

T.C.
AKDEN Z ÜN VERS TES
SA LIK B L MLER ENST T ÜS Ü
ANATOM ANAB L M DALI

KRON K DELTAMETR N UYGULAMASI SONRASI
S R NJ K AS D N H POKAMP ÜS VE Ö RENME
ÜZER NDEK ETK LER N N ARA TIRILMASI

Eren Ö ÜT

DOKTORA TEZ

2018-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SALİHLER ENSTİTÜSÜ
ANATOM ANABİLİM DALI

**KRONİK DELTAMETRİN UYGULAMASI SONRASI
SERİJKASD N H POKAMPÜS VE ÖĞRENME
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Eren ÖZÜT

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Fato Belgin YILDIRIM

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2017-2361 proje numarası ile desteklenmiştir.

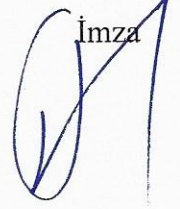
“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

2018-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Anatomi Anabilim Dalı Anatomi Programında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir. 28/06/2018

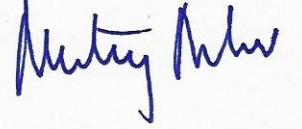
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Fatoş Belgin YILDIRIM
Akdeniz Üniversitesi

İmza


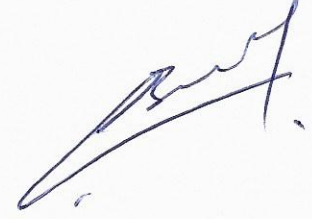
Üye : Prof. Dr. Nigar KELEŞ ÇELİK
Akdeniz Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Mutay ASLAN AYDIN
Akdeniz Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Çağatay BARUT
Bahçeşehir Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Halil İbrahim AÇAR
Ankara Üniversitesi



Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Narin DERİN

ETİK BEYAN

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 beyan ederim.



Eren ÖGÜT

İmza

Fatoş Belgin YILDIRIM



İmza

TE EKKÜR

Doktora e itimim ve tez çalı malarım boyunca bilgi birikimlerini, deneyimlerini, ho görülerini esirgemeyen; tez konumun seçilmesi, yürütülmesi ve tamamlanmasındaki katkılarından dolayı, aynı zamanda asistanlı ına ba ladı ım ilk yıldan bugüne kadar üzerimdeki eme i, yardımları ve ö retti i tüm de erler için danı man hocam Anatomi Anabilim Dalı Ö retim Üyelerinden Sayın Prof. Dr. Fato Belgin YILDIRIM'a sonsuz saygı ve te ekkürlerimi sunarım. Ayrıca, tez çalı malarım süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandı ım, tezimin ekillenmesinde ve gidi atında önemli katkıları olan Biyofizik Anabilim Dalı Ö retim Üyelerinden Sayın Prof. Dr. Narin DER N'e, hem yüksek lisans tezimde hem de doktora tezimde çalı ma imkanı buldu um, çok büyük eme i ve katkıları olan Biyokimya Anabilim Dalı Ö retim Üyelerinden Sayın Prof. Dr. Mutay ASLAN'a, yardımları için Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Ö retim Üyelerinden Sayın Doç. Dr. Leyla SATI'ya, sonsuz te ekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Tezimde ö renme testleri ve cerrahi operasyonlardaki yardımlarından ve katkılarından dolayı Biyofizik Anabilim Dalı Ara tırma Görevlisi Sayın Güven AKÇAY'a te ekkürlerimi sunarım. Gece gündüz, hafta sonu, tatil demeden benimle birlikte çalı an, tezimdeki gavaj i lemleri, hayvan bakımı, anestezi, cerrahisi ve sakrifikasyonu a amalarındaki yardımlarından dolayı Anatomi Anabilim Dalı Ara tırma Görevlisi Sayın Rahime EKERC 'ye tez sürecindeki destekleri, katkıları ve her eyden de önemlisi bu süreçte kar ıla tı ım zorluklarda bana destek oldu u için çok te ekkür ederim.

Deney Hayvanları Bakım ve Üretim Ünitesi' nin bütün teknik ve idari personeli'ne katkılarından ve yardımlarından dolayı çok te ekkür ederim. Yardımlarından dolayı Akdeniz Üniversitesi Sa lık Bilimleri Enstitüsü akademik personeline ve tüm idari ekibine te ekkürlerimi sunarım.

Her zaman yanımda olan, her ko ulda beni destekleyen ve cesaretlendiren, bugünlere gelmemde üphesiz çok eme i geçen, her eyden önce karakter, ahlak ve dürüstlük de erlerini bana ve abime a ılayan, ya ama sevincim anne ve babama çok te ekkür ederim.

ÖZET

Amaç: Deltametrin'in (DTM) toksisitesi hakkında birçok çalı ma yayınlanmasına rağmen toksisite mekanizmalarına karşı koruyucu ajanları tanımlayan az sayıda çalı ma bulunmaktadır. Bu çalı ma ile kronik DTM toksisitesine karşı sirinjik asit (SA) ın koruyucu rolünün tespit edilmesi, hipokampus üzerine olası etkisinin biyokimyasal, histopatolojik, immünohistokimyasal yöntemler, ö renme & hafıza testleri ile de erlendirilmesi amaçlanmaktadır.

Yöntem: Wistar albino, *Rattus norvegicus* türü yeti kin erkek ratlar (250-270 gr), her grupta 16 tane olmak üzere 4 gruba ayrıldı (n= 64). SA (25 mg/kg), DTM (1.28-1.35 mg/kg), mısır ya ı (0.5 ml) 2 ay her gün oral gavaj yoluyla verildi. Grup I; Kontrol; mısır ya ı, Grup II; mısır ya ı + DTM, Grup III; mısır ya ı + DTM + SA, Grup IV; mısır ya ı + SA. Tüm gruplara open field ve radial arm maze testleri uygulandı. Deney sonrası hayvanlar, immünohistokimya, histopatoloji ve biyokimyasal analizler için anestezi altında transkardial perfüzyon ve dekapitasyon yoluyla kurban edildi.

Bulgular: SA'nın hipokampüste reaktif oksidatif ve nitrojen seviyesini (ROS/RNS) azaltırken, total antioksidan kapasitesini, protein seviyesini, lokomotor aktiviteyi arttırdı ı tespit edilmiştir ($p<0,05$). CA1 ve CA3 nöron apoptozisi anlamlı olarak en fazla DTM grubunda, en az oranda ise SA grubunda gözlenmiştir ($p<0,05$) ve SA+DTM grubu ile arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0,001$). Ö renme deneylerinde DTM'nin bozduğu ö renmeyi, uzaysal ve çalı an hafızayı antioksidan bir ajan olan SA'nın özellikle 6.günden sonra düzeltti i görülmüştür.

Sonuç: Kronik DTM uygulanmasından sonra SA'nın hipokampüsteki oksidatif stresi ve apoptozu azaltarak antioksidan seviyesini arttırabileceği biyokimyasal ve histopatolojik sonuçlarla gösterilmiştir. Ö renme deneyleri ile de kısa ve uzun süreli hafıza üzerine olumlu etkisi görülmektedir. Bu nedenle SA'nın farklı yollar üzerinden hafıza üzerindeki etkisini incelemek, yeni ve alternatif bir tedaviye yol açabilir.

Anahtar Kelimeler: Sirinjik asit, sirinjik asit tedavisi, sirinjik asit terapisi, hipokampus, kronik deltametrin maruziyeti.

ABSTRACT

Objective: Although several studies have published on deltamethrin (DTM) toxicity, few studies have described protective agents against toxicity mechanisms. The aim of present study is to determine the protective role of syringic acid (SA) after chronic DTM toxicity on hippocampus and to assess possible effects by biochemical, histopathologic, immunohistochemical methods and learning & memory tests.

Method: Adult male rats (250-270 gr) of Wistar albino, *Rattus norvegicus* were divided into 4 groups (n = 64) with 16 in each group. SA (25 mg / kg), DTM (1.28-1.35 mg / kg), Corn Oil (CO, 0.5 ml) were given by oral gavage every day for 2 months. Group I; Control (CO), Group II; (CO + DTM), Group III; (CO + DTM + SA), Group IV; (CO + SA). Open field and radial arm maze tests were performed all groups. After the research, the animals were sacrificed under anesthesia by transcardial perfusion and decapitation for immunohistochemistry, histopathology and biochemical analysis.

Results: SA increased total antioxidant capacity, protein level and locomotor activity while decreasing reactive oxidative and nitrogen levels (ROS / RNS) of the hippocampus ($p < 0,05$). Hippocampal CA1 and CA3 neuron apoptosis were significantly higher in DTM group and least in SA ($p < 0,05$) and significantly different from SA + DTM group ($p < 0.001$). While DTM disturbing the learning and memory, SA, as an antioxidant agent, has improved spatial and working memory especially after 6th day.

Conclusion: Biochemical and histopathological results have shown that SA may increase total antioxidant levels by decreasing oxidative stress and apoptosis in hippocampus after chronic DTM exposure. Learning tests have shown positive effect on short and long term memory. So, analysis the effect of SA on memory by different pathways may lead to new and alternative therapy.

Key words: Syringic acid, syringic acid treatment, syringic acid therapy, hippocampus, chronic deltamethrin exposure.

Ç İNDEK İLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
Ç İNDEK İLER D İZ İNİ	iii
TABLolar D İZ İNİ	vi
EK İLLER D İZ İNİ	vii
S İMGELER VE KISALTMALAR D İZ İNİ	ix
1. G İRİŞ	1
2. GENEL B İLG İLER	3
2. 1. Hipokampus Tarihi ve Anatomisi	3
2. 1. 1. Hipokampus Korteksinin Histolojik Yapısı	5
2. 1. 2. Hipokampus'un Alt Alanları	7
2. 1. 3. Rat Hipokampal Bölgeleri	9
2. 1. 4. Trisinaptik Devre Sistemi (Temel Hipokampal Devre Sistemi, Entorhinal Hipokampal Halka)	10
2. 2. Hipokampus'un Ö renme ve Hafızadaki Rolü	11
2. 2. 1. Kısa Süreli Hafıza (STM, Short Term Memory)	12
2. 2. 2. Uzun Süreli Hafıza (LTM, Long Term Memory)	13
2. 2. 3. Hipokampus'un Uzaysal Hafıza ve Navigasyondaki Etkisi	13
2. 2. 4. Papez Halkası (Devresi)	14
2. 3. Hipokampus Patolojisi	14
2. 4. Uzaysal Hafızada Kullanılan Deneysel Modeller	15
2. 4. 1. Radial Arm Maze (RAM) Testi	16
2. 4. 2. Open field (OF, Açık Alan) Testi	19
2. 5. Deltametrin	20
2. 5. 1. Deltametrin'in Kimyasal Yapısı ve Özellikleri	20
2. 5. 2. Deltametrin'in Oksidatif Etkisi	21
2. 5. 3. Deltametrin'in Apoptotik Etkisi	22
2. 5. 4. Deltametrin'in Histomorfolojik Etkisi	23

2. 5. 5.	Deltametrin'in Toksikite Mekanizması	23
2. 5. 6.	Deltametrin'in Patogenezi ve Klinik Etkisi	24
2. 6.	Sirinjik Asit	25
2. 6. 1.	Sirinjik Asidin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri	25
2. 6. 2.	Sirinjik Asit çeren Bitkiler ve Besin Maddeleri	26
2. 6. 3.	Sirinjik Asit'in Koruyucu Etkileri	27
2. 6. 4.	Sirinjik Asit'in Etki Mekanizması	28
2. 7.	Serbest Radikaller ve Antioksidan Mekanizma	28
2. 8.	Glutamat ve Glutamin Ekspresyonu	30
2. 8. 1.	Glutamat Ekspresyonu	30
2. 8. 2.	Glutamin Ekspresyonu	32

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3. 1.	Deney Grupları	34
3. 2.	Grupların Olu turulması ve Uygulamalar	35
3. 2. 1.	Deney Gruplarının A ırlık Ölçümü	36
3. 2. 2.	Kontrol Grubu (Grup I)	37
3. 2. 3.	Deltametrin Grubu (Grup II)	37
3. 2. 4.	Deltametrin + Sirinjik Asit Grubu (Grup III)	38
3. 2. 5.	Sirinjik Asit Grubu (Grup IV)	38
3. 2. 6.	Uygulama Yolu	38
3. 3.	Ö renme Deneyleri	39
3. 3. 1.	Radial Arm Maze (RAM) Testi	39
3. 3. 2.	Open Field (OF, Açık Alan) Testi	41
3. 4.	Deneklerin Sakrifikasyonu	41
3. 4. 1.	Transkardiyal Perfüzyon	42
3. 4. 2.	Doku Temini	42
3. 5.	Dokularda Biyokimyasal Analizler	45
3. 5. 1.	Hipokampüste Total Antioksidan Kapasitenin Tayini	45
3. 5. 2.	Hipokampüste Total Serbest Radikal Aktivite Tayini	46
3. 5. 3.	Kütle Spektrometresi ile Hipokampüste Glutamat ve Glutamin Tayini	47
3. 5. 4.	Hipokampüste Total Protein Tayini	48

3. 6.	Histolojik De erlendirmeler	48
3. 6. 1.	Histopatolojik Analiz	48
3. 6. 2.	mmünohistokimyasal Analiz	49
3. 7.	statistiksel Analiz	52
4. BULGULAR		
4. 1.	Grupların A ırlık De i imleri	53
4. 2.	Ö renme Deneyi Sonuçları	54
4. 2. 1.	Open Field (OF) Testi Sonuçları	54
4. 2. 2.	Radial Arm Maze (RAM) Testi Sonuçları	57
4. 3.	Dokularda Biyokimyasal Analiz Sonuçları	62
4. 3. 1.	Hipokampüs Glutamik Asit De erleri	62
4. 3. 2.	Hipokampüs Glutamin De erleri	63
4. 3. 3.	Hipokampüs ROS/RNS Aktivite Sonuçları	64
4. 3. 4.	Hipokampüste Total Antioksidan Kapasite Sonuçları	65
4. 3. 5.	Hipokampüs Total Protein Sonuçları	66
4. 4.	Dokularda Histolojik Analiz Sonuçları	66
4. 4. 1.	mmünohistokimyasal De erlendirmeler	66
4. 4. 2.	Histopatolojik Analiz Sonuçları	70
5. TARTI MA		74
6. SONUÇ ve ÖNER LER		82
KAYNAKLAR		85
ÖZGEÇM		105
EKLER		

