

T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**ÖĞRENME-BELLEK MEKANİZMASINDAKİ POSTSİNAPTİK  
MODİFİKASYONLARA KABLOSUZ AĞLARIN ETKİSİ ve  
GALLİK ASİDİN ROLÜ**

**Fatma Nihan CANKARA**

**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Yrd. Doç. Dr. Halil AŞCI**

**Bu Tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Koordinasyon Birimi tarafından 4045-D2-14 proje numarası ile desteklenmiştir**

**Tez. No: 163**

**2017-İSPARTA**

**KABUL ve ONAY SAYFASI**

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Doktora Programı** Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: ../07/2017

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Halil AŞCI

Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji A.B.D.

Üye : Prof. Dr. Kevser EROL

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji A.B.D.

Üye : Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji A.B.D.

Üye : Doç. Dr. Duygu KUMBUL DOĞUÇ

Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.B.D.

Üye : Doç. Dr. Nilgün GÜRBÜZ

Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.B.D.

ONAY: Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Mustafa KAYAN

Enstitü Müdürü

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

### BEYANI

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

“Öğrenme-bellek mekanizmasındaki postsinaptik modifikasyonlara kablosuz ağların etkisi ve gallik asidin rolü” adlı Doktora tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Fatma Nihan CANKARA

İmza

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Halil AŞCI

İmza

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca emeğini, bilgisini, tecrübesini ve desteğini benden esirgemeyen danışman hocam Sn. Yrd. Doç. Dr. Halil AŞCI'ya,

Çalışmamın elektromanyetik alan uygulamasını doğru bir şekilde gerçekleştirmemi sağlayan ve hafta sonları bile çalışmamı titizlikle takip eden değerli hocam Sn. Prof. Dr. Selçuk ÇÖMLEKÇİ'ye,

Tez çalışmam süresince, deneysel çalışmalarımın çok büyük bir kısmına ve tüm sorularıma vakit ayırma mütevazılığını gösteren hocam Sn. Doç. Dr. Duygu Kumbul DOĞUÇ'a,

Tez çalışmam süresince deneysel aşamalarda yardımlarını esirgemeyen, emek harcayan ve bilgilerini paylaşan Biyokimya Anabilim Dalı asistanlarına,

Bir ay boyunca deneysel çalışmamı zevkle yürütmemi sağlayan DEHATAM personeline,

Çalışmama maddi destek sağlayan SDÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne

Tezimi değerlendiren ve bilimsel katkılarını esirgemeyen değerli jüri üyesi hocalarım Sn. Prof. Dr. Kevser EROL'a, Sn. Prof. Dr. Esra Nurulloğlu ATALIK'a, Sn. Doç. Dr. Duygu Kumbul DOĞUÇ'a, Sn. Doç. Dr. Nilgün GÜRBÜZ'e ve Sn. Yrd. Doç. Dr. Mehtap SAVRAN'a teşekkür ederim.

Tüm eğitim hayatım boyunca maddi manevi desteklerini her an arkamda hissettiğim, en zor zamanlarımda daha güçlü hissetmemi sağlayan aileme minnettarım.

**Dr. Fatma Nihan CANKARA**

**Isparta, 2017**

## İÇİNDEKİLER

<b>KABUL ve ONAY SAYFASI</b> .....	<b>ii</b>
<b>BEYANI</b> .....	<b>iii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iv</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>v</b>
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>xii</b>
<b>RESİMLER DİZİNİ</b> .....	<b>xiii</b>
<b>GRAFİKLER DİZİNİ</b> .....	<b>xiv</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Öğrenme ve Bellek Kavramlarına Giriş.....	3
2.2. Öğrenme Tipleri .....	3
2.2.1. Assosiatif Olmayan Öğrenme .....	3
2.2.2. Assosiatif Öğrenme.....	4
2.3. Bellek Tipleri .....	4
2.3.1. Eksplisit Bellek .....	5
2.3.2. İmplisit Bellek.....	5
2.3.3. Çalışan Bellek .....	5
2.3.4. Kısa Zaman Belleği.....	6
2.3.5. Uzun Zaman Belleği .....	6
2.3.5.1. Uzun Zaman Belleğinin Fizyolojik Temeli.....	6
2.4. Öğrenme ve Bellek ile İlişkili Moleküler Mekanizmalar .....	7
2.4.1. Öğrenme ve Bellek Fonksiyonlarında Uzun Süreli Potansiyasyon .....	7
2.4.2. Nöroplastisite .....	9
2.4.2.1. Yapısal Olarak Plastisite Nasıl Gerçekleşir?.....	9
2.4.3. N-metil-D-Aspartat (NMDA) Reseptörleri ve LTP İlişkisi.....	10
2.4.4. Öğrenme ve Bellek Fonksiyonlarında BDNF'nin Rolü.....	12
2.4.5. Öğrenme ve Bellek Fonksiyonlarında CREB'in Rolü.....	12
2.5. Öğrenme ve Bellek Mekanizması Özet.....	14
2.6. Hipokampus .....	17
2.6.1. Hipokampus Anatomisi.....	17

2.6.2. Hipokampus'un Fonksiyonu .....	18
2.6.3. Öğrenme ve Hafıza İşlevlerinde Hipokampusun Rolü .....	19
2.7. Su Tankı Testi (Morris Water Maze) .....	20
2.8. Elektromanyetik Alan ve Kablosuz Ağ Sistemleri .....	23
2.8.1. EMA'nın Biyolojik Sistemlere Etkileri .....	24
2.8.2. Elektromanyetik Alanın Öğrenme ve Bellek Fonksiyonları Üzerine Etkileri.....	27
2.9. Gallik Asid (GA).....	29
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>33</b>
3.1. Kullanılan Cihazlar .....	33
3.1.1. EMA Uygulamasında Kullanılan Cihazlar .....	33
3.1.2. Homojenizasyon ve Western Blot Yöntemi İçin Kullanılan Cihazlar .....	33
3.2. Kullanılan Kimyasallar .....	33
3.2.1. Homojenizasyon Tamponu İçin Kullanılan Kimyasallar.....	33
3.2.2. Western Blot Yöntemi İçin Kullanılan Kimyasallar .....	33
3.2.3. Protein Tayini İçin Kullanılan Kimyasallar .....	34
3.3. Kullanılan Çözeltiler .....	34
3.3.1. Homojenizasyon Tamponu (120 ml için) .....	34
3.3.2. SDS-PAGE Yöntemi İçin Kullanılan Çözeltiler.....	35
3.3.3. Blotlama İşlemi İçin Kullanılan Çözeltiler .....	36
3.3.4. Spesifik Proteinin Saptanması İçin Kullanılan Çözeltiler.....	37
3.4. Deneylerin Yürütüldüğü Laboratuvarlar ve Proje Desteği .....	37
3.5. Deney Hayvanlarının Temini ve Seçimi .....	37
3.6. Deney Hayvanlarının Bulunduğu Farklı Ortam Koşulları .....	38
3.6.1. EMA Uygulanan Grupların Bulunduğu Ortam Koşulları.....	38
3.6.2. EMA Uygulanmayan Grupların Bulunduğu Ortam Koşulları.....	38
3.6.3. EMA Uygulaması Sonrası Tüm Gruplara Ait Barındırma Koşulları .....	38
3.7. GA'nın Hazırlanışı ve Veriliş Yolu .....	39
3.8. Deney Gruplarının Oluşturulması .....	39
3.9. Elektromanyetik Alan (EMA) Uygulaması .....	40
3.9.1. EMA Maruziyet Tasarımı .....	40
3.9.2. EMA Deney Düzenegi .....	40
3.9.3. EMA Uygulamasında Yapılan Teknik Hesaplamalar.....	41
3.10. Su Tankı Testi (Morris Water Maze) .....	43

3.10.1. Öğrenme Egzersizleri.....	44
3.10.1.1. Birinci ve 5. Günler Arası Öğrenme Egzersizleri .....	45
3.10.2. Probe Trial Test.....	46
3.10.3. Görünür Platform Testi .....	46
3.11. Dekapitasyon İşlemi.....	47
3.12. Hipokampus Dokularının Alınması .....	47
3.12.1. Hipokampus Dokularının Homojenizasyonu.....	47
3.13. Western Blot Yöntemi.....	48
3.13.1. Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektrofrez (SDS-PAGE) ..	48
3.13.1.1. Yöntemin Genel Prensibi .....	48
3.13.1.2. Jeller Hazırlanırken Kullanılan Reaktif Miktarları .....	49
3.13.1.3. Jelin Dökülmesi İşlemi.....	49
3.13.1.4. Numunelerin Hazırlanması ve Protein Tayini.....	50
3.13.1.5. Örneklerin Kuyucuklara Yüklenmesi ve Elektrofrez Yöntemi ile Yürütülmesi.....	51
3.14. Ayırışma Jelinin Membrana Aktarılması (Blotlama İşlemi).....	53
3.14.1. Blotlama İşleminin Genel Prensibi .....	53
3.14.2. Blotlama İşlemi .....	53
3.15. Spesifik Proteinin Saptanması.....	55
3.16. İstatistiksel Analiz .....	56
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>57</b>
4.1. Morris Su Tankı Testi Verileri.....	57
4.1.1. Öğrenme Egzersizlerine Ait Parametreler (1.-5. gün) .....	57
4.1.1.1. Hedef Platformu Bulma Süresi .....	57
4.1.1.2. Hedef Kadranda Geçirilen Süre .....	59
4.1.1.3. Yüzme Hızı .....	60
4.1.1.4. Katedilen Mesafe .....	61
4.1.1.5. Dış Kadranda Geçirilen Süre .....	62
4.1.1.6. Dış Kadranda Katedilen Mesafe .....	63
4.1.1.7. Dış Kadranda Yüzme Hızı .....	64
4.1.2. Probe Trial Teste Ait Parametreler (6. Gün).....	65
4.1.2.1. Hedef Kadranda Geçirilen Sürenin Gruplar Arası Karşılaştırması... 65	
4.1.2.2. Hedef Kadranda Katedilen Mesafenin Gruplar Arası Karşılaştırması.....	66

4.1.2.3. Yüzme Hızının Gruplar Arası Karşılaştırması .....	67
4.1.2.4. Katedilen Mesafenin Gruplar Arası Karşılaştırması .....	68
4.1.3. Görünür Platform Testine Ait Parametreler (6. Gün) .....	68
4.2. Western Blot Bulguları .....	70
4.2.1. NR2B Reseptör Ekspresyonu.....	70
4.2.2. CREB Ekspresyonu.....	71
4.2.3. BDNF Ekspresyonu .....	72
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>74</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>84</b>
<b>ÖZET.....</b>	<b>85</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>86</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>87</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>100</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>108</b>



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<b>EMA</b>	: Elektromanyetik alan
<b>GA</b>	: Gallik Asit
<b>GHz</b>	: Giga hertz
<b>CA</b>	: Cornu Ammonis
<b>EPSP</b>	: Eksitator postsinaptik potansiyel
<b>LTP</b>	: Uzun süreli potansiyasyon, Long-term potentiation
<b>NGF</b>	: Sinir büyüme faktörü, Nerve growth factor
<b>BDNF</b>	: Beyin türevli nörotrofik faktör, Brain-derived neurotrophic factor
<b>NT-3</b>	: Nörotrofin-3
<b>NT-4</b>	: Nörotrofin-4
<b>NMDA</b>	: N-Metil D-Aspartik Asit
<b>AMPA</b>	: $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propionik asit
<b>mGluR</b>	: Metabotropik glutamat reseptörleri
<b>LTD</b>	: Uzun süreli depresyon, Long Term Depression
<b>Mg<sup>+2</sup></b>	: Magnezyum iyonu
<b>Ca<sup>+2</sup></b>	: Kalsiyum iyonu
<b>TrkB</b>	: Tirozin reseptör kinaz B
<b>CREB</b>	: Siklik AMP yanıt elemanı bağlayıcı protein, cyclic AMP response element binding protein
<b>ELF</b>	: Aşırı Derecede Düşük Frekans, Extremely Low Frequency
<b>RF</b>	: Radyofrekansı
<b>ICNIRP</b>	: İyonize Olmayan Radyasyondan Korunma Komisyonu, The International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection
<b>ANSI</b>	: Amerikan Ulusal Standartlar Enstitüsü, American National Standards Institute
<b>IEEE</b>	: Amerikan Elektrik Elektronik Mühendisliği Enstitüsü, The Institute of Electrical and Electronics Engineers
<b>FCC</b>	: Federal İletişim Komisyonu, Federal Communications Commission
<b>W</b>	: Watt

<b>SAR</b>	: Özgül Soğurulma Oranı, Specific Absorbtion Rate
<b>PKA</b>	: Protein kinaz A
<b>PKC</b>	: Protein kinaz C
<b>cAMP</b>	: Siklik AMP
<b>cm</b>	: Santimetre
<b>°C</b>	: Santigrat
<b>DSÖ</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>Kg</b>	: Kilogram
<b>s</b>	: Saniye
<b>Hz</b>	: Hertz
<b>MHz</b>	: Megahertz
<b>Ca-ATPaz</b>	: Kalsiyum adenzin trifosfataz
<b>Na-K-ATPaz</b>	: Sodyum-potasyum adenzin trifosfataz
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>MDA</b>	: Malondealdehit
<b>ROS</b>	: Reaktif oksijen türleri, Reactive oxygen species
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>Tris-HCl</b>	: Tris hidroklorür
<b>NaCl</b>	: Sodyum klorür
<b>EDTA</b>	: Etilendiamin tetraasetik asit
<b>EGTA</b>	: Etilen glikol tetraasetik asit
<b>SDS</b>	: Sodyum dodesil sülfat
<b>APS</b>	: Amonyum persülfat
<b>TEMED</b>	: Tetrametiletildiamin
<b>BSA</b>	: Sığır serum albümin, Bovine serum albumin
<b>TTS-t</b>	: Tris-Tween-Buffer-Saline

## TABLOLAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Öğrenme ve belleğin değerlendirilmesinde kullanılan deneysel modeller. ..	20
<b>Tablo 2.</b> %5'lik ayırışma jeli hazırlanırken kullanılan çözelti miktarları.....	35
<b>Tablo 3.</b> %7,5'lik ayırışma jeli hazırlanırken kullanılan çözelti miktarları. ....	36
<b>Tablo 4.</b> %5'lik yükleme jeli hazırlanırken kullanılan çözelti miktarları. ....	36
<b>Tablo 5.</b> 2X örnek tamponu hazırlanırken kullanılan çözelti miktarları. ....	36
<b>Tablo 6.</b> Deney gruplarının oluşturulması ve uygulama protokolü.....	39
<b>Tablo 7.</b> Öğrenme egzersizlerinin değerlendirilmesinde kullanılan kadranların günlere bağlı uygulama protokolü. ....	46
<b>Tablo 8.</b> Su tankı testinde değerlendirilen parametreler.....	47
<b>Tablo 9.</b> Sandviç aparatında oluşturulan transfer katmanları.....	55
<b>Tablo 10.</b> Hedef platformu bulma süresine ait veriler.....	57
<b>Tablo 11.</b> Hedef kadranda geçirilen süreye ait veriler .....	59
<b>Tablo 12.</b> Hedef platformu bulana kadar yüzme hızına ait veriler.....	60
<b>Tablo 13.</b> Hedef platformu bulana kadar katedilen mesafeye ait veriler .....	61
<b>Tablo 14.</b> Dış kadranda geçirilen sürenin gruplar arası değerlendirilmesi.....	62
<b>Tablo 15.</b> Dış kadranda katedilen mesafeye ait veriler .....	63
<b>Tablo 16.</b> Dış kadranda yüzme hızına ait veriler.....	64
<b>Tablo 17.</b> Probe trial testte değerlendirilen parametrelere ait veriler .....	65
<b>Tablo 18.</b> Görünür platform testine ait veriler.....	68
<b>Tablo 19.</b> Saptanan spesifik proteinlerin optik dansite yüzdeleri .....	70

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.</b> Hipokampustaki Schaffer kollaterallerinde LTP oluşumu .....	11
<b>Şekil 2.</b> Glutamaterjik sistem aracılı öğrenme ve bellek mekanizması .....	15
<b>Şekil 3.</b> LTP oluşumunda yeni sinaptik bağlantıların oluşumu ve protein sentezi ...	16
<b>Şekil 4.</b> Hipokampusun beyindeki yerleşimi .....	17
<b>Şekil 5.</b> Hipokampusun anatomik bölümleri .....	18
<b>Şekil 6.</b> Su tankı testi .....	23
<b>Şekil 7.</b> GA'nın kimyasal yapısı .....	29
<b>Şekil 8.</b> Düzenegin fiziksel çizimi (ölçeksiz). .....	42
<b>Şekil 9.</b> Su tankının kadranlara ayrılması .....	45
<b>Şekil 10.</b> Örneklerin yüklenmesi ve elektroforez işlemi.....	53

**RESİMLER DİZİNİ**

<b>Resim 1.</b> Carousel setup düzeneğine göre 12’li maruziyet tasarımı.....	40
<b>Resim 2.</b> 217 Hz darbeli ve ayarlı çıkış verebilen teset vericisi RF kaynağına bağlı monopol antenler ve EMA yalıtımlı oda.....	41
<b>Resim 3.</b> Jel dökme aparatı.....	50
<b>Resim 4.</b> Elektroforez sistemi ve güç kaynağı.....	52
<b>Resim 5.</b> Blotlama işlemi için kullanılan sandviç aparatları .....	54
<b>Resim 6.</b> Sandviç aparatının transfer tankına yerleştirilmesi .....	54
<b>Resim 7.</b> NR2B ve $\beta$ -aktin membran görüntüsü.....	71
<b>Resim 8.</b> CREB ve $\beta$ -aktin membran görüntüsü .....	72
<b>Resim 9.</b> BDNF ve $\beta$ -aktin membran görüntüsü .....	73

## GRAFİKLER DİZİNİ

<b>Grafik 1.</b> Protein standart grafiği .....	51
<b>Grafik 2.</b> Hedef platformu bulma sürelerinin gruplar arası karşılaştırması .....	58
<b>Grafik 3.</b> Hedef platformu bulma süresinin grup içinde günler arası değerlendirilmesi .....	59
<b>Grafik 4.</b> Hedef kadranda geçirilen sürenin gruplar arası karşılaştırması.....	60
<b>Grafik 5.</b> Yüzme hızının gruplar arası karşılaştırması .....	61
<b>Grafik 6.</b> Katedilen mesafenin gruplar arası karşılaştırması.....	62
<b>Grafik 7.</b> Dış kadranda geçirilen sürenin gruplar arası karşılaştırması.....	63
<b>Grafik 8.</b> Dış kadranda katedilen mesafenin gruplar arası karşılaştırması .....	64
<b>Grafik 9.</b> Dış kadranda yüzme hızının gruplar arası karşılaştırması.....	65
<b>Grafik 10.</b> Hedef kadranda geçirilen sürenin gruplar arası karşılaştırması.....	66
<b>Grafik 11.</b> Hedef kadranda katedilen mesafenin gruplar arası karşılaştırması .....	67
<b>Grafik 12.</b> Probe trial testte yüzme hızının gruplar arası karşılaştırması .....	67
<b>Grafik 13.</b> Probe testte katedilen mesafenin gruplar arası karşılaştırması .....	68
<b>Grafik 14.</b> Görünür platform testinde hedef platformu bulma sürelerinin gruplar arası karşılaştırması .....	69
<b>Grafik 15.</b> Görünür platform testinde katedilen mesafenin gruplar arası karşılaştırması .....	69
<b>Grafik 16.</b> Görünür platform testinde yüzme hızının gruplar arası karşılaştırması ..	70
<b>Grafik 17.</b> Hipokampus dokusunda NR2B reseptör ekspresyonunun gruplar arası karşılaştırması. ....	71
<b>Grafik 18.</b> Hipokampus dokusunda CREB ekspresyonunun gruplar arası karşılaştırması. ....	72
<b>Grafik 19.</b> Hipokampus dokusunda BDNF ekspresyonunun gruplar arası karşılaştırması. ....	73

## 1. GİRİŞ

Günümüzde çok düşük ve yüksek frekanslı elektromanyetik alan (EMA)'lara maruziyet modern yaşamın ve teknolojiadaki gelişmelerin bir sonucu olarak karşımıza gelmektedir. Dünyanın farklı noktalarındaki insanların birbirleriyle haberleşebilmelerine olanak sağlayan ve kablolu sistemlere olan bağımlılığını ortadan kaldıran kablosuz ağ sistemlerinin kullanımı iş yerlerinde, evlerde, okullarda, kafelerde, alışveriş merkezlerinde ve hatta toplu taşıma araçlarında giderek yaygınlaşmıştır. Bu sistemlerin günlük yaşantımıza girmesiyle birlikte yaydıkları EMA'nın insan sağlığı üzerine etkileri toplumda ve bilim dünyasında merak konusu olmuştur. Bu konuya dünyanın bakış açısı, bilimsel verilerin net olmamasından dolayı çok farklıdır. Ancak kablosuz ağların insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri bilim dünyasında giderek kabul görmektedir ve yapılan çalışmalar bu kanıyı destekler niteliktedir. Bilim insanları EMA'lara maruziyet neticesinde biyolojik sistemlerde meydana gelen etkiler üzerine uzun yıllardır çalışmalarını sürdürmektedirler (1, 2). Yapılan çalışmalar sonucunda ise EMA'nın özellikle merkezi sinir sistemi üzerinde baş ağrısı, uyku bozuklukları, nöronal hasarlar, kan beyin bariyerinin geçirgenliğinde artış, beyinde ısı artışı, hafıza kaybı, öğrenme güçlüğü, nörotransmitter salınımında bozulmalara ve bu etkilere bağlı olarak kognitif ve davranışsal değişikliklere neden olduğu bildirilmiştir (3-7).

Kablosuz ağ sistemlerinin yaydığı EMA'dan en fazla etkilenen gruplardan birinin gelişim çağındaki çocuklar olduğu bilinen bir gerçektir. Bu ağların ilk ve orta dereceli okullarda kullanılması, gelişme çağındaki çocukların günün büyük bölümünü geçirdikleri okullarda tehlike arz etmektedir (8, 9). Kablosuz ağ erişiminin "Fatih Projesi" kapsamında ilköğretim okullarına kadar girmesi bizi bu çalışmaya yönelten nedenler arasındadır. İletişim sağlamak ve yaşamı kolaylaştırmak amacıyla kullanılan bu cihazlardan uzak kalmak günümüz teknolojisini ve ihtiyaçlarını göz önünde bulundurduğumuzda gerçekten imkansızdır ancak en azından gelişme ve öğrenme çağındaki çocukları bu zararlı etkilerden korumak ve öğrenme-bellek gibi işlevler üzerinde oluşabilecek olumsuz etkileri en aza indirmek amacıyla kullanılabilir etken maddelerin araştırılması gerekmektedir.

Öğrenme ve bellek bozukluklarını önlemeye yönelik yapılan çalışmalarda, piyasada ilaç olarak satılan farmakolojik preparatlar kullanılmıştır (10, 11). Bu çalışmada kullanılan gallik asit (GA) polifenolik bileşikler grubuna ait olan ve günlük tükettiğimiz gıdaların içerisinde bulunan bir etken maddedir. Nöroprotektif, radyoprotektif ve antioksidan etkileri tek başına içermesi sebebiyle EMA'nın neden olabileceği öngörülen öğrenme-bellek bozuklukları üzerinde olumlu etkiler gösterebileceği düşünülmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda GA'nın oksidatif stres kaynaklı hafıza bozukluklarında etkili olduğu bildirilmiştir ancak glutamaterjik sistem aracılı öğrenme ve bellek mekanizması üzerinde nasıl bir etki gösterdiğine dair çalışmaya rastlanmamıştır (12-14). Ayrıca EMA'nın neden olabileceği öğrenme-bellek bozukluklarında etkisi incelenmemiştir. Sunulan bu tez çalışması ile hem 2,45 gigahertz (GHz) EMA'nın glutamaterjik sistem aracılı öğrenme-bellek işlevleri üzerine etkisi araştırılacak hem de GA'nın bu mekanizma üzerindeki etkisi aydınlatılacaktır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Öğrenme ve Bellek Kavramlarına Giriş

İnsanoğlunun doğuştan getirdiği içgüdüsel davranışlar yok denecek kadar azdır ve bu davranışlar çevreye uyum sağlamada yetersizdir. Bu nedenle insanlar hayatları boyunca birtakım bilgileri öğrenmek mecburiyetinde kalmaktadırlar. Hatta hayvanlar bile içgüdüsel olarak sahip oldukları özellikleri geliştirmek için sınırlı da olsa yeni davranışlar öğrenebilmektedir. İnsanların konuşması, çeşitli tutum ve alışkanlıkları kazanması, kısaca hayatın her aşaması öğrenme ile ilgilidir (15).

Fizyolojik açıdan bakıldığında öğrenme ve bellek, sinir sisteminin yüksek seviyedeki ana fonksiyonları arasında yer alır. Bu iki olay birbirleriyle yakından ilişkilidir ve birlikte ele alınmaları gerekir (16). Öğrenme, deneyimlerin sonucunda kişinin davranışını değiştirdiği sinirsel bir mekanizmadır. Öğrenme sayesinde deneyimlere dayanarak davranışlar değiştirilebilir, dolayısıyla ihtiyaçları daha iyi karşılayabilecek uyum gerçekleştirilmiş olur (17). Bellek, öğrenilen bilgilerin merkezi sinir sisteminde depolanması ve gerektiğinde çağırılabilmesidir (16). Bireyin çevresinden gelen dış uyarılar, kimyasal, elektriksel ve yapısal değişiklikler ile nöronlarda yeni sinaptik bağlar geliştirilir. Öğrenme ile geliştirilen bu nöronlar arası bağlar, tekrarlar ve araştırmalar ile kuvvetlenir. Bellek, oluşan bu sinirsel aktivitenin sonucunda nöronlar arasında sinaptik ileti kapasitesinde meydana gelen değişikliklerden kaynaklanır (17).

### 2.2. Öğrenme Tipleri

#### 2.2.1. Assosiatif Olmayan Öğrenme

Bir bilgi ile birleşmeyen, bağımsız öğrenmedir. Canlı, tek bir uyarana ait bir bilgi öğrenir. Örneğin elini sığağa değdiren bir kişi sığağın zararlı olduğunu hemen öğrenir. İnsan ve hayvan ağzına aldığı toksik bir maddeyi hemen tükürür. Buna 'food aversion' (o yiyecekten tikslenme refleksi) denir. Food aversion, bütün canlılar için tek bir deneyim ile hayat boyu devam edecek bir reaksiyonun ortaya çıktığı yaşamsal

bir reflekstir. Şartsız refleks; assosiatif olmayan öğrenme modeline uyar. Uyaran ile refleks yanıtın direkt ilişkili olduğu refleks türüdür (18).

### 2.2.2. Assosiatif Öğrenme

Bir uyaran ile diğer uyaranlar arasında ilişki kurarak öğrenmedir. Elin sıcakla temas ederek yanmasından sonra, ateşi bir maşa ile tutmayı öğrenmek assosiatif bir öğrenmedir. Şartlı refleks, assosiatif öğrenmeye örnektir. Pavlov'un çalışmalarından örnek verirsek, her et verilmesinden önce bir zil çalınması halinde, köpeğin zil sesi duyduğunda salya sekresyonunun artması, bir şarta bağlı refleks geliştirdiğini gösterir. Normalde böyle bir öğrenme olmadan hiçbir canlıda zil sesine karşı salya sekresyonu ortaya çıkmaz. Burada et, şartsız uyaran; zil ise şartlı uyandır. Ancak uzun bir süre zil sesinden sonra beklenen et gelmezse, hayvandaki bu şartlanma yavaş yavaş ortadan kalkar. Şartlı refleks'in oluşumu da presinaptik fasilasyon mekanizması ile başlar. Burada, salya salgısını arttıracak olan postsinaptik nöronun uyarılabilmesi için etkisiz bir uyaran olan zil sesinin, etkili bir uyaran olan et ile eşleştirilmesi gerekmiştir (18).

Bir başka assosiatif öğrenme modeli olan operant şartlanma ise, bir deney hayvanına, bir aletin kullanılmasının ödül veya ceza faktörü eklenerek öğretilmesidir. Örneğin bir maymun veya sıçana, hoşuna giden veya korkutan bir duyusal uyaran verilerek bir manivelayı kullanması öğretilir (18).

### 2.3. Bellek Tipleri

Bellek, öğrenilen bilgilerin merkezi sinir sisteminde depolanması ve gerektiğinde çağırılabilmesidir. Fizyolojik açıdan bellek, eksplisit (açık) ve implisit (örtülü) olarak iki tipe ayrılır. Ancak hem eksplisit hem de implisit belleğin ikisi için de geçerli olmak üzere çalışan bellek, kısa zaman belleği ve uzun zaman belleği olarak 3 farklı şekilde de ele alınmaktadır (18).

### 2.3.1. Eksplisit Bellek

Eksplisit veya diğ er adıyla deklaratif bellek, bilinç ya da en azından uyanıklık ile birlikte dir. Hipokampus ve beynin medial temporal loblarının diğ er bölümlerinde korunmaya bağı ldır. Eksplisit bellek kolay zayıflayabilir. Alzheimer'da önce eksplisit bellek bozuklukları baş lar. Eksplisit bellek insanlar, yerler ve cisimler, kelimeler, kurallar ve dil ile ilgili ş uurlu olarak sözle ifade edilebilen durumlarla ilişkilidir (18). Medial temporal lob sisteminin önemli bir komponenti olan hipokampus eksplisit bellek oluş umunda hayati öneme sahiptir (16). Epizodik ve semantik olarak ikiye ayrılır (18).

**a) Epizodik bellek:** Hikayelerin, olayların, anıların anlatılmasıdır.

**b) Semantik bellek:** Somut bilgi, kelimeler, kurallar ve dil ile ilgilidir.

### 2.3.2. İmplit Bellek

Günlük hayatımızda öğ renilmiş beceri ve alış kanlıklarımıza, otomatik olarak yaptığımız (ş uur altı) davranış larımıza ait sözel olmayan bellek (implit) neokorteks ve striatum'da, korkularla iliş kilili olanlar amigdala'da, öğ renilmiş ince motor becerilerle iliş kilili olanlar serebellum'da ve bazı refleks yollarında yerleş ir. İmplit veya deklaratif olmayan bellek, uyanıklığı iç ermez ve korunmasında genellikle hipokampus'taki süreçler rol almaz (18). Bisiklet sürme gibi etkinlikler için baş langıçta gerekli olan eksplisit bellekler, eylem bir kez tam olarak öğ renilince implit belleğe geçer (19).

### 2.3.3. Çalış an Bellek

Öğ renilmekte olan bilginin veya gelen duysal uyarının kullanılmaya devam edildiği 'o an'ı ifade eder. Duyulara ait bilgiler geçici olarak prefrontal kortekste dolaştıktan ve anlık hafızayı oluşturduktan sonra, kalıcı olması gereken bilgiler iş lenmek üzere medial temporal loba, parahipokampal kortekse ve hipokampuse gider. Bu bölgelere ulaş an bilgiler hala zayıf ve kolay silinebilecek durumdadır (18).

### **2.3.4. Kısa Zaman Belleği**

Saniye (s)'ler ve saatler arasında değişen bir süreçte, bilginin akılda tutulması ile karakterizedir. Prefrontal korteks, hipokampus ve medial temporal kortekste bulunan parahipokampal girus ile bağlantılıdır. Bu bölgelere bilginin, ilgili nöronlarda deşarjını devam ettirmesi, presinaptik fasilitasyon ve post-tetanik potansiyasyon mekanizmaları ile sağlanır (18).

### **2.3.5. Uzun Zaman Belleği**

Bilgilerin aylar, yıllar, hatta ömür boyu hatırlanacak şekilde hafızaya kaydedilmesidir. Kısa zaman belleğini oluşturan bazı bilgiler pekişerek, kalıcı belleği oluşturur. Hipokampus'ta uzun zaman belleğine dönüştürülen bilgi, neokorteksin çeşitli bölgelerine yerleşir. Böylece o bilgiye ait çeşitli bileşenler; görme, işitme, koku, vs. ile ilgili kortikal alanlarda yerleşir. Bu bileşenler arasında kuvvetli nöronal bağlar oluşur. Bir bilginin uzun zaman belleğine yerleşebilmesi ve hiç unutulmaması için, öğrenme esnasında gelen uyarının ya çok şiddetli ve etkileyici olması ya tekrarlayıcı olması, ya da her iki güçlü etkinin birden oluşması gerekir (18).

#### **2.3.5.1. Uzun Zaman Belleğinin Fizyolojik Temeli**

Bir bilginin öğrenilmesi için bilgiyi oluşturan bileşenlerin nöronları arasındaki sinaptik bağlantıların kuvvetlenmesi gerekir. Bu, o bilgiye ait nöron grupları üzerindeki bütün nöronlar için geçerlidir. Sinaptik kuvvetlenme, postsinaptik hücreye bağlanan akson terminal sayısının artması demektir. Presinaptik aksonların eşzamanlı veya yüksek frekanslı uyarıları, eksitator postsinaptik potansiyel (EPSP)'lerin sumasyonu ile postsinaptik nöronun uyarı eşiğini düşürür ve uyarılmasını kolaylaştırır. Bu şekilde, bir bilgi ile ilişkili herhangi bir uyarın örneğinin anımsama kolaylıkla bu nöron grubunu aktiviteye sevk edebilir. Bilgiye ait nöron grubunu oluşturan nöronlardan bir kısmı bile uyarılsa, birbiri ile bağlantılar dolayısıyla diğer nöronlar arasında da aktivasyon başlar. Bu mekanizma ile hatırlama gerçekleşir (18).

Presinaptik aksonda dallanmalar, sinaptik düğümlerin artması, nörotransmitter artışı, postsinaptik hücrede reseptör sayısının artışı yani yeni sinaptik bağlantıların kurulması hem presinaptik, hem de postsinaptik hücrelerde yeni protein sentezini gerektirir. Bunun için hem presinaptik hem postsinaptik hücre nükleuslarında yeni gen ekspresyonları ile yeni transkripsiyon faktörleri sentezlenir. Bu transkripsiyon faktörlerinin etki ettiği gen ekspresyonu ile ise pre ve postsinaptik hücreleri büyütecek protein sentezleri oluşur. (18).

## **2.4. Öğrenme ve Bellek ile İlişkili Moleküler Mekanizmalar**

### **2.4.1. Öğrenme ve Bellek Fonksiyonlarında Uzun Süreli Potansiyasyon**

Hücresele seviyede öğrenme ve belleğin oluşumu esnasında neler olduğuna bakıldığında oldukça kompleks bir nöral yapı ve basit bir hücresele mekanizma görülür. “İki hücreli mekanizma”, öğrenme ve belleğin oluşumu sırasında sinaptik dirençteki değişikliklerin açıklanmasında yardımcı olur. Hebb 1949 yılında presinaptik ve postsinaptik nöronlar arasındaki hareketin onların aralarındaki bağlantıyı kuvvetlendirdiğini söylemiştir (20). Sinaptik bağlantılardaki güçlenmenin hangi mekanizma ile gerçekleştiğini anlamak üzerine yoğun çaba sarf edilmiştir ve uzun süreli potansiyasyon (long-term potentiation, LTP) adı verilen mekanizma, araştırılan tüm modellerin önüne geçerek önem kazanmıştır. LTP'nin tam tanımı ilk olarak 1973'te Bliss ve Lomo tarafından yapılmıştır (21). Tavşanlar üzerinde yaptıkları çalışmada perforant yolda yüksek frekanslı uyarının dentat girusun granül hücrelerindeki sinaptik transmisyonu artırdığını ve burada sinaptik etkinliğin arttığını göstermişlerdir. Bu çalışma ve 1970'lerde bundan sonra yapılan çalışmalar ile Hebb'in öne sürdüğü hipotezi desteklenmiş ve sinaptik plastisitenin bir formu olan LTP'nin, öğrenme ve belleğin oluşumu üzerinde benzer mekanizmalarla etkili olacağı kabul edilmiştir (22). Nöronlar arası sinaptik bağlantıların artışı (sinaptik güçlenme), her nörona bağlantı yapan presinaptik uç sayısı ve bunların postsinaptik nöronda oluşturduğu EPSP'lerin artması demektir. EPSP'lerin sumasyonu ile postsinaptik nöronun uyarılma eşiği düşer (eksitabilite artışı) ve eşik altı bir uyarı ile bile kolayca aksiyon potansiyeli oluşturabilir. Bu mekanizmanın ortaya çıkabilmesi için o bilgiye ait bütün nöronlarda; uyarıyı alacak dendrit, dendritik spin ve

reseptörlerin, uyarı taşıyan presinaptik akson terminallerinin, sinaptik nörotransmitter veziküllerinin sayıca artması gerekir. Bu artış, bu yapılara ait protein sentezi ile gerçekleşir. İşte bir bilginin kalıcı olarak öğrenilmesi, hipokampusta LTP aracılığı ile çeşitli protein sentezlerinin tetiklenmesi ile oluşur. LTP, belirli bir büyüklükteki presinaptik uyarıya verilen postsinaptik yanıtın miktarında uzun zaman alan (saatler veya günlerce) artıştır (23). Öğrenme ve özellikle belleğin oluşabilmesi için nöronlarda LTP oluşması gerekmektedir. LTP'nin oluşması nöroplastisite veya sinaptik plastisite ile ilişkili adaptif bir yanıtıdır (24). Bellek oluşumunun, nöronlar arasındaki bağlantıların güçlendirilmesine olanak veren sinaptik etkinlikteki değişikliklere bağlı olduğu kabul edilmektedir. Gerçekten de, bellek oluşumu sırasında özelleşmiş sinapslarda gerçekleşen sinaptik plastisiteye bağlı aktivite, bilginin depolanması için yeterli ve gereklidir (22). Bilgi depolama işlevinin, aktif olan nöronlar arasındaki sinaptik bağlantıların gücündeki değişikliklere dayandığı varsayılmıştır. Bu varsayım başka araştırmacılar tarafından desteklenerek ve iki nöronun aynı anda aktif olduğu durumda, özelleşmiş sinapsta sinaptik etkinliğin güçleneceğini bu hipoteze eklenmiştir (22). LTP'nin erken dönem ve uzun süreli olan iki tipi tanımlanmıştır. Erken dönem LTP, 2-3 saat sonra sona eren ve protein sentezinden bağımsız olan dönemi oluştururken, uzun süreli LTP'de in vitro sistemlerde birkaç saat in vivo sistemlerde haftalar sonra sona eren ve protein sentezinin gerçekleştiği LTP şeklindedir (22).

