybrids.

The results show that however some differences can be found between the inbred strains, those tests are insufficient to indicate the differences in chimeric mice.

Key Words: Chimera, Behavior, Reproductive physiology, Behavioral physiology

1. GİRİŞ

Aynı ya da farklı türe mensup birden çok bireye ait parçalardan meydana gelen canlılara kaymera denir. Deneysel modellerde kaymerizm, tek bir hücreye dışarıdan kalıtsal bilgi içeren DNA parçalarının aktarılmasıyla gerçekleştirilebileceği gibi farklı canlılara ait embriyonik hücrelerin bir araya getirilmesiyle ya da bütünlüğe kavuşmuş bir organizmaya, bir diğer canlıya ait doku – organ aktarılması ile de yapılabilmektedir.

Melezleme (hibridizasyon) ise farklı bireylere (genelde anne ve baba) ait genetik materyelin usulünce kaynaşıp tek bir diploid takım oluşturmasıdır. Kaymeralarda farklı bireyden gelen vücut parçaları ata genomu ile tıpatıp aynı iken, yani, aynı bedende iki ayrı genoma dayalı bölümler bir arada bulunurken melezlemede, bedeni oluşturan bütün hücreler aynı karma genoma sahiptirler ve bu karma genom kendisini oluşturan bireylerin genomlarından yeterince farklıdır.

Deneysel kaymerizm bir çok canlıda incelenmiştir. Genellikle kullanılan modeller fare, sıçan, kurbağa ve kanatlılardır. Tıpta uygulanan kaymerizmin en bilinen örnekleri, başta kan nakli olmak üzere her tür doku ve organ nakilleridir.

Erişkin bir canlıya dışarıdan nakledilen doku-organ alıcının bağışıklık sistemi tarafından reddedilirken (bu nakillerde doku reddini engellemek için bağışıklık sistemini baskılayıcı ajanlar verilmekte; bu şekilde doku reddinin oluşma olasılığı azaltılmakla beraber daha sonra başka problemler yaşanabilmektedir) gelişimin erken dönemlerinde oluşturulan kaymeralarda alıcı organizma dışarıdan gelen parçayı yabancı olarak algılamamakta ve sanki kendisinin bir parçasıymış gibi beraber gelişmektedir. Öyle ki erken dönemde oluşturulan kaymerik canlılar erişkin hallerinde kaymeranın oluşturulmasında kullanılan canlılara ait özellikleri bir arada sergilemekte ve bu şekilde mozaik bir canlı görüntüsü çizmektedir.

Mozaik görünüm sergileyen hücre gruplarının birbirlerinden ayrılarak tanımlanması için farklı teknikler kullanılmaktadır. Kaymerik canlılarda da kullanılan bu tekniklerin hepsinde temel prensip, uygulanan metot ne olursa olsun kaymerayı oluşturan vericilerin o

metodun incelediği özellik bakımından birbirlerinden farklı olmasına dayanmaktadır. Uygulanan tekniklerde işaretleyici olarak a) pigment b) morfoloji ve histoloji c) sitoloji d) kromozomlar e) biyokimyasal ve immünolojik farklılıklar kullanılmaktadır.

Embriyo' kaynaştırması ile oluşturulan kaymerik canlılarda mozaisizmin incelenmesinde karşımıza çıkan problem embriyonun genotipinin ve fenotipinin belirgin olmamasıdır. Dolayısıyla eğer vericilerin özellikleri tam olarak belirli değilse kaymerada vericiye ait özellikleri kullanarak inceleme yapmak çok güç olacaktır. Bu ihtimali azaltmak için verici canlıların inbred olması yeterlidir.

İnbred soy 20 kuşaktan fazla kardeş çiftleştirilmesi yapılarak oluşturulan soydur ve rasgele oluşan mutasyonlar dışında bireyler tüm gen lokuslarında homozigot olarak kabul edilirler. Dolayısıyla, başlangıçta yer alan bir farklılık, inbredizasyon süreci içerisinde kuvvetlenerek sonraki kuşaklara aktarılır. Bu şekilde kuşaklar boyu inbredizasyona tabi tutulmuş hayvanlar arasında olası davranış farklılıklarını gözlemek ve daha sonra bu farklılığı oluşturan yapısal farklılıkları araştırabilmek mümkün olmaktadır.

Kaymerik bir hayvanın hemen tüm dokularında hücreler mozaik bir şekilde dağılmış olabilir. Bu dağılım bölgelerinden bir tanesi de merkezi sinir sistemi olacaktır. Kaymerayı oluşturan canlılarda, o canlıya özgü tipik bir davranış varsa bu davranışın test edilmesi yukarıda bahsi geçen işaretleyici testler gibi kullanılabilir.

Davranış, bir organizmanın dışarıdan gelen uyarılara verdiği yanıtlar bütünü olarak tanımlanabilir ve davranış ile ilgili tartışmalardan bir tanesi davranışın kalıtsal mı yoksa çevresel mi olduğudur. Şüphesiz merkezi sinir sisteminde plastisite bulunmaktadır ve organizma çevresel uyarılara karşı kayıtsız kalmaz ve bir takım değişiklikler meydana gelir ancak soru bu değişimlerin ne ölçüde yeniden yapılandırıcı olduğudur. Davranışın kalıtsal mı yoksa çevresel olduğu konusunda hibridizasyon ilk bakışta çekici bir model gibi görünse dahi mozaik canlının genomunun tümleşmiş yeni bir genom niteliği taşıması bu modelin yararını

ileri derecede kısıtlar. Davranışın genetik temeli konusunda yapılacak araştırmalarda ideal modeller, bir yandan tek yumurta ikizleri veya ikizlemesi iken diğer yandan genomun melez olmayıp aksine, iki ayrı genomun tek bir bedende, herhangi bir sinir devresinin birbirini tamamlayan parçalarını ayrı ama tümleşik şekilde oluşturduğu kaymerik canlılar olacaktır.

Davranış fiziyojisinde bir çok test kullanılmaktadır. Bu testler lokomotor aktivite, anksiyete, doğal korku, uzaysal bellek, şartlanma gibi organizmanın birden fazla yapının katkıda bulunduğu karmaşık cevapları inceleyebilir. Kaymerik canlının test edilmesinden önce mümkün olduğunca fazla test bataryası ile inbred soylar test edilmeli daha sonra bu testlerde soylar arası bir farklılık bulunabilirse kaymerik canlı test edilmelidir. Davranış fiziyojisinde kullanılan testler birçok fare soyunda kullanılmış ve bunların bir kısmında farklılıklar göstermiştir.

Bu çalışmada, iki inbred fare soyu kullanarak oluşturulan kaymeralarda ve 1. kuşak melezlerde fare soylarında farklılık gösteren davranışların incelenmesi amaçlandı. Yapılan ön çalışmalarda kullanılması düşünölen C3H/HenBom soyu farelerde bulunan retinal dejenerasyon (rd) geni, davranış testlerinin uygulanmasında sorunlara yol açacağından dolayı bu soy C57BL/6J ile değiştirilmiştir.⁵

2. GENEL BİLGİ

2.1. Kaymerizm

2.1.1. Kaymerizm Hakkında Genel Bilgiler

Kaymera üretilmesi, yani kalıtsal olarak birbirinden farklı birden fazla zigottan türetilmiş hücre kümelerini içeren bileşik hayvanlar türetilmesi, deneysel embriyolojide öteden beri kullanılan bir yöntemdir.¹ Bazı türlerde blastomerlerin kesin kaderlerinin belirlenmesi ve embriyo hücrelerinin kendi başlarına gelişemeyip aksine birbirleriyle etkin şekilde karşılıklı etkileşim içinde olduklarının gösterilmesi, gelişme süreçlerinin aşırı karmaşık süreçler izlediğini kanıtlamıştır. Özellikle hücrelerin kimliklendirilmesine izin veren belirteçlerin kullanılması ve bir türe ait hücrelerin bir diğer türe aktarılmasını ön gören deneyler bu bilgide büyük bir artış sağlamıştır. Spemann'ın *Triturus cristatus* ile *Triturus taenatius* arasında yaptığı greftleme deneyleri ve amfibi embriyolarında “birincil örgütleyicinin” rolünü saptaması bu duruma bir örnek oluşturur.²

Bu öncül çalışmaların ardından, iki embriyonun kaynaştırılması ile tek bir “dört atalı” farenin çatılabildiğinin gösterilmesi ile gelişme biyolojisinde kaymeraların kullanılması birden bire yoğun biçimde artmıştır. Tarkowski ve Mintz'in öncü çalışmaları, memeli gelişmesin-de yeni bir alanın doğmasına yol açmıştır. Özellikle bıldırcın ve tavuk hücrelerinin bileştirilmesi ile kanatlılarda kaymera oluşturulması, son 10 yılda hemen tümüyle gelişme biyolojisinin bağımsız bir dalı olma niteliği kazanmıştır.

Çoğu omurgalı embriyosu, erken gelişme evrelerinde son derece düzenli olup deneysel veya doğal olarak dıştan gelen girişim ve bozma çabalarına şaşılacak kadar dirençlidir. Özellikle amfibi, kuş ve memelilerde bu durum, araştırmacının embriyo üzerinde işlem yapabilmesine izin verir ve sonuç olarak iki veya daha fazla sayıda embriyodan türetilmiş hücre kümelerinden oluşan hayvanlar çatılabilir. Bu bireylere, allofenik, mozaik ve dört atalı gibi çeşitli adlar verilirse de en sık kullanılan deyim, bunların bileşik doğasını belirtmek üzere, kaymeradır. Dolayısı ile kaymera terimi, tezimizde kullanıldığı biçimi ile, birden çok sayıda döllenen yumurtadan türetilmiş farklı hücre topluluklarından oluşan herhangi bir hayvanı tanımlar².

Kaymeraların gebelik sırasında bazen kendiliğinden belirmelerine karşın bunların isteğe bağlı olarak deneysel üretimi, son 70-80 yıl içinde deneysel malzeme kullanarak, biyolojide önem taşıyan şu tür sorular üretmemize ve bunlara yanıt aramamıza olanak sağlamıştır: Bir embriyo hücresinin kaderi ve potansiyeli nedir? Bunun belirlenmesinin doğası

nedir? Farklılaşma tersine çevrilebilir mi? Gen ifadesi nasıl denetlenir? Gelişme sırasında hücreler birbirleriyle nasıl etkileşirler?

Bu yüzyılın başlarında, embriyoloji ve gelişme biyolojisinin bir çok temel kavramı, en azından kısmen, iki ayrı embriyo (genellikle farklı amfibi türlerinden) arasında hücre veya doku aktarılmasının sonuçları temeli üzerinde bina edilmiştir. Spemann, transplantların kullanıldığı kendine ve diğer araştırmacılara ait deneyleri tartışmış ve bunların, amfibi embriyolarında indüksiyon, hücre kaderi, hücre potansiyeli ve belirlenmelerine ilişkin fikirleri irdelemede, diğer embriyolojik girişim tipleriyle birlikte kullanılmalarını anlatmıştır. Daha bu yüzyıl bitmeden embriyologlar türler arası doku aktarmalarından, yani kaymerik embriyolar oluşturulmasından sonra, hücrelerin izlenmesinde farklı amfibi türlerinin farklı renklerini kullanmayı öğrenmiştir. Amfibi gastrulasının farklı alanlarının potansiyelini belirlemek ve gastrulanın hem germ katmanları arasında ve hem de belli bir katmanın kendi içinde bölgesel belirlenmelerin haritasını çıkartmak için kaymeralar kullanılmıştır. Göz merceğinin optik çanak tarafından indüksiyonu, kaymerik göz kullanılarak incelenmiştir. Optik çanağın indükleyici gücü ve çeşitli dokuların bu indükleyiciyi yanıtlayma yeteneği, türler arası doku aktarmaları kullanılarak, embriyonun yaşıyla ilintili şekilde çözümlenmiştir. Farklı türlerin merceklerinde var olan çok ince yapısal düzenlemelerin denetimi dahi türler arası doku aktarımları ile incelenebilmiş ve alınan sonuçlar, indükleyici uyarının merceğin oluşması gerektiğini belirttiği fakat merceğin ince yapısının ne olacağını dayatmadığı ortaya çıkarılmıştır².

Kaymeralar, embriyonik düzenin daha hafif olduğu deneylerde de kullanılmıştır. Blastoporun dorsal dudağının örgütleyici gücü, bu bölgede türler arası doku aktarımları yapılarak incelenmiştir. Spemann'ın bildirdiğine göre Mangold bu bölgenin örgütleyici gücünün, bu bölgedeki materyalden bağımsız olarak işlev gördüğünü saptamıştır, zira aktarılmış bir "indükleyicinin" etkisi altında oluşan ikincil embriyolar, bizzat doku içinde dahi kaymerizm göstermektedir².

Bu tür amfibi kaymeralarının üretilmesindeki teknik yönler, doğrudan embriyoların atalarından bağımsız olmasına ve bunların embriyogenez sırasındaki gereksinimlerinin görece basit oluşuna bağlıdır. Bunlara kolay ulaşılır; yaşatılmaları kolaydır; çok özel aygıtlar gerekmeden işlemlenecek kadar büyüktürler; tür farkı olsa dahi yabancı dokuyu kabul ederler; ve işlem yapıldıktan sonra hızla iyileşirler. Farklı türlere ait hücreleri kolayca kimliklendirecek işaretleyici görevi yapmak üzere hücre pigmentasyon farklılıkları vardır. Öte yandan, bu niteliklerin tümü, kanatlı ve memeli embriyoları tarafından paylaşılmadığından amfibilerde yapılan öncü deneysel kaymerizm çalışmaları ile yüksek omurgalılardaki

kaymerizm çalışmaları arasında büyük bir boşluk bulunması şaşırtıcı değildir. Her şeye rağmen, kuş ve memeli gelişme biyolojisinde karşılaşılan benzer sorunlar günümüzde, kaymerik embriyolar oluşturma ve bu embriyoları inceleme ile benzer şekilde ele alınmaktadır².

2.1.2. Kaymera oluşturma yöntemleri

Kaymera oluşturulmasında kullanılan yöntemler:

I- Hücre düzeyinde:

Gen aktarımı: Bu tür kaymeralarda embriyonun erken evrelerindeki hücrelere farklı kalıtsal bilgiye sahip aynı veya farklı bir türden alınmış veya yapay olarak hazırlanmış bir bilgi parçası aktarılmakta ve doğum sonrasında bu bilginin ifadesi izlenmektedir.

Kromozom aktarımı: Bu tür kaymeralar bir türün çekirdeğine aynı veya ayrı türde bireylerden alınan veya yapay olarak üretilen kromozomlar eklenerek elde edilmektedir.

Çekirdek-sitoplazma melezi: Bu tür kaymeralar, bir türden alınan çekirdeklerin aynı türün kalıtsal olarak farklı bir başka bireyi veya bir başka türe ait bir bireyin sitoplazmasına aktarılması ve oluşan çekirdek-sitoplazma melezinin doğuma götürülmesi ile elde edilmektedir. Çekirdeklerin embriyonik veya ergin olup olmaması; aynı veya ayrı cinsiyetlere ait olması; hücre döngüsünün farklı evrelerinin verici veya alıcı olması ile geniş bir çalışma alanı gösteren bu melezler günümüzde klonlama ile bilinmekte ve yoğun araştırmalara konu olmaktadır.

II- Hücreler düzeyinde:

Erken embriyo evresinde: Bu tür kaymeralar zigot; 2-hücre; 4-hücre veya 8-hücre evresinde olan embriyolardan alınan zigot veya blastomerlerin başka bir bireye ait benzer zigot veya blastomerleri ile birleştirilmesi ve çatılan yeni canlının doğuma götürülmesi ile elde edilir. Bu tip kaymeralarda blastomerler eş veya farklı sayıda olabileceği gibi eş veya farklı embriyo evresinde olabilir; bir diğer seçenek olarak çatıda kullanılan zigot veya blastomerler aynı veya ayrı kalıtsal kökene sahip aynı türe mensup birey veya farklı türde bitki veya hayvanlardan elde edilebilir.

İleri embriyo evresinde: Trofoektoderm ve iç hücre kütleleri oluşmuş embriyolarda bu iki katmanın aynı veya farklı kalıtsal köke sahip aynı türün bireyleri veya ayrı türlere ait bireyler arasında karşılıklı değişimi söz konusu olabileceği gibi vericiye ait iç hücre kütlelerinden alınan hücrelerin alıcının iç hücre kütlelerine zerki ile de kaymeraların eldesi olasıdır.

III- Organ düzeyinde:

Organ nakilleri: Klasik transplantasyonlar ikincil kaymerizmin tipik örnekleridir.

Yukarıdaki metotların dışında radyasyon kaymeraları adı verilen bir grup vardır. Bu tip kaymeralarda alıcı canlının kemik iliği ve lenfoid dokuları yüksek doz da radyasyona maruz bırakılarak yıkılır. Yerine kalıtsal özellikleri başka bir canlıya ait kemik iliği nakledilir. Bu metod klasik organ düzeyinde kaymera oluşturma metodudur. Ancak kullanım sahası immünoloji ve radyobiyojoloji olduğu için özel olarak bu tip canlılar radyasyon kaymeraları olarak adlandırılırlar¹.



Şekil 2.1. Albino – Pigmente Xenopus kaymerası. İki embriyonun anterior ve posterior yarımının kaynaştırılması ile üretilmiştir².

Farede en sık kullanılan kaymera üretme metotları:

Agregasyon Kaymeraları: Gelişimin erken evresinde 4 – 8 hücreli embriyolar zonalarından temizlenip bir süre birbirlerine temas edecek şekilde kültüre ediliyorlar. Sonuçta iki farklı canlıyı oluşturacak olan embriyolar birlikte tek bir embriyo gibi hareket ederek gelişimlerini tek canlı oluşturacak şekilde sürdürürler.

Enjeksiyon Kaymeraları: Bu tip kaymeralarda iki morulla düzeyindeki embriyonu yapıştırılması yerine blastula aşamasına gelmiş bir embriyonun içerisine bir diğer canlıya ait hücrelerin zerk edilmesi söz konusudur. Bu teknikte zonanın uzaklaştırılması söz konusu değildir. Ayrıca fetus haricinde plasenta ve zarları oluşturacak birimler tek bir organizmaya aittir ve bu da türler arası kaymeraların üretilebilmesine olanak tanımaktadır¹.

2.1.2. Hücre İşaretleme Teknikleri

2.1.2.1. Genel Bilgiler

Deneysel olarak oluşturulmuş kaymerik bir canlının gerçekten kaymera olup olmadığı hücre işaretleme yöntemleri ile tespit edilebilir. İşaretleme ile hücre popülasyonlarının oranına ve uzaysal olarak nasıl dağıldıklarına bakılabilir. İdeal bir hücre işaretleme yöntemi 6 şartı yerine getirmelidir. Bunlar:

1. Ekstrasellüler olarak salgılanmamalı, hücreye lokalize olmalıdır.
2. Hücreye özgü olmalı, hücreler arasında geçmemeli ve diğer hücreleri etkilememelidir.
3. İlk işaretleme hücrede ve mitotik bölünmeler sonrasında stabil olmalıdır.
4. Gelişme süresince vücudun internal ve eksternal dokularında yaygın olarak bulunmalıdır.
5. Tüm halde ya da histolojik kesitlerde kolay tespit edilebilmelidir.
6. Hücre seleksiyonuna yol açmamalı ya da gelişim sürecini etkilememeli, gelişimsel olarak nötral olmalıdır.

Yukarıda bahsedilen 6 kriteri sağlayan ideal işaretleme yöntemi yoktur. Kullanılacak işaretleme yöntemi çalışılacak olan dokunun büyüklüğü ve hassasiyet gibi faktörler tarafından belirlenir. Örneğin bazı kalıtsal işaretleme yöntemleri nicelikten uzak bir biçimde uzaysal dağılım hakkında fikir verebilir. Diğer taraftan birçok kalıtsal biyokimyasal işaretleme yöntemleri iki hücre popülasyonunun oranı hakkında fikir verebilirken uzaysal dağılım konusunda bilgi vermezler^{1,2}.

2.1.2.2. Uygulanan İşaretleme Yöntemleri

Vital boyalar gibi dışarıdan uygulanan işaretleme yöntemleri klasik olarak embriyoloji çalışmalarında kullanılmakla beraber ardışık bölünmeler sonucunda eklenen boya seyreceğinden dolayı tercih edilen bir yöntem değildir. Dolayısıyla kısa süreli çalışmalar için tercih edilebilir. Bunun ötesinde kullanılan boyanın gelişimsel olarak nötral olduğundan ya da toksik olmadığından emin olmak gerekir. Ayrıca boyanın metabolize edilip şeffaf ürünlere dönüştüğü durumlar sonuçları olumsuz etkileyebilir. Vital boyalar, koloidal karbon, koloidal toryum, rodamin izosiyaniid gibi maddeler kaymerik sistemlerin işaretleme yöntemi olarak kullanılmaktadır¹.

2.1.2.3. Kalıtsal İşaretleme Yöntemleri

Kalıtısal işaretleyiciler nispeten daha stabil olmaları yüzünden uygulanan işaretleyicilere göre daha sık kullanılmaktadır. Ancak tüm dokulardaki gen ekspresyonu aynı olmadığından dolayı stabilitesinin bozulduğu durumlarda söz konusu olabilir. Genel olarak kullanılan işaretleyiciler:

Pigment: Birçok pigment işaretleyiciler ideal işaretleyici kriterlerine uymaktadır ancak kullanım alanları pigmente dokunun kısıtlı sayıda olması ile sınırlıdır. Pigment işaretleyiciler uygun özelliklerinden dolayı birçok kaymera sistemlerinde kullanılmıştır. Bunlardan bazıları: Hidra, bitkiler, *Drosophila*, g, civciv, fare, sıçan ve tavşandır. Pigment işaretleyicilerden farede en sık kullanılan albino (c) genidir. Bu gen melanin sentezinde yetmezliği yol açtığı için melanositlerde pigmentasyon görünmez. Dolayısıyla fare kaymeralarında kürkte ve retinada işaretleyici olarak kullanılmaktadır.

Morfoloji ve Histoloji: Morfoloji ve histolojiyi etkileyen genler kaymeralara geçeler ama bağımsız hücre işaretleyicileri yerine çalışmanın konusunu oluşturduklarından dolayı iyi hücre işaretleyicileri olamazlar. Kaymerik canlının kürkünde normal ve varyant kıllar ince bantlar halinde gözlenmektedir.

Farede anormal doku morfolojisine sahip birçok varyant bilinmektedir. Bunlardan bazıları, kısa kulak (se), kıvrık kuyruk (vt) ve inbred C57BL/6 ile C3H soylarının iskelet farklılıklarıdır. Bu özellikler her ne kadar canlının kaymera olup olmadığı hakkında bilgi verse de bağımsız hücre işaretleyicisi olarak uygun değildir. Hücre ölümü, doku dejenerasyonu ve anormal hücre yerleşimine sebep olan bazı genler kaymerik sistemlerde çalışılmıştır. Farede çalışılmış olan genlerden bazıları; retinal dejenerasyon (rd), distrofi muskularis (dy), purkinje hücre dejenerasyonu (pcd) ve sıçanda retinal distrofi (rdy). Bu genlerin hiçbirisi iyi hücre işaretleyicisi değildir. Zira hücre ölümünün ardından canlı hücrelerin ölü alanı doldurması ile uzaysal organizasyonun bozulması gerçekleşmektedir.

Sitoloji: En iyi bilinen kaymera işaretleyicisi tavuk – bıldırcın kaymeralarında kullanılan kromatin işaretleyicisidir. Bıldırcın hücrelerinin interfaz çekirdekleri Feulgen ve Rosenbeck DNA boyası ile boyandığı zaman bir, bazen iki adet büyük heterokromatik kütle şeklinde görülür. Tavuk hücreleri (diğer birçok hayvan hücresi gibi) bu belirgin kütleleri göstermezler ve bu özellik bıldırcın – tavuk hücreleri kullanılarak kaymera oluşturulan durumlarda işaretleyici olarak kullanılır. Bu işaret ile hemen tüm çekirdekli hücre tiplerinin tavuğa ya da bıldırcına ait oldukları kolayca tespit edilebilir. En büyük dezavantajı, interspesifik kaymeralarda kullanılabilmesidir ve tavuk – bıldırcın gelişimleri arasında farklılık bulunmaktadır (bıldırcının yumurtadan çıkma süresi 16 gün iken bu süre tavukta 21

gündür). Buna rağmen bu işaretleme yöntemi embriyogenez esnasında hücre göçü çalışmalarında kullanılmıştır¹.



Şekil 2.2. Tavuk – bildircin spinal kord kaymerası².

Kromozomlar: Kromozomlar kaymeranın mitotik olarak aktif herhangi bir dokusunda kaymerayı oluşturan hücre popülasyonlarının oranını tespit etmede kullanılır. Ancak bu teknik sadece bölünebilen hücreler ile sınırlı olduğu için ancak toplam hücrelerin ancak bir bölümü analiz için kullanılabilir ve bu da sonuçta tüm dokuyu temsil etmeyecektir. Özellikle mitotik aktivitenin doku genelinde üniform olarak görülmediği ya da iki hücre grubunun mitotik aktivite hızları farklı olduğu durumlarda hatalı tahminler oluşabilir. Kromozom sayısındaki farklılıklar türler arası (fare – sıçan ve fare – hamster) kaymeralarda kullanılmıştır^{1,2}.

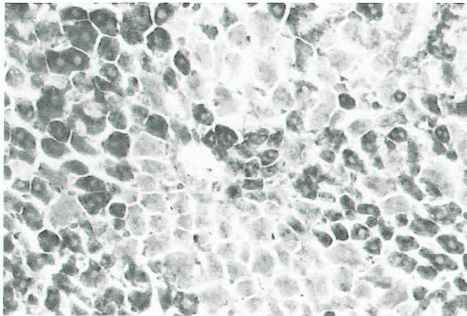
Biyokimya ve İmmünoloji: Biyokimyasal ve immünolojik farklılıklar doku organizasyonunun tahribatını gerektiren “indirekt” yöntemlerle ya da uzaysal bilgi verebilen “direkt” *in situ* yöntemlerle incelenebilir.

Kaymeralarda farklı “indirekt” işaretleyiciler kullanılmaktadır. Fare radyasyon kaymeralarında hemoglobin çözünürlüğünün ve karaciğer homojenatlarında β - glukuronidaz aktivitesinin incelendiği analizler, “indirekt” işaretleme teknikleri olarak kullanılmıştır. Hemoglobin varyantlarının elektroforezi fare – fare ve fare – sıçan radyasyon kaymeralarında, fare agregasyon kaymeralarında ve koyun enjeksiyon kaymeralarında kullanılmıştır. Ayrıca serum albumin ve transferrin varyantlarının elektroforezi koyun enjeksiyon ve agregasyon kaymeralarında işaretleyici olarak kullanılmıştır.

Elektroforetik varyantların işaretleyici olarak kullanılması her iki hücre popülasyonunun ayrıştırılıp aynı analiz metodu ile tanımlanmasını sağlar. Bu tanımlama ve oranlarının nicel olarak tespiti dansitometre gibi yöntemlerle objektif olarak yapılmaktadır. Fare kaymeralarında en yaygın olarak kullanılan işaretleyici, glukoz fosfat izomeraz (GPI-1) enziminin varyantlarının elektroforezidir. Enzim incelenen tüm vücut dokularında tespit edilmiştir ve modern elektroforetik teknikler çok az miktarda dokuda bile enzimin %1 – 2'lik miktarını tespit edebilecek kadar gelişmiştir.

Elektroforez her ne kadar gelişmiş kuvvetli bir metod olsa da diğer “indirekt” yöntemler gibi bir dezavantaja sahiptir. Bu yöntem ile *in situ* uzaysal dağılım hakkında fikir sahibi olunamaz. Ayrıca iki allozimin oranı tüm örnek doku için ortalama bir değeri gösterir (kan ile kontaminasyon olabilir ya da farklı hücreler farklı miktarda enzim içerebilir) dolayısıyla iki allozimin oranı iki hücre popülasyonunun gerçek oranını yansıtmayabilir. Hassasiyet göz önüne alındığında bu ciddi bir problem teşkil eder. Kan ile kontaminasyon problemi, dokunun çıkarılmasından önce kaymeranın fizyolojik serum ile perfüze edilmesi ile giderilebilir.

Bazı kalıtsal enzim aktivite varyantları, örneğin farede *Gus-s^h*'nin sebep olduğu çok düşük β - glukuronidaz aktivitesi, aktivitede yeterli derecede farklılık sağlanabilirse mükemmel hücre işaretleyicisi olarak kullanılabilir. Karaciğer homojenatlarında β - glukuronidaz aktivite farklılığı farklı iki hücre popülasyonunun varlığını göstermede kullanılmakta iken, *Gus-s^h* varyantının *in situ* olarak histokimyasal kullanımı ile güçlü bir işaretleyici haline gelmiştir.



Şekil 2.3. fare kaymerasında *Gus-s^h* – *Gus-s^h* kaymerası karaciğerinde β - glukuronidaz histokimyasal işaretleyicisi. Koyu boyanmış bölgelerde β - glukuronidaz aktivitesi normal (*Gus-s*), soluk boyanan bölgelerde ise β - glukuronidaz aktivitesi düşüktür (*Gus-s^h*)¹.

İmmünohistokimyasal teknikler *in situ* antijenik farklılıkların gösterilmesinde kullanılabilir. Geçmişte, bazı uygun antijenlerin dokuya homojen dağıtılamaması veya yüksek miktarda antikor ihtiyacı ya da florokromların çabuk solması gibi teknik zorluklar immünohistokimyasal işaretlemeyi zorlaştırmıştır. Ancak antijen tespit metodlarının gelişmesi ve monoklonal antikorların kullanılması işe bu işaretleme yöntemi kullanılmaya başlamıştır.

İmmünofloresans işaretleme prenatal türler arası sıçan – fare enjeksiyon kaymeralarında fare ve sıçan antijenlerini tespit etmekte kullanılmıştır. Ayrıca fare kaymeralarında immünofloresans ile H-2 ve diğer histokompetabilite antijenleri böbrek, serebellar Purkinje hücreleri, kolon dahil diğer birçok hücre çeşitlerinde gösterilmiştir.

Ayrıca glukoz fosfat izomeraz her dokuda bulunan bir enzim oduğu için bu işaretleme sistemi bir çok dokuda kullanılmaktadır. Enzimlerin histokimyasal ya da immünohistokimyasal işaretleme için kullanılması bir dezavantajı hedef enzimin hücreler arası transfer olma ihtimalidir. Örneğin, β - glukuronidaz enziminin *in vitro* ve fare kaymeralarında hücreler arası geçebildiği gösterilmiştir. Diğer bir dezavantaj, enzimin dokuda üniform olarak dağılmadığı durumlarda kontrol kesitlerinde bile görünümün yamalar şeklinde olmasıdır.

Kullanılan işaretleme tekniklerinden bir diğeri *in situ* DNA hibridizasyonudur. *Mus musculus* satelit DNA'sı işaretlenmiş ve türler arası *Mus caroli* – *Mus musculus* kaymerasında işaretleme için kullanılmıştır. Bu teknik ile embriyonik doku, erişkin beyin, karaciğer, böbrek ve testis dokuları işaretlenmiştir^{1,2}.