TABLolar D Z N

Tablo		Sayfa
3. 1.	Deney Grupları ve Gruplardaki Hayvan Sayıları	36
4. 1.	Grupların Ortalama A ırılıkları ve A ırılık De iimleri	54
4. 2	Tüm Grupların Alınan Toplam Yol, Ortalama Hız ve Girilen Kare Sayısı De erlerinin Ortalama ve Standart Sapma Verileri	56
4. 3.	Tüm Grupların Referans Hafıza Hatası De erlerinin Ortalama ve Standart Sapma Verileri	58
4. 4.	Tüm Grupların Çalı an Hafıza Hatası De erlerinin Ortalama ve Standart Sapma Verileri	59
4. 5.	Tüm Grupların %80 Do ruluk Kriterini Tamamlama Süresi De erlerinin Ortalama ve Standart Sapma Verileri	61
4. 6.	Grupların Glutamik Asit De erleri	62
4. 7.	Grupların Glutamin De erleri	63
4. 8.	Grupların ROS/RNS Ortalama De erleri	64
4. 9.	Grupların TAK Ortalama De erleri	65
4. 10.	Grupların Hipokampüs Total Protein Miktarı De erleri	66
4. 11.	Grupların Hipokampüs CA1 Alt Alanı Apoptoz De erleri	68
4. 12.	Grupların Hipokampüs CA3 Alt Alanı Apoptoz De erleri	69

EK LLER D Z N

ekil	Sayfa	
2. 1.	Hipokampüs'ün Anatomik Yapısı ve Lokalizasyonu	4
2. 2.	Hipokampüs Korteksinin Tabakaları	5
2. 3.	Hipokampüs'ün Alt Alanları	7
2. 4.	Hipokampüste CA1 ve CA3 Alt Alanlarının Piramidal Hücreleri ve Ba lantıları	8
2. 5.	Rat Hipokampal Bölgeleri	10
2. 6.	Radial Arm Maze (RAM) Testi	17
2. 7.	Açık Alan Testi (OF) Düzene i	19
2. 8.	Deltametrin (DTM)'in Kimyasal Formülü	20
2. 9.	Sirinjik Asit (SA) 'in Kimyasal Formülü	26
3. 1.	Grupların Histoloji ve Biyokimya Deneilerine Da ılımı	36
3. 2.	Oral Gavaj Uygulaması	39
3. 3.	Radial Arm Maze Ö renme Deneyi	40
3. 4.	Open Field (Açık Alan) Deneyi	41
3. 5.	Transkardiyal Perfüzyon Yapılması	42
3. 6.	Total Beyin Dokularının Alınması	43
3. 7.	Hipokampüs Dokularının Alınması	44
3. 8.	Total Antioksidan Kapasite Ölçüm Prensibi	45
3. 9.	ROS/RNS Analiz Prensibi	47
4. 1.	Grupların A ırlık De iimleri	53
4. 2.	Tüm Grupların Open Field (Açık Alan) Testi Alınan Toplam Yol Verilerinin statiksel Olarak Kar ıla tırılması	54
4. 3.	Tüm Grupların Ortalama Hızlarının statiksel Olarak Kar ıla tırılması	55
4. 4.	Tüm Grupların Girilen Kare Sayılarının statiksel Olarak Kar ıla tırılması	56
4. 5.	Grupların Referans Hafıza Hata Verilerinin statiksel Olarak Kar ıla tırılması	57
4. 6.	Grupların Çalı an Hafıza Hata Verilerinin statiksel Olarak Kar ıla tırılması	59

4. 7.	Grupların %80 Doğruluk Kriterini Tamamlama Süresi	60
	Verilerinin statiksel Olarak Karşılaştırılması	
4. 8.	Grupların Glutamik Asit Değerlerinin statiksel Olarak	62
	Karşılaştırılması	
4. 9.	Grupların Glutamin Değerlerinin statiksel Olarak	63
	Karşılaştırılması	
4. 10.	Grupların ROS/RNS Değerlerinin statiksel Olarak	64
	Karşılaştırılması	
4. 11.	Grupların TAK Değerlerinin statiksel Olarak	65
	Karşılaştırılması	
4. 12.	Grupların Total Protein Değerlerinin statiksel Olarak	66
	Karşılaştırılması	
4. 13.	Hipokampus CA1 ve CA3 Alanlarında İmmünohistokimyasal	67
	Olarak, Aktif Kaspaz-3 ile Boyanan Hücre Sayısı	
4. 14.	CA1 Aktif Kaspaz 3 İmmünohistokimya Değerlendirmesi	68
4. 15.	CA3 Aktif Kaspaz 3 İmmünohistokimya Değerlendirmesi	69
4. 16.	Işık Mikroskobu Düzeyinde Kontrol ve Deney Gruplarına Ait	71
	Örneklerde Hipokampus Seviyesinde CA1 ve CA3 Alanları	
	Hematoksilen ve Eozin (H & E) Boyama Sonuçları	
4. 17.	Işık Mikroskobu Düzeyinde Kontrol ve Deney Gruplarına Ait	73
	Örneklerde Hipokampus Seviyesinde CA1 ve CA3 Alanları	
	Krezil Violet Boyama Sonuçları	

SİMGELER ve KISALTMALAR

AMPA	: -Amino-3-Hidroksi-5-Metil-4 soksazol Propionik Asit
ATP	: Adenozin Trifosfat
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
CA1	: Cornu Ammonis 1
Ca⁺²	: Kalsiyum
CA3	: Cornu Ammonis 3
CO	: (Corn Oil) Mısır Özü Yağı
COO⁻	: Karboksilat
CS	: Koreoatetoz ve Salivasyon
Cu⁺¹	: Bakır (I)
Cu⁺²	: Bakır (II)
CYP-450	: Sitokrom P450
DAB	: Diaminobenzidin
DCF	: 7'-Diklorodihidrofloresin
DCFH	: Diklorodihidrofloresin
DCFH-DiOxyQ	: Diklorodihidrofluoresin DioxyQ
DH	: Dorsal Hipokampus
dH₂O	: Distile Su
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit

DTM	: Deltametrin
DTM + SA	: Deltametrin + Sirinjik Asit
EC	: Entorhinal Korteks
EEG	: Elektroensefalografi
ER	: Endoplazmik Retikulum
GABA	: Gamma-Aminobütirik Asit
GD	: Gyrus Dentatus
GS	: Glutamin Sentetaz
H & E	: Hematoksilen-Eozin
H₂KO₄P	: Potasyum Dihidrojen Fosfat
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HAT	: Hidrojen Atomu Transferi
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HS	: Hipokampal Skleroz
HSE	: Herpes Simpleks Ensefaliti
IH	: Orta (Ara) Hipokampüs
IHI	: Incomplete Hippocampal Inversion
IP	: intraperitoneal
K	: Kontrol
LC50	: Lethal Konsantrasyon 50 (1/2)
LD50	: Lethal Doz 50 (1/2)

LDL	: D�k Yonuklu Lipoprotein
LE	: Limbik Ensefaliti
LPO	: A ırı Lipid Peroksidasyonu
LTM	: Uzun Süreli Hafıza
LTP	: Uzun Süreli Potensiyasyon
MDA	: Malonildialdehit
MR	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MTA	: Mesial Temporal Atrofi
MTS	: Mesial Temporal Skleroz
Na⁺	: Sodyum
Na₂HPO₄	: Sodyum Fosfat Dibasik
NaCl	: Sodyum Klorid
NaOH	: Sodyum Hidroksit
NH³⁺	: Amonyak
NMDA	: N-Metil-D-Aspartik Asit
NO	: Nitrik Oksit
O/N	: Overnight
OF	: Open Field
ONOO-	: Peroksinitrit Anyonu
PBS	: Phosphate Buffered Saline
RAM	: Radial Arm Maze

RM	: Referans Hafıza
RME	: Referans Hafıza Hatası
RNA	: Ribo Nükleik asit
RNS	: Reaktif Nitrojen Türleri
ROO	: Peroksil Radikali
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SA	: Sirinjik Asit
SD	: Standart Sapma
SET	: Tek Elektron Transferi
SF	: Serum Fizyolojik
STM	: Kısa Süreli Hafıza
UFLC-MS	: Ultra Fast Liquid Chromatography - Mass Spectrometry
VGIC	: Voltaj Kapılı İyon Kanalları
VGSC	: Voltaj Kapılı Sodyum Kanalları
VH	: Ventral Hipokampus
WHO	: World Health Organization
WM	: Çalışan Hafıza
WME	: Çalışan Hafıza Hatası

1. G R

nsanlar ya amları boyunca çevreden pek çok kimyasala maruz kalmaktadır (Dubey, 2012). Bu kimyasallardan olan pestisitler gıda üretimini arttırmak ve hastalık vektörlerini kontrol etmek için yaygın olarak kullanılır. Pestisitler ciddi akut ve kronik zehirlenme vakalarını da içeren potansiyel bir halk sa lı ı tehdididir (Abdollahi, 2003). Dünya Sa lık Örgütü'ne (WHO) göre (WHO, 2004) yakla ık üç milyon pestisit zehirlenme vakasından dünya çapında her yıl 250.000'den fazla ölüm bildirilmi tir (WHO, 2004; WHO., 1990). Epidemiyolojik çalı malar da pestisit maruziyetinin nörodejeneratif hastalıklar için büyük bir risk faktörü olu turdu una i aret etmektedir (Chen, Luo ve ark., 2012; Gray, 1985; Khalatbary, Ghaffari ve ark., 2015; Meyer, Carter ve ark., 2008; Ogaly, Khalaf ve ark., 2015; Ray ve Fry, 2006; Soderlund, 1985; Vij verberg HP, 1990). Pestisitlerin hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil (OH) gibi reaktif oksijen türlerini olu turarak oksidatif doku hasarına neden oldu u literatürde bildirilmektedir (Seth, 2000).

nsektisitler aktif madde grubuna göre çok yaygın olarak kullanılan bir çe it pestisittir. Pretroitler do rudan veya dolaylı olarak merkezi sinir sistemi üzerinde toksik etkili olan güçlü insektisitlerdir (Gasmi, Rouabhi ve ark., 2017; Husain, Husain ve ark., 1996; Mnif, Hassine ve ark., 2011). Sentetik pretroitler ise dünya genelinde satılan insektisitlerin %30'undan fazlasını olu turmaktadır (Van Emden H.F. , 1996). Alfa siyano Tip 2 sentetik pretroitlerinden olan deltametrin (DTM), (Chandra, Jain ve ark., 2013; Koprucu, Yonar ve ark., 2008; Sharma P, 2013) kan-beyin bariyerini kolayca geçebilen yüksek lipofilik bir bile iktir ve potansiyel nörotoksik konsantrasyonlarda merkezi sinir sistemine ula bilirdir (Gasmi, Rouabhi ve ark., 2017). Dü ük toksisitesi ve kolay çözünlü ü nedeniyle kullanımı önerilse de (Sharma, 2015) yapılan çalı malarda DTM'nin nörotoksitesisi büyük bir endi e yaratmaktadır. DTM'nin ratlarda uygulanmasının, reaktif oksijen/nitrojen türleri (ROS/RNS) ile toksik etki meydana getirdi i bildirilmi tir (Abdollahi, 2004; Banerjee, Seth ve ark., 2001; Dubey, 2012; Halliwell ve Chirico, 1993; Van Den Bosch, Schwaller ve ark., 2002). Halk sa lı ı açısından DTM'ye do rudan maruz kalma, etkilenmi yiyecek ve su tüketimi zehirlenmenin en yaygın yollarıdır (Barlow, Sullivan ve ark., 2001). DTM maruziyeti özellikle hipokampüs CA1 ve CA3 alt alanlarında nöron morfolojisinde de i iklik yaratarak nörodejeneratif hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olur

(Adibhatla ve Hatcher, 2008; Rehman, Ali ve ark., 2006). Bu nedenle DTM maruziyetinin öğrenme ve hafıza üzerindeki etkisinin de araştırıldı. Çalımlarda daha çok hipokampüste çalıldı. (Hossain, DiCicco-Bloom ve ark., 2015; Hossain, Suzuki ve ark., 2008; Huang, Qing ve ark., 2010; Husain, Husain ve ark., 1996; Li H. Y, Shi ve ark., 2005; Li H.Y, Shi ve ark., 2006; Martinez-Larranaga, Anadon ve ark., 2003; Meyer, Carter ve ark., 2008; Sun, Xu ve ark., 2007; Zhao X, Dai S ve ark., 1995) CA1, CA3 ve iki alt alan arasındaki bağlantıların önemi (Chen, Shi ve ark., 2006) vurgulandı. Bu için çalımamızda DTM'nin CA1 ve CA3 alt alanlarındaki etkileri de araştırıldı.