Subikulumdan hipokampusun CA (Cornu Ammonis) 1 bölgesine uzanan üç tane eksitator yolak bulunmaktadır. Birincisi perforant yolak olup subikulumdan, dentat girusun hilusundaki granül hücrelere uzanır. Bu granüler hücrelerin aksonları demet halinde, hipokampusun CA3 bölgesindeki piramidal hücrelere uzanarak ikinci yolağı oluşturur. Üçüncü yolakta da CA3 bölgesindeki piramidal hücreler, Schaffer kollateralleri adı altında CA1'deki piramidal hücrelere eksitator kollateraller gönderir. Bu üç yolaktan birisi ile hipokampuse bir uyarı geldiğinde, postsinaptik hipokampal nöronlardaki EPSP'de bir artış olur (25).

LTP tüm hipokampusta olmakla birlikte, glutamaterjik aktivitenin en fazla olduğu CA1 bölgesinde daha fazla olur. Deneysel çalışmalarda bu bölgenin uyarılması ile postsinaptik nöronda yanıt artışı olduğu, NMDA (N-Metil D-Aspartik Asit) inhibisyonuyla ise LTP oluşumunu engellediği gösterilmiştir (26).

## 2.4.2. Nöroplastisite

Plastisite terimi Yunancada “plaistikos” kelimesinden kaynaklanır, biçimlendirmek, şekil vermek anlamına gelir. Merkezi sinir sistemi gerek endojen gerekse çevreden gelen eksojen uyarılara adapte olabilmeye özelliğine sahiptir. Bu adaptasyon ile birçok önemli santral fonksiyonların yürütülebilmesi veya yetersiz adaptasyon sonucu bazı hastalıkların ortaya çıkması söz konusudur (24). Nöroplastisite ise nöronlar ve oluşturdukları sinapsların vücudun içinden ve dışından gelen uyarılara bağlı olarak gösterdikleri nörofiziksel ve nörokimyasal olarak uyum geliştirme yetisidir (27). Oluşan değişiklikler tek bir nöron ile sınırlı kalmayıp sinaps düzeyine ulaşmışsa oluşan adaptif yanıt “sinaptik plastisite” olarak adlandırılır (24).

Nöroplastisite ile nöronların dendritleri gibi belli bir bölümünde veya bütününde bazı fiziksel değişiklikler ortaya çıkabilir. Ayrıca yeni nöron oluşumu, nöronların olumsuz etkenlere karşı dirençlerinde değişiklikler ve sinaptik etkinlikte artış veya azalmalar görülebilir. Sonuçta oluşan nöroplastisitenin niteliği ve ortaya çıkaracağı yeniden modelleme de bu etkenlere bağlıdır (24).

Beyinde nöroplastik değişikliklerin en çok görüldüğü bölgeler korteks, septum, amigdala ve hipokampus olup, bu bölgeler içinde nöroplastisitesi en yüksek olan bölge hipokampustur (28).

### 2.4.2.1. Yapısal Olarak Plastisite Nasıl Gerçekleşir?

Dendritler nöronların değişime en açık yapılarıdır. Bu nedenle onların yapısındaki değişikliklerin nöroplastisiteyi yansıttığı düşünülmektedir. Dendritlerin yapısındaki değişimler artan sinaptik iletişimle bağıntılıdır. Sinaptik alanların artışı ise çevresel uyarılardaki artışla kendini gösterir. Çevresel uyarılar sinir büyüme faktörü (NGF, nerve growth factor), beyin türevli nörotrofik faktör (BDNF, brain-derived neurotrophic factor), nörotrofin-3 (NT-3), nörotrofin-4 (NT-4) gibi nörotrofik faktörlerin salınımını tetikler. Nöroplastisitenin bir diğer önemli başrol oyuncusu nöral kök hücrelerdir. Kök hücreler oluştuktan sonra olgun nöron yapısına ulaşmak için uygun ortam ve uyarılar varsa seri değişimler geçirirler. İlk önce hücresel uzantıları şekillenir. Bunu kutuplaşma izler. Diğer nöronlar ile afferent ve efferent bağlantılar kurar. Dendritler üzerinde spinler oluşur. Bu adımlar türe özgü

olarak değişik sürelerde gerçekleşir. Bu sürede olgunlaşmakta olan nöronlarda yüzey reseptörleri de şekillenir. Yüzey reseptörlerinin oluşumuna katılan ve plastik sinapslarda en çok işlev gördüğü bilinen nörotransmitter glutamattır (29). Glutamat, vücudumuzdaki diğer proteinlerin yapısına da katılan bir aminoasittir. Merkezi sinir sisteminin hemen hemen her bölgesinde nöronlarda güçlü eksitator etkilere sahiptir. Geçtiğimiz on yıl boyunca eksitator aminoasitler için de oldukça fazla sayıda reseptör alt tipleri klonlanmış, eksprese edilmiş ve sentetik agonistlerin göreceli potenslerine dayanarak veya potent ve seçici antagonistler kullanılarak farmakolojik olarak karakterize edilmiştir (23).

Glutamat reseptörleri fonksiyonel olarak; ligand kapılı iyon kanalları (iyonotrop) veya G proteini ile kenetli (metabotrop) reseptörler olarak sınıflandırılmaktadır. Ligand kapılı iyon kanalları da kendi içinde her bir reseptör alt tipine seçici aktif agonistler kullanılarak kabaca NMDA reseptörleri ve NMDA dışı reseptörler olarak 2 grupta sınıflandırılmıştır. NMDA dışı reseptörler sınıfını  $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propionik asit (AMPA) ve kainik asit reseptörleri oluşturur (23). Metabotropik glutamat reseptörler (mGluR) olarak adlandırılır. Glutamat reseptörlerinin bütün tipleri aynı nörotransmittere yanıt vermelerine karşın, hepsi çok farklı işlevleri yerine getirir. İyonotropik glutamat reseptörleri, EPSP'leri oluşturmak için kendi iyon kanallarını kullanırken, mGluR bu yanıtın doğasını ve boyutlarını nöromodulator etkilere benzer şekilde değiştirirler. Bütün reseptör tipleri sinaptik plastisite için önemli olmakla birlikte, AMPA ve NMDA reseptörleri en iyi bilinen ve çoğunlukla bellek molekülleri olarak düşünülen reseptörlerdir (29).

Özetle nöroplastisite, beynin öğrenme, hatırlama ve unutma yeteneklerinde rol oynar (30). Hücresele düzeyde öğrenme ve bellek mekanizmalarının araştırıldığı çalışmalarda sinaptik plastisitenin bir formu olan hipokampal LTP dikkat çekmektedir (31).

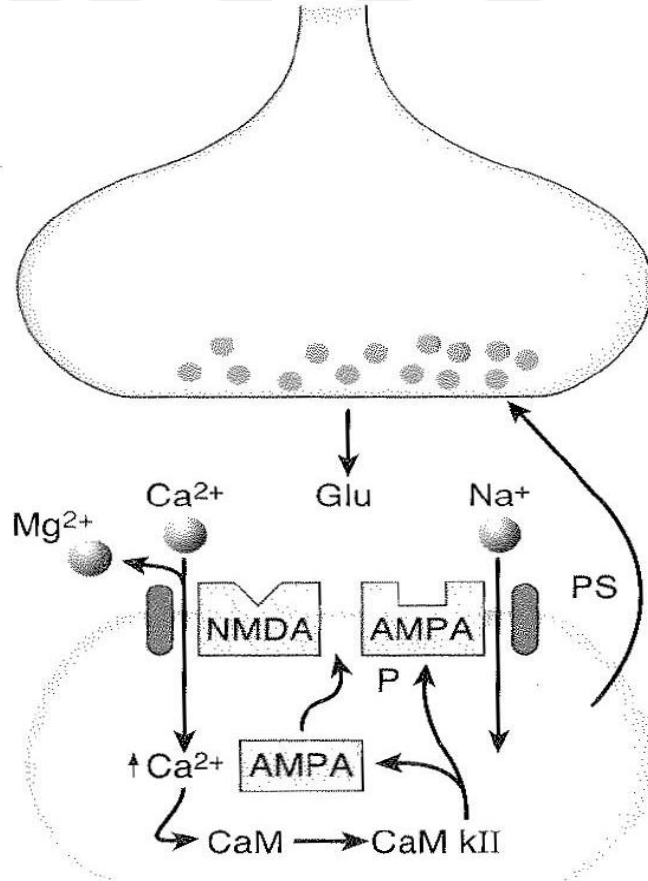
### **2.4.3. N-metil-D-Aspartat (NMDA) Reseptörleri ve LTP İlişkisi**

NMDA reseptörlerine ilişkin iyi tanımlanmış bir özellik LTP'ye aracılık etmeleridir. Öğrenmede birincil rolü olan ve hipokampusta gerçekleşen LTP, NMDA



reseptör aktivasyonunu gerektirir (32, 33). LTP'nin indüksiyonuna neden olan kritik olay, postsinaptik spin içine kalsiyum iyonlarının ( $\text{Ca}^{2+}$ ) girişidir. LTP'yi destekleyen sinapsların büyük çoğunluğunda postsinaptik  $\text{Ca}^{2+}$  artışı NMDA reseptörlerinin aktivasyonu yoluyla gerçekleşmektedir (23, 34).

İstirahat potansiyelinde NMDA reseptörleri, magnezyum iyonları ( $\text{Mg}^{2+}$ ) tarafından kanalın bloke edilmesi ve böylece iyon akışının önlenmesi nedeniyle inaktiftir. Yüksek frekans stimülasyonda postsinaptik nöron depolarize olur ve  $\text{Mg}^{2+}$  blokajı kalkarak  $\text{Ca}^{2+}$ 'nin içeriye akışı sağlanır.  $\text{Ca}^{2+}$  geçişi LTP'yi tetikler. Bu olay, glutamatın NMDA reseptörünü aktive etmesiyle gerçekleşir (Şekil 1). NMDA reseptörünün aktivasyonu sonucu gerçekleşen olaylar pre ve postsinaptiktir NMDA reseptörleri NR1 ve NR2 alt birimlerinden oluşur. Fonksiyonel kanalların oluşması için her iki alt birimin de ekspresyonu gereklidir (20).



**Şekil 1.** Hipokampustaki Schaffer kollaterallerinde LTP oluşumu (19).

#### 2.4.4. Öğrenme ve Bellek Fonksiyonlarında BDNF'nin Rolü

Nörotrofik faktörler merkezi sinir sisteminde nöronların gelişmelerine ve kendilerini yenilemelerine yardımcı olurken, nörotransmitterlerin görev yaptıkları fonksiyonel olarak önemli sinir yollarının yapısal olarak sağlıklı olmalarına ve görevlerini sürdürmelerine katkıda bulunurlar. Nörotrofik faktörlerin en çok bilinenleri, NGF ve BDNF'dir (35).

BDNF, 1982'de Barde ve ark. tarafından domuz beyninden izole edilip saflaştırılmıştır (36). BDNF omurgalı canlıların sinir sisteminin gelişiminde yer alan nörotrofin ailesinin bir üyesidir ve erişkin beyninde sinaptik plastisiteyi, aksonların migrasyonunu etkileyerek ve nöronlardaki dendritik spinlerin sayısını, boyutlarını ayarlayarak düzenleyen bir faktördür (37-39). BDNF ayrıca nörogenez ve sinaptogenez olaylarının içinde de yer alarak hipokampusta gerçekleşen LTP'nin fizyolojik mekanizmasını kolaylaştırır ve dolayısıyla öğrenme ve bellek süreciyle ilişkilidir (40-43). Artmış BDNF düzeyinin hipokampal nörojenik kapasiteyi artırdığı ve bunun sonucu olarak da hipokampus bağımlı hafızanın iyileştiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (44).

BDNF ve reseptörü olan tirozin reseptör kinaz B (TrkB), erişkin memeli beyninde yaygın olarak eksprese edilir. BDNF'nin nörotrofik etkisi reseptörüne yüksek afinite ile bağlanması aracılığıyla gerçekleşir. BDNF/TrkB uyarımlı intraselüler sinyal mekanizması hipokampal nörogenez için kritik öneme sahiptir (45-47). BDNF/TrkB aktivasyon sinyalizasyonu siklik AMP (cAMP) yanıt elemanı bağlayıcı protein (cyclic AMP response element binding protein, CREB)'in fosforilasyonuna neden olur. Bu olay hipokampal nörogenezin transkripsiyonel regülasyonu için kritik bir süreç olarak karakterize edilir (48). Bu nedenle BDNF/TrkB/CREB'in uyarılmasına yönelik strateji, nörogenez üzerinde yararlı etkiler ortaya çıkartır (49).

#### 2.4.5. Öğrenme ve Bellek Fonksiyonlarında CREB'in Rolü

CREB, ilk olarak farklılaşmamış nöron-benzeri PC12 hücrelerinden ve fare beyninden izole edilmiştir (50, 51). CREB'in sinir sistemindeki rolüne duyulan ilgi geçtiğimiz son on yılda artmıştır ve gelişimden plastisiteye kadar genişleyen bir

aralıkta birçok kompleks süreçte görev alan anahtar regülatör molekül olarak düşünülmüştür. Örneğin, CREB öğrenme-bellek ve nöronal plastisite gibi süreçleri de içine alan erişkin beyninin gelişimi esnasında hücre canlılığı, proliferasyonu ve farklılaşmasında regülatör olarak görev yaptığı öne sürülmüştür (52). Canlı türlerinin büyük kısmında uzun dönem belleğinde anahtar molekül olduğu kabul edilmektedir (53). CREB'in öğrenme ve bellek oluşumundaki rolü bazı türlerin üzerinde iyi tanımlanmıştır. Örneğin CREB-bağımlı transkripsiyonun *Drosophilla* ve *Aplysia*'de olduğu kadar fare ve sıçanlarda da uzun dönem hafıza ile ilişkili olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (54).

CREB kısa dönem hafızayı uzun dönem hafızaya dönüştüren anahtar moleküldür. Son yapılan çalışmalar, CREB'in memelilerde öğrenme ve bellek fonksiyonlarındaki rolüne ilave olarak CREB'in regülasyonunu ve fonksiyonunu anlamaya yöneliktir. CREB ve CREB'in öğrenme ile ilişkili plastisitedeki aktivasyonuna neden olan yukarı sinyal iletimi yolları, hastalıklı ve sağlıklı bireylerde hafıza fonksiyonunu iyileştirmeyi amaçlayan ilaçlar için çekici hedefler haline gelmiştir (55-57).

Kısa dönem belleğin uzun döneme nasıl dönüştürüldüğü hakkındaki ilk ipucu Louis Flexner'dan gelmiştir. Takiben Bernard Agranoff, Samuel Barondes ve Larry Squire uzun dönem belleğin oluşturulmasının yeni protein sentezlenmesine ihtiyaç duyduğunu gözlemlemişlerdir. *Aplysia*, *Drosophila* ve bal arısında yapılan sonraki çalışmalar, tekrar edilen eğitimle, protein kinaz A (PKA)'nın sinapstan, CREB-1 transkripsiyon faktörünü etkinleştirdiği yer olan nükleusa doğru hareket ettiğini göstermiştir (58). CREB-1, bilinen tüm CREB izoformlarının transkripsiyonundan sorumlu gendir (59). CREB-1, mekanizma ile ilişkili genleri aktive eden bir transkripsiyon faktörüdür. CREB-1 aynı zamanda yeni ve kalıcı proteinler ile yeni sinaptik bağlantı oluşturacak proteinlerin sentezini tetikleyecek transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu aktive eder (18). CREB-1 protein sentezini aktive etmek ve yeni sinaptik bağlantıların gelişmesini sağlamak için "downstream" genleri üzerinden çalışmaktadır (58).

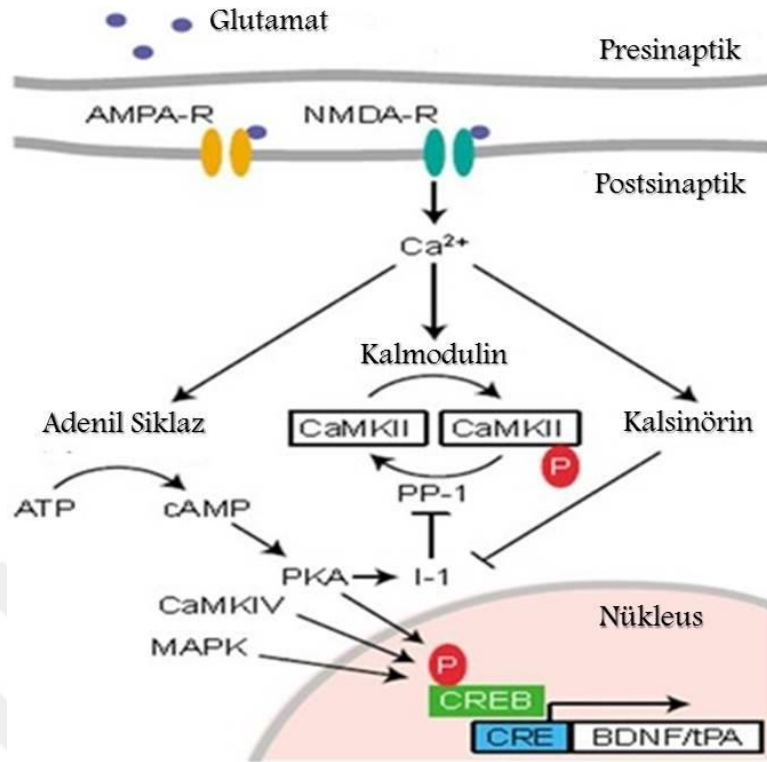
Geçtiğimiz yıl yayınlanan bir derlemede CREB'in hafızanın oluşumunda ve artırılmasında pozitif regülatör olarak fonksiyonel rolü tartışılmıştır (60). CREB'in

fonksiyonunu analiz eden çalışmalar için farklı genetik modeller kullanılmıştır. CREB'in çeşitli transgenik hücre hatları kullanılarak yapılan çalışmalarda CREB'in, hipokampal BDNF upregülasyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular CREB'in öğrenme ve bellek mekanizmasında BDNF ekspresyonunun regülasyonunu sağlayarak yeni bir rolü olduğunu belirlemiştir (60, 61). CREB'in upregülasyonu, nöronal canlılığı, postnatal hipokampal nörogenezi ve LTP'yi artırarak hafızayı güçlendirmektedir (62). Sonuç olarak BDNF ve CREB'in aşırı ifadesi sinerjistik olarak belleği artırmaktadır (Şekil 2) (59, 61).

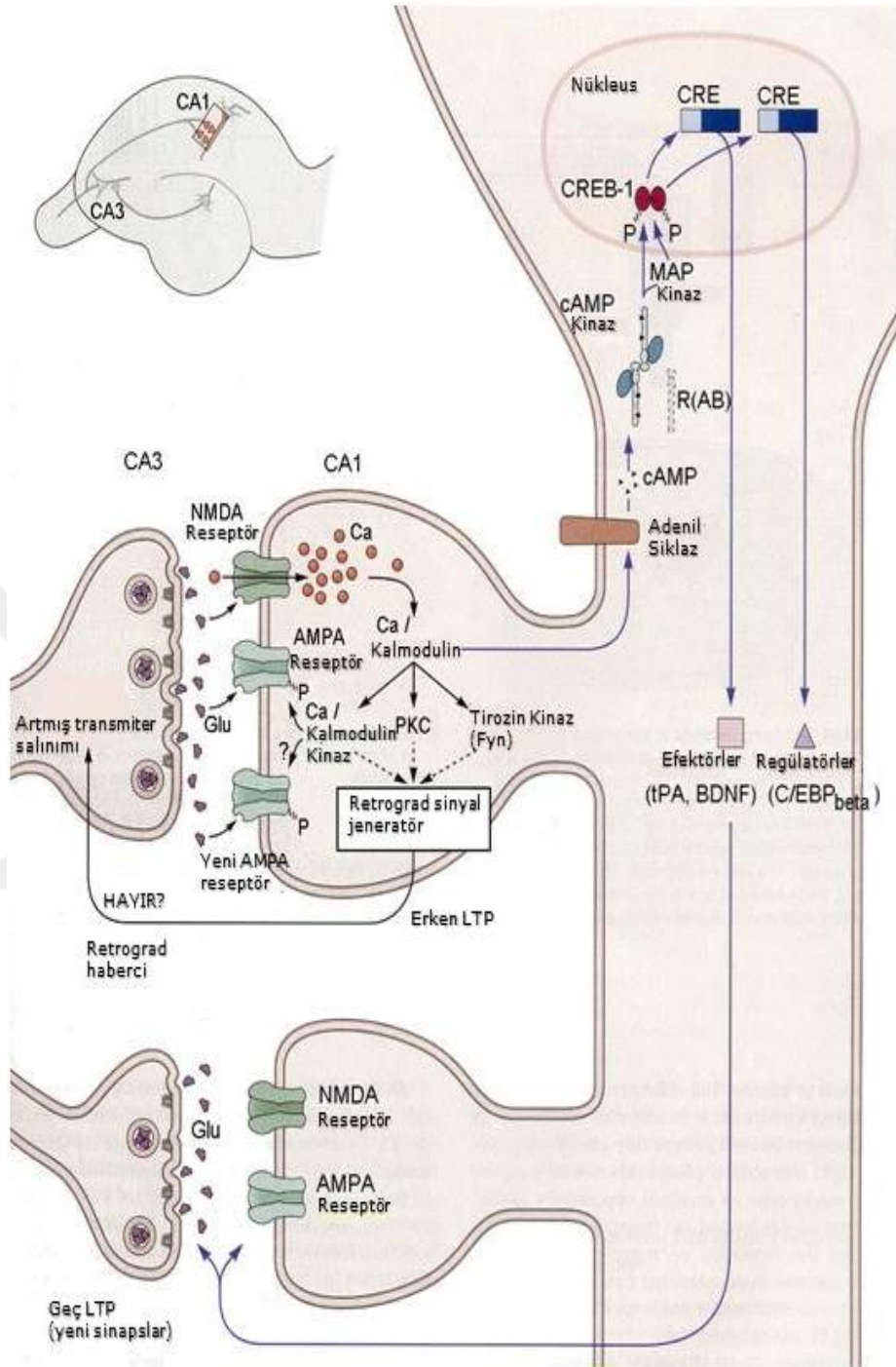
### 2.5. Öğrenme ve Bellek Mekanizması Özet

LTP oluşumuna neden olan yüksek frekanslı uyarıya bağlı olarak postsinaptik membran AMPA reseptör kanallarının aktivitesi aracılığı ile depolarize olur ve NMDA reseptör kanalındaki  $Mg^{+2}$  blokajı kalkar. NMDA reseptör kanalından hücre içine  $Ca^{+2}$  akışı gerçekleşir. Postsinaptik uçtaki  $Ca^{+2}$  artışı LTP oluşumuna neden olan  $Ca^{+2}$  bağımlı kinazları ( $Ca^{+2}$ /kalmodulin kinaz ve protein kinaz C (PKC)) ve tirozin kinaz Fyn'i aktive eder. Aktive olan  $Ca^{+2}$ /kalmodulin kinaz, AMPA reseptör kanallarını fosforile ederek, kanalların glutamat'a olan hassasiyetini artırır ve aynı şekilde normal durumda sessiz olan bazı AMPA reseptörlerini de aktive eder. Bu değişiklikler postsinaptik LTP'nin sürdürülmesine katkı sağlarlar. LTP oluşuktan sonra tam olarak bilinmeyen mekanizmalarla postsinaptik hücreden, presinaptik uça etki oluşturan bazı geri dönen haberci moleküller salınır.

Bu moleküller presinaptik uça glutamat salınımını artırırlar ve hala uyarı geliyormuş gibi aynı uyarı için glutamat salgısı devam eder. Yani LTP bir kez olduğu takdirde kendi kendini devam ettirmektedir. Hücre içi  $Ca^{+2}$  konsantrasyonlarının sürekli artması adenil siklaz'ı aktive eder. Adenil siklaz, cAMP miktarını arttırarak cAMP bağımlı protein kinazı aktive eder. Aktive olan cAMP kinaz hücre çekirdeğine girer ve CREB proteinini fosforile eder. CREB'de hedef genleri aktive ederek yapısal değişikliğe neden olan protein sentezini başlatır. Yeni sinaps oluşumunda rol alan doku plazminojen aktivatörü ve BDNF sentezlenir (Şekil 3) (31).



Şekil 2. Glutamaterjik sistem aracılı öğrenme ve bellek mekanizması (63).

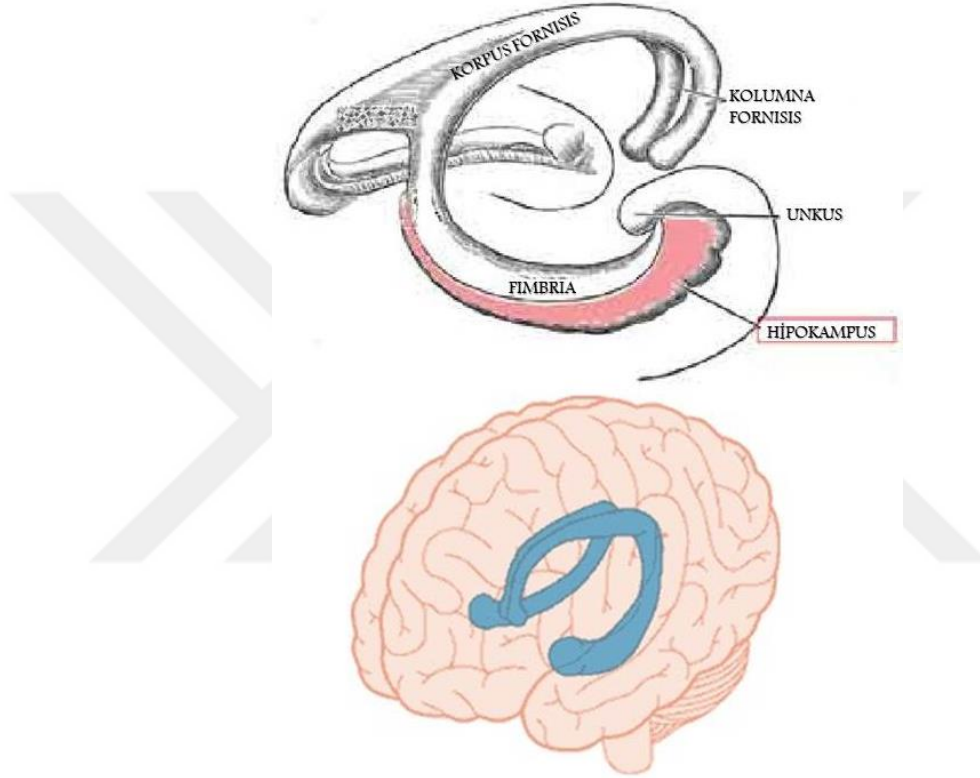


**Şekil 3.** LTP oluşumunda yeni sinaptik bağlantıların oluşumu ve protein sentezi (63).

## 2.6. Hipokampus

### 2.6.1. Hipokampus Anatomisi

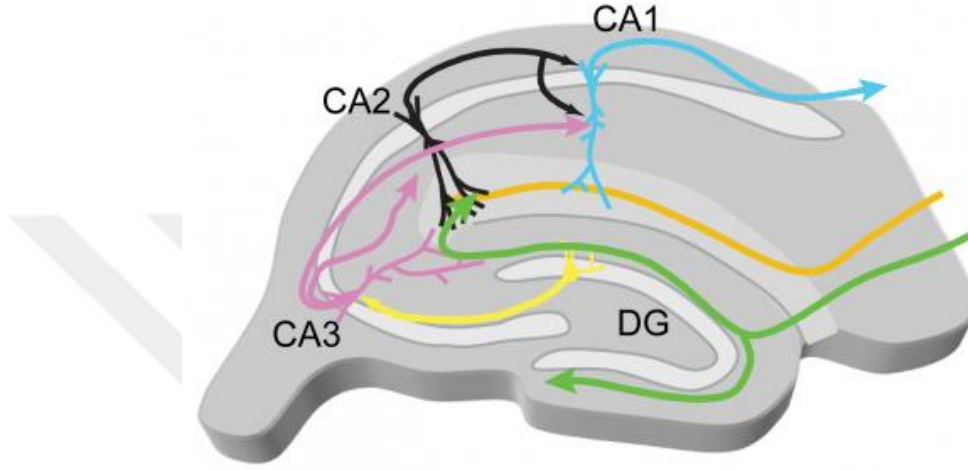
Filogenetik olarak beynin en eski bölümlerinden biri olan hipokampus, lateral ventrikülün alt boynuz tabanı boyunca uzanan, yaklaşık 5-8 cm uzunluğunda bir gri cevher tabakasıdır (Şekil 4) (64).



**Şekil 4.** Hipokampusun beyindeki yerleşimi (65).

Koronal kesitlerde C harfi şeklinde görülür. Denizatına benzerliğinden dolayı hipokampus ismi verilen bu yapı, dış yüzü koçboynuzuna benzediğinden cornu ammonis adı ile de anılmıştır (64). Cornu Ammonis'in baş harflerini temsilen CA olarak da ifade edilebilen hipokampus, hücre yapısındaki değişikliklerden dolayı CA1, CA2, CA3 ve gyrus dentatus olmak üzere anatomik olarak dört bölüme oluşur (Şekil 5) (66). CA1 subiculum'a en yakın olan bölgedir. CA3 ise gyrus dentatus'a en yakın olan hipokampus alanıdır (31, 64). Gyrus dentatus'un bir parçası veya hilusu olarak tanımlanan CA4 bölgesi de, CA3 ile gyrus dentatus arasında yerleşmiştir. Piramidal hücre boyutlarının en fazla olduğu hipokampus alanı

CA3'tür. Bu bölgede bulunan hücrelerin bir başka özelliği de dentat granüler hücrelerden gelen mossy lifleri'ni (yosunsu lifler) almasıdır. CA2 ise piramidal hücre yoğunluğunun en çok olduğu alandır ve bu kısımda mossy lifleri görülmez. CA2'ye supramamillar bölge ve hypothalamus'tan yoğun lifler gelir. CA1 ise hipokampus'un en karmaşık bölgesidir. Boyutları birbirinden farklı piramidal hücrelerin bulunduğu bu alanda, hücrelerin %10'unu internöronlar meydana getirir (67).



Şekil 5. Hipokampusun anatomik bölümleri (68).

### 2.6.2. Hipokampus'un Fonksiyonu

Hipokampusa tüm duyularla alakalı, doğrudan veya dolaylı çok sayıda afferent lif gelir. Bu duyuların hipokampusu terki forniks yoluyla olur. Miyelinli liflerden meydana gelen forniks; talamus, hipotalamus ve septal sahada sonlanır. Bu da hipokampus ile subkortikal alanlar arasındaki çeşitli devrelerin varlığını gösterir. Yine subkortikal alanlar aracılığı ile hipokampus, beyinde birçok bölge ile iletişim halindedir. Bu bağlantıların çokluğu; elli yıl öncesine kadar sadece koku ile ilgili olduğu sanılan hipokampusun, tek bir fonksiyon yerine, birçok beyin fonksiyonunda rol aldığını göstermektedir (69). Hemen her türlü duyuşsal uyarı (görme, işitme, koku, dokunma, iç organ duyuları vs.), küçük bir alan dahi olsa, hipokampusu aktive eder. Hipokampus da ventral talamus, hipotalamus ve limbik sistemin diğer bölgelerine sinyaller gönderir. Böylece, hareketlerin davranış biçimine dönüşmesinden önce, limbik sistemi etkileyen hipokampus, davranışların şekillenmesine katkıda bulunmuş olur. Bu nedenle hipokampusun, gelen duyuşsal



sinyalleri içerisinde geçiren ek bir kanal rolü oynadığı düşünülebilir (19). Korteks ile alt sinirsel oluşumlar arasında algılama, limbik sistem, soyut düşünme, öğrenme, hafıza, uzaysal hafıza gibi verilerin aktarılmasında kavşak görevi görmektedir (70).

### 2.6.3. Öğrenme ve Hafıza İşlevlerinde Hipokampusun Rolü

Çeşitli hayvan türlerinin tabiatında davranışlarını düzenleme ve idare etmede uzaysal bilgiyi kullanma eğilimleri vardır. Hipokampus ve ilgili yapıların (entorhinal korteks, subiculum gibi) uzaysal bilgiyi kullanmayı gerektiren öğrenme ve bellek testlerindeki rolü pek çok çalışmada araştırılmıştır (31). İnsanlarda ve hayvanlarda yapılan araştırmalar, öğrenmenin hipokampusle ilgili olduğunu göstermektedir (63, 71).

Kısa süreli hafızayı, uzun süreli hafızaya aktarmak gibi çok önemli bir görevi vardır. Öğrenme ve hafıza fonksiyonları üzerinde önemli role sahip olan hipokampus, yeni elde edilen bilgilerin depolanması ve anıların kısa süreli hafızadan uzun süreli hafızaya geçirilmesinde görev alır (72, 73).

Hipokampus'u etkileyen lezyonu olan hayvanlarda ve insanlarda spontan dikkati, uzaysal öğrenmeyi ve uzaysal bellek kullanımını bozduğu, ayrıca kısa süreli hafızanın uzun süreli hafızaya dönüştürülemediği gözlenmiştir. Hipokampus hayvanların davranışlarını düzenlemeleri ve kontrol etmeleri için uzaysal bilgiyi kullanmalarında önemli rol oynar (31). Beynin hafıza ve yön bulmada etkili bölgesinin araştırılmasına yönelik deneysel hayvan çalışmalarında, denekler çevrelerindeki bildik yerlerden geçerken hipokampustaki nöronlarının aktif hale geçerek aksiyon potansiyelleri oluşturdukları gözlenmiştir (74).

Hipokampus uzaysal belleğin oluşturulmasında ve yön öğrenilmesinde, etraftaki nesnelerin referans alınarak kognitif haritanın oluşturulmasında önemli, belki de esas role sahip olmakla birlikte uzaysal öğrenmenin diğer elemanları muhtemelen diğer beyin yapıları tarafından sağlanmaktadır. Bu yapılar kısa süreli bellek (çalışma belleği) için frontal lob, uzaysal oryantasyon, dikkat ve insanın veya deneğin kendini referans olarak oluşturduğu haritalama için parietal korteksdir. Uzaysal belleğin bu yapıların hepsinin yüksek seviyedeki organizasyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir. Normal insanların beyinlerinde yapılan fonksiyonel

görüntülemelerde sağ hipokampus'ta kelimeler, nesnelere, kişiler için olan belleğe göre uzaysal bellekte daha yoğun hipokampal aktivite gözlemlenmiştir. Kelimeler, nesnelere, kişiler için olan bellek dominant hemisfer'de bulunan sol hipokampus'ta daha yoğun aktiviteye neden olmuştur. Bu fizyolojik bulgular, sağ hipokampus lezyonlarının uzaysal oryantasyon sorunlarına yol açarken, sol hipokampus lezyonlarının sözel bellek defektlerine yol açmasını desteklemektedir (31).

### 2.7. Su Tankı Testi (Morris Water Maze)

The Morris water maze ismiyle literatüre geçen ve Türkçesi Morris su tankı testi olan bu test, 1981 yılında nörobilimci Richard G. Morris tarafından tanımlanmıştır (Şekil 6) (75). Bu test sıçan ve fare gibi küçük kemirgenlerde hipokampus bağımlı öğrenme, uzaysal (mekânsal) bellek ve uzun dönem belleğin değerlendirilmesi amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (76-78). Öğrenme ve belleğin değerlendirilmesinde araştırmacılar tarafından farklı testler kullanılmaktadır (Tablo 1) ancak su tankı testinin, alternatif öğrenme ve bellek testlerine göre daha az karmaşık ve protokollerinin daha az zahmetli olduğu kabul edilmektedir. Su tankı testi göreceli olarak daha basit bir test olmasına rağmen zaman içinde uzaysal öğrenme ve belleğin değerlendirilmesinde 'altın standart' olmuştur (79). Araştırmacılar tarafından su tankı testi sıçanlardaki hipokampal lezyonların etkilerine özel sensitivitesi olan bir yöntem olarak gösterilmektedir. Hipokampus hasarı olan sıçanların su tankı testinde performanslarının bozulduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir (79-82).

**Tablo 1.** Öğrenme ve belleğin değerlendirmesinde kullanılan deneysel modeller (83).

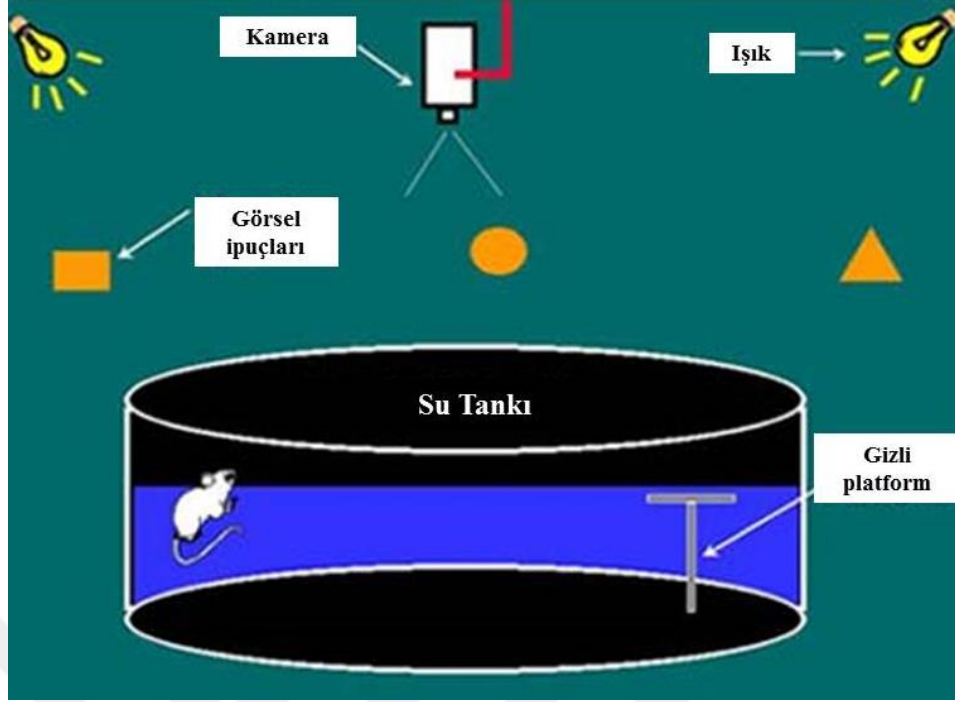
Labirent Testleri (Maze Testleri)	Pasif Sakınma	Aktif Sakınma
Yükseltilmiş artı labirent (Elevated Plus Maze)	Step-down pasif sakınma testi	Mekik kutusu aktif sakınma testi (Shuttle Box Active Avoidance Test)
Çok kollu labirent (Radial Arm Test)	Step-through pasif sakınma testi	Run Way sakınma testi
Morris'in su labirenti (Morris Water Maze)		

Başlangıçta opaklaştırılmış su ile doldurulmuş yuvarlak bir tank olarak geliştirilen bu model zamanla modifiye edilmiştir (84). Bu test özellikle sıçan ve fare modellerinde kullanılmaktadır. Tür seçimine ek olarak kullanılan deney hayvanının cinsiyeti de önem taşımaktadır. Uzaysal öğrenmenin değerlendirilmesinde erkek cinsiyetin daha uygun olduğu saptanmıştır. Bu durumun hormonal farklılık ve hipokampus gelişimindeki farktan kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Son yıllarda yapılan pek çok çalışmada bu nedenle erkek sıçan kullanılmıştır (85).