2.2. Kullanılan Model Hayvan: Fare

2.2.1. Farenin Laboratuvarında Kullanımı

Fare laboratuvarlarda en sık kullanılan memelidir. Ufak olması teminini ve bakımını kolaylaştırır. Ayrıca kısa sürede cinsel olgunluğa ulaşması ve kısa gebelik süresi ile bir seferde verdiği yavru sayısının fazla olması ayrıca farenin avantajlarından biridir.¹ Doğumdan sonra yavruların sütten kesilmeleri kısa sürer ve birçok memelide görülmeyen *post partum* östrus farenin belirli bir süre içerisinde verebileceği yavru sayısının fazla olmasına neden olur. Tüm bunlar fareyi neredeyse mükemmel bir model hayvan yapmaktadır. Ayrıca kısa nesil süresi ve embriyoların kolayca elde edilip rahatlıkla manipüle edilebilmesi farenin genetik ve gelişme çalışmaları için sıklıkla kullanılmasına sebep olmaktadır.^{1,3} Kalıtsal çalışmalar için nesil süresi daha kısa olan bakteri, küf, mantar ya da meyve sineği olan *Drosophila*

melanogester kullanılsa da memeli modelleri içerisinde yukarıdaki sebeplerden ötürü en avantajlı model faredir.

DeneySEL girişimlerde uygulama yapılan hayvanlarda genetik farklılıkların etkisini en aza indirmek isteniyorsa çalışmada inbred hayvanlarlar kullanılmaktadır. Farede inbred soylar ardışık 20 nesil süresince erkek – kız kardeş çiftleştirmeleri ile üretilirler. Rastgele çiftleştirmelerde amaç genetik varyasyonu artırmak iken inbredizasyonda amaç varyasyonu sifira kadar indirmektir⁴. İlk inbred fare soyu C.C. Little tarafından 1909 yılında üretilmiş olup şu an laboratuvarlarda kullanılmakta olan 650 civarında inbred soy bulunmaktadır.

İnbredizasyonu yapılmış bir fare soyunda bireylerin her türlü fiziksel ve fizyolojik özelliklerinin benzer olması beklenir. Ancak bazı farklılıklar görülebilir. Kalıntı halinde heterozigote bulunabilir. Bunun sebebi, inbredizasyonla düzeltilememiş olan yakın süreli mutasyonlar olabilir⁴.

2.2.2. Kullanılan Fare Soyları Hakkında Genel Bilgi

2.2.2.1. Balb/c

Orijinal stok 1913'te Bagg tarafından elde edilmiş, ondan MacDowell'a, oradan da 1932'de Snell'e geçmiştir. Dünya da en çok kullanılan 2 – 3 inbred soydan bir tanesidir. Bu soy mineral yağı enjeksiyonu sonrasında plazmasitoma geliştirmesi ile ünlüdür. Bu tümörler monoklonal antikor üretiminde temeli oluşturur. Dolayısıyla monoklonal antikor teknolojisi için vazgeçilmez bir soydur. İyi üreme performansı ve uzun yaşam süresi vardır. Normalde düşük meme tümörü geliştirme sıklığı vardır ancak C3H soyu yavrulara annelik yaparlarsa (C3H soyu tümörü oluşturan virüsün taşıyıcısıdır) meme tümörü görülmeye başlar. Hayvanların %39'unda korpus kallozum bulunmaz⁵.

Genel olarak 3 alt soy kullanılır: Balb/cHeAn, Balb/cJ, Balb/cR1. Genetik işaretleyicilere ait veriler bu üç alt soyun genetik kontaminasyondan ziyade mutasyonlar ya da artık heterozigosite sayesinde farklılaştığını göstermektedir. Bu alt soyların *Raf1* (α -fetoprotein ekspresyonundan sorumludur), *Qa2* (hücre yüzey antijenleri ile ilgilidir), *Gdc1* (karaciğerdeki L-gliserol 3-fosfat dehidrogenaz enzim aktivitesinden sorumludur) lokuslarındaki mutasyonlar yüzünden farklı oldukları gösterilmiştir. Bir değer alt soy olan Balb/cWt'de ise hermafroditizm görülme sıklığı yüksektir⁵.

Bunlarla beraber Balb/c'de bazı davranış parametreleri de değerlendirilmiştir. Yapılan ölçümlerde Balb/c'lerin yüksek soy içi saldırganlık gösterdiği, düşük açık alan aktivitesine sahip olduğu, yüksek spontan lokomotor aktiviteye sahip oldukları, yüksek idrar ve dışkı

çıkardıkları, sakınma şartlanmalarının düşük olduğu, alkol tercihlerinin düşük olduğu gösterilmiştir⁶.

2.2.2.2. C57BL/6J

C57BL soyu, 1921'de Little tarafından Abbie Lathrop'un stokundaki 57. kuşak dişi ile 52. kuşak erkeğin çiftleştirilmesi ile üretilmiştir. Aynı çiftten C57L ve C57BR soyları da üretilmiştir. Aynı çiftin erkeği ile çiftleşen 58. kuşak dişi ile C58 soyu üretilmiştir. C57BL/6J soyu olasılıkla en sık kullanılan fare soyudur. Diğer 36 standart fare soyundan farklı olarak Y kromozomu *Asya Mus musculus* kökenlidir. Alt soya bağlı olarak iyi üreme performansına sahiptir. 20 haftadan fazla yağ oranı yüksek diyet ile beslendikleri takdirde aort duvarında atheromatoz lezyon oluşturmaya yatkındır. 12 ve 24 haftalıkken plazma kolesterolleri düşüktür. Tümör oluşma sıklığı erkeklerde % 33 ve dişilerde %31'dir. Oluşan tümör büyük oranda lenfomadır (erkeklerde %31, dişilerde %29'dur). Mikrooftalmi – anoftalmi % 8 – 20 ve hidrosefalus %1 – 3 sıklıkla görülür. C57BL/6J soyunda iki alt soy, 6 ve 10 bulunur. Bu alt soylar *H9*, *Igh2* ve *Lv* lokuslarında farklılık gösterirler⁵.

Ayrıca C57BL/6J soyu farelerin yüksek açık alan aktivitesine sahip oldukları, yüksek spontan lokomotor aktiviteye sahip oldukları, şoktan sakınma becerilerinin düşük olduğu, tatlı objelere tercihlerinin fazla olduğu gösterilmiştir. Bunlarla birlikte bir çalışmada 7 farklı soyla kıyaslandığında isovalerik asit kokusuna duyarız olduğu gösterilmiş ve C57BL soyunun anozmi çalışmalarında model olarak kullanılabilceği ileri sürülmüştür. Etanol bağımlılığı oluşturulmasına yatkındır. Alkol yoksunluğu ise düşük şiddettedir⁶.

2.2.3. Farenin Kaymera Üretiminde Kullanımı

Fare embriyolarının rapor edilmiş olan blastula aşamasına kadar olan ilk kültürü John Hammond Junior tarafından gerçekleştirilmiştir. 1946'da İngiltere Cambridge'deki Strangeways laboratuvarında Hammond, fare embriyolarını 8 hücreli morulla aşamasından blastulaya kadar kültüre edebilmiştir. Ancak aynı işlem iki hücreli embriyolara uygulandığında başarısızlığa uğramıştır.

1956'da Avustralya Canberra'da Avustralya Ulusal Üniversitesinde çalışan veteriner hekim Wesley Whitten içeriği belirli bir kültür vasatı geliştirme fikrini ortaya atmış ve Krebs Ringer bikarbonat tamponuna sığır serum albumini ekleyerek tek hücreli fare embriyolarını blastula aşamasına kadar kültüre edebilmeyi başarmıştır.

Whitten daha sonra Amerika'ya göç etmiş, burada John Biggers ile ortak çalışmaya başlamıştır. Biggers'in laboratuvarında bir başka bilim adamı 1960'ların sonunda preimplantasyon dönemindeki fare embriyolarının gelişmesi için gerekli maddeleri tanımlayarak kültür vasatı oluşturmuş ve mikro damla kültür tekniğini geliştirmiştir.

Aynı dönemde İngiltere'de Anne McLaren ovidukt ve uterus transferlerinin optimizasyonunu gerçekleştirerek fare embriyolarından canlı fare oluşturulması için gerekli tüm şartların tamamlanmasını sağlamıştır. Varşova'da Kristof Tarkowski tek blastomerin gelişme potansiyelini incelemiş ve ilk defa farelerde kaymeraları üretmiştir.

Tarkowski'nin metodunda zona pellüsida mekanik olarak yıkıldıktan sonra zonasız embriyolar birbirlerine yaklaştırılarak kaynaşmaları sağlanıyordu. Bu metod ise teknik olarak oldukça güçlü. Tüm işlem, Beartice Mintz'in Pronaz enzimini kullanarak zonayı enzimatik olarak yıkması ile kolaylaştı.

Embriyonik ve ekstraembriyonik dokunun kökeni ve erken dönem embriyonik hücrelerin kaderlenmesi ile ilgili çalışmalara Cambridge'den Richard Gardner, alıcı blastulalara izole edilmiş hücre enjeksiyonu ile kaymera oluşturarak yeni bir boyut getirmiştir³.

2.3. Davranış Testleri

2.3.1. Genel Bilgi

Organizmalar çevreleri ile ilişki halindedir. Dışarıdan ve / veya içeriden gelen etkiler organizma tarafından alınıp yorumlanarak tepki halinde yansıtılır. Organizmanın cevap olarak verdiği tepkiler bütünü davranış olarak adlandırılır. Doğada hayvanlar gerek yaşadıkları çevre ile gerekse birbirleri ile iletişim / etkileşim halindedirler ve şu ya da bu şekilde yaşadıkları ortama kendilerini adapte etmek zorundadırlar. Bu adaptasyonlar besin elde etmek olabileceği gibi, avcılardan kaçmak veya eş bulmak gibi olabilir. Her türün kendine özgü ihtiyaçları vardır ve benzer ihtiyaçlara farklı türler farklı çözümler getirmiş olabilir. Bunun yanında, karmaşıklaşan davranış şekillerinin nasıl evrimleştiği ve davranışın bizzat evrimi nasıl şekillendirdiği henüz cevabı bulunamamış bir sorudur.

Davranış çalışmalarında konuya yaklaşım farklılıkları nedeniyle çalışmada sorulan sorular farklılık göstermektedir. Buna göre davranış çalışmaları ile 4 farklı soruya yanıt aranabilir:⁷

- 1) **Nedensellik:** İç ve dış faktörlerin davranışı nasıl etkilediğini, nasıl kontrol ettiğini araştırır.

- 2) **Gelişim:** Organizmanın yaşamı süresince belirli bir davranış şeklinin nasıl geliştiğini ve şekillendiğini inceler. Canlının davranışının gelişimi esnasında çevresi ile etkileşimini araştırır.
- 3) **Fonksiyon:** Belirli bir davranışın ne kadar hayati bir öneme sahip olduğunu inceler. Organizmanın belirli bir davranış şekli ile nasıl fiziksel ve sosyal ortamda nasıl hayata kalıp neslini devam ettirdiği irdelenir.
- 4) **Evrim:** Belirli bir davranış şeklinin türlerin tarihsel gelişimi içerisinde nasıl farklandığını nasıl çeşitlendiğini inceler.

İki soru tipi sıkça karıştırılır. Evrim ile ilgili sorularla davranışın tarihsel değişimi incelenirken, fonksiyonel sorular ile aynı davranışın şu an ne maksatla ve/veya neden kullanıldığı araştırılır⁷.

Dört araştırma sorusu ile belirli bir davranışın irdelenmesi konusunda basit bir örnek verilebilir. Bir spor müsabakasında taraflardan bir tanesi müsabaka kuralları gereği bir sayı yaparsa o takımı destekleyen insanlar sevinirler. İnsanların böyle bir durumda sevinç göstermeleri yukarıdaki soruların birincisi ile incelenecek olursa, yanıt olarak görsel uyarıların merkezi sinir sistemine iletildiği, beynin korteksinin ve alt merkezlerin çalıştığı gibi bir yanıt elde edilebilir. Aynı davranış ikinci soru olan gelişim ile incelenecek olunursa, bu tip takım tutarak sevinmenin çocukluktan itibaren öğrenildiği ve ödül merkezinin uyarılması ile bu tavrın gittikçe kuvvetlendiği gibi bir cevap alınabilir. Üçüncü soru olan fonksiyonla ise böyle bir tavır sergilemenin ne kadar önemli olabileceği incelenir. Cevap olarak takım destekleme kişisel bir olgu olduğu kadar sosyal bir olaydır. Takımın galibiyeti ile birey ödüllendirilmiş olduğu kadar sosyal bir canlı olan insanın eş düşünceye sahip diğer bireylerle ufak kabileler kurarak yaşamak istemesi türünün gereğidir. Son olarak dördüncü soru olan evrim ile aynı davranışın zaman içerisinde, savaşlardan sportif müsabakalara kadar olaylarda galip tarafın kutlamasının cevap olarak alınabileceği şekilde görülebilir.

Dört soru birbirlerinden farklıdır, farklı cevapları vardır ve birbirleri ile karıştırılmamalıdır. Bununla beraber, sorulan bir sorunun cevabı diğer bir soru hakkında ipucu verebilir. Örneğin bir davranışın fonksiyonu, aynı davranışın nasıl oluştuğu (nedensellik) konusunda fikir verebilir.

Davranış çalışmalarında genel tartışmaya sebep olan bir konu organizmanın davranışının kalıtsal mı yoksa çevresel mi olduğudur.

Organizmanın verdiği davranış yanıtı çok çeşitli olabileceğinden ötürü birçok davranış testi günümüzde kullanılmaktadır. Davranış testlerinden önce, teste tabi tutulacak hayvanın testin sonucunu etkilememesi için bir motor eksikliği olup olmadığı öncelikle test edilir.

İşitme ve görmedeki duysal noksanlıklar basit ya da teknolojik yöntemlerle ölçülebilir. İşitme için basit bir test olarak el çırpıma hayvanın vereceği yanıtı bakmak ve görme için de hayvanın yüksekçe bir masaya bırakmak ve masanın kenarından düşüp düşmeyeceğine bakmak olabilir. Eğer bir noksanlık bulunursa o noksanlığın dahil olmadığı bir test kullanılabilir. Örneğin görme kusuru olan bir farede öğrenme ile ilgili bir test uygulanacaksa testteki ipucu görsel değil işitsel olabilir⁸.

Çizelge 2.1. Genel Kullanılan Davranış testleri⁸.

Değerlendirme	Test
Hareket	Rota Rot Açık Alan Y- Labirenti Lokomotor Kafesi
Anksiyete	Yükseltilmiş Artı Labirent Aydınlık – Karanlık Tercihi Aynalı Oda
Öğrenme	Morris Su Tankı Pasif Sakınma Işınsal Kollu Labirent
İlaç Kullanımı	Yer Tercihi Kendine Uygulama Opiat Yoksunluğu

2.3.2. Rota Rot

Hareket bir çok beyin merkezi tarafından kontrol edilen bir özelliktir. Ayrıca lokomotor aktivite hayvanın genel sağlığından da etkilenir. Locomotor aktivite birçok karmaşık davranışlar için gerekli olduğundan dolayı bu testlere geçilmeden önce lokomotor aktivite ölçümleri yapılmaktadır. Rota rod testinde serebellar fonksiyonlar ile motor koordinasyon test edilir. D2 tip dopamin ve inositol trifosfat reseptörlerinde noksanlık bulunan farelerde rota rot performansının düşük olduğu bildirilmiştir^{9,10}. Ayrıca hayvanın testteki performansı vücut ağırlığı tarafından da etkilenebilir¹¹. Testte hayvan yüksek bir yere yerleştirilmiş dönen ince bir çubuğun üzerine konular ve belirli bir süre içerisindeki performansına bakılır (Şekil 3.5.). Çubuk üzerinde kalma motivasyonu çubuğun yükseltilmesi ile artırılabilir.

2.3.3. Açık Alan

Açık alan testi halen kullanılmakta olan davranış testlerinin en eskilerinden bir tanesidir. Test düzeneği, duvarları testin uygulandığı hayvanın dış ortamı görmemesi için yükseltilmiş olan bir kareden ibarettir. Kare, daha ufak karelere bölünerek merkez ve çevre olarak iyi kısma ayrılır. 65 yıl kadar önce Hall artmış duygulanımın göstergesi olarak azalmış hareket ve artmış defekasyon kavramlarını ortaya atmıştır. O zamandan günümüze kadar 20 kadar farklı gözlemsel parametre incelenmiş ve açık alan testi lokomotor aktivite / duygulanım ile sıkça kullanılan testlerden bir tanesi olmuştur. Örneğin doğrulma (azalması, anksiyetedeki artış ile paralellik göstermektedir) ve tigmotaksi (testte kullanılan hayvanın orta kısımlar yerine duvar kenarına yakın kısımlarda hareket etmesi) bu parametrelerdendir^{12,13}. Ortam ışıklandırmasının artışı hayvanda dolaşmada azalma ile sonuçlanır. Dolayısıyla açık alan testinde salt motor aktivite ölçülmez. Açık alan performansını etkileyen genler sadece motor koordinasyon ile ilgili değil, bununla beraber araştırma becerisi, koku, görme, ve korku ile anksiyetedir. Bundan ötürü stres kaynağı azaltılmış açık alan testinde genel hareket hakim iken stres kaynağı eklenmiş düzener anksiyeteyi test etmek için kullanılabilir. Kantitatif özellik lokusları (QTL) analizlerinde açık alan aktivitesinde 4. ve 7. kromozomların etkili olduğu tespit edilmiştir^{12,14,15}.

2.3.4. Yükseltilmiş Artı Labirent

Yükseltilmiş artı labirent testinin temeli farenin yeni bir ortamı keşfetme isteği ile görsel olarak açık ve yüksek bir ortamın duygusal olarak itici olmasının getirdiği çelişkiye dayanmaktadır¹². Genelde siyah pleksiğlastan yapılan düzener artı şeklinde yerleştirilmiş 4 koldan oluşur. Bu kolların aynı doğru üzerine yerleşmiş olan iki tanesinin kenarları açık, açık kollara dik olarak yerleşmiş diğer iki kolun kenarlarında ise fareyi dış ortamdan ayıran yüksek duvarlar bulunur. Kollar yerden belirli bir yüksekliğe yerleştirilmiştir¹⁶ (Şekil 3.7.). Anksiyolitik ilaçlar farenin açık kollara giriş sayısını kapalı kollara giriş sayısına kıyasla artırır^{12,16,17}. Giriş sayısı haricinde kollarda geçirilen zaman açık kolda kat edilen mesafe ayrıca gözlenmektedir. Bir çalışmada matematiksel analiz ile yükseltilmiş artı labirent testinde en iyi anksiyete göstergesinin açık kola giriş, açık ya da kapalı kollardan farenin burnunu kenarlardan zemine doğru uzatması ve ileri doğru gerilmesi ve tekrar eski haline dönmesi olduğu belirtilmiştir¹⁸. İlaç çalışmalarında kollara toplam giriş sayısı göz önüne alınmaktadır, öyle ki sedatif bir ilaç kollara toplam giriş sayısını azaltırken psikostimulan bir ilaç giriş sayısını arttırmaktadır. Ayrıca kronik olarak yüksek kan basıncına sahip farelerin anksiyete

skorlarının daha yüksek olduğu gösterilmiştir¹⁹. Farklı yaş gruplarındaki hayvanların farklı düzeyde anksiyeteye sahip olduğu da gösterilmiştir²⁰.

2.3.5. Aydınlık Karanlık Tercih Testi

Anksiyete testleri genellikle hayvanın tercih edebileceği bir durum ile hayvanda stres oluşturabilecek koşul arasındaki çelişkiye hayvanın vereceği tepkinin gözlenmesi ile oluşur. Aydınlik – karanlık tercih testinde de böyle bir durum söz konusudur. Farenin doğal olarak tercih edebileceği karanlık ufak bir bölme ile bu bölmeye komşu daha geniş ve aydınlık bir bölme arasındaki tercih seçimi incelenir (Şekil 3.8.)¹². Motor fonksiyonu etkileyen ilaçlar bu düzenekteki farenin performansını etkileyebileceğinden dolayı bu düzenekte test yapılmadan önce açık alan testi uygulanmalıdır. Anksiyolitik ilaçlar araştırma davranışını arttırmaktadırlar bu da aydınlık – karanlık bölmeler arasındaki geçiş sayısının artması ile kendini gösterir¹². Ayrıca yükseltilmiş artı labirent testinde olduğu gibi aydınlık karanlık tercih testinde de tercihin yaş ile değişebileceği gösterilmiştir²¹.

2.3.6. Morris Su Tankı

Morris tankı ile uzaysal bellek testi yaklaşık 20 yıl önce kullanılmaya başlanmış ve o günden günümüze kadar nörofizyolojide sıkça kullanılan bir test haline gelmiştir. Testte duvarları yüksekçe bir havuz vardır (Şekil 3.9.). Havuz su ile doldurulduğu zaman farenin kolayca tırmanarak sudan kaçabileceği bir platform bulunmaktadır. Klasik olarak su opak bir madde ile bulandırılır, bu şekilde farenin platformu görmesi engellenmiş olur. Denemeler devam ettikçe fare platformun yerini öğrenir ve test yapılacağı zaman platform uzaklaştırılarak farenin platformun bulunduğu konumdan geçiş sıklığı ölçülür²². Düzenekte, hayvanın performansı bir çok beyin bölgesi tarafından kontrol edilir. Hipokampus, bazal ön beyin, striatum, serebellum ve bazı neokortikal bölgelerde noksanlık olan hayvanların su tankında yön bulma performanslarının etkilendiği bildirilmiştir. Hipokampal yapının bütünlüğü ile uzaysal bellek ilişkisi sıkça çalışılmıştır²³. Ayrıca genetik alt yapı ile morris su tankında öğrenme becerisi arasında ilişki olabileceği gösterilmiştir²⁴. Bunların yanı sıra Morris su tankı ile uzaysal öğrenmenin test edilmesinde uygun tür seçimi yapmak önemlidir. Suya rahat adapte olabilecek türler yerine adaptasyonu problemlili türler ile çalışmak, sonuçlar açısından yanıltıcı olabilir²⁵.

2.3.7. Pasif Sakınma Testi

Sakinme testlerinde temel mantık, hayvanın elektrik şoku aldığı bir ortama girmemesi veya aynı ortama tekrar konulduğunda kaçmasıdır. Tek yönü sakinme düzeneklerinde deneye tabi tutulan hayvan ya aktif (hareket ederek) ya da pasif (hareketsiz) yanıt verir. Hayvanın düzenekteki performansı genel aktivitesi ile değerlendirilir. Pasif sakinme düzeneği birbirine bitişik iki bölmeden oluşur (Şekil 3.10.).Pleksiglastan yapılan bölmelerin bir tanesi şeffaf olup aydınlatılmıştır, diğeri ise siyah pleksiglastan yapılmış ve karanlık kalması sağlanmıştır. Aydınlık – karanlık tercih düzeneğindeki araştırma (karanlık) ve çekinme (aydınlık) arasındaki çelişkiye dayanır¹². Hayvan ilk olarak aydınlık bölmeye konular, bir süre sonra karanlık bölmeye girdiğinde burada şok alır ve test edilecek bellek tipine göre belirli bir süre sonra hayvan tekrar aydınlık ortama bırakılarak bu bölmede sergilediği tavır incelenir. Düzenekte korku, kemirgenlerdeki genel korku davranışı olan donma (freezing) ile değerlendirilir. Ayrıca karanlık bölmeye eğer tekrar girse giriş süresi, aydınlık bölmede geçirdiği toplam süre de değerlendirilen parametrelerdendir. Pasif sakinme düzeneğinde hayvan düzeneğe tekrar konulduğunda hayvana önce yaşadığı kötü şoku hatırlatan aydınlık bölme ile karanlık bölmeyi ayıran kapıdan görünen karanlık bölmenin bir parçasıdır. Dolayısıyla bu düzenekle hayvanın ipucunu değerlendirerek bütüne ulaşabilme becerisi de değerlendirilmiş olur.

2.3.8. Karanlık Kutu Testi

Düzenek 3 yüzü siyah ve bir yüzü gözlem için şeffaf pleksiglastan yapılmış bir kutudur. Düzeneğin alt kısmında elektrik şoku verilmesini sağlayan ızgara bulunur (Şekil 3.11.). Düzenek korku şartlanma modeli olarak kullanılmaktadır. Çevresel korku şartlanmasının (contextual fear conditioning) en basit versiyonunda fare yeni bir ortama bırakılır. Ortamda belirli bir süre araştırma yapmasına izin verildikten sonra elektrik şoku verilir. Şok esnasında hayvan patlayıcı tarzda şiddetli hareketler sergiler, daha sonra bu artmış hareketlilik yerini mutlak hareketsizlik olan donmaya bırakır. Pavlov şartlamasına göre bu durumdaki koşulsuz uyaran şoktur. Koşulsuz yanıt ise elektrik şoku sonrası artmış hareketlilik, koşullu yanıt ise donma tavrıdır. Elektrik şoku sonrası hayvan aynı ortama bir kez daha bırakıldığında gerçekleşen ve koşullu yanıt olan donma hareketini tetikleyen koşullu uyaran ise bizzat çevrenin yani şokun verildiği ortamın kendisidir. Dolayısıyla bu düzenekte şartlanmanın gerçekleştiği çevrenin bütün olarak sunumu vardır. Pasif sakinme düzeneğinden farklı olarak ipucu değerlendirmesi yerine bütünün hatırlanma becerisinin değerlendirilmesi söz konusudur. Şoktan sonra hayvanın tekrar düzenekte test edilmesi için geçen süre, test edilecek bellek tipine göre farklılık göstermektedir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Soylar

Balb/c ve C57BL/6J soyu fareler 2001 yılında Zonguldak Karaelmas Üniversitesinden temin edilmiştir. Soy başarının Fizyoloji Anabilim Dalında getirilmesinden itibaren inbredizasyona tabi tutulmuştur. Fare soylarına ait resimler, Şekil 3.1. ve Şekil 3.2'de sunulmuştur.



Şekil 3.1. Balb/c soyu fare



Şekil 3.2. C57BL/6J soyu fare

Fare melezleri de (Balb/c x C57BL/6J ve C57BL/6J x Balb/c) üretilmiş olup testlerde kullanılmıştır. Melezlere ait resimler Şekil 3.3. ve Şekil 3.4.'de verilmiştir.



Şekil 3.3. F₁ (Balb/c x C57BL/6J) soyu fare



Şekil 3.4. F₁ (C57BL/6J x Balb/c) soyu fare

3.2. Kullanılan Soyların Bakımı ve Üretilmesi

Soyların bakımı ve üretilmesi Anabilim Dalında özel olarak ayrılmış bir odada sürdürülmektedir. Ortamda sadece fareler bakılmakta olup bu canlıların doğal avcısı olan sıçanlar ile ayrı ortamlarda tutulmaktadır. Odanın ısısı pencere tipi iklimlendirme cihazı ile kontrol edilmekte olup ortam ısısı mümkün olduğunca sabit tutulmaktadır (22 ± 1 C°). Odanın camları ışık geçirmeyecek şekilde boyanmış olup gece-gündüz döngüsü otomatik denetleyici bir cihazla 12 saat gece, 12 saat gündüz olacak şekilde (07:⁰⁰-19:⁰⁰ aydınlık ve 19:⁰⁰-07:⁰⁰ karanlık) düzenlenmiştir. Odanın ısı ve ışık düzenlemesinden sorumlu cihazlar elektrik kesintilerine karşı jeneratöre bağlanmıştır.

Kullanılan kafeslerin alt kısımları şeffaf polietilen malzemeden üretilmiş olup yem ve su şişesinin konulduğu üst kısım ise paslanmaz krom tellerden yapılmıştır. İki farklı kafes boyu kullanılmaktadır. Küçük kafeslerde en fazla 5 hayvan barındırılmakta olup bu tip kafesler embriyo transferi yapılmış dişiler, vazektomize veya embriyo eldesinde kullanılan cerrahi işlem geçirmemiş erkekler ve davranış testlerinde kullanılan farelerin barındırılması için kullanılmaktadır. Büyük kafesler ise üretimde ve üretim fazlası stok hayvanların barındırılmasında kullanılmaktadır.

Hayvanların yemleri, TAVAŞ tarafından Tıbbi ve Deneysel Araştırma Merkezi için özel olarak üretilmektedir. Su olarak ise yumuşatılmış çeşme suyu verilmektedir. Farelere yem ve su kısıtlamasız olarak verilmektedir.

3.3. Uygulanan Davranış Testleri

Davranış testlerinde ortalama 8 haftalık erkek fareler kullanılmıştır ve kullanılan tüm davranış testlerinde standart olarak testten 4 gün öncesinde itibaren her gün, günde iki defa fareler yumuşakça tutularak elle tutulmaya, kaldırılmaya ve bırakılmaya alıştırmışlardır. Bu

şekilde farelerde test esnasında testi yapan kişinin oluşturacağı stres mümkün olduğunca azaltılmaya çalışılmıştır.

Tüm testler video kamera aracılığıyla test esnasında fareye dışarıdan müdahale etmemek için kaydedilmiş olup kayıtlanmış testler daha sonra deşifre edilerek incelenmiştir.

Morris Su Tankı hariç tüm testler sabah – öğle arası (09:⁰⁰-13:⁰⁰) yapılmıştır.

Elektrik şokunun kullanıldığı teste tabi tutulan fareler başka şok gerektiren testlere girmemişlerdir. Davranış testlerin yapılma sırası ve süreleri Çizelge 3.1’de verilmektedir.