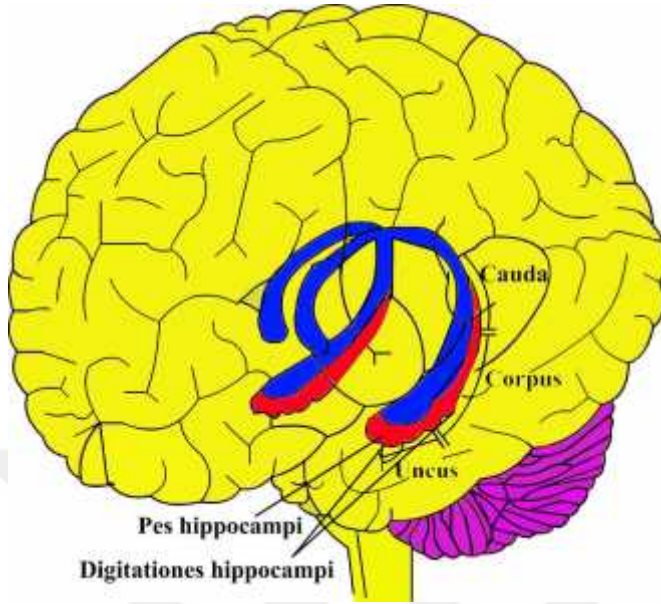
Literatürde Sirinjik Asit (SA)'in nöroprotektif bir ajan olarak oksidatif stres seviyesini ve nörodejenerasyonu azalttı (Kim, Yan ve ark., 2013) ve umut verici terapötik bir ajan olarak (Güven, Aras ve ark., 2015) SA'nın geliştirilmesi için çalımlar gerektiği bildirildi (Tokmak, Yuksel ve ark., 2015). Kronik DTM toksisitesine karşı SA'nın hipokampüsteki koruyucu rolü ile kısa & uzun süreli hafıza üzerindeki etkisini açıklayan bir çalıma bulunmamaktadır. Bu nedenle çalımamızda SA'nın diyetle alınmasının olası koruyucu rolünün, öğrenme ve hafıza üzerindeki etkilerinin, biyokimyasal, histopatolojik, immunohistokimyasal yöntemlerle de araştırılması, ek olarak öğrenme deneyleriyle test edilmesi amaçlanmıştır. Çalımanın biyokimyasal analizinde DTM'nin hipokampüste oksidatif strese yol açtığını gösteren araştırmalar göz önüne alınarak (Ballı E, 2009; Celik A, 2005 ; Li H. Y, Shi ve ark., 2005) DTM verilen gruplarda oluşan ROS/RNS seviyesine ve serbest radikallere karşı antioksidan sistemin savunma mekanizmasının bir göstergesi olarak total antioksidan kapasitesine (TAK) (Tuzmen, Candan ve ark., 2008), total protein miktarına ve glutamat/glutamin ekspresyonuna bakılarak diğer gruplarla karşılaştırılması planlanmıştır. DTM ve SA'nın histopatolojik olarak hipokampüsteki CA1 ve CA3 alt alanlarındaki nöronların morfolojik yapısı üzerine etkileri, immunohistokimyasal olarak apoptotik etkileri ve öğrenme deneyleri ile de tek ve birlikte verilmesinin kısa/uzun süreli hafıza üzerindeki etkilerinin analiz edilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL B LG LER

2.1. Hipokampüs Tarihçesi ve Anatomisi

Hipokampüs (hipokampus, hippocampus) morfolojik olarak deniz atına benzerli inden dolayı (*yunanca*, hippos= at, kampos= deniz, deniz atı) XVI. yüzyıl'ın anatomist ve cerrahlarından olan Julius Caesar Arantius (Giulio Cesare Aranzi, 1530–1589) tarafından bu ekilde adlandırılmıştır. Farklı bilim adamları tarafından hipokampüs terimi için; 'beyaz ipekböce i' (*bombycini vermis candidi*), 'ammon'un boynuzu' ve 'koç boynuzu' gibi çok sayıda isim önerilse de hipokampüs terimi literatürde en yaygın kullanılan terim haline gelmiştir (Bir, Ambekar ve ark., 2015). Hipokampüs terimi için 1732'de Danimarkalı anatomist Jacob Benignus Winslow (1669-1760) tarafından 'Ram'ın boynuzu' terimi önerilmiş ve on yıl sonra Fransız cerrah René-Jacques Croissant de Garengot (1688-1759) tarafından eski Mısır tanrısı 'Cornu Ammonis' terimi kullanılmıştır ve kısaltması olan 'CA', hipokampal alt alanların isimlendirilmesinde halen kullanılmaktadır (Barr ML 1988; Amaral DG 1990; zci Y 2015). nsanda filogenetik olarak en eski cerebral kısımlardan olan ve embriyolojik olarak telencephalon'dan geli en hipokampüs, lobus temporalis'in medialinde bulunan ve ventriculus lateralis'in cornu inferior'un (temporalis) tabanında yerle en 8 cm uzunlu undaki gri cevher kitlesidir (Amaral DG, 1990; Barr ML, 1988). Erken fetal dönemde neokorteksin geni lemesi ve çe itli hipokampal bile enlerin büyümesine ba lı olarak, gyrus dentatus ve subiculum arasında geli en sulcus hippocampi'nin etrafında olu ur (Dekeyzer, De Kock ve ark., 2017). Hipokampüs, singulat korteks (gyrus cinguli), gyrus parahippocampalis, olfaktör korteks (koku korteksi), corpus amygdaloideum, hypothalamus, presubiculum, parasubiculum ve entorhinal korteks ile birlikte ö renme ve hafıza gibi fonksiyonlarda önemli rolü olan limbik sistemin bir parçası olarak kabul edilir. Area septalis (nuclei septales), corpus mamillare ve nuclei anteriores thalami kompleksi gibi emosyonel davranı larla ilgili bölümlerle de ba lantılıdır. Kısa/uzun süreli hafıza ve uzaysal hafızada önemli bir i leve sahip olan hipokampüs'ün (Pearce, 2001) yeni olayların, yerlerin ve uyarıların belirlenmesindeki etkisi de bildirilmiştir (VanElzakker, Fevurly ve ark., 2008). Hipokampüs gyrus parahippocampalis tarafından örtüldü ü için ancak diseksiyonlarda net bir ekilde görülebilir (Purves D, Augustine G ve ark., 2013). Geni lemi olan ön

bölümüne 'pes hippocampi', parmaksı görünümünden dolayı ön ucuna 'digitationes hippocampi' denilmektedir (ekil 2.1) (Pearce, 2001).



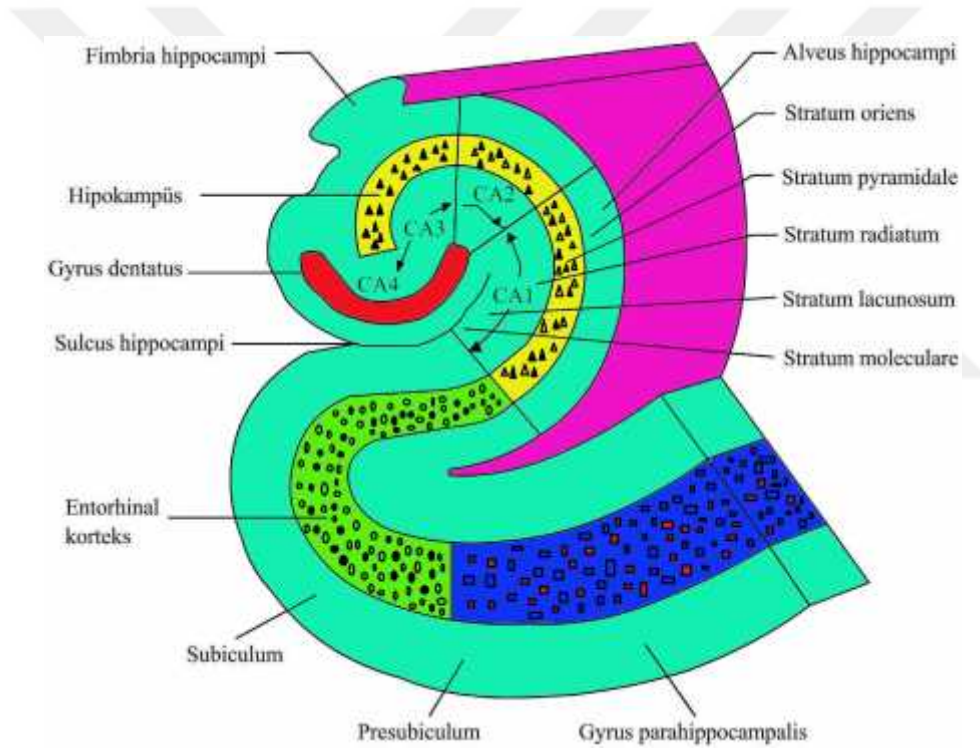
ekil 2.1. Hipokampus'ün anatomik yapısı ve lokalizasyonu

Hipokampus'ün, hipokampus proprius ve gyrus dentatus'tan oluşan iki ana parçası vardır (Pearce, 2001). Koronal kesitlerde 'C' harfi şeklinde görülen hipokampus'ün alt alanları gyrus dentatus'tan başlayıp, 'S' şeklinde e ri boyunca içeriye do ru uzanır. Hücre yapısındaki de i iklikler, hücre yo unlu u farklılıkları ve de i en derecelerde nöral liflerin varlı ı dikkate alınarak CA; CA1, CA2, CA3 ve CA4 olmak üzere 4 alt bölüme ayrılmı tır (Amaral DG, 1990; Barr ML, 1988; zci Y, 2015). CA bölgeleri yo un ekilde paketlenmi piramidal hücrelerle doludur. Polimorfik, moleküler ve granüler hücre tabakalarından oluşan gyrus dentatus ise kesitlerde hipokampus ucuna sarılımsı sivri bir kama veya yarım daire şeklinde görülmektedir (Pearce, 2001). CA1-4 alanları, gyrus dentatus, subiculum (subicular kompleks) ve formatio hippocampi (hippocampus, gyrus dentatus, gyrus parahippocampalis, subiculum, entorhinal korteks) için "hipokampus proprius" terimi kullanılmaktadır (Amaral ve Lavenex, 2006). Yeni kazanılan bilgilerin depolanmasında önemli rolü olan formatio hippocampi içindeki nöral yapılar ve yollar tüm memelilerde benzerdir. Hipokampus'ün ventriculus lateralis'e kom u yüzünü örten beyaz miyelinli lifler (büyük piramidal hücrelerin aksonları) en derinde alveus hippocampi'yi yaparken, temporal kısımlarını örten lifler medialde birle erek 'fimbria hippocampi' adı verilen bir lif demeti oluşur. Hipokampus'ün gyrus parahippocampalis ile entorhinal

korteks arasındaki bölümü, subiculum'u oluşturan fimbria'dan dorsal kısımlara doğru kalınlıkla artarak orta hatta corpus callosum'un altında forniks'i oluşturur. Ratlarda ise commissura fornicis aynı zamanda commissura hippocampi olarak da adlandırılır (Suzuki, Hagino ve ark., 2005; Tien, Felsberg ve ark., 1992).

2.1.1. Hipokampus Korteksinin Histolojik Yapısı

Hipokampus'un 'C' şeklindeki bir kesitinde, birkaç katman bulunur. Santiago Ramón y Cajal (1852-1934) tarafından hipokampus korteksinin yedi tabakası ve bu tabakaların hücresel bileşenleri detaylı olarak tarif edilmiştir. Facies ventricularis'ten başlayarak içten dışa doğru katmanlar aşağıdaki gibi sıralanır (Şekil 2.2) (Andersen, R. ve ark., 2007).



Şekil 2.2. Hipokampus korteksinin tabakaları

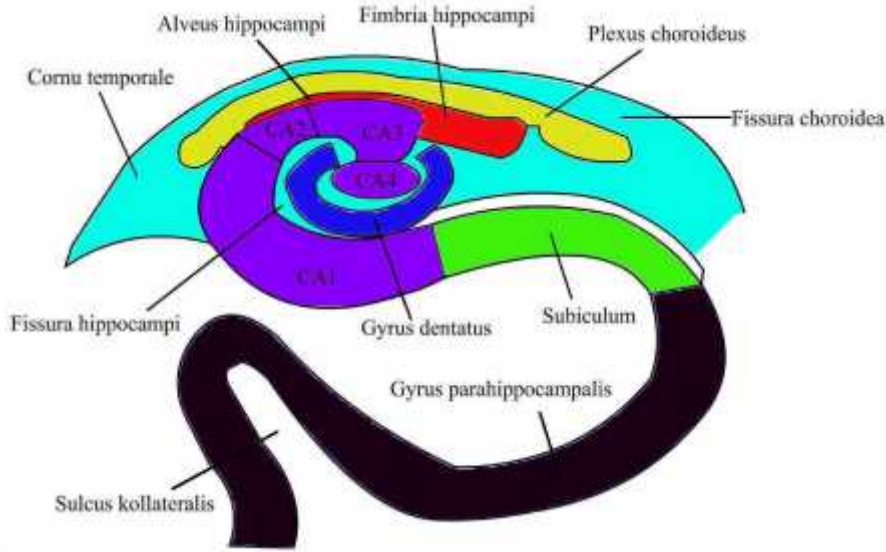
- **Alveus hippocampi:** Gyrus Dentatus'tan (GD) gelen aksonal lifler ve CA3, CA2, CA1 ve subiculum'un piramidal nöronlarından oluşur. Fimbria hippocampi'ye ve commissura fornicis'e giden efferent lifler buradan geçerler (Daitz ve Powell, 1954; Knowles ve Schwartzkroin, 1981).
- **Stratum oriens (polimorfik tabaka):** Alveus hippocampi'ye yakın yerleşimli bir tabakadır. Bu nedenle burada yer alan nöronların efferent liflerinin çoğu alveus'a uzanır. Bu tabakada stratum oriens, stratum pyramidale ve stratum radiatum'u innerve eden aksonalı içeren inhibitör basket hücreleri ve

horizontal trilaminar hücrelerin soma'ları bulunur. Bu tabakada da bulunan piramidal nöronların bazal dendritleri, diğer piramidal hücrelerden, septal liflerden ve kontralateral hipokampus'ten (özellikle CA3 ve CA2'de tekrarlayan bağlantılar yoluyla) commissural efferent lifler alırlar (Andersen, R. ve ark., 2007).

- Ñ **Stratum pyramidale (piramidal hücre tabakası):** Hipokampus'ün bağlantı eksitator (uyarıcı, stimülatör) nöronları olan çok sayıda ve büyük piramidal nöronların somalarını içeren temel hücre tabakasıdır. Çıplak gözle görülebilen tabakalardan biridir. Bu tabaka, CA3 bölgesinde stratum lucidum'dan geçen yosunsu (mossy) liflerle sinaps yapar. Golgi Tip II hücreleri, akso-aksonik hücreler, bistratifiye hücreler ve radial trilaminar hücreler olmak üzere birçok internöron'un hücre gövdelerini içermektedir (Andersen, R. ve ark., 2007).
- Ñ **Stratum lucidum:** Hipokampus'ün en ince tabakalarından biri olup sadece CA3 alt alanında bulunur. GD'nin granüler hücrelerinden gelen yosunsu lifler, CA3'te bu tabaka boyunca ilerler fakat bu liflerle oluşan sinapslar stratum pyramidale tabakasında bulunmaktadır (Andersen, R. ve ark., 2007).
- Ñ **Stratum radiatum:** Septal lifler, commissural lifler ve schaffer'ın kollateral projeksiyon liflerini içermektedir. Basket hücreleri, bistratifiye hücreler ve radial trilaminar hücreler gibi daha üst katmanlarda bulunabilen bazı internöronlar da bu katmanda bulunabilir (Andersen, R. ve ark., 2007).
- Ñ **Stratum lacunosum:** Schaffer'ın kollateral projeksiyon liflerini içeren ince bir tabakadır, aynı zamanda entorhinal korteksin yüzeyel katmanlarından gelen perforan liflerini (EC III) de içermektedir. Küçük bir katman olması nedeniyle, genellikle stratum moleculare ile birlikte **stratum lacunosum-moleculare** olarak adlandırılmaktadır (Andersen, R. ve ark., 2007; Heath ve Harper, 1974).
- Ñ **Stratum moleculare (moleküler tabaka):** Hipokampüsteki en yüzeysel katmandır. Bu tabakada perforan lifler ile piramidal hücrelerin distal ve apikal dendritleri üzerinde sinapslar oluşur (Andersen, R. ve ark., 2007).