Modelin temeli şu esasa dayanır, çeşitli maddeler kullanılarak (toksik olmayan boya, süt tozu, vb.) opaklaştırılan su ile dolu dairesel bir tanka konulan deney hayvanı, en kısa sürede ve en kısa yoldan görünür ya da saklı platformu bularak sudan kaçmayı öğrenir. Bu hayvanlar doğal yüzücü olmalarına rağmen hoşlanmadıkları bir ortam olan sudan kaçma ihtiyacı hissederler. Testi diğer yöntemlerden ayıran önemli bir nokta ise normalde kokuları takip ederek etrafını tanımaya çalışan bu hayvanların suda lokal koku oluşmadığı için koku alma yeteneklerini kullanmadan çevresel ip uçlarını kullanarak yön bulmaya yönelmeleridir (80, 86). Deneyde kullanılan tankın ve kaçış platformunun büyüklüğü önemlidir. Yetişkin sıçanlar için havuzun 150-180 santimetre (cm) çapında, 50-60 cm derinliğinde, olması ve suyun 30 cm yüksekliğe kadar doldurulması gerekir. Kaçma platformunun ise 10-15 cm çapında olması gerekir. Genç sıçanlarda ve farelerde havuzun 100-150 cm çapında, 30 cm yüksekliğinde olması ve suyun 25 cm'ye kadar doldurulması ve 5-10 cm çaplı kaçış platformu kullanılması önerilmektedir. Suyun sıcaklığı hayvanın vücut sıcaklığına yakın olmalıdır, yüksek sıcaklık hareketleri azaltırken, düşük sıcaklık hayvanda öğrenmeyi zayıflatan hipotermiye neden olur. Morris su tankı deneyi sırasında oda sıcaklığının  $23\pm 1$  santigrat ( $^{\circ}\text{C}$ ) ve su sıcaklığının ise  $21^{\circ}\text{C}$  ile  $26^{\circ}\text{C}$  aralığında olabileceği pek çok yayında bildirilmiştir (85).

Su tankının etrafına hayvanın görebileceği şekilde çeşitli ipuçları yerleştirilir. Su tankı genellikle dört bazen de sekiz kadrana ayrılır. Kadranlardan biri seçilerek hayvanın tutunabileceği ve kendini güvende hissedebileceği bir platform yerleştirilir ve egzersizler boyunca yeri sabit tutulur. Öğrenme egzersizleri süresince hayvanlar önce su yüzeyinin üzerinde bulunan platformun yerini saptayarak sudan kaçmayı öğrenirler daha sonra platform suyun altında kalacak şekilde gizlenir. Öğrenme

egzersizlerinin sonunda probe trial adı verilen hafıza testi uygulanır. Bu test genellikle öğrenme eğitiminden bir gün sonra yapılır ancak bu süre daha da uzun olabilir. Daha uzun süreden sonra yapılan yer tercihi testi, aynı zamanda bilgileri bellekte tutma testi olacaktır (memory retention test). Bu testte gizlenmiş olan platform tamamen kaldırılır ve hayvan belirli bir süre havuzda serbest olarak yüzdürülür. Platformun bulunduğu kadranda geçen süre, platformun bulunduğu alandan geçme sayıları gibi verilerle hayvanın uzaysal öğrenmesinin doğruluğu değerlendirilir. Denemeler boyunca hayvanlar saklı platformu bulmak için temel olarak üç strateji geliştirirler; kendisini platforma götüren öğrenilmiş ardışık hareketleri kullanabilir, kendisini referans olarak (platformun kendisine göre sürekli sağında olması gibi) platforma ulaşabilir veya ortamdaki işaretlerin şekli, görünüşü hakkındaki bilgilerini kullanarak platforma geç eder. Hayvanlar öğrenilmiş ardışık hareketler ile ve kendilerini referans olarak platformu bulmaları ihtimallerinden dolayı her denemede farklı başlangıç pozisyonlarından bırakılırlar. Probe trial testin ardından görünür platform testi uygulaması yapılır. Bu uygulama ile opaklaştırıcı maddelerin, görme üzerine negatif etkileri, motivasyonu azaltıcı etkileri, artmış anksiyete gibi etkileri olup olmadığı değerlendirilir. Su tankı testinin izlenmesi verilerin kamera yardımı ile kaydedilerek bilgisayar ortamına aktarılmasıyla gerçekleştirilir. Bu yolla deneysel yan tutma önlenmektedir. Sonuçlar değerlendirilirken hayvanın vücut ağırlığı, fiziksel gelişimi, yaşı, cinsi, deney protokolü, stres yada enfeksiyon gibi durumların öğrenmeyi dolayısıyla da sonucu etkileyebileceği göz önünde bulundurulmalıdır (24, 87-91).



Şekil 6. Su tankı testi (92)

## 2.8. Elektromanyetik Alan ve Kablosuz Ağ Sistemleri

Günümüzde mobil telefon sistemleri, radarlar, radyo ve televizyon verici-alıcı sistemleri, endüstriyel ve tıp alanlarında kullanılan cihazlar, elektrikli ev aletleri vb. cihazlar elektromanyetik dalgalardan faydalanırlar. Bu gibi cihaz ve sistemler, çevremizde farklı frekans ve şiddetlerde EMA oluştururlar (93). EMA elektrik yüklerin hareketinden doğan, elektrik ve manyetik alan bileşenlerine sahip elektromanyetik enerji içeren kuvvet alanıdır (94). Ne zaman bir elektrik alanından elektrik akımı geçse bir manyetik alan oluşur ve ikisi bir araya gelince de bir EMA oluştururlar. EMA'lar terimi; 0 Hz ile 300 GHz arasında frekansa sahip statik alanları, dalga boyu çok uzun (ELF, Extremely Low Frequency-Aşırı Derecede Düşük Frekans) alanlar ve radyo frekansı (RF) alanlarını kapsar (95).

Kablosuz iletişim ağları, ağ içerisindeki cihazlar arasında iletişimi sağlamak amacıyla kurulan, RF veya kızılötesi teknolojiyi kullanarak veri aktarımını sağlayan yapıdır. Kablosuz yerel alan ağ sistemleri havada yayılan elektromanyetik dalgalarla bir noktadan başka bir noktaya fiziksel bağlantı olmaksızın bilgi iletişimini sağlar. Elektromanyetik dalga bir RF kaynağından üretilir ve boşlukta yayılır. Kablosuz

yerel alan ağı sistemlerinde kullanılan yüksek frekanslı RF sinyali (2,4 GHz ve 5 GHz) temel özelliği nedeniyle katı cisimlere nüfuz edebilir ve geçebilir. Bu özellik görüş hattının sağlanamadığı bina içi kullanımlarda büyük bir avantaj yaratır (95). Ayrıca, kablosuz yerel alan ağ sistemleri, insanlara mobil halde bile gerçek zamanlı bilgi erişimi sağlaması, kablo çekmenin zor, pahalı veya imkansız olduğu yerlerde kolay ve düşük maliyetli iletişim imkanı sunması nedeniyle cadde, sokak, park, bahçe ve benzeri açık alanlarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu ağlar; kamu kurum ve kuruluşlarında, şirketlerde, üniversitelerde, konferans salonlarında ve benzeri pek çok yerde özel amaçlı, eğitim amaçlı veya halka açık olarak kurulabilirler. Bu ağ sistemleri ancak yerel kullanım amacıyla geliştirilmiş olduklarından mesafesi 25-100 metre civarındadır (95).

### **2.8.1. EMA'nın Biyolojik Sistemlere Etkileri**

Kablosuz ağ sistemlerinin günlük yaşantımıza girmesiyle birlikte yaydıkları EMA'nın insan sağlığı üzerine etkileri toplumda ve bilim dünyasında merak konusu olmuştur (96). EMA'ların insan sağlığına etkileri konusunda birçok ülkede oluşturulan standart ve sınır değerlerin yanı sıra uluslararası standartlar ve sınır değerler de vardır. EMA'lar için güvenlik standartları, uluslararası nitelikteki İyonize Olmayan Radyasyondan Korunma Komisyonu (International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection, ICNIRP) tarafından düzenlenir ve her ülke ICNIRP standartlarını kendi durumuna bu standartları aşmayacak şekilde limit uygular. Ayrıca uluslararası düzeyde Amerikan Ulusal Standartlar Enstitüsü (American National Standards Institute, ANSI) isimli kurumda benzer alanda çalışma gösterir ve bu kurum Amerikan Elektrik Elektronik Mühendisliği Enstitüsünün (The Institute of Electrical and Electronics Engineers, IEEE) bir organı olarak çalışır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve Federal İletişim Komisyonu (Federal Communications Commission, FCC) EMA maruziyeti ve standart düzenlenmesi alanında çalışma yapmaktadır. Bu kuruluşlar, standart ve sınır değerleri belirleyerek DSÖ'ye tavsiyelerde bulunmaktadırlar (97). Bahsedilen kuruluşlara göre, dokuların kilogram başına yutabileceği en yüksek güç 4 watt (W) olarak tespit edilmiştir. Bu değer baz alınarak genel yaşam alanlarında işyerleri için 0.4 W/kg, diğer yerler için 0.08 W/kg

olarak temel limit değerler belirlenmiştir. Burada W/kg olarak belirtilen birim, Özgöl Soğurulma Oranı (Specific Absorbtion Rate, SAR) olarak adlandırılır (93).

Cihazların yaydığı EMA'ların insanlara maruziyet (etki) derecesi öncelikle kullanıcının konumundan kaynağa olan mesafeye bağlıdır. EMA maruziyeti, güç yoğunluğu ve mesafe yanında; maruziyet süresi, tipi (yakın veya uzak alan), kaynağın frekansı, elektrik ve manyetik alan büyüklüğü ile modülasyon (sürekli dalga veya darbe modülasyonu) gibi fiziksel özelliklere göre belirlenmektedir. Biyolojik sistemlerdeki maksimum RF enerji iletişimi; biyolojik dokulardaki nüfuz (penetrasyon) ve dağılımı, enerji emilimi, güç depolanması, oluşan elektrik ve manyetik alan tarafından belirlenebilir. Bunların miktarları, vücudun büyüklüğü ve fiziksel şekliyle ilişkili olarak değişiklik göstermektedir. Toplam faktör, aynı yoğunlukta, yerel veya vücudun farklı uzak bir bölümünde veya tüm vücudun maruziyeti olup daha çok dokuların ısınması olarak kabul edilir. Isı etkisi; yerel, kısmi veya tüm vücut maruziyetinden kaynaklanan biyolojik sistemlerdeki emilim veya RF enerji depolanması yoluyla olur. Maruziyetten kaynaklanan vücuttaki emilim; vücudun elektriksel iletkenliğine, elektriksel geğirgenliğine ve kütle özelliklerine bağlıdır (98). Aynı ortamda çalışan elektromanyetik dalga yayan cihazlar biyolojik varlıkları etkilemektedir. EMA'nın insan fizyolojisi ve davranışları üzerinde etkili olduğu DSÖ tarafından vurgulanmaktadır (99). Elektromanyetik dalgaların, dokular üzerinde oluşturduğu elektrik alan ve manyetik alan iki şekilde etki oluşurmaktadır.

- Termal etkiler
- Termal olmayan etkiler

Termal etkiler, biyolojik yapı tarafından soğurulan elektromanyetik dalganın enerjisinin hücre içerisinde ısıya dönüşmesi ve dokunun ısısının artması sonucu biyolojik dokuda meydana gelen değişim olarak ifade edilmektedir (100).

Bu durumda biyolojik yapıda beklenen etkiler termal etkiler olarak adlandırılır. Genel olarak yüksek yoğunluklu RF alanlar dokularda hissedilir sıcaklık artışlarına neden olabilmektedir. RF alana maruz kalan dokuda oluşan ısı artışı, maruz kalınan alanın şiddeti, maruz kalma süresi, frekans, maruz kalan objenin boyutlarına ve çevresel faktörlere bağlı olmaktadır (101). Isı etkisi EMA'nın

büyüklüğüne bağlı olarak, atomların bir araya gelerek oluşturduğu moleküller ve moleküllerin bir araya gelerek oluşturduğu, içinde enzim, protein, DNA-RNA, mitokondri, ribozom gibi organeller bulunan ve sudan oluşan bir ortamı içeren hücrelere harici enerji yüklenmesine neden olur. Enerjisini hücreye aktaran foton geliş istikametine doğru içindeki suyu harekete geçirir. Frekansa göre değişik sayıda mesela 1 s'de; 10 hertz (Hz)'de 10 defa, 500 megahertz (MHz) de 500 milyon defa suyu iter. Suyun hareketinden dolayı oluşan sürtünme, ısı enerjisine dönüşür ve hücrede ısı artışı olur. İşte EMA'nın canlılara etkilerinden biri olan ısıl veya ısı etkisi bu yolla meydana gelir. RF enerjisine olan kısa süreli maruziyetin, yukarıda belirtildiği üzere, dokuda ısı artışına neden olması yeterince önemli olmayabilir. Burada önemli olan ısı artışının zamana göre hızıdır ve bu da SAR değeri ile orantılıdır. Çok uzun süre maruziyet süresinde oluşan ısı artışı; biyolojik yapıya, dokuya gelen dalga açısına, dokuların ısı düzenleme tepkisine ve aktif telafi sürecine bağlıdır. Vücudun bir kısmının veya yerel bir bölgenin maruziyetinde RF enerji emilimi çok fazla ise burada hızlı ısı artışı ve yerel doku hasarı oluşturabilir. Normal şartlar altında, insanlarda ve laboratuvar hayvanlarında 1°C'lik sıcaklık artışının, 4 W/kg'lık SAR değerinden kaynaklandığı tespit edilmiştir Ancak bu ısı artışı insanın ısı düzenleme kapasitesi aralığı içinde dengelenebilir. Aynı SAR değeri, önceden ortamda var olan ısı ve nemin olduğu çevresel şartlar altında 1°C'lik artışa ve müsaade edilen normal seviyelerin çok üzerinde ısı artışlarına neden olabilir. Böylece vücutta istenmeyen ısı baskısından dolayı tepkiler hızlanabilir. Sıcaklık artışlarına karşı maruziyetten korunmak için belli başlı dayanak, Dünya'da yaygın olarak uygulanan ve DSÖ tarafından da kabul edilen ICNIRP maruziyet kılavuzlarıdır. Bu kılavuzda insan için 1°C'den fazla ısı artışı referans alınmış olup, bu eşik değer ihlal edilmesi zararlı kabul edilmektedir (98).

Termal olmayan etkiler ya da diğer adıyla kimyasal etkiler, sınırlarının altındaki düşük dozlarda meydana gelmektedir. Termal olmayan etkiler, daha çok dalganın enerjisi sonucu meydana getirdiği etkilerdir (100). Kimyasal etki tehlike sınırlarının altındaki düşük dozlarda meydana gelmektedir. Uzun süreli düşük doza maruz kalmak kısa süreli yüksek dozdan daha riskli olarak kabul edilmektedir.

EMA'nın olası biyolojik etkilerini ikiye ayırmak mümkündür. Birincisi, kısa zamanda hissedilebilen genellikle merkezi sinir sistemine ait baş ağrısı, baş dönmesi,



halsizlik, uyku düzensizliği, yorgunluk, gözlerde yanma hissi, gündüz uykulu dolaşım, dikkatsizlik, küskünlük veya toplumdan uzaklaşma gibi bulgulardır çünkü beyin dokusu EMA'ya oldukça duyarlıdır (102). İkincisi ise daha çok uzun vadede görülebilen, vücudun farklı bölgelerindeki doku veya organlara, hücre yapısına, vücudun korunma mekanizmasına olan etkileridir (103). Hücrelerde büyük moleküllerin deforme olması, hücre zarının birbirine yapışması, hücre zarlarında delikler açılması, kalsiyum adenzin trifosfataz (Ca-ATPaz) ve sodyum-potasyum adenzin trifosfataz (Na-K-ATPaz) enzimlerinin bozulması sonucu hücre dışına  $Ca^{+2}$ ,  $Na^{+}$  ve  $K^{+}$  kaçıışı, sinir zarlarının bozulmasına bağlı olarak rüya görmenin azalması, beyin sinyallerindeki değişim, uykusuzluk, sinirlilik, erken bunama ve Parkinson hastalığı kimyasal etkilere örnek olarak verilebilir (104).

EMA'lar, içlerinde çeşitli iyonlar olan dokulara rahatça nüfuz edebilmekte ve serbest hareket eden iyonlar yüklü olduklarında kendi frekanslarında onları da titreştirmektedirler. İyonların titreşmesi kendi etraflarında gerilim oluşmasına sebep olmakta ve yakınlarında oldukları potansiyele duyarlı hücre zarı kanallarının kontrol dışı açılmalarına veya kapanmalarına sebebiyet vermektedir. Bu yolla hücre etrafındaki kimyasal denge, normal olmayan etkilerle değişmeye ve elektromanyetik etkinin daha çok arttığı durumlarda hücre fonksiyonlarının bozulabilmesine kadar gitmektedir (105, 106).

2,45 GHz EMA'nın oksidatif stres yoluyla beyin hücrelerine zararlı etkilerinin olabileceği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (107). Nörolojik hücreler, serbest oksijen radikallerinin hedeflerinden olan doymamış yağ asitleri bakımından zengin olmaları ve antioksidan savunma sistemleri bakımından fakir olmalarından dolayı oksidatif strese çok duyarlıdırlar. EMA'ya maruz kalmak  $Ca^{+2}$  homeostazisini  $Ca^{+2}$  akışını artırmak suretiyle bozmakta ve oksidatif stresi artırmaktadır (108).

### **2.8.2. Elektromanyetik Alanın Öğrenme ve Bellek Fonksiyonları Üzerine Etkileri**

EMA'nın biyolojik sistemleri hangi mekanizmalar ile etkilediğine dair çalışmalardan yukarıda bahsedilmiştir. EMA maruziyetinin hücresel değişikliklere, termal olmayan etkileri nedeniyle yol açtığına dair kanıtlar sunulmuştur (109). Buna

ek olarak EMA'nın reaktif oksijen türlerini artırarak organlarda ve histopatolojik değişikliklere neden olduğu ve oksidatif strese neden olduğu anlaşılmıştır (110). EMA'ya maruziyet nöronların oksidatif strese girmelerinde ko-stresör gibi davranmaktadır (111). EMA'ya mesleki sebepler nedeniyle maruz kalmanın nörodejeneratif hastalıkların görülme riskindeki artışla yakından ilişkili olabileceğine ait çalışmalar mevcuttur (112, 113). EMA'nın öğrenme ve bellek fonksiyonlarını etkileyip etkilemediğine dair literatürde pek çok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar, EMA'nın farklı frekanslarda deney hayvanlarına uygulanması ile gerçekleştirilmiş ve öğrenme-bellek fonksiyonlarında rol oynayan mekanizmalar farklı noktalardan ele alınmıştır.

Eriş AH ve ark. (2015) 900 MHz (cep telefonlarında kullanılan frekans) frekansta EMA uygulayarak kan serotonin ve glutamat düzeylerini ölçmüşlerdir. Glutamat düzeylerinin değişmediğini ancak serotonin düzeylerindeki artış ile öğrenmede gecikme ve uzaysal hafızada bozukluk oluşabileceğini öne sürmüşlerdir (114).

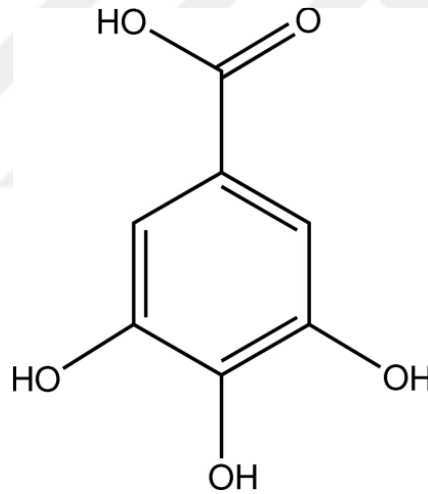
Glutamat beyinde bilişsel fonksiyonlarda ve öğrenme-bellek mekanizmasında önemli rol oynayan bir nörotransmitterdir. Masoudian N ve ark. (2015), EMA varlığında sinaptik alandaki glutamat düzeylerinde değişim olduğunu ortaya çıkarmışlardır (115).

Deng B ve ark. (2014) elektromanyetik pals uygulayarak serebral kortikal nöronlarda anormallik, morris water maze testi ile öğrenme ve bellek fonksiyonlarında bozulma gerçekleştiğini öne sürmüşlerdir. Yaptıkları çalışmada süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinde azalma ve malondealdehit (MDA) düzeylerinde yükselme olduğu sonucuna ulaşarak oksidatif stresin arttığını; kaspaz-3 aktivitesinde ve Bax ekspresyonunda artış ile Bcl-2 ekspresyonundaki azalma ile de apoptozisin indüklendiğini bulmuşlardır (109). Razavinasab M ve ark. (2014), gestasyonel dönemde 900 MHz EMA maruz kalan dişi ve erkek yavruların öğrenme ve bellek fonksiyonlarındaki değişimi incelemişler. Pasif sakinme ve morris water maze testi sonuçlarında öğrenme yeteneklerinde değişiklik ve bellek fonksiyonlarında azalma görmüşlerdir. Ayrıca tüm hücre kayıtlarında, hippokampal piramidal nöronların eksitabilitelerinde düşüş gözlemlemişlerdir (116).

Yapılan bu çalışmalar sonucunda EMA maruziyetinin genellikle termal olmayan etkileri ile oksidatif stres, apoptozis, nörotransmitter düzeylerinde değişiklik gibi yollar üzerinden öğrenme ve bellek fonksiyonlarını etkilediği anlaşılmıştır.

## 2.9. Gallik Asid (GA)

GA (3, 4, 5- trihidroksibenzoik Asit) bitkilerde doğal olarak üretilen bir polifenoldür (Şekil 7) (117). Polifenoller, bitkilerde bulunan kimyasal maddelerin bir grubu olarak birçok sebze ve meyvede bulunmaktadır (118). İçerdikleri fenol halka sayısı ve bu halkaları birbirine bağlayan yapısal elementlere göre farklı sınıflara ayrılmaktadır. Flavonoidler, fenolik asitler, stilbenler ve lignanlar polifenollerin ana gruplarındandır (119). GA; bitkisel gıdalarda, birada, kırmızı şarapta, yeşil çayda ve narda bulunur. En önemli kaynağı çaydır. Ayrıca meşe ağaçlarından, kestane ve üzümde de elde edilmiştir (120).



Şekil 7. GA'nın kimyasal yapısı

GA, reaktif oksijen türlerini (Reactive oxygen species, ROS), örneğin, süperoksit anyon, hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri süpürücü güçlü bir doğal antioksidan olarak tarif edilmiştir (121). Antioksidan etkilerinin yanı sıra GA'nın antifungal, antiviral etkileri olduğu ve bazı kanser hücreleri üzerinde antitümör etki ve sitotoksik etkileri görülmektedir (122, 123). Diyabet üzerine yapılan bir çalışmada GA'nın antidiyabetik ve antilipid etkileri olduğu görülmüştür (124). Nair ve ark. (2013) GA'nın radyoprotektif etkisini, gama radyasyon indüklü oksidatif stres ve

deoksiribonükleik asit (DNA) hasarı açısından araştırmış ve GA'nın bu patolojiler üzerindeki olumlu sonuçlarını yayınlamışlardır (12).

Farklı bir açıdan yaklaşımda bulunmak gerekirse; GA gıda, ilaç ve kozmetik sanayisinde koruyucu madde olarak yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Bazı endüstriyel ürünlerde yüksek enerjili radyasyon kullanılarak birçok madde ışınlanıp içerdikleri mikroorganizmalardan arındırılarak sterilize edilmekte ve raf ömrü uzatılmaktadır. Kullanım alanları gereği GA gibi koruyucu maddelerde bu ürünlerle birlikte radyasyona maruz kalmaktadır. Işınlama işlemi ürünlerin doğal yapılarını, yani molekül yapılarını bozarak istenmeyen etkilerin oluşmasına da sebep olabilmektedir. Koruyucu madde olarak kullanılan GA ve esterlerinin radyasyon duyarlılıklarını incelemeyi amaçlayan bir tez çalışmasında esterlerinin aksine GA'nın radyasyona duyarlılığının en az olduğu yani bozulmadan kalabildiği sonucuna varılmıştır (125).

Yapılan başka bir araştırmada serebral iskemi modeli oluşturulmuş ve iskemiye bağlı oksidatif stres üzerinde GA tedavisi uygulanmıştır ve serebral iskeminin yaratacağı nöronal hasarı azaltmada yararlı olacağı sonucuna ulaşmışlardır (126).

GA'nın diğer bir özelliği ise nöroprotektif etkisinin olmasıdır. Oluşturulan farklı deneysel modeller ve yaklaşımlar bu özelliğinin araştırılması ve kanıtlanması üzerine kurulmuştur. Öğrenme bellek mekanizması üzerine yapılan bazı çalışmalarda da GA'nın olumlu etkileri saptanmıştır. Kronik stres modeli oluşturulan deneysel bir çalışmada stresin oluşturacağı davranışsal değişimler lokomotor aktivite, anksiyete benzeri davranışlar ve hafızanın korunması açısından değerlendirilmiş ve GA'nın bahsedilen etkileri düzelttiği yönünde sonuçlar elde edilmiştir (127). Sarkaki ve ark. travmaya bağlı beyin hasarının davranışsal, elektrofizyolojik ve inflamatuvar bozukluklara olan etkisine karşı GA'yı denemişlerdir. Özellikle hippocampal LTP'yi ve buna bağlı olarak bellek fonksiyonlarının güçlendiğini, inflamatuvar parametrelerde düzelme olduğunu, sonuç olarak nöroprotektif etkisinin bulunduğunu vurgulamışlardır (128).

Sunulan bu tez çalışmasında kullanılacak farmakolojik madde seçimi yapılırken, GA'nın sahip olduğu antioksidan, radyoprotektif özelliklerinin yanı sıra

merkezi sinir sistemine ulaşarak gösterdiği nöroprotektif etkileri göz önünde bulundurulmuştur.

Kablosuz ağ sistemlerinin yaydığı EMA'dan en fazla etkilenen grupların hamileler ve gelişim çağındaki çocuklar olduğu bilinmektedir. Bu sistemlerin ilk ve orta dereceli okullarda kullanılması, gelişme çağındaki çocukların günün büyük bölümünü geçirdikleri okullarda tehlike arz etmekte, özellikle öğrenme ve bellek bozukluklarına yol açmaktadır (129). Bu çalışmanın çıkış noktasını Fatih projesi oluşturmuştur. 2006 yılında başlatılan Fatih Projesi kapsamında okul öncesi, ilköğretim ve ortaöğretim düzeyindeki tüm okullarda 570.000 dersliğe LCD Panel Etkileşimli Tahta ve internet ağı alt yapısı sağlanmakta ve aynı zamanda her öğretmen ve her öğrenciye tablet bilgisayar verilmektedir (130). Günümüzün teknolojik koşullarında, bilgiye hızlı ve kolay ulaşabilmenin en önemli yollarından biri internet kullanımınıdır. Bu proje ile internet ağlarına kablosuz bağlantı sağlayan tabletler ya da diz üstü bilgisayarlar eğitim materyali olarak kullanılmaktadır. Ancak bu araçların kalabalık sınıf ortamlarında aynı anda bir erişim noktasına bağlanması nedeniyle oldukça yoğun bir EMA oluşmakta ve gelişme çağındaki çocuklar bu alana maruz kalmaktadır. Bazı ülkelerde ise çocukları bu zararlı etkilerden korumak amacıyla okullardaki kablosuz ağların kullanımını ilgili önemler alınmaktadır. İngiltere'nin Norwich kentindeki okullarda kablosuz internetin radyasyon etkisini inceleyen uzmanlar, sınıflardaki radyasyonun, cep telefonu alıcılarının yaydığının üç katı olduğunu saptamışlar ve Sağlık Koruma Kurumu "Okullardan kablosuz interneti kaldırın" uyarısında bulunmaktadırlar. Özellikle okullarda bu hizmetin verilmemesi gerektiği, çocukların radyasyonun zararlı etkilerinden yetişkinlerden çok daha fazla etkilendiği ve alıcıların okulların yakınına yerleştirilmemesi gerektiği bildirilmiştir. Dünyanın farklı ülkelerinde kablosuz ağların okullardan ve üniversite kampüslerinden uzaklaştırıldığı bilgisine de ulaşmak mümkündür; Almanya, Kanada, Avusturya ise okullarda kablosuz ağ bağlantısını yasaklamıştır (131).

Gelişme ve öğrenme çağındaki çocukları bu zararlı etkilerden korumak ve öğrenme-bellek gibi işlevler üzerinde oluşabilecek olumsuz etkileri en aza indirmek amacıyla kullanılabilir farmakolojik etken maddelerin araştırılması bu çalışmanın temelini oluşturmaktadır. Sunulan bu tez çalışmasında ilköğretim çağındaki

çocukların yaş gruplarına benzer olarak 6 haftalık (puberte öncesi) Sprague-Dawley ırkı sıçanlar kullanılarak deney gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda kullandığımız GA polifenolik bileşikler grubuna ait olan ve günlük tükettiğimiz besinlerin içerisinde bulunan bir etken maddedir. GA yukarıda bahsedilen mekanizmalar üzerinde antioksidan, radyoprotektif ve nöroprotektif etkileri nedeniyle EMA'nin neden olabileceği öngörülen öğrenme ve bellek bozuklukları üzerinde olumlu etkiler gösterebileceği düşünülmüştür. Yapılan bazı çalışmalarda GA'nın oksidatif stres kaynaklı hafıza bozukluklarında etkili olduğu bildirilmiştir ancak glutamaterjik sistem mekanizma üzerinde nasıl bir etki gösterdiğine dair çalışmaya rastlanmamıştır (128, 132, 133). Ayrıca EMA'nın neden olabileceği öğrenme-bellek bozuklukları üzerindeki etkisi incelenmemiştir. Bu çalışma ile hem 2,45 GHz EMA'nın glutamaterjik sistem aracılı öğrenme-bellek işlevleri üzerine etkisi araştırılmış hem de GA'nın bu mekanizma üzerindeki etkisi aydınlatılmıştır.

Öğrenme ve özellikle belleğin oluşabilmesi için nöronlarda LTP oluşması gerekmektedir (24). LTP'nin en yoğun gerçekleştiği merkez hipokampus dokusudur (72). Bu nedenle bu çalışmada hipokampal LTP'nin oluşabilmesinde önemli rol oynayan moleküllerin ekspresyonu incelenmiştir. LTP mekanizmasındaki fonksiyonu iyi tanımlanmış ve hatta bellek molekülleri olarak düşünülen NR2B reseptörlerinin; kısa dönem hafızayı uzun dönem hafızaya dönüştüren anahtar molekül olarak tanımlanan ve nöral plastisitenin tetikleyici transkripsiyon faktörü olan CREB'in; hipokampal LTP'nin fizyolojik mekanizmasını fasilite eden bir nörotrofik faktör olan BDNF'nin ekspresyonları western blot ile analiz edilmiştir. Bunun yanı sıra öğrenme ve belleği değerlendirmekte kullanılan ve literatürde altın standart olarak geçen Morris su tankı testi (Morris Water Maze) uygulanmıştır (79).

İletişim sağlamak ve yaşamı kolaylaştırmak amacıyla kullanılan bu cihazlardan uzak kalmak günümüz teknolojisini ve ihtiyaçlarını göz önünde bulundurduğumuzda gerçekten imkansızdır, ancak en azından gelişme ve öğrenme çağındaki çocukları bu zararlı etkilerden korumak ve öğrenme-bellek işlevlerinde oluşacak olumsuz etkileri en aza indirmek için kablolu ağların kullanılması ya da beslenme içeriklerinin düzenlenmesi önem arz etmektedir.

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Kullanılan Cihazlar**

##### **3.1.1. EMA Uygulamasında Kullanılan Cihazlar**

Spektrum analizör (Promax, MC-877C, Barcelona, Spain), RF Portable Survey System (Holaday, HI-4417, Minnesota, USA), 217 Hz darbeleri ve ayarlı çıkış verebilen teset vericisi RF kaynağı ve bu cihaza ait monopol anten (SET ELECO, Set Elektronik, İstanbul).

##### **3.1.2. Homojenizasyon ve Western Blot Yöntemi İçin Kullanılan Cihazlar**

Soğutmalı mikro santrifüj (Nüve NF 800R), soğutmalı makro santrifüj (Hettich Rotina 35), derin dondurucu (Indesit, -20°C), derin dondurucu (Hettich, -80°C), hassas terazi (Shimadzu AY220), vorteks (Velp Scientifica ZX Classic), otomatik pipetler (Brand transferpette), pH metre (Isolab), ısıtmalı manyetik karıştırıcı (Labart SH-5), cam-teflon homojenizatör, sonikatör (Bandenus sonicaplus), çalkalayıcı (Isolab 3D Orbital), microplate okuyucu (Organon Technica Reader 530), elektroforez cihazı (Cleaver Scientific Omnipage Mini), görüntüleme cihazı (Kodak image station 2000 MM).

#### **3.2. Kullanılan Kimyasallar**

##### **3.2.1. Homojenizasyon Tamponu İçin Kullanılan Kimyasallar**

Tris-HCl (Sigma), NaCl (Sigma), Triton X-100 (Amresco), EDTA (Sigma), EGTA (Amresco), Benzamidin (Sigma), Aprotinin (Sigma), Leupeptin (Sigma)

##### **3.2.2. Western Blot Yöntemi İçin Kullanılan Kimyasallar**

Gallik asit (Sigma), protein tayin kiti (Biorad Bradford Protein Assay), akrilamid (Merck), bisakrilamid (Amresco), tris (Sigma), glisin (Sigma), Sodyum

dodesil sülfat (SDS) (Sigma), Amonyum persülfat (APS) (Merck), TEMED (Sigma), 2-merkaptetanol (Merck), brom fenol blue (Sigma), sodyum klorür (Sigma), tween 20 (Amresco), bovin serum albumin (Amresco), triton X-100 (Amresco), immobilon-P (Millipore), kromotografi filtre kağıdı (Schleicher & Schuell GE Healthcare), metanol (Sigma), hidroklorik asit (Sigma), Anti NR2B (Cell Signalling), Anti CREB (Cell Signalling), Anti BDNF (Santa Cruz), monoklonal anti-rabbit IgG (Sigma), Beta aktin (Proteintech), BCIP/NBT Fosfataz Substrat (Sigma), Protein Standardı (Sigma), Anti-rabbit HRP antikor (Cell Signalling), HRP substrat (Millipore).

### **3.2.3. Protein Tayini İçin Kullanılan Kimyasallar**

Ticari kit kullanılmıştır (Bio-Rad Protein Assay Kit).

## **3.3. Kullanılan Çözeltiler**

### **3.3.1. Homojenizasyon Tamponu (120 ml için)**

EDTA (1 mM), EGTA (2 mM), Triton X-100 (%1), Leupeptin (100 ng/ml), Aprotinin (100 ng/ml), Tris-HCl (0,15 M), Benzamidin (10 µM)

- 1- 50 mM Tris-HCl tamponu: 0,95g Tris-HCl tartılarak 100 ml distile suda çözüldü. Tamponun pH'ı 7,5 olacak şekilde ayarlandı. 1,05 g NaCl, 0,044 g EDTA ve 1,2 ml Triton X-100 Tris-HCl tamponunun içerisine eklendi.
- 2- Benzamidin çözeltisi: 0,118 g benzamidin tartılarak 100 ml distile suda çözüldü. Bu stok çözelti içerisinden 160 µl alınarak Tris-HCl tamponu içerisine eklendi.
- 3- Aprotinin: Satın alınan hazır çözelti içerisinden 1764 µl alınarak Tris-HCl tamponuna eklendi.
- 4- Leupeptin: 5 mg tartılarak 1 ml distile su içerisinde çözüldü. Çözeltiden 600 µl alınarak Tris-HCl taponuna eklendi.

Homojenizasyon tamponu için kullanılacak tüm kimyasallar eklendikten sonra son hacim distile su ile 120 ml'ye tamamlandı.



### 3.3.2. SDS-PAGE Yöntemi İçin Kullanılan Çözeltiler

1- %30 Akrilamid: Bisakrilamid: 30 g akrilamid, 0,8 g bisakrilamid tartılıp 80 ml distile suda çözüldü. Son hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

2- %10'luk SDS çözeltisi: 10 g SDS tartılarak 80 ml distile suda çözüldü. Son hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

3- 1 N HCl çözeltisinin hazırlanışı: %37'lik HCl'den 8,6 ml alındı ve son hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

4- 4X Ayırışma Jeli Tamponu (Resolving Gel Buffer) (1,5 M Tris pH 8,8, %0,4 SDS): 36,4 g Tris 110 ml distile su içinde çözüldü. %10'luk SDS'ten bu çözeltiliye 8 ml eklendi. Çözeltinin pH'ı 1N HCl ile 8,8 olacak şekilde ayarlandı ve son hacim distile su ile 200 ml'ye tamamlandı.

5- 4X Yükleme Jeli Tamponu (Stacking Gel Buffer) (0,5 M Tris pH 6,8, %0,4 SDS): 12,12 g Tris 110 ml distile su içinde çözüldü ve üzerine %10'luk SDS çözeltisinden 8 ml eklendi. Çözeltinin pH'ı 1N HCl ile 6,8 olacak şekilde ayarlandı. Son hacim distile su ile 200 ml'ye tamamlandı.