Çizelge 3.1. Davranış testlerinin programını

Kullanılan Test	Günlük												KSPS	USPS	KSKK	USKK														
	09:00-13:00	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD					MST	MST	MST	MST	MST	MST	MST	MST	GK Test					
	13:00-16:00	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD																		

AD: Adaptasyon

RR: Rota Rot

AA: Açık Alan

YAL: Yükseltilmiş Arta Labirent

AK: Aydınlık – Karanlık Tercih Testi

MST: Morris Su Tankı

GK: Gözme Keskinliği

KSPS: Kısa Süreli Pasif Sakınma

USPS: Uzun Süreli Pasif Sakınma

KSKK: Kısa Süreli Karanlık Kutu

USKK: Uzun Süreli Karanlık Kutu

3.3.1. Rota Rot testi

Testte fare dakikada 30 kez dönen bir çubuk üzerine yüzü çubuğun hareket yönünün tersine gelecek şekilde konulmuş ve 120 saniye süre ile izlenmiştir (Şekil 3.5). Fare, test süresince çubuktan düşerse tekrar çubuk üzerine konulmuştur. Test, denemeler arasında 1 saat olacak şekilde 4 kez tekrarlanmıştır. Gözlenen parametreler:

- İlk düşüş süresi : Testin başlamasından ilk kez düşmesine kadar geçen süre
- Aktif süre : Çubuğa tutunmadan, hareketli olarak geçirdiği toplam süre
- Düşüş sayısı : Test süresinde farenin toplam düşüş sayısı



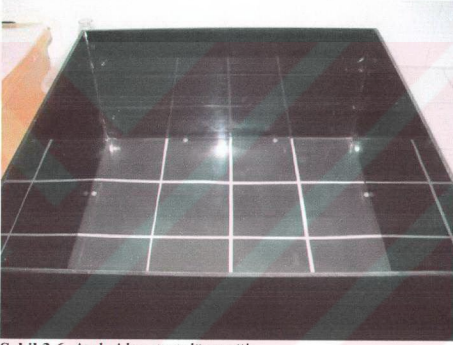
Şekil 3.5. Rota Rot test düzeni

3.3.2 Açık Alan (Open Field) Testi

Düzenek 4x4 olacak şekilde işaretlenmiş 16 küçük karenin oluşturduğu bir büyük kareden oluşmaktadır (Şekil 3.6). Siyah pleksiglas malzemeden yapılmış düzeniğin duvarları farenin dış ortamı görmemesi için yükseltilmiştir. Fare testin başlangıcında orta noktaya

konulmuş ve 5 dakika süresince kapalı ortamdaki davranışları incelenmiştir. İncelenen davranış parametreleri:

1. Üzerinden geçilen merkezi (ortada bulunan 4 adet) kare sayısı
2. Üzerinden geçilen çevresel (Çevrede bulunan 12 adet) kare sayısı
3. Doğrulma sayısı (Farenin arka ayakları üzerinde doğrulması)
4. Dışkılama sayısı (Test sonrasında düzenekteki dışkı sayısı)



Şekil 3.6. Açık Alan test düzeneği

3.3.3.Yükseltilmiş Artı Labirent Testi (Elevated Plus Maze)

Yükseltilmiş artı labirent düzeneği yerden 40 cm yükseklikte 2 kenarı açık ve 2 kenarı 15 cm yüksekliğinde şeffaf pleksiglas duvarla kapalı artı biçiminde yerleştirilmiş 30 cm uzunluğunda kollardan oluşmuştur. Kenarları açık kollar 5 cm. aralıklarla işaretlenmiştir (Resim 7). Yükseltilmiş artı labirent testinde denek baş kısmı açık kola bakacak şekilde düzeneğe yerleştirilir ve 5 dakika süre ile gözlenir. Gözlenen temel davranış parametreleri :

1. Açık kola ilk giriş süresi (Kaçış Süresi)
2. Açık ve kapalı kollara giriş sayıları
3. Açık kolda geçilen çizgi sayısı
4. Açık ve kapalı kollar ile orta kısımda geçirilen süre



Şekil 3.7. Yükseltilmiş artı labirent test düzeneği

3.3.4. Aydınlık Karanlık Tercih Testi

Aydınlık / karanlık tercih düzeneği bir kapı ile ayrılmış şeffak pleksiglas (20x30x20 cm) ve siyah (10x20x20 cm) pleksiglastan yapılmış bitişik iki kutudan oluşmuştur (Resim 8). Aydınlık / karanlık tercih testinde denek yüzü karanlık bölmeye açılan kapıya zıt yönde olacak şekilde aydınlık bölmeye yerleştirildi ve 6 dakika süre ile gözlemlendi. Gözlenen temel davranış parametreleri :

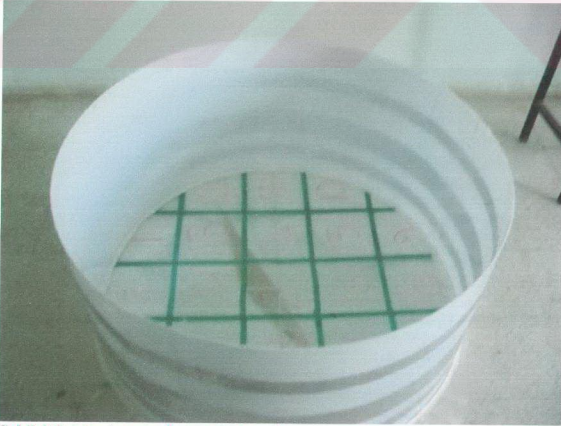
1. Karanlık kısma ilk giriş süresi
2. Aydınlık kısımda geçirilen zaman
3. Bölmeler arası geçiş sayısı
4. Aydınlık bölmede doğrulma sayısı



Şekil 3.8. Aydınlık Karanlık tercihi test düzeneği

3.3.5. Morris Su Tankı'nda Uzaysal Bellek Testi

Morris su tankı 60 cm çapında zeminden 60 cm yüksekliğinde beyaz pleksiglastan yapılmış bir silindirdir. Tank odanın ortasına her yerden eşit miktarda alabilecek bir pozisyona getirildi. Tankta, su içerisinde farenin kaçabilmesi için 15 cm yüksekliğinde, üzerinde 5 cm yarıçaplı bir daire olan bir kaçış platformu kullanıldı.



Şekil 3.9. Morris su tankı test düzeneği

Öğrenme periyodundan bir gün önce her fare çevresi perde ile kapatılmış tankta 60 saniye süre ile yüzdürüldü. Eğer fare platformu bulamamışsa el ile yönlendirilerek platformu bulması sağlandı ve burada 15 saniye beklendikten sonra kafesine alındı. Öğrenme periyodunda fareler günde bir kez, sabah-öğle arası yüzdürüldü. Tüm denemelerde fare odaya getirildikten sonra havuzun yanına getirildi ve burada bir dakika süre ile beklendi daha sonra belirlenen bırakılma konumundan suya bırakıldı ve 1 dakika süre ile gözlemlendi. Eğer bu süre içerisinde fare platformu bulduysa platformun üzerinde 10 saniye beklendi, bulamadıysa el ile platformun bulunduğu bölgeye yönlendirilerek farenin platformu kendisinin bulması sağlandı. Fare platformun üzerine çıktıktan sonra 15 saniye beklendi. Fare daha sonra alınarak kafesine konuldu ve burada 1 dakika süre ile beklendi, daha sonra tekrar havuzda belirlenen noktadan suya bırakıldı. Havuzda bir dakikalık yüzmeye denemesi 1 dakika aralarla toplam 4 kez yapıldı. Dört kez yüzmüş olan hayvan kafesine konuldu ve ertesi güne kadar kafesinde kaldı. Öğrenme periyodunun ilk dört gününde kaçış platformu olarak siyah platform kullanıldı. 5. ve 9. günler arasında ise beyaz platform kullanıldı ve platform izolasyonda kullanılan köpüğün rencesinin suya eklenmesi ile görünmez hale getirildi. Tüm denemelerde standart olarak farenin platformu bulma kriteri olarak farenin platformun üzerine çıkması ve burada 5 saniye süresince durması olarak kabul edilmiştir. Havuz, fare göremeyecek şekilde 4 eşit parçaya bölünmüştür (çeyrek). Platform yerleşimi her fare için ayrı olacak şekilde ayarlanmış ve her farenin hangi denemede hangi çeyrekte suya bırakılacağı denemelerden önce belirlenmiştir. Platformun yerleşimi ve farenin bırakılma pozisyonu rasgele olacak şekilde internet üzerinden bir program kullanılarak belirlenmiştir²⁷.

Test günü (11. gün) fare platformsuz havuzda 60 saniye süre ile yüzdürülmüştür. 60 saniyenin sonunda fare havuzdan çıkartılmış ve ertesi gün yapılacak olan görme keskinliği testine kadar kafesinde barındırılmıştır. Gözlenen parametreler, farenin platformun bulunduğu

çeyreğe ve konuma geliş süresi ile platformun bulunduğu yerde geçirdiği zaman olarak kabul edilmiştir.

Görme keskinliği testinde ise fare aralarda 60 saniye dinlenme süresi olacak şekilde 4 kez 60 saniye süresince yüzdürülmüştür. Ancak platform bu kez görünür hale getirilmiş ve her denemede farklı bir konuma yerleştirilmiştir. Burada amaç, farenin platformu görüp görmediğini anlamaktır. Farenin platformu bulma süresi tespit edilmiştir.

3.3.6.Kısa Süreli Pasif Sakınma Testi

Pasif sakınma düzeneği şeffaf (18x25x21 cm) ve siyah (24x24x25 cm) pleksiglas iki kısımdan oluşmaktadır ve iki bölüm bir açıklık ile birbirinden ayrılmaktadır (Resim 10). Testte, odaya getirilen fare taşıma kutusunda yere bırakılarak 3 dakika beklendi, daha sonra odanın ışığı kapatıldı ve tek aydınlatma kaynağı olarak pasif sakınma düzeneğinin üzerindeki ışık kaynağı bırakıldı. Fare aydınlık bölmeye, sırtı karanlık bölmenin kapısına gelecek şekilde yerleştirildi. Fare karanlık bölmeye girdikten sonra bölmeyi aydınlık kısımdan ayıran kapak kapatıldı ve 30 saniye beklendi. Daha sonra 2 saniye süre ile 0.6 mA sabit akım ile zemindeki ızgaradan ayağa şok verildi. Odanın ışıkları açılarak fare dış ortama alındı. Burada fare 1 dakika kadar bekletildikten sonra odanın ışıkları tekrar söndürülerek aynı şekilde aydınlık bölmeye yerleştirildi ve 5 dakika süre ile davranışları gözlemlendi. Pasif sakınma düzeneğinde gözlenen temel davranış parametreleri :

1. Kaçış süresi: farenin karanlık bölmeye giriş süresi
2. ilk ileri adım süresi: şokta sonra aydınlık bölümden karanlık bölüme ilk kez girişe kadar geçen süre
3. Şoktan sonra aydınlık bölümde sergilenen toplam donma davranış süresi
4. Şoktan sonra aydınlık bölümde geçirilen toplam süre.

5. Aydınlık bölmeden karanlık bölmeye burnunu uzatma sayısı
6. Bölmeler arası geçiş sayısı



Şekil 3.10. Pasif sakinme test düzeneği

3.3.7. Uzun Süreli Pasif Sakınma Testi

Uzun Süreli Pasif Sakınma Testi, kısa süreli test ile aynı düzenekte yapılır. İşlemdaki tek farklılık kısa süreli testle gözlem şoktan bir dakika sonra yapılmakta iken, uzun süreli testte gözlem 24 saat sonra yapılmaktadır. Gözlenen davranış parametreleri aynıdır.

3.3.8. Kısa Süreli Karanlık Kutu Testi

Bu test sinyalsiz Pavlov korku şartlanmasının test edilmesinde kullanılır. Siyah kutu (25x25x25 cm) üç yüzü ve üstteki kapağı siyah ve bir yüzü şeffaf pleksiglas bir kutudur (Resim 11). Zemindeki ızgara ile deneğin ayağına şok verilebilir. Testte, odaya getirilen fare 3 dakika bekletildi. Fare kutuda 30 saniye geçirdikten sonra 2 saniye süre ile 0.6 mA sabit akım ile ayağa şok verildi ve şoktan sonra denek dışarı alındı. Kısa süreli testte denek dışarıda 1 dakika bekletildikten sonra denek tekrar kutuya konuldu ve 5 dakika süre boyunca deneğin donma davranışını sergilediği süre kaydedildi.

3.3.9. Uzun Süreli Karanlık Kutu Testi

Uzun Süreli Test, kısa süreli test ile aynı düzenekte yapılır. İşlemdaki tek farklılık kısa süreli testle gözlem şoktan bir dakika sonra yapılmakta iken, uzun süreli testte gözlem 24 saat sonra yapılmaktadır. Gözlenen davranış parametreleri aynıdır.



Şekil 3.11. Karanlık kutu test düzeneği

3.4. Ovulasyon İndüksiyonu İçin Hormon Hazırlanması, Enjeksiyon ve Embriyo Vericileri ile Taşıyıcı Dişilerin Hazırlanması

3.4.1. Hormon hazırlanması ve Enjeksiyon

Steril serum fizyolojik ile çözünen PMSG (Pregnant Mare's Serum Gonadotrophin – Gebe Kısırak Serum Gonadotropini) 50 µl'lik porsiyonlara bölündü (her porsiyonda 5 IU olacak şekilde) ve kullanılıncaya kadar -70 C°'de saklandı. PMSG enjeksiyonları periton içerisine 0.1 ml hacimde öğleden sonra 13:⁰⁰-15:⁰⁰ saatleri arasında yapılmıştır. PMSG enjeksiyonu yapılan her fareye enjeksiyon saatinden tam 48 saat sonra hCG (Human Chorionic Gonadotrophin – İnsan Koryonik Gonadotropini) enjeksiyonu yapılmıştır. hCG hazırlanırken, steril serum fizyolojikte çözülmüş ve 50 µl'lik porsiyonlara bölünmüştür(her porsiyonda 50 IU olacak şekilde). Kullanılıncaya kadar -70 C°'de saklanan hCG kullanım esnasında 950 µl'lik steril serum fizyolojik ile seyreltilmiş ve her fareye 5 IU verilecek şekilde 0.1 ml hacimde periton içerisinde verilmiştir.

3.4.2. Embriyo ile Transfer Yapılacak Farelerin Senkronizasyonu

Embriyo transferinin yapılacağı farelerde gebelik ihtimalinin artırılması için PMSG ve hCG enjeksiyonları embriyoları verecek dişilerin enjeksiyonlarından 1 gün sonra yapılmıştır. Kaymera oluşturmak için embriyo vericisi fareler hCG enjeksiyonlarından sonra cinsel deneyime sahip kendi soylarından erkek farelerin kafeslerine konulmuştur. Kaymerik blastula transferinin yapılacağı dişiler ise hCG enjeksiyonlarından sonra infertilitesi kesin vazektomize melez F₁ farelerin yapına konulmuştur.

3.5. Embriyoların Toplanması ve Kaymeraların Hazırlanması

3.5.1. Embriyo Toplanması

hCG enjeksiyonundan sonra erkek farelerin yanına konulan dişi farelerde ertesi gün kemirgenlere özgü cinsel birleşmesin bir göstergesi olan “vajinal tıkaç” kontrolü yapılmıştır. Tıkaç gösteren dişiler işaretlenerek ayrı kafeslere alınmıştır. Embriyo toplarken ve kaymerik morulla – blastula transferi yaparken sadece vajinal tıkaç görülmüş olan fareler kullanılmıştır. Tıkacın görüldüğü gün gebeliğin 0. günü olarak kabul edilmiş ve embriyo toplama işlemleri gebeliğin 2. gününde gerçekleştirilmiştir. Embriyolar her iki soy farenin oviduktundan M2 vasatı kullanarak yıkama yolu ile toplanmış ve toplanan embriyolar her soy için ayrı damlalardaki M16 vasatına aktararak inkübatörde muhafaza edilmiştir (Şekil 3.12).



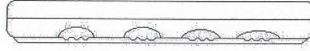
Şekil 3.12. 8 Hücreli Fare Embriyosu

3.5.2. Kaymera Oluşturulması

3.5.2.1. Yapıştırma Kabının Hazırlanması

Kaymera oluşturma işleminden bir gün önce özel petri kapları hazırlanır (Şekil 3.13.). Petri kabının içerisine normal mikro damla kültürü hazırlarken yapıldığı gibi 50 µl hacimde M16 vasatı ile ufak damlacıklar oluşturulur ve üstleri mineral yağı ile kaplanır. Daha sonra

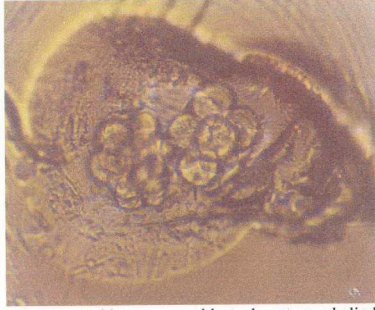
M16 damlalarına ucu sivri steril bir çubukla bastırarak o bölgenin çukurlaşması sağlanır. Aynı işlem her damlada 4 – 6 çukur olacak şekilde tüm damlalara yapılır. Hazırlanmış olan petri kapları inkübatöre yerleştirilir ve işlem başlayana kadar (yaklaşık 16- 18 saat) ısı ve pH dengelenmesi için inkübatörde bekletilir.



Şekil 3.13. Kaymera üretiminde kullanılan özel petri kabı

3.5.2.2. Agregasyon Kaymerasının Oluşturulması

Her iki soydan toplanmış olan 4 – 8 hücreli embriyolar işlem başlayana kadar inkübatörde ayrı kaplarda muhafaza edilirler İşlemden önce tüm embriyoların Asit Tirod çözeltisi yardımıyla Zona Pellucida'ları kimyasal olarak soyulur. Daha sonra hızlıca çözeltiden toplanan embriyolar M2 vasatı ile birkaç kez yıkanarak temiz M16 vasatına aktarılırlar. Tüm embriyoların Zona soyma işlemi bittikten sonra önceki gün hazırlanmış olan özel kaplardaki çukurlara bir adet Balb/c embriyosu ile bir adet C57BL/6J embriyosu konulur (Şekil 3.14.). Eşit sayıda Balb/c ve C57BL/6J embriyosu kullanarak mümkün olduğunca fazla çukur doldurulur. Daha sonra petri kabı inkübatöre yerleştirilir. İşlemden 6 – 8 saat sonra embriyolarda kaynaşma olup olmadığı kontrol edilir, kaynaşmamış embriyoların konumları düzeltilerek tekrar petri kabı inkübatöre yerleştirilir (Şekil 3.15.).



Şekil 3.14. Özel hazırlanmış petride zonası uzaklaştırılmış temas halinde bulunan 2 embriyo



Şekil 3.15. Kaynaşmış 2 embriyonun oluşturduğu tek kaymerik embriyo

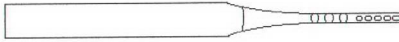
3.6. Embriyo Transferi

Transferin yapılacağı gün bir önceki gün petri kabına konulmuş olan embriyolar kontrol edildi. Tek bir morula - blastula yapısı gösteren embriyolar transfer için uygun olarak kabul edilip transfer edilecek embriyolar tek bir damlaya yerleştirildi (Şekil 3.16.).



Şekil 3.16. Transfer için uygun kaymerik blastula

Transfer için vajinal tıkaç göstermiş olan fareye Ketamin-Xylazin enjeksiyonu yapıldı. Farenin uyuduğundan emin olunduktan sonra sırt kısmı tıraşlandı, temizlendi ve transferin yapılacağı ortama getirildi. Cilt altında sol böbreğin yerleşimi tespit edildi ve yaklaşık orta noktadan sol tarafa doğru oblik küçük bir insizyon yapıldı. Cilt – cilt altı oluşumlar birbirlerinden ayrıldıktan sonra benzer bir insizyon kas dokusunda yapıldı (Şekil 3.17). Bu arada transfer yapılacak embriyolar inkübatörden çıkartılarak transfer pipetine çekildi (Resim Şekil 3.17).



Şekil 3.17. Transfer pipetinin görünümü

Transfer pipeti bir kenara bırakılarak, transfer yapılacak farenin böbrek altı yağ dokusundan tutularak ovaryum, ovidukt ve uterusu dışarıya çıkartıldı. Fare mikroskop altına aktarıldı ve fiber optik ışık kaynağı altında uterusu insülin enjektörünün iğnesi ile bir delik açıldı. Transfer pipeti alındı ve delikten içeriye embriyolar verildi (Şekil 3.18).

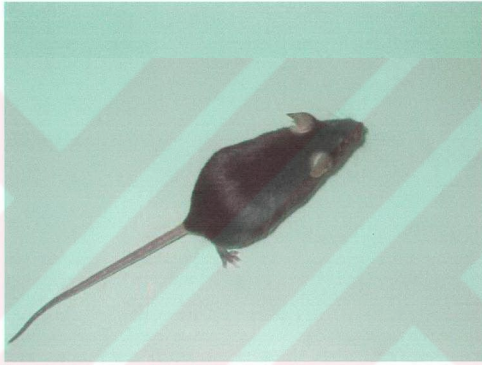


Şekil 3.18. Diseksiyon mikroskopunun altında transfer pipetinin görüntüsü

İşaret olarak kullanılan hava kabarcığının da verildiği gözlemlendikten sonra pipet delikten çıkartıldı ve fare kenara alındı. Tekrar böbrek altı yağ dokusundan tutularak uterus, ovidukt ve ovaryum karın içerisinde yerleştirildi. Kas tabakası ve cilt 5.0 prolene iplik ile dikildi. Transfer bölgesi dezenfektan solüsyon ile temizlenerek fare uyanana kadar sıcak bir ortamda tutuldu.

3.7. Transfer Sonrası Bakım

Embriyo transferi yapılmış dişiler küçük kafeslerde barındırıldılar ve 10 gün boyunca mümkün olduğunca stresten uzak tutmak için müdahale edilmeden barındırıldılar. Transferden yaklaşık iki hafta sonra gün aşırı gözlenerek karında şişlik olup olmadığı gözlemlendi. Farelerde gebelik oluşmuşsa doğumda sonra kafes üzerindeki kartlarına doğan yavru sayısı ve doğum tarihi kaydedildi. Gebelik oluşmaması transfer sonrası 25 gün olarak kabul edildi ve gebelik oluşmayan dişiler imha edildi. Gebelik sonucunda elde edilmiş olan iki adet kaymeranın resmi Şekil 3.19. ve 3.20.'de verilmiştir.



Şekil 3.19. 1 numaralı kaymera



Şekil 3.20. 2 numaralı kaymera

3.8. Kullanılan Çözeltiler

Şu çözeltiler kullanıldı (mM olarak): M2; 94.66 NaCl, 4.78 KCl, 1.71 CaCl₂.2H₂O, 1.19 KH₂PO₄, 1.19 MgSO₄.7H₂O, 4.15 NaHCO₃, 20.85 HEPES, 23.28 Sodyum Laktat, 0.33 Sodyum Pürivat, 5.56 Glikoz, 4 g/l BSA, 0.060 g/l Penisilin, 0.050 g/l Streptomisin, 0.010 g/l Fenol Kırmızı ve M16; 94.66 NaCl, 4.78 KCl, 1.71 CaCl₂.2H₂O, 1.19 KH₂PO₄, 1.19 MgSO₄.7H₂O, 25.00 NaHCO₃, 23.28 Sodyum Laktat, 0.33 Sodyum Pürivat, 5.56 Glikoz, 4 g/l BSA, 0.060 g/l Penisilin, 0.050 g/l Streptomisin, 0.010 g/l Fenol Kırmızı. Asidik Tirod çözeltisi için (g/100 ml); 0.800 NaCl, 0.020 KCl, 0.024 CaCl₂.2H₂O, 0.010 MgCl₂.6H₂O, 0.100 Glikoz, 0.400 Polivinilpirolidon (PVP).

3.9. İstatistik

İstatistiksel analiz için SPSS (vers. 11.5) paket programı kullanıldı. Test sonuçlarının ilk olarak normal dağılım gösterip göstermediğine bakıldı. Normal dağılım gösteren veriler parametrik testler ile normal dağılım göstermeyenler ise non parametrik testler ile değerlendirildi. Süreç içerisinde alınan veriler normal dağılım göstermedikleri ve normalize edilemedikleri için tekrara (deneme) bağlı değişimlerde analiz için ilk olarak, birden çok bağımlı değişkenler için kullanılan Friedman testi ile anlamlılık olup olmadığı incelenmiş eğer anlamlılık var ise 2 bağımlı örnek arasında ilişkinin incelendiği Wilcoxon testi ile hangi denemeler arasında anlamlılık olduğu araştırıldı. Verilerin süreçten başka soya bağlı farklılık gösterip göstermedikleri 2 bağımsız örneğin karşılaştırıldığı Mann-Whitney U testi ile incelendi. Normal dağılım gösteren verilerin karşılaştırması tek yönlü ANOVA testi ile yapıldı. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak yazıldı. İstatistiksel anlamlılık p<0.05 olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Kaymera Oluşturulması

Transfer Edilen Embriyo Sayısı	Doğan Yavru Sayısı	% Verim	Transfer Yapılan Dişi Sayısı	Gebelik Sayısı	% Verim
130	4	3,07	13	2	15,38

4.2. Davranış Testleri

4.2.1. Rota Rot Testi

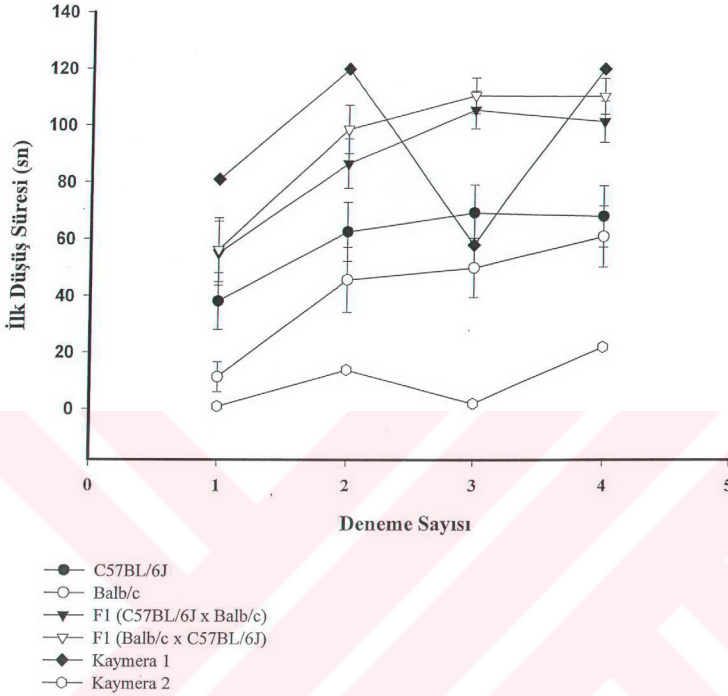
Rota rot testinde düşüş süresi, aktif süre ve düşüş sayısı değerlendirilmiştir. Grupların düşüş süresi değerleri Çizelge 4.2.'de, aktif süreleri Çizelge 4.3'te ve düşüş sayıları Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.2. Tüm grupların rota rot testi düşüş süresi değerleri

	n	1. Düşüş Süresi	2. Düşüş Süresi	3. Düşüş Süresi	4. Düşüş Süresi
C57BL/6J	19	38,16 ±10,04	62,63 ±10,35	69,32 ±9,85	68,11 ±10,79
Balb/c	19	11,42 ±5,28	45,79 ±11,38	50,00 ±10,47	61,00 ±10,75
F ₁ (C57BL/6J x Balb/c)	20	55,05 ±11,20	86,65 ±8,69	105,60 ±6,67	101,45 ±7,33
F ₁ (Balb/c x C57BL/6J)	22	56,27 ±11,16	98,73 ±8,50	110,64 ±6,33	110,32 ±6,32
Kaymera 1	1	81,00	120,00	58,00	120,00
Kaymera 2	1	1,00	14,00	2,00	22,00

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmektedir.

Gruplardan bağımsız olarak düşüş süreleri karşılaştırıldığında 1. düşüş süresi ile 2, 3. ve 4. düşüş süreleri arasındaki fark anlamlı olup $p < 0.005$. 2. düşüş süresi ile 3. ve 4. düşüş süreleri arasında istatistiksel fark anlamlılık göstermekte olup $p < 0.05$. 3. düşüş süresi ile 4. düşüş süresi arasında ise istatistiksel fark anlamlı bulunmamıştır.



Şekil 4.1. Tüm grupların denemeler boyunca ilk düşüş süreleri

Düşüş süreleri karşılaştırıldığında 1. düşüş süresi için C57BL/6J soyu fareler ile Balb/c soyu fareler arasındaki fark istatistiksel anlamlılık göstermektedir ($p < 0.05$). C57BL/6J soyu ile diğer soylar (F_1 (C57BL/6J x Balb/c) ve F_1 (Balb/c x C57BL/6J)) arasında ise anlamlılık bulunmamaktadır. Balb/c soyu ile F_1 soyları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlılık taşımaktadır ($p < 0.05$). Aynı şekilde 1. düşüş süreleri karşılaştırıldığında F_1 soyları arasında da anlamlılık bulunmamaktadır.

2. düşüş süreleri bakımından C57BL/6J soyu ile Balb/c soyu arasında istatistiksel anlamlılık bulunmazken C57BL/6J soyu ile F_1 soyları arasındaki fark anlamlılık göstermektedir (Her iki soy için $p < 0.05$). Balb/c soyu ile F_1 soyları arasında istatistiksel fark anlamlıdır ($p < 0.05$). F_1 (C57BL/6J x Balb/c) soyu ile F_1 (Balb/c x C57BL/6J) soyu arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

3. düşüş süreleri karşılaştırıldığında C57BL/6J soyu ile Balb/c soyu arasında fark bulunmamıştır fakat C57BL/6J soyu ile F₁ soyları arasındaki fark istatistiksel anlamlılık göstermektedir (Her iki soy için de p<0.05). Balb/c soyu ile her iki F₁ soyu arasındaki 3. düşüş süresi istatistiksel olarak anlamlı biçimde farklıdır (p<0.05). F₁ (C57BL/6J x Balb/c) soyu ile F₁ (Balb/c x C57BL/6J) soyu arasında 3. düşüş süresi bakımından anlamlılık tespit edilmemiştir.

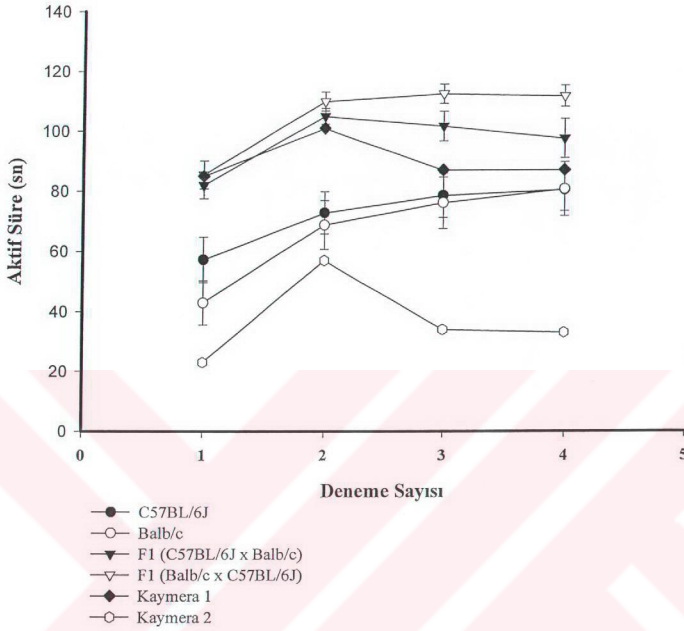
4. düşüş süreleri değerlendirildiğinde C57BL/6J soyu ile Balb/c soyu arasında anlamlılık yokken C57BL/6J soyu ile F₁ soyları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (her iki soy için de p<0.05). Balb/c soyu ile F₁ soyları arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmuş olup (p<0.05) F₁ soylarının 4. düşüş süreleri karşılaştırıldığında farklılık bulunmamıştır.

Çizelge 4.3. Tüm grupların rota rot testi aktif süre değerleri

	n	1. Aktif Süre	2. Aktif Süre	3. Aktif Süre	4. Aktif Süre
C57BL/6J	19	57,21 ±7,57	72,79 ±7,01	78,58 ±7,37	80,42 ±7,01
Balb/c	19	42,89 ±7,35	68,79 ±8,09	76,16 ±8,56	80,68 ±8,99
F ₁ (C57BL/6J x Balb/c)	20	81,95 ±4,39	105,00 ±2,60	101,70 ±4,93	97,55 ±6,38
F ₁ (Balb/c x C57BL/6J)	22	85,41 ±4,64	109,95 ±3,18	112,50 ±3,26	111,68 ±3,60
Kaymera 1	1	85,00	101,00	87,00	87,00
Kaymera 2	1	23,00	57,00	34,00	33,00

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmektedir.