2.1.2. Hipokampus'ün Alt Alanları

Hipokampus hücresel tabakaların histolojik farklılıklarına ve hücresel bileşimine bağlı olarak dört ayrı bölgeye ayrılır. Bunlar subiculum'dan gyrus dentatus'a doğru CA1, CA2, CA3, CA4 olmak üzere 4 ayrı bölümde incelenir (Şekil 2.3) (Andersen, R. ve ark., 2007).



ekil 2.3. Hipokampüs'ün alt alanları

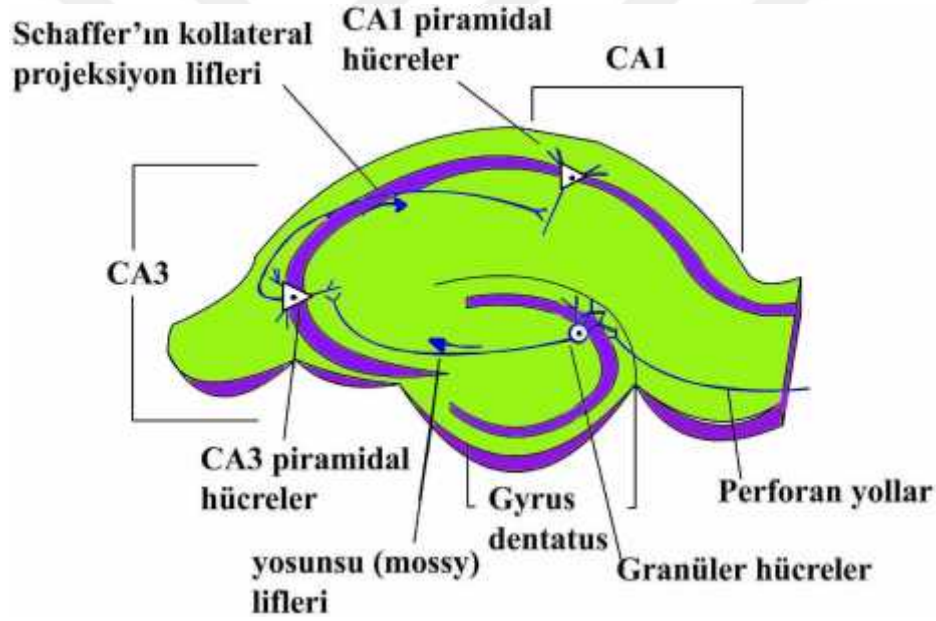
CA1 (Sommer'in Alanı, Sommer Sector)

Hipokampüs ile subiculum arasında yer alır. Ventrikül yüzeyine doğru en dışta alveus'a en yakın olan CA1 alt alanı bulunur. Stratum lucidum hariç hipokampal korteks tabakalarının hepsine sahiptir. Anoksi, hipoksi ve iskemiye karşı duyarlıdır. Özellikle cerebral hipoksi'de büyük dejeneratif değişiklikler gösteren hassas bölgelerden biridir (Galloway ve Roessmann, 1986). Erişkinlerde temporal lob epilepsilerinin bazı formları için en sık gözlenen hipokampal dejiyasyon bölgesi olarak kabul edilir (Sarnat ve Flores-Sarnat, 2013). Hipokampal skleroz (HS), özellikle CA1'de ve subiculumda ciddi nöronal hücre kaybı, gliozis ile karakterize olan nöropatolojik bir durumdur. İlk kez 1880 yılında Karl Wilhelm Sommer (1852-1900) tarafından tanımlandığı için CA1 alanı; Sommer'in alanı (Sommer's sector) olarak adlandırılmaktadır (Sommer, 1880). Aynı zamanda hipoksiye olan duyarlılıklarına göre de hassas veya savunmasız bölge olarak da isimlendirilir (Mark, Daniels ve ark., 1993). Mekansal öğrenme ve uzaysal hafıza için CA1 bölgesi nöronları değerlendirilir. Bu bölgeye afferent lifler entorhinal korteksten ve CA3 bölgesinden (Schaffer'in kollateral projeksiyon lifleri aracılığıyla) gelir. CA1 bu şekilde bölgeler arasındaki uyumluluğu denetler. CA1 ve CA3 alanlarının bağlantısı da referans hafıza için gereklidir (Suzuki, Hagino ve ark., 2005; Tien, Felsberg ve ark., 1992).

CA2 ve CA3 (Spielmeyer Sektörü, Spielmeyer's Sector)

Piramidal hücrelerin daha az bulunduğu hipokampüs'ün alt bölümünde yer alır ve anoksiye karşı daha az duyarlıdır. CA2 ve CA3 alt alanları, hipoksiye karşı olan

duyarlılıklarına göre dirençli sektör (Spielmeyer sektörü, Spielmeyer 1927) olarak adlandırılmıştır (Mark, Daniels ve ark., 1993). CA2 alt alanı yalnızca Alzheimer'daki nörofibriller dejenerasyona karşı nispeten dirençlidir (Ishizawa, Ko ve ark., 2002). CA3 piramidal hücreleri, commissura hipokampi'nin temelini oluşturmaktadır (Suzuki, Hagino ve ark., 2005; Tien, Felsberg ve ark., 1992). CA3, stratum lacunosum, moleculare, radiatum, lucidum, pyramidale ve oriens tabakalarını içerirken CA2'de bu tabakaların hepsi mevcuttur sadece stratum lucidum bulunmaz. Yapılan çalışmalar hipokampüste CA1 ve CA3 alt alanlarının (özellikle piramidal hücre alanları) önemli farklılıkları olduğunu göstermektedir (ekil 2.4). Örneğin, CA1 veya CA3'ün nörotoksik lezyonlarının veya farmakolojik olarak inaktivasyonunun, hafızanın kodlanması üzerinde farklı etkiler yarattığı bildirilmiştir (Daumas, Halley ve ark., 2005; Lee ve Kesner, 2004).



ekil 2.4. Hipokampüste CA1 ve CA3 alt alanlarının piramidal hücreleri ve bağlantıları

CA4 (Bratz Sector)

CA4 alt alanı hipokampus ile gyrus dentatus arasında yer alır. Hipokampüste en içteki gyrus dentatus'a CA4 bölgesi daha yakındır. Bu nedenle CA4 olarak bilinen bölge aslında gyrus dentatus'un derin, polimorfik tabakası olarak da bilinmektedir (Suzuki, Hagino ve ark., 2005; Tien, Felsberg ve ark., 1992). Hipoksiye orta derecede duyarlı olduğu için bu bölge orta duyarlı alan (Bratz sector, Bratz 1899) olarak adlandırılmaktadır. CA1 ile birlikte sıklıkla demans ile karakterize olan medial temporal sklerozun en sık gözlemlendiği hipokampal bölgedir (Mark, Daniels ve ark., 1993).

Sulcus (Fissura) Hippokampi

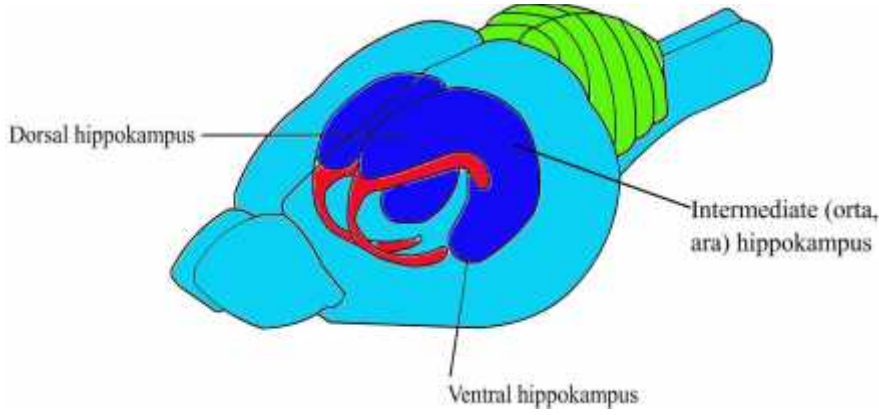
CA1 alanını gyrus dentatus'tan ayıran hücresiz bir bölgedir. Hipokampus, perihipokampal fissuralar olarak adlandırılan birkaç fissura ile çevrilidir. Bichat'ın fissura horizontalis'i, üst tarafta thalamus'u gyrus parahippocampalis'ten ayıran cisterna ambiens'in lateral uzantısıdır. Fissura horizontalis'in (transversa) süperolateral uzantısı fissura choroidea'dır. Fissura horizontalis'in (transversa) inferolateral uzantısı olan, gyrus dentatus ve subiculum arasında bulunan bu bölge (fissura hippocampi) genellikle oblitere edilir ve MR'da (Manyetik Rezonans Görüntüleme) görülmez. Genellikle EEG (Elektroensefalografi) kaydı için referans noktası olarak kullanılır (Dekeyser, De Kock ve ark., 2017).

Gyrus Dentatus (GD)

Gyrus parahippocampalis'in üst yüzünde, hipokampus'ün medialinde, subiculum ile fimbria hippocampi arasında uzanan di li bir gri cevher tabakasıdır. Yaygın olarak hipokampus'ün bir parçası olarak kabul edilmesine rağmen, hipokampüsten sitoarkitektonik (hücrelerin morfolojisi, dizili i ve tabakaları) olarak farklıdır. Üç tabakalı kortikal yapıya sahiptir, hilus kısmını içeriyorsa 4 tabakalı yapıdan oluşur kabul edilir. Bu katmanlar; stratum moleculare externa, stratum moleculare interna, stratum granulare (piramidal hücrelerde sonlanan yuvarlak ve oval nöronlardan oluşur) ve hilustan oluşmaktadır. Piramidal tabakanın yerini granüler tabaka almıştır (Andersen, R. ve ark., 2007).

2.1.3. Rat Hipokampal Bölgeleri

Ratlarda hipokampus bölgeleri fonksiyonel ve anatomik olarak farklılıklar göstermektedir. Bu bölgeler aksiyal ve sagittal planda üç kısma ayrılabilir. Dorsal hipokampus (DH), ventral hipokampus (VH) ve orta (ara) hipokampus (IH), farklı yollar ile projekte olan de i ik i levlere sahiptir (ekil 2.5) (Fanselow ve Dong, 2010; Jung, Wiener ve ark., 1994).



ekil 2.5. Rat hipokampal bölgeleri

Dorsal Hipokampus; uzaysal hafıza, sözel hafıza ve kavramsal bilginin öğrenilmesinde etkilidir. DH' deki lezyonlar için radial arm maze testi (RAM) kullanılarak uzaysal hafıza değerlendirilebilir. Projeksiyon yolları nukleus septalis medialis'i ve nucleus supramammillaris'i içerir. DH, hem ventral hem de orta hipokampal bölgelerden daha fazla yer hücresi (place cell) içerir (Fanselow ve Dong, 2010; Jung, Wiener ve ark., 1994). Ventral hipokampus; korku kullanması, yaklaşma-kaçınma davranışında ve karar verme sürecinde görev yapar. Ventral hipokampus'un belirsiz koşullarda karar vermede önemli rolü olduğu ve kortikal/subkortikal alanın bir parçası olabileceğini gösteren çalışmalar vardır (O'Neil, Newsome ve ark., 2015) Anagnostaras ve ark. (2002) ventral hipokampusteki değişikliklerin, dorsal ve ventral hipokampus tarafından corpus amygdaloideum'a gönderilen bilgi miktarını azalttığını ve sonuç olarak ratlarda korku kullanmasını desteklediğini göstermiştir (Anagnostaras SG, Gale GD ve ark., 2002). Ratlarda hipokampus ile yapılan çoklu araştırmada, uzaysal hafızayı temsil eden nöronlar ve uzaysal navigasyon için önemli olduğu düşünülen pars dorsalis hippocampi bölgesine odaklanılmıştır. Pars ventralis hippocampi'nin ise daha çok anksiyete ve emosyonel hafızada önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Copara, Hassan ve ark., 2014; E. B. Anderson, I. Grossrubatscher ve ark., 2014).

2.1.4. Trisinaptik Devre Sistemi (Temel Hipokampal Devre Sistemi, Entorhinal Hipokampal Halka)

CA1 bölgesinin efferent lifleri subiculum, entorhinal korteks, fimbria ve prefrontal kortekse gider. Adölesan dönemden sonra CA1 ve CA3 bölgelerindeki hücre sayılarının giderek artması uzaysal hafıza ve öğrenmenin gelişiminin bir göstergesidir (Suzuki, Hagino ve ark., 2005; Tien, Felsberg ve ark., 1992). CA3 ve gyrus dentatus

lezyonlarında uzaysal hafıza ve öğrenmede sorunlar olabilir (Moser ve Moser, 2014; Moser, Kropff ve ark., 2008; Moser, Roudi ve ark., 2014; Moser, Rowland ve ark., 2015). Çoğu ekstrasik sinyal, perforan yolun aksonları aracılığıyla entorhinal korteks'ten (EC) gelir. Bu aksonlar, EC katman II'den başlayıp gyrus dentatus (esas olarak granüler tabakaya projekte olan ilk sinaptik bağlantı) ve CA3'teki piramidal hücrelerde sonlanır. Ayrıca EC katman III'ten başlayıp doğrudan CA1'e giden eksitator ve CA2'ye giden inhibitor etkili yollar vardır. GD granüler hücreleri, efferentlerini CA3 piramidal hücrelerinin dendritlerine (ikinci sinaptik bağlantı) aktarmaktadır, CA3 piramidal hücreleri, efferentlerini CA1'e (ipsilateral ve kontralateral olarak stratum radiatum ve stratum oriens tabakalarına Schaffer'ın kollateral projeksiyon lifleri aracılığıyla) aktarır. CA1 piramidal hücreleri, efferentlerini CA3 alt alanı, EC katman III ve nucleus reuniens'e gönderir. CA1 efferentleri trisinaptik devreyi (entorhinal hipokampal halka) tamamlayan entorhinal kortekse (üçüncü sinaptik bağlantı) geri döner. Subiküler efferent nöronlar da EC'ye gider. Bu şekilde perforan yollar, gyrus dentatus, CA3 ve CA1 arasındaki devre tamamlanır. XX. yüzyılın başlarında Santiago Ramon y Cajal (1852-1934) tarafından bu devre trisinaptik devre olarak tanımlanmıştır. Hipokampus'un trisinaptik devresi, hipokampus boyunca horizontal olarak uzanır. Subiculum, CA1 ve EC katman III'ten gelen bilgileri birleştiren devredeki son bağlantıdır. Bu devre hipokampus'un fonksiyonel olarak bağımsız bir şekilde çalışan bir dizi paralel devre olarak düşünülebileceğini öne süreren lamellar hipotezinin temelini oluşturmaktadır (Andersen, Bliss ve ark., 1969). Trisinaptik devreyi etkileyen mekanizmaları belirlemek amacıyla beynin diğer bölümleriyle nasıl etkiletiği, insan fizyolojisi ve davranışını nasıl etkilediği üzerine araştırmalar yapılmıştır (Adamec, 1991).