6- %10 APS çözeltisi: 0,1 g APS tartıldı ve 1 ml distile su içinde çözüldü. Çözelti her gün taze hazırlandı.

7- TEMED: Satın alınan hazır solüsyonu kullanıldı.

8- %5'lik ayırışma jeli (Tablo 2)

**Tablo 2.** %5'lik ayırışma jeli hazırlanırken kullanılan çözelti miktarları.

Kimyasal madde	Alınan madde miktarı (ml)
Distile su	8,7
Ayırışma jeli tamponu	3,75
Akrilamid	2,5
APS (%10)	0,15
TEMED	15

9- %7,5'lik ayırışma jeli (Tablo 3)

**Tablo 3.** %7,5'lik ayırışma jeli hazırlanırken kullanılan çözeltiler miktarları.

<b>Kimyasal madde</b>	<b>Alınan madde miktarı</b>
Su	7,5 ml
Ayırışma jeli tamponu	3,75 ml
Akrilamid	3,75 ml
APS (%10)	0,15 ml
TEMED	15 µl

**10-** %5'lik yükleme jeli (Tablo 4)**Tablo 4.** %5'lik yükleme jeli hazırlanırken kullanılan çözeltiler miktarları.

<b>Kimyasal madde</b>	<b>Alınan madde miktarı (ml)</b>
Distile Su	1,525
Yükleme jeli tamponu	0,625
Akrilamid	0,325
%10 APS	0,0125
TEMED	0,0025

**11-** 2X örnek tamponu (Tablo 5)**Tablo 5.** 2X örnek tamponu hazırlanırken kullanılan çözeltiler miktarları.

<b>Kimyasal madde</b>	<b>Alınan madde miktarı (ml)</b>
Yükleme jeli tamponu	2,0
Gliserol	1,6
%10 SDS	3,2
2- Merkaptoetanol	0,8
%0,1 Brom fenol blue	0,4

**12-** Elektroforez Tamponu (5X Running Buffer, pH: 8,3)

15 g Tris, 72 g Glisin ve 5 g SDS tartılıp, 1000 ml distile su içinde çözüldü. Elektroforez aşamasında bu stok solüsyon 1:4 oranında distile su ile dilüe edilerek kullanıldı.

**3.3.3. Blotlama İşlemi İçin Kullanılan Çözeltiler**

**1-** Blotlama Tamponu (Transfer Buffer): 0,606 g Tris, 2,882 g glisin ve 1 ml %10 SDS 160 ml distile suda çözüldü. Üzerine 40 ml metanol eklendi.

2- TBST (Tris-Tween-Buffer Saline, pH: 7,5): 18,15 g Tris, 26,25 g NaCl ve 3 ml Tween 20, 2500 ml distile suda çözüldü. Çözeltinin pH'ı 1N HCl ile 7,5 olacak şekilde ayarlandı ve son hacim distile su ile 3000 ml'ye tamamlandı.

3- Bloklama Çözeltisi (%3'lük BSA): 0,6 g BSA tartılarak 20 ml TBST içinde hafifçe çalkalanarak çözüldü.

### **3.3.4. Spesifik Proteinin Saptanması İçin Kullanılan Çözeltiler**

1- Primer antikorlar: BDNF 1/500, CREB 1/1.000, NR2B 1/1.000 oranlarında dilüe edildi. Dilüsyon işlemi taze %1 BSA-TBS-t ile gerçekleştirildi.

2- Sekonder antikor: Antirabbit IgG (Alkale fosfataz konjuge) 1:10.000 olarak dilüe edildi. Dilüsyon işlemi taze %1 BSA-TBS-t ile gerçekleştirildi.

3- Sekonder antikor: Antirabbit IgG (Horse radish peroksidaz) 1:5000 olarak dilüe edildi. Dilüsyon işlemi taze %1 BSA-TBS-t ile gerçekleştirildi.

4- BCIP/NBT: Satın alınan hazır solüsyon kullanıldı.

### **3.4. Deneylerin Yürütüldüğü Laboratuvarlar ve Proje Desteği**

Bu çalışmada EMA uygulaması ve hayvanların barındırılması Süleyman Demirel Üniversitesi (SDÜ), Deney Hayvanları ve Tıp Araştırmaları Araştırma ve Uygulama Merkezi (DEHATAM)'nde gerçekleştirildi. Diğer deneysel uygulamalar ise Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yürütüldü. Çalışmamız SDÜ Bilimsel Araştırma Koordinasyon Birimi tarafından 4045-D2-14 proje numarası ile desteklendi.

### **3.5. Deney Hayvanlarının Temini ve Seçimi**

Deneysel çalışmamızda 6 haftalık, 70-100 gram ağırlığında, 48 adet, sağlıklı, erkek, Sprague-Dawley cinsi sıçanlar kullanıldı. Tüm deney hayvanları, Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları ve Tıp Araştırmaları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edildi. Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Deney

Hayvanları Etik Kurulu'nun 05.06.2014 tarihli ve 02 nolu kararı ile kabul edildi. (EK-1)

### **3.6. Deney Hayvanlarının Bulunduğu Farklı Ortam Koşulları**

#### **3.6.1. EMA Uygulanan Grupların Bulunduğu Ortam Koşulları**

EMA'ya maruz bırakılan deney gruplarının (Tablo 6), dış elektromanyetik kaynaklardan etkilenmemesi ve içeride oluşturulan EMA dozunun sabitlenmesi amacıyla SDÜ DEHATAM'daki temiz oda (EMA yalıtımlı) kullanıldı. EMA yalıtımı IEEE standartlarına uygun olarak, yakın alan ölçümlerinin yapılabilmesi için gerekli olan ekranlama verimliliği şartlarını sağlayan özellikte krom-nikel malzemeden hazırlanan 1 mm kalınlığındaki paslanmaz çelik özellikteki levhalar kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Resim 2). Temiz odanın sıcaklığı  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ , rölatif nemi %55, elektromanyetik yalıtımı 80 desibel'dir.

#### **3.6.2. EMA Uygulanmayan Grupların Bulunduğu Ortam Koşulları**

EMA uygulanmayan gruplardaki hayvanlar için (Tablo 6), EMA yalıtımlı oda ile aynı ışık şiddeti, nem ve sıcaklığa sahip olan ayrı bir oda kullanıldı.

#### **3.6.3. EMA Uygulaması Sonrası Tüm Gruplara Ait Barındırma Koşulları**

3 saatlik EMA uygulamasının ardından tüm gruplar bir sonraki EMA uygulamasına kadar strainerlardan çıkarıldı ve kendilerine ait polikarbonat şeffaf kafeslere (eurotype 4, 35x57x19 cm boyutlarında) yerleştirilerek,  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$  sıcaklığında, rölatif nemi %55 olan, 12 şer saatlik aydınlık-karanlık döngüsünün uygulandığı kontrollü odaya alındı. Çeşme suyu ve standart pellet yem (*ad libitum*) ile beslendi.

### 3.7. GA'nın Hazırlanışı ve Veriliş Yolu

Bütün hayvanlar, ilk enjeksiyondan önce tartılarak ağırlıkları saptandı ve böylece uygulanacak ilaç miktarları hesaplandı. GA'nın dozu yapılan literatür araştırması sonucunda 30 mg/kg olarak belirlendi (132). GA distile suda çözdürülerek hayvanlara 30 mg/kg dozunda intragastrik gavaj yöntemi ile verildi.

### 3.8. Deney Gruplarının Oluşturulması

Deney hayvanları arasından rastgele seçimle her birinde 12 adet olmak üzere toplam dört farklı grup oluşturuldu (Tablo 6). Hayvanların deney öncesi ağırlık ölçümleri yapıldı ve gruplar oluşturulurken gruplar arası ağırlık ortalaması standardize edildi.

**Grup 1: EMA;** 30 gün boyunca 09:00-12:00 saatleri arasında günde 3 saat EMA uygulaması yapıldı. 3 saat uygulamasına literatür incelemesi sonucu karar verildi (8). İntragastrik gavaj stresini gruplar arasında standardize etmek amacıyla bu gruptaki hayvanlara EMA uygulamasından önce 0,1 ml distile su verildi ve sabitleyicilere (restrainer) yerleştirildi.

**Grup 2: EMA+GA;** 30 gün boyunca 09:00-12:00 saatleri arasında günde 3 saat EMA uygulaması yapıldı. Uygulamadan hemen önce 30 mg/kg dozunda GA verildi ve hayvanlar sabitleyicilere yerleştirildi.

**Grup 3: GA;** 30 gün boyunca 30 mg/kg dozunda GA verildi ve hayvanlar sabitleyicilere yerleştirilerek 3 saat bekletildi.

**Grup 4: Sham;** 30 gün boyunca 0,1 ml distile su verildi ve hayvanlar sabitleyicilere yerleştirilerek 3 saat bekletildi.

**Tablo 6.** Deney gruplarının oluşturulması ve uygulama protokolü ( $n=12$ ).

Grup Numarası	Grup Adı	EMA (3 saat/gün, 2450 MHz)	GA (30 mg/kg)	Distile Su (0,1 ml)	Kısıtlama (sabitleyici)
1. Grup	EMA	+	-	+	+
2. Grup	EMA+GA	+	+	-	+
3. Grup	GA	-	+	-	+
4. Grup	Sham	-	-	+	+

EMA: Elektromanyetik alan, GA: Gallik asid, MHz: Megahertz

### 3.9. Elektromanyetik Alan (EMA) Uygulaması

#### 3.9.1. EMA Maruziyet Tasarımı

Deneysel çalışmamızda EMA uygulaması, “Ferris Wheel” ya da “Carousel setup” şeklinde isimlendirilen bir maruziyet düzeneği ile tasarlandı (134). Maruziyet düzeneği esas alınarak, hayvanların immobilize edilmesi ve ilgili dokunun absorbe ettiği EMA dozunun doğru bir şekilde hesaplanabilmesi için sabitleyiciler kullanıldı. EMA uygulaması yapılan gruplar bir anten etrafında 12 hayvan olacak şekilde yerleştirildi ve antene olan mesafeleri ölçülerek eşitlendi (Resim 1).

Sabitleyici uygulaması hayvanlarda kısıtlama stresine neden olmaktadır. Bu nedenle, tüm gruplarda söz konusu kısıtlama stresini standardize etmek için EMA uygulanmayan gruplardaki hayvanlar da sabitleyiciler içine yerleştirildi ve yukarıda ortam koşulları belirtilen ayrı bir odada 3 saat boyunca bekletildi.



**Resim 1.** Carousel setup düzeneğine göre 12'li maruziyet tasarımı.

#### 3.9.2. EMA Deney Düzeneği

Deney başlangıcında RF enerjinin kontrol edilmesi ve gözlenmesi amacıyla kullanılan cihazlar SDÜ Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Elektronik ve Haberleşme Mühendisliği Bölüm Laboratuvarları'ndan temin edildi. Darbe

tekrarlama zamanı ve frekansın ölçülmesi için spektrum analizör kullanılmış olup, ortamda istenmeyen EMA'ların gözlenmesi için RF Portable Survey System cihazı kullanıldı.

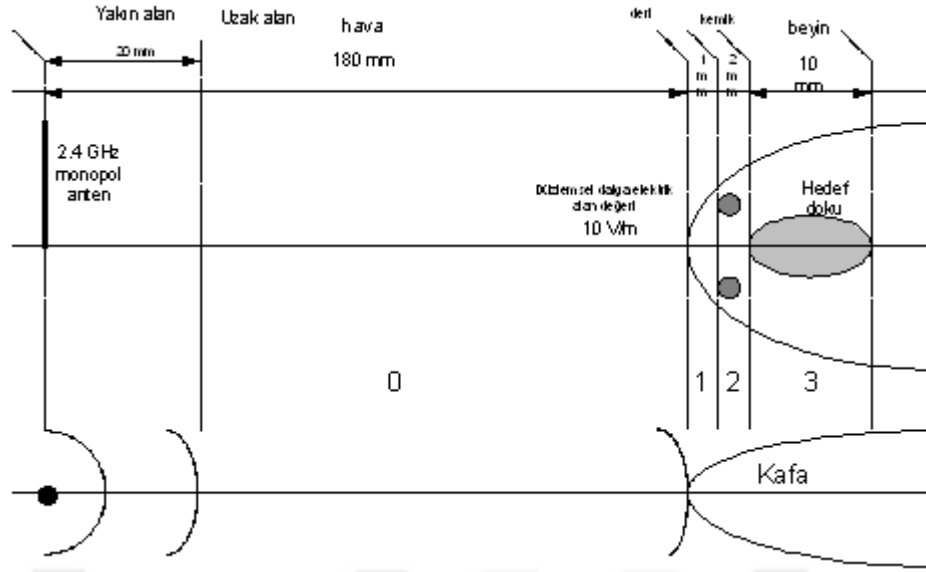
DeneySEL 2450 MHz EMA maruziyeti için, 217 Hz darbeleri ve ayarlı çıkış verebilen teset vericisi RF kaynağı (Resim 2) ve bu cihaza ait monopul anten kullanıldı.



**Resim 2.** 217 Hz darbeleri ve ayarlı çıkış verebilen teset vericisi RF kaynağına bağlı monopul antenler ve EMA yalıtımlı oda

### 3.9.3. EMA Uygulamasında Yapılan Teknik Hesaplamalar

Deneyin boyutlandırılması ve fiziksel durumu aşağıdaki ölçeKSİZ çizimde verilmektedir (Şekil 8). Düzlemsel bir EM dalganın  $c$  boşlukta dalga (ışık) hızı, açısal hız, ortamın bağıl dielektrik sabiti ve ortamın bağıl permeabilitesi ( $=1$ ) dir. Bu düzlemsel dalga ideal koşullarda biyolojik ortama dik biçimde çarparsa ve 2450 MHz'te sıçan dokuları için, iletkenlik; permeabilite, özgül ağırlık değerleri bilimsel literatürde verilen tablolardan bulunabilir (135).



Şekil 8. Düzeneğin fiziksel çizimi (ölçeksiz).

Birinci ortam havadır, yani dalga havadan gelip sıçanların önce burunlarına çarpmaktadır. Antenden çarpma noktasına kadar mesafe 180 mm'dir. Çarpma noktasında ölçülen elektrik alan değeri 10 V/m olacak şekilde test vericisinin gücü ayarlandı ve sabitlendi. Ev ve ofislerde kullanılan ticari modemler (internet access point) 1 m yakınlarında da 10 V/m kadar alan oluşturmaktadırlar. Çizimden görüleceği gibi hedef doku uzak alan bölgesinde bulunmaktadır. Bilindiği gibi yakın-uzak alan sınırı  $\lambda/2\pi$  olacağından, bu sınır 1,9 cm kadardır. Uzak alanda yayılım düzlemsel dalga olmaktadır (136).

İkinci ortam 1 mm kalınlığında deri dokusudur. Deri için iletkenlik 1.05 S/m, bağıl dielektrik sabiti (permitivite) 29 dur. 2. Ortam 2 mm kalınlığındaki kemik katmanıdır. Kemik için iletkenlik çalışma frekansında 0.55 S/m ve dielektrik sabiti 16'dır. Daha sonra 10 mm boyunca hedef dokudur. Beyin doku için iletkenlik 1.25 S/m ve dielektrik sabiti 42 verilmektedir (137, 138).

Biyolojik dokular gibi kayıplı ortamlarda RF bandında EM dalga zayıflayarak aşağıdaki yayılma denklemi ile ilerler;

$$\gamma = j \frac{\omega}{c} \sqrt{\epsilon_r \mu_r} \sqrt{1 - j \frac{\sigma}{\omega \epsilon_0 \epsilon_r}}$$



Burada  $\omega$  dalganın açısal frekansı,  $c$  ışık hızı,  $\epsilon_r$  ortamın bağıl dielektrik sabiti,  $\mu_r$  ortamın bağıl manyetik permeabilitesi,  $\sigma$  ortamın iletkenliğidir.  $\gamma = \alpha + j\beta$  olarak da yazılabilir. Burada  $\alpha$  ortamın zayıflama,  $\beta$  ise faz katsayısı olarak elde edilir. Bir boşluk ortamında  $|E_0|$  genliği ile ilerlerken, başka bir ortama ideal koşullarla giren dalga yeni ortamda  $|E|$  genliğine sahip olacaktır.  $|E| = |E_0| \times e^{-\gamma d}$  olarak bulunur.  $|E_n|$ ,  $n$  inci ortamdaki elektrik alanın hesaplanacak değeridir.  $\gamma_n$ ,  $n$  inci ortamda yayılma değişmezi ve  $d_n$ ,  $n$  inci ortam kalınlığıdır (139).

Dokuların elektriksel özellikleri ve yayılım formülünün kullanılması ile katmanlı modelimizde;

İlk doku-hava sınırında Elektrik Alan=10 V/m

İlk doku olan deri bitiminde elektrik alan 8.16 V/m

Kafatası doku bitiminde elektrik alan 5.41 V/m olmalıdır. Bu son değerindeki alan beyin dokuya ulaşmakta, hedef doku içinde zayıflayarak ilerleyen alan doku bitiminde 0.18 V/m değerini almaktadır. Demek ki dokuyu kat ederken EM enerji zayıflamakta ve 2.6 V/m değerinde elektrik alan ile enerjisini bırakmaktadır. Literatürdeki kaynaklar dokuda absorbe edilen enerjinin SAR değeri ile ısı enerjisi ve sıcaklık yükselmesi yaratacağını belirtmektedir (140).

$$SAR = (E^2\sigma)/\rho \text{ W/kg}$$

Yukarıda verilen fiziksel uzaklıklar, ortam elektriksel özellikleri ve elektromanyetik eşitliklerin kullanılması ile dokuda indüklenen ortalama SAR değeri 8.45 mW/kg olarak hesaplandı (140).

### 3.10. Su Tankı Testi (Morris Water Maze)

Öğrenme ve belleği değerlendirmek amacıyla Morris tarafından modellenen Morris su tankı testi kullanıldı (84). Öğrenme testleri ile ilgili tüm denemeler aydınlık/karanlık siklusun aydınlık fazında, günün hep aynı saatinde ve sessiz bir ortamda gerçekleştirildi. Deneyin uygulandığı oda, dışarıdan güneş ışığı almayacak

şekilde tasarlandı. Hayvanın görsel ipuçlarına odaklanabilmesi için odanın aydınlatması, su tankını çevreleyen ve ışığı duvara yansıtan dört adet halojen lamba ile sağlandı. Deney süresince odada hiçbir şeyin yeri değiştirilmedi. Deneyi yapan kişi denemeler sırasında hep aynı noktada durdu. Odada bulunan kişilerde kıyafet ve parfüm değişikliği yapılmadı.

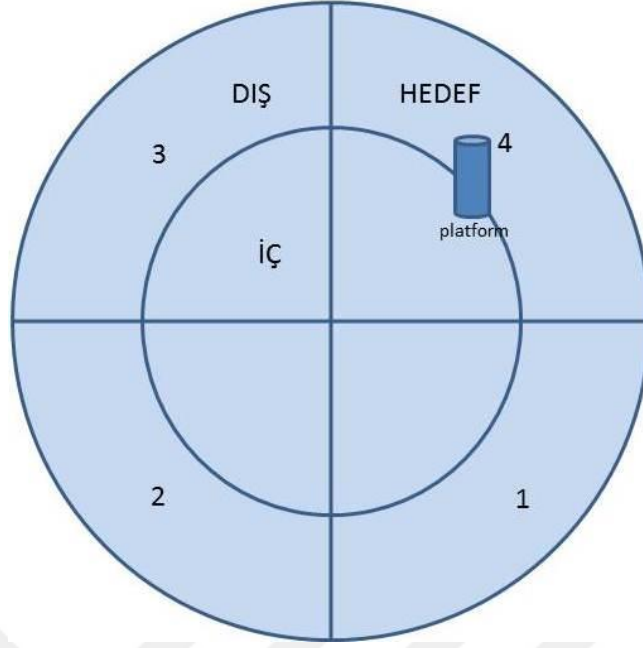
Kullanılan su tankı 150 cm çapında, 80 cm yüksekliğinde, iç yüzeyi beyaza boyanmış ve galvanik metalden yapılmış dairesel bir havuzdur. Havuz, hedef platformun üzerini 2 cm yüksekliğinde örtecek kadar su ile dolduruldu. Suyun sıcaklığı  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlandı ve deney boyunca her gün sıcaklık kontrolü yapıldı. Su, toksik olmayan bir boya ile opaklaştırıldı. Su tankının etrafına hayvanın yer bulmasını kolaylaştırmak için çeşitli sabit görsel ipuçları asıldı.

Su tankındaki tüm egzersizler, havuzun tam orta noktasına gelecek şekilde tavana monte edilmiş bir kamera ile kaydedilerek bilgisayara aktarıldı. Bilgisayara aktarılan veriler, Smart Versiyon 2.5 (SmartVideo-Tracking, Panlab, Barcelona, İspanya) bilgisayar yazılımı ile analiz edildi. Tüm egzersizlerden sonra hayvanlar, kafeslerine geri bırakılmadan önce bir havlu yardımı ile 40-W beyaz ampul altında tutularak kurutuldu.

Su tankı testinde yapılan uygulamalar; öğrenme egzersizleri, probe trial test ve görünür platform testi olmak üzere 3 aşamada gerçekleştirildi.

### **3.10.1. Öğrenme Egzersizleri**

Su tankı, her kadran iç ve dış olacak şekilde sekiz hayali kadrana ayrıldı (Şekil 9). Dördüncü kadran, hedef kadran olarak belirlendi ve platform bu kadrana yerleştirildi. Egzersizler boyunca platformun yeri değiştirilmedi. Hayvanların havuza bırakılma noktaları her gün sistematik olarak değiştirildi (Tablo 7). Her hayvan, yüzü tankın duvarına bakacak şekilde ve grup içi randomize olarak havuza bırakıldı. Testin cut off süresi 60 s olarak belirlendi. Her çalışma günü dört egzersiz gerçekleştirildi ve egzersizler arasında 10 dakika ara verildi.



Şekil 9. Su tankının kadrana ayrılması

#### 3.10.1.1. Birinci ve 5. Günler Arası Öğrenme Egzersizleri

Birinci gün, hedef kadrana yerleştirilen platform su seviyesinin 2 cm altında kalacak şekilde gizlendi. Her hayvan, **hedef kadrana dahil** tüm kadrardan tablo 7’de belirtilen sıraya göre havuza bırakıldı. Cut off süresinin sonunda hayvan gizli platforma ulaşamazsa platforma yönlendirildi. Platforma çıktıktan sonra, 30 s boyunca burada dinlenmesine ve çevresini incelemesine izin verildi.

İkinci günden itibaren her hayvan, **hedef kadrana dışındaki** kadrardan tablo 7’de belirtilen sıralamaya göre havuza bırakıldı. Egzersizler, hayvan platforma tırmandığında sona erdi. Cut off süresinin sonunda hayvan platforma ulaşamazsa yönlendirme uygulaması yapılmadan sudan alındı. Beşinci günün sonunda ise, her hayvan mekansal ipuçlarını ve yönsel stratejileri kullanarak toplamda 20 öğrenme egzersizi yaptı ve bu şekilde eğitim dönemini tamamladı.

**Tablo 7.** Öğrenme egzersizlerinin değerlendirilmesinde kullanılan kadrانların günlere bağlı uygulama protokolü.

Günler	Platform	Kadran			
1	Gizli	1	4 (hedef)	2	3
2	Gizli	2	1	3	1
3	Gizli	1	3	2	3
4	Gizli	3	2	1	2
5	Gizli	2	1	3	1

### 3.10.2. Probe Trial Test

Altıncı günde “Probe Trial” adı verilen test gerçekleştirildi. Beş günlük öğrenme egzersizleri süresince, mekansal ipuçlarını kullanarak platformun yerini öğrenip öğrenmediklerini ölçmek amacıyla hayvanlar bu teste tabi tutuldu. Bu nedenle, hedef kadrانdaki (4. kadran) gizli platform kaldırıldı. Platform kaldırıldıktan sonra hayvanların hedef kadrانda geçirdikleri süre, hedef kadrانda katedilen mesafe, ortalama yüzme hızları ve cut off süresi boyunca katedilen toplam mesafe mekansal hafızanın ölçütü olarak değerlendirildi. Bu testte 2 egzersiz uygulandı. Birinci egzersizde hayvanlar 1. kadrانdan, 2. egzersizde ise 2. kadrانdan havuza bırakıldı.

### 3.10.3. Görünür Platform Testi

Hayvanlara probe trial testi takiben aynı gün görünür platform testi uygulandı. Bu uygulama ile suyu opaklaştırmak için kullanılan boyanın, hayvanlar üzerinde görme ve motivasyon yeteneği ile anksiyete üzerine negatif etkilerinin olup olmadığı değerlendirildi. Platform, bir kısmı suyun üzerinde kalacak şekilde su seviyesi azaltılarak görünür hale getirildi ve platformun suyun üzerinde kalan yüzeyi boyandı. Bu testte 2 egzersiz uygulandı. Birinci egzersizde görünür platform 2. kadrان, ikinci egzersizde ise 3. kadrان taşındı. Hayvanlar her iki egzersizde de 4. kadrانdan havuza bırakıldı.

Öğrenme egzersizleri, probe trial test ve görünür platform testi olmak üzere 3 aşamadan oluşan su tankı testine ait tüm parametreler tablo 8’de sunuldu.

**Tablo 8.** Su tankı testinde değerlendirilen parametreler.

<b>Öğrenme Egzersizleri (1.-5. Günler arası)</b>	<b>Probe Trial test (6. Gün)</b>	<b>Görünür Platform Testi (6. Gün)</b>
Hedef Platformu Bulma Süresi	Hedef Kadranda Geçirilen Süre	Hedef Platformu Bulma Süresi
Hedef Kadranda Geçirilen Süre	Hedef Kadranda Katedilen Mesafe	
Yüzme Hızı	Yüzme Hızı	Yüzme Hızı
Katedilen Mesafe	Katedilen Mesafe	Katedilen Mesafe
Dış Kadranda Geçirilen Süre		
Dış Kadranda Katedilen Mesafe		
Dış Kadranda Yüzme Hızı		

### 3.11. Dekapitasyon İşlemi

Altı günlük mekansal öğrenme ve hafıza testinden 24 saat sonra deney sonlandırıldı. İntraperitoneal yolla uygulanan Ketamin HCl (90 mg/kg) + Xylazine HCl (10 mg/kg) anestezisi altında dekapitasyon gerçekleştirildi.

### 3.12. Hipokampus Dokularının Alınması

Dekapitasyon işleminin hemen ardından hayvanların kafatası açılarak beyin dokuları çıkarıldı. Dokular, buz aküleri üzerine yerleştirilen soğuk fosfat tamponuyla ıslatılmış filtre kağıtları üzerine alındı. Hipokampus dokuları, beyin dokusundan diseke edilerek ayrıldı. Tüm bu işlemler sırasında her iki dokuya da zarar vermemeye ve soğuk zincirin sürdürülmesine özen gösterildi. Çıkarılan hipokampus dokuları, yapılacak analizlere kadar -80 °C'lik derin dondurucuda muhafaza edildi.

#### 3.12.1. Hipokampus Dokularının Homojenizasyonu

Aynı grupta bulunan farklı hayvanlara ait hipokampus dokuları tartıldı ve yeterli protein konsantrasyonunu sağlamak amacıyla 2-3 hipokampus 1 örnek oluşturacak şekilde birleştirildi. Birleştirilen dokular, 1:5 oranında homojenizasyon tamponu ile karıştırıldı. Öncelikle, doku teflon-cam homojenizatör ile 18-20 darbeye parçalandı ve ardından 1 dk'lık sonikasyon ile homojenizasyon işlemi tamamlandı.

Homojenizasyon ve sonikasyon işlemleri, içerisinde buz bulunan beherlerde gerçekleştirildi. Homojenize edilen doku örnekleri +4 °C’de ve 10000 g’de 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlardaki protein miktarı, Bradford yöntemi ile spektrofotometrik olarak ölçüldü. Son olarak süpernatantlar 0,5 ml’lik hacimlere bölünerek yedeklendi ve -20 °C’lik derin dondurucuda muhafaza edildi.

### **3.13. Western Blot Yöntemi**

#### **3.13.1. Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamit Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)**

##### **3.13.1.1. Yöntemin Genel Prensibi**

Elektroforez yöntemi, bir karışım içinde hedeflenen bir proteini özgün bir şekilde saptamak için kullanılan en genel yöntemdir. Bir proteinin büyüklüğü ve alt birimlerinin niteliği SDS poliakrilamit elektroforezi ile belirlenebilir. Proteinler içerdikleri amino asitlere bağlı olarak genellikle net bir artı veya eksi yüke sahiptir. Protein molekülünü içeren bir çözeltiye elektrik alan uygulandığında protein net yüküne, büyüklüğüne ve biçimine bağlı olarak belirli bir hızla hareket eder (141). (Şekil 10).

Bu yöntemde proteinlerin içinde hareket ettiği ortam olarak çok sayıda çapraz bağı bulunan poliakrilamit jel kullanılır. Jel monomerlerin polimerleşmesi ile hazırlanır, gözeneklerin boyutu istenilen proteinin ilerlemesini geciktirecek ölçüde küçük olarak ayarlanır. Jel sentetik bir madde olan akrilamit ile akrilamit türevi olan N-N’-metilen bisakrilamidin polimerleşmesiyle oluşturulur ve örnekler bu jel üzerinde yürütülür. Polimerleşme reaksiyonunda akrilamit molekülleri yan yana bağlanarak düz zincirler oluştururlar. Bisakrilamit molekülleri ise iki akrilamit zinciri arasında çapraz bağlanmalar oluşturur. Polimerleşme derecesi sıcaklık, pH, amonyum persülfat (APS) ve N,N,N’,N’-tetrametil-etilendiamin (TEMED) miktarına göre farklılık gösterir. Polimerleşme için serbest radikal oluşumuna sebep olan APS reaksiyon başlatıcı, TEMED ise katalizör olarak rol oynar. Proteinler sulu çözelti içinde değil, güçlü eksi yük taşıyan bir deterjan (SDS) içeren bir çözelti içinde bulunur. Deterjan proteinlerin hidrofobik alanlarına bağlanarak protein yapısının

açılmasına, bağlı proteinlerin birbirinden ya da lipit moleküllerinden ayrılmasına ve deterjan çözeltisi içinde serbestçe yüzer durumda kalmasına ve tüm proteinlerin eşit yükü yüklenmesini sağlayarak proteinlerin moleküler ağırlıklarına göre ayrılmasına neden olur. Ayrıca, proteinlerdeki S-S bağlarını kırmak amacıyla betamerkaptoetanol gibi bir indirgeyici ajan kullanıldığında çok alt birimli molekülleri oluşturan polipeptitlerin ayrı ayrı analizi mümkün olur. Yöntem polipeptitleri büyüklüklerine göre ayırdığından molekül ağırlıkları ve protein kompleksindeki alt birimlerin bileşimi hakkında bilgi verir (141).

Bu çalışmada, proteinlerin elektroforetik alanda iyi ayrışmasını sağlayan SDS-PAGE, Laemmli (1970)'nin yöntemi esas alınarak çalışılmıştır (142).

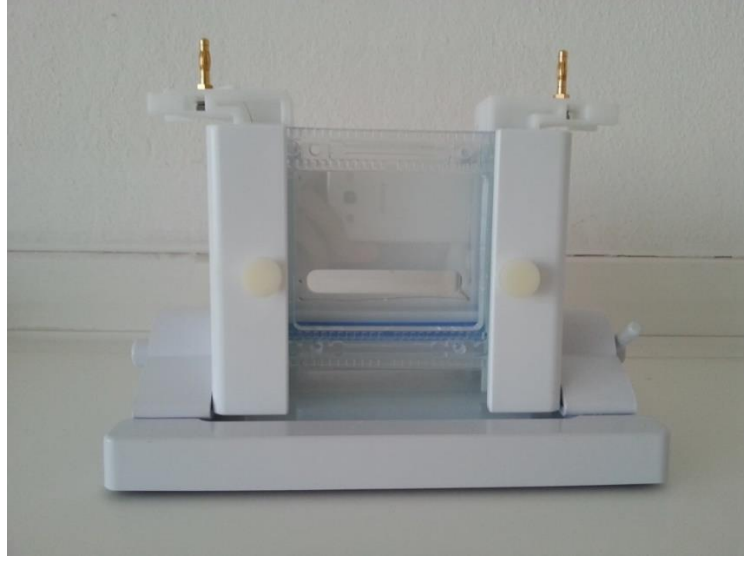
### **3.13.1.2. Jeller Hazırlanırken Kullanılan Reaktif Miktarları**

Ayrışma Jeli: Ölçülecek olan parametrelerin molekül ağırlığına uygun jel yüzdesi seçildi. NR2B (190 kDa) için %5'lik, CREB (43 kDa) ve BDNF (32 kDa) için %7,5'luk jel kullanıldı. Jeller tabloda gösterilen miktarlar pipetlenerek hazırlandı ve kullanıldı (Tablo 2, Tablo 3).

Yükleme Jeli (%5): Tablo 4'te gösterilen miktarlarda reaktifler pipetlenerek hazırlanan %5'lik jel kullanıldı.

### **3.13.1.3. Jelin Dökülmesi İşlemi**

Jelin döküleceği camlar, üzerlerinde olabilecek partiküllerin jeli bozmaması ve proteinlerin düzgün bir şekilde yürümesini sağlamak için distile su ile yıkandı, %70'lik alkolden geçirildi ve havada kurutuldu. Camlar kurduktan sonra arka (kalın) ve ön (ince) camlar aynı hizaya getirilerek birleştirildi ve dikey olarak jel dökme aparatına yerleştirildi (Resim 3). Hazırlanan ayrışma jeli üstten 1-1,5 cm boşluk bırakılarak camlar arasına pipetlendi. 45 dakika boyunca jelin donması için beklendi. Camların arasına on iki kuyucuklu tarak yerleştirildi. Yükleme jeli hazırlanarak camlar arasına pipetlendi. Yükleme jelinin oda ısısında tamamen donması için yaklaşık 30 dakika beklendi ve numunelerin hazırlanması işlemine geçildi.



**Resim 3.** Jel dökme aparatı

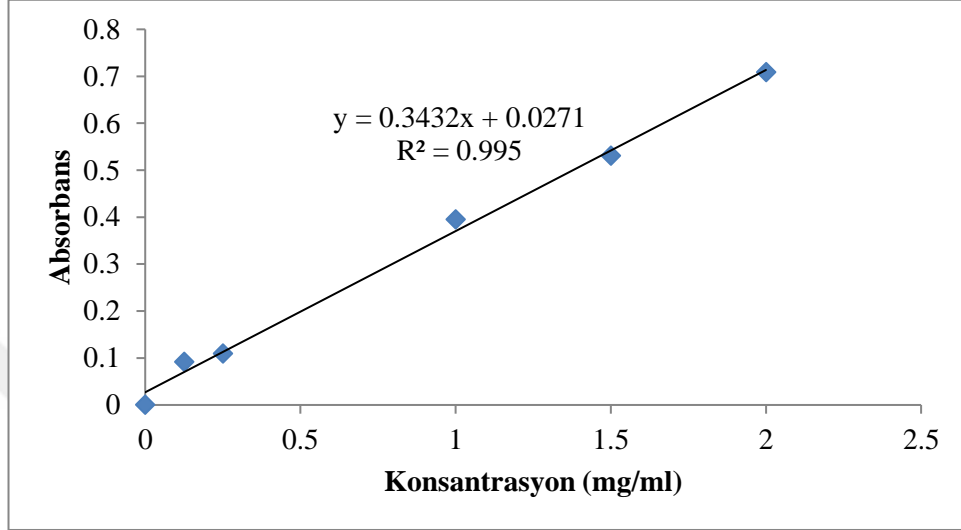
#### **3.13.1.4. Numunelerin Hazırlanması ve Protein Tayini**

Protein tayini için Bradford yöntemi (139) kullanıldı. Bradford yöntemi Coomassie brilliant blue (parlak mavisi) G-250 boyasının farklı konsantrasyonlardaki proteinlere bağlanarak, değişik renk şiddetinde mavi renkli çözeltiler ortaya koymasından yararlanılarak geliştirilmiştir. Mavi rengin oluşmasında proteinin aminoasit bileşimi önemlidir. Yöntemde temel alınan olgu, boya normal şartlarda 465 nm'de maksimum absorban verirken, protein ile bağlandığı zaman 595 nm dalga boyunda maksimum absorban vermesidir. Bu ölçüm duyarlıdır ve 1,2 mg/ml altındaki protein düzeyleri ölçümü için tasarlanmıştır. Çalışmamızda hipokampus dokusundaki protein tayini ticari kit kullanılarak yapıldı.

- 1- Kitin içerisinde bulunan liyofilize haldeki BSA 20 ml distile su ile sulandırıldı ve homejen bir çözelti oluşana kadar karıştırıldı.
- 2- Boya reaktifi 1:5 oranında distile su ile dilüe edildi ve filtre kağıdından süzüldü.
- 3- 0,125; 0,25; 1; 1,5; 2 mg/ml'lik BSA standartları hazırlandı.
- 4- Hazırlanan standartların her birinden ve hipokampus örneklerinden 100 µl alınarak temiz test tüplerine konuldu.
- 5- Her test tüpüne 5 ml dilüe boya reaktifinden eklendi ve vortekslendi.



- 6- Oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi.
- 7- Absorbanslar 595 nm’de spektrofotometrede ölçüldü.
- 8- Dokudaki protein miktarı aşağıdaki standart grafiği kullanılarak hesaplandı.



**Grafik 1.** Protein standart grafiği

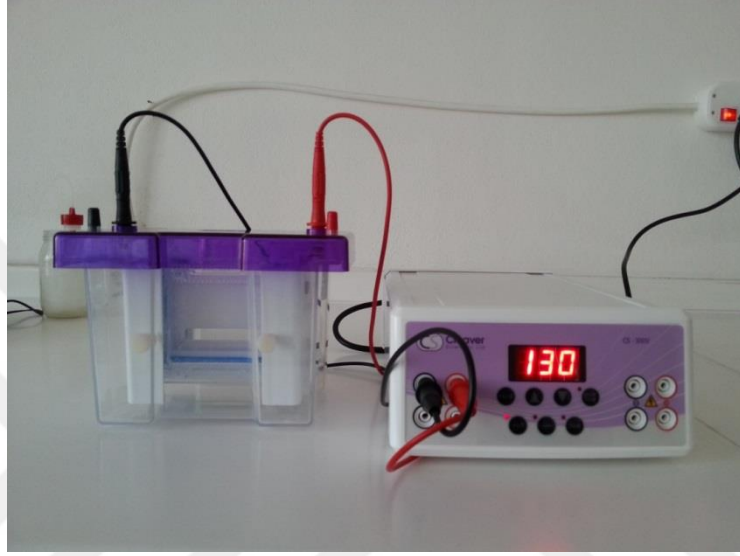
Protein miktarları tayin edilen hipokampus doku süpernatantları, -20 °C’deki derin dondurucudan çıkartılarak buz üzerine alındı. Daha sonra, ekilmesi gereken örneklerin hacim hesaplaması, kuyucuk başına son protein konsantrasyonu 50 µg olacak şekilde yapıldı. Üzerine 1:1 oranında 2X örnek tamponu (sample buffer) (Tablo 5) eklendi ve örnekler tampon ile iyice karıştırıldı.