Gruplardan bağımsız olarak aktif süreler karşılaştırıldığında 1. düşüş süresi ile 2, 3. ve 4. düşüş süreleri arasındaki fark anlamlı olup p<0.005. 2. düşüş süresi ile 3. ve 4. düşüş süreleri arasında istatistiksel fark anlamlılık göstermekte olup p<0.05. 3. düşüş süresi ile 4. düşüş süresi arasında ise istatistiksel fark anlamlı bulunmamıştır.



Şekil 4.2. Tüm grupların denemeler boyunca aktif süreleri

Aktif süreler karşılaştırıldığında 1. aktif süre için C57BL/6J soyu fareler ile Balb/c soyu fareler arasındaki fark istatistiksel anlamlılık göstermemektedir. C57BL/6J soyu ile diğer soylar (F_1 (C57BL/6J x Balb/c) ve F_1 (Balb/c x C57BL/6J)) arasında ise anlamlı fark bulunmuştur (her iki soy için de $p < 0.05$). Balb/c soyu ile F_1 soyları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlılık taşımaktadır ($p < 0.05$). Aynı şekilde 1. aktif süreler karşılaştırıldığında F_1 soyları arasında da anlamlılık bulunmamaktadır.

2. aktif süreler bakımından C57BL/6J soyu ile Balb/c soyu arasında istatistiksel anlamlılık bulunmazken C57BL/6J soyu ile F_1 soyları arasındaki fark anlamlılık göstermektedir (Her iki soy için $p < 0.05$). Balb/c soyu ile F_1 soyları arasında istatistiksel fark anlamlıdır ($p < 0.05$). F_1 (C57BL/6J x Balb/c) soyu ile F_1 (Balb/c x C57BL/6J) soyu arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

3. aktif süreler karşılaştırıldığında C57BL/6J soyu ile Balb/c soyu arasında fark bulunmamıştır fakat C57BL/6J soyu ile F₁ soyları arasındaki fark istatistiksel anlamlılık göstermektedir (Her iki soy için de $p<0.05$). Balb/c soyu ile her iki F₁ soyu arasındaki 3. aktif süre istatistiksel olarak anlamlı biçimde farklıdır ($p<0.05$). F₁ (C57BL/6J x Balb/c) soyu ile F₁ (Balb/c x C57BL/6J) soyu arasında 3. aktif süre bakımından istatistiksel anlamlılık bulunmaktadır ($p<0.05$).

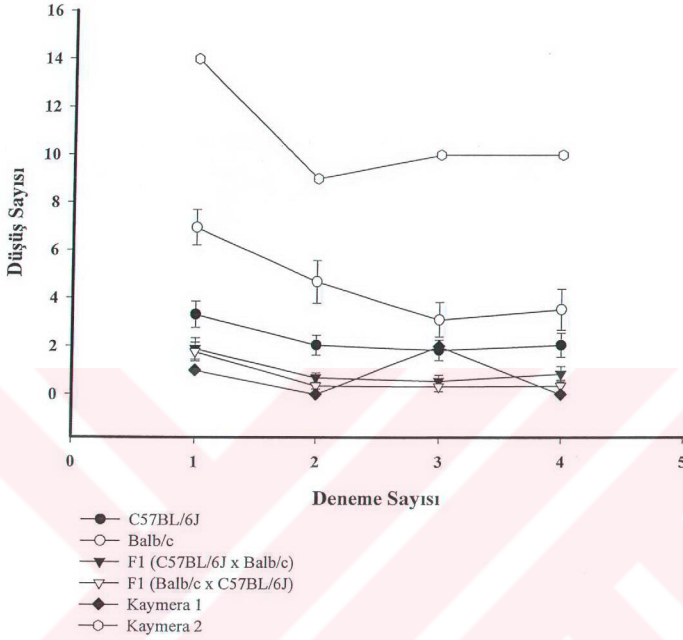
4. aktif süreler değerlendirildiğinde C57BL/6J soyu ile Balb/c soyu arasında anlamlılık yokken C57BL/6J soyu ile F₁ soyları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (her iki soy için de $p<0.05$). Balb/c soyu ile sadece F₁ (C57BL/6J x Balb/c) soyu arasında istatistiksel anlamlılık bulunmuşken diğer F₁ soyu ile karşılaştırıldığında anlamlılık tespit edilmemiştir. F₁ soyları arasındaki 4. aktif süreler bakımından istatistiksel fark anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$)

Çizelge 4.4. Tüm grupların rota rot testi düşüş sayısı değerleri

	n	1. Düşüş Sayısı	2. Düşüş Sayısı	3. Düşüş Sayısı	4. Düşüş Sayısı
C57BL/6J	19	3,32 ±0,54	2,05 ±0,42	1,84 ±0,43	2,05 ±0,50
Balb/c	19	6,95 ±0,74	4,68 ±0,89	3,11 ±0,71	3,53 ±0,85
F ₁ (C57BL/6J x Balb/c)	20	1,90 ±0,45	0,70 ±0,19	0,55 ±0,25	0,85 ±0,32
F ₁ (Balb/c x C57BL/6J)	22	1,77 ±0,39	0,36 ±0,14	0,32 ±0,20	0,36 ±0,24
Kaymera 1	1	1,00	0	2,00	0
Kaymera 2	1	14,00	9,00	10,00	10,00

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmektedir.

Düşüş sayıları karşılaştırıldığında 1. düşüş sayısı ile 2, 3. ve 4. düşüş sayıları arasındaki fark anlamlı olup $p<0.005$ bulunmuştur. 2. düşüş sayısı ile 3. düşüş sayısı arasında istatistiksel fark anlamlılık göstermekte olup $p<0.05$. 2. ve 4. düşüş sayısı arasında anlamlı fark bulunmamıştır. 3. düşüş sayısı ile 4. düşüş sayısı arasında ise istatistiksel fark anlamlı bulunmamıştır.



Şekil 4.3. Tüm grupların denemeler boyunca düşüş sayıları

Düşüş sayıları karşılaştırıldığında 1. düşüş sayısı için C57BL/6J soyu fareler ile Balb/c soyu fareler arasındaki fark istatistiksel anlamlılık göstermektedir ($p < 0.05$). C57BL/6J soyu ile diğer soylar (F_1 (C57BL/6J x Balb/c) ve F_1 (Balb/c x C57BL/6J)) arasında da anlamlı fark bulunmuştur (her iki soy için de $p < 0.05$). Balb/c soyu ile F_1 soyları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlılık taşımaktadır ($p < 0.05$). Aynı şekilde 1. düşüş sayısı karşılaştırıldığında F_1 soyları arasında da anlamlılık bulunmamaktadır.

2. düşüş sayıları bakımından C57BL/6J soyu ile Balb/c soyu arasında istatistiksel anlamlılık bulunmuştur ($p < 0.05$). C57BL/6J soyu ile F_1 soyları arasındaki fark anlamlılık göstermektedir (Her iki soy için $p < 0.05$). Balb/c soyu ile F_1 soyları arasında istatistiksel fark

anlamlıdır ($p<0.05$). F_1 (C57BL/6J x Balb/c) soyu ile F_1 (Balb/c x C57BL/6J) soyu arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

3. düşüş sayıları karşılaştırıldığında C57BL/6J soyu ile Balb/c soyu arasında fark bulunmamıştır fakat C57BL/6J soyu ile F_1 soyları arasındaki fark istatistiksel anlamlılık göstermektedir (Her iki soy için de $p<0.05$). Balb/c soyu ile her iki F_1 soyu arasındaki 3. düşüş sayısı istatistiksel olarak anlamlı biçimde farklıdır ($p<0.05$). F_1 (C57BL/6J x Balb/c) soyu ile F_1 (Balb/c x C57BL/6J) soyu arasında istatistiksel anlamlılık bulunmamaktadır.

4. düşüş sayısı değerlendirildiğinde C57BL/6J soyu ile Balb/c soyu arasında anlamlılık yokken C57BL/6J soyu ile F_1 soyları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (her iki soy için de $p<0.05$). Balb/c soyu ile sadece F_1 soyları arasında istatistiksel anlamlılık bulunmuştur (her iki soy için de $p<0.05$). F_1 soyları arasındaki 4. düşüş sayısı bakımından istatistiksel fark anlamlılık göstermemektedir.

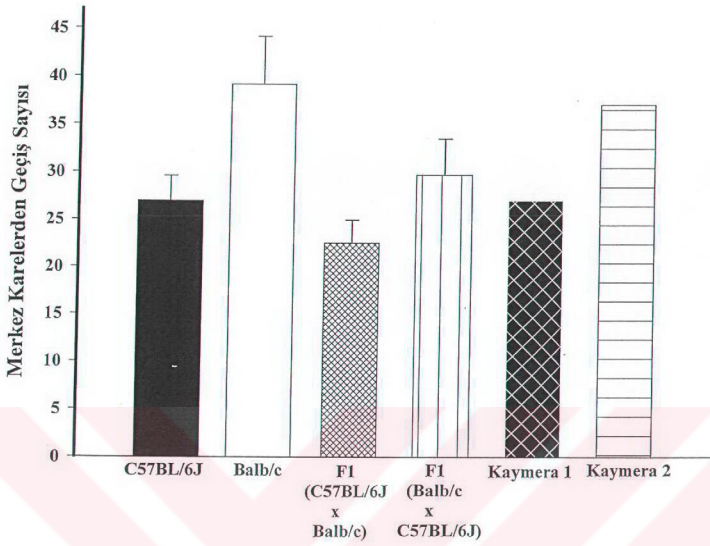
4.2.2. Açık Alan Testi

Açık alan testinde farelerin merkez ve çevre bölgelerde geçtiği kare sayısı, doğrulma sayısı ve dışkı sayısı değerlendirilmiştir. Grupların davranış parametreleri Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. Tüm grupların açık alan testi davranış parametrelerine ait değerler

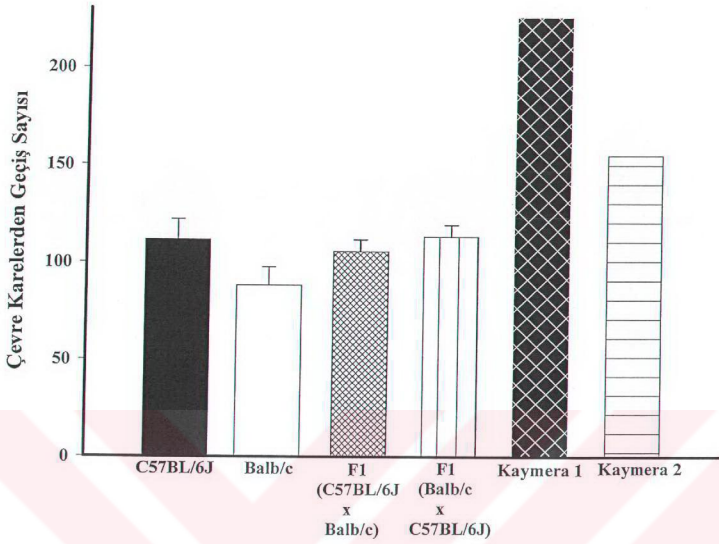
	n	Merkez Geçiş	Çevre Geçiş	Doğrulma	Dışkı Sayısı
C57BL/6J	18	26,94 ±2,67	111,44 ±10,42	37,17 ±2,60	1,11 ±0,28
Balb/c	19	39,16 ±4,95	88,37 ±9,29	22,53 ±3,91	3,37 ±0,42
F_1 (C57BL/6J x Balb/c)	20	22,50 ±2,43	105,55 ±6,13	27,20 ±3,04	2,15 ±0,44
F_1 (Balb/c x C57BL/6J)	22	29,68 ±3,81	113,05 ±6,05	29,77 ±2,68	2,86 ±0,52
Kaymera 1	1	27,00	226,00	26,00	2,00
Kaymera 2	1	37,00	155,00	13,00	8,00

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmektedir.



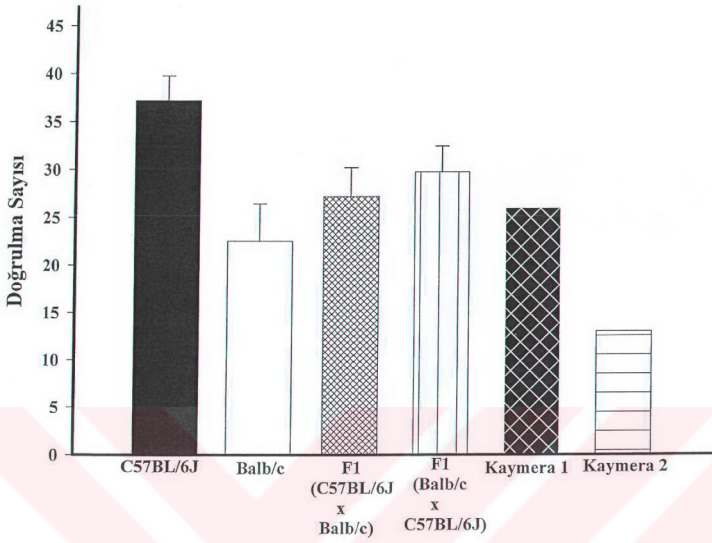
Şekil 4.4. Tüm grupların açık alan testindeki merkezden geçiş sayıları

Açık alan testinde C57BL/6J ile Balb/c soyu farelerin merkez karelerden geçiş sayıları arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Benzer biçimde C57BL/6J soyu ile diğer F₁ soyları arasında da anlamlı fark tespit edilmemiştir. Balb/c soyu fareler ile F₁ (C57BL/6J x Balb/c) soyu fareler arasındaki fark anlamlı ilen ($p < 0.05$), F₁ (Balb/c x C57BL/6J) soyu ile arasında anlamlı fark bulunmamıştır. F₁ soyları kendi aralarında karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır.



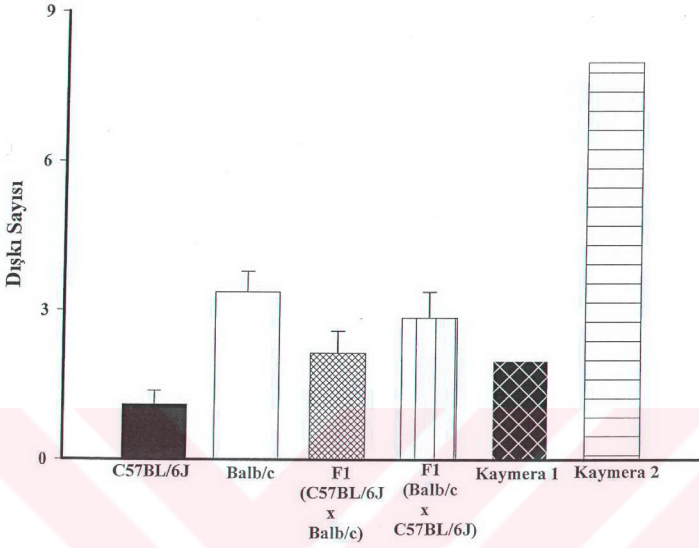
Şekil 4.5. Tüm grupların açık alan testindeki çevre karelerden geçiş sayıları

Çevre karelerden geçiş sıklıkları karşılaştırıldığında C57BL/6J soyu fareler ile Balb/c soyu arasında fark bulunmamıştır. Benzer biçimde C57BL/6J soyu ile F₁ soyları arasındaki fark da anlamlı değildir. Balb/c soyu ile F₁ (C57BL/6J x Balb/c) arasında anlamlı fark tespit edilememiştir ancak diğer F₁ soyu olan F₁ (Balb/c x C57BL/6J) ile arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. F₁ soylarının çevre karelerden geçiş sayıları arasında bir anlamlılık tespit edilmemiştir.



Şekil 4.6. Tüm grupların açık alan testindeki doğrulma sayıları

Doğrulma sayısı karşılaştırıldığında C57BL/6J soyu fareler Balb/c soyu farelerden anlamlı olarak farklıdır. C57BL/6J soyu ile F₁ (C57BL/6J x Balb/c) arasında anlamlı bir farklılık bulunurken benzer farklılık F₁ (Balb/c x C57BL/6J) soyunda tespit edilmemiştir. Balb/c soyunun doğrulma sayısı ile F₁ soyları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. F₁ soylarının kendi aralarında farklılık bulunmamıştır.



Şekil 4.7. Tüm grupların açık alan testindeki toplam dışkı sayısı

Dışkılama sayısı bakımından C57BL/6J soyu Balb/c ve F₁ (Balb/c x C57BL/6J) soylarından anlamlı olarak farklı iken F₁ (C57BL/6J x Balb/c) soyu ile anlamlı farklılık göstermemektedir. Balb/c soyu ile F₁ soyları arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır. Ayrıca F₁ soyları da kendi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermemektedir.

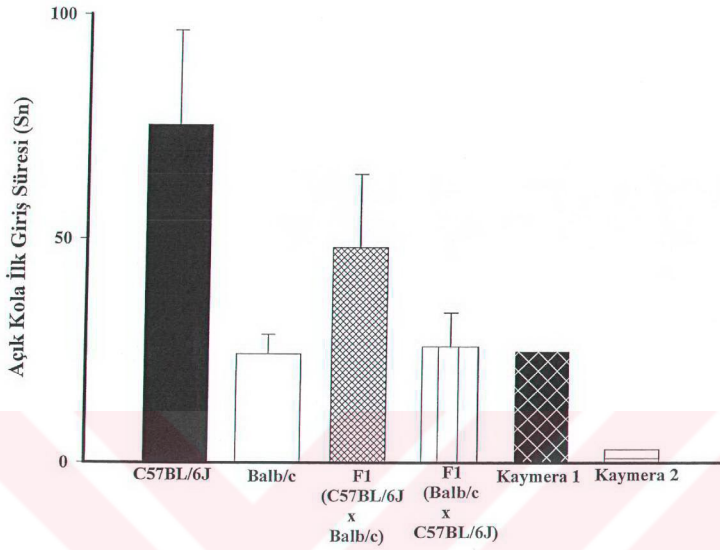
4.2.3. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

Yükseltilmiş artı labirent testinde farelerin açık kola ilk giriş süreleri, açık ve kapalı kollara giriş sayıları, açık kolda geçilen çizgi sayısı, açık kapalı kollar ile orta kısımda geçirilen süre ve toplam dışkı sayısı değerlendirilmiştir. Grupların davranış parametrelerinden açık kola ilk giriş süresi, açık kola giriş sayısı, kapalı kola giriş sayısı ve açık kolda geçilen çizgi sayısı Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Tüm grupların yükseltilmiş artı labirent testindeki açık kola ilk giriş süresi, açık ve kapalı kollara giriş sayıları ve açık kolda kat edilen çizgi sayısına ait değerler

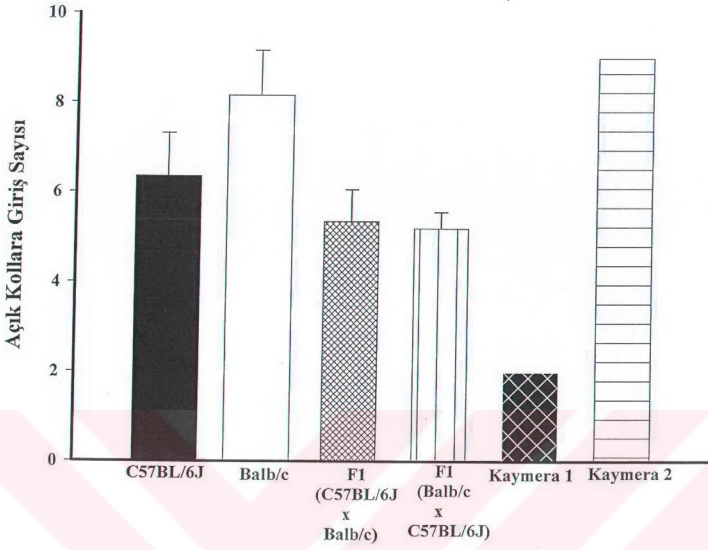
	n	Açık Kola İlk Giriş Süresi	Açık Kola Giriş Sayısı	Kapalı Kola Giriş Sayısı	Açık Kolda Geçilen Çizgi Sayısı
C57BL/6J	18	75,42 ±21,07	6,35 ±0,97	5,40 ±0,81	25,80 ±4,17
Balb/c	19	24,32 ±4,33	8,16 ±1,01	7,16 ±0,53	53,21 ±7,50
F ₁ (C57BL/6J x Balb/c)	20	48,10 ±16,33	5,35 ±0,71	8,10 ±0,82	27,10 ±4,32
F ₁ (Balb/c x C57BL/6J)	22	25,95 ±7,54	5,20 ±0,36	8,90 ±0,57	20,70 ±2,30
Kaymera 1	1	25,00	2,00	8,00	4,00
Kaymera 2	1	3,00	9,00	10,00	48,00

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmektedir.



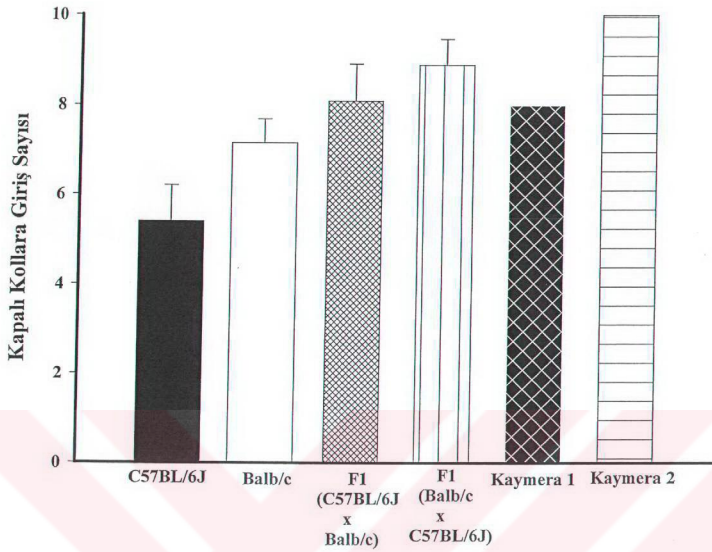
Şekil 4.8. Tüm grupların yükseltilmiş artı labirent testindeki açık kollara ilk giriş süreleri

Tüm soyların açık kola ilk giriş süreleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.



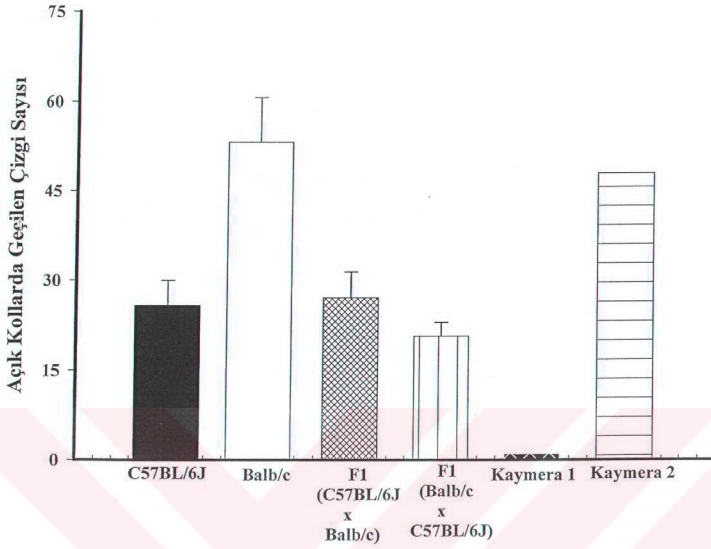
Şekil 4.9. Tüm grupların yükseltilmiş artı labirent testindeki açık kollara giriş sayıları

Açık kola giriş sayısı bakımından C57BL/6J soyu ile diğer üç soy arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Balb/c soyu ile F₁ soylarının her ikisi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ve F₁ soyları kendi arasında karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir.



Şekil 4.10. Tüm grupların yükseltilmiş artı labirent testindeki kapalı kollara giriş sayıları

C57BL/6J soyunun kapalı kollara giriş sayısı Balb/c soyundan ve her iki F₁ soyundan anlamlı olarak farklı bulunmuştur. Balb/c soyunun kapalı kollara giriş sayısı ise F₁ soylarından anlamlı olarak farklılık göstermemektedir. Diğer yandan F₁ soyları kendi aralarında farklılık göstermemektedir.



Şekil 4.11. Tüm grupların yükseltilmiş artı labirent testindeki açık kollarda geçtikleri çizgi sayıları

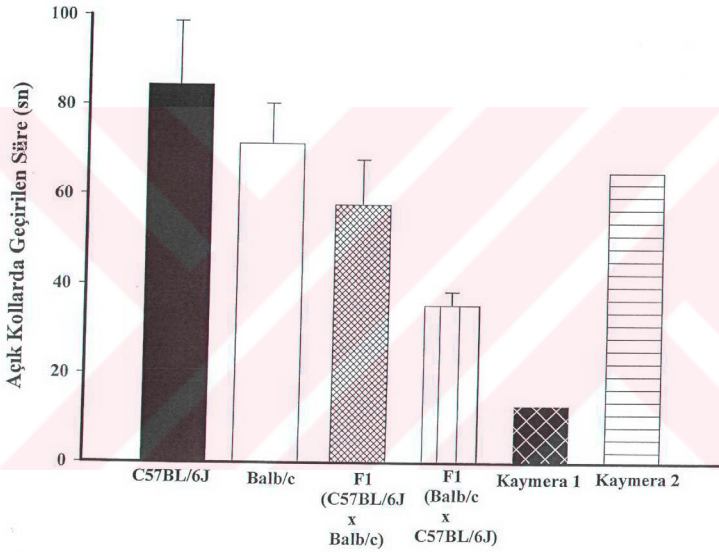
Açık kolda geçilen çizgi sayısı karşılaştırıldığında C57BL/6J soyu Balb/c soyundan istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ayrıca C57BL/6J soyu ile her iki F₁ soyu arasında anlamlı farklılık tespit edilmemiştir. Diğer yandan Balb/c soyu ile F₁ soyları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ve F₁ soyları karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Grupların açık, kapalı kollar ile orta bölümde geçirdiği sürelere ve toplam dışkı sayılarına ait değerler Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Tüm grupların yükseltilmiş artı labirent testindeki açık, kapalı kollar ile orta bölüme geçirdiği sürelere ve toplam dışkı sayılarına ait değerler

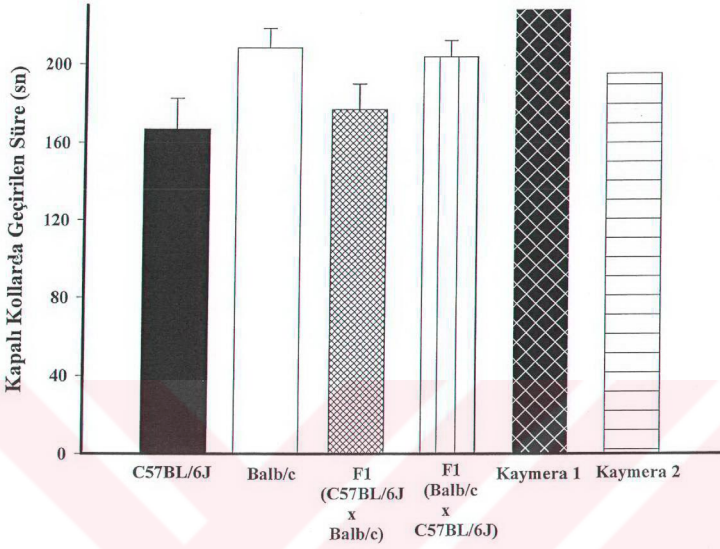
	n	Açık Kolda Geçirilen Süre	Kapalı Kolda Geçirilen Süre	Orta Bölüme Geçirilen Süre	Toplam Dışkı Sayısı
C57BL/6J	18	84,45 ±14,24	166,90 ±15,69	48,15 ±7,29	1,90 ±0,32
Balb/c	19	71,32 ±9,04	208,26 ±9,92	19,84 ±2,60	3,05 ±0,44
F ₁ (C57BL/6J x Balb/c)	20	57,70 ±10,04	176,85 ±12,88	65,45 ±8,40	2,40 ±0,36
F ₁ (Balb/c x C57BL/6J)	22	35,40 ±2,95	203,70 ±8,22	60,90 ±7,27	2,85 ±0,46
Kaymera 1	1	13,00	228,00	59,00	0
Kaymera 2	1	65,00	195,00	40,00	7,00

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmektedir.



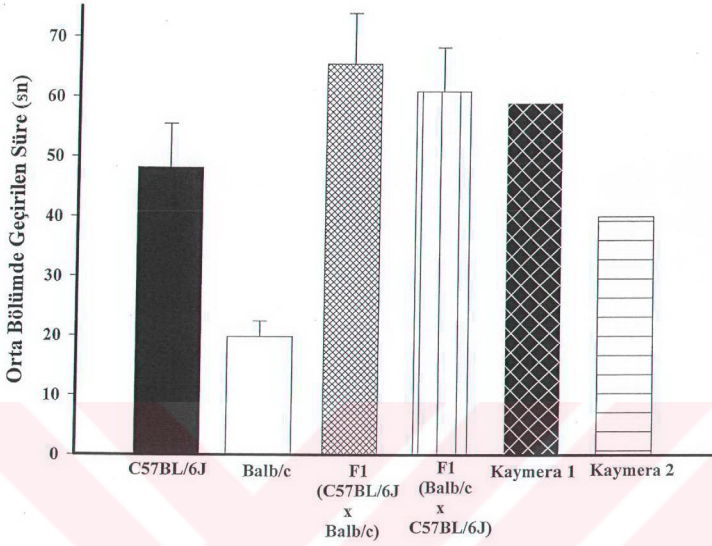
Şekil 4.12. Tüm grupların yükseltilmiş artı labirent testindeki açık kollarda geçirdikleri süre

C57BL/6J soyu farelerin açık kolda geçirdiği süre Balb/c ve F₁ (C57BL/6J x Balb/c) soylarına göre farklılık göstermemekle birlikte F₁ (Balb/c x C57BL/6J) soyu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak farklı bulunmuştur. Balb/c soyu ile F₁ (C57BL/6J x Balb/c) soyu arasında anlamlı farklılık bulunmamasıyla birlikte F₁ (Balb/c x C57BL/6J) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir (p<0.05). F₁ soylarının arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır.