2.2. Hipokampus'un Öğrenme ve Hafızadaki Rolü

Öğrenme sadece yeni bilgilerin öğrenilmesi değil, aynı zamanda çevrenin temsilinde de yaşanan bir değişimdir. Hipokampus tipik olarak iki ayrı bilgi işlem mekanizmasına sahiptir. Bunlardan ilki yeni elde edilen bilgilerin kodlanmasını içerir, yani bilgilerin uzun süreli temsil edilmesini sağlayan dinamiklerdir. Genel olarak hipokampus ve neokorteksin birbirlerini tamamlayarak öğrenme sistemlerini oluşturdukları düşünülmektedir. Bu görüşe göre, hipokampus ilk deneyim sırasında çevrenin farklı temsillerini oluşturarak hipokampal devre içinde statikleştirir. Bu bilgiler hipokampus tarafından kodlandıktan sonra yeniden reaktivasyonu yapılarak

neokorteks'te öğrenmeyi pekiştirir. Kısa süreli hafızanın uzun süreli hafızaya dönüşümüne için bilginin depolanması ve hafızada pekiştirilmesi gerekir. Hipokampus kısa süreli belleği uzun süreli belleğe çeviren ve yeni bilgilerin kalıcı olarak depolanmasını sağlayan sinyaller üretir. Bu re-aktivasyon, CA1 alt alanında kaydedilir. Neokorteks bu bellek sekanslarını tekrarlayan serilerle sunduğu süreçte öğrenme gerçekleşir ve bu her türlü duyuşsal deneyim ile aktive olabilir. Hipokampus sinyalizasyon modellerini destekleyerek ve nesnelere, ortamları, çevreyi tanıdık hale getirerek spesifik görevlerin öğrenilmesini sağlar. Hipokampus, hatırlamayı kolaylaştırmak için olayları birbirine bağlayan kritik bir rol oynar. Bu rol ile ilgili olarak, çeşitli çalışmalar, bellekte epizodik ayrıntıların hem mekansal hem de zamansal belleklerini kodlamak için hipokampus'un önemini vurgulamıştır. Bu veriler, hipokampus'un, epizodik bellekte daha büyük bir rolün parçası olarak mekansal-zamansal olarak temsil edilmesi ve bağlanması için bir yakınsama bölgesi olduğunu göstermektedir. Yeni düzeneklerin hücre temsilleri üzerindeki etkisine bakıldığında yeni ortamların tanıtılmasının CA1 alt bölgesinde hücresel aktivasyona neden olduğunu ve zamanla çevre daha tanıdık hale geldikçe veya görev performansı arttıkça, CA1'e özgü mekan bildiren hücre popülasyonunda aktivasyona sebep olduğunu düşünülmektedir. Bu değişikliklerin sonucu olarak aktif CA1 alt alanı, uzaysal ve mekansal olarak bilgilendirici nöron popülasyonunu oluşturarak uzaysal hafızayı aktif hale getirmektedir. Bu bilgi CA1'den subiculum, thalamus, hypothalamus ve limbik sistemin diğer kortikal bölgelerine yüksek düzeyde sinyaller gönderir. Çevre ile daha fazla deneyim kazandıkça, CA1 ve CA3'teki yer hücresi popülasyonunun çoğunluğu benzer öğrenme davranışını gösteren diğer nöronları geliştirir. Böylece farklı amaçlar için uygun davranışlar oluşur. Öğrenme davranışını kazandırılırken, uzaysal hafızadan sorumlu hücrelerin yanıt vermesi için görsel ipuçları, mesafeler, açılar, renkli geometrik desenler gibi çeşitli çevresel manipülasyonlar kullanılır (Copara, Hassan ve ark., 2014; E. B. Anderson, I. Grossrubatscher ve ark., 2014).

2.2.1. Kısa Süreli Hafıza (STM, Short Term Memory)

Kısa Süreli Hafıza (STM), yeni bilgileri kodlayan hücre gruplarında sürekli stimulator aktivite gösteren bellek olarak tanımlanmıştır. Nöronlar ilk stimülasyondan sonra birbirlerini sürekli uyarmaya devam eder. Nörotransmitter depolarının azalması veya tükenmesi nedeniyle uyarım bir noktada sonlanırsa STM'nin depolama fonksiyonu aksayarak bilginin depolanmadığı görülür; sinapslarda yapısal değişikliklere yol

açarsa, STM'nin uzun süreli hafıza'ya (LTM) dönü t ü ü görülür. Hipokampüs'ü etkileyen lezyonlarda ise STM'nin LTM'ye dönü emedi i gözlenmi tir (Nadel ve Hardt, 2011).

2.2.2. Uzun Süreli Hafıza (LTM, Long Term Memory)

Kapasite sınırları olmadı ı varsayılan LTM; günler, haftalar, aylar ve yıllar sürece k hafızayı ifade eder. STM' nin sonunun, LTM'nin ba langıcını gösterdi i genel gö rü göz önüne alındı ında, LTM'nin yeni bilgi kazanıldıktan birkaç dakika sonra ba layabilece i dü ünülebilir. LTM, algılanabilecek tüm duyu sal modellerden bilgi depolayabilir. nsanlarda LTM, her biri kendi karakteristik depolama ve unutma fonksiyonlarına sahip, farklı nöral sistemlere ba lı, açık ve kapalı formlar içermektedir. Hayvanlarda ise bu hafızada açık ve kapalı formlar arasındaki ayrımın çizilmesi daha zordur (Nadel ve Hardt, 2011).

2.2.3. Hipokampüs'ün Uzaysal Hafıza ve Navigasyondaki Etkisi

Görme, koku, i itme, dokunma gibi uyarılara ba lı ö renmeye uzaysal hafıza (spatial learning) denilir. Nörodejeneratif hastalıkların erken döneminde uzaysal hafıza bozulur. Bu nedenle ratlarda, hipokampüs uzaysal hafıza ve navigasyondan sorumlu bir beyin bölümü olarak kapsamlı bir ekilde çalı ılmaktadır (Bliss ve Collingridge, 1993). Hipokampüste zaman hücreleri, hız hücreleri, yön hücreleri, grid hücreleri ve sınır hücreleri gibi hücreler bulunur. Bu hücreler uzaysal hafıza olarak i lev gören bir a olu tururlar. 1971'de John O'Keefe ve John Dostrovsky tarafından ke fedilen bu tür hücrelerden ilki, çevrenin nöral temsilini gösteren hipokampüs fikrine yol açan yer hücreleridir (O'Keefe ve Conway, 1978). Sıçan ve fare hipokampüsleri üzerinde yapılan çalı malar birçok hipokampal nöronun, yer hafızası ta ıdı ımı ve hayvan geçti i bir yerden tekrar geçti i zaman, bu sınırlarda aksiyon potansiyellerini tetikledi ini göstermi tir. Yer hücrelerinin yanıtları hipokampüste piramidal hücrelerde ve gyrus dentatus'taki granüler hücrelerde de gösterilmi tir. Daha dü ük oranda di er hücreler ve inhibitör internöronlar yer hafızası ile ilgili varyasyonlar gösterir. Bazı durumlarda, hipokampal hücreler sadece yere de il, aynı zamanda ratların hareket etti i yöne, gidece i yere veya görevle ilgili di er de i kenlere de ba lıdır (Moser ve Moser, 1998; Smith ve Mizumori, 2006). Hipokampüs lezyonlarında, yönelim etkilenir. Ratlar bir yere nasıl geldiklerini ve nasıl ilerleyebileceklerini hatırlamakta zorlanabilirler. Özellikle lezyonun sa

hipokampüste oldu u durumlarda uzaysal hafıza'nın bir göstergesi olan görsel hafıza etkilenmektedir. Yapılan çalı malarda, ilkel ö renme ve bazı mekansal hafıza görevlerinin uzun süreli hafızaya aktarılabilmesi için, özellikle belirli bir hedefe giden yolu bulmayı gerektiren çalı malarda sa lam bir hipokampüs'ün gerekli oldu u gösterilmi tir (Morris, Garrud ve ark., 1982; Sutherland, Kolb ve ark., 1982; Sutherland, Weisend ve ark., 2001).

2.2.4. Papez Halkası (Devresi)

Medial limbik devre de denilen papez halkası, ö renmenin peki tirilmesinden ve emosyonel davranı ların kontrol edilmesinden sorumludur. 1937 yılında James Wenceslaz Papez (1883-1958) tarafından tanımlanan bu nöral devrenin ba langıcını hipokampüs olu turmaktadır. Subiculum'un (formatio hippocampi) efferent lifleri sırasıyla alveus hippocampi, fimbria hippocampi ve crus fornicis'e aktarılır. Sa ve sol tarafın crus fornicis'i corpus callosum'un altında arkaya ve yukarıya do ru kıvrılır ve septum pellucidum'un serbest kenarında corpus fornicis'i olu turur. Corpus fornicis öne ve a a ı kıvrılarak columna fornicis'e ayrılır. Ventriculus tertius'un lateral duvarında önde hypothalamus, arkada corpus mamillare'de sonlanır. Corpus mamillare'den ba layan tractus mamillothalamicus önce nuclei anteriores thalami'ye buradan çıkan thalamokortikal lifler gyrus cinguli'ye gider. Gyrus cinguli'den ba layan yollar cingulum aracılı ı ile area entorhinalis üzerinden tekrar hipokampüse (formatio hippocampi'ye) döner. Buradan çıkan uyarı gyrus parahippocampalindeki ön entorhinal kortekse gelir ve devre tamamlanır. Bu halkaya papez halkası denilir. Bu halka bazı emosyonel davranı ların dı a vurulması, otonomik aktivitenin düzenlenmesi ve ö renmede önemli i leve sahiptir (Papez, 1995; Shah, Jhawar ve ark., 2012).

2.3. Hipokampüs Patolojisi

Mekansal, uzaysal ve epizodik hafızada önemli rol oynayan, küçük ancak kompleks bir yapı olan hipokampüs, konjenital anomaliler (fissura choroidea kistleri, rudimente sulcus hippocampi rezidüel kistleri, tamamlanmamı hipokampal inversiyon (IHI)), anatomik varyasyonlar, dejeneratif hastalıklar (hipokampal kalsifikasyonlar, mesial temporal skleroz (MTS), alzheimer, mesial temporal atrofi (MTA)), enfeksiyonlar (Herpes simpleks ensefaliti (HSE), limbik ensefaliti (LE)), vasküler lezyonlar (arteryel iskemik paraliz, akut retrograd amnezi), tümörler (ganglioglioma,

disembrioplastik nöroepitelyal tümörler) ve toksik metabolik patolojilerde etkilenebilir. Nörodejeneratif hastalıklarda hipokampus beyinde zarar gören ilk bölgelerden biridir. Erken dönem semptomları arasında kısa süreli hafıza kaybı, demans ve oryantasyon bozukluğu yer almaktadır. Hipokampus'un zarar görmesi, oksidatif hasar (anoksi, hipoksi) ve lobus temporalis medialis epilepsisinden de kaynaklanabilir. Bilateral hipokampal hasarı olan kişiler anterograd amnezi (yeni öğrenilen bilgilerin ve lezyon sonrası olan olayların hatırlanamaması) belirtisi gösterebilirler (Dekeyser, De Kock ve ark., 2017).

2.4. Uzaysal Hafızada Kullanılan Deneysel Modeller

Açık labirentler, öncelikli olarak çevresel, görsel-uzaysal ipuçlarını kullanarak yer öğrenimini ve belleği ölçmek için tasarlanmıştır. Bununla birlikte, labirent seviyeleri birçok boyutta farklılık gösterir. Bunlar;

- arenalardan (su labirenti: WM) çok yapılandırılmış labirentlere (radial-arm labirenti: RAM) kadar değişen aparat çeşitleri,
- görsel, uzaysal, işitsel veya duyuşsal ipuçlarının bulunabilirliği,
- spontan keşiften kompleks seçimler dizisine kadar değişen görev gereksinimleri,
- kaçma, barınma, belirli bir yerde yeni nesnelere ya da yiyecekleri bulma/keşfetme motivasyonudur.

Bu çeşitlilik göz önüne alındığında, labirentler mekansal ve uzaysal öğrenmeye katkıda bulunarak bunları etkileyen çeşitli süreçlere odaklanır. En çok kullanılan yöntemler aşağıda özetlenmiştir (Hodges, 1996):

- Morris water maze testi
- T-maze testi
- Y-maze testi
- Barnes maze testi
- Elevated plus maze testi
- Zero maze testi
- Radial arm maze (RAM) testi
- Open-field (OF) testi

Morris water maze testi, uzaysal hafızanın test edilmesi amacıyla dizayn edilmiş bir testtir. Diğer birçok teste göre avantajı, belli bir kaçış yolunun olmaması ve koku izinin bulunmamasıdır (Bliss ve Collingridge, 1993). **T-maze** testi, tercih seçeneğinin olduğu ya da uzaysal öğrenme ile ilgili deneylerde kullanılır. Hayvanlar bir önceki denemede tercih ettikleri kolu ya da sunulan ödülü hatırlayarak kollar arasında tercih yaparlar. Ratların bir önceki denemede girdiği kolu hatırlaması beklenir. T-maze testleri basit öğrenmeyi sınamak ve iki seçenek arasında hangisinin seçileceğinin belirlenmesi amacıyla kullanılır. **Y-maze** testi, T-maze testine benzer, farklı olarak üç özde kolu vardır. Y-maze'in dereceli dönüşleri, T-maze'in sert dönüşleriyle karşılaştırıldığında öğrenme süresini düşürür (Buck, 2004). Y maze ile sıçanın hafıza fonksiyonları farklı koşullar altında test edilebilir. Çeşitli ilaçların ve maddelerin hafıza üzerindeki etkisi incelenebilir (Li, Wang ve ark., 2015). **Barnes Maze** testi, radial arm maze ve morris water maze benzeri bir test olmasına karşın daha az fiziksel stres ve besinle ilgili kısıtlama vardır. Barnes maze testi ile de uzaysal hafıza ve öğrenme test edilir. Ratlar aydınlatılmış bölgeden karanlık kaçış kutusuna kaçmaya çalışırlar. Test sırasında hayvan kaçış kutusunun uzaysal yerini öğrenir (McHail, Valibeigi ve ark., 2018). **Elevated plus maze** testi, hayvanlarda anksiyete ile ilgili davranışları test etmek için kullanılır. Doğal korku ile çevreyi inceleme güdüsü arasındaki çelişkiyi kullanır. Açık ve kapalı kola girişi, kola girişi yüzdesi, toplam kola girişi, açık koldaki harcanan zaman, kafayı uzatma, gerilerek bakma gibi parametreler incelenir (Walf ve Frye, 2007). **Zero-maze** testi, Elevated Plus-Maze testinin modifiye edilmiş biçimidir. Anksiyete'yi inceleyen klasik yöntemleri aynı zamanda modern teknoloji ile ilgili ölçümleri içerisine alır (Tucker ve McCabe, 2017). Öğrenme testleri arasında ratlarda mekansal hafıza ve uzaysal hafızayı değerlendirmek için çok kullanılan en uygun test **Radial Arm Maze (RAM)** testidir. (Bliss ve Collingridge, 1993; Brown, Farley ve ark., 2007). Lokomotor aktivite ve anksiyete davranışının belirlenmesinde de en çok **Open Field (OF)** testi kullanılmaktadır (Brewer, Bellinger ve ark., 2014).