Örnek tamponu ile karıştırılan örnekler 95°C sıcaklıkta 5 dakika boyunca kaynatılarak denatüre edildi. Belirlemek istediğimiz proteinin molekül ağırlığını saptamaya yarayan protein standardı da kaynatma işlemine tabi tutuldu. Kaynatma işleminden sonra örnekler jele yüklemek için hazır hale getirildi.

### **3.13.1.5. Örneklerin Kuyucuklara Yüklenmesi ve Elektroforez Yöntemi ile Yürütülmesi**

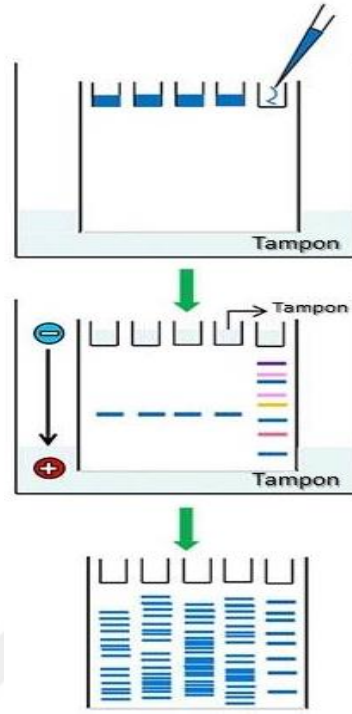
Taraklar kuyucukların bozulmamasına dikkat edilerek yavaşça kaldırıldı. Tarağın oluşturduğu kuyuların içi, enjektör ile hava verilerek temizlendi. Jellerin bulunduğu camlar aparattan çıkartılıp, elektroforez tankına yerleştirildi.

Elektroforez tankı, alt bölümündeki işaretli yere (elektrodun temas edebileceği bir yüksekliğe) kadar elektroforez tamponu ile dolduruldu. İlk kuyuya, molekül ağırlıkları bilinen proteinleri içeren marker (8  $\mu$ l), diğer kuyulara da hazırlanan numuneler pipetlendi (Şekil 10). Örneklerin yüklenmesi tamamlandıktan sonra, elektroforez tankı kapatıldı. Tanka bağlanan güç kaynağı 130 V, 40 mA değerlerine ayarlanarak elektroforez işlemi +4°C’de başlatıldı (Resim 4).



**Resim 4.** Elektroforez sistemi ve güç kaynağı

Kuyucuklara yüklenen örnekler, örnek tamponu içinde yer alan boya nedeniyle jel üzerinde mavi bantlar oluşturdu (Şekil 10). Jelde oluşan bantlar, jelin alt ucuna 0,5 cm mesafe kalana kadar (yaklaşık 1,5 saat) yürütüldü. Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra camlar elektroforez tankından çıkarıldı, plastik bir cetvel yardımı ile üstteki ince cam kaldırıldı. Kalın cam üstünde kalan jelin üst kısmındaki yükleme jeli kesilerek atıldı. Altta kalan ayırışma jeli, blotlama işlemi için hazır hale getirildi.



**Şekil 10.** Örneklerin yüklenmesi ve elektroforez işlemi (143).

### 3.14. Ayrışma Jelinin Membrana Aktarılması (Blotlama İşlemi)

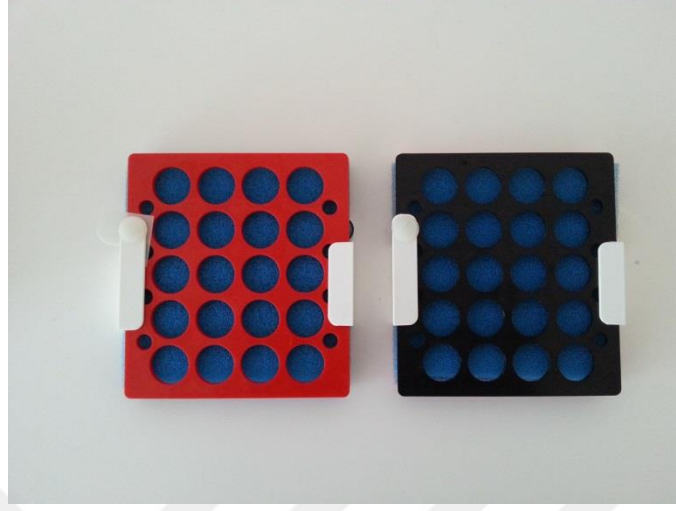
#### 3.14.1. Blotlama İşleminin Genel Prensibi

Membran üzerindeki 1-5 ng kadar az miktardaki proteini saptamaya duyarlı bu yöntem, ardışık 2 aşamadan oluşur. Önce jel üzerindeki proteinler, boyama yapılmaksızın sabit bir yüzeye (membran) aktarılır; sonra da hedeflenen protein özgün bir belirteçle saptanır. Yaygın olarak immünolojik belirteçler kullanılır. Bu aşamada protein kendisine özgü antikorla işleme tabi tutulur.

#### 3.14.2. Blotlama İşlemi

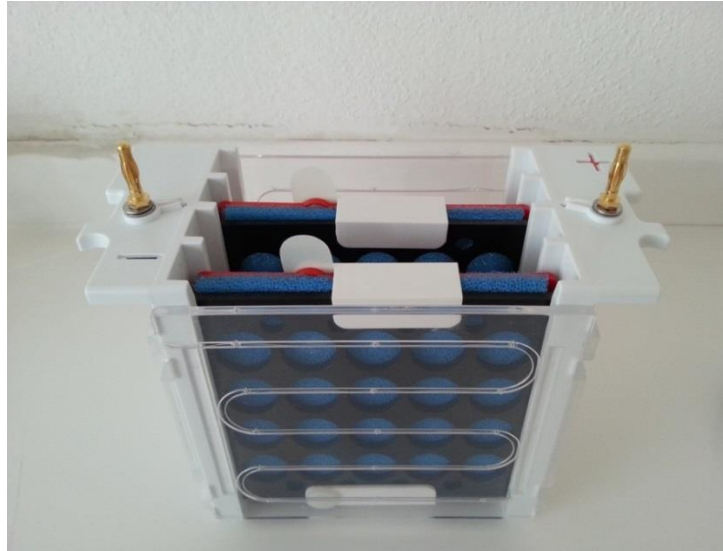
Polivinilidin Florür (PVDF) membran ve iki tane kurutma kağıdı jel boyutlarında kesildi. Membran 15 s %99,7 metanolde aktiveleştirildi ve ardından distile su içinde 2 dk boyunca bekletildi. İki adet sünger, membran ve kurutma kağıtları soğuk transfer tamponu içinde 15 dk bekletilerek iyice ıslanmaları sağlandı. Sandviç aparatının içerisine sırası ile en alta transfer tamponu ile doyurulmuş sünger,

bir kat kurutma kağıdı, PVDF membran, jel, bir kat kurutma kâğıdı ve sünger yerleştirilerek kapatıldı (Tablo 9, Resim 5).



**Resim 5.** Blotlama işlemi için kullanılan sandviç aparatları

Hazırlanan sandviç aparatı, jel anot tarafına membran katot tarafına gelecek şekilde transfer tankına yerleştirildi (Resim 6). Tanka bağlanan güç kaynağı, 100 V ve 350 mA değerlerine ayarlanarak transfer işlemi başlatıldı. +4°C’de 60 dakika boyunca transfer işlemine devam edildi. Bu sürenin bitiminde membran, aparattan çıkarıldı ve antikor ile işaretlemeye hazır hale getirildi.



**Resim 6.** Sandviç aparatının transfer tankına yerleştirilmesi

**Tablo 9.** Sandviç aparatında oluşturulan transfer katmanları.

Anod
Sünger
Kurutma Kağıdı
PVDF Membran
Poliakrilamid Jel
Kurutma Kağıdı
Sünger
Katod

### 3.15. Spesifik Proteinin Saptanması

Antikor ile işaretlemeye hazır hale getirilen membran, temiz bir kaba alındı. 10 dk boyunca TBST çözeltisi ile iki kez yıkandı. Yıkama işlemi sonrasında, membranın üzerine bloklama çözeltisi eklenerek 30 dakika süre ile oda sıcaklığında çalkalayıcıda bırakıldı. Süre sonunda bloklama işlemi bitirildi ve BSA çözeltisi döküldü. Hedeflenen proteine özgü primer antikorlar TBST ile dilüe edildi. İncelenecek her bir antikor, membran üzerine eklenerek +4°C'deki buzdolabına yerleştirilen çalkalayıcı üzerinde 1 gece boyunca bekletildi. Ertesi sabah çözelti dökülüp, membran 3 kez 10'ar dk'lık periyotlar halinde TBST ile yıkandı. Bu işlem ile zayıf bağlı ya da bağlanmamış antikorlar membran üzerinden uzaklaştırıldı. Enzim işaretli sekonder antikor, TBST ile dilüe edilerek membranın üstünü örtecek miktarda eklendi. Membran oda ısısındaki çalkalayıcıda 60 dk boyunca çalkalandı. Süre sonunda membran tekrar 3 kez 10'ar dk'lık periyotlar halinde TBST ile yıkandıktan sonra boyama işlemine geçildi. Satın alınan hazır BCIP/NBT solüsyonu kullanılarak bantlar görünür hale gelene kadar boyama işlemi gerçekleştirildi. Boyama işlemi tamamlanınca membranlar Kodak Image Station 2000 MM cihazı ile görüntülendi. Her bir reseptör için elde edilen bantların optik dansiteleri Kodak 1D (v.3.6.5, Connecticut, USA) programı kullanılarak hesaplandı.

### 3.16. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz SPSS 18.0 (Chicago, Amerika Birleşik Devletleri) programı ile yapıldı. Morris Su Labirenti verileri “Levene homojenite” testi ile değerlendirildi ve verilerin homojen dağılmadığı görüldü ardından ilk 5 günlük öğrenme perioduna ait veriler, probe test verileri ve görünür platform testine ait veriler açısından gruplar arasında fark olup olmadığı “Kruskall-Wallis” testi ile analiz edildi. Anlamlı fark bulunan parametreler için “Mann-Whitney U” testi ile gruplar ikişerli olarak karşılaştırıldı ve  $p < 0,05$  ise anlamlı kabul edildi.

Her grubun kendi içinde 1. günden 5. güne gelişim süreci “Friedman” testi değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılığın hangi günden kaynaklandığını saptamak amacıyla “Bonferroni düzeltmeli Wilcoxon Signed Ranks” testi uygulandı ve  $p < 0,01$  anlamlı kabul edildi.

Hipokampusta NR2B, CREB, BDNF protein ekspresyonu verilerininin dağılımı Levene homojenite testi ile değerlendirilmiş ve homojen olmadığı görüldükten sonra her bir reseptörün yoğunluğu açısından gruplar arasında fark olup olmadığı nonparametrik bir test olan “Kruskall-Wallis” ile değerlendirildi ve  $p < 0,05$  anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Morris Su Tankı Testi Verileri

Su tankı testinden elde edilen veriler aşağıda belirtilen şekilde sunulmuştur (Tablo 8).

- 1- Beş günlük öğrenme egzersizlerine ait parametreler
- 2- Probe trial teste ait parametreler
- 3- Görünür platform testine ait parametreler

#### 4.1.1. Öğrenme Egzersizlerine Ait Parametreler (1.-5. gün)

##### 4.1.1.1. Hedef Platformu Bulma Süresi

Hedef platformu bulma süresi, öğrenmenin ölçütü olarak değerlendirilmiştir. Bu süre kıaldıkça öğrenmenin gerçekleştiği kabul edilmiştir.

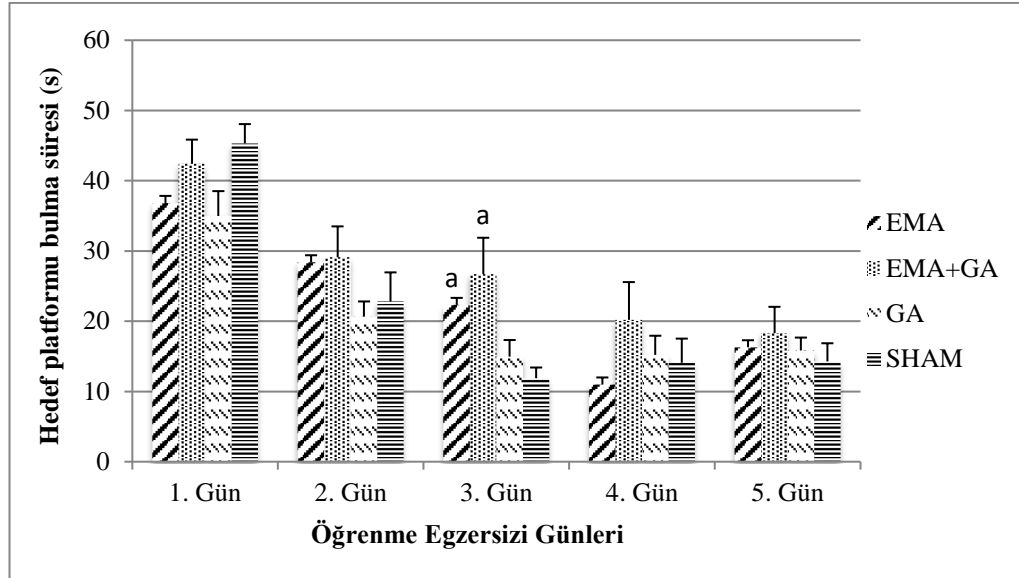
a) Hedef platformu bulma süresinin her bir gün için gruplar arası karşılaştırması

Her bir eğitim günü için hedef platformu bulma süresi bakımından gruplar arası karşılaştırma yapılmıştır (Tablo 10). Beş günlük öğrenme egzersizleri boyunca yalnızca 3. günde Sham grubunun, EMA grubu ve EMA+GA grubuna göre platformu daha kısa sürede bulduğu saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Diğer eğitim günlerinde hedef platformu bulma süresi açısından gruplar arası anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ) (Grafik 2).

**Tablo 10.** Hedef platformu bulma süresine ait veriler (s)

Gruplar (*)	1. Gün	2. Gün	3. Gün	4. Gün	5. Gün
EMA	36,84±2,09	28,39±3,43	22,32±2,82 <sup>a</sup>	10,99±1,67	16,29±2,83
EMA+GA	42,41±3,44	29,11±4,39	26,71±5,17 <sup>a</sup>	20,20±5,37	18,32±3,73
GA	34,98±3,54	20,66±2,15	14,96±2,36	15,21±2,72	15,84±1,83
SHAM	45,32±2,74	22,81±4,14	11,89±1,52	14,08±3,44	14,28±2,58

\*Değerler ortalama±standart hata şeklinde verilmiştir. a: Sham grubuna göre  $p<0,05$



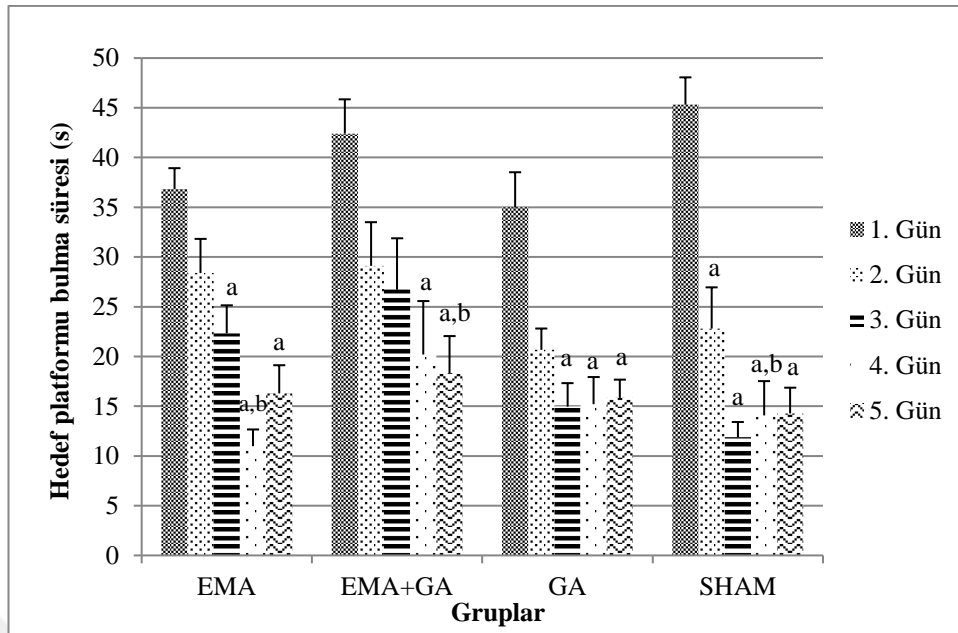
**Grafik 2.** Hedef platformu bulma sürelerinin gruplar arası karşılaştırması

a: Sham grubuna göre  $p < 0,05$

**b) Hedef platformu bulma süresinin grup içinde günler arası karşılaştırması**

Tüm grupların kendi içinde günden güne hedef platformu bulma süresi değerlendirilmiştir ve  $p < 0,01$  anlamlı olarak kabul edilmiştir. EMA grubunda 1.-3., 1.-4., 1.-5. ve 2.-4. günler arasında, EMA+GA grubunda 1.-4., 1.-5. ve 2.-5. günler arasında, GA grubunda 1.-3., 1.-4. ve 1.-5. arasında anlamlı fark saptanmıştır. Sham grubunda 1.-2., 1.-3., 1.-4., 1.-5. ve 2.-4. günler arasında anlamlı fark saptanmıştır (Grafik 3). Tüm grupların 1. gün ile 5. gün verileri anlamlıdır bu bize tüm grupların sistemi öğrendiğini ifade etmektedir. Ancak Sham grubu su labirentinin amacını 2. günden itibaren öğrenmiş ve 1. güne göre fark oluşturmuştur. EMA uygulanan grup 3. günden itibaren öğrenme sürecinde fark yaratabilmiştir, EMA+GA ve GA grubu bu süreçte 4. günde fark yaratabilmiştir. EMA grubu 2. Güne göre 4. Günde fark yaratırken, EMA+GA grubu 2. güne göre 5. günde öğrenme süresini anlamlı düzeyde kısaltabilmiştir.





**Grafik 3.** Hedef platformu bulma süresinin grup içinde günler arası değerlendirilmesi

a: 1. gün verisine göre  $p < 0,01$ , b: 2. gün verisine göre  $p < 0,01$

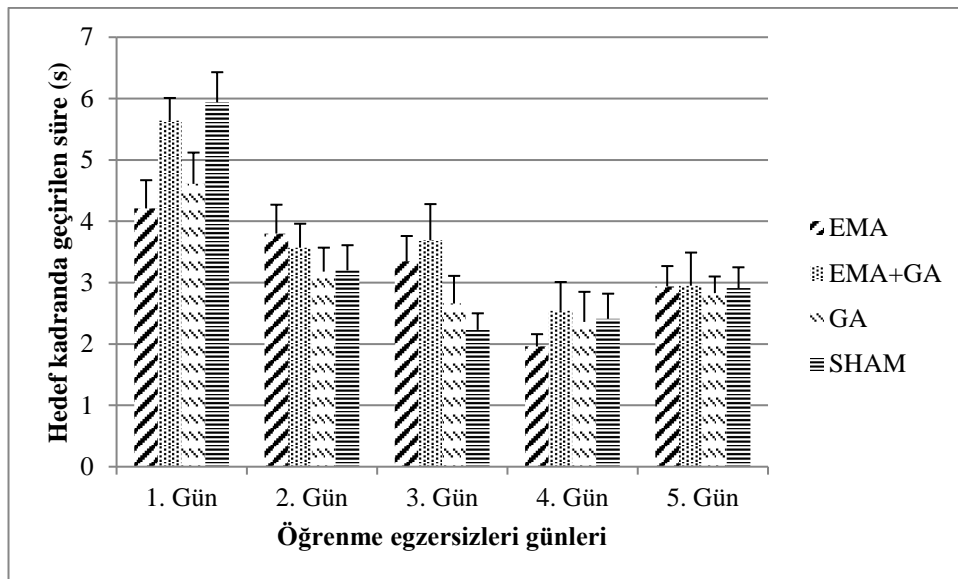
#### 4.1.1.2. Hedef Kadranda Geçirilen Süre

Öğrenme egzersizleri boyunca hedef kadranda geçirilen süre hayvanın hedef platformu bulmaya yönelik çabasının bir göstergesi olarak incelenmiştir. Hedef kadranda geçirilen süre bakımından gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ) (Tablo 11, Grafik 4).

**Tablo 11.** Hedef kadranda geçirilen süreye ait veriler (s)

Gruplar (*)	1. Gün	2. Gün	3. Gün	4. Gün	5. Gün
EMA	4,21±0,46	3,80±0,47	3,35±0,41	1,96±0,20	2,94±0,33
EMA+GA	5,64±0,37	3,57±0,39	3,69±0,59	2,54±0,47	2,95±0,54
GA	4,61±0,51	3,18±0,39	2,66±0,45	2,36±0,49	2,83±0,27
SHAM	5,94±0,49	3,20±0,41	2,23±0,27	2,41±0,41	2,91±0,34

\*Değerler ortalama±standart hata şeklinde verilmiştir.



**Grafik 4.** Hedef kadranda geçirilen sürenin gruplar arası karşılaştırması

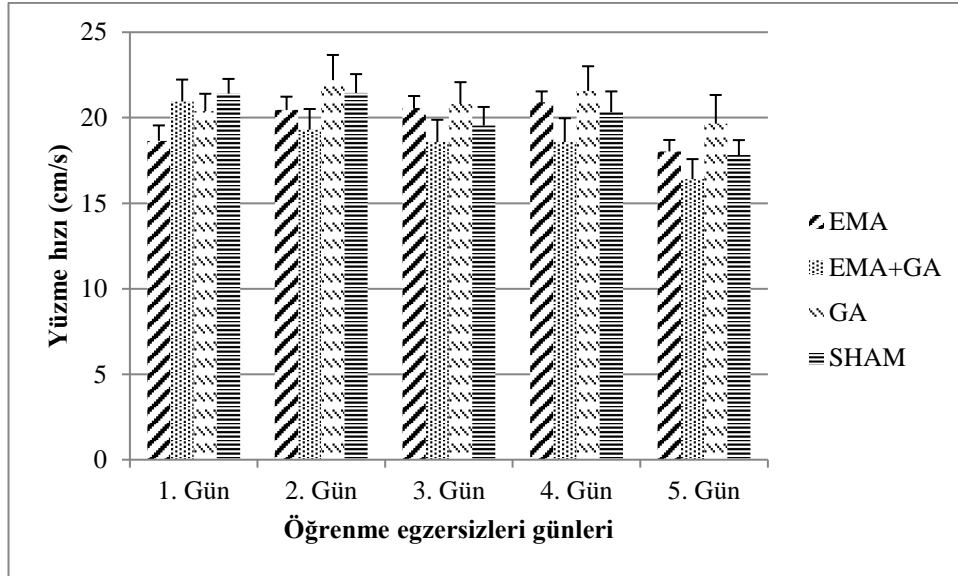
#### 4.1.1.3. Yüzme Hızı

Hedef platformu bulana kadar hayvanın yüzme hızı genel motor performansı değerlendirmek amacıyla ölçülmüştür. Gruplar arasında yüzme hızı bakımından anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Tablo 12, Grafik 5).

**Tablo 12.** Hedef platformu bulana kadar yüzme hızına ait veriler (cm/s)

Gruplar (*)	1. Gün	2. Gün	3. Gün	4. Gün	5. Gün
EMA	18,65±0,90	20,45±0,78	20,57±0,70	20,91±0,63	18,03±0,67
EMA+GA	20,95±1,28	19,30±1,21	18,58±1,30	18,58±1,39	16,41±1,17
GA	20,38±1,02	22,20±1,47	20,80±1,28	21,57±1,44	19,65±1,68
SHAM	21,41±0,86	21,45±1,10	19,55±1,08	20,32±1,22	17,81±0,88

\*Değerler ortalama±standart hata şeklinde verilmiştir.



**Grafik 5.** Yüzme hızının gruplar arası karşılaştırması

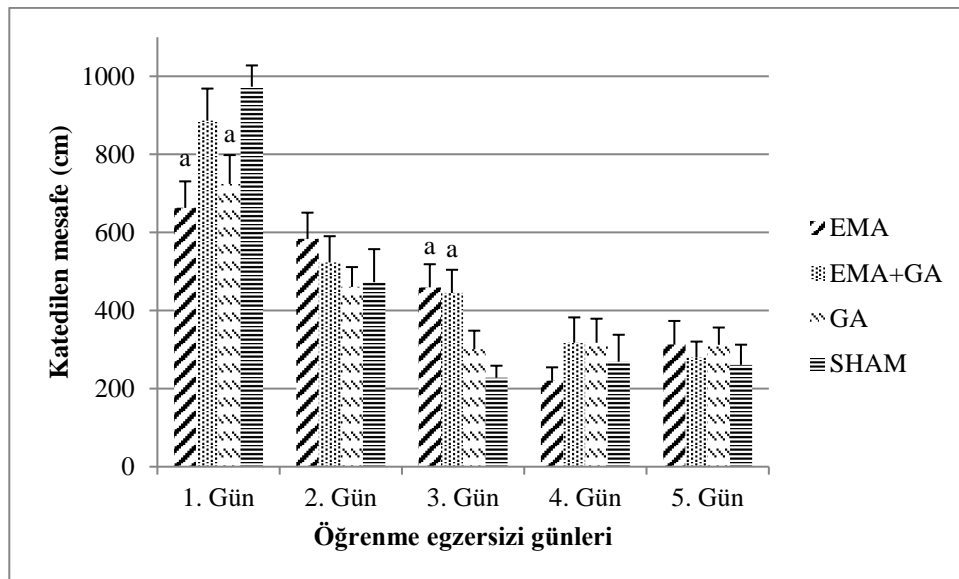
#### 4.1.1.4. Katedilen Mesafe

Hedef platformu bulana kadar hayvanın katettiği mesafe genel motor performansı değerlendirmek amacıyla ölçülmüştür. Birinci gün için EMA-Sham ve GA-Sham grupları arasında anlamlı fark saptanmıştır ( $p < 0,05$ ). EMA ve GA grupları Sham grubuna göre ilk gün hedef platformu bulana kadar daha az mesafe katetmiştir (Tablo 13). Üçüncü günde ise EMA-Sham ve EMA+GA-Sham grupları arasında anlamlı fark bulunmuştur. EMA ve EMA+GA grupları Sham grubuna göre hedef platformu bulana kadar daha fazla mesafe katetmiştir. Sham grubu ortalama katedilen mesafe değeri eğitimin ilk günü en yüksek iken 3. gün EMA ve EMA+GA gruplarına göre anlamlı düzeyde düşmüştür. Hedefe varmak için Sham grubunun katettiği yol EMA, EMA+GA gruplarına göre anlamlı düzeyde kısadır. Bu veri 3. günde Sham grubunun hedef platformu bulma süresinin EMA, EMA+GA gruplarına göre anlamlı düzeyde kısa oluşu ile uyumludur (Grafik 6).

**Tablo 13.** Hedef platformu bulana kadar katedilen mesafeye ait veriler (cm)

Gruplar (*)	1. Gün	2. Gün	3. Gün	4. Gün	5. Gün
EMA	662,92±67,88 <sup>a</sup>	583,44±67,22	459,48±59,12 <sup>a</sup>	220,32±34,17	312,98±60,32
EMA+GA	886,18±82,27	523,24±67,11	445,01±59,38 <sup>a</sup>	317,50±64,90	279,54±40,87
GA	724,30±73,81 <sup>a</sup>	460,46±50,80	301,05±47,34	317,49±61,59	312,24±44,19
SHAM	973,30±54,50	472,75±84,41	227,68±31,00	268,91±69,00	260,99±51,51

\*Değerler ortalama±standart hata şeklinde verilmiştir. a: Sham grubuna göre  $p < 0,05$ .



**Grafik 6.** Katedilen mesafenin gruplar arası karşılaştırması

a: Sham grubuna göre  $p<0,05$ .

#### 4.1.1.5. Dış Kadrandaki Geçirilen Süre

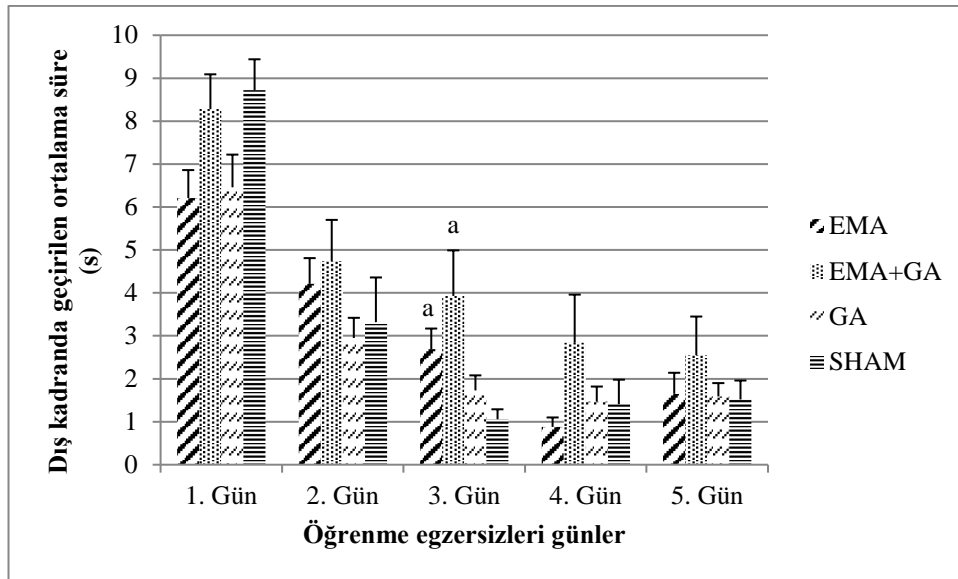
Dış kadranda geçirilen süre anksiyete göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Burada geçirilen süre arttıkça hayvanda anksiyetenin arttığı kabul edilmektedir.

Dış kadranda geçirilen süre bakımından gruplar arasında fark olup olmadığı değerlendirilmiştir (Tablo 14). Yalnızca 3. günde EMA-Sham ve EMA+GA-Sham grupları arasında anlamlı fark olduğu bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 3. günde anksiyete düzeyinin Sham grubunda en düşük olduğu, EMA+GA grubunda en yüksek olduğu görülmüştür (Grafik 7).

**Tablo 14.** Dış kadranda geçirilen sürenin gruplar arası değerlendirilmesi (s)

Gruplar (*)	1. Gün	2. Gün	3. Gün	4. Gün	5. Gün
EMA	6,21±0,65	4,21±0,60	2,69±0,48 <sup>a</sup>	0,88±0,22	1,65±0,49
EMA+GA	8,28±0,81	4,74±0,96	3,93±1,06 <sup>a</sup>	2,84±1,12	2,55±0,90
GA	6,46±0,7	2,95±0,47	1,73±0,35	1,47±0,35	1,59±0,31
SHAM	8,72±0,72	3,32±1,04	1,06±0,23	1,41±0,57	1,52±0,44

\*Değerler ortalama±standart hata şeklinde verilmiştir. a: Sham grubuna göre  $p<0,05$ .



**Grafik 7.** Dış kadranda geçirilen sürenin gruplar arası karşılaştırması

a: Sham grubuna göre  $p < 0,05$

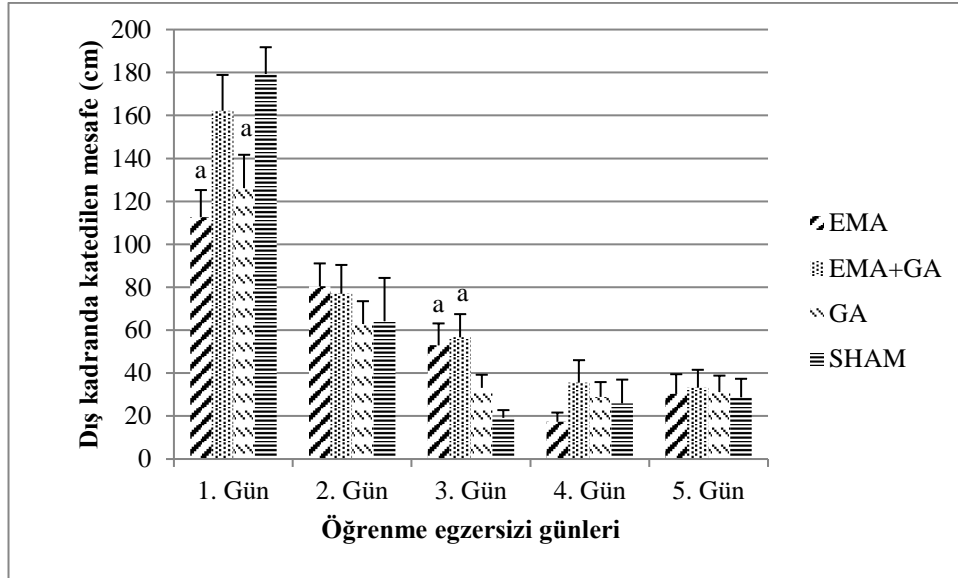
#### 4.1.1.6. Dış Kadranda Katedilen Mesafe

Dış kadranda katedilen mesafe bakımından gruplar arasında fark olup olmadığına bakıldığında 1. gün ve 3. günde anlamlı farklılık saptanmıştır (Tablo 15, Grafik 8). 1. gün için EMA-Sham ve GA-Sham grupları arasında dış kadranda katedilen mesafe bakımından anlamlı fark bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). İlk eğitim gününde Sham grubu GA ve EMA grubuna göre anlamlı düzeyde fazla mesafe katetmiş ancak 3. günde katettiği mesafe hızla düşmüş EMA ve EMA+GA gruplarına göre dış kadranda geçirdiği süre anlamlı düzeyde kısalmıştır. ( $p < 0,05$ ).

**Tablo 15.** Dış kadranda katedilen mesafeye ait veriler (cm)

Gruplar (*)	1. Gün	2. Gün	3. Gün	4. Gün	5. Gün
EMA	112,64±12,62 <sup>a</sup>	80,46±10,64	52,95±10,21 <sup>a</sup>	17,35±4,28	30,35±9,15
EMA+GA	162,19±16,68	76,96±13,43	56,68±10,80 <sup>a</sup>	35,57±10,47	33,23±8,32
GA	126,18±15,51 <sup>a</sup>	62,88±10,62	33,14±6,11	28,94±6,90	31,20±7,64
SHAM	179,31±12,46	64,18±20,16	19,17±3,61	25,93±11,05	28,73±8,63

\*Değerler ortalama±standart hata şeklinde verilmiştir. a: Sham grubuna göre  $p < 0,05$ .



**Grafik 8.** Dış kadranda katedilen mesafenin gruplar arası karşılaştırması

a: Sham grubuna göre  $p<0,05$ .

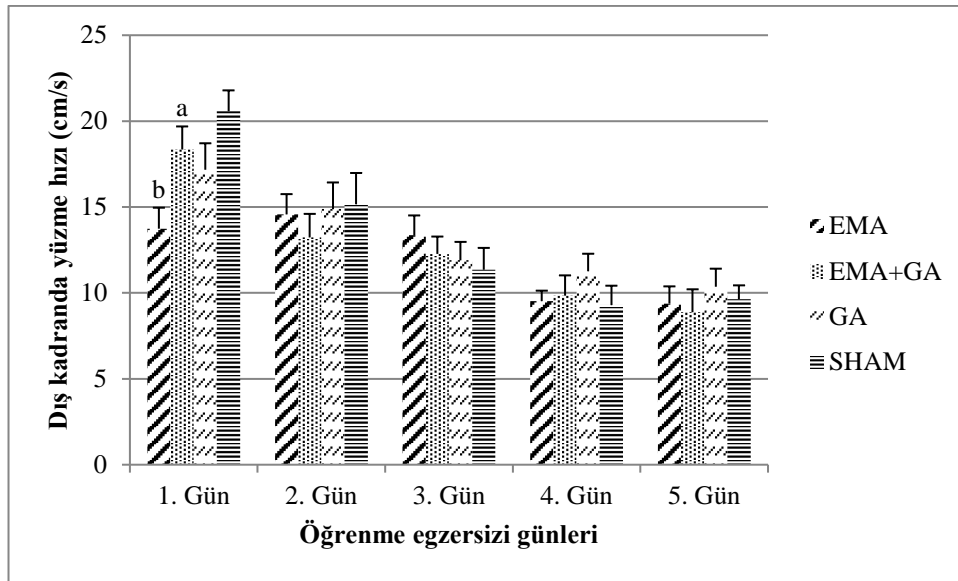
#### 4.1.1.7. Dış Kadranda Yüzme Hızı

Dış kadranda yüzme hızı bakımından gruplar arasında fark olup olmadığı incelenmiştir (Tablo 16). Gruplar arasında yalnızca 1. günde anlamlı fark bulunmuştur. Farkın hangi gruplar arasında olduğu incelendiğinde EMA-EMA+GA ve EMA-Sham grupları arasında farklılık görülmüştür ( $p<0,05$ ). EMA grubundaki hayvanların dış kadranda yüzme hızı EMA+GA ve Sham gruplarına göre daha yavaştır (Grafik 9).

**Tablo 16.** Dış kadranda yüzme hızına ait veriler (cm/s)

Gruplar (*)	1. Gün	2. Gün	3. Gün	4. Gün	5. Gün
EMA	13,74±1,22 <sup>a</sup>	14,57±1,18	13,36±1,15	9,52±0,61	9,38±1,00
EMA+GA	18,35±1,34 <sup>b</sup>	13,23±1,37	12,27±1,01	9,84±1,18	8,88±1,33
GA	17,17±1,54	14,88±1,55	11,9±1,07	11,26±1,02	10,36±1,05
SHAM	20,58±1,21	15,16±1,82	11,35±1,27	9,29±1,13	9,63±0,81

\*Değerler ortalama±standart hata şeklinde verilmiştir. a: Sham grubuna göre  $p<0,05$ ; b: EMA grubuna göre  $p<0,05$ .