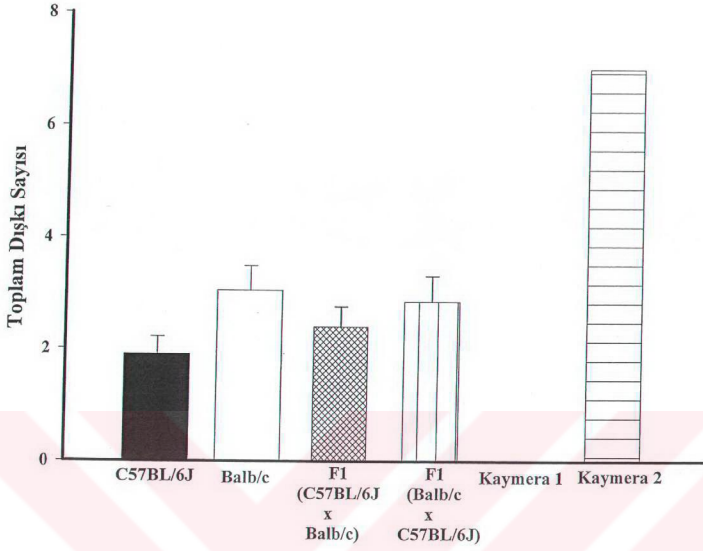
Şekil 4.13. Tüm grupların yükseltmiş artı labirent testindeki kapalı kollarda geçirdikleri süre

Kapalı kollarda geçirilen süre bakımında C57BL/6J soyu ile Balb/c ve F₁ (Balb/c x C57BL/6J) soyları arasında anlamlı farklılık bulunmakla beraber C57BL/6J soyu ile F₁ (C57BL/6J x Balb/c) arasında istatistiksel bir anlamlılık tespit edilmemiştir. Balb/c soyu ile her iki F₁ soyu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlılık taşımamaktadır. Benzer şekilde F₁ soyları arasında da istatistiksel anlamlılık tespit edilmemiştir.



Şekil 4.14. Tüm grupların yükseltmiş artı labirent testinde orta bölmede geçirdikleri süre

Yükseltmiş artı labirent testinde orta bölmede geçirilen süreler karşılaştırıldığında C57BL/6J soyu ile Balb/c soyu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. C57BL/6J soyu ile her iki F₁ soyu arasında anlamlı fark tespit edilmemiştir. Balb/c soyu ile F₁ soyları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p<0.05). F₁ soyları karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır.



Şekil 4.15. Tüm grupların yükseltilmiş artı labirent testindeki dışkı sayıları

Dışkılama sayıları karşılaştırıldığında hiçbir grubun diğerleri ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır.

4.2.4. Aydınlık Karanlık Tercih Testi

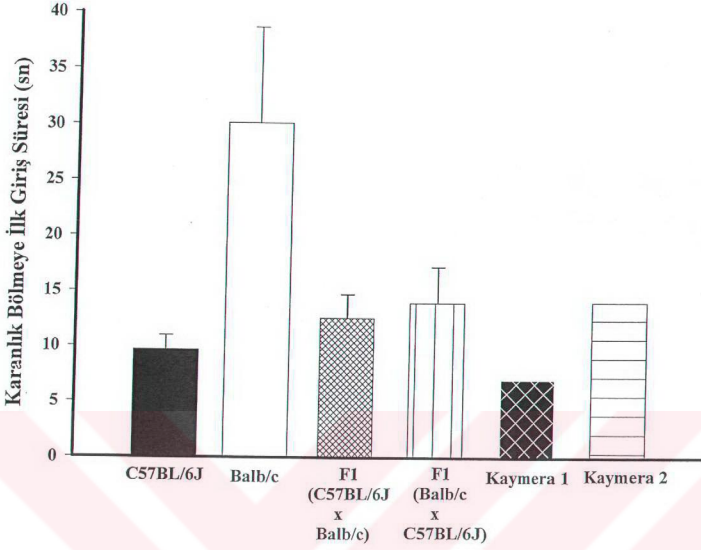
Aydınlik karanlık tercih testinde farelerin karanlık bölmeye ilk giriş süresi, aydınlık bölümde geçirdiği zaman, bölmeler arası geçiş sayısı, aydınlık bölümde doğrulma sayısı ile aydınlık ve karanlık bölmedeki toplam dışkı sayısı değerlendirilmiştir. Grupların davranış parametreleri geçiş sayısı Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Tüm grupların aydınlık karanlık tercih testindeki farelerin karanlık bölmeye ilk giriş süresi, aydınlık bölümde geçirdiği zaman, bölmeler arası geçiş sayısı ve aydınlık bölümde doğrulma sayılarına ait değerler

	n	Karanlık Bölmeye İlk Giriş Süresi	Aydınlik Bölmede Geçirilen Zaman	Bölmeler Arası Geçiş Sayısı	Aydınlik Bölmede Doğrulma Sayısı
C57BL/6J	18	9,65 ±1,32	134,90 ±15,90	14,65 ±1,25	15,70 ±1,59
Balb/c	19	30,11 ±8,54	225,68 ±14,32	15,32 ±1,62	16,68 ±3,47
F ₁ (C57BL/6J x Balb/c)	20	12,55 ±2,16	190,90 ±12,44	9,15 ±0,51	14,50 ±1,93
F ₁ (Balb/c x C57BL/6J)	22	13,95 ±3,28	222,62 ±8,82	10,14 ±0,54	19,00 ±1,22
Kaymera 1	1	7,00	120,00	7,00	8,00
Kaymera 2	1	14,00	246,00	13,00	16,00

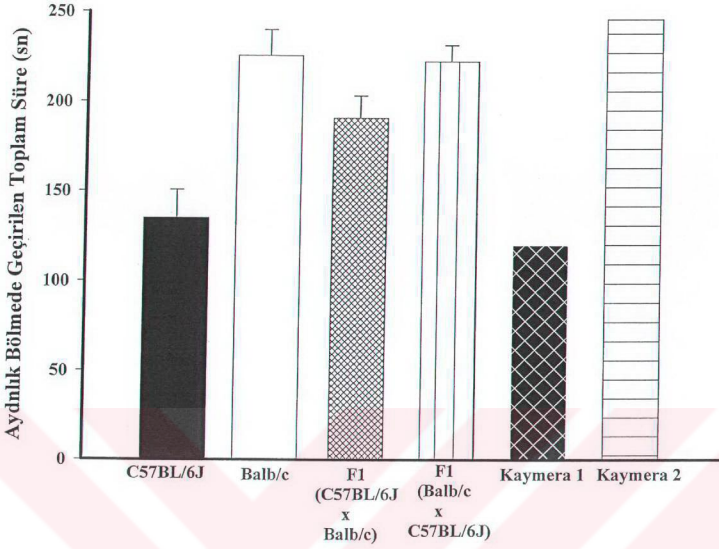
Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmektedir.

Balb/c soyu fareler ile diğer soyların, karanlık bölmeye ilk giriş süreleri, aydınlık bölgede geçirdikleri zaman, bölmeler arası geçiş sayıları ile aydınlık bölmedeki doğrulma sayıları arasında yapılan karşılaştırma sonucunda elde edilen p değerleri Çizelge 4.8.1’de verilmiştir.



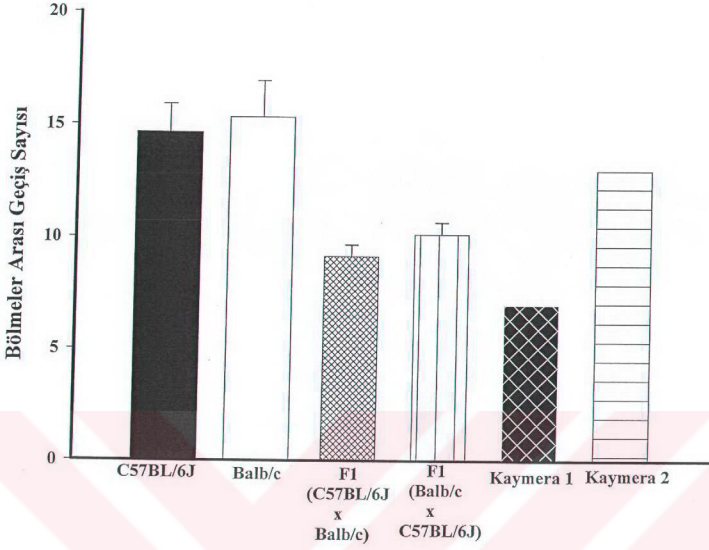
Şekil 4.16. Tüm grupların karanlık bölme ilk giriş süreleri

Karanlık bölme ilk giriş süreleri değerlendirildiğinde C57BL/6J soyu Balb/c soyundan anlamlı olarak farklı bulunmuştur. C57BL/6J soyu ile her iki F₁ soyu arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Balb/c soyu ile her iki F₁ soyu arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Ayrıca F₁ soyları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir.



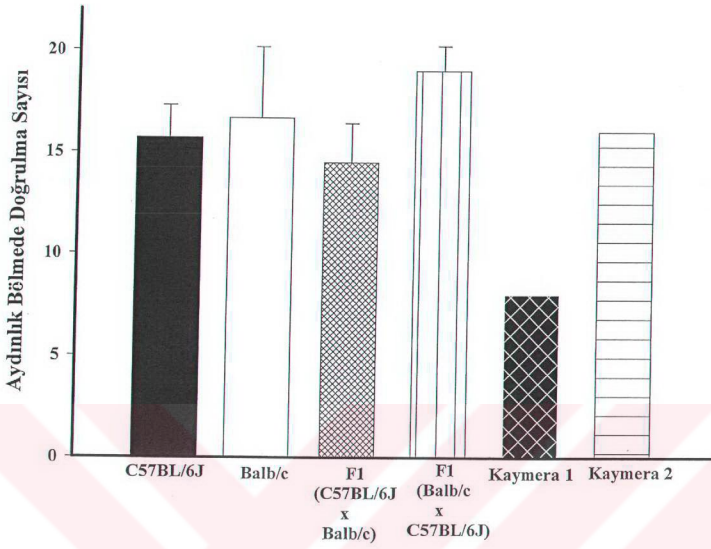
Şekil 4.17. Tüm grupların aydınlık bölmede geçirdikleri toplam süre

Aydınlık bölmede geçirilen toplam süre bakımından C57BL/6J ile Balb/c soyları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. Ayrıca C57BL/6J soyu ile iki F₁ soyu arasında da anlamlı fark bulunmaktadır. Balb/c soyu ile F₁ (C57BL/6J x Balb/c) soyu arasındaki fark anlamlı iken diğer F₁ soyu ile anlamlı farklılık tespit edilmemiştir. F₁ (C57BL/6J x Balb/c) soyu ile diğer F₁ soyu olan F₁ (Balb/c x C57BL/6J) soyu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur.



Şekil 4.18. Tüm grupların bölmeler arası geçiş sayısı

Bölmeler arası geçiş sayısı değerlendirildiğinde C57BL/6J soyu ile Balb/c soyu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlılık göstermemektedir. Ayrıca C57BL/6J soyu ile her iki F₁ soyu arasında anlamlı fark bulunmaktadır. Balb/c soyu ile iki F₁ soyları arasındaki fark da anlamlı olarak tespit edilmiştir. Bölmeler arası geçiş olarak F₁ soyları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.



Şekil 4.19. Tüm grupların aydınlık bölmede doğrulma sayısı

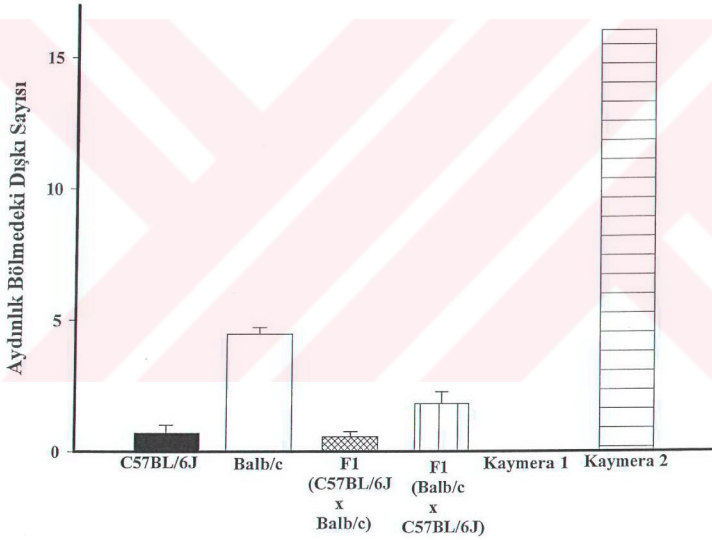
Aydınlık bölmede doğrulma sayıları bakımından C57BL/6J soyu ile diğer üç soy arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Diğer yandan Balb/c soyu ile F₁ (C57BL/6J x Balb/c) soyu arasındaki fark anlamlı değilken F₁ (Balb/c x C57BL/6J) soyu ile arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. F₁ soyları arasındaki fark istatistiksel anlamlılık göstermektedir.

Grupların aydınlık ve karanlık bölmedeki toplam dışkı sayılarına ait değerler Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Tüm grupların aydınlık karanlık tercih testinde aydınlık ve karanlık bölmedeki toplam dışkı sayılarına ait değerler

	n	Aydınlık Bölümdeki Dışkı Sayısı	Karanlık Bölümdeki Dışkı Sayısı	Toplam Dışkı Sayısı
C57BL/6J	18	0,70 ±0,31	0,70 ±0,23	1,40 ±0,37
Balb/c	19	4,47 ±0,26	1,00 ±0,22	5,47 ±0,23
F ₁ (C57BL/6J x Balb/c)	20	0,55 ±0,20	0,80 ±0,27	1,35 ±0,39
F ₁ (Balb/c x C57BL/6J)	22	1,81 ±0,46	1,00 ±0,32	2,81 ±0,61
Kaymera 1	1	0	0	0
Kaymera 2	1	5,00	2,00	7,00

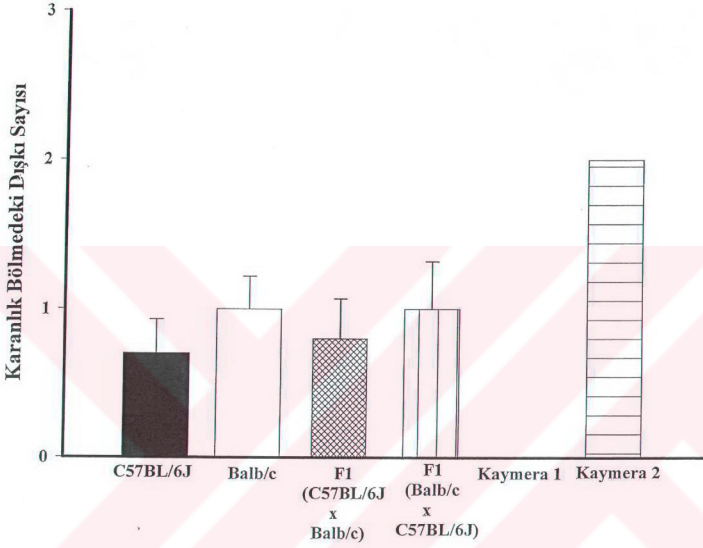
Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmektedir.



Şekil 4.20. Tüm grupların aydınlık bölmede dışkılama sayısı

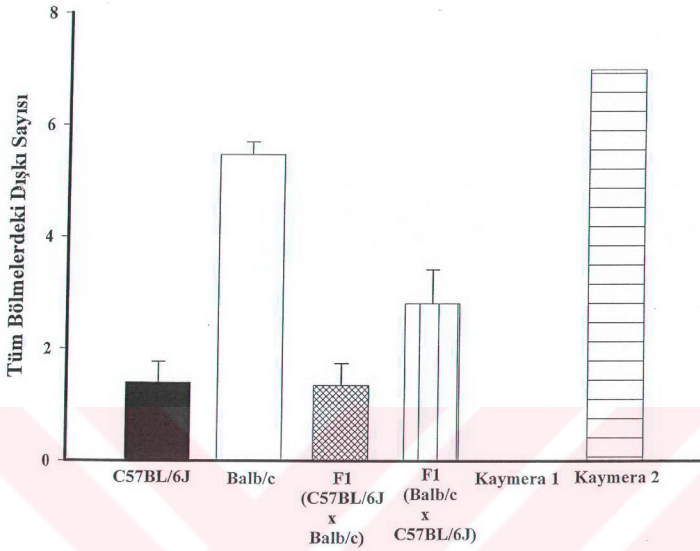
Aydınlik bölmedeki Dışkılama sayısı karşılaştırıldığında C57BL/6J soyu, Balb/c soyundan farklı bulunmuştur. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$). C57BL/6J soyu F₁ (C57BL/6J x Balb/c) soyuna göre farklılık göstermezken F₁ (Balb/c x C57BL/6J) soyundan

anamlı olarak farklı bulunmuştur. Balb/c soyunun aydınlık bölmedeki Dışkılama sayısı her iki F₁ soyundan istatistiksel olarak anlamlı biçimde farklılık göstermektedir. F₁ soyları karşılaştırıldığında ise istatistiksel bir anlamlılık tespit edilmemiştir.



Şekil 4.21. Tüm grupların karanlık bölmede dışkılama sayısı

Karanlık bölmedeki dışkılama sayısı tüm gruplarda birbirine yakın olup gruplar birbirleri ile karşılaştırıldıklarında istatistiksel bir anlamlılık tespit edilmemiştir.



Şekil 4.22. Tüm grupların toplam dışkılama sayısı

Toplam dışkılama sayıları değerlendirildiğinde C57BL/6J soyu ile Balb/c soyu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir. C57BL/6J soyu ile her iki F₁ soyları arasında ise benzer biçimde anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Balb/c soyu her iki F₁ soyundan da anlamlı biçimde farklılık göstermektedir. F₁ soyları karşılaştırıldığında ise istatistiksel bir anlamlılık tespit edilmemiştir.

4.2.5. Morris Su Tankı Testi

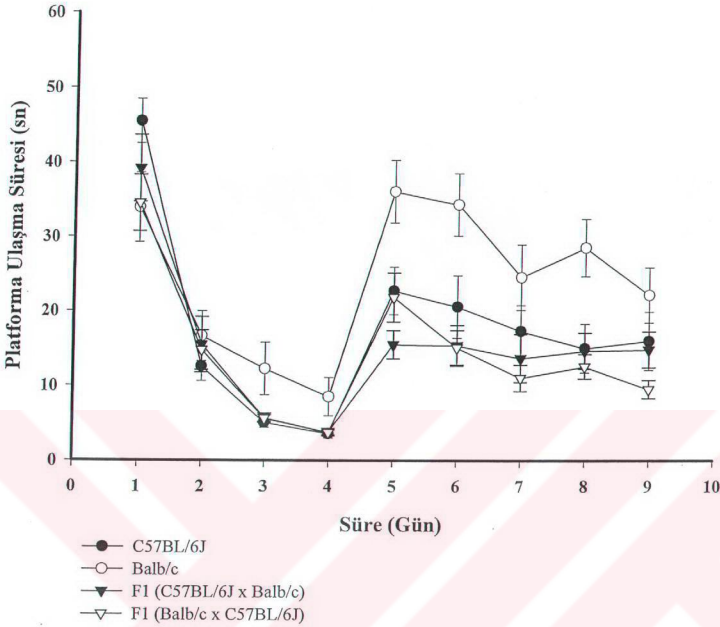
Morris su tankı testinde grupların günler boyunca performansları Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Tüm grupların Morris su tankı testinde günler boyunca performansları

	n	1. Gün	2. Gün	3. Gün	4. Gün	5. Gün	6. Gün	7. Gün	8. Gün	9. Gün
C57BL/6J	13	45,50 ±2,95	12,59 ±1,96	5,09 ±0,69	3,59 ±0,59	22,73 ±3,20	20,60 ±4,19	17,32 ±3,46	15,03 ±3,26	16,00 ±3,90
Balb/c	14	33,94 ±4,70	16,63 ±3,33	12,28 ±3,53	8,53 ±2,57	36,08 ±4,22	34,33 ±4,20	24,55 ±4,42	28,55 ±3,84	22,16 ±3,71
F ₁ (C57BL/6J x Balb/c)	14	39,16 ±4,49	15,50 ±3,72	5,66 ±0,63	3,76 ±0,50	15,50 ±1,88	15,39 ±2,70	13,67 ±3,20	14,66 ±2,42	14,83 ±2,39
F ₁ (Balb/c x C57BL/6J)	15	34,50 ±3,80	14,78 ±2,65	5,61 ±0,43	3,73 ±0,34	21,83 ±3,31	15,11 ±2,30	11,03 ±1,75	12,60 ±1,65	9,53 ±1,22

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmektedir.

Gruplardan bağımsız olarak performanslar karşılaştırıldığında 1.gün sergilenen platformu bulma süresi diğer tüm günlerden arasındaki fark anlamlı olup $p < 0.005$ bulunmuştur. 2. günün performansı da 3., 4., 5. ve 6. günden istatistiksel olarak anlamlı biçimde farklıdır.ancak 2. günün performansı ile 7., 8. ve 9. günler arasında farklılık bulunmamıştır. 3. günün performansı ile ilerleyen 4., 5., 6., 7., 8. ve 9. günler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı biçimde farklı bulunmuştur ($p < 0.05$). Benzer biçimde 4. günün performansı ile diğer günler arasındaki fark da anlamlı olarak farklıdır ($p < 0.05$). 5. günün performansı 6. gün ile farklılık göstermemekle birlikte diğer günlerden anlamlı biçimde farklıdır ($p < 0.05$). 6. gün ile ilerleyen günler arasında da anlamlı farklılık tespit edilmiştir.7. gün ile 8. ve 9. günler arasında farklılık bulunmamaktadır. Aynı şekilde 8. ve 9. günlerin performansları da istatistiksel farklılık göstermemektedir.



Şekil 4.23. Grupların Morris su tankındaki günler boyu performansları

1. gün gruplar arası performanslar karşılaştırıldığında C57BL/6J soyu ile sadece F₁ (Balb/c x C57BL/6J) soyu arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Balb/c ile F₁ soyları arasında veya F₁ soylarının arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır.

2. gün performanslar karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel bir fark tespit edilmemiştir.

3. gün C57BL/6J soyunun performansı ile Balb/c soyunun performansı arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.05$). C57BL/6J soyu ile F₁ soyları arasında fark bulunmamıştır. Benzer biçimde Balb/c soyu ile F₁ soyları arasında anlamlı fark tespit edilmemiştir. F₁ soyları karşılaştırıldığında da anlamlı fark bulunmamıştır.

4.gün C57BL/6J soyu ile Balb/c soyu farelerin performansları anlamlı biçimde birbirlerinden farklılık göstermektedir ($p < 0.05$). C57BL/6J soyu ile F₁ soyları arasında ise anlamlı farklılık tespit edilmemiştir. Balb/c soyu farelerin performansları ile her iki F₁ fare

soyundan anlamlı olarak farklı bulunmuştur. F₁ soyları birbirleri ile karşılaştırıldığında ise anlamlı farklılık tespit edilmemiştir.

5. gün C57BL/6J soyunun performansı Balb/c soyundan anlamlı biçimde farklı bulunmuştur. Aynı gün C57BL/6J soyu F₁ soylarından performans bakımından farklılık göstermemektedir. Balb/c soyunun performansı ise iki F₁ soyunun performansından istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir. F₁ soyları karşılaştırıldığında ise farklılık tespit edilmemiştir.

6. gün diğer günlere benzer biçimde C57BL/6J soyu ile Balb/c soyu arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır. C57BL/6J soyu ile her iki F₁ soyu arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır. Balb/c soyu, F₁ soylarından anlamlı biçimde farklılık gösterirken F₁ soyları arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır.

7. gün C57BL/6J soyu ile diğer üç soy arasında anlamlı farklılık tespit edilmemiştir. Balb/c soyu ise iki F₁ soyundan anlamlı olarak farklıdır. F₁ soyları arasında ise farklılık bulunmamıştır.

8. gün C57BL/6J soyunun performansı Balb/c soyundan anlamlı biçimde farklı bulunmuştur (p<0.05). C57BL/6J soyu ile F₁ soyları arasında ise farklılık bulunmamıştır. Balb/c soyu iki F₁ soyundan anlamlı olarak farklı olmakla beraber F₁ soyları karşılaştırıldığında anlamlı farklılık tespit edilmemiştir.

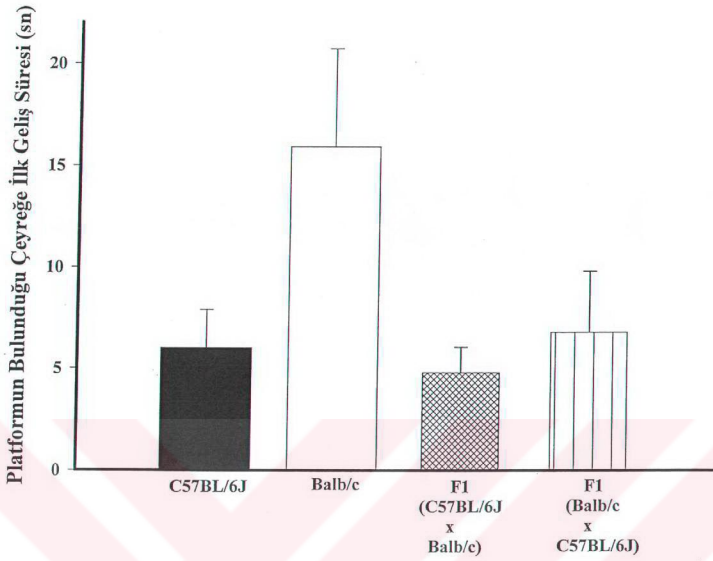
9. gün C57BL/6J soyunun performansı ile diğer üç soy arasında farklılık tespit edilmemiştir. Balb/c soyu ise F₁ (C57BL/6J x Balb/c) soyu ile karşılaştırıldığında farklılık göstermemekle birlikte sadece F₁ (Balb/c x C57BL/6J) soyunda istatistiksel olarak anlamlı biçimde farklıdır. F₁ soylarının arasında ise anlamlı farklılık tespit edilmemiştir.

Morris su tankı testinde grupların test günü performansları ile görme keskinliğine ait sonuçları Çizelge 4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4.11 Tüm grupların Morris su tankında test günü performansları ile görme keskinliği sonuçları

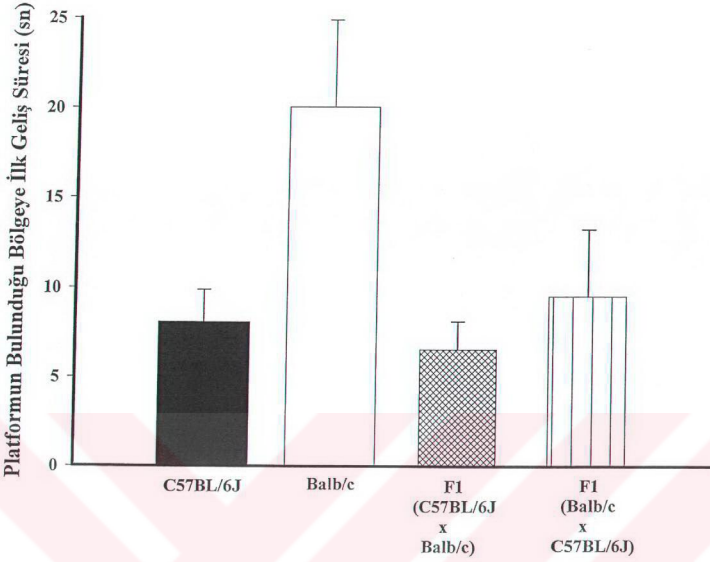
	n	Platformun Bulunduğu Çeyreğin İlk Geliş Süresi	Platformun Bulunduğu Yere İlk Geliş Süresi	Platformun Bulunduğu Yerde Geçirilen Toplam Süre	Görme Keskinliği Testi (Platformu Bulma Süresi)
C57BL/6J	12	6,00 ±1,91	8,08 ±1,82	27,17 ±2,52	4,16 ±1,25
Balb/c	14	15,93 ±4,79	20,07 ±4,84	24,57 ±3,66	6,17 ±0,70
F ₁ (C57BL/6J x Balb/c)	14	4,79 ±1,26	6,57 ±1,57	32,36 ±2,33	3,17 ±0,36
F ₁ (Balb/c x C57BL/6J)	15	6,80 ±3,02	9,53 ±3,72	29,27 ±3,03	3,21 ±0,22

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmektedir.



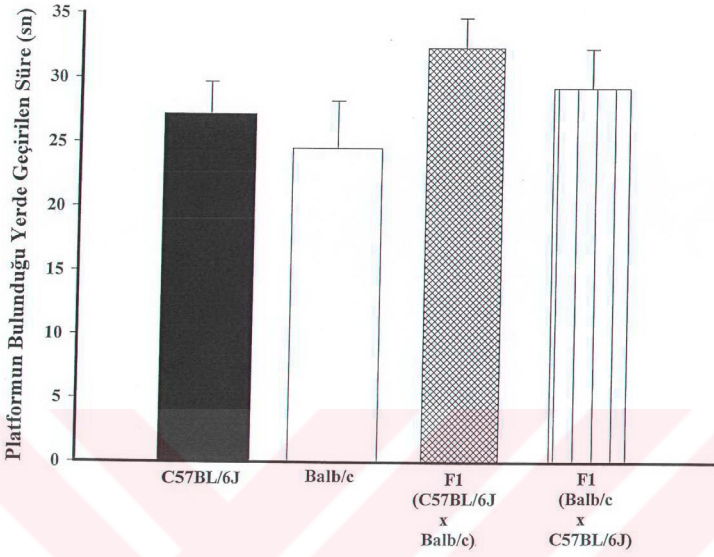
Şekil 4.24. Grupların testte platformun bulunduğu çeyreğe ilk geliş süreleri

Platformun bulunduğu çeyreğe ilk geliş süreleri karşılaştırıldığında C57BL/6J soyu Balb/c soyundan anlamlı olarak farklı bulunmuştur. C57BL/6J soyu ile F₁ soyları arasında ise farklılık bulunmamıştır. Balb/c soyu ile iki F₁ soyu arasında anlamlı farklılık bulunmakla birlikte F₁ soyları arasında farklılık tespit edilmemiştir.



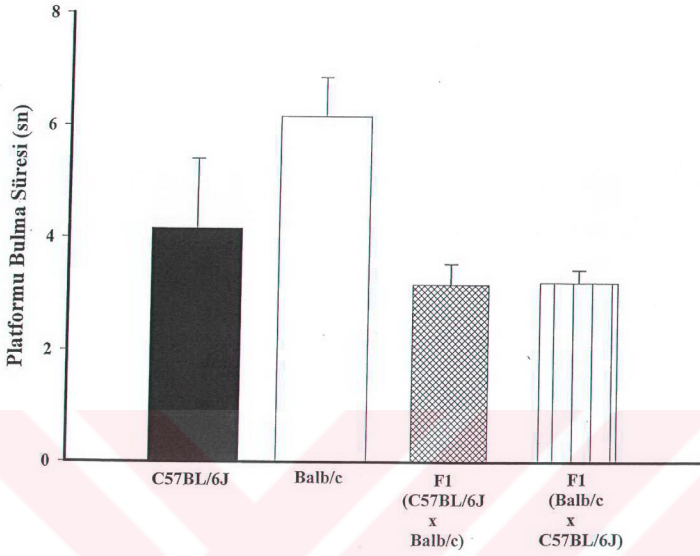
Şekil 4.25. Grupların testte platformun bulunduğu bölgeye ilk geliş süreleri

Platformun bulunduğu yere geliş süresi bakımında C57BL/6J soyu ile Balb/c soyu birbirlerinden anlamlı biçimde farklıdır ($p < 0.05$). C57BL/6J soyu ile her iki F₁ soyu arasında ise anlamlı farklılık tespit edilmemiştir. Balb/c soyu ile F₁ soyları karşılaştırıldığında aralarında anlamlı farklılık bulunmuştur. Ayrıca F₁ soyları birbirleri ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık tespit edilmemiştir.