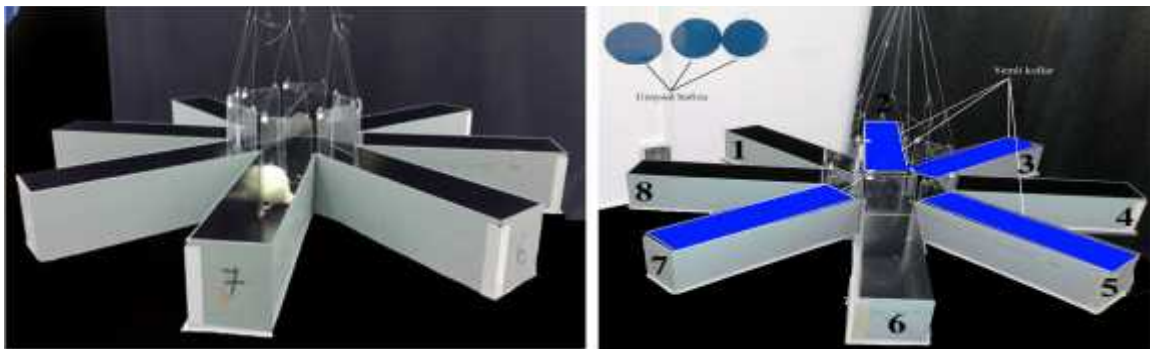
2.4.1. Radial Arm Maze (RAM) Testi

Olton D. ve Samuelson R. (1976) tarafından geliştirilen Radial arm maze (RAM) testi uzaysal hafızayı değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Dubreuil, Tixier ve ark., 2003). RAM testi çoklu bilişsel ve davranışsal bileşenleri anlamak için çok

faydalı 8 kollu bir labirent testidir (ekil 2.6.A). Performans analizi için en çok kullanılan de i kenler unlardır:

- Her bir koldaki hata sayısı (daha önce ziyaret edilen bir kola girilmesi) ve sekiz koldaki toplam hata sayısı
- Her testteki do ru seçimlerin sayısı
- Her testte ilk hata verdi i kol
- Her testteki ardı ık kollara giri lerinin sayısı
- Her bir kola girmek için harcanan süre (toplam süre)
- Ö renme kriterini ölçmek için testlerin sayısı ve ardı ık 10 günlük e itimin ortalaması hesaplanır.

Düzene in dı nda bulunan görsel ipuçları, ratların RAM'deki farklı kollara yeniden girmesini engellemek için kullanılan önemli uzaysal hafıza unsurlarındandır. Performans büyük oranda labirent dı ı görsel ipuçlarına ve mekansal konumuna ba lıdır. Aksine, koku ipuçlarının azaltılmı olması tercih do rulu unun geli tirilmesi ile ili kilidir. Bu anlamda, görsel ipuçları kullanıldı nda seçim davranı larını kontrol etti i görülmektedir (ekil 2.6.B). Üstelik ratlar do ru kollara girme, toplam süre, testteki hataların sayısı ve deney sonundaki hataların sayısı gibi birçok de i ken açısından açık bir ö renme e risi göstermektedir. Bu paradigma ile sa lanan geçerlilik, hafıza üzerine etkili ilaçlarla ilgili ara tırmalarda kullanılır. Ö renme ve özellikle bili sel bozulmaya ili kin birçok alanda kullanılmaktadır (Tarragon E, Lopez L ve ark., 2012).



ekil 2.6. Radial Arm Maze (RAM) Testi **A.** Radial arm maze testi labirent sistemi. **B.** Hayanların yemli kolları hatırlaması için kullanılan labirent dı ı uzaysal hafıza görsel ipuçları

Çalı an Hafıza (Working Memory, WM)

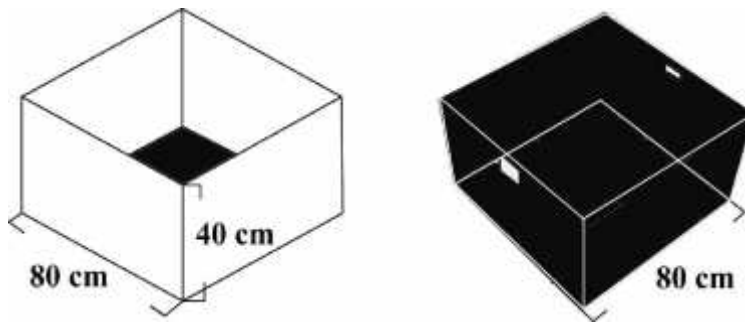
Amaca yönelik davranı sırasında objelerin veya yerlerin temsili için gerekli olan kritik bili sel alandır (Bunge, Ochsner ve ark., 2001). LTM içinde yer alan belirli bir grup olarak dü ünülebilir. Çalı an hafıza ö renilen bilgileri kullanma yetene ine odaklanır. Kaplarda yem/çikolata bulunan do ru kollara bir kez girmesi beklenen hayvanın girdi i yemli/çikolatalı kola tekrar girmesi çalı an hafıza hatası (**Working memory errors= WME**), çikolata olmayan kolu ara tırmak için girmesi ise referans hafıza hatası (**Referance memory errors= RME**) olarak kaydedilir (Jakubowska-Dogru, Gumusbas ve ark., 2003; Noorafshan, Asadi-Golshan ve ark., 2013). WM'nin anatomik temeli insanlarda ve hayvanlarda yo un olarak çalı ılmı tır. Bu çalı malar, korteks prefrontalis, korteks parietalis, thalamus, regio temporalis-medialis ve cerebellum gibi bölgeler üzerinde yo unla mı tır. Kompleks WM i levi, hayvanlarda bazı ortak nöral yollar kullanılarak sadele tirilmi tir (Nadel ve Hardt, 2011).

Referans Hafıza (Referance Memory, RM)

Deneyde hayvanların kaplarda yem/çikolata olmayan yanlı kola ara tırmak için girmesi referans hafıza hatası (**Referance memory errors= RME**) olarak kaydedilir (Jakubowska-Dogru, Gumusbas ve ark., 2003; Noorafshan, Asadi-Golshan ve ark., 2013). Referans hafıza, denemeler sırasında sabit kalan bir görevin yönleri hakkında bilgi sa lar. WM'den farklı olarak referans hafıza, bellek konsolidasyonu (güçlendirilmesi), yani yeni RNA ve proteinlerin sentezini gerektiren zaman içinde artan stabilizasyonu ve hafızada etkili nöronlarda uzun süreli morfolojik de i ikliklerin ya anmasıyla olu ur. Ço unlukla mekansal görevler (özellikle radial arm maze ve morris water maze testleri) için kullanılsa da, referans hafıza, özel bir deneysel paradigmaya ba lı de ildir. Temel düzeyde referans hafıza, epizodik bellekten çok semantik belle e benzemektedir, yani belirli bir bölümden ziyade bölümler arasında ortak olan bilgidir. Referans hafıza, LTM (uzun süreli hafıza) formu gibi, duyuşsal aktarım, dikkat ve kodlama ile ba layan bir dizi sürecin son noktasını temsil eder böylece uzun süreli davranı sal de i imlere yol açar. RM test edilirken testin herhangi bir a amasında farmakolojik müdahale, bellek testlerindeki performansı etkileyebilir. Bununla birlikte, ilk referans belle in göstergesi hipokampus olurken, ba arılı bir ekilde kazanılmı referans belle in uzun süreli olması, kortikal yapılardaki etkile imine ba lıdır (Nadel ve Hardt, 2011).

2.4.2. Open Field (OF,Açık Alan) Testi

Open Field Testi lokomotor aktivite ve anksiyete de erlendirilmesinde yaygın olarak kullanılır (ekil 2.7). Açık alan testinde deney gruplarının düzenekte bırakılma süresi teste göre 20 dakikaya kadar de i ebilir fakat genellikle kullanılan süre 5 dakikadır. 5 dakika boyunca ratların girdi i kare sayısı, alt ekstremiteleri üzerinde yükselme gibi çe itli düzlemlerdeki hareketleri (horizontal, vertikal) ve defekasyon sayısı hesaplanır. Hayvanların lokomotor aktivitesi, girdi i kare sayısı, alınan yol ve ortalama hız ile; ke fetme davranı ı ise düzenekteki yükseli i sayısı baz alınarak hesaplanır. Ka ınma davranı ı ve defekasyon sayısı otonomik i levlerin bir göstergesidir (Prut ve Belzung, 2003). Test sırasında ratlardaki ka ınma davranı ında olan artı hayvandaki stereotipik aktivasyon ile ilgilidir. Artan stereotipik aktivite ratların anksiyetesi ile ilgili bir bilgi verebilir fakat direkt olarak anksiyeteyi ölçmek için kullanılamaz (Khalatbary, Ghaffari ve ark., 2015). Open field testindeki ratların duvar yakınlarında durması veya merkezde hareket etmesi önemlidir. Adapte oldu u çevrenin dı ında ratlar merkeze gitmekten kaçınarak daha az hareket eder ve daha fazla defekasyon yapar. Ratların kö elerde ve duvarların yakınında zaman harcaması 'thigmotaxis' olarak adlandırılır. (Lieben CKJ, O.K. ve ark., 2004 ; Prut ve Belzung, 2003). Açık alanın merkezinde geçirilen zaman anksiyete ile ilgili önlemleri bir parametre olarak kabul edilir. Arenanın merkezinde harcanan zaman ve ratların donma davranı ında (hareketsiz kalması) harcadı ı zaman miktarı ölçülür. Donma davranı ı, ba ın yava yanal hareketleri ve nefes almak için gerekenler hariç ratların hareketsiz kalmasına veya oturma süresinin toplam süresine göre tanımlanır. Locomotor aktivitenin ölçülmesi için fotoelektrik hücreler, hayvanların arena boyunca yatay hareketlerini kaydetmek için kullanılır. Açık alan düzene i kamera sistemiyle hayvan tarafından katedilen mesafeyi kantitatif olarak analiz eder (Rebolledo-Solleiro, Roldan-Roldan ve ark., 2017).



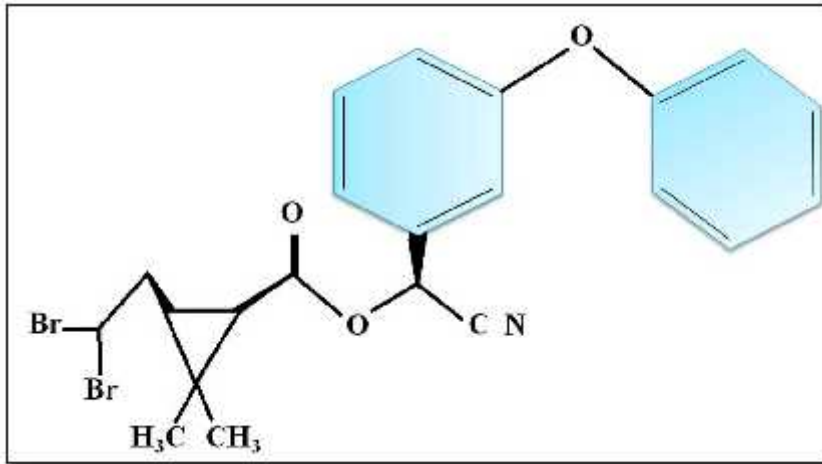
ekil 2.7. Açık alan testi (OF) düzene i (40x80x80 cm)

2.5. Deltametrin

Sentetik pretroitler Tip I ve Tip II olarak iki gruba ayrılır. Sentetik Tip II pretroitler alfa-karboksil grup, siyano grup içerir. Alfa siyano Tip 2 sentetik pretroitlerinden olan deltametrin (DTM), düşük toksisitesi ve eradikasyona karşı yüksek potansiyelinden dolayı çoğu ülkede en güvenilir insektisit olarak görülse de deney hayvanları üzerindeki toksisite çalışmaları oksidatif hasar oluşturduğunu bildirilmiştir (Chandra, Jain ve ark., 2013; Koprucu, Yonar ve ark., 2008; Sharma P, 2013). DTM, mitotik indeksin inhibisyonu, kromozomal defektler ve histolojik defektlerin indüklenmesi dahil birçok patolojik defektliye sebep olur. DTM'nin cerebral dokular gibi yağlı dokularda birikmesi ciddi bir problem yaratır. Bu nedenle, DTM maruziyeti ile nörodejeneratif hastalıklar arasındaki olası ilişkiye dikkat çekilmiştir (Galal, Khalaf ve ark., 2014).