**Grafik 9.** Dış kadranda yüzme hızının gruplar arası karşılaştırması

a: Sham grubuna göre  $p<0,05$ ; b: EMA grubuna göre  $p<0,05$ .

#### 4.1.2. Probe Trial Teste Ait Parametreler (6. Gün)

Beş günlük öğrenme egzersizleri sonunda öğrenmenin gerçekleşip gerçekleşmediği 6. günde 'Probe trial test' uygulanarak kaydedilen veriler doğrultusunda değerlendirilmiştir (Tablo 17).

**Tablo 17.** Probe trial testte değerlendirilen parametrelere ait veriler

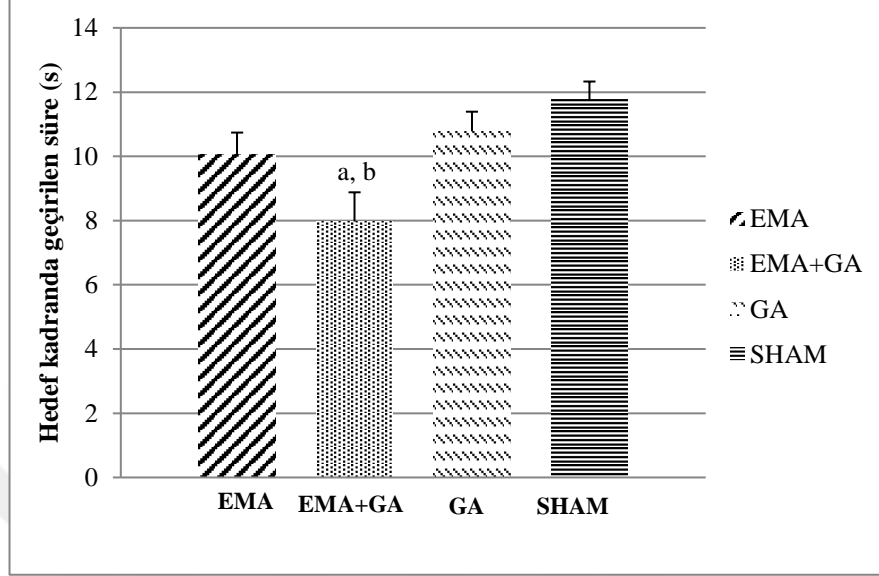
Ölçülen Parametreler (*)	EMA	EMA+GA	GA	SHAM
Hedef Kadranda Geçirilen Süre (s)	10,06±0,68	7,97±0,91 <sup>a, b</sup>	10,78±0,61	11,77±0,56
Hedef Kadranda Katedilen Mesafe (cm)	191,36±13,33	141,75±16,62 <sup>a, b, c</sup>	216,38±10,94	216,87±10,57
Yüzme Hızı (cm/s)	19,67±0,64	18,07±1,50	21,15±1,02	20,08±0,73
Katedilen Mesafe (cm)	1178,52±38,12	1080,58±91,35	1267,80±61,09	1203,46±43,88

\*Değerler ortalama±standart hata şeklinde verilmiştir. a: Sham grubuna göre  $p<0,05$ ; b: GA grubuna göre  $p<0,05$ ; c: EMA grubuna göre  $p<0,05$

##### 4.1.2.1. Hedef Kadranda Geçirilen Sürenin Gruplar Arası Karşılaştırması

Hedef kadranda geçirilen süre bakımından EMA+GA-Sham ve EMA+GA-GA grupları arasında anlamlı fark bulunmuştur ( $p<0,05$ ). EMA+GA grubundaki

hayvanların hedef kadranda Sham ve GA grubuna göre daha az süre geçirdiği görülmüştür (Grafik 10). EMA+GA grubu probe trial test gününde en kötü performansı göstermiş ve hedef kadranda en kısa süre geçiren grup olmuştur.



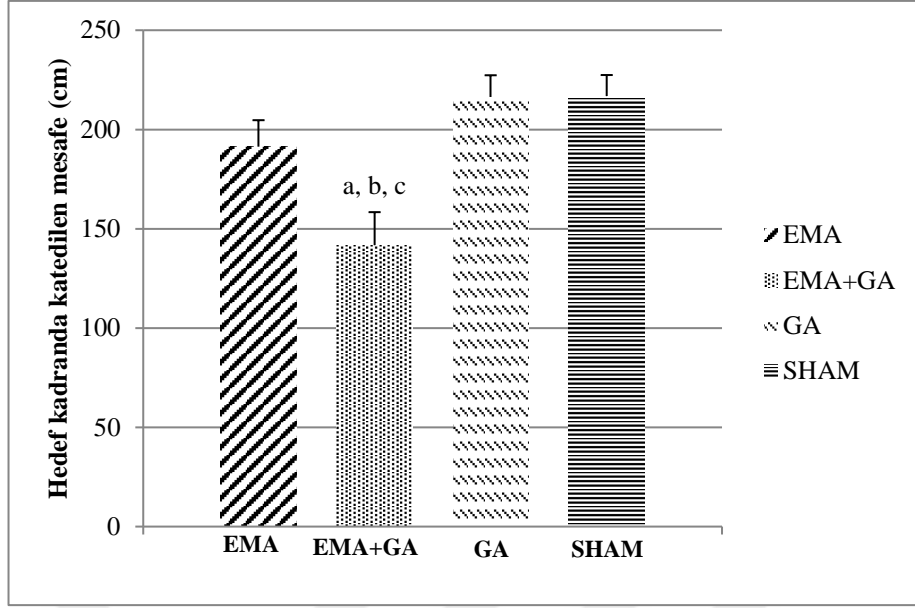
**Grafik 10.** Hedef kadranda geçirilen sürenin gruplar arası karşılaştırması

a: Sham grubuna göre  $p < 0,05$ ; b: GA grubuna göre  $p < 0,05$ .

#### 4.1.2.2. Hedef Kadranda Katedilen Mesafenin Gruplar Arası Karşılaştırması

Hedef kadranda katedilen mesafe verileri değerlendirildiğinde EMA-EMA+GA, EMA+GA-GA, EMA+GA-Sham grupları arasında anlamlı fark olduğu görülmüştür ( $p < 0,05$ ). EMA+GA grubunun hedef kadranda katettiği mesafenin diğer gruplardan az olduğu, saptamıştır (Grafik 11).



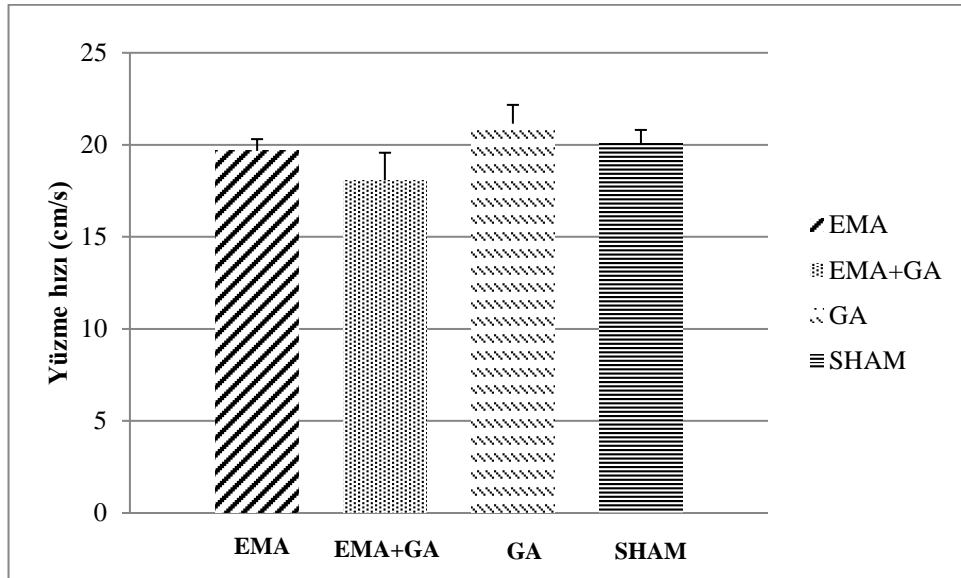


**Grafik 11.** Hedef kadranda katedilen mesafenin gruplar arası karşılaştırması

a: Sham grubuna göre  $p < 0,05$ ; b: GA grubuna göre  $p < 0,05$ ; c: EMA grubuna göre  $p < 0,05$

#### 4.1.2.3. Yüzme Hızının Gruplar Arası Karşılaştırması

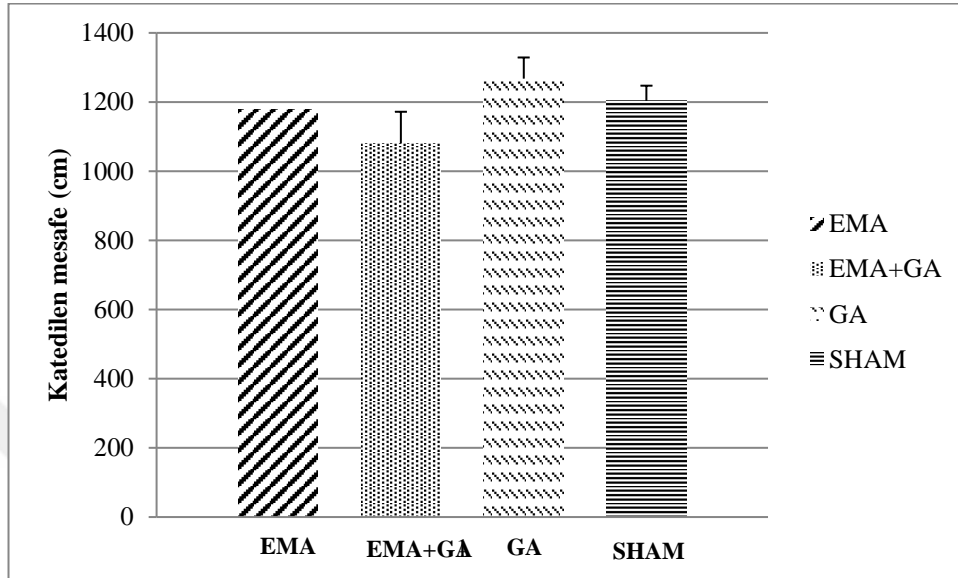
Probe trial testte yüzme hızı bakımından gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ) (Grafik 12).



**Grafik 12.** Probe trial testte yüzme hızının gruplar arası karşılaştırması

#### 4.1.2.4. Katedilen Mesafenin Gruplar Arası Karşılaştırması

Probe trial testte katedilen mesafe bakımından gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Grafik 13).



**Grafik 13.** Probe testte katedilen mesafenin gruplar arası karşılaştırması

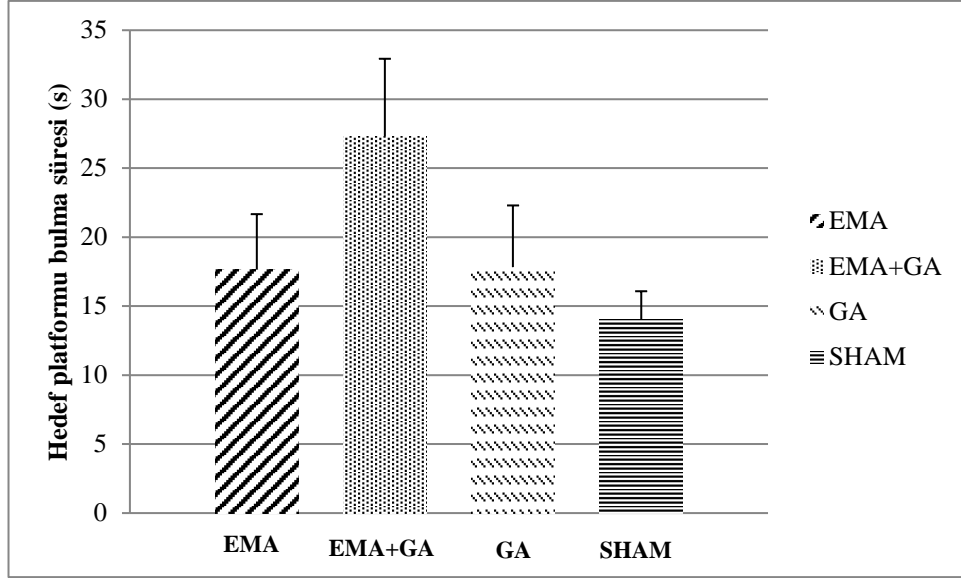
#### 4.1.3. Görünür Platform Testine Ait Parametreler (6. Gün)

Görünür platform testinde, görünür platformu bulma süresi, yüzme hızı ve katedilen mesafe verileri esas alınmış ve gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ) (Tablo 18, Grafik 14, 15, 16).

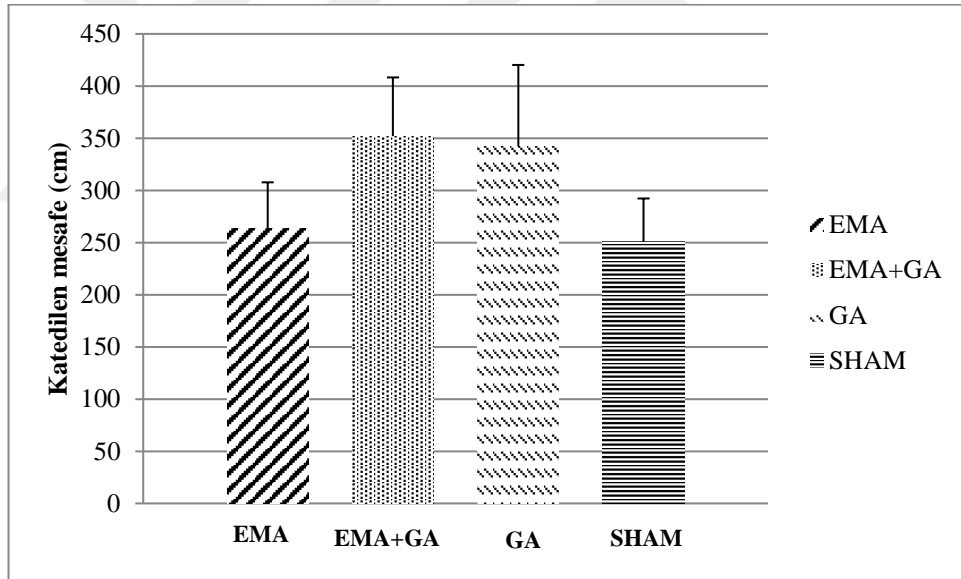
**Tablo 18.** Görünür platform testine ait veriler

Ölçülen Parametreler (*)	EMA	EMA+GA	GA	SHAM
Hedef Platformu Bulma Süresi (s)	17,66±4,01	27,31±5,62	17,83±4,47	14,00±2,08
Katedilen Mesafe (cm)	263,68±44,04	352,10±56,16	342,30±77,94	250,97±41,30
Yüzme Hızı (cm/s)	16,83±1,04	15,77±2,14	20,33±1,51	18,81±1,11

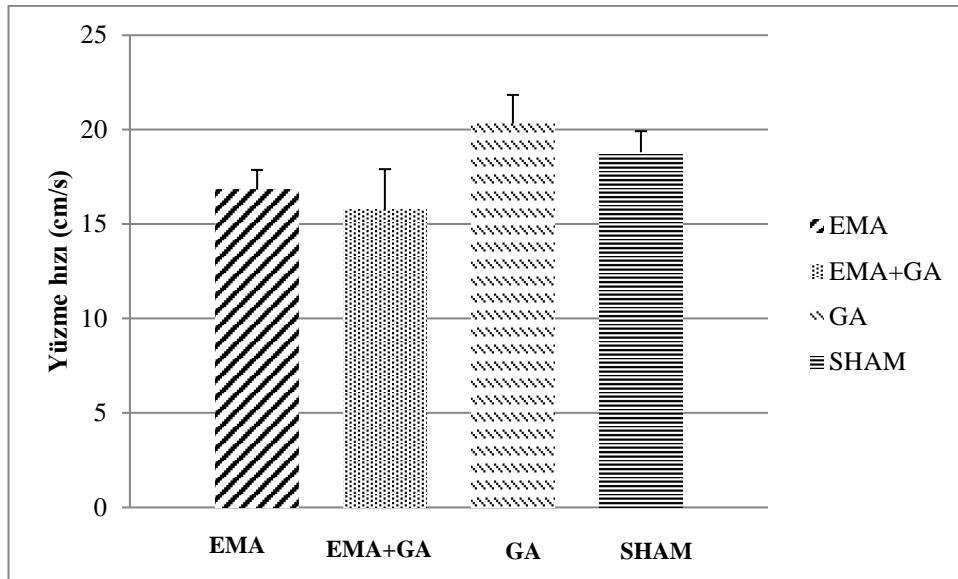
\*Değerler ortalama±standart hata şeklinde verilmiştir



**Grafik 14.** Görünür platform testinde hedef platformu bulma sürelerinin gruplar arası karşılaştırması



**Grafik 15.** Görünür platform testinde katedilen mesafenin gruplar arası karşılaştırması



**Grafik 16.** Görünür platform testinde yüzme hızının gruplar arası karşılaştırması

#### 4.2. Western Blot Bulguları

Protein ekspresyonları değerlendirilirken tüm gruplar için sham grubunun her bir protein için optik dansite verilerinin ortalaması alınmış, bu veri 100 kabul edilmiş ve diğer grupların optik dansiteleri ile sham grubuna göre oranlanmıştır (144). Tüm grupların her bir protein için optik dansiteleri Tablo 19 'da toplu olarak verilmiştir.

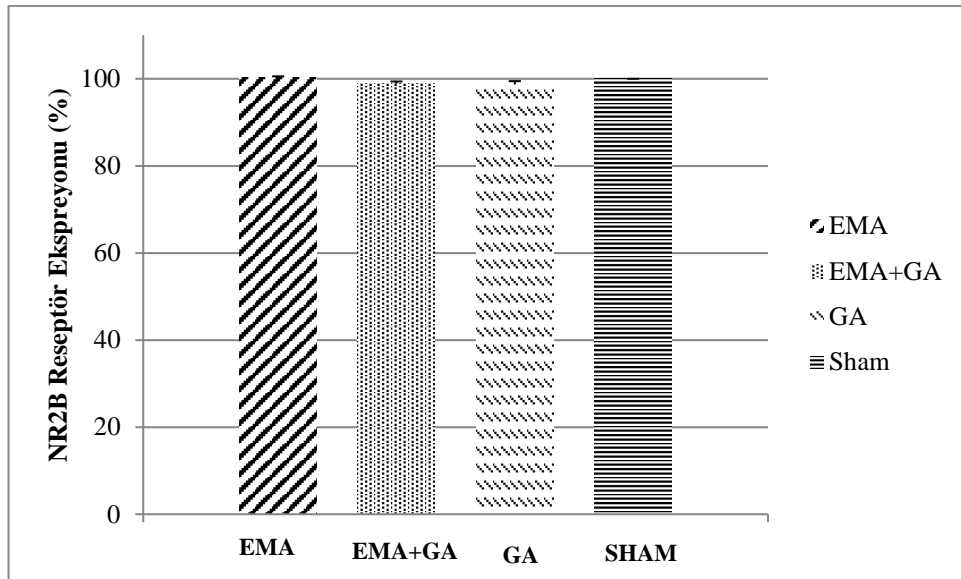
**Tablo 19.** Saptanan spesifik proteinlerin optik dansite yüzdeleri

Gruplar (*)	EMA	EMA+GA	GA	Sham
NR2B	100,17±0,39	98,89±0,49	98,70±0,76	100,00±0,00
CREB	101,00±4,35	101,68±4,30	102,67±4,45	100,00±0,00
BDNF	96,14±1,46	92,26±3,45	98,41±0,66	100,00±0,00

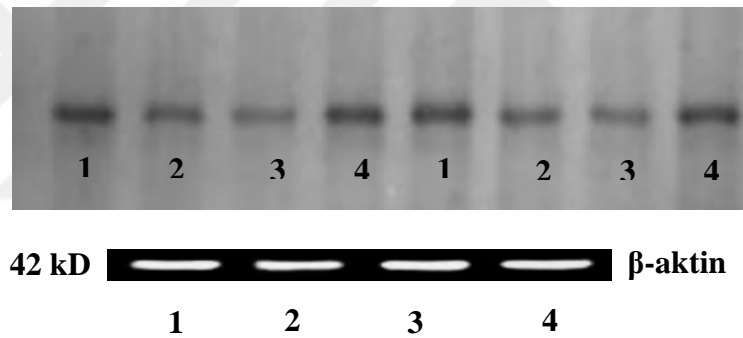
\*Değerler ortalama±standart hata şeklinde verilmiştir.

##### 4.2.1. NR2B Reseptör Ekspresyonu

Hipokampus dokusunda NR2B reseptör ekspresyonu bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ) (Grafik 17).



**Grafik 17.** Hipokampus dokusunda NR2B reseptör ekspresyonunun gruplar arası karşılaştırması.

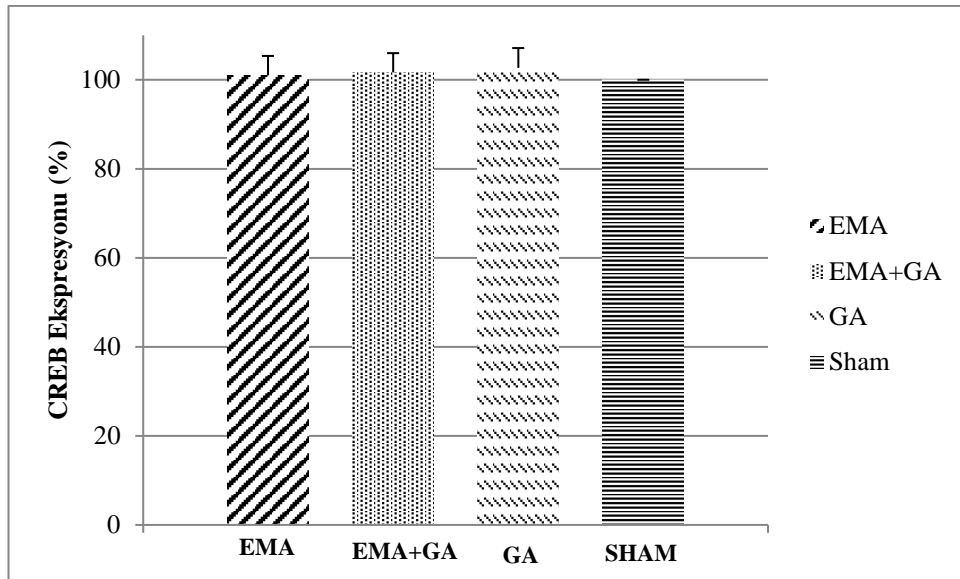


**Resim 7.** NR2B ve  $\beta$ -aktin membran görüntüsü.

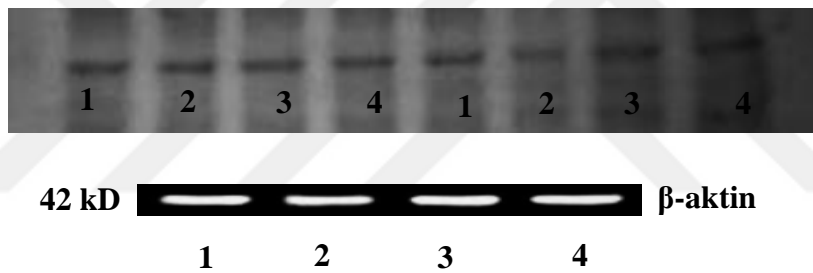
(EMA:1, EMA+GA:2, GA:3, Sham:4)

#### 4.2.2. CREB Ekspresyonu

Hipokampus dokusunda CREB ekspresyonu bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ) (Grafik 18).



**Grafik 18.** Hipokampus dokusunda CREB ekspresyonunun gruplar arası karşılaştırması.

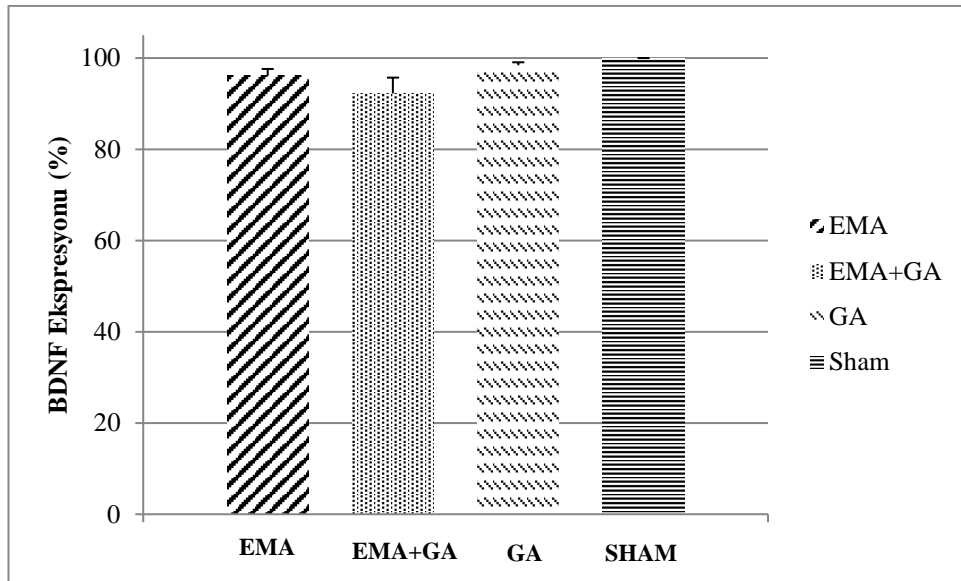


**Resim 8.** CREB ve  $\beta$ -aktin membran görüntüsü

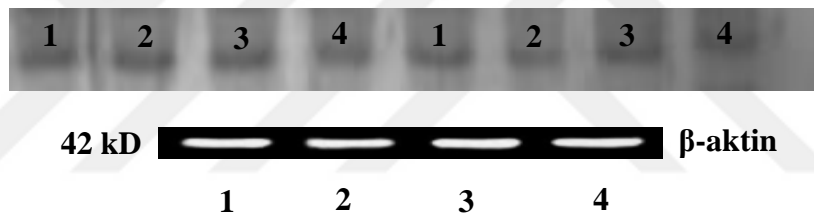
(EMA:1, EMA+GA:2, GA:3, Sham:4)

#### 4.2.3. BDNF Ekspresyonu

Hipokampus dokusunda BDNF ekspresyonu bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ) (Grafik 19).



**Grafik 19.** Hipokampus dokusunda BDNF ekspresyonunun gruplar arası karşılaştırması.



**Resim 9.** BDNF ve  $\beta$ -aktin membran görüntüsü

(EMA:1, EMA+GA:2, GA:3, Sham:4)

## 5. TARTIŞMA

Günümüzde çok düşük ve yüksek frekanslı EMA'lara maruziyet modern yaşamın ve teknolojideki gelişmelerin bir sonucu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu sistemlerin günlük yaşantımıza girmesiyle birlikte özellikle cep telefonu ve kablosuz ağların yaydıkları EMA'nın insan sağlığı üzerine etkileri toplumda ve bilim dünyasında merak konusu olmuştur. Kablosuz ağların yaydığı EMA'nın insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri giderek kabul görmektedir (1, 2).

Kablosuz ağ sistemlerinin yaydığı EMA'dan en fazla etkilenen gruplardan birinin gelişim çağındaki çocuklar olduğu bilinen bir gerçektir. Bu ağların ilk ve orta dereceli okullarda kullanılması, gelişme çağındaki çocukların günün büyük bölümünü geçirdikleri okullarda tehlike arz etmektedir (8, 9). Gelişme ve öğrenme çağındaki çocukları bu zararlı etkilerden korumak ve öğrenme-bellek gibi işlevler üzerinde oluşabilecek olumsuz etkileri en aza indirmek amacıyla kullanılabilen farmakolojik etken maddelerin araştırılması bu çalışmanın temelini oluşturmaktadır.

Bu çalışma ile kablosuz ağların yaydığı 2,45 GHz EMA'nın genç sıçanlardaki öğrenme-bellek işlevleri üzerindeki etkisi ve GA'nın bu mekanizmadaki rolü aydınlatılmaya çalışılmıştır.

Çalışmada, öğrenme ve belleği değerlendirmek amacıyla Morris tarafından modellenen Morris su tankı testi kullanılmıştır. Su tankı testinde değerlendirilen hedef platformu bulma süresi öğrenmenin gerçekleşip gerçekleşmediğinin bir göstergesidir. Bu süre kıaldıkça öğrenmenin arttığı kabul edilmektedir. Hedef platformu bulma süresinin her bir gün için gruplar arası karşılaştırması yapıldığında yalnızca 3. günde gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmıştır. Sham grubundaki hayvanların hedef platformu daha kısa sürede buldukları, EMA uygulanan gruptaki hayvanlarda ise bu sürenin uzadığı gözlenmiştir. EMA+GA grubundaki hayvanların ise hedef platformu en uzun sürede buldukları görülmüştür.

Birinci günden 5. güne kadar yapılan öğrenme egzersizlerinde günden güne öğrenmenin nasıl değiştiği incelendiğinde Sham grubunun 2. günden itibaren, EMA ve GA grubunun 3. günden itibaren, EMA+GA grubundaki hayvanların ise 4. günden itibaren hedef platformu bulmayı öğrendikleri görülmüştür.



Lu ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada 2,45 GHz EMA bizim çalışmamızda da olduğu gibi 30 gün boyunca günde 3 saat uygulanmış ve su tankı testi uygulanarak hipokampus aracılı öğrenme ve belleğin bozulduğu öne sürülmüştür (8). Şahin ve ark. 2,45 GHz EMA'nın kısa ve uzun dönem etkilerini öğrenme ve bellek fonksiyonları üzerindeki etkilerini gözlemlemek amacıyla günde 2 saat 15 gün, 30 gün ve 60 gün boyunca EMA uygulamışlar. Sonuç olarak çalışmamızda sunulan bulgularla uyumlu şekilde, özellikle 30 gün ve 60 gün kronik EMA'ya maruz kalan gruplarda hedef platformu bulma süresinin anlamlı düzeyde uzadığını göstermişlerdir (145).

Hedef platformu bulma süresi bakımından sonuçlarımız mevcut literatür ile karşılaştırıldığında, EMA'nın öğrenme ve belleği olumsuz yönde etkilediği diğer çalışmalarla uyum göstermiştir.

GA'nın, öğrenme ve bellek mekanizması üzerinde olumlu etkilerine dair çalışmalar mevcuttur (132). Mansouri ve ark. tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada streptozotosin ile indüklenen sporadik Alzheimer modelinde oluşan serebral oksidatif stres ve kognitif fonksiyonlardaki bozulmaya karşı 26 gün kronik uygulanan 30 mg/kg GA tedavisinin olumlu sonuçlar verdiği yapılan su labirenti testi ile görülmüştür (14). Sarkaki ve ark., serebral iskeminin neden olduğu nöronal hasar ve bellek fonksiyonlarını da içine alan hipokampal LTP'de azalma üzerinde GA'nın farklı dozlarını uygulamışlar (50-100-200 mg/kg) ve 100 mg/kg'lık dozun bu olumsuz etkiler üzerinde en güçlü etkiye sahip olduğunu öne sürmüşlerdir (132).

GA tedavisinin bozulan öğrenme ve bellek işlevleri üzerindeki olumlu etkilerine dair sunulan çalışmalar bulgularımızdan farklıdır. Morris su tankı testinin sonuçlarına göre değerlendirme yapıldığında, çalışmamızda kullanılan 30 mg/kg'lık GA dozunun yetersiz kalmış olabileceğini düşündürmektedir. Çünkü Sarkaki ve ark. tarafından gerçekleştirilen çalışmada hipokampal LTP mekanizması üzerindeki bozulmada 100 mg/kg'lık dozun en etkin doz olduğu ifade edilmiştir (132). Çalışmamızda EMA+GA grubunun hedef platformu bulma süresinin EMA grubundan çok daha kısa olacağı ya da Sham grubuna yakın bir sürede olacağı düşünülmekteydi ancak hipotezimizin tam aksine EMA+GA grubu Morris su tankı testinde hedef platformu en uzun sürede bulan grup olmuştur. Bu durum çeşitli

ihtimalleri akla getirmektedir. Dozun yetersiz kalmış olması ihtimalinin yanında diğer bir ihtimal ise EMA uygulaması ile GA uygulaması arasında belli bir süre bırakılmamış olmasıdır. Enjeksiyondan sonra GA'nın absorpsiyonu ve dağılımı için belli bir süre tanınmamış olması GA'nın etkisini tam olarak gösterememiş olmasına neden olmuş olabilir. Diğer bir nokta ise EMA uygulamasının, GA'nın kimyasal yapısında değişiklik oluşturmuş olabileceği ihtimalidir. Nitekim yapılan literatür taramasında Du ve ark.'larının yaptıkları bir çalışma dikkati çekmektedir. Çalışmada UV radyasyonun GA'nın kimyasal yapısını parçaladığı, hidroksil iyonları tarafından GA'nın okside olduğu ve ROS oluşumunun meydana geldiği bildirilmiştir (146). Ghazizadeh ve ark. tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada 2,45 GHz EMA'nın hipokampusteki nöronlarda  $Ca^{+2}$  girişini artırdığını, bu artışın sitozolik ROS oluşumunu tetikleyerek oksidatif stresi ve apoptozu indüklediğini öne sürmüşlerdir (147). EMA'nın direkt oksidatif stresi tetikleyici etkisi ile birlikte, GA'nın kimyasal yapısı üzerinde ROS oluşumuna neden olacak şekilde yapmış olduğu değişiklikler EMA+GA grubunu, sadece EMA uygulanan gruptan çok daha fazla olumsuz etkilemiştir. Bu nedenlerle EMA+GA grubu hedef platformu en uzun sürede bularak öğrenme ve bellek fonksiyonları olumsuz etkilenmiş gruptur.

Hedef platformu bulana kadar hayvanların yüzme hızları genel motor performansı değerlendirmek amacıyla ölçülmüştür ve gruplar arasında fark saptanmamıştır. Mitchell ve ark. 2,45 GHz EMA'yı kısa dönem olarak 7 saat boyunca uygulamışlar ve uygulama esnasında 30 dk. boyunca her 5 dk.'da bir hayvanların lokomotor aktivitelerini incelemişlerdir. EMA uygulanan hayvanlarda lokomotor aktivitede yavaşlama olduğunu rapor etmişlerdir (148). Çalışmamızda Mitchell ve ark.'nın yaptığı çalışmadan farklı olarak 30 gün boyunca kronik olarak ve uzun dönem EMA uygulanmış ve uygulama tamamlandıktan sonra hayvanların genel motor performansı izlenmiştir. Galvin ve ark. perinatal (gebeliğin 5.-20. günleri arasında) ve postnatal (doğumdan sonra 2.-20. günler arasında) dönemde uygulanan 2,45 GHz EMA'nın doğumdan sonraki dönemde bazı davranış parametreleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Her iki dönemde de EMA uygulanan hayvanların lokomotor aktivitelerinde azalma, yüzme testinde hayvanların daha tahammülsüz, süreksiz ve isteksiz oldukları tespit edilmiştir (149).

Hedef platformu bulana kadar su tankında katedilen mesafe yine genel motor performansı değerlendirmek amacıyla incelenmiştir. Bulgularımıza göre 1. ve 3. günde gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmıştır. Birinci gün için Sham grubu ile kıyaslandığında EMA ve GA grupları hedef platformu bulana kadar daha az mesafe katetmiştir. Katedilen mesafeyi değerlendirirken öncelikle hedef platformu bulma süresi ve daha sonra yüzme hızı parametreleriyle birlikte yorumlamak daha doğru olacaktır. Çünkü hayvanın hedef platformu bulma süresi ne kadar kısa ise platformu bulana kadar katedilen mesafe kısalmaktadır. Ayrıca cut off süresi boyunca ortalama yüzme hızı düşük ise süre boyunca hayvanlar yüzmeden sabit kalacağı için katedilen mesafe de bu oranda kısa görünebilir. Birinci gün için gruplardaki hedef platformu bulma süresine bakıldığında GA grubundaki hayvanların platformu en kısa sürede buldukları görülmektedir bu nedenle platformun yerini öğrendikleri ve platformu doğru kadranda arayarak en kısa mesafeyi katetmeleri doğaldır. Sham grubundaki hayvanlar 1. günde en hızlı yüzen grup olmasına rağmen hedef platformu bulma süresi en uzun olan gruptur. Sham grubundaki hayvanlar platformun yerini ilk gün öğrenememiş ancak sudan kurtulmak için çaba göstererek daha hızlı yüzmüş ve platformu ararken daha fazla mesafe katetmiştir. EMA grubundaki hayvanlar ilk gün en az mesafeyi kateden grup olmuştur. Bu gruptaki hayvanlar hedef platformu GA grubundan daha uzun sürede, Sham grubundan daha kısa sürede bulmuşlardır bu nedenle ortalama yüzme hızlarına bakıldığında en yavaş yüzen grup oldukları görülmektedir. EMA'nın lokomotor aktiviteyi yavaşlattığına dair çalışmalar mevcuttur (148, 149). Çalışmamızda EMA grubundaki hayvanların yüzme hızının yavaş olması cut off süresi boyunca hedef platformu aramayı bırakıp belli bir süre yüzmeden kaldıkları sonucuna ulaşılabilir. Yüzme hızındaki bu yavaşlama EMA'ya maruziyet sonucu genel motor performansın azalmasının bir sonucu olarak düşünülmektedir.

Katedilen mesafe açısından öğrenme egzersizlerinin üçüncü gününde de gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur. Üçüncü günde ise yine Sham grubu ile kıyaslandığında EMA ve EMA+GA grupları, hedef platformu bulana kadar daha fazla mesafe katetmiştir. Sham grubundaki hayvanlar platformun yerini 2. günden itibaren öğrenerek diğer gruplara göre fark yaratmıştır. Dolayısıyla hedef platformu bulma süresi kısaldıkça katedilen mesafe de kısalmıştır. EMA grubundaki hayvanlar

1. gün en az mesafeyi kateden grup iken 3. gün en fazla mesafeyi kateden grup olmuştur. Hedef platformu bulma süresi 1. günde Sham grubundan kısa iken 3. günde bu sürenin daha uzun olduğu görülmektedir bu nedenle katedilen mesafe Sham grubuna göre daha fazladır. EMA+GA grubundaki hayvanlar 3. günde hedef platformu bulmak için en uzun süreyi harcayan ve EMA grubundan sonra en fazla mesafeyi kateden grup olmuştur.