Şekil 4.26. Grupların test süresince platform bölgesinde geçirdikleri süre

Grupların platformun bulunduğu yerde geçirdiği süreleri karşılaştırıldığında Balb/c soyu ile F₁ (C57BL/6J x Balb/c) soyu ($p < 0.05$) haricinde grupların birbirleri arasında anlamlı farklılık tespit edilmemiştir.



Şekil 4.27. Grupların görme keskinliği testinde platformu bulma süreleri

Görme keskinliği testinde C57BL/6J soyunun platformu bulma süresi Balb/c soyundan anlamlı biçimde kısa sürmüştür ($p < 0.05$). C57BL/6J soyu ile her iki F₁ soyu arasında ise anlamlı farklılık tespit edilmemiştir. Balb/c soyu iki F₁ soyundan anlamlı biçimde farklı olmakla beraber F₁ soyları arasında ise istatistiksel anlamlılık taşıyan farklılık bulunmamıştır.

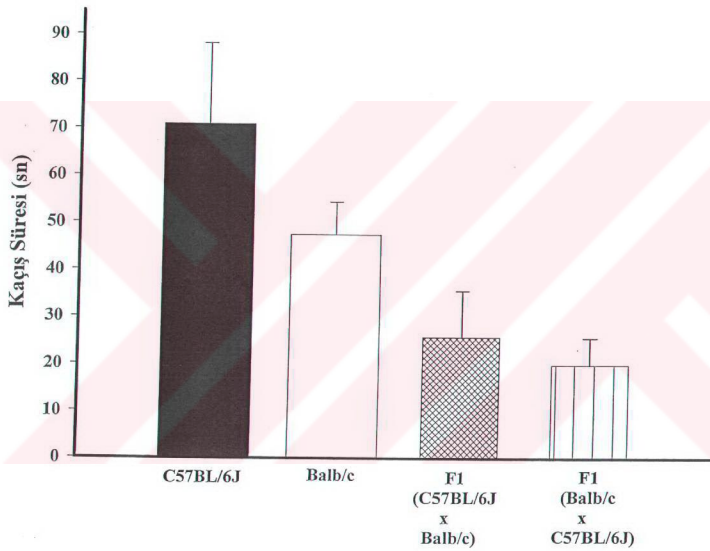
4.2.6. Kısa Süreli Pasif Sakınma Testi

Kısa süreli pasif sakınma testinde farenin karanlık bölmeye ilk giriş süresi olan kaçış süresi, şok aldıktan sonra aydınlık bölmeden tekrar karanlık bölmeye girişine kadar geçen süre olan ilk ileri adım süresi, şoktan sonra aydınlık bölmede sergilediği toplam donma davranışının süresi ve aydınlık bölmede geçirdiği toplam süreye ait değerler Çizelge 4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Tüm grupların kısa süreli pasif sakinme testindeki kaçış süreleri, ilk ileri adım süreleri, donma ve toplam süreleri.

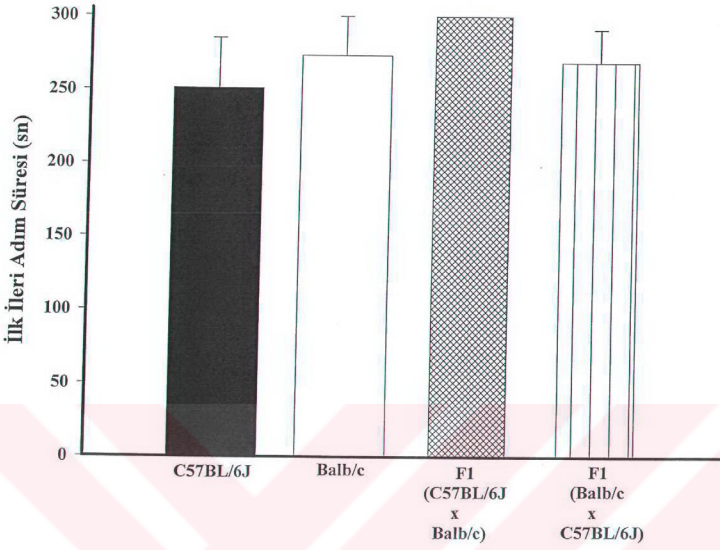
	n	Kaçış Süresi	İlk İleri Adım Süresi	Donma Süresi	Şoktan Sonra Aydınlik Bölmede Geçirilen Toplam Süre
C57BL/6J	10	70,89 ±17,18	251,00 ±34,20	58,33 ±13,67	297,44 ±1,69
Balb/c	10	47,44 ±6,93	273,67 ±26,33	58,00 ±16,19	285,44 ±14,56
F ₁ (C57BL/6J x Balb/c)	10	25,70 ±9,87	300,00	124,30 ±16,70	300,00
F ₁ (Balb/c x C57BL/6J)	11	19,82 ±5,72	269,09 ±22,41	57,64 ±21,05	296,91 ±2,72

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmektedir.



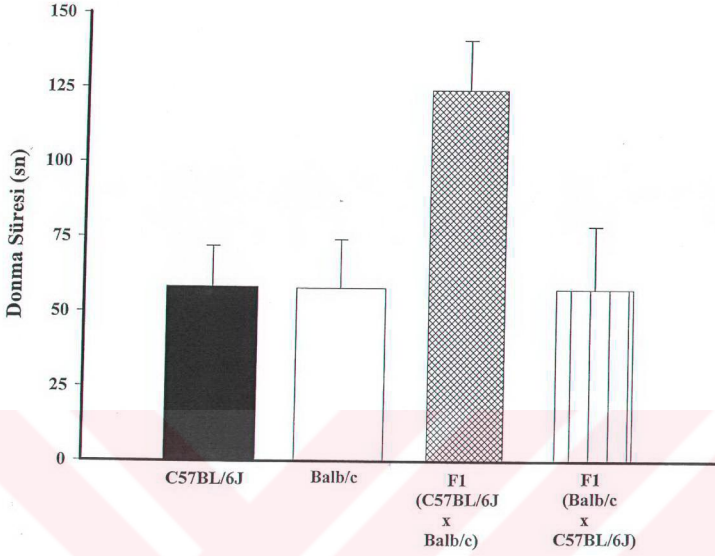
Şekil 4.28. Grupların karanlık bölmeye ilk giriş süreleri (Kaçış Süresi)

Kaçış süreleri bakımından C57BL/6J soyu ile Balb/c soyu arasında anlamlı fark bulunmamış olup C57BL/6J soyu her iki F₁ soyundan anlamlı olarak farklıdır. Benzer biçimde Balb/c soyu da F₁ soylarından anlamlı olarak farklıdır. F₁ soylarının arasında ise anlamlı farklılık bulunmamaktadır.



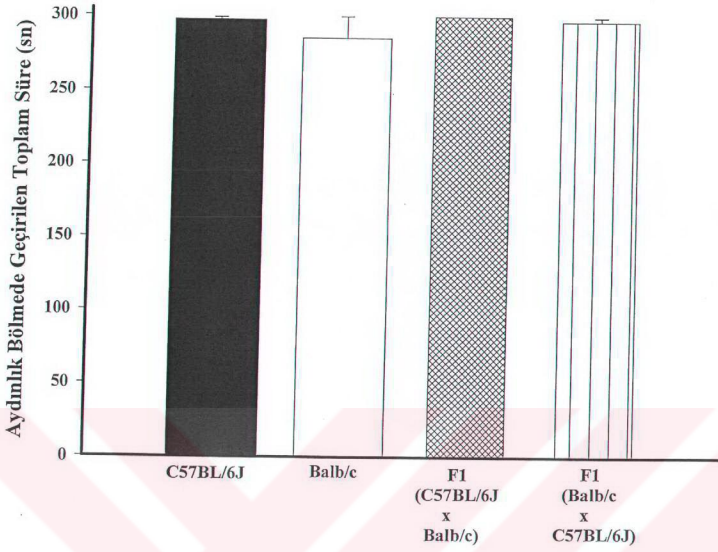
Şekil 4.29. Grupların ilk ileri adım süreleri

İlk ileri adım süreleri karşılaştırıldığında grupların sürelerinin birbirlerinden istatistiksel olarak farklılık göstermediği bulunmuştur.



Şekil 4.30. Grupların donma süreleri

Donma süreleri bakımından C57BL/6J soyu Balb/c ile F_1 (Balb/c x C57BL/6J) soylarından farklılık göstermemekle birlikte F_1 (C57BL/6J x Balb/c) soyundan anlamlı olarak farklıdır. Benzer biçimde Balb/c soyu ile F_1 (Balb/c x C57BL/6J) soyu arasında farklılık tespit edilmemişken F_1 (C57BL/6J x Balb/c) ile arasında anlamlı farklılık bulunmuştur. F_1 (C57BL/6J x Balb/c) soyunun donma süresi de F_1 (Balb/c x C57BL/6J) soyundan anlamlı olarak daha uzun bulunmuştur.



Şekil 4.31. Grupların şok sonrası aydınlık bölmede kalma süreleri

Grupların şoktan sonra aydınlık bölmede geçirdikleri toplam süreler birbirine yakın olup gruplar arasında istatistiksel farklılık tespit edilmemiştir.

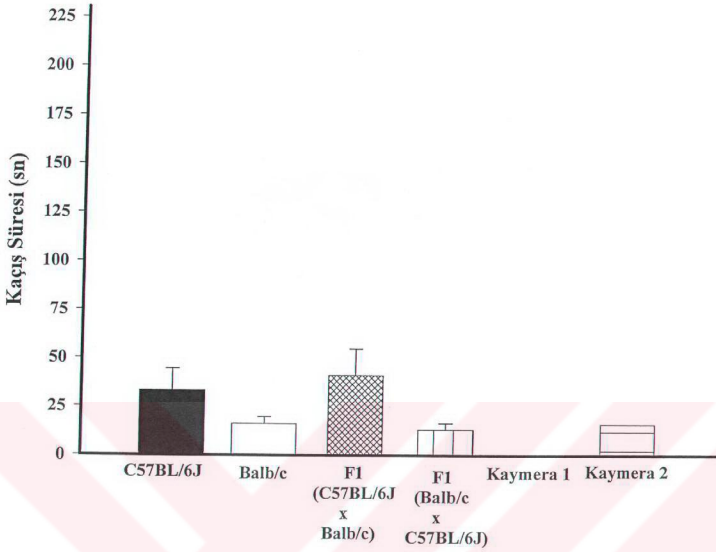
4.2.7. Uzun Süreli Pasif Sakınma Testi

Uzun süreli pasif sakınma testinde farenin karanlık bölmeye ilk giriş süresi olan kaçış süresi, şok aldıktan sonra aydınlık bölmeden tekrar karanlık bölmeye girişine kadar geçen süre olan ilk ileri adım süresi, şoktan sonra aydınlık bölmede sergilediği toplam donma davranışının süresi ve aydınlık bölmede geçirdiği toplam süreye ait değerler Çizelge 4.13'de verilmiştir.

Çizelge 4.13. Tüm grupların uzun süreli pasif sakınma testindeki kaçış süreleri, ilk ileri adım süreleri, donma ve toplam süreleri.

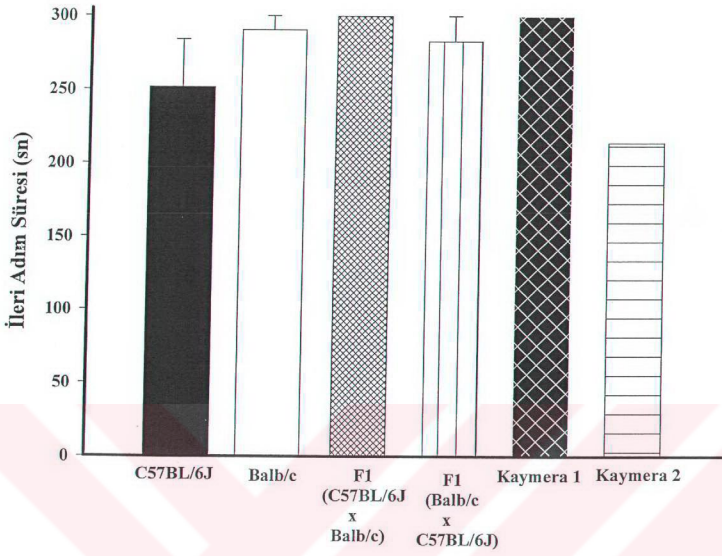
	n	Kaçış Süresi	İlk İleri Adım Süresi	Donma Süresi	Toplam Süre
C57BL/6J	9	33,22 ±11,45	251,67 ±32,37	127,78 ±22,62	284,33 ±11,33
Balb/c	9	16,11 ±3,56	290,44 ±9,56	116,44 ±19,53	298,67 ±1,33
F ₁ (C57BL/6J x Balb/c)	10	41,10 ±13,74	300,00	118,90 ±13,21	300,00
F ₁ (Balb/c x C57BL/6J)	10	13,20 ±3,25	282,80 ±17,20	159,00 ±24,08	294,20 ±5,80
Kaymera 1	1	225,00	300,00	173,00	300,00
Kaymera 2	1	16,00	214,00	104,00	288,00

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmektedir.



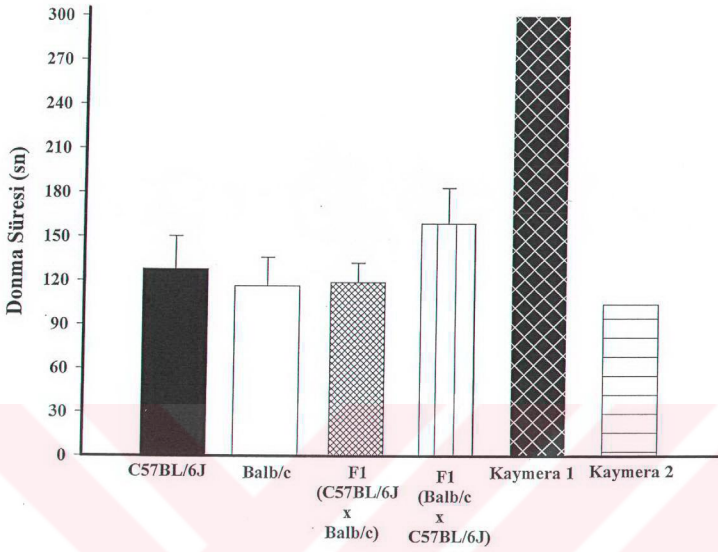
Şekil 4.32. Grupların karanlık bölmeye ilk giriş süreleri (Kaçış Süresi)

Grupların karanlık bölmeye ilk giriş süreleri olan kaçış süreleri değerlendirildiğinde grupların birbirleri arasında istatistiksel fark bulunmamıştır.



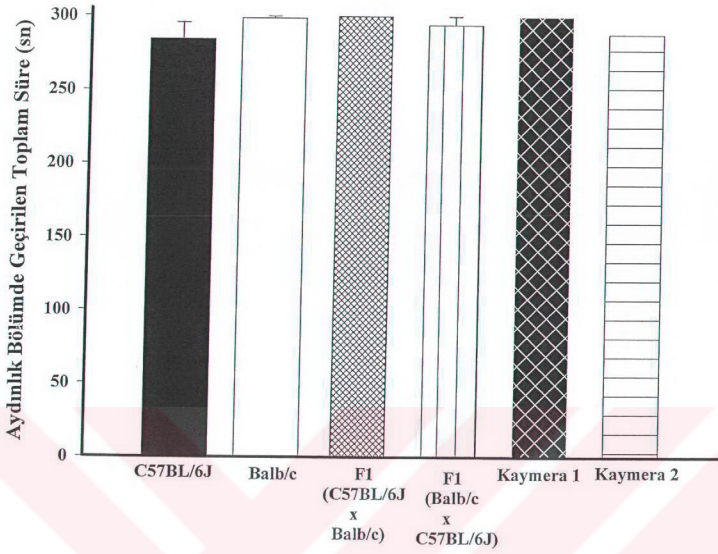
Şekil 4.33. Grupların ilk ileri adım süreleri

Gruplar arasında ilk ileri adım süreleri bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır.



Şekil 4.34. Grupların donma süreleri

Donma süreleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemiştir.



Şekil 4.35. Grupların şoktan sonra aydınlık bölmeye girme süreleri

Aydınlık bölmeye giriş süreleri değerlendirildiğinde grupların giriş süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır.

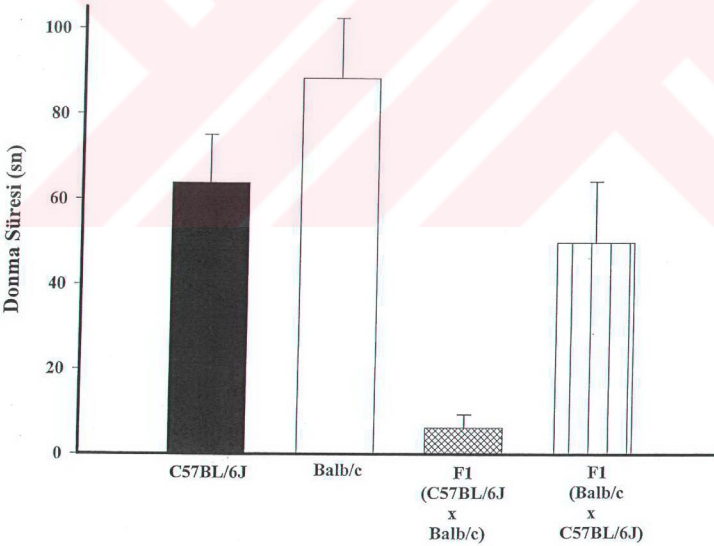
4.2.8. Kısa Süreli Karanlık Kutu Testi

Kısa süreli karanlık kutu testinde grupların karanlık bölmede şok aldıktan sonra gözlem süresi içerisinde sergilediği toplam korku davranışının süresine ait değerler Çizelge 4.14.'de verilmiştir.

Çizelge 4.14. Tüm grupların kısa süreli karanlık kutu testindeki donma süreleri

	n	Donma Süresi
C57BL/6J	10	63,80 ±11,35
Balb/c	9	88,33 ±14,09
F ₁ (C57BL/6J x Balb/c)	10	6,20 ±3,13
F ₁ (Balb/c x C57BL/6J)	10	49,90 ±14,27

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmektedir.



Şekil 4.36. Grupların donma süreleri

Grupların donma süreleri karşılaştırıldığında C57BL/6J soyu fareler ile Balb/c soyu fareler arasında anlamlı fark bulunmadı. Benzer biçimde C57BL/6J soyu ile F₁ (Balb/c x C57BL/6J) soyu arasında da anlamlı farka rastlanmamışken F₁ (C57BL/6J x Balb/c) soyu farelerle istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Balb/c soyu fareler ile F₁ (Balb/c x C57BL/6J) soyu arasında istatistiksel olarak fark bulunmazken F₁ (C57BL/6J x Balb/c) soyu ile aralarında anlamlı fark tespit edilmiştir (p<0.05). F₁ soyları kendi aralarında karşılaştırıldığına anlamlı fark bulunmuştur.

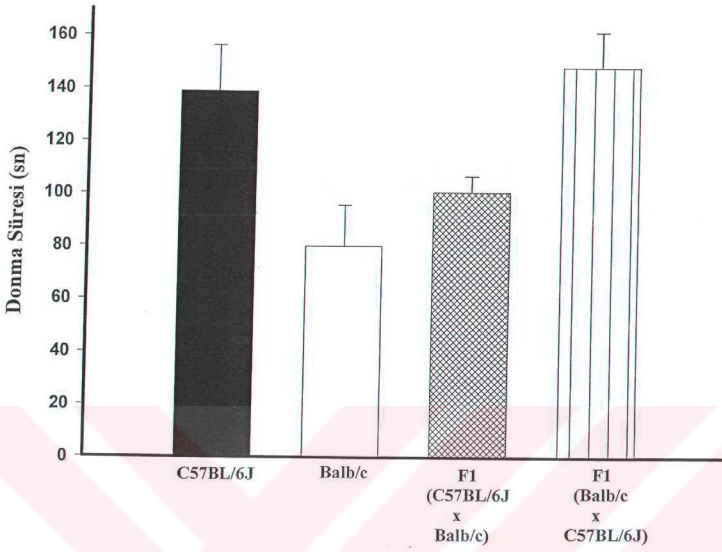
4.2.9. Uzun Süreli Karanlık Kutu Testi

Uzun süreli karanlık kutu testindeki tüm grupların şok aldıktan sonra karanlık bölmeden aydınlık bölmeye kaçış süresine ait değerler Çizelge 4.15’de verilmiştir.

Çizelge 4.15. Tüm grupların uzun süreli karanlık kutu testindeki donma süreleri. [Balb/c ve C57BL/6J için n=10) , F₁ (Balb/c x C57BL/6J) ve F₁ (C57BL/6J x Balb/c) için n=10]

	n	Donma Süresi
C57BL/6J	10	139,00 ±17,37
Balb/c	10	80,10 ±15,67
F ₁ (C57BL/6J x Balb/c)	10	100,80 ±6,08
F ₁ (Balb/c x C57BL/6J)	10	148,50 ±13,33

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmektedir.



Şekil 4.37. Grupların donma süreleri

Uzun süreli karanlık kutu testindeki donma süreleri karşılaştırıldığında C57BL/6J soyu ile Balb/c soyu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. C57BL/6J soyu ile F₁ soyları arasında anlamlılık tespit edilmemiştir. Balb/c soyu ile F₁ (Balb/c x C57BL/6J) soyu arasında anlamlı farklılık bulunurken F₁ (C57BL/6J x Balb/c) soyu ile istatistiksel olarak farklılık tespit edilmemiştir. F₁ soyları kendi aralarında karşılaştırıldığında aralarında anlamlı farklılık bulunmuştur.

5. TARTIŞMA

5.1. Davranış Testleri

5.1.1. Rota Rot Testi

Rota rot testi genel olarak davranış çalışmalarında sıklıkla kullanılan bir testtir. Başka testlerin de uygulanacağı durumlarda, diğer test sonuçlarının lokomotor aktiviteden bağımsız olduğunu göstermek için deneğin lokomotor sistemini kontrol etmek için rota rot testi uygulanır. Testte genel olarak 120 saniyelik bir sürede farenin dönen bir çubuğun üzerinde dengede durduğu süre değerlendirilir. Dengede durma ise iki türlü olabilir, birincisinde fare çubuğun dönme yönünün aksi istikametinde hareket etmektedir ve bu durum aktif denge olarak adlandırılır. İkinci durumda ise fare çubuğu sıkıca kavramıştır ve çubukla beraber dönmektedir, bu durum fare aktif bir hareket sergilemediği için pasif denge olarak isimlendirilir. Rota rot testinde genel olarak incelenen değişkenlerden bir tanesi aktif denge süresidir. Bir diğer değişken ise farenin rottan ilk kez düşmesine kadar geçen süredir. Biz çalışmamızda genel olarak uygulanmayan fakat performans konusunda fikir verebileceğini düşündüğümüz bir başka değişkeni de inceledik. Bu değişken, 120 saniyelik sürede farenin rottan düşüş sayısıydı.

Tüm testlerde ortak gözlenen durum, tekrarlayan motor aktivitenin farenin performansı üzerine olumlu etkisinin olmasıdır. Denemeler süresince farelerin aktif süreleri ve düşüş sürelerinde artış, düşüş sayılarında ise azalma gözlenmiştir.

Düşüş sürelerine bakıldığında ilk denemeden sonraki denemelerde sürenin arttığı gözlenmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında F_1 soylarının her iki soydan daha başarılı olduğu görülmektedir. En kötü performans ise Balb/c soyu tarafından sergilenmiştir.

Kaymeralar ise iki uçta yer almaktadır. Post rengi tamamen siyah olan Kaymera 1 en iyi performansı sergilerken alacalı bir görünüme sahip olan Kaymera 2'nin performansı tüm gruplar içerisinde en kötü olmaktadır.

Benzer bir durum aktif sürelerde görülmektedir. F_1 soyları en iyi performansı gösterirken Balb/c ve C57BL/6J soyu farelerin performansları daha düşük seyretmektedir. En kötü performans ise Kaymera 2'ye aittir.

Düşüş sayıları ile aktif süreler arasında ters bir ilişki vardır. Düşüş sayısı ne kadar fazla ise aktif süre o kadar düşük olacaktır. Dolayısıyla düşüş sayısı grafiği, aktif süre

grafikine benzemektedir. En fazla düşüş gösteren Kaymera 2 iken en az düşüş F_1 soyuları tarafından sergilenmiştir.

Rota rot testinde lokomotor aktivite ve öğrenme değerlendirilmektedir. Yapılan farklı çalışmalarda beynin farklı bölümlerinin motor öğrenme ve bu testi gerçekleştirirmede etkin olduğu gösterilmiştir. Bu bölümlerden bazal ganglionların özellikle globus pallidusun eksternal parçasının postüral sensimotor öğrenmede etkin olduğu gösterilmiştir. Bazal ganglionlardan kaudat çekirdeğin ise etkin olmadığı gösterilmiştir²⁷.

Bir başka çalışmada serebellum ile motor korteks arasında durak noktası olan talamus çekirdek lezyonlarında (venterolateral ve venteromedial çekirdekler) motor öğrenme becerisinde azalma olduğu gösterilmiştir. Özellikle motor korteks projeksiyonları olan venterolateral çekirdekte bu azalma gösterilmiştir. Serebellar girdisi olan motor talamik çekirdeklerin sensimotor beceri kazanılmasında aktif rol aldığı ve bu rolün kas kuvveti ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir²⁸.

Centerolateral ve centeromedial talamik çekirdeklerin de motor öğrenmede işlevsel olduğu gösterilmiştir. Centerolateral çekirdeğin serebellum ile bağlantılı olması bu çekirdeğin centeromedial çekirdeği göre daha ön planda olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca lezyonlar esnasında centerolateral çekirdek komşuluklarının daha sonradan incelendiğinde lokomotor öğrenmede işlevsel olmadığı bulunmuştur. Bunlarla beraber limbik sisteminde motor öğrenmede temel işlev görmediği düşünülmektedir. Diğer çalışmalar gibi centerolateral çekirdek lezyonlarında deneklerin kas kuvvetlerinde azalma gözlenmemesi bu merkezin özel sensoromotor işlevine işaret etmektedir²⁹.

Bir başka çalışmada inferior olivar çekirdek lezyonlarının rota rot performansını etkilediği gösterilmiştir. Inferior olivar çekirdek lezyonlarında kas kuvvetinde değişim olmadığı ancak verilen görevi yerine getirirken adaptif değişiklikler oluşturulmadığı gösterilmiştir. Ayrıca senkronize hareketlerin ince kalibrasyonu ve mekansal organizasyonu için bu çekirdeğin intact olmasının önemli olduğu bulunmuştur³⁰.

Bir başka çalışmada serebellumun temel olarak serebral kortekste işlenen motor davranışın öğrenilmesinde görev aldığı fikrinden hareketle (serebroserebellar yol bu görüşü desteklemektedir) olivar ve pontin çekirdeklerin motor öğrenme gibi tek bir serebellar fonksiyonu olduğu gösterilmiştir. Bu yollar nucleus olivarius üzerinden serebelluma çıkan yollar ile ulaşırlar, ayrıca benzer şekilde pontin çekirdek üzerinden gene serebelluma mossy lifler ile çıkarlar³¹.

Parietal korteks lezyonlarının motor aktivite üzerine etkili olmadığı da bir diğer çalışmada gösterilmiştir³².

Motor aktivite beyin farklı bölgelerinin çalışması ile gerçekleşir, dolayısıyla farklı motor aktivite seviyelerinin sebebi beyindeki bu bölgelerin çalışma farklılığı olabilir. Ancak bu bölgelerin çalışmalarındaki azalma kendisini, motor aktivite azalma ya da öğrenmede zorluk olarak gösterir. Diğer davranış testlerine baktığımızda rota rot testindeki soylar arasındaki performans farklılığın, beyin motor aktivite ile ilişkili bölgelerindeki eksikliklerden ziyade başka nedenlere bağlı olabileceğini düşünmekteyiz. Yaptığımız bir çalışma bize vücut ağırlığının performansı etkileyebileceğini göstermiştir¹¹. Balb/c soyu farelerin ve Kaymera 2'nin diğer soylara göre daha ağır olması bu farklılığı açıklayabilir.

5.1.2. Açık Alan Testi

Açık alan testi uzun süredir davranış fizyolojisinde kullanılan bir testtir. Test temel olarak düzenekte test edilen hayvanın duygusal durumu konusunda fikir verir. Test fikir olarak hayvanın yeni karşılaştığı bir ortamda sergilediği tavırların gözlemlenmesinden ibarettir. Uzun yıllardır kullanılan açık alan testinde birçok farklı değişken incelenmiş olmakla birlikte en sık kullanılan değişkenler: merkez ve çevre bölümlerden geçiş sıklığı, doğrulma sayısı ve dışkı sayısıdır. Aydınlatılmış açık alan düzeneğinde hareketin azalması ve dışkı sayısında artış, denekte anksiyetenin arttığını göstermektedir. Ayrıca doğrulma sayısının artması da denegin araştırmacı hareket sergilediğini gösterir³³.

Anksiyete gibi insana özgü kabul edilen davranışın hayvanlarda benzer olarak isimlendirilmesi tartışma konusudur. Anksiyete gibi temelde insana özgü duygusal durumun aslında ölçülebilmesi söz konusu değildir. Ölçülebilen, anksiyete olarak tanımlanan gözlemsel davranış biçimidir. İnsandaki "anksiyete" ile faredeki "anksiyete" şu şekilde benzer kabul edilmektedir:

- 1- Benzerlik: Genelde kemirgenlerin, potansiyel olarak tehlikeli olan ya da yeni durumlarla karşılaştıklarında sergiledikleri tavır
- 2- Bu davranışın anksiyolitik ya da anksiyojenik ilaçlar ile artırılabilirler ya da azaltılabilirler

Kemirgenler ilk kez karşılaştıkları bir ortamda merkez bölgeler yerine çevre bölgelerde hareket ederler ve eğer mümkünse loş ortamlarda bulunmayı aydınlık bölgelere tercih ederler³⁴. Standart açık alan düzeneğinde çevre farenin çıkmasını engelleyecek kadar yüksek duvarlarla çevrilmiştir fakat değiştirilmiş düzeneklerde bu kutuya farenin kendi kafesi monte edilebilir, bir başka deyişle farenin araştırma davranışını kendisi belirler³⁵. Anksiyolitik ilaçlar merkezde gezinme sıklığını artırmaktadır³⁶. Ayrıca merkezi sinir sistemi uyarıcıları, hallüsinojenler, mono amin oksidaz inhibitörleri gibi ilaçların açık alanda dolaşma/doğrulma

oranını değiştirdiği bildirilmiřtir³⁷. Dışkılama ile aktivite arasına ilişki bulunmuştur; artmış aktivite gösteren özel olarak üretilmiş farelerin açık alandaki dışkı sayıları az iken, azalmış aktivite gösteren farelerin dışkı sayılarında artış bulunmaktadırdır . Bununla birlikte seçilerek üretilen artmış kafes içi aktivite gösteren farelerin açık alan aktiviteleleri de artmış olarak bulunmuřtur³⁸. Ayrıca bazolateral amigladaadaki serotonin reseptörlerinin uyarılmasının anksiyete tipi davranışlara yol aıtdığı gsterilmiřtir³⁹. Bunlarla birlikte ventral hipokampus lezyonlarının açık alan aktivitesini etkilediği gsterilmiřtir⁴⁰.