2.5.1. Deltametrin'in Kimyasal Yapısı ve Özellikleri

Kimyasal ismi [(s)-siyano-3-fenoksibenzil-(R)-cis-3-(2,2-dibromovinil)-2,2-dimetil-siklo-propankarboksilat] (ekil 2.8) olarak tanımlanan (Laskowski, 2002) deltametrin, renksiz, kokusuz, asit indirici olmayan ve beyaz renkli kristallerden oluşur. Moleküler formülü: $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$, moleküler ağırlığı: 505.21 gr/mol, yoğunluğu: 1.5 gr/cm³, kaynama noktası: 300 °C (572 °F; 573 K), erime noktası: 98 °C (208 °F; 371 K), buhar basıncı: 25°C'de 1.5×10^{-8} mmHg'dir. Suda çözünürlük oranı: 0.002 - 0.0002 mg/l'dir (Hayes Jr., 1982; WHO., 1990). Ratlarda toksisitesi uygulama yoluna ve dozuna göre değişmektedir. Bunlar: oral LD50: 67-130 mg/kg, inhalasyon LC50: 785 mg/m³, dermal LD50: >2000 mg/kg olarak tespit edilmiştir (WHO., 1990).



ekil 2.8. Deltametrin (DTM)'in kimyasal formülü

Deltametrin, geni spektrumlu sentetik dibromo-pretroit insektisit olup tarımsal ürünlerin zararlılara karşı korunmasında kullanılan bir kimyasaldır (Aydin, Yıldız ve ark., 2015). Hipokampüste presinaptik sinir terminallerinden nörotransmitter salınımının DTM ile indüklenmesi, ilk olarak deltametrin uygulanan ratlarda belirlenmiştir (Hossain, Suzuki ve ark., 2008).

2.5.2. Deltametrin'in Oksidatif Etkisi

DTM birikimi, oksidatif strese ve apoptotik hücre ölümüne yol açan reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini artırır. Serbest radikal birikiminin zararlı etkileri, proteinler, lipidler ve nükleik asitler dahil olmak üzere tüm makromoleküllere zarar verdiğini için birçok nörodejeneratif hastalığın etiyolojisinde rol oynamaktadır (Galal, Khalaf ve ark., 2014). Deltametrin, sodyum kanallarının kinetiğini değiştirerek (voltaja bağımlı iyon kanallarının yapısını bozarak) (Narahashi, 1996; Narahashi, 2002; Ray ve Fry, 2006; Soderlund, 1985) sodyum'un hücre içerisine girişi süresini uzatarak ve depolarizasyonu artırarak oksidatif hasarı indükler (Khalatbary, Ghaffari ve ark., 2015; Meyer, Carter ve ark., 2008; Yousef M. I, Awad T. I ve ark., 2006). Özellikle lipid içeriği, oksijen gereksinimi yüksek olan, nöro-rejenerasyon göstermeyen cerebrumda birikerek çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna ve oksidatif strese neden olarak ciddi problemler yaratır (Hallenbeck WH, 1985; Martinez-Larranaga, Anadon ve ark., 2003). Ara tırmacılar, deltametrin'in sodyum kanalları dışında diğer iyon kanallarını da fosforilasyon mekanizmasıyla etkilediğini bildirmiştir (Burr ve Ray, 2004; Ray ve Fry, 2006). Nörodejeneratif hastalıkların fosforilasyon mekanizmasında enzimlerin inhibisyonuna sebep olurken hiperfosforilasyonla da patolojik ve kognitif anormallikleri tetikler (Chen, Luo ve ark., 2012). Aynı zamanda diğer voltaj kapılı iyon kanalları yoluyla nöral eksitabilitiyi ve sinaptik transmisyonu etkiler (Meyer, Carter ve ark., 2008). Ara tırmalar deltametrin maruziyeti sonrası ratlarda öğrenmede, motor davranışta (Husain, Malaviya ve ark., 1992) kan-beyin bariyeri permeabilitesinde (Gupta, Agarwal ve ark., 1999; Gupta, Nigam ve ark., 1999) kalıcı değişiklikler olduğunu göstermiştir. Yapılan çalışmalar, deltametrin maruziyetinin nörodejeneratif hastalıklarda potansiyel bir rol oynadığını dikkat çekmiştir (Hossain ve Richardson, 2011; Tayebati, Di Tullio ve ark., 2009). Deltametrin'in biyoaktivasyon ürünlerini indüklemesiyle, organizma kendini korumak için kendi antioksidan sistemini devreye sokarak oluşan serbest radikaller ile reaktif oksijen ve nitrojen türlerini inhibe etmeye çalışmaktadır (Abdollahi,

Ranjbar ve ark., 2004; Banerjee, Seth ve ark., 2001; Halliwell ve Chirico, 1993). DTM'nin reaktif oksijen türlerinin (ROS), serbest radikallerin üretimini artırdığı, ağırlı oksidatif strese ve lipid peroksidasyonuna (LPO) neden olduğu kadar, antioksidan enzim aktivitesini de azalttığı konusunda literatürde çalışmalar mevcuttur (Ogaly, Khalaf ve ark., 2015).

2.5.3. Deltametrin'in Apoptotik Etkisi

Apoptoz, hem fizyolojik hem de patolojik koşullarda önemli bir rol oynayan, nekrozdan farklı bir aktif hücre ölüm eklidir. İskemi, hipoksi, radyasyon, oksidatif stres, eksitotoksisite, oksijen-glikoz yoksunluğu ve bazı nörotoksinlerin apoptoz mekanizması ile nörodejenerasyona neden olduğu bilinmektedir (Wu A ve Y., 2000). Nörotoksinler, kronik nörodegeneratif hastalıklar için iyi bilinen bir risk faktörüdür. DTM ekzojen kaynaklı bir nörotoksindir. Bazı hastalıkların patogeneğinde rol oynayan moleküler mekanizmalar belirsizliğini koruyor olmasına rağmen, oksidatif stres, eksitotoksisite, inflamasyon ve apoptoz, nörodejenerasyonun muhtemel nedenleri olarak ortaya çıkmıştır (Cavallucci ve D'Amelio, 2011). Yapılan çalışmalar deltametrin'in nörotoksisitesinde apoptozdaki önemli rolünü göstermektedir. DTM hem *invivo* hem de *invitro* olarak nörodejenerasyonu indükler ve beyinde apoptotik hücre ölümüne sebep olur (Hossain ve Richardson, 2011; Khalatbary, Ghaffari ve ark., 2015; Wu A ve Y., 2000). Apoptoz veya programlanmış hücre ölümü, toksinler, radyasyon, hipoksi, oksidatif stres, iskemi/reperfüzyon, trofik faktörlerin kaybı ve DNA hasarı ile tetiklenen, nörodegeneratif hastalıkların anahtar mekanizmasıdır (Wyllie A. H, Kerr J. F ve ark., 1980). Kaspaz-3, yenidoğan ve yetişkin sinir sisteminde büyük bir hücre ölüm efektör proteazıdır (Le, Wu ve ark., 2002). *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar, DTM nörotoksisitesinin anahtar mekanizmasının, kaspazların indüklendiği ekspresyonunun aracılık ettiği apoptozu olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda DTM'ye maruziyetin ratların hipokampal nöronlarının hayatta kalma oranını önemli ölçüde etkilediğini ve apoptozu tetiklediğini ortaya koymuştur. DTM'nin, Na⁺ kanalları ile etkileşimi de apoptoza neden olarak ağırlı kalsiyum yüklenmesine ve ER stres yolunun aktivasyonuna yol açar (Khalatbary, Ghaffari ve ark., 2015).

2.5.4. Deltametrin'in Histomorfolojik Etkisi

Pretraitlerin oral yoldan uygulanmasının, hem doz hem de zamana ba lı olarak cerebral dokularında çe itli histomorfolojik de i ikliklere neden oldu u bildirilmi tir. Histolojik incelemede cerebral dokularda oligodendrositleri içeren iddetli gliozis ve nekrotik hücreler görülmü tür. Bu de i ikliklerin ço u astrositlerin, mikrogliaların ve oligodendrositlerin a ırı proliferasyonunu ve sinir sisteminde nöral iletimi bozabilecek gliozise sebep oldu unu gösterir (Igho OE ve IK., 2014). 3 ay boyunca oral gavaj ile DTM'ye maruz kalan ratların histolojik kesitlerinde hipokampüste cerebral nekroz ve piknozis görülürken hem hipokampüste hem de striatumda bu cerebral bölgelerin redüksiyonu ve denatürasyonu gözlenmi tir (Gasmi, Rouabhi ve ark., 2017).

2.5.5. Deltametrin'in Toksikite Mekanizması

Deltametrinin etki potansiyeli; uygulama yoluna, kullanılan çözücüye, DTM'ye maruz kalma süresine, miktarına ba lı olarak ilacın, antioksidan maddenin veya toksik maddenin emilimini ve kineti ini de i tirebilir. Deltametrine akut maruziyet, uygulama yolu ve çözücünden ba ımsız olarak, motor aktivitede fonksiyonel yetersizli e neden olur (Crofton, Kehn ve ark., 1995). DTM hipokampüsteki etkisini, hipokampal alt alanlarında (CA1-4) mitokondriyal membran permeabilitesini istatikselsel olarak anlamlı derecede arttırarak gösterir (Chen, Shi ve ark., 2006). DTM'nin, alfa-siyano grubu ile yüksek afiniteli glutamat alımında cerebral dokunun i levini bozabilece i öne sürülmü tür (Zhao X, Dai S ve ark., 1995). DTM nörotoksitesinin moleküler temeli, voltaj kapılı sodyum kanalları (VGSC), reseptör ile aktive olan iyon kanalları ve nörotransmitter salınımı üzerindeki etkilerine ba lıdır. DTM'nin nörotoksik etkileri için primer hedef bölgelerinin VGSC oldu unu gösteren çalı malar bulunmaktadır. DTM, VGSC'nin inaktivasyonunu sa lar, açık kalma süresini uzatır ve sodyum'un nöronlara giri ini hızlandırarak, depolarizasyon süresini uzatır. Bu etki, aksiyon potansiyeli blokajına ve nöral eksitabilitenin kaybına sebep olur (Meyer ve Shafer, 2006). Yapılan çalı malar, kalsiyum ve klorür kanalları gibi di er alternatif hedef bölgelerinin de DTM'nin nörotoksik etkileriyle ili kili olabilece ini öne sürmektedir. DTM, presinaptik sinir terminalinden Ca^{+2} ba ımlı nörotransmitter salınımını ve Ca^{+2} aracılı aksiyon potansiyelini arttırarak membran depolarizasyon süresini uzatır (Hossain, Suzuki ve ark., 2008). Bu durum -aminobutirik asit reseptörlerinin inhibisyonu ile tetiklenen a ırı kalsiyum yüklenmesinden kaynaklanmaktadır (Ogaly, Khalaf ve ark., 2015). Sinir

terminallerinden eksitatör ve inhibitör nörotransmitterlerin salınımını kolaylaştırmak için, nörotoksositeye özgü belirtilerle karakterize MSS'de postsinaptik nöronal aktiviteyi artırır veya azaltır (Hossain, Suzuki ve ark., 2008). DTM'nin özellikle hipokampal nöronlar gibi daha yüksek organizasyon seviyelerinde VGSC'den bağımsız bir mekanizma ile nörotransmitter salınımını denetlediğini bildiren çalışmalar da vardır (Meyer ve Shafer, 2006). Deltametrin'in kalsinörin fosfataz aktivitesini spesifik olarak inhibe ettiği ileri sürülmüştür. DTM uygulamasından sonra gyrus dentatus granüler hücrelerinde kalbindin düzeyi ve kalbindin ekspresyonundaki azalmayı gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (Grosse, Thiele ve ark., 2002). DTM'nin, hidrolitik ester bölünmesi ve CYP-450 enzimleri tarafından oksidatif yollarla serbest radikaller ürettiği bildirilmiştir (Dubey, 2012).

2.5.6. Deltametrin'in Patogenezi ve Klinik Etkisi

Deltametrin'in, spontan lokomotor aktiviteyi bunun yanı sıra agresif davranışı önemli ölçüde arttırdığı, labirent testlerinde öğrenmeyi belirgin bir şekilde azalttığı ve wistar albino ratlarda deltametrin maruziyetini takiben sinaptik fonksiyonlarda dejenerasyona sebep olabilecek önemli nörokimyasal, nöromorfolojik değişiklikler olduğu bildirilmiştir (Hossain, Suzuki ve ark., 2008; Husain, Husain ve ark., 1996). Deltametrine ağız maruziyet, hareketsizlik, koordinasyon kaybı, paraliz, agresif davranışlar, tremor, hiperaktivite, hipereksitabilite, konvülsiyon, hipersalivasyon, kontraksiyon ve kontrolsüz davranışlar ile karakterize ciddi problemlere neden olur (Gray, 1985; Vijverberg HP, 1990). Akut çalışmalarda salivasyon ve koreoatetoz gibi sendromlara neden olduğu görülmüştür (Martinez-Larranaga, Anadon ve ark., 2003). Deltametrine ağız maruz kalma ile ilişkili belirgin bir toksikolojik durum da deltametrin uygulayan kişilerde daha sık görülmek üzere tahrihe bağlı solunum semptomları ve yüzde kutanöz parestezi gibi durumlardır (Martinez-Larranaga, Anadon ve ark., 2003). Düşük dozlarda deltametrin'in etkisi, basit motor fonksiyonlardaki değişikliklerden kompleks işlevsel performans değişikliklerine kadar uzanmaktadır. Hem oral hem de intraperitoneal DTM uygulaması motor ve biyolojik aktivitenin azalmasına ve kısmen spontan nöbetlere neden olduğu bildirilmiştir (Gilbert, Acheson ve ark., 1990). DTM'ye oral maruziyet, memelilerde T sendromu (total vücut titremesi), hiperksitasyon, ataksi, konvülsiyon ve paralizi ile karakterize olan klinik toksisite belirtileri verir. Diğer taraftan hipersensitivite (ağız duyarlılık), hipersalivasyon, koreoatetoz, tremor ve paralizi ile karakterize CS sendromuna

(koreoatetoz ve salivasyon sendromu) veya Tip II sendromuna sebep olur. A ız yoluyla alındı ında, a ız ve yüz bölgesinde yanma, kısmi uyu ma, karıncalanma ile karakterize fasiyal parestezi'ye sebep olabilir (Doi, Kikuchi ve ark., 2006). Ayrıca deltametrim'in, belirgin hiperglisemi ile karakterize adrenomedüller sistemle ba lantılı bir yanıtı indükledi i gösterilmiştir. Bu sendrom da artmış plazma norepinefrin konsantrasyonları ile adrenal medulla tutulumunu dü ündürmektedir. Dü ük doz DTM'nin nörotoksik yapısı otonomik ve nöroendokrin yanıtlarla yüksek stres seviyelerine neden olur (Habr, Macrini ve ark., 2014). DTM gibi Tip II pretroitler hipotermiye de sebep olabilir (Ricci E.L, Ferreira V ve ark., 2013).