Dış kadranda geçirilen süre, katedilen mesafe ve yüzme hızı hayvanların anksiyete düzeylerinin göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Anksiyetesi yüksek olan hayvanlar tankın orta bölümünde yüzmek yerine tankın duvar kısımlarına yönelerek kendini güvende hissetmeye çalışmıştır. Bu bilgiden hareketle dış kadranda geçirilen süre bakımından 5 günlük öğrenme egzersizleri boyunca yalnızca 3. günde gruplar arasında anlamlı fark saptanmıştır. Sham grubu, dış kadranda en az süreyi geçiren grup olmuştur. Bu gruptaki hayvanların 3. günde hedef platformu en kısa sürede bulan grup olması nedeniyle hedefe yönelik davranış gösterdikleri anlaşılmaktadır. Dış kadranda kısa süre geçirmeleri nedeniyle anksiyetelerinin düşük olduğu ve platformu bulmaya odaklandıkları sonucuna varılmaktadır. EMA+GA grubu dış kadranda en fazla süre geçiren gruptur, elde edilen sonuçlara göre bu gruptaki hayvanlarda anksiyetenin yüksek olması nedeniyle hedef platformu bulmaya yönelik çaba göstermemiş olduğu anlaşılmaktadır. Nitekim bu gruptaki hayvanlar 3. günde platformu bulma süresi bakımından en uzun süreyi harcayan ve en kötü performansı gösteren grup olmuştur. EMA grubundaki hayvanlar, EMA+GA grubundaki hayvanlardan sonra dış kadranda en fazla süreyi geçiren gruptur bu bulgu ile uyumlu olarak EMA+GA grubundan sonra hedef platformu en uzun sürede bulan gruptur.

EMA'nın canlıların davranışları üzerindeki etkileri hala tartışılmaktadır. Bu konu üzerinde yapılan araştırmalara bakıldığında hala iki farklı görüş olduğu anlaşılmaktadır. Lai ve ark.'nın gerçekleştirdikleri bir çalışmada 2,4 GHz EMA'nın benzodiazepin reseptörlerinin ekspresyonuna ve bu reseptörlere olan afiniteye olan etkisi incelenmiş. EMA günde 45 dk olmak üzere 10 gün boyunca uygulanmış. İlk uygulama gününde serebral kortekste benzodiazepin reseptörlerinin sayısında artış gözlenmiş ve 2,45 GHz EMA'nın hayvanlar üzerinde stres ve anksiyete kaynağı olabileceği sonucuna varılmıştır çünkü beyindeki benzodiazepin reseptörleri anksiyete ve stres durumlarında ekspresyonu artan ve bu duruma cevap olarak

oluşturulan reseptörlerdir (150, 151). EMA'nın anksiyete ve stres üzerindeki etkileri farklı frekanslarda da araştırılmış ve stresi indüklediği hatta oluşan stres nedeniyle uzaysal hafızadaki performansın etkilendiği görülmüştür (10, 152, 153). Cosquer ve ark. bu bilgilerin aksine 2,45 GHz EMA'nın anksiyeteye neden olmadığını öne sürmüşlerdir. Çalışmada EMA 45 dk. boyunca uygulanmış ve hayvanların anksiyetesi yükseltilmiş artı labirent testi ile ölçülmüştür. EMA'nın uygulama süresinin kısa olması tam etkinin görülmemesine neden olmuş olabilir çünkü çalışmamızda günde 3 saat 30 gün boyunca yapılan uygulama sonucunda EMA grubundaki hayvanların 3. günde Sham grubundan daha fazla dış kadranda süre geçirdikleri gözlenmiştir. EMA+GA grubundaki hayvanların dış kadranda geçirdikleri süre en uzundur. Bu durum GA'nın anksiyeteyi artırmış olabileceği sonucunu akla getirmektedir. Ancak GA'nın anksiyete üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalar bunun tam tersini işaret etmektedir ve GA'nın düşük dozlarda oldukça etkili bir anksiyolitik olduğu gösterilmiştir (127, 154-157). Çalışmamızda yalnızca GA tedavisi alan gruptaki hayvanların dış kadranda geçirdikleri sürenin Sham grubuna yakın olduğu görülmektedir bu durum GA'nın anksiyolitik etkisi olduğunu gösteren çalışmalarla uyumludur.

Dış kadranda katedilen mesafe, dış kadranda geçirilen süreye benzer şekilde anksiyete göstergesi olarak kabul edilmektedir. Hayvanın bu kadranda katettiği mesafe platformu bulma amacından uzaklaştığını, sudan kurtulma isteğini ifade etmektedir. Öğrenme egzersizleri boyunca yalnızca 1. günde gruplar arasında anlamlı fark saptanmıştır. Dış kadranda katedilen mesafeyi hedef platformu bulma süresi ve dış kadranda yüzme hızıyla birlikte değerlendirmek daha doğru olacaktır. Birinci gün Sham grubuna ait hayvanlar dış kadranda en fazla mesafeyi kateden EMA grubu ise en az mesafeyi katettiği görülmektedir. Öğrenme egzersizleri için birinci gün verilerinin istatistiksel olarak anlamlı olsa da çok sağlıklı sonuçlar vermemektedir çünkü hayvanlar farklı ve hoşlanmadıkları bir ortama adapte olmaya çalışmaktadırlar. Üçüncü gün verilerine bakıldığında Sham grubu hedef platformu en kısa sürede bulan, dış kadranda en az süreyi geçiren ve dış kadranda en az mesafeyi kateden gruptur. Tüm bu veriler Sham grubunun sisteme en iyi adapte olan, testin amacına uygun hedef platformu bulmaya odaklanan ve anksiyetesi en düşük olan grup olduğunu göstermektedir. Yalnızca EMA uygulaması alan gruptaki hayvanlar 3.

günde Sham grubuna kıyasla hedef platformu daha uzun sürede bulmuş, dış kadranda daha fazla süre geçirmiş ve burada katettiği mesafe de uzun olmuştur. Sonuçlara bakıldığında EMA'nın tek başına öğrenme ve bellek bozukluğuna neden olmasının yanı sıra hayvanlardaki stresi ve anksiyeteyi artırarak öğrenme ve belleğin gelişimine olumsuz etkisi de söz konusudur. Yalnızca GA tedavisi alan grupta sayılan tüm bu parametreler Sham grubuna oldukça yakındır. Ancak EMA+GA grubundaki hayvanlar Sham grubu ile karşılaştırıldığında bu parametreler üzerinde en kötü performansı sergileyen gruptur. EMA ve EMA+GA grupları arasında anlamlı farklılığın bulunmaması EMA'nın yarattığı öğrenme ve bellek bozukluğu, anksiyete artışı ve genel motor performansta düşüş üzerine GA tedavisinin olumlu bir etkisinin olmadığını göstermektedir.

NMDA reseptörleri postsinaptik membranda bulunan iyonotropik glutamat reseptörlerindendir (158). Merkezi sinir sisteminde önemli bir uyarıcı nörotransmitter olan glutamat tarafından aktive edilirler (159). NMDA reseptörlerinin aktive edilmesiyle postsinaptik membrana  $Ca^{+2}$  iyonu akışı başlar ve LTP oluşumu için gerekli olan reaksiyon kaskadının başlangıcını oluşturur (160). NMDA kanalları birçok alt birimden oluşmaktadır (NR1, NR2A-2D, NR3). Bu alt birimler içinde öğrenme ve belleğin regülasyonunda en önemli role sahip alt birim NR2B olarak tanımlanmıştır (161, 162). Bu nedenle çalışmamızda hipokampus dokusunda NR2B alt biriminin ekspresyonu Western Blot yöntemi ile analiz edilmiştir ve gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Win-Shwe ve ark.'nın yaptıkları çalışmada orta frekanslı EMA'nın (21 kHz, 15 gün, 1saat/gün) NMDA reseptör alt birimlerinden NR2B'nin ekspresyonunun manyetik alandan etkilenmediği bildirilmiştir (163). Sonuçlar çalışmamız ile uyumludur ancak kullanılan EMA frekansı ve uygulama süresi farklılık göstermektedir. Çalışmamızda uyguladığımız 2,45 GHz EMA'nın NR2B reseptör ekspresyonu üzerindeki etkisine dair çalışmaya rastlanmamıştır. 2,45 GHz'in öğrenme ve bellek üzerine etkilerini inceleyen çalışmalarda mekanizmanın moleküler düzeyine inilmediği, oluşan etkilere dair sonuçların davranış testleriyle elde edilen bulgularla sunulduğu görülmüştür (9, 11, 157, 164). Bu nedenle bu çalışma ile sunduğumuz sonuçlar literatürde ilk kez yer alacaktır ve EMA'nın farklı frekanslarının uygulandığı benzer çalışmaların sonuçları ile karşılaştırma yapılmıştır.

EMA'nın farklı frekanslarının öğrenme ve bellek fonksiyonlarında NR2B'nin ekspresyonu üzerindeki etkilerine dair çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda NR2B reseptör alt biriminin miktarındaki artışa yönelik 2 farklı yaklaşım getirilmiştir. Duan ve ark. aşırı düşük frekanslı EMA'nın (50 Hz, 28 gün, 4 saat/gün) glutamat,  $Ca^{+2}$  ve NR2B reseptör ekspresyonunda artışa neden olduğunu öne sürmüştür (165). Öğrenme ve bellek fonksiyonlarında NMDA reseptör aktivasyonu ve reseptör ekspresyonundaki artış elbette önemlidir (166). Yapılan çalışmalar aşırı glutamat salınımının NMDA reseptörlerinin aşırı aktivasyonuna ve NR2B alt tipinin ekspresyonunda artışa neden olduğunu göstermektedir (167). NMDA reseptörlerinin aşırı uyarılması NMDA reseptör-kanal kompleksinin açılmasını artırarak yüksek miktarda  $Ca^{+2}$  girişine neden olarak bu durumun nöronal apoptozla sonuçlanacağını ve LTP'nin de içinde bulunduğu öğrenme ve bellek fonksiyonlarının bundan etkileneceği ileri sürülmüştür (168). Reseptör ekspresyonundaki artışın aşırı uyarılma sonucu oluşması öğrenme ve bellek üzerinde zayıflatıcı etkiye sahipken, LTP'nin oluşması için gerekli olan fizyolojik düzeydeki artış tam tersine öğrenme ve belleği artırıcı yönde etki göstermektedir. Bu nedenle reseptör ekspresyonundaki artışı  $Ca^{+2}$ , glutamat ve hatta GABA miktarlarındaki değişikliklerle birlikte yorumlamak daha doğru sonuçlar alınmasına neden olacaktır.

Merkezi sinir sisteminde eksitator ve inhibitör nörotransmitterler arasında bir denge bulunmaktadır. Bu denge glutamat lehine bozulduğunda aşırı eksitasyon sonucu NMDA reseptörlerinin uyarılması ve ekspresyonlarında artış söz konusudur. Bu artış LTP'nin oluşumu için gerekli olan miktardan fazla olduğu durumda hücrede oksidatif yanıtın artışıyla başlayan ve hücreyi apoptoza götüren reaksiyonlar zinciri başlamaktadır. Duan ve ark. tarafından gerçekleştirilen çalışmada EMA uygulanan grupta görülen aşırı glutamat salınımıyla birlikte NR2B reseptör miktarında artış görülmüştür ancak bu durum hücreyi apoptoza sürüklemiştir (165). NR2B reseptörlerinin miktarındaki azalma ise öğrenme ve belleği olumsuz yönde etkilemektedir (166). Wang ve ark. tarafından yapılan çalışmada yalnızca 6 dk boyunca uygulanan 2.856 GHz EMA'nın uzaysal öğrenme ve bellek üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Beş dk boyunca EMA uygulanan gruba ait hayvanların hipokampus dokularında GABA, glutamat ve NMDA reseptör alt birimlerinin ekspresyonları analiz edilmiş, hem nörotransmitter miktarında hem de reseptör

ekspresyonunda azalmanın meydana gelmesiyle birlikte uzaysal öğrenme ve bellek fonksiyonlarında bozulma gerçekleştiği gösterilmiştir (169).

CREB-1 LTP'nin oluşumunda kritik öneme sahip olan ve kısa dönem hafızayı uzun dönem hafızaya dönüştüren anahtar moleküldür (60). CREB-1 aynı zamanda yeni ve kalıcı proteinler ile yeni sinaptik bağlantı oluşturacak proteinlerin sentezini tetikleyecek transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu aktive eder (61). Öğrenme ve belleğin oluşumunda önemli role sahip BDNF'nin ekspresyonu ise CREB'in fosforilasyon yoluyla aktive olmasına bağlıdır (62). Çalışmamızda hipokampus dokusunda CREB-1 ekspresyonu western blot yöntemi ile çalışılmış ve gruplar arasında anlamlı fark görülmemiştir. 2,45 GHz EMA'nın CREB-1 düzeyine olan etkisini araştıran çalışma bulunmamaktadır. Öğrenme ve bellek mekanizmasında yer alan CREB-1 ekspresyonu üzerinde EMA'nın etkisine dair ise literatürde az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar EMA'nın farklı frekansları uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Duan ve ark. 28 günlük 50 Hz aşırı düşük frekanslı EMA uygulamasının hipokampal CREB fosforilasyonunda azalmaya neden olduğunu tespit etmişler ve öğrenme-bellek fonksiyonlarında bozulma olduğunu öne sürmüşlerdir (165). Aynı şekilde Zuo ve ark. çalışmalarında 2.856 GHz EMA'nın öğrenme ve bellekle ilişkili olan CREB düzeyini azalttığını göstermişlerdir (170).

BDNF nörotrofin ailesinin bir üyesidir ve nörogenez, sinaptogenez olaylarında önemli role sahiptir ayrıca hipokampusta LTP mekanizmasını fizyolojik olarak fasilite ederek öğrenme ve bellek fonksiyonlarıyla ilişkilidir olduğu bilinmektedir. Artmış BDNF düzeyinin hipokampal nörojenik kapasiteyi artırdığı ve bunun sonucu olarak da hipokampus bağımlı hafızanın iyileştiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (44). Çalışmamızda hipokampus dokusunda BDNF ekspresyonu western blot yöntemi ile çalışılmış ve gruplar arasında anlamlı fark görülmemiştir. Win-Shwe ve ark. farklı frekansta uyguladıkları EMA'nın (21 kHz, 15 gün, 1saat/gün) hipokampal BDNF düzeyleri üzerinde değişiklik oluşturmadığı sonucuna ulaşmışlardır (163). Harry ve ark. 60 Hz (18,5 saat/gün, 1 hafta) EMA'yı gestasyon ve laktasyon sürecindeki sıçanlara uygulamışlar ve BDNF düzeylerini analiz etmişler. Sonuç olarak uygulanan EMA'nın BDNF düzeyinde değişikliğe neden



olmadığını bulmuşlardır. Çalışmanın verileri bizim çalışmamızla uyumludur ancak EMA frekansı ve uygulama süresi farklıdır (171).

Aynı EMA frekansı ve GA kullanılarak yapılacak sonraki çalışmalar için GA dozunun yeniden gözden geçirilerek farklı doz aralıklarının denenmesi, GA enjeksiyonu ile EMA uygulaması arasında farmakokinetik olaylar açısından belli bir süre bırakılması, hipokampus dokularında eksitotoksitenin değerlendirilmesi bakımından glutamat ve  $Ca^{+2}$  düzeylerinin analizi, oksidatif stres ve apoptozis düzeyini gösteren parametrelerinin incelenmesi ile konunun daha ayrıntılı aydınlatılması gerekmektedir.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

İletişim sağlamak ve yaşamı kolaylaştırmak amacıyla kullanılan fakat EMA yayan cihazlardan uzak kalmak günümüz teknolojisini ve ihtiyaçlarını göz önünde bulundurduğumuzda gerçekten imkansızdır. Bu cihazların günlük yaşantımıza girmesiyle birlikte yaydıkları EMA'nın insan sağlığı üzerindeki etkileri toplumda ve bilim dünyasında merak konusu olmuştur. Cihazların yaydığı EMA nedeniyle en fazla etkilenen risk grupları içine gelişim çağındaki çocukların girdiği bilinen bir gerçektir. Bu ağların özellikle ilk ve orta dereceli okullarda kullanılması gelişme çağındaki çocukların günün büyük bölümünü geçirdikleri okullarda tehlike arz etmektedir. Söz konusu çağdaki çocukları bu zararlı etkilerden korumak ve öğrenme-bellek işlevlerinde oluşacak olumsuz etkileri en aza indirmek için yapılan bilimsel çalışmalar önem kazanmaktadır. Bilimsel verilerle desteklenerek bu konunun aydınlatılması bir toplum sorununun parçasını oluşturmanın yanı sıra sağlıklı bireyler yetiştirmek için de önem arz etmektedir.

Çalışmamızda 2,45 GHz EMA'nın ve GA tedavisinin hipokampus aracılı öğrenme-bellek mekanizması üzerinde nasıl bir role sahip olduğu, Morris su tankı testi ve hipokampuste bu mekanizma ile ilişkili moleküler parametrelerin (NR2B, CREB, BDNF) western blot analizi ile değerlendirilmiştir. Otuz gün boyunca uygulanan EMA'nın su labirenti testinde öğrenme ve bellek fonksiyonlarında bozulmaya neden olduğu ancak 30 mg/kg dozunda uygulanan GA'nın bu bozulma üzerinde olumlu etkiye sahip olmadığı sonucuna varılmıştır. Hipokampuste ekspresyonları analiz edilen NR2B, CREB ve BDNF'nin düzeylerinde gruplar arasında fark olmadığı görülmüştür. Çalışmamızda sunulan bulguların, konu hakkındaki tartışmalara yeni bir bilimsel boyut katacağı ve daha sonra yapılacak çalışmalara referans olacağı kanaatindeyiz.

## ÖZET

### **Öğrenme-Bellek Mekanizmasındaki Postsinaptik Modifikasyonlara Kablosuz Ağların Etkisi ve Gallik Asidin Rolü**

Çalışmamızda kablosuz ağların yaydığı 2,45 GHz elektromanyetik alan (EMA)'ın hipokampus aracılı öğrenme-bellek mekanizması üzerindeki etkisi ve gallik asit (GA)'in bu mekanizmadaki rolü incelenmiştir.

Çalışmada sağlıklı, 6 haftalık, 48 adet, erkek sıçan kullanıldı. Dört farklı deney grubu oluşturuldu (n=12). Grup 1: EMA; 3saat/gün EMA uygulandı ve 0,1 ml/gün distile su verildi. Grup 2: EMA+GA; 3saat/gün EMA uygulandı ve 30 mg/kg/gün dozunda GA verildi. Grup 3: GA; 30 mg/kg/gün dozunda GA verildi. Grup 4: Sham; 0,1 ml/gün distile su verildi. Deney 30 gün sürdü ve deney süresince tüm gruplara kısıtlama uygulandı. EMA uygulamasını takiben, öğrenme ve belleği değerlendirmek amacıyla Morris su tankı testi kullanıldı. Altı günlük mekansal öğrenme ve hafıza testinden 24 saat sonra deney sonlandırıldı. Anestezi altında hayvanlar dekapite edildi ve hipokampus dokuları alındı. Dokulardaki NR2B, CREB ve BDNF protein ekspresyonları Western Blot yöntemi ile analiz edildi.

Otuz gün boyunca uygulanan EMA'nın su labirenti testinde öğrenme ve bellek fonksiyonlarında bozulmaya neden olduğu ancak GA tedavisinin bu bozulma üzerinde olumlu etkiye sahip olmadığı sonucuna varılmıştır. Hipokampus dokusundaki ekspresyonları analiz edilen NR2B, CREB ve BDNF'de gruplar arasında farklılık olmadığı görülmüştür.

**Anahtar sözcükler:** Elektromanyetik alan, Gallik Asit, Öğrenme ve Bellek, Hipokampus

## ABSTRACT

### **Effects of Wireless Networks and The Role of Gallic Acid in The Postsynaptic Modifications of Learning and Memory Mechanism**

We aimed to evaluate the effect of 2.45 GHz electromagnetic field (EMF) and the role of gallic acid (GA) on the hippocampus-mediated learning-memory mechanism.

The healthy male rats aged 6-week were divided into four different experimental groups (n = 12). Group 1: EMF; 3 hours / day EMF was applied and 0.1 ml/day distilled water was given. Group 2: EMF + GA; 3 hours / day EMF was applied and GA at a dose of 30 mg/kg/day was administered. Group 3: GA; GA at a dose of 30 mg/kg/day was given. Group 4: Sham; 0.1 ml/day distilled water was supplied. The experiment lasted 30 days and all rats included in experiment were restricted during 30 days. Following the application of the EMF, the Morris water tank test was used to assess learning and memory. Twenty-four hours after the six-day spatial learning and memory test, the experiment was terminated. Under anesthesia animals were decapitated and hippocampus tissues were removed. NR2B, CREB and BDNF protein expressions were analyzed by Western blot analysis.

EMF applied for 30 days resulted in deterioration of learning and memory functions in the water maze test, but gallic acid treatment did not have positive effect on this deterioration. There was no change in the levels of NR2B, CREB and BDNF analyzed in concentrations of Hipokampus tissue.

**Keywords:** Electromagnetic field, gallic acid, learning and memory, hippocampus

## KAYNAKLAR

1. Özgüner F, Mollaoglu H. Manyetik alanın organizma üzerindeki biyolojik etkileri. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2006;13(1):38-41.
2. Bielski J. Bioelectrical brain activity in workers exposed to electromagnetic fields. Annals of the New York Academy of Sciences. 1994;724:435-7.
3. Hossmann KA, Hermann DM. Effects of electromagnetic radiation of mobile phones on the central nervous system. Bioelectromagnetics. 2003;24(1):49-62.
4. Repacholi MH. Health risks from the use of mobile phones. Toxicology letters. 2001;120(1-3):323-31.
5. Valentini E, Curcio G, Moroni F, Ferrara M, De Gennaro L, Bertini M. Neurophysiological effects of mobile phone electromagnetic fields on humans: a comprehensive review. Bioelectromagnetics. 2007;28(6):415-32.
6. Salford LG, Brun AE, Eberhardt JL, Malmgren L, Persson BR. Nerve cell damage in mammalian brain after exposure to microwaves from GSM mobile phones. Environmental health perspectives. 2003;111(7):881-3; discussion A408.
7. Nittby H, Grafstrom G, Eberhardt JL, Malmgren L, Brun A, Persson BR, et al. Radiofrequency and extremely low-frequency electromagnetic field effects on the blood-brain barrier. Electromagnetic biology and medicine. 2008;27(2):103-26.
8. Lu Y, Xu S, He M, Chen C, Zhang L, Liu C, et al. Glucose administration attenuates spatial memory deficits induced by chronic low-power-density microwave exposure. Physiology & behavior. 2012;106(5):631-7.
9. Lai H. Interaction of microwaves and a temporally incoherent magnetic field on spatial learning in the rat. Physiology & behavior. 2004;82(5):785-9.
10. Lai H, Horita A, Guy AW. Microwave irradiation affects radial-arm maze performance in the rat. Bioelectromagnetics. 1994;15(2):95-104.
11. Cobb BL, Jauchem JR, Adair ER. Radial arm maze performance of rats following repeated low level microwave radiation exposure. Bioelectromagnetics. 2004;25(1):49-57.
12. Nair GG, Nair CK. Radioprotective effects of gallic acid in mice. BioMed research international. 2013;2013:953079.
13. Mansouri MT, Farbood Y, Sameri MJ, Sarkaki A, Naghizadeh B, Rafeirad M. Neuroprotective effects of oral gallic acid against oxidative stress induced by 6-hydroxydopamine in rats. Food chemistry. 2013;138(2-3):1028-33.
14. Mansouri MT, Naghizadeh B, Ghorbanzadeh B, Farbood Y, Sarkaki A, Bavarsad K. Gallic acid prevents memory deficits and oxidative stress induced by intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats. Pharmacology, biochemistry, and behavior. 2013;111:90-6.

15. Selçuk Z. Öğrenme Psikolojisi. Gelişim ve Öğrenme. 13. baskı ed. Ankara: Nobel Yayın Dağıtım; 2005. p. 121.
16. Berne RM, Levy MN, Koeppe BM, Stanton BA. Sinir Sistemi. In: Fizyoloji. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği, Eds. 5th Ed., Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 2008, p. 202.
17. Hatipoğlu N. Perinatal dönemde uygulanan propiltiurasilin ratların öğrenme ve bellek fonksiyonları üzerine etkileri. Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Kayseri, (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Selim Kurtoğlu), 2007; 21.
18. Pınar L. Sinir ve Kas Fizyolojisi Temel Bilgileri. İkinci ed. Ankara: Akademisyen Tıp Kitabevi; 2014. p. 234-5.
19. Guyton AC, Hall JE. Textbook of medical physiology. 9th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1996.
20. Özten N. Öğrenme ve Hafızada Hücresel-Moleküler Mekanizmalar. Ankara Üniversitesi Dikimevi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi. 2003;4(1):1-5.
21. Bliss TV, Lomo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. The Journal of physiology. 1973;232(2):331-56.
22. Lynch MA. Long-term potentiation and memory. Physiological reviews. 2004;84(1):87-136.
23. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL. Tedavinin Farmakolojik Temeli. In: Süzer O, editor. Goodman&Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 11. ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2009.
24. Uzbay Tİ. Nöropsikofarmakoloji Rasyonel İlaç Kullanımı. Birinci ed. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık Ltd. Şti.; 2007.
25. Çelik T. Benzodiazepin antagonisti flumazenilin shuttle-box yöntemi ile sıçanlarda öğrenme ve bellek üzerine etkileri. [Doktora]. Ankara 1995.
26. Yüksel N. Psikofarmakoloji. Üçüncü ed. Ankara: Medikal & Nobel Kitabevi; 2007. p. 331-4.
27. Rakic P. Limits of neurogenesis in primates. Science. 1985;227(4690):1054-6.
28. Kuipers SD, Trentani A, Den Boer JA, Ter Horst GJ. Molecular correlates of impaired prefrontal plasticity in response to chronic stress. Journal of neurochemistry. 2003;85(5):1312-23.
29. Başaran DC, Yıldırım F, Ekenci BY, Kılıç S, Ülgen P. Nöroplastisite ve Güncel Yaklaşımlar.
30. Yasui T, Fujisawa S, Tsukamoto M, Matsuki N, Ikegaya Y. Dynamic synapses as archives of synaptic history: state-dependent redistribution of synaptic efficacy in the rat hippocampal CA1. The Journal of physiology. 2005;566(Pt 1):143-60.

31. Yongu GN. Sıçanlarda streptozotosin ile oluşturulan deneysel diyabetin uzaysal öğrenme ve hippocampus nöron sayısına etkisi. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Denizli, (Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mehmet Bülent zdemir), 2009.
32. Goodman LS, Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG. Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 10th ed. New York: McGraw-Hill; 2001. xxvii, 2148 p. p.
33. Kayaalp SO. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. Onuncu ed. Ankara: Pelikan Yayıncılık Ltd. şti.; 2002. p. 549-53.
34. Malenka RC, Kauer JA, Zucker RS, Nicoll RA. Postsynaptic calcium is sufficient for potentiation of hippocampal synaptic transmission. *Science*. 1988;242(4875):81-4.
35. Uzbay Tİ. Stahl'ın Temel Psikofarmakolojisi. Nörobilimsel ve Pratik Uygulamalar. In: Stahl SM, editor. Stahl's essential psychopharmacology: neuroscientific basis and practical applications 3rd edition. Birinci ed. İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi; 2012.
36. Barde YA, Edgar D, Thoenen H. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *The EMBO journal*. 1982;1(5):549-53.
37. Binder DK, Scharfman HE. Brain-derived neurotrophic factor. *Growth factors*. 2004;22(3):123-31.
38. Chao MV, Rajagopal R, Lee FS. Neurotrophin signalling in health and disease. *Clinical science*. 2006;110(2):167-73.
39. Tongiorgi E. Activity-dependent expression of brain-derived neurotrophic factor in dendrites: facts and open questions. *Neuroscience research*. 2008;61(4):335-46.
40. Alsina B, Vu T, Cohen-Cory S. Visualizing synapse formation in arborizing optic axons in vivo: dynamics and modulation by BDNF. *Nature neuroscience*. 2001;4(11):1093-101.
41. Cunha C, Brambilla R, Thomas KL. A simple role for BDNF in learning and memory? *Frontiers in molecular neuroscience*. 2010;3:1.
42. Lee E, Son H. Adult hippocampal neurogenesis and related neurotrophic factors. *BMB reports*. 2009;42(5):239-44.
43. Mei F, Nagappan G, Ke Y, Sacktor TC, Lu B. BDNF facilitates L-LTP maintenance in the absence of protein synthesis through PKMzeta. *PloS one*. 2011;6(6):e21568.
44. Hsiao YH, Hung HC, Chen SH, Gean PW. Social interaction rescues memory deficit in an animal model of Alzheimer's disease by increasing BDNF-dependent hippocampal neurogenesis. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2014;34(49):16207-19.
45. Pruunsild P, Kazantseva A, Aid T, Palm K, Timmusk T. Dissecting the human BDNF locus: bidirectional transcription, complex splicing, and multiple promoters. *Genomics*. 2007;90(3):397-406.

46. Pruunsild P, Sepp M, Orav E, Koppel I, Timmusk T. Identification of cis-elements and transcription factors regulating neuronal activity-dependent transcription of human BDNF gene. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2011;31(9):3295-308.
47. Tognoli C, Rossi F, Di Cola F, Baj G, Tongiorgi E, Terova G, et al. Acute stress alters transcript expression pattern and reduces processing of proBDNF to mature BDNF in *Dicentrarchus labrax*. *BMC neuroscience*. 2010;11:4.
48. Kimura K, Wakamatsu A, Suzuki Y, Ota T, Nishikawa T, Yamashita R, et al. Diversification of transcriptional modulation: large-scale identification and characterization of putative alternative promoters of human genes. *Genome research*. 2006;16(1):55-65.
49. Liu H, Xue X, Shi H, Qi L, Gong D. Osteole Upregulates BDNF to Enhance Adult Hippocampal Neurogenesis in APP/PS1 Transgenic Mice. *Biological & pharmaceutical bulletin*. 2015;38(10):1439-49.
50. Montminy MR, Bilezikjian LM. Binding of a nuclear protein to the cyclic-AMP response element of the somatostatin gene. *Nature*. 1987;328(6126):175-8.
51. Yamamoto KK, Gonzalez GA, Biggs WH, 3rd, Montminy MR. Phosphorylation-induced binding and transcriptional efficacy of nuclear factor CREB. *Nature*. 1988;334(6182):494-8.
52. Yamashita T. 'PUFA-GPR40-CREB signaling' hypothesis for the adult primate neurogenesis. *Progress in lipid research*. 2012;51(3):221-31.
53. Scott R, Bourchuladze R, Gossweiler S, Dubnau J, Tully T. CREB and the discovery of cognitive enhancers. *Journal of molecular neuroscience : MN*. 2002;19(1-2):171-7.
54. Silva AJ, Kogan JH, Frankland PW, Kida S. CREB and memory. *Annual review of neuroscience*. 1998;21:127-48.
55. Barco A, Pittenger C, Kandel ER. CREB, memory enhancement and the treatment of memory disorders: promises, pitfalls and prospects. *Expert opinion on therapeutic targets*. 2003;7(1):101-14.
56. Gumuslu E, Mutlu O, Sunnetci D, Ulak G, Celikyurt IK, Cine N, et al. The Antidepressant Agomelatine Improves Memory Deterioration and Upregulates CREB and BDNF Gene Expression Levels in Unpredictable Chronic Mild Stress (UCMS)-Exposed Mice. *Drug target insights*. 2014;8:11-21.
57. Vogt MA, Inta D, Luoni A, Elkin H, Pfeiffer N, Riva MA, et al. Inducible forebrain-specific ablation of the transcription factor Creb during adulthood induces anxiety but no spatial/contextual learning deficits. *Frontiers in behavioral neuroscience*. 2014;8:407.
58. Emekli AS. Belleğin biyolojisi: 40 yıllık perspektif. *Cerrahpaşa öğrenci bilimsel dergisi*. 2012;5(6):22-33.
59. Ortega-Martinez S. A new perspective on the role of the CREB family of transcription factors in memory consolidation via adult hippocampal neurogenesis. *Frontiers in molecular neuroscience*. 2015;8:46.



60. Kida S, Serita T. Functional roles of CREB as a positive regulator in the formation and enhancement of memory. *Brain research bulletin*. 2014;105:17-24.
61. Suzuki A, Fukushima H, Mukawa T, Toyoda H, Wu LJ, Zhao MG, et al. Upregulation of CREB-mediated transcription enhances both short- and long-term memory. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2011;31(24):8786-802.
62. Cameron HA, Glover LR. Adult neurogenesis: beyond learning and memory. *Annual review of psychology*. 2015;66:53-81.
63. Kandel ER, Schawetz JH, Jessel TM. Cellular mechanisms of learning and the biological basis of individuality. *Principles of Neural Science*. New York: Elsevier Press; 1991. p. 997-1008.
64. Songur A, Özen OA, Sarsılmaz M. Hipokampus. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*. 2001;21:427-31.
65. <http://www.brainybehavior.com/blog/wp-content/uploads/2008/11/gray747.png>. Erişim tarihi: 03.05.2015 [
66. Uysal N, Dayı A, Özbal S, Çetin F, Aksu İ, Yalaz G, et al. Development of spatial memory during adolescent period in rats. *Journal of Neurological Sciences*. 2010;27(4):407-13.
67. Berry MB, L. H.; Standring, S. M. Nervous System. In: Williams PL BL, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE, Ferguson MWJ, editor. *Gray's Anatomy*. 38th ed. New York: Churchill Livingstone; 1995. p. 1124-6.
68. <http://www.biomedicale.univ-paris5.fr/physiocer/Research-24>. Erişim tarihi: 03.05.2014.
69. Arıncı K, Elhan A. *Anatomi*. 2. cilt. Ankara: Güneş Kitabevi; 1995. p. 403-4.
70. Muller D, Djebbara-Hannas Z, Jourdain P, Vutskits L, Durbec P, Rougon G, et al. Brain-derived neurotrophic factor restores long-term potentiation in polysialic acid-neural cell adhesion molecule-deficient hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2000;97(8):4315-20.
71. Ridley RM, Aitken DM, Baker HF. Learning about rules but not about reward is impaired following lesions of the cholinergic projection to the hippocampus. *Brain research*. 1989;502(2):306-18.
72. Kuş İ, Zararsız İ, Ögetürk M, Yılmaz HR. Formaldehit nörotoksitesine bağlı hipokampusta gelişen oksidatif hasar ve melatonin hormonunun koruyucu etkisi: Deneysel bir çalışma. *Fırat Tıp Dergisi*. 2007;12(4):256-60.
73. Demirhan O. Hipokampus protezi [Available from: [http://www.academia.edu/4370710/Hipokampus\\_Protezi\\_-\\_Dr.\\_Demir\\_Onurhan](http://www.academia.edu/4370710/Hipokampus_Protezi_-_Dr._Demir_Onurhan).

74. Broglio C, Gomez A, Duran E, Ocana FM, Jimenez-Moya F, Rodriguez F, et al. Hallmarks of a common forebrain vertebrate plan: specialized pallial areas for spatial, temporal and emotional memory in actinopterygian fish. *Brain research bulletin*. 2005;66(4-6):277-81.
75. Morris RGM. Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and Motivation*. 1981;12:239-60.
76. Bromley-Brits K, Deng Y, Song W. Morris water maze test for learning and memory deficits in Alzheimer's disease model mice. *Journal of visualized experiments : JoVE*. 2011(53).
77. Xiao H, Liu B, Chen Y, Zhang J. Learning, memory and synaptic plasticity in hippocampus in rats exposed to sevoflurane. *International journal of developmental neuroscience : the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience*. 2016;48:38-49.
78. Xu B, Yang J, Kang F, Li J. The inflammatory response of two different kinds of anesthetics on vascular cognitive impairment rats and the effect on long term cognitive function. *International journal of clinical and experimental medicine*. 2015;8(9):16694-8.
79. McDonald RJ, Hong NS, Devan BD. The challenges of understanding mammalian cognition and memory-based behaviours: an interactive learning and memory systems approach. *Neuroscience and biobehavioral reviews*. 2004;28(7):719-45.
80. D'Hooge R, De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain research Brain research reviews*. 2001;36(1):60-90.
81. Biessels GJ, Kamal A, Urban IJ, Spruijt BM, Erkelens DW, Gispen WH. Water maze learning and hippocampal synaptic plasticity in streptozotocin-diabetic rats: effects of insulin treatment. *Brain research*. 1998;800(1):125-35.
82. Florian C, Rouillet P. Hippocampal CA3-region is crucial for acquisition and memory consolidation in Morris water maze task in mice. *Behavioural brain research*. 2004;154(2):365-74.
83. Narwal S, Saini Rishika D, Kumari K, Narwal S, Singh G, Singh Negi R, et al. Behavior & Pharmacological Animal Models for the Evaluation of Learning & Memory Condition. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012;2(2):121-9.
84. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of neuroscience methods*. 1984;11(1):47-60.
85. Gümüşgerdanlı Ç. Yenidoğan ratlarda tekrarlayan izofluran uygulamasının öğrenme ve bellek üzerine etkileri. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, İzmir, (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ali Necati GÖKMEN), 2011; 11-14.
86. Schimanski LA, Nguyen PV. Multidisciplinary approaches for investigating the mechanisms of hippocampus-dependent memory: a focus on inbred mouse strains. *Neuroscience and biobehavioral reviews*. 2004;28(5):463-83.