Bulgular değerlendirildiğinde, F₁ melez soyların performanslarının, gözlenen tüm parametreler için saf soyların (Balb/c ve C57BL/6J) gösterdikleri performansların arasında kaldığı görülmektedir. Her ne kadar F₁ soyları genetik olarak tamamen saf olmasa da teorik olarak gösterecekleri ölçülebilir davranış, ebeveynlerin gösterdikleri sınırların dışında olmayacaktır. Saf soylara bakılacak olursa, Balb/c soyu farelerin açık alan testinde göstermiş olduğu aktivite C57BL/6J soyundan farklı değildir. Rakamsal olarak merkezi karelerden geçiş sayısı her ne kadar Balb/c soyu farelerde daha yüksek olsa da istatistiksel anlamlılık göstermemektedir. Araştırma davranışının genel göstergesi olan doğrulma davranışına bakıldığında Balb/c soyu farelerin doğrulma davranışı düşük bulunmuştur. Açık alandaki dışkı sayısı Balb/c soyu farelerde yüksek olarak bulunmuştur. Kaymera 1'in diğer kaymera ve soylardan evre bölgede ve toplamda kat ettiği kare sayısı daha fazladır, gözlenen diğer değişkenlerde ise (doğrulma ve dışkılama) diğer soylardan farklı görünmemektedir. Kaymera 2 de ise doğrulma sayısı düşük ve dışkılama sayısı olduğa yüksek bulunmuştur. Genel aktivitesi (toplam geçilen kare sayısı) ise yüksek bulunmuştur.

Kalıtımın davranış üzerine olan etkileri iki tip hayvan modeli kullanılarak incelenebilir. Bunlardan ilki, incelenecek soyların genetik özelliklerini birlikte merkezi sinir sistemi içerisindeki her hücrede birlikte barındıran melez (F₁ soylar) hayvanlar ve ikinci olarak, merkezi sinir sisteminde farklı genetik kökene sahip hücreleri ayrı ayrı barındıran Kaymerik hayvanlardır⁴¹. Kaymerik hayvanların davranışları sinir sisteminin belirli bölgelerinde bir soya ait hücrelerin miktar ya da aktivite bakımından baskınlığına göre bir ya da diğer soya benzeyebilir ya da melezerin de dahil olduğu bir soydan diğer soya olan olası davranış ve morfoloji alternatiflerinden tamamen bağımsız bir yapı sergileyebilir⁴².

Balb/c soyu farelerin genel olarak açık alan aktivitelelerinin düşük olduğu gsterilmiřtir⁴³. Ancak açık alan testleri farklı içerikte olabilmektedir. Alanın büyüklüğü, ortamın ışıklandırılma miktarı, alanın şekli gibi etkenlerin test edileen hayvanın davranışlarını etkileyebileceği bildirilmiştir^{44,45}. evre ve merkez bölgelerdeki hareket ile doğrulma kimi

çalışmalarda genel lokomotor aktivite göstergesi olarak kabul edilirken dışkılama risk alma ve araştırma tavrı olarak kabul edilmiştir⁴⁶.

5.1.3. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

Korku ve anksiyete, bir canlının homeostasisini tehdit eden gerçek ve potansiyel tehditlere karşı canlının verdiği yanıt olarak kabul edilmektedir. Bu yanıt fizyolojik (kalp atım hızı ve basıncının artması gibi) olabileceği gibi davranışsal da (tehlike kaynağından sakınma, devam eden diğer davranışların azalması gibi) olabilir. Eğer yanıt aşırı ve adaptasyonu bozacak nitelikte ise “patolojik” olarak adlandırılır.

Faredeki anksiyete testlerinde fare, eksternal (parlak ışık, elektrik şoku gibi faktörlerle eşleştirilen uyarılar) ya da internal (ilaçlar) gibi uyarılara maruz bırakılırlar. Bu modellerin hiçbirisi ile patolojik anksiyete hakkında fikir sahibi olunamaz. Bu tip modeller “durum anksiyetesi” olarak kabul edilmektedirler. Durum anksiyetesinde, denekler anksiyeteyi belirli bir süre için yaşarlar ve anksiyojenik uyarının artırılması ile bu halde bir artış görülür. Patolojik anksiyete de “özellik anksiyetesi” olarak da adlandırılmaktadır. Bu tipte anksiyete hali sürekli ve bireyin bir özelliği olarak kabul edilir.

Farede “normal” ya da “durum” anksiyete test modelleri:

Bu testler iki tipte olabilir. Bunların ilkinde stresli ve genelde ağırlı uyarana (elektrik şoku gibi) şartlı yanıt söz konusudur. İkinci tip testte ise hayvanın ağrı ya da fiziksel sıkıntı oluşturmayan bir uyarana (aydınlık açık ortamlar ya da yükseklik) vereceği doğal yanıt incelenmektedir⁴⁷.

Bu testler içerisinde uygulama kolaylığından dolayı yükseltilmiş artı labirent testi neredeyse en sık kullanılan anksiyete değerlendirme testidir.

Gerek saha çalışmalarından, gerekse laboratuvar gözlemlerinden kemirgenlerin yeni bir çevredeki korunmasız bölge ile ilk karşılaştıklarında buradan sakındıkları bilinmektedir. Bir deneysel düzende –genellikle sınırları belirlenmiş bir bölgedir- teste tabi tutulan hayvan, açıklık alandan uzak duracak bir biçimde duvar kenarlarını kullanarak o bölgeyi keşfetmek için dolaşır. Ortamın iticiliği ışıklandırmanın artırılması ile artırılabilir, bu şekilde hayvan loş bölgeleri tercih edecektir. Bir diğer olasılık, kemirgenin o bölgeye olan rahatsızlığını artırmak için düzeneğin yükseltilmesi ve hayvanın düzeneğin sadece kenarlarını görmesini sağlamaktır. Burada dikkat edilmesi gereken bir nokta, hayvanın düzenekteki performansının lokomotor aktivitesi ve görme becerisi tarafından etkilenebileceğidir. Ayrıca araştırma stratejisi de performansı etkileyen bir diğer faktördür³⁵.

Anksiyolitik ilaçlar test uygulanan farelerin açık kollara giriş sayısını ve burada geçirdikleri artırmaktadır⁴⁸.

Bulgular değerlendirilecek olursa, açık kola ilk giriş süresinin Balb/c soyu farelerde en kısa ve C57BL/6J soyunda en uzun olduğu görülür. F₁ soyları iki soyun arasında yer almaktadır. Kaymera 2 ise en erken açık kola girmiştir. Açık kola ilk giriş süresinin uzunluğu anksiyeteyi göstermekle beraber tek başına belirleyici değildir. Zira test başında fare orta bölüme konulur ve açık ya da kapalı kollar arasında seçim yapması beklenir. Farenin ilk kez bulunduğu bir ortamda yapacağı ilk seçimin tamamen anksiyeteye bağlanması doğru olmayabilir.

Kollara giriş sayıları anksiyetenin değerlendirilmesi için önem taşımaktadır. Ayrıca genel lokomotor aktivite hakkında da fikir verebilir. Açık alan testinde olduğu gibi lokomotor aktivite azalması bir gösterge olarak da kullanılabilir. Açık kollara giriş sayıları bakımından değerlendirecek olursa en fazla açık kola giren soyun Balb/c olduğunu görürüz. İkinci sırada C57BL/6J yer alırken F₁ soyları en az girişi yapmışlardır. Kaymera 1'in açık kola ilk giriş süresi . F₁ soylarına yakın iken açık kollara giriş sayısı bakımından diğer soylardan daha düşüktür. Kaymera 1 ise diğer soylardan daha fazla açık kollara giriş yapmıştır.

Açık kollarda geçilen çizgi sayısını açık kollara giriş sayısı ile birlikte değerlendirmek gerekmektedir. C57BL/6J soyu farelerin açık kollara giriş sayısı Balb/c soyuna yakın iken açık kollarda geçilen çizgi sayısı bakımından her iki soy arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Bu da C57BL/6J soyunun açık kollardaki geçirdiği sürede hareketsiz kaldığını göstermektedir. Kaymeralar değerlendirilecek olursa en fazla mesafe Kaymera 2 tarafından kat edilmiştir.

Kapalı kollara giriş sayılarına bakılacak olursa F₁ soylarının açık kollara giriş sayılarının düşük olmasına rağmen kapalı kollar arasında yüksek sayıda geçiş yaptıkları görülür. Diğer taraftan Kaymera 1'in kapalı kollara giriş sayısı açık kollarda olduğu gibi düşük iken, Kaymera 2'nin en fazla geçişi yaptığı görülmektedir.

Kollarda geçirilen süreler ise anksiyete değerlendirmesi açısından daha iyi fikir verebilir. Kemirgenlerin ilk kez girdikleri ortamda temkinli davrandıkları düşünülürse ve düzeneğin yüksek ve açık olduğuna dikkat edilirse farenin daha çok bulunmayı tercih ettiği kol önem kazanacaktır. Açık kollarda en fazla zaman geçiren soy C57BL/6J olmasına rağmen daha önce değerlendirilen parametreler bu soyun düzenekte daha fazla anksiyetik olduğunu göstermektedir.

Kapalı kollarda geçirilen süre bakımından Kaymeral dikkat çekmektedir. Açık kollara giriş sayısının düşük olması ve bu kollarda az zaman geçirmesi anksiyete yönünde olumlu göstergelerdir.

Balb/c soyu fareler ile Kamera 2'nin diğer soylara ve Kaymeraya göre daha az anksiyetik olduğundan bahsedebiliriz.

Belirli bir davranışın oluşmasında yer alan yapılar incelenirken elektriksel ya da kimyasal uyarı ya da lezyon oluşturulur. 1977 yılında beyinde benzodiazepin tipteki anksiyolitik ilaçların varlığının gösterilmesinden bu yana beynin belirli bölgelerinde bu tip ilaçlara oluşan cevapların incelenmesi geniş bir araştırma konusu haline gelmiştir.

Benzodiazepinlerin etkisinin GABA reseptör pentamerinin allosterik düzenleyici bölgesi üzerine olduğu gösterilmiştir.

Deney hayvanlarında stressörler ve anksiyete oluşturabilecek durumlar benzodiazepin (BZ) bölgelerindeki ligandların aktivitelerini düzenlerler, bu düzenlemede ligandların kendileri de etkili olabilirler. Dış uyaranlara karşı gelişen davranışsal ve fizyolojik tepkilerin düzenlenmesi ile ilgili mekanizmalar ile ilgili 3 hipotez bulunmaktadır.

1. Stres ve/veya anksiyete BZ reseptör bölgesine endojen karşıt agonistlerin salınmasına neden olarak GABAerjik tonusun azalmasına ve bundan dolayı inhibitör yolların fonksiyonlarında azalmaya neden olurlar.
2. Değişiklikler benzodiazepin reseptöründe oluşur ve ligandların aktiviteleri karşıt agonist yöne kayar.
3. Normal bireylerde endojen agonist tonus gözlenebilir bu tonus anksiyete bozukluklarında azalmış ya da yok olmuştur. Endojen putatif aday olarak birçok madde öne sürülmüştür⁴⁹.

Kimi çalışmalarda farklı bölgelere intraserebral ilaç uygulanması ile hayvanın belirli testlerdeki cevapları incelenmiştir. Bu çalışmalarla beynin birçok bölgesinde (dorsal raphe, median raphe, periacqueductus grise dorsalis, amigdala, dorsal hipokampus, nükleus akkübens, septal çekirdek, hipotalamus) benzodiazepin reseptörleri gösterilmiştir. Ayrıca serotonin reseptörlerinin bu oluşumların bazılarının haricinde nükleus akkübens, septal çekirdek, ventral hipokampus gibi yapılarda gösterilmesi de bu oluşumların bir şekilde anksiyete etyolojisinde rol alabileceğini düşündürmektedir^{49,50}.

Buna rağmen bir çalışmada amigdalanın elektriksel uyarımı ile anksiyete davranışlarında azalma gösterilmiş ve bu durum amigdala periferindeki inhibitör GABAerjik liflerin uyarılabilirliğine ilişkilendirilmiştir⁵¹.

Kortikotropin serbestleyici faktörün hipokampusta serotonin salınımını artırdığı bulunmuştur ve anksiyete bozukluğu olan kişilerde hipokampustaki serotonin konsantrasyonunun yüksek bulunması da bu maddelerin anksiyete de önemli olduğunu düşündürmektedir⁵².

Area postrema lezyonları sonrasında arkuat ve paraventriküler çekirdek ile hipotalamusun arkuat çekirdeğinde nöropeptid Y birikimi gösterilmiştir. Area postrema lezyonları sonrakinda uygulanan testlerde lezyonlu hayvanların daha az anksiyetik oldukları bildirilmiştir⁵³.

Ayrıca anksiyete ile ilişkili merkezlerde metabotropik ve ionotropik glutamat reseptörleri gösterilmiştir⁵⁴. Dolayısıyla glutamat metabolizmasındaki farklılıklar da bazal anksiyete seviyesini etkileyebilir.

5.1.4. Aydınlık Karanlık Tercih Testi

Aydınlik / karanlık tercih testinin temeli, kemirgenlerin parlakça aydınlatılmış mekanlardan içgüdüsel olarak sakınmasına ve hafif stres kaynaklarına –buradaki stres kaynakları yeni çevre ve parlak ışıktır- karşı kemirgenler gelişen doğal araştırma davranışına dayanır. Bir hayvan yeni bir çevreye girdiğinde ya da yeni nesnelere karşılaştığında doğal bir çelişkili durum oluşur. Bu çelişki, araştırmaya olan meyil ve ilk karşılaşılan nesneden sakınma (neofobi) arasında oluşur. Araştırma aktivitesi bu meyillerin yeni koşullarda birleşmiş yanıtını yansıtmaktadır. Dolayısıyla aydınlık / karanlık araştırma testinde, kimi ilaçların, iki bölmeden meydana gelen (büyük ve aydınlatılmış olan aydınlık bölüm ile küçük ve karartılmış olan karanlık bölüm) düzeneğin aydınlık parçasındaki davranışların artmasına sebep olduğu etki anksiyolitik aktivite olarak adlandırılır. İlginç olarak önceden düzenekle karşılaşmış hayvanlarda anksiyolitik ilaçların etkisi ortaya çıkmamıştır⁵⁵. Spontan hareketlerde artış olmaksızın bölmeler arasındaki geçişteki artışın anksiyolitik aktiviteyi yansıttığı var sayılmaktadır.

Her ne kadar aydınlık / karanlık araştırma testi 1980 yılında ilk kez Crawley tarafından ortaya atılmış ise de birçok araştırmacı düzenek üzerinde çeşitli değişiklikler yapmıştır.

Bölmelerin genel olarak boyutların bakıldığında karanlık bölme tüm düzeneğin 1/3'ünü ve aydınlık bölme de 2/3'ünü oluştur. Düzenek, fare gibi noktural hayvanların doğal olarak ilk kez buldukları mekanı araştırmaya meyilli olmaları ile araştırma davranışlarını inhibe eden açıklık alanların itici özellikleri hakkındaki gözlemlere dayanmaktadır. Düzenekte güvenli bölge karanlık bölme olup (1/3) araştırmayı inhibe

edebilme özelliğine sahip olan itici bölme aydınlık (2/3) bölmedir. Bölmeler arasındaki açıklık çok geniş değildir.

Anksiyolitik bir maddenin araştırma davranışın ne ölçüde arttıracağı kontrol grubunun bazal seviyesi ile ilişkilidir. Hayvanların stres seviyesini etkileyebilecek bazı genetik ve farmakolojik olmayan faktörler bulunmaktadır ve bunlarla teste tabi tutulacak hayvan testten önce karşılaşacak olursa ciddi davranış değişiklikleri sergilemektedir. Eksternal stres kaynaklarının tipi ve şiddeti (barınma şartları, test esnasında hayvanın tutulma tarzı gibi) farklı laboratuvarlar tarafından rapor edilen davranış farklılıklarının esas sebebi olabilir.

Eğer fareler barındırıldıkları ortamdaki karanlık safhada çıkartılarak karanlık bir kutu içerisinde testin yapılacağı ortama getirilip kırmızı ışık ile aydınlatılan düzende test edilirse, iki bölmedeki hareketlerinin rasgele olduğu görülür. Fareler toplam zamanın % 60-70'ini aydınlık bölmede ve %30'unu karanlık bölmede geçirmektedirler ve bu oranlar da iki bölmenin büyüklükleri ile yakından ilişkilidir. Bu araştırma davranışı, kırmızı ışık 10-240 lüks şiddetindeki beyaz ışık kaynağı ile değiştirildiğinde de devam eder. Ancak aydınlık bölmedeki 400 lükslük aydınlatma yeterince iticidir ve neticede aydınlık bölmede bulunma süresi ve bölmeler arası geçiş sayısı azalırken karanlık bölmede geçirilen sürede artış gerçekleşmektedir. Bunun ötesinde aydınlık bölmeden karanlık bölmeye ilk giriş süresinde yaklaşık %50 oranında azalma gözlenmektedir.

Crawley ve Goodwin benzodiazepinlerin aydınlatılmış açık alan ile karanlık bölme arasındaki araştırma davranışını artırdığını tespit etmişlerdir. Aydınlık bölmeye bırakılan fare genelde bir açıklık bulup karanlık bölmeye girene kadar çevre bölgelerde hareket edecektir. Aydınlık ve karanlık bölmeler arasındaki geçişler ile bölmelerin aydınlık kısmındaki araştırma davranışları arasındaki ilişki incelenmiş ve bölmeler arası geçiş sayıları ile doğrulma sayıları arasında pozitif korelasyon bulunmuştur⁵⁶.

Karanlık bölmeye ilk giriş süresi olan kaçış süresi hakkında az sayıda veri bulunmaktadır. Bu parametrenin anlamını tahmin etmek güçtür ve literatürde pek tartışılmamıştır. İki hipotez öne sürülmektedir. Giriş süresinin artmasıyla hayvanlar aydınlık bölmede daha fazla zaman geçireceklerdir ve bu da anksiyolizisin artması sonucu olabilir. Bir diğer olası açıklama sedasyonun etkisidir, hayvanlar hareket edememekte ve bu etki ile hayvanlar karanlık bölmeye daha geç girmektedirler. Hangi hipotezin doğru olduğunu test etmek güçtür zira benzodiazepinler, sedasyon ile anksiyolizis arasındaki dar aralıkta işlev görmektedirler.

Sonuç olarak, aydınlık – karanlık tercih testi farede anksiyolitik ve anksiyojenik aktivitenin test edilmesi için yararlı bir testtir. Bölmeler arası geçişler habitüasyona bağlı

aktivite – araştırma indeksi olarak gösterilmiştir ve her bölmede geçirilen zaman da aversiyonu yansıtmaktadır. İlaçların etkileri anksiyolitik etkilerin sebep olduğu sedasyon, stimülasyon ve araştırma davranışındaki değişim göz önünde bulundurularak dikkatlice değerlendirilmelidir. Açık alan ya da aktimetre testi gibi fazladan bir test kontrol olarak kullanılmalıdır. Literatürdeki farklılıklar prosedür farklılıklarından ya da fare soylarından kaynaklanabilir ama en iyi gösterge her kompartımanda geçirilen sürenin oranı ve her kompartımandaki hareketlilik/araştırma davranışdır.⁵⁷

Bulgular değerlendirildiğinde göze ilk çarpan noktalardan bir tanesi Balb/c soyu farelerin karanlık bölmeye ilk giriş sürelerinin diğer gruplardan anlamlı bir biçimde fazla olduğudur. Diğer yandan aydınlık bölmede geçirilen toplam süreler bakımından C57BL/6J soyu diğer soylardan anlamlı olarak kısadır. Normal aydınlatmada bölmelerde geçirilen süreler ile bölme büyüklükleri arasında pozitif korelasyon bulunmaktadır ve ışık şiddetinin artırılması ile bu oran karanlık bölme lehine artış gösterir. Testte parlak ışık kullanılmıştır ve C57BL/6J soyu ile Kaymera 1'in aydınlık bölmede geçirdiği süre düşük bulunmuştur. Bu durumda iki olasılıktan bahsedebiliriz. Birincisi, C57BL/6J soyu fareler ile Kaymera 1 daha fazla anksiyete göstermektedir ya da özellikle Balb/c soyu farelerin de içerisinde bulunduğu diğer soylar daha az korku davranışı sergilemektedirler. Bölmeler arası geçiş sayısı her ne kadar C57BL/6J soyu ile Balb/c soyu farelerde birbirine yakın ise de bu parametre ile aydınlık bölmede geçirilen toplam süre birlikte değerlendirildiğinde C57BL/6J'nin aydınlık bölüme geçiş sayısının Balb/c kadar fazla olması bu soyun karanlık ortama alışması sebebi ile geçiş yaptığını düşündürür. Ayrıca diğer testlerin sonuçları ile birlikte düşünülecek olursa Balb/c soyu farelerin daha az anksiyetik olmasının muhtemel olduğunu görürüz. Diğer çalışmalarda gösterilmiş olan doğrulma sayısı ile bölmeler arası geçiş sayısı arasındaki benzerlik çalışmamızda da mevcuttur. Doğrulma sayılarına baktığımızda soyların doğrulma sayıları birbirlerine yakındır bu da lokomotor aktiviteleri arasındaki yakınlık ile açıklanabilir. Ancak Kaymera 1'in gerek karanlık bölmede daha fazla bulunması, gerek bölmeler arası geçiş ile doğrulma sayısının düşük olması anksiyetesinin fazla olma ihtimalini kuvvetlendirmektedir.

Doğuştan gelen anksiyetenin test edildiği aydınlık / karanlık test düzeneğindeki performans farklılıkları eğer gerekli uygun fiziksel ortam sağlanmış ise yapısal farklılıklardan kaynaklanabilir. İnbred soyların kullanılma sebebi ise mümkün olduğunca bireysel varyasyonları azaltmaktır. Anksiyeden sorumlu nöroanatomi yapısal farklılıklar ise çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir. Balb/c ile C57BL/6J soyu farelerde beyin bir çok bölgesindeki (Korteks geniş bölümleri, hipokampus, nükleus kaudatus-putamen, talamus, nükleus akkübens ve globus pallidus) diazepam reseptör yoğunlukları arasında fark bulunmaz iken

amigdalada bu reseptörlerin yoğunluğu farklı bulunmuştur⁵⁸. Dolayısıyla davranışsal farklılıkların temelinde yatan faktörlerden bir tanesi de bu reseptörlerin yoğunluk farklı olabilir. Diğer taraftan histaminin H₁ reseptörlerinin uyarılmasını anksiyojenik etkileri olduğu gösterilmiştir⁵⁹.

5.1.5. Morris Su Tankı

Morris su tankı, davranış çalışmalarında uzaysal belleğin test edilmesi yaklaşık 20 yıldır kullanılan bir düzendir. Su içerisindeki farenin sudan kurtulmak için bir platformun üzerine çıkması gerekmektedir ve testte bu platformun yerini öğrenebilme ve hatırlayabilme becerisi sınanır. Test, çeşitli çalışmalarda modifiye edilmiş olmakta beraber temelde iki kısımdan oluşmaktadır. Birinci bölümde, belirli bir süre müddetince fare suya bırakılarak platformun yerini bulması, dolayısıyla öğrenmesi sağlanır ve daha sonra platform uzaklaştırılarak fare teste tabi tutulur. Testte platform bulunduğu yerde farenin test süresinin ne kadarlık bir kısmında bulunduğu bakılır. Genelde öğrenme periyodunda farenin platformun yerini görmemesi gerekmektedir. Bunun için genelde su opak bir madde ile boyanır ya da farenin yüzme hızını engellemeyecek fakat platformu görmemesi sağlayacak şekilde su yüzeyi bir takım maddeler ile örtülür.

Uyguladığımız testte kaymeralar kullanılmamıştır. Daha önce bir şekilde kaymeralar Morris testinin bir bölümüne tabi tutuldular fakat daha önce uygulanan test asıl uygulanması gereken testten farklı olduğundan ve bir kez teste tabi tutulan deneklere bir daha aynı testin uygulanmamasından ötürü kaymeralar bu testte çalışma dışında bırakılmışlardır.

Çalışma üç kısımdan oluşmaktadır. İlk bölüm öğrenme, ikinci ve üçüncü bölüm ise test bölümlerini kapsamaktadır. Öğrenme bölümü de kendi içerisinde iki parçaya ayrılmaktadır. İlk parça 4 gün ikinci parça ise 5 gün sürmektedir. Öğrenme bölümlerinin her ikisinde de platform görünmez durumdadır. İlk bölümde siyah bir platform farenin görme alanının dışında kalacak şekilde suyun altında bulunmakta iken ikinci bölümde gene suyun altına yerleştirilmiş beyaz bir platform bulunmaktadır ve suyun yüzeyi rendelenmiş strafor ile kaplanmıştır.

Rota rot testinde olduğu gibi tekrarlanan aktiviteler farelerin öğrenmesini kolaylaştırmaktadır. Kıyaslanan ise genelde farelerin öğrenme hızlarıdır. Şekil 4.23.(sayfa 71) fare soylarının günler içerisindeki performanslarını göstermektedir. Şekilden de görüleceği gibi grafiğin genel seyri başlangıç noktasından aşağıya doğru azalarak bir platoya ulaşma şeklindedir. İlk öğrenme döneminde farelerin tüm gruplar için ortalama platforma ulaşma süresi yaklaşık 38 saniye iken bu süre 4 günlük öğrenmenin sonunda yaklaşık 5 saniyeye

kadar düşmüştür. Daha sonra su bulandırılarak aynı işlem tekrarlanmıştır. Bu sefer ilk denemede farelerin platformu bulma süreleri ortalama 24 saniyeye kadar yükselmiş ve 5 günlük öğrenme ile 16 saniye civarına kadar düşmüştür. İlk ve ikinci öğrenme dönemlerindeki olası farklılık platformun kesin konumlandırılmadığı olabilir. İlk periyotta her ne kadar platform suyun altında bulunsun bile farklı renkte olması fareler için ipucu olabilir. Ancak ikinci kısımda fare platformun yanına gelmiş olsa bile göremeyecek dolayısıyla platformun kesin konumlandırılabilmesi için mutlaka uzaysal ipuçlarına ihtiyaç duyacaktır.

Balb/c soyu fareler genel olarak her iki kısımda da daha uzun sürede platformu bulmuşlardır ve bu da genel literatürle uyusmaktadır⁶⁰. F₁ soylarının platforma ulaşması ise nispeten kısa sürmüştür. İstatistiksel anlamlılık olmamakla birlikte F₁ soylarının inbred soylardan daha başarılı olması melez kuvveti (hybrid vigor) olarak adlandırılmaktadır⁶¹.

Öğrenme periyodundan hemen sonra tüm soylara test uygulanmıştır. Testte platform çikartılmış ve fareler suya bırakılarak gözlenmiştir. 60 saniyelik testte platformun bulunduğu çeyreğe ilk geliş süresi, platformun bulunduğu konuma ilk geliş süresi ve platformun bulunduğu çeyrekte geçirdiği toplam süreler ölçülmüştür. Testten 24 saat sonra da görme keskinliği değerlendirilmiştir.

Öğrenme sonuçlarına benzer biçimde Balb/c soyu farelerin platformun bulunduğu çeyreğe ve konuma geliş süreleri diğer soylardan anlamlı olarak daha uzun bulunmuştur. Ayrıca anlamlı olmamakla beraber platformun bulunduğu çeyrekte geçirdikleri süre, Balb/c soyu farelerde diğer soylara göre daha kısadır. Son olarak görme testi sonuçlarında Balb/c soyu farelerin platformu bulma süreleri daha uzun sürmüştür.

Balb/c soyunun gerek öğrenme sürecinde gerekse testte nispeten düşük performans göstermesi görme keskinliğinden kaynaklanabilir. Bir çalışmada parlak ışığın Balb/c soyu farelerin performanslarını olumsuz etkilediği bildirilmiştir⁶². Bunun yanında C57BL/6J soyu farelerin de birçok fare soyundan daha hızlı yüzdüğü bildirilmiştir^{63,64}. Dolayısıyla yüzmeye hızı da platformun erken bulunması yönünde bir avantajdır. Yüzmeye hızının avantaj olduğu gösterilmişken yüzmeye esnasında postürün performansı etkilemediği bildirilmiştir⁶⁵. Diğer yandan doğal olarak sudan sakınma derecesi de önemlidir. Genelde farelerin sıçan gibi hayvanlara göre daha düşük performansa sahip olmaları, farelerin daha kuru iklimlerde sıçanların ise daha nemli ve sulu ortamlara uyum sağlayacak şekilde evrimleşmesi olarak açıklanmaktadır. Benzer bir durum farelerde farklı soylar için de geçerli olabilir⁶⁶.

Talamik yapıların, mamiller cisimlerin⁶⁷, amigdala⁶⁸, locus coeruleus, nükleus akkübens ve fimbria – fornix gibi yapıların uzaysal belleğin kazanılmasında ya da pekiştirilmesinde etkili olabileceğine dair çalışmalar bulunmaktadır⁶⁹. Hipokampus kolinerjik

liflerin ve septo-hipokampal yapının öğrenmede etkili olduğu da gösterilmiştir^{70,71}. Hipokampustaki piramidal hücreler çevre ile ilgili bilgileri kodlamaktadır ve bu özelliklerinden dolayı “yer hücreleri (place cells)” olarak da adlandırılmaktadırlar. Bir hayvan bildiği bir çevrenin yeni bölgelerinde dolaştıkça hipokampusun farklı bölgelerindeki yer hücrelerinin dışarı gösterilmiştir^{72,73}. Testteki performans farklılıkları nöroanatomik yapıların farklılıklarından dolayı olabilir. Bunlarla birlikte Glutamat, GABA ve serotonin reseptör yoğunlukları ile performans arasında somut ilişki de gösterilmiştir⁷⁴.

5.1.6. Kısa Süreli Pasif Sakınma Testi

Pasif sakınma testlerinde denek hayvanın hoş olmayan bir uyarın ile karşılaşması sağlanır ve belirli bir süre sonra uyarın ile tekrar karşılaştırarak, uyarını hatırlayıp hatırlamadığı test edilir. Pasif sakınma testlerinde [ilk ileri adım pasif sakınma (step through latency passive avoidance)] genel olarak iki bölmeli bir düzenek kullanılmaktadır. Düzenek aydınlık ve karanlık iki bölümden oluşmuştur ve karanlık bölmenin altına elektik şokunun verilebilmesi için ızgara yerleştirilmiştir. Hayvan düzeneğe aydınlık bölmeden bırakılır ve içgüdüsel olarak karanlık bölmeyi tercih etmesi muhtemel olduğundan dolayı belirli bir süre sonra karanlık bölmeye girmesi beklenir ve karanlık ölmeye girdiğinde burada şok verilir. Test içeriğine göre belirli bir süre sonra (kısa süreli pasif sakınma testi ile kısa süreli bellek test edilebilir) tekrar aydınlık bölmeye bırakılır. Şoktan sonraki karanlık bölmeye giriş süresi ile şoktan önceki giriş süreleri arasındaki fark hayvanın ne ölçüde anımsadığını gösterir.

Elektrik şoku verildiği testlerde kullanılan hayvanlar bir daha başka testlerde kullanılmamaktadır. Şok aldıktan sonra geçen süreçte denek hoş olmayan deneyim ile kontrol edilemeyen bir obje arasında eşleştirme yapabilir ve bunu bilinmesi neredeyse imkansızdır ve bu da o hayvanın diğer testlerdeki performanslarını ister istemez etkileyeceğinden dolayı elektrik şokunun verildiği testler en son olarak uygulanır ve teste tabi tutulan hayvanlar başka testlerde kullanılmaz. Bundan ötürü kaymeraları uzun süreli pasif sakınma testinde kullandığımızdan ötürü bu hayvanlara ait kısa süreli pasif sakınma ile uzun ve kısa karanlık kutu testleri bulunmamaktadır.

Pasif sakınma testinde kaçış süresi(farenin şoktan önce karanlık bölmeye giriş süresi), doğal davranış (korku ve yeni çevre araştırma) değerlendirmektedir. Bu parametreye baktığımızda C57BL/6J soyu fareler karanlık bölmeye Balb/c soyu farelerden daha geç girmişlerdir. Bu durum aydınlık karanlık tercih testinin sonuçları ile çelişir gibi görünmektedir. Ancak aydınlık karanlık tercih testinde bölmeler arası geçiş iki soyda eşit olmakla beraber C57BL/6J soyunun karanlık bölmede daha uzun süre kalması bu soyun

bölmeler arası geçişlerinin daha çok habitüasyona bağlı olabileceğini düşündürmektedir ve dolayısıyla Balb/c soyu farelerin araştırma davranışının daha fazla olması düşünülebilir. Kısa süreli pasif sakinme testinde de karanlık bölmeye ilk giriş araştırma davranışının fazla olması ile de ilgili olabilir.

Korku belleğinde anımsamayı değerlendiren şoktan sonra aydınlık bölümde sergilenen donma davranışı ve aydınlık bölümden karanlık bölüme ilk kez girişe kadar geçen süre (ilk ileri adım süresi) değerlendirildiğinde inbred soylar arasında anlamlı bir farklılığın bulunmadığı görüldü. F₁ soylarını da dahil ederek soyları karşılaştıracak olursak F₁ (C57BL/6J x Balb/c) soyunun donma süresinin diğer soylardan anlamlı olarak daha uzun olduğunu görürüz. Buna göre bu soyun kısa süreli bellekteki anımsama becerisinin diğer soylardan daha kuvvetli olduğunu görürüz. Genelde F₁ soyları tek bir soymuş gibi incelenirken ayrıntılı incelemelerde F₁ soylarının erkek bireyleri arasında özellikle spontan aktivite bakımından anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Bu davranış farklılıklarının erkekler arasındaki genotipik farklılıklardan (cinsiyet kromozomlarına bağlı olarak) kaynaklanabileceği gibi erken çevresel farklılıklardan da kaynaklanabileceği öne sürülmüştür. Kemirgenlerde, erkeklerin dişilere göre annelerinden daha fazla ilgi gördüğü gösterilmiş bu da annenin etkisinin erkek bireylerin gelişiminde daha etkili olabileceğinin öne sürülmesine neden olmuştur. Annenin bakımının etkisinin birçok serebral çekirdekte GABA_A ve benzodiazepin reseptör ekspresyonunu etkilediği gösterilmiştir. Bu çekirdeklerden bazıları amigdala ve locus coeruleus olup duygusal tepkilerdeki işlevi bilinmektedir. Bunlardan başka aynı etkinin hipokampal glukokortikoid reseptör ekspresyonunu da etkilediği bildirilmiştir⁷⁵. Bu etkilerin farklı melezleri değişik düzeylerde etkileyebileceği düşünüldüğünde F₁ soylarındaki davranış farklılıkları açıklanabilir⁷⁶.

Aydınlık bölümde geçirilen toplam süreler arasında bir fark olmaması korku belleğinde tutma arasında fark olmadığını gösterir.

5.1.7. Uzun Süreli Pasif Sakınma Testi

Uzun süreli pasif sakinme testinde gözlenen parametreler kısa süreli test ile aynıdır. Tek fark uzun süreli belleğin sınındığı uzun süreli pasif sakinme testinde şoktan sonra gözlem 24 saat sonra yapılmasıdır.

Kaçış süreleri karşılaştırıldığında Kaymera 1 haricindeki tüm soyların kaçış sürelerinin birbirine yakın olduğu görüldü. Kaymera 1'deki artmış süreyi ise aydınlık tercihinin bağlamak doğru olmayabilir. Zira aydınlık-karanlık tercih testindeki Kaymera 1'in genel tercihi karanlık bölme yönünde iken ve bu testte Kaymera 1'in anksiyetesi yüksek bulunmuş iken uzun süreli

pasif sakinme testinde, kaçış süresinin (karanlık bölmeye girene kadar geçen süre) uzun ölçülmüş olması birbirleriyle çelişmekte gibi görünürken bu parametre testte ölçülen diğer parametrelerle birlikte değerlendirilmelidir.

Korku belleğinde anımsamayı değerlendiren şoktan sonra aydınlık bölümde sergilenen donma davranışı ve aydınlık bölümden karanlık bölüme ilk kez girişe kadar geçen süre (ilk ileri adım süresi) değerlendirildiğinde inbred ve F₁ soyları arasında anlamlı bir farklılığın bulunmadığı görülür. Ancak bu parametrelere göre Kaymera 1'in diğer soylar gibi elektrik şoku ile karanlık bölmeyi eşleştirdiğini, anımsadığını ve akılda tuttuğunu ifade edebiliriz. Bu durumda da kaçış süresinin Kaymera 1'de uzun sürmesinin bu teste özgü bir stres ile ilişkilendirilebilir.

Pasif sakinme testlerinde ister kısa ister uzun olsun, fare elektrik şokunu karanlık odada almaktadır ve şok aldığı esnada iki bölmeyi birbirinden ayıran kapı kapalıdır. Şoktan sonra belirli bir süre sonra fare gözlem için aydınlık bölmeye tekrar konulur. Şok öncesi karanlık bölmeye girene kadar aydınlık bölmede geçirdiği zaman ile şoktan sonra gözlem süresince aydınlık bölmede geçirdiği zaman arasındaki ilişki, farenin karanlık bölmede yaşadığı kötü deneyimi ne ölçüde beyinde tuttuğunu gösterir. Diğer yandan eğer karanlık bölmeye girmiş ise giriş süresi ve gözlem süresince aydınlık bölmedeki donma davranışı da anımsaması ile ilişkilidir. Şoktan sonra birçok fare karanlık bölmeye girmemiştir. Bu da genel olarak anımsadıklarını gösterir. Pasif sakinme düzeneğinde fare yaşadığı kötü denetimi mekan ile direkt olarak karşı karşıya getirilmez, gözlem için aydınlık bölmeye bırakıldığında sadece açık olan kapıdan karanlık bölmeyi görür ve bu da anımsaması için ilk olarak kullanabileceği ipucudur. Koşulsuz şartlanma deneylerinde ventral hipokampusta lezyon yapılmış şıçanlarda şok sonrası donma davranışında azalma gösterilmiştir⁷⁷.

5.1.8. Kısa Süreli Karanlık Kutu

Karanlık kutu testinde şokun verildiği ve gözlemin yapıldığı mekan aynıdır. Dolayısıyla pasif sakinme testinden farklı olarak burada olumsuz uyarının bir ipucu olarak değil, bütün olarak sunumu söz konusudur.

Donma sürelerine baktığımızda inbred soylar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır fakat F₁ soylarından , F1 (C57BL/6J x Balb/c) soyunun hem diğer F1 soyu ile hem de diğer inbred soylarından anlamlı olarak daha kısa süreli donma davranışı sergilediğini görürüz. Bunun temel sebebi nöroanatomik yapıların farklılıkları olabileceği gibi deneyde kullanılan hayvanların bazal stres seviyesi olabilir.

5.1.9. Uzun Süreli Karanlık Kutu

Balb/c ve F₁ (Balb/c x C57BL/6J) soyu fareler diğer soylardan daha az donma davranışı sergilemişlerdir. İpucun değerlendirilerek anımsamanın gösterildiği pasif sakınma testlerinin dışında korkulu uyarının direkt olarak kendisinin sunulduğu karanlık kutu testlerinde iki farklı nöroanatomik yapı iş görmektedir. İpucunun değerlendirilerek anımsamada hipokampus ağırlıklı olarak iş görürken, uyarana direkt olarak maruz kalındığında amigdala aktivitesi söz konusudur⁷⁸. Ayrıca uzun süreli ve kısa süreli bellek performanslarında farklılıklar da söz konusudur. Buna göre Balb/c soyu fareler dışındaki tüm soyların uzun süreli anımsama becerileri kısa süreye göre daha fazladır.

5.1.10. Davranışın kalıtsal temelleri

İnsan ya da hayvandaki biyolojik sistemlerin ya da bu sistemlerin bozulması ile oluşan hastalıkların nasıl oluştuklarını anlayabilmek için çeşitli modeller geliştirilmiştir. İster fizyolojik mekanizma olsun, isterse patolojiler olsun bu modeller genelde deney hayvanları üzerinde sınırlanmaktadır. Genel olarak da laboratuvarlarda kullanılan hayvanların başında kemirgenler ve kemirgenlerin başında da fareler gelir. Farelerin laboratuvar da kullanılmasının bir çok avantajı bulunmaktadır. Ufak olmaları, kolay barındırılmalarını sağlamakta ve üreme döngülerinin hızlı olması da kısa sürede popülasyon artırılabilmesini sağlamaktadır. Son yıllarda artan transgenik hayvan teknolojilerinin kullanımı için de fareler vazgeçilmez hayvanlardır.

Hangi alan olursa olsun çalışmada bireylerden kaynaklanan varyasyonları en aza indirebilmek için inbred hayvanlar kullanılmaktadır. Bu tip hayvanlar özel olarak üretilmekte olup belirli sayıda nesilden sonra soyun tüm bireyleri kalıtsal bakımdan birbirinin aynı olarak kabul edilirler. İnbredizasyonda ilk olarak uygun niteliği sahip soy başları seçilir ve erkek-kız kardeşler en az 20 kuşak çiftleştirilerek inbred soylar oluşturulur. Günümüzde farklı laboratuvarlarda kullanılan 700'ün üzerinde inbred soy bulunmaktadır^{79,80}.

Davranış testleri farklı amaçlarla uzun süredir uygulanmaktadır. Bu amaçlardan bir tanesi de davranış olarak adlandırılan organizmanın tepkisinin ne ölçüde kalıtsal olduğunu araştırılmasıdır. İnbred soylar bu amaç için son derece uygundur. Bir çok çalışmada çeşitli soylar arasında davranış farklılıkları gösterilmiştir^{81,82,83,84}. Ancak davranış testleri, olası farklılıkları ve belki bu farklılıkların hangi anatomik yapısal farklılıkları sayesinde oluştuğunu gösterebilir⁸⁵. Ancak bir şekilde genetik araştırmaları ile de bu çalışmalar desteklenmektedir. Fenotipik özellikler nicel olarak ölçüldüğü için bu fenotipi oluşturan gen lokusları, nicel özellik lokusları (quantitative trait loci -QTL-) olarak adlandırılmaktadır. 200'ün üzerinde

QTL bildirilmiştir⁸⁶. Bu şekilde bir çok özellik farklı gen lokusları ile ilişkilendirilmiştir^{87,88,89,90}. Ayrıca davranış farklılıklarına sebep olan farklı lokuslar da bulunmuştur^{91,92}. Diğer yandan özel histoloji ve steroloji teknikleri ile de yapısal farklılıkların nasıl oluştuğu da gösterilebilmektedir. Farklı fare soylarındaki davranış farklılıklarına sebep olan çeşitli anatomik yapısal farklılıklar gösterilmiştir^{93,94}.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızda iki farklı fare soyunda, soya özgü davranışlar araştırılmış ve olası davranış paternlerinin kaymeralarda kimliklendirmede kullanılıp kullanılmayacağı araştırıldı.

Kaymerizmin göstergesi olarak farklı teknikler kullanılmaktadır ve bu teknikler gerek invaziv olmaları gerekse maliyetlerinin yüksek olması açısından dezavantajlıdır. En ucuz ve kullanımı kolay kaymerizm göstergesi morfolojik analizlerdir. Bu tip analizlerde ayırımı kolay olabilmesi için kaymerayı oluşturan grupların morfolojik olarak birbirinden kolayca ayrılabilir nitelikte olması gerekmektedir. Bunun içinde sınırlarının gayet keskin olması gerekmektedir. Belirteç olarak kullanılacak olan niteliğin şüpheye düşürmeyecek şekilde net olması gerekmektedir. Post rengi bunun bir örneğidir. Organizmanın iç ya da dış etkilere verdiği tepkiler bütünü olarak kabul edilen davranış ise birçok faktör tarafından etkilenebilmektedir. Testlerin bize gösterdiği soyların kimi testlerde birbirlerinden ayrılabilmiştir. Ancak bu ayırım ortalamanın istatistiksel karşılaştırması ile olmaktadır. Bireysel düzeyde incelenecek olursa farklı soylara ait bireylerin diğer soyun dağılım gösterdiği bölgelere girebileceği görülmüştür. Bu da, bu tip testlerin post rengi gibi mutlak kaymerizm belirteci olarak kullanılmasının oldukça güç olduğunu göstermektedir.

Davranış testlerinin kaymerizm belirteci olarak kullanılabilmesi için bu testler yeterlilik göstermemektedir. Farklı test bataryalarının denenmesi, yüksek sayıda kaymera üretilmesi ve belki yeni istatistiksel analiz yöntemleri ile davranış testlerinin kullanılabilirliği mümkün olabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Monk M. *Mammalian Development a practical approach* 1987; 116-138
2. Le Douarin N, McLaren A. *Chimeras in Developmental Biology* 1984; 3-63
3. Hogan B, Castantini F, Lacy E.; *Manipulating the Mouse Embryo A Laboratory Manual*. New York, Cold Spring Harbor Laboratory, 1986; 2-16
4. Foster HL, Small JD, Foz JG. *The Mouse in Bomedical Research Volume I History, Genetics and Wild Mice Chapter 5* 1981; 91-104
5. Lyon MF, Rastan M, Brown SDM. *Genetic Variants and Strains of the Laboratory Mouse Volume II* 3rd Edition Oxford, Oxford University Press Chapter 15 1996 1537-1576
6. Erişim: <http://www.informatics.jax.org/external/festing/mouse/docs/>
7. Martin P, Bateson P. *Measuring Behaviour An introductory guide*. 2nd Edition Cambridge, Cambridge University Press 1993; 7-24
8. Picciotto MR, Wickman K Using Knockout and Transgenic Mice to Study Neurophysiology and Behavior. *Physiological Reviews* 1998 Vol 78 No 4 October 1131-1155
9. Fowler SC, Zarcone TJ, Vorontsova E, Chena R. Motor and associative deficits in D2 dopamine receptor knockout mice. *Int. J. Devl Neuroscience* 2002; 20 309–321
10. Ogura H, Matsumoto M, Mikoshiba K. Motor discoordination in mutant mice heterozygous for the type 1 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor. *Behavioural Brain Research* 2001; 122 215–219
11. Özgünen KT, Güven M, Tan Ü. Farede Motor Öğrenme: Yaş ve Vücut Ağırlığının Etkileri Fizyoloji Kongresi
12. Crawley JN, Belknap JK, Collins AC, Crabbe JC, Frankel W, Henderson N, Hitzemann RJ, Maxson SC, Miner LL, Silva AJ, Wehner JM, Wynshaw-Boris A, Paylor R. Behavioral phenotypes of inbred mouse strains: implications and recommendations for molecular studies. *Psychopharmacology* 1997; 132:107-124
13. Gershenfeld HK, Paul SM. Mapping Quantitative Trait Loci for Fear-like Behaviors in Mice *Genomics* 1997; 46:1–8
14. Clément Y, Martin B, Venault P, Chapouthier G. Involvement of regions 4th and 7th chromosomes in the open-field activity in mice. *Behav Brain Res* 1995; 70: 51-7.
15. Gershenfeld HK, Paul SM Mapping Quantitative Trait Loci for Fear-like Behaviors in Mice *Genomics* 1997 46 :1–8

16. Pellow S, File SE. Anxiolytic and Anxiogenic Drug Effects on Exploratory Activity in an Elevated Plus-Maze: a Novel Test of Anxiety in Rat. *Pharmacology Biochemistry & Behaviour* 1986; 24:525-529
17. Lister RG. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse *Psychopharmacology* 1987; 92:180-185
18. Espejo EF *Behavioral Brain Research*. 1997; 86:105-112
19. Thifault S, Lalonde R, Sanon N, Hamet P. *Brain Research*. 2001; 910:99-105
20. Macriv S, Adriani W, Chiarotti F, Laviola G. Risk taking during exploration of a plus-maze is greater in adolescent than in juvenile or adult mice. *Animal Behaviour* 2002; 64:541-546
21. Hascoët M, Colombel Mc, Bourin M. Influence of Age on Behavioral Response in the Light/Dark Paradigm. *Physiology & Behaviour* 1999; 66(4):567-570
22. D'Hooge R, De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Research Reviews* 2001; 36:60-90
23. Watanabe S. Effects of hippocampal lesions on spatial operant discrimination in pigeons. *Behavioural Brain Research* 1999; 103:77-84
24. Owen EH, Logue SF, Rasmussen DL, Wehner JM Assessment of Learning by the Morris Water Task and Fear Conditioning in Inbred Mouse Strains and F₁ Hybrids: Implications of Genetic Background for Single Gene Mutations and Quantitative Trait Loci Analyses. *Neuroscience* 1997; 80(4):1087-1099
25. Gerlai R, Clayton NS. Analysing hippocampal function in transgenic mice: an ethological perspective. *TINS* 1999; 22(2):47-51
26. Research Randomizer Erişim: <http://www.randomizer.org/form.htm>
27. Jeljeli M, Strazielle C, Caston J, Lalonde R Effects of electrolytic lesions of the lateral pallidum on motor coordination, spatial learning, and regional brain variations of cytochrome oxidase activity in rats. *Behavioural Brain Research* 1999 102 :61-71
28. Jeljeli M, Strazielle C, Caston J, Lalonde R Effects of ventrolateral-ventromedial thalamic lesions on motor coordination and spatial orientation in rats. *Neuroscience Research* 2003 47 :309-316
29. Jeljeli M, Strazielle C, Caston J, Lalonde R Effects of centrolateral or medial thalamic lesions on motor coordination and spatial orientation in rats. *Neuroscience Research* 2000 38 :155-164
30. Rondi-Reig L, Delhaye-Bouchaud N, Mariani J, Caston J Role of the inferior olivary complex in motor skills and motor learning in the adult rat. *Neuroscience* 1997 77(4) :955-963

31. Gasbarri A, Pompili A, Pacitti C, Cicirata F Comparative effects of lesions to the ponto-cerebellar and olivo-cerebellar pathways on motor and spatial learning in the rat. *Neuroscience* 2003 116 :1131-1140
32. Hogg S, Moser PC, Sanger DJ Mild traumatic lesion of the right parietal cortex of the rat: Selective behavioural deficits in the absence of neurological impairment. *Behavioural Brain Research* 1998 93 :143-155
33. Avgustinovich DF, Lipina TV, Bondar NP, Alekseyenko OV, Kudryavtseva NN Features of the Genetically Defined Anxiety in Mice. *Behavior Genetics* 2000 30 (2) :101-109
34. Erişim: http://www.coulbourn.com/CI%20Manuals/Anxiety_Measurement.pdf
35. Ohl F Testing for anxiety. *Clinical Neuroscience Research* 2003 3 :233-238
36. Prut L, Belzung C The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review *European Journal of Pharmacology* 2003 463 :3- 33
37. Dandiya PC, Kulkarni SK A Study of the Open Field Behaviour as a Single Parameter. *Ind. J. Pharmac.* 1975 7(4) :1-4
38. Bronikowski AM, Carter PA, Swallow JG, Girard IA, Rhodes JS, Garland T Open-Field Behavior of House Mice Selectively Bred for High Voluntary Wheel-Running. *Behavior Genetics* 2001 3(3) :309-316
39. Campbell BM, Merchant KM Serotonin 2C receptors within the basolateral amygdala induce acute fear-like responses in an open-field environment *Brain Research* 993 :1- 9
40. Daenen EWPM, Wolterink G, Gerrits MAFM, Van Ree JM Amygdala or ventral hippocampal lesions at two early stages of life differentially affect open field behaviour later in life; an animal model of neurodevelopmental psychopathological disorders *Behavioural Brain Research* 131 :67-78
41. Carola V, D'Olimpio F, Brunamonti E, Bevilacqua A, Renzi P, Mangia F Anxiety-related behaviour in C57BL/6 ↔ BALB/c chimeric mice. *Behavioural Brain Research* 2004 150 :25-32
42. Crusio WE, Bär IM, Schwegler H, Buselmaier W A multivariate morphometric analysis of hippocampal anatomical variation in C57BL/6 BALB/c chimeric mice. *Brain Research* 1990 535(2) :343-346
43. Erişim: <http://www.informatics.jax.org/external/festing/mouse/docs/BALB.shtml>
44. Eilam D Open-field behavior withstands drastic changes in arena size. *Behavioural Brain Research* 2003 142 :53-62
45. Choleris E, Thomas AW, Kavaliers M, Prato FS A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 2001 25 :235-260
46. Carola V, D'Olimpio F, Brunamonti E, Mangia F, Renzi P Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behavioural Brain Research* 2002 134 :49-57
47. Belzung C, Griebel G Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice: a review. *Behavioural Brain Research* 2001 125 :141-149
48. Erişim: <http://www.stfx.ca/academic/mathcs/apics2001/Papers/jgiddings.pdf>
49. CLEMENT Y, CHAPOUTHIER G Biological Bases of Anxiety. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 1998 22(5) :623-633

50. Menard J, Treit D Effects of centrally administered anxiolytic compounds in animal models of anxiety. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 1999 23 :591–613
51. Saldívar-González JA, Posadas-Andrews A, Rodríguez R, Gómez C, Hernández-Manjarrez ME, Ortiz-León S, Martínez-Pineda A, Gómez-Laguna D, Salgado V, Manjarrez J, Alvarado R Effect of electrical stimulation of the baso-lateral amygdala nucleus on defensive burying shock probe test and elevated plus maze in rats. *Life Sciences* 72 :819–829
52. Kagamiishi Y, Yamamoto T, Watanabe S Hippocampal serotonergic system is involved in anxiety-like behavior induced by corticotropin-releasing factor. *Brain Research* 991 :212–221
53. Millera CC, Holmes PV, Edwards GL Area postrema lesions elevate NPY levels and decrease anxiety-related behavior in rats. *Physiology & Behavior* 2002 77 :135–140
54. Bergink V, van Megen HGJM, Westenberg HGM Glutamate and anxiety. *European Neuropsychopharmacology* 2004 in press
55. Holmes A, Iles JP, Mayell SJ, Rodgers RJ Research report Prior test experience compromises the anxiolytic efficacy of chlordiazepoxide in the mouse light/dark exploration test. *Behavioural Brain Research* 2001 122 :159–167
56. Bourin M, Hascoët M The mouse light/dark box test. *European Journal of Pharmacology* 2003 463 :55–65
57. Hascoët M, Bourin M A New Approach to the Light/Dark Test Procedure in Mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1998 60(3) :645–653
58. Hode Y, Ratomponirina C, Gobaille S, Maitre M, Kopp C, Misslin R Hypoexpression of Benzodiazepine Receptors in the Amygdala of Neophobic Balb/c Mice Compared to C57BL/6 Mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2000 65(1) :35–38
59. Malmberg-Aiello P, Ipponia A, Bartolinia A, Schunackb W Mouse light/dark box test reveals anxiogenic-like effects by activation of histamine H1 receptors. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 2002 71 :321–326
60. Yoshida M, Goto K, Watanabe S Task-dependent strain difference of spatial learning in C57BL/6N and BALB/c mice. *Physiology & Behavior* 2001 73(1-2) :37-42
61. Owen EH, Logue SF, Rasmussen DL, Wehner JM Assessment of learning by the Morris water task and fear conditioning in inbred mouse strains and F₁ hybrids: implications of genetic background for single gene mutations and quantitative trait loci analyses. *Neuroscience* 1997 80(4) :1087–1099
62. Chapillon P, Debouzie A BALB/c mice are not so bad in the Morris water maze. *Behavioural Brain Research* 2000 117:115–118
63. Contet C, Nicholas J, Rawlins P, Bannerman DM Faster is not surer—a comparison of C57BL/6J and 129S2/Sv mouse strains in the watermaze. *Behavioural Brain Research* 2001 125 :261–267
64. Wolff M, Savova M, Malleret G, Segu L, Buhot MC Differential learning abilities of 129T2/Sv and C57BL/6J mice as assessed in three water maze protocols. *Behavioural Brain Research* 2002 136 :463–474
65. Enthoven L, Dalm S, de Kloet ER, Oitzl MS Swim posture of mice does not affect performance in the water maze. *Brain Research* 2004 1003 :36–41

66. Olsson IAS, Nevisonb CM, Patterson-Kanec EG, Sherwind CM, Van de Weerde HA, Wu^rbel H Understanding behaviour: the relevance of ethological approaches in laboratory animal science. *Applied Animal Behaviour Science* 2003 81 :245–264
67. Santin LJ, Rubio S, Begega A, Arias JL Effects of mammillary body lesions on spatial reference and working memory tasks. *Behavioural Brain Research* 1999 102 :137–150
68. Naghdi N, Oryan S, Etemadi R The study of spatial memory in adult male rats with injection of testosterone enanthate and flutamide into the basolateral nucleus of the amygdala in Morris water maze. *Brain Research* 2003 972 :1–8
69. D'Hooge R, De Deyn Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Research Reviews* 2001 36 :60–90
70. Gold PE Acetylcholine modulation of neural systems involved in learning and memory. *Neurobiology of Learning and Memory* 2003 80 :194–210
71. Ikonen S, Schmidt BH, Riekkinen Jr. P Characterization of learning and memory behaviors and the effects of metrifonate in the C57BL strain of mice. *European Journal of Pharmacology* 1999 372 :117–126
72. Squire LR, Kandel ER *Memory From Mind to Molecules* 1998; 118-127
73. Poucet B, Lenck-Santini PP, Paz-Villagran V, Save E Place cells, neocortex and spatial navigation: a short review. *Journal of Physiology - Paris* 2003 97 :537–546
74. Zilles K, Wu J, Cruiso WE, Schwegler H Water maze and radial maze learning and the density of binding sites of glutamate, GABA and serotonin receptors in the hippocampus of inbred mouse strains. *Hippocampus* 2000 10 :213-225
75. Caldji C, Francis D, Sharma S, Plotsky PM, Meaney MJ The Effects of Early Rearing Environment on the Development of GABA_A and Central Benzodiazepine Receptor Levels and Novelty-Induced Fearfulness in the Rat. *Europsychopharmacology* 2000 22(3) :219-229
76. Calatayud F, Belzung C Emotional reactivity in mice, a case of nongenetic heredity? *Physiology & Behavior* 2001 74 :355–362
77. Bannerman DM, Grubb M, Deacon RMJ, Yee BK, Feldon J, Rawlins JNP Ventral hippocampal lesions affect anxiety but not spatial learning. *Behavioural Brain Research* 2003 13 :197-213
78. Fendt m, FanselowBMS The neuroanatomical and neurochemical basis of conditioned fear. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 1999 23 :743–760
79. Erişim: <http://shigen.lab.nig.ac.jp/mouse/jmsr/>
80. Erişim: <http://jaxmice.jax.org/info/index.html>
81. Voikar V, Koks S, Vasar E, Rauvala H Strain and gender differences in the behavior of mouse lines commonly used in transgenic studies. *Physiology & Behavior* 2001 72 :271- 281
82. Rogers DC, Jones DNC, Nelson PR, Jones CM, Quilter CA, Robinson TL, Hagan JJ Use of SHIRPA and discriminant analysis to characterise marked differences in the behavioural phenotype of six inbred mouse strains. *Behavioural Brain Research* 1999 105 :207–217
83. Kim S, Lee S, Ryu S, Suk J, Park C Comparative analysis of the anxiety-related behaviors in four inbred mice. *Behavioural Processes* 2002 60 :181-190

84. Yilmazer-Hanke DM, Roskoden T, Zilles K, Schwegler H Anxiety-related behavior and densities of glutamate, GABA_A, acetylcholine and serotonin receptors in the amygdala of seven inbred mouse strains. *Behavioural Brain Research* 2003 145 :145-159
85. Crusio WE Genetic dissection of mouse exploratory behaviour. *Behavioural Brain Research* 2001 125 :127-132
86. Flint J Genetic effects on an animal model of anxiety. *FEBS Letters* 2002 529 :131-134
87. Ferraro TN, Golden GT, Synder R, Laibinis M, Smith GG, Buono RJ, Berrettini WH Genetic influences on electrical seizure threshold. *Brain Research* 1998 813 :207-210
88. Wilson SG, Chesler EJ, Hain H, Rankin AJ, Schwarz JZ, Call SB, Murray MR, West EE, Teuscher C, RodrigueZas SR, Belknap JK, Mogil JS Identification of quantitative trait loci for chemical/inflammatory nociception in mice. *Pain* 2002 96 :385-391
89. Drake TA, Hannani K, Kabo JM, Villa V, Krass K, Lulis AJ Genetic loci influencing natural variation in femoral bone morphometry in mice. *Journal of Orthopaedic Research* 2001 19 :511-517
90. Suto J, Matsuura S, Yamanaka H, Sekikawa K Quantitative trait loci that regulate plasma lipid concentration in hereditary obese KK and KK-A^y mice. *Biochimica et Biophysica Acta* 1999 1453 :385-395
91. Turri MG, Data SR, DeFries J, Henderson ND, Flint J QTL analysis identifies multiple behavioral dimensions in ethological tests of anxiety in laboratory mice. *Current Biology* 2001 11 :725-734
92. Flint J Animal models of anxiety and their molecular dissection. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 2003 14 :37-42
93. Guillot PV, Roubertoux PL, Crusio WE Hippocampal mossy fiber distributions and intermale aggression in seven inbred mouse strains. *Brain Research* 1994 660(1) :167-169
94. Mineur YS, Crusio WE Behavioral and neuroanatomical characterization of FVB/N inbred mice. *Brain Research Bulletin* 2002 57(1) :41-47

ÖZGEÇMİŞ

16.01.1976 tarihinde Ankara'da doğdu. İlk öğrenimini İsmet İnönü İlkokulu'nda, orta öğrenimini Özel Anakent Koleji'nde ve lise eğitimini Özel Çukurova Bilfen Lisesi'nde tamamladıktan sonra Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü 1997 yılında bitirdi. Aynı yıl Ç.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. 2000 yılında yüksek lisans eğitimini tamamlayıp aynı bölümde doktora eğitimine başladı. Halen aynı bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.