87. Snow WM, Pahlavan PS, Djordjevic J, McAllister D, Platt EE, Alashmali S, et al. Morris Water Maze Training in Mice Elevates Hippocampal Levels of Transcription Factors Nuclear Factor (Erythroid-derived 2)-like 2 and Nuclear Factor Kappa B p65. *Frontiers in molecular neuroscience*. 2015;8:70.
88. Schutova B, Hrubá L, Pometlova M, Deykun K, Slamberova R. Impact of methamphetamine administered prenatally and in adulthood on cognitive functions of male rats tested in Morris water maze. *Prague medical report*. 2008;109(1):62-70.
89. Stuchlik A, Rezacova L, Vales K, Bubenikova V, Kubik S. Application of a novel Active Allothetic Place Avoidance task (AAPA) in testing a pharmacological model of psychosis in rats: comparison with the Morris Water Maze. *Neuroscience letters*. 2004;366(2):162-6.
90. Grossmann M, Skinner MH. A simple computer based system to analyze Morris water maze trials on-line. *Journal of neuroscience methods*. 1996;70(2):171-5.
91. Nunez J. Morris Water Maze Experiment. *Journal of visualized experiments : JoVE*. 2008(19).
92. <http://www.augusta.edu/core/labs/sabc/morriswatermaze.php>. Erişim tarihi: 01.02.2016.
93. Balıkçı K. Elektromanyetik alan uygulanan sıçanlarda beyin katekolaminerjik nörotransmitter düzeylerinin araştırılması. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Elazığ, (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mustafa POYRAZ), 2009; 1.
94. Türkkan A, Pala K. Çok Düşük Frekanslı Elektromanyetik Radyasyon ve Sağlık Etkileri. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*. 2009;14(2):11-22.
95. Yılmaz H. Kablosuz yerel alan ağlarından kaynaklanan elektromanyetik alanın, işitme üzerine etkilerinin araştırılması. Sağlık Bakanlığı İstanbul Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kulak-Burun-Boğaz Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul, (Tez Danışmanı: Doç. Dr. İlhan Topaloğlu), 2007; 42
96. Challis LJ. Mechanisms for interaction between RF fields and biological tissue. *Bioelectromagnetics*. 2005;Suppl 7:98-106.
97. Çerezci O, Şeker S, Pala K. İlköğretim ve ana okullarında dış kaynaklı elektromanyetik alan maruziyetinin niteliksel analizi. *Elektromanyetik alanlar ve etkileri sempozyumu kitapçığı*. 2011:196.
98. Güler İ, Çetin T, Özdemir A, Uçar N. Bilgi Teknolojileri ve İletişim Kurumu Sektörel Araştırma ve Stratejiler Dairesi Başkanlığı Türkiye Elektromanyetik Alan Maruziyet Raporu, Aralık 2010. Erişim Tarihi: 08.04.2015.
99. Dünya Sağlık Örgütü. Electromagnetic fields and public health, exposure to extremely low frequency electromagnetic fields. *Fact Sheet No:322*. 2007.
100. Akbal A, Balık H. Elektromanyetik dalgaların bakteri gelişimi üzerine etkisi. *Elektromanyetik alanlar ve etkileri sempozyumu kitapçığı*. 2011:183.

101. Logani MK, Anga A, Szabo I, Agelan A, Irizarry AR, Ziskin MC. Effect of millimeter waves on cyclophosphamide induced suppression of the immune system. *Bioelectromagnetics*. 2002;23(8):614-21.
102. Ding GR, Li KC, Wang XW, Zhou YC, Qiu LB, Tan J, et al. Effect of electromagnetic pulse exposure on brain micro vascular permeability in rats. *Biomedical and environmental sciences : BES*. 2009;22(3):265-8.
103. Dinçer H. Elektromagnetik ışınımların insan sağlığına etkisi. *Elektrik Mühendisliği Dergisi*. 2000;40(406):22-30.
104. Özen Ş, Tosun P, Helhel S. Acil çağrı merkezlerinde elektromanyetik alan seviyeleri ve mesleki maruz kalmanın değerlendirilmesi Elektromanyetik alanlar ve etkileri sempozyumu kitapçığı. 2011:221.
105. Panagopoulos DJ, Messini N, Karabarbounis A, Philippetis AL, Margaritis LH. A mechanism for action of oscillating electric fields on cells. *Biochemical and biophysical research communications*. 2000;272(3):634-40.
106. Panagopoulos DJ, Karabarbounis A, Margaritis LH. Mechanism for action of electromagnetic fields on cells. *Biochemical and biophysical research communications*. 2002;298(1):95-102.
107. Naziroglu M, Gumral N. Modulator effects of L-carnitine and selenium on wireless devices (2.45 GHz)-induced oxidative stress and electroencephalography records in brain of rat. *International journal of radiation biology*. 2009;85(8):680-9.
108. Naziroğlu M. Kablosuz internet (2.45 ghz) kalsiyum iyon sinyalini bozarak beyin faaliyetlerini bozuyor mu? Elektromanyetik alanlar ve etkileri sempozyumu kitapçığı. 2011:255.
109. Deng B, Xu H, Zhang J, Wang J, Han LC, Li LY, et al. Neuroprotective effects of sevoflurane against electromagnetic pulse-induced brain injury through inhibition of neuronal oxidative stress and apoptosis. *PloS one*. 2014;9(3):91019.
110. Irmak MK, Fadillioglu E, Gulec M, Erdogan H, Yagmurca M, Akyol O. Effects of electromagnetic radiation from a cellular telephone on the oxidant and antioxidant levels in rabbits. *Cell biochemistry and function*. 2002;20(4):279-83.
111. Chavdoula ED, Panagopoulos DJ, Margaritis LH. Comparison of biological effects between continuous and intermittent exposure to GSM-900-MHz mobile phone radiation: Detection of apoptotic cell-death features. *Mutation research*. 2010;700(1-2):51-61.
112. Hug K, Roosli M, Rapp R. Magnetic field exposure and neurodegenerative diseases--recent epidemiological studies. *Sozial- und Praventivmedizin*. 2006;51(4):210-20.
113. Jiang DP, Li J, Zhang J, Xu SL, Kuang F, Lang HY, et al. Electromagnetic pulse exposure induces overexpression of beta amyloid protein in rats. *Archives of medical research*. 2013;44(3):178-84.

114. Eris AH, Kiziltan HS, Meral I, Genc H, Trabzon M, Seyithanoglu H, et al. Effect of Short-term 900 MHz low level electromagnetic radiation exposure on blood serotonin and glutamate levels. *Bratislavske lekarske listy*. 2015;116(2):101-3.
115. Masoudian N, Riazi GH, Afrasiabi A, Modaresi SM, Dadras A, Rafiei S, et al. Variations of glutamate concentration within synaptic cleft in the presence of electromagnetic fields: an artificial neural networks study. *Neurochemical research*. 2015;40(4):629-42.
116. Razavinasab M, Moazzami K, Shabani M. Maternal mobile phone exposure alters intrinsic electrophysiological properties of CA1 pyramidal neurons in rat offspring. *Toxicology and industrial health*. 2014.
117. Stanely Mainzen Prince P, Priscilla H, Devika PT. Gallic acid prevents lysosomal damage in isoproterenol induced cardiotoxicity in Wistar rats. *European journal of pharmacology*. 2009;615(1-3):139-43.
118. Zucali PA, Ceresoli GL, De Vincenzo F, Simonelli M, Lorenzi E, Gianoncelli L, et al. Advances in the biology of malignant pleural mesothelioma. *Cancer treatment reviews*. 2011;37(7):543-58.
119. Han X, Shen T, Lou H. Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *International Journal of Molecular Sciences*. 2007;8(9):950-88.
120. Özmen A. Karaciğer iskemi reperfüzyonu sırasında oluşan oksidatif stres hasarına karşı gallik asitin olası koruyucu etkilerinin araştırılması. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir, (Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mediha Canbek), 2011; 31.
121. Priscilla DH, Prince PS. Cardioprotective effect of gallic acid on cardiac troponin-T, cardiac marker enzymes, lipid peroxidation products and antioxidants in experimentally induced myocardial infarction in Wistar rats. *Chemico-biological interactions*. 2009;179(2-3):118-24.
122. Fernandes FH, Salgado HR. Gallic Acid: Review of the Methods of Determination and Quantification. *Critical reviews in analytical chemistry / CRC*. 2015:0.
123. Sharma A, Gautam SP, Gupta AK. Surface modified dendrimers: synthesis and characterization for cancer targeted drug delivery. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2011;19(11):3341-6.
124. Punithavathi VR, Stanely Mainzen Prince P, Kumar MR, Selvakumari CJ. Protective effects of gallic acid on hepatic lipid peroxide metabolism, glycoprotein components and lipids in streptozotocin-induced type II diabetic Wistar rats. *Journal of biochemical and molecular toxicology*. 2011;25(2):68-76.
125. Bal MO. Gallik asit ve esterlerinin radyasyon duyarlıklarının elektron spin rezonans (ESR) spektroskopisi ile incelenmesi. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir, (Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Hasan Tuner), 2013; 2-53.

126. Sun J, Li YZ, Ding YH, Wang J, Geng J, Yang H, et al. Neuroprotective effects of gallic acid against hypoxia/reoxygenation-induced mitochondrial dysfunctions in vitro and cerebral ischemia/reperfusion injury in vivo. *Brain research*. 2014;1589:126-39.
127. Dhingra MS, Dhingra S, Kumria R, Chadha R, Singh T, Kumar A, et al. Effect of trimethylgallic acid esters against chronic stress-induced anxiety-like behavior and oxidative stress in mice. *Pharmacological reports : PR*. 2014;66(4):606-12.
128. Sarkaki A, Farbood Y, Gharib-Naseri MK, Badavi M, Mansouri MT, Haghparast A, et al. Gallic acid improved behavior, brain electrophysiology, and inflammation in a rat model of traumatic brain injury. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 2015;93(8):687-94.
129. Sage C, Burgio E. *Electromagnetic Fields, Pulsed Radiofrequency Radiation, and Epigenetics: How Wireless Technologies May Affect Childhood Development*. Child development. 2017.
130. <http://fatihprojesi.meb.gov.tr/proje-hakkinda/>. Erişim tarihi: 04.07.2016 [Internet].
131. <http://www.safeinschool.org/2011/01/wi-fi-is-removed-from-schools-and.html>. Erişim tarihi: 04.07.2016 [Internet].
132. Sarkaki A, Fathimoghaddam H, Mansouri SM, Korrani MS, Saki G, Farbood Y. Gallic acid improves cognitive, hippocampal long-term potentiation deficits and brain damage induced by chronic cerebral hypoperfusion in rats. *Pakistan journal of biological sciences : PJBS*. 2014;17(8):978-90.
133. Korani MS, Farbood Y, Sarkaki A, Fathi Moghaddam H, Taghi Mansouri M. Protective effects of gallic acid against chronic cerebral hypoperfusion-induced cognitive deficit and brain oxidative damage in rats. *European journal of pharmacology*. 2014;733:62-7.
134. Schonborn F, Pokovic K, Kuster N. Dosimetric analysis of the carousel setup for the exposure of rats at 1.62 GHz. *Bioelectromagnetics*. 2004;25(1):16-26.
135. Neubauer C, Phelan AM, Kues H, Lange DG. Microwave irradiation of rats at 2.45 GHz activates pinocytotic-like uptake of tracer by capillary endothelial cells of cerebral cortex. *Bioelectromagnetics*. 1990;11(4):261-8.
136. Middleton J. *The Engineer's EMC Work Book: A Personal Introduction to the Complex World of ElectroMagnetic Compatibility with Guidance on how to Improve It, Including Spreadsheet Programs to Aid Analysis*: Marconi Instruments; 1992.
137. Peyman A, Rezazadeh AA, Gabriel C. Changes in the dielectric properties of rat tissue as a function of age at microwave frequencies. *Physics in medicine and biology*. 2001;46(6):1617-29.
138. Gabriel C. *Compilation of the dielectric properties of body tissues at RF and microwave frequencies*. Brooks Air Force Technical Report. 1996;1996.
139. Polk C, Postow E. *Handbook of Biological Effects of Electromagnetic Fields, - 2 Volume Set*: CRC press; 1995.

140. Gajsek P, Walters TJ, Hurt WD, Ziriak JM, Nelson DA, Mason PA. Empirical validation of SAR values predicted by FDTD modeling. *Bioelectromagnetics*. 2002;23(1):37-48.
141. [http://anibal.gyte.edu.tr/hebe/AbiDrive/71167157/w/Storage/217\\_2011\\_1\\_113\\_71167157/Downloads/sds-lisans-lab.pdf](http://anibal.gyte.edu.tr/hebe/AbiDrive/71167157/w/Storage/217_2011_1_113_71167157/Downloads/sds-lisans-lab.pdf). Erişim tarihi: 05.05.2016.
142. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970;227(5259):680-5.
143. <http://www.sigmaldrich.com/technical-documents/articles/biology/sds-page.html>. Erişim tarihi: 05.03.2016.
144. Doguc DK, Delibas N, Vural H, Altuntas I, Sutcu R, Sonmez Y. Effects of chronic scopolamine administration on spatial working memory and hippocampal receptors related to learning. *Behavioural pharmacology*. 2012;23(8):762-70.
145. Shahin S, Banerjee S, Singh SP, Chaturvedi CM. 2.45 GHz Microwave Radiation Impairs Learning and Spatial Memory via Oxidative/Nitrosative Stress Induced p53-Dependent/Independent Hippocampal Apoptosis: Molecular Basis and Underlying Mechanism. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*. 2015;148(2):380-99.
146. Du Y, Chen H, Zhang Y, Chang Y. Photodegradation of gallic acid under UV irradiation: insights regarding the pH effect on direct photolysis and the ROS oxidation-sensitized process of DOM. *Chemosphere*. 2014;99:254-60.
147. Ghazizadeh V, Naziroglu M. Electromagnetic radiation (Wi-Fi) and epilepsy induce calcium entry and apoptosis through activation of TRPV1 channel in hippocampus and dorsal root ganglion of rats. *Metabolic brain disease*. 2014;29(3):787-99.
148. Mitchell CL, McRee DI, Peterson NJ, Tilson HA. Some behavioral effects of short-term exposure of rats to 2.45 GHz microwave radiation. *Bioelectromagnetics*. 1988;9(3):259-68.
149. Galvin MJ, Tilson HA, Mitchell CL, Peterson J, McRee DI. Influence of pre- and postnatal exposure of rats to 2.45-GHz microwave radiation on neurobehavioral function. *Bioelectromagnetics*. 1986;7(1):57-71.
150. Millan MJ. The neurobiology and control of anxious states. *Progress in neurobiology*. 2003;70(2):83-244.
151. Lai H, Carino MA, Horita A, Guy AW. Single vs. repeated microwave exposure: effects on benzodiazepine receptors in the brain of the rat. *Bioelectromagnetics*. 1992;13(1):57-66.
152. Ray S, Behari J. Physiological changes in rats after exposure to low levels of microwaves. *Radiation research*. 1990;123(2):199-202.
153. Micheau J, Van Marrewijk B. Stimulation of 5-HT1A receptors by systemic or medial septum injection induces anxiogenic-like effects and facilitates acquisition of a spatial discrimination task in mice. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*. 1999;23(6):1113-33.

154. Mansouri MT, Soltani M, Naghizadeh B, Farbood Y, Mashak A, Sarkaki A. A possible mechanism for the anxiolytic-like effect of gallic acid in the rat elevated plus maze. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*. 2014;117:40-6.
155. Nagpal K, Singh SK, Mishra DN. Optimization of brain targeted gallic acid nanoparticles for improved antianxiety-like activity. *International journal of biological macromolecules*. 2013;57:83-91.
156. Dhingra D, Chhillar R, Gupta A. Antianxiety-like activity of gallic acid in unstressed and stressed mice: possible involvement of nitriergic system. *Neurochemical research*. 2012;37(3):487-94.
157. Cosquer B, Kuster N, Cassel JC. Whole-body exposure to 2.45 GHz electromagnetic fields does not alter 12-arm radial-maze with reduced access to spatial cues in rats. *Behavioural brain research*. 2005;161(2):331-4.
158. Olivares D, Deshpande VK, Shi Y, Lahiri DK, Greig NH, Rogers JT, et al. N-methyl D-aspartate (NMDA) receptor antagonists and memantine treatment for Alzheimer's disease, vascular dementia and Parkinson's disease. *Current Alzheimer research*. 2012;9(6):746-58.
159. Torralva T, Sposato LA, Riccio PM, Gleichgerrcht E, Roca M, Toledo JB, et al. Role of brain infarcts in behavioral variant frontotemporal dementia: Clinicopathological characterization in the National Alzheimer's Coordinating Center database. *Neurobiology of aging*. 2015;36(10):2861-8.
160. Ge CL, Wang XM, Huang ZG, Xia Q, Wang N, Xu DJ. Tongqiao Huoxue Decoction ameliorates learning and memory defects in rats with vascular dementia by up-regulating the Ca(2+)-CaMKII-CREB pathway. *Chinese journal of natural medicines*. 2015;13(11):823-30.
161. Murphy GG, Glanzman DL. Mediation of classical conditioning in *Aplysia californica* by long-term potentiation of sensorimotor synapses. *Science*. 1997;278(5337):467-71.
162. Fontan-Lozano A, Suarez-Pereira I, Gonzalez-Forero D, Carrion AM. The A-current modulates learning via NMDA receptors containing the NR2B subunit. *PloS one*. 2011;6(9):e24915.
163. Win-Shwe TT, Ohtani S, Ushiyama A, Fujimaki H, Kunugita N. Can intermediate-frequency magnetic fields affect memory function-related gene expressions in hippocampus of C57BL/6J mice? *The Journal of toxicological sciences*. 2013;38(2):169-76.
164. Wang B, Lai H. Acute exposure to pulsed 2450-MHz microwaves affects water-maze performance of rats. *Bioelectromagnetics*. 2000;21(1):52-6.
165. Duan Y, Wang Z, Zhang H, He Y, Fan R, Cheng Y, et al. Extremely low frequency electromagnetic field exposure causes cognitive impairment associated with alteration of the glutamate level, MAPK pathway activation and decreased CREB phosphorylation in mice hippocampus: reversal by procyanidins extracted from the lotus seedpod. *Food & function*. 2014;5(9):2289-97.



166. Wang D, Jacobs SA, Tsien JZ. Targeting the NMDA receptor subunit NR2B for treating or preventing age-related memory decline. *Expert opinion on therapeutic targets*. 2014;18(10):1121-30.
167. Platenik J, Kuramoto N, Yoneda Y. Molecular mechanisms associated with long-term consolidation of the NMDA signals. *Life sciences*. 2000;67(4):335-64.
168. Liu YQ, Xin TR, Liang JJ, Wang WM, Zhang YY. Memory performance, brain excitatory amino acid and acetylcholinesterase activity of chronically aluminum exposed mice in response to soy isoflavones treatment. *Phytotherapy research : PTR*. 2010;24(10):1451-6.
169. Wang H, Peng R, Zhao L, Wang S, Gao Y, Wang L, et al. The relationship between NMDA receptors and microwave-induced learning and memory impairment: a long-term observation on Wistar rats. *International journal of radiation biology*. 2015;91(3):262-9.
170. Zuo H, Lin T, Wang D, Peng R, Wang S, Gao Y, et al. RKIP Regulates Neural Cell Apoptosis Induced by Exposure to Microwave Radiation Partly Through the MEK/ERK/CREB Pathway. *Molecular neurobiology*. 2015;51(3):1520-9.
171. Harry GJ, Bartenbach M, Haines W, Bruccoleri A. Developmental profiles of growth-associated protein (Gap43), Ngfb, Bdnf and Ntf4 mRNA levels in the rat forebrain after exposure to 60 Hz magnetic fields. *Radiation research*. 2000;153(5 Pt 2):642-7.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı:</b> Fatma Nihan	<b>Soyadı:</b> CANKARA
<b>Doğum Yeri:</b> Isparta	<b>Doğum Tarihi:</b> 25.08.1984
<b>e-mail:</b> nihancankara@yahoo.com	<b>Telefon:</b> 05325994279

### Eğitim Düzeyi

	<b>Mezun Olduğu Kurum</b>	<b>Mezuniyet Yılı</b>
<b>Doktora</b>	SDÜ Tıp Fak. Tıbbi Farmakoloji A.B.D	2017
<b>Yüksek Lisans</b>	SDÜ Tıp Fak. Tıbbi Farmakoloji A.B.D	2011
<b>Lisans</b>	Ege Üniversitesi Biyokimya Bölümü	2008

### İş Deneyimi

<b>Görevi</b>	<b>Kurum</b>	<b>Süre</b>
Araştırma Görevlisi	Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2010-2017
Araştırma Görevlisi Dr.	Tıp Fakültesi	2017-Halen

<b>Yabancı Dil</b>	<b>YÖKDİL</b>	<b>YDS</b>
İngilizce	82,5 (Mart 2017)	70 (Nisan 2017)

**SCI, SSCI ve AHCI tarafından taranan dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayınlar dışındaki makaleler**

- 1- Sonmez Y, Asci H, Izmirli GO, Gundogar D, **Cankara FN**, Yesilot S. Evaluation Of Potentially Inappropriate Drug Use And Medical Non-Adherence In A Community-Dwelling Elderly Population: A Cross-Sectional Study. Turkish Journal Of Geriatrics. 2014;17(2):125-133.
- 2- Saygin M, Asci H, Ozmen O, **Cankara FN**, Dincoglu D, Ilhan I. Impact of 2.45 GHz microwave radiation on the testicular inflammatory pathway biomarkers in young rats: The role of gallic acid. Environ Toxicol. 2015 Aug 13. doi:10.1002/tox.22179.
- 3- Asci H, Saygin M, **Cankara FN**, Bayram D, Yesilot S, Candan IA, Ilhan I. The Impact Of Alpha-Lipoic Acid On Amikacin Induced Nephrotoxicity. Ren Fail. 2015;37(1):117-21.
- 4- Asci H, Saygin M, Yesilot S, Topsakal S, **Cankara FN**, Ozmen O, Savran M. Protective effects of Aspirin and vitamin C against corn syrup consumption induced cardiac damage through Sirtuin-1 and HIF-1? pathway. The Anatolian Journal of Cardiology. 2016 Sep;16(9):648-54.
- 5- Saygin M, Asci H, **Cankara FN**, Bayram D, Yesilot S, Candan IA, Alp HH. The impact of high fructose on cardiovascular system; role of alpha lipoic acid. Hum Exp Toxicol. 2016; 35(2):194-204.
- 6- Asci H, Kulac E, Sezik M, **Cankara FN**, Cicek E. The effect of learning styles and study behavior on preclinical medical students' pharmacology success. Indian Journal of Pharmacology. 2016; 48(1):15-21.
- 7- Koşar-Aslan P, Asci H, Cigerci IH, Saygin M, Calapoğlu M, Yüksek S, **Cankara FN**. The Effect of Alpha-Lipoic Acid on Preventing Amikacin-Induced DNA Damage in Rats. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences. (Basım aşamasında)
- 8- Savran M, Cicek E, Doguc DK, Asci H, Yesilot S, Candan IA, Dagdeviren B, **Cankara FN**, Oncu M, Uğuz AC, Ozer MK. Vitamin C attenuates methotrexate-

induced oxidative stress in kidney and liver of rats. *Physiol Int.* 2017 Jun 29;1-11. doi:10.1556/2060.104.2017.2.5.

8- Topsakal S, Ozmen O, **Cankara FN**, Yesilot S, Bayram D, Genc-Ozdamar N, Kayan S. Alpha lipoic acid attenuates high-fructose-induced pancreatictoxicity. *Pancreatology.* 2016; 16(3):347-52.

9- Asci H, Kulac E, Sezik M, **Cankara FN**, Cicek E. The effect of learning styles and study behavior on preclinical medical students' pharmacology success. *Indian Journal of Pharmacology.* 2016; 48(1):15-21.

10- Peker RO, Donmez S, **Cankara FN**, Dogan E, Gokalp O. Iloprost relaxes phenylephrine-precontracted rat aortic rings. *Int J Clin Exp Med* 2016;9(7):14018-23.

**SCI, SSCI ve AHCI dışındaki indeks ve özler tarafından taranan dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayınlar dışındaki makaleler**

1- Asci H, **Cankara FN**, Ozer MK. Astımda Analjezik (NSAİİ) Kullanımı. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi.* 2012;19(3):111-19.

2- Yıldırım Bas F, **Cankara FN**, Yesilot S. Tıp Fakültesi öğrencilerinde reçetesiz ilaç kullanımının değerlendirilmesi. *SDÜ Sağlık Bilimleri Dergisi.* 2013;4(2):46-53.

3- **Cankara FN**, Asci H, Sonmez Y. Bir üniversite hastanesinde yatan hastalarda hekimlerin ilaç tercihleri ve polifarmasi varlığı. *SDÜ Sağlık Bilimleri Dergisi.* 2015;6(1):20-5.

4- Asci H, Sonmez Y, Saygin M, **Cankara FN**, Yesilot S, Yildirim MK. Investigation of the presence of potential drug-drug interactions in the adult intensive care unit: a retrospective study. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi.* 2016;23(3):87-96.

5- Candan İA, Bayram D, Şahin-Calapoğlu N, Gürbüz N, **Cankara FN**, Özgöçmen M, Armağan İ. Kadmiyum verilen dişi sıçanlarda üreme sistemi üzerine melatonin ve selenyumun etkisi. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi.* 2017; doi: 10.17343/sdutfd.270310.

**SCI, SSCI ve AHCI dışındaki indeks ve özler tarafından taranan dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayınlar**

1- Buldac M, Cicek E, Kumbul Doguc D, Asci H, Yesilot S, Candan IA, Dagdeviren B, **Cankara N**, Oncu M, Ozer MK. Investigation of the protective effect of vitamin c on methotrexate induced liver injury in rats. Cell Membranes and Free Radical Research. 2012;4(1):33.

2- Yesilot S, Asci H, **Cankara FN**, Ozgocmen M, Saygin M, Cicek E. Aspirin and Vitamin C prevent corn syrup induced renal damage in rats. Cell Membranes and Free Radical Research. 2014;6(1):375.

3- Saygin M, Asci H, **Cankara FN**, Yesilot S, Candan IA, Bayram D, Alp HH. The impact of high fructose on cardiovascular system; role of alpha lipoic acid. Cell Membranes and Free Radical Research. 2014;6(1):374.

4- Asci H, Saygin M, **Cankara FN**, Topsakal S, Yesilot S, Bayram D, Ozmen O. ?-lipoic acid protects liver and pancreas against corn syrup. Cell Membranes and Free Radical Research. 2014;6(1):388.

5- Asci H, Saygin M, **Cankara FN**, Bayram D, Yesilot S, Candan IA, Ilhan I. The impact of alpha-lipoic acid on amikacin induced nephrotoxicity. Cell Membranes and Free Radical Research 2014;6(1):389.

6- Kosar PA, Asci H, Cigerci IH, Saygin M, Calapoglu M, Yuksek S, **Cankara FN**. Assessment with comet assay of induced DNA damage by Amikacin on nephrotoxicity. Cell Membranes and Free Radical Research. 2014;6(1):400.

7- Hepdeniz OK, Temel UB, Asci H, **Cankara FN**, Ozmen O. Can the antioxidant alpha lipoic acid (ALA) be an alternative treatment against the unfavourable metabolic effects of high fructose corn syrup (HFCS) in rat dental tissues? Cell Membranes and Free Radical Research. 2014;6(1):406.

8- Hepdeniz OK, Temel UB, Asci H, **Cankara FN**, Ozmen O. The antioxidant effects of alpha lipoic acid against high fructose cornsyrup-induced oxidative stress in rat's salivary gland. Cell Membranes and Free Radical Research. 2014;6(1):410.

9- **Cankara FN**, Cicek E. Fenilefrin İle Kasılan İzole Tavşan Aortası Üzerine Levodropropizin'in Etkisi Ve Bunun Kalsiyum İle İlişkisi. SDU Sağlık Bilimleri Dergisi 2014;5(2):81.

10- **Cankara FN**, Ozmen O, Yorgancigil E, Asci S, Hancer Aydemir D. Yüksek fruktozlu mısır şurubu ile beslenen sıçanların nöronlarındaki değişiklikler ve lipoik asidin koruyucu etkisi. Anatomy (International Journal of Experimental and Clinical Anatomy). 2015;9(Suppl 1):55.

11- Topsakal S, Ozmen O, **Cankara FN**, Yesilot S, Bayram D, Genc-Ozdamar N, Kayran S. Alpha lipoic acid attenuates high fructose induced pancreatic toxicity. Endocrine Abstracts 2016;41:258.

12- Gumral N, Aslankoc R, Senol N, **Cankara FN**. Impact of alpha lipid acid on histopathological changes in liver caused by cigarette smoking. Journal of Cellular Neuroscience and Oxidative Stress. 2016;8(1):564-5.

**SCI, SSCI ve AHCI tarafından taranan dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayın**

1- Peker RO, Doğan E, **Cankara N**, Dönmez S, Gökalp O. Comparison of the vasorelaxant effects of nitroglycerine, diltiazem, papaverin and iloprost in the rat thoracic aorta in vitro. 5th Congress of update in cardiology and cardiovascular surgery. The Heart Surgery Forum Vol.12 Supplement 1,S:37 Sep 2009, Antalya, Türkiye. OP-101

2- Kavruk O, Saygın M, Aşçı H, Aslankoç R, Çömlekçi S, Gümral N, **Cankara FN**, Kayan S. Kablosuz ağların (wi-fi) lenfosit dna'sı üzerine etkisi ve c vitamininin rolü . Acta Physiologica 2016;218 (Supplement 709):36.

**Ulusal Toplantıda Sunularak Özet Metin Olarak Yayımlanan Bildiriler**

1- **Cankara FN**, Dönmez S, Doğan E, Peker RO, Gökalp O. İloprost-Nitrogliserin ve İloprost-Diltiazem Kombinasyonlarının Vazospazm Üzerine İn vitro Etkileri. Türk Farmakoloji Derneği 20. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Antalya, Kasım 2009, p:104.

- 2- **Cankara FN**, Çiçek E, Aşcı H, Yeşilot Ş, Özer MK. Fenilefrin ile kasılan izole tavşan aortası üzerine levodropropizin'in etkisi ve bunun kalsiyum ile ilişkisi. Türk Farmakoloji Derneği 21. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Eskişehir, Ekim 2011, p:19.
- 3- Asci H, Kulac E, Sezik M, **Cankara FN**, Cicek E. Tıp öğrencilerinde öğrenme stilleri ve çalışma davranışlarının farmakoloji ders başarısı üzerine etkisi. 22. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Antalya, Kasım 2013, p:095.
- 4- Yıldırım Baş F, **Cankara FN**, Yeşilot Ş. Tıp fakültesi öğrencilerinde reçetesiz ilaç kullanımının değerlendirilmesi. 22. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Antalya, Kasım 2013, p:099.
- 5- **Cankara FN**, Saygın M, İlhan İ, Özmen Ö, Öztürk Ö, Çiçek E. 2.45 GHz Elektromanyetik Alanın Akciğer Dokusu Üzerindeki Etkileri ve Gallik Asitin Sirtuin-1 Yolağı Aracılığıyla Bu Etkiler Üzerindeki Rolü. Türk Farmakoloji Derneği 23. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Ankara, Eylül 2015, p:12.
- 6- Aşcı H, **Cankara FN**, Sönmez Y, Saygın M, Yorgancıgil E, Argüz G, Koçer M. Onkoloji Servisinde Yatan Hastalarda Potansiyel İlaç-İlaç Etkileşimlerinin Araştırılması. Türk Farmakoloji Derneği 23. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Ankara, Eylül 2015, p:51.
- 7- Aslankoc R, **Cankara FN**, Senol N, Gumral N, Kavrik, O. Elektrik Alanın Dalak ve Oksidatif DNA Hasarına Etkisi ile Resveratrolün Koruyucu Rolünün Araştırılması. 22nd Electron Microscopy Congress, Istanbul, Turkey, September 2015, 48.

### **Yüksek Lisans Tezi**

- 1- Fenilefrin ile kasılan izole tavşan aortası üzerine levodropropizin'in etkisi ve bunun kalsiyum ile ilişkisi (2011).

### **Doktora Tezi**

- 1- Öğrenme-bellek Mekanizmasındaki Postsinaptik Modifikasyonlara Kablosuz Ağların Etkisi Ve Gallik Asidin Rolü (2017).

**Ulusal Kuruluşlarca Desteklenen Projelerde Görev Alma**

- 1- Elektrik Alanın Sıçan Testis Dokusundaki Fیزیopatolojik Etkileri ve Resveratrolün Koruyucu Rolü. (Tübitak 3001 Proje No: 214S370, Bursiyer) (2016).
- 2- Öğrenme-bellek Mekanizmasındaki Postsinaptik Modifikasyonlara Kablosuz Ağların Etkisi Ve Gallik Asidin Rolü (SDÜ BAP Proje NO: 4045-D2-14, Yardımcı Araştırmacı) (2017).

**Ulusal Sempozyum, Kongre, Kurs (Workshop) Düzenlenmesi Gibi Etkinliklerde Görev Almak**

- 1- Cankara FN. Farmakovijilans Eğitim Konferansı, Program Sekreteri, Isparta, Ocak 2009.
- 2- Cankara FN. Dünya Uyku Günü Sempozyumu, Program Sekreteri, Isparta, Mart 2014.

**Alanı ile İlgili Olarak Panel, Konferans, Seminer, Açık Oturum ve Söyleşi Gibi Etkinliklerde Konuşmacı ya da Panelist Olarak Görev Yapmak**

- 1- Cankara FN. Farmakovijilansın İşleyişi ve Pratik Uygulama. Farmakovijilans, Isparta, Ocak 2009.
- 2- SDÜ-HADYЕК Başkanlığı tarafından düzenlenen VIII. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programı, Öğretim Elemanı, Isparta, Ocak 2012.
- 3- SDÜ-HADYЕК Başkanlığı tarafından düzenlenen X. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programı, Öğretim Elemanı, Isparta, Kasım 2013.
- 4- SDÜ-HADYЕК Başkanlığı tarafından düzenlenen XI. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programı, Öğretim Elemanı, Isparta, Kasım 2014.



**Alanında Uluslararası Bilimsel Nitelikli Ödüller**

1- Peker RO, Doğan E, **Cankara N**, Dönmez S, Gökalp O. Comparison of the vasorelaxant effects of nitroglycerine, diltiazem, papaverin and iloprost in the rat thoracic aorta in vitro. 5th Congress of update in cardiology and cardiovascular surgery, Sep 2009, Antalya, Türkiye. OP-101. "Türkiye Kalp ve Sağlık Vakfı **Birincilik Ödülü**".

2- Kosar-Aslan P, Asci H, Cigerci IH, Saygin M, Calapoglu M, Yuksek S, **Cankara FN**. Assessment with comet assay of induced DNA damage by Amikacin on nephrotoxicity. 5th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress Focus on: Calcium Signaling and TRP Channels. 9-12 Sep 2014, Isparta, Turkey. P-141. "**1st Honorable Mention Poster Award** of Society of Cell Membrane and Free Oxygen Radicals" (HSORD).

**Alanında Ulusal Bilimsel Nitelikli Ödül (Kongre, Sempozyum ve Bildiri Ödülleri Hariç)**

1- Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Kategorisi Teşvik Ödülü, 2014 (**Üçüncülük**).

## EKLER

T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı

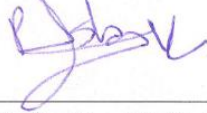
TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
02.05.2014	14	03

**Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 02 MAYIS 2014 tarihinde Saat 10:00'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır,**

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji A.D. Öğretim Üyesi **Yrd. Doç. Dr. Ekrem ÇİÇEK**'in yürüttüğü Doç. Dr. Selçuk ÇÖMLEKÇİ, Yrd. Doç. Dr. Duygu KUMBUL DOĞUÇ, Yrd. Doç. Dr. Halil AŞÇI, Yrd. Doç. Dr. Mustafa SAYGIN, Arş. Gör. Fatma Nihan CANKARA'nın yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı, "**Hipokampus Aracılı Öğrenme-Bellek Fonksiyonları Üzerine Kablosuz Ağların Etkilerinin Araştırılması.**" başlıklı çalışmada planlanan transfer koşullarının uygun olmaması nedeniyle projede belirtilen deneysel çalışmanın yapılacağı laboratuvardaki optimal şartların (ısı, nem, ses ve ışık vs) sağlanması koşulu ile;

Dency Hayvanının	Türü	Cinsiyeti	Sayısı	Yaşı
	Sıçan (Sprague Dawley)	Erkek	60	4 hafta / 150-200gr

Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından oy birliği ile UYGUN görülmüştür.

Doç. Dr. Efkân UZ BAŞKAN	Prof. Dr. Münire ÇAKIR BAŞKAN YARDIMCISI	Doç. Dr. İ. Metin ÇİRİŞ ÜYE
		
Yrd. Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR ÜYE	Yrd. Doç. Dr. Gülnur ÖZGÜNER ÜYE	Yrd. Doç. Dr. Müge ÇINA AKSOY ÜYE
		
Öğr. Gör. İbrahim ONARAN ÜYE	Vet. Hekim İsmail UZ ÜYE	Ecz. Mustafa Serhan DERYAL ÜYE
	KATILMADI	KATILMADI

T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
05.06.2014	17	02

İlgi: 28.05.2014 tarih ve 159 sayılı dilekçenize istinaden, 02.05.2014 tarih ve 03 sayılı karar, 22.05.2014 tarih ve 02 sayılı karara ek olarak;

**Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 05 HAZİRAN 2014 tarihinde Saat 14:00'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır,**

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji A.D. Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Ekrem ÇİÇEK'in yürütücüsü olduğu Doç. Dr. Selçuk ÇÖMLEKÇİ, Yrd. Doç. Dr. Duygu KUMBUL DOĞUÇ, Yrd. Doç. Dr. Halil AŞÇI, Yrd. Doç. Dr. Mustafa SAYGIN, Arş. Gör. Fatma Nihan CANKARA'nın yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı, "Hipokampus Aracılı Öğrenme-Bellek Fonksiyonları Üzerine Kablosuz Ağların Etkilerinin Araştırılması." başlıklı çalışmanın "Öğrenme-bellek mekanizmasındaki postsinaptik modifikasyonlara kablosuz ağların etkisi ve gallerik asidin rolü" başlığı ile yapılması,

Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından oy birliği ile UYGUN görülmüştür.

Doç. Dr. Efkân UZ BAŞKAN	Prof. Dr. Münire ÇAKIR BAŞKAN YARDIMCISI	Doç. Dr. İ. Metin ÇİRİŞ ÜYE
		
Yrd. Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR ÜYE	Yrd. Doç. Dr. Gülnur ÖZGÜNER ÜYE	Yrd. Doç. Dr. Müge ÇINA AKSOY ÜYE
KATILMADI		
Öğr. Gör. İbrahim ONARAN ÜYE	Vet. Hekim İsmail UZ ÜYE	Ecz. Mustafa Serhan DERYAL ÜYE
	KATILMADI	KATILMADI