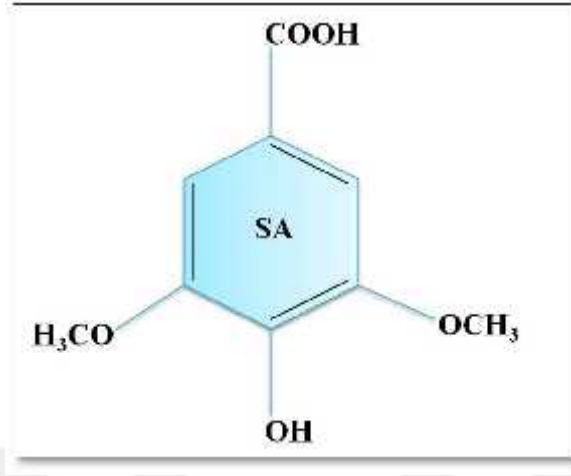
2.6. Sirinjik Asit

Son yıllarda, biyolojik sistemlerdeki ekzojen antioksidanların etki mekanizmaları ve koruyucu özellikleri çok fazla araştırılmaktadır. Bitkilerde fenolik bile iklere olan bilimsel ilginin sebebi anti-inflamatuar, antimitojenik ve antikanserojenik özelliklerinden dolayıdır. Doğal olarak birçok bitkide bulunan flavonoidler ve polifenollerin antioksidan aktivite, antiinflamatuvar ve immünomodülatör etkiye sahip olmakla birlikte hücrel hasarın ve oksidatif stresin neden olduğu ROS'u azalttığı bilinmektedir. Fenolik bile iklere, esas olarak indirgeyici ajanlar, hidrojen donörleri, serbest radikal inhibisyonu ve metal elatörleri olarak hareket etmelerine izin veren redoks özelliklerine ba lı olarak antioksidan aktiviteye sahip olduğu için çe itli nörodejeneratif hastalıkların oluşmasını engeller (Simonyi, Wang ve ark., 2005). Üzüm ve araplar çok yüksek konsantrasyonlarda antioksidan özelli i olan fenolik bile iklere ve flavonoidler içermektedir (Jayaprakasha, Singh ve ark., 2001). Polifenolik bir bile ik olan benzoik asit türevli sirinjik asit (SA-4-hidroksi-3,5-dimetoksibenzoik asit) üzerinde yapılan çalış malar, antioksidan (Memon AA, Luthria D ve ark., 2010) antikanserojen, kemoprotektif (Hudson EA, Dinh PA ve ark., 2000) ve antimikrobiyal (Cho, Moon ve ark., 1998) aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir.

2.6.1. Sirinjik Asidin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri

Sirinjik asit (SA), moleküler formülü: $C_9H_{10}O_5$, moleküler a ırlı ı (Mw): 198.17 g/mol, erime derecesi: 206-209°C, kaynama noktası: 379.5°C, pKa: 4.34 (25°C) ve suda çözünürlü ü: 25°C'de 5.78 mg/ml (5780 mg/L) olan 4-hidroksi-3,5-dimetoksibenzoik asittir. Geleneksel Çin tıbbında kullanılan potansiyel bir antioksidandır (Cikman, Soylemez ve ark., 2015; Pari ve Mohamed Jalaludeen, 2011;

Thipparaboina, 2016),(Nouhigh, Cherif ve ark., 2008). SA gibi doğal olarak meydana gelen biflavonoidler, C-C veya C-O-C kovalent bağı ile birbirine bağlanmış flavonoidlerin bir dimerini içerir (ekil 2. 9).



ekil 2.9. Sirinjik Asit (SA)'in kimyasal formülü

2.6.2. Sirinjik Asit İçeren Bitkiler ve Besin Maddeleri

Isatis indigotica (Radix isatidis) (Cikman, Soylemez ve ark., 2015), *Capparis spinosa* L.(Turgut, Kara ve ark., 2015), *Herba dendrobii* (Wei X, Chen D ve ark., 2012,), *Medicago rigidula* (Farag MA, Hufman D ve ark., 2007), *Ardisia elliptica*, Açaı palm (*Euterpe oleracea*) (Pacheco-Palencia, Mertens-Talcott ve ark., 2008) gibi bitkilerde bulunur. Ayrıca meyve ve alkollü içeceklerde bulunan antosiyanin ve diğer polifenollerin mikrobiyal metabolizmasının bir ürünüdür (Pacheco-Palencia, Mertens-Talcott ve ark., 2008) (Cotoras, Vivanco ve ark., 2014). Hint ayurveda yönteminde kullanılan *Alpinia calcarata* Roscoe'nin yapraklarından izole edilmiş aktif bir fenolik bileşiktir (Nadeem S, 2011). Türkiye'de üretilen zeytin yağlarının içeriğinde fenolik bileşiklerinin tespiti üzerine yapılan bir çalışmada, SA'nın belirlenen miktarı 0.49–1.46 mg/kg arasında olduğu bildirilmiştir (Nergiz ve Unal, 1991). Malvidin'in parçalanma ürünü olarak oluşur (Rekha KG, Selvakumar GP ve ark., 2014). Üzümden yapılmış eski Mısır içeceği olan 'shedah'te de bulunur (Galvez, Barroso ve ark., 1994). Aynı zamanda Afrika'nın birçok yerinde bulunan Myrtaceae familyasından yapraklı bir orman ağacı olan *Syzygium guineense*'den elde edilen tüm ekstratlarda (HPLC'de) sirinjik asit tespit edilmiştir. İçeriğinde sirinjik asit bulunan *I. indigotica*'nın kökleri Çin tıbbında kullanılmaktadır. *Lentinula edodes* (Shiitake mantarı) miçelyumunda da bulunmaktadır (Tanaka, Kawaguchi ve ark., 2017). Zeytin, ceviz gibi bitkilerde

bulunan bir fenolik asit olan SA'nın insan sağlığı üzerinde çeşitli yararlı etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Arumugam, Balagangadharan ve ark., 2018).

2.6.3. Sirinjik Asit'in Koruyucu Etkileri

Sirinjik asit, antiproliferatif (Orabi, Abaza ve ark., 2013; Wei X, Chen ve ark., 2012), antiendotoksik, antimikrobiyal, anti-inflamatuar, antikanserojen (Abaza, Afzal ve ark., 2011; Bogert, 2013; Uyama, 2001; Wei X, Chen ve ark., 2012) gibi multifarmakolojik özellikler sergiler. Çeşitli hayvan modellerinde anti-anjiogenik, antidiyabetik (Nadeem S, 2011), anti-hiperglisemik, nöroprotektif ve hafıza artırıcı (Thipparaboina, 2016) özellikleri gösterilmiştir (Thipparaboina, Mittapalli ve ark., 2016). (Guimaraes, Gao ve ark., 2007; Kumar, Prahalathan ve ark., 2012; Thipparaboina R, 2016). Yapılan çalışmalarda SA'nın, lipid peroksidasyonunu önleyerek, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan aktivitesini geri kazandırarak organoprotektif etki gösterdiği bildirilmiştir (Tanaka, Kawaguchi ve ark., 2017). Güçlü bir antioksidan olan SA'nın antihipertansif ve hepatoprotektif etkileri de bildirilmiştir (Arumugam, Balagangadharan ve ark., 2018). C. spinose ile yapılan bir çalışmada ekstratlarda SA tespit edilmiş ve östrogen disfonksiyonlarını zayıflatarak, hafızayı güçlendirdiği ve oksidatif stresi anlamlı olarak azaltırken, antioksidan aktiviteyi artırdığı bildirilmiştir (Turgut, Kara ve ark., 2015). Sirinjik asit içeren fenolik özütlerin *in vitro* olarak α -amilaz ve β -glukosidaz aktivitelerini inhibe ederek, kompleks karbonhidratları monosakkaritlere ayırıp kan şekerini daha istikrarlı hale getirdiği belirtilmiştir (Pyo YH, 2004). Araştırmalar SA'nın yüksek antioksidan aktivitesinin düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonunun inhibisyonu ile ilişkili olduğunu ve bu nedenle SA'nın LDL oksidasyonuna karşı olumlu bir rol oynayabileceğini (Yildirim H K, Akçay Y D ve ark., 2004) ve aynı zamanda lipid peroksidasyonunu azalttığını gösteren çalışmalar vardır (Kalkan Yildirim, Delen Akçay ve ark., 2004; Oboh, Isaac ve ark., 2014). Rekha ve ark. MPTP/p ile indüklenen farelerde beş hafta boyunca 20 mg/kg'lık bir dozda pre-oral SA tedavisi ile antioksidan enzim seviyesinde bir artış olduğunu bildirmişlerdir (Rekha KG, Selvakumar GP ve ark., 2014). Jeong ve ark. SA'nın oral gavaj yoluyla 10 mg/kg verildiği amiloid ile indüklenen nörotoksik farelerde östrogen ve hafıza bozukluğunun kısmi olarak gerilediğini bildirmişlerdir (Thipparaboina, Mittapalli ve ark., 2016). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda SA antihiperglisemik (Srinivasan S, Muthukumaran J ve ark.,

2014), nöroprotektif (Rekha KG, Selvakumar GP ve ark., 2014) ve antidepresan etkileri ile ön plana çıkmaktadır (Dalmagro, Camargo ve ark., 2017).

2.6.4. Sirinjik Asit'in Etki Mekanizması

Yapılan çalı malarda antioksidan potansiyelinin ekstraksiyon çözücüsüne, kullanılan yöntemine, dozajına ve homojenle tirmeye göre de i ti inden bahsedilmi tir (Tankeu FN, Pieme CA ve ark., 2016). SA'nın oksidatif stres marker düzeylerini azaltarak antioksidan kapasitesini arttırdı ını gösteren (Cikman, Soylemez ve ark., 2015) ve SA ile yapılan ön tedavinin, doza ba ımlı bir ekilde, hipokampal nöronal hücrelerde oksidatif stresi azalttı ını bildiren çalı malar yapılmı tır (Cao, Zhang ve ark., 2016). Morton ve ark. (Morton, Croft ve ark., 2000) SA'nın dü ük yo unluklu lipoprotein oksidasyonu için serbest radikallerin güçlü bir inhibitörü oldu unu, malonil-dialdehid (MDA) üretimini azalttı ı bildirilmi tir. Ratlarda SA'nın nöroprotektif etkisinin de erlendirildi i akut bir çalı mada oksidatif stres, nörodejenerasyon, MDA ve kaspaz-3 düzeylerinin azaldı ı ve SOD düzeylerinin arttı ı bildirilmi tir (Guyen, Aras ve ark., 2015). Antioksidan aktiviteyi arttırarak ROS'un inhibisyonuna, hücrel lipidlerin, proteinlerin ve DNA'nın oksidatif hasarına kar ı direnç sa lamaktadır. SA verilen ratlarda enzimatik antioksidanların artan aktivitesinin sebebi SA'nın serbest radikal inhibisyon yetene ine ba ılı, süperoksit anyonu ve hidroksil radikallerinin yol açtı ı patofizyolojik de i ikliklerine kar ı yararlı bir etki göstermesidir. SA ile yapılan tedavi, enzimatik olmayan antioksidanların seviyelerini de önemli ölçüde arttırdı ı için, lipit peroksidasyonunun neden oldu u serbest radikal ile olu an oksidatif strese kar ı potansiyel olarak yarar sa layabilece ini dü ündürmektedir (Kumar, Prahalathan ve ark., 2012).

2.7. Serbest Radikaller ve Antioksidan Mekanizma

Önemli biyolojik rolleri olan serbest radikaller, çe itli fizyolojik mekanizmalarla üretilirler. Patojenik mikroorganizmalar, kanser hücreleri gibi zararlı moleküllere kar ı savunma mekanizmaları ve detoksifikasyon olu tururlar (Knock ve Ward, 2011; Saeed, Khan ve ark., 2012; Verbon, Post ve ark., 2012). Serbest radikaller olu tu unda hücreler, hasarı önlemek için bazı fizyolojik savunma mekanizmalarına ba lar. Stres altındaki bu hücrelerin, serbest radikalleri temizleyen enzimlerin üretimini arttırdı ı bildirilmi tir (Tuzmen, Candan ve ark., 2007). **Reaktif oksijen türleri (ROS);** antioksidan ve prooksidan maddeler arasındaki dengenin bozuldu u durumlarda sinyal

iletim yollarının stimülasyonu, hücre siklusu regülasyonu, enzim aktivasyonu ve protein modifikasyonuna ayrıca oksidatif strese neden olur (Jacob-Ferreira ve Schulz, 2013; Lo Conte ve Carroll, 2013). Oksidatif stres, serbest radikallerin ve reaktif oksijen türleri (ROS) ile antioksidanlar arasında bir dengesizlik olan fizyolojik durumu ifade eder (Areti, Yerra ve ark., 2014; Durackova, 2010; Sosa, Moline ve ark., 2013). Bu duruma antioksidanın sentezinde yer alan bir protein veya antioksidan enzim proteinini kodlayan bir genin defekti neden olmu olabilir. Bununla birlikte, a ırı ROS birikimi, DNA, proteinler ve lipid membranlara verilen hasar gibi hücrel hasara yol açmaktadır. ROS'un neden oldu u hücrel hasar çe itli nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalık durumunun geli mesinde rol oynar. Oksidatif stres, protein yapısının de i mesi ve dolayısıyla hayati fonksiyonların kaybına sebep olabilir. Normal fizyolojik ko ullar altında, hücrel ROS üretimi, hücrel antioksidan enzimlerin, makro veya mikro moleküllerin yanı sıra di er redoks moleküllerinin etkisi ile dengelenir. Antioksidanlar ayrıca ROS'u metabolize etmek için hem hidrofilik hem de lipofilik molekülleri içerir. Bunlar farklı dokular veya hücreler içinde geçici olarak lokalize olabilir. Potansiyel zararlı etkileri nedeniyle, a ırı ROS bu tür antioksidan savunma mekanizmaları ile hücrelerden nötralize edilebilmektedir (Tankeu FN, Pieme CA ve ark., 2016). Ço u nörodejeneratif hastalık türünde reaktif oksijen türleri (ROS) tarafından tetiklenen kontrolsüz oksidatif süreçlerin rolü vurgulanmaktadır (Gasmi, Rouabhi ve ark., 2017).

Biyolojik sıvıların, hücrelerin ve ekstraktların antioksidan kapasitesinin de erlendirilmesi önemlidir. Bu nedenle ROS kaynaklı oksidatif stres ürünlerinin biyolojik etkilerini izlemek için total antioksidan seviyesi yaygın olarak kullanılır. Antioksidanlar genellikle bir hidrojen atomu transferi (HAT) veya tek elektron transferi (SET) mekanizması yoluyla radikalleri nötralize eder. SET analizleri, bir antioksidanın, serbest radikaller, karboniller ve metaller gibi herhangi bir bile i i azaltmak için bir elektronu transfer etme yetene ini ölçmektedir (Allard, Aghdassi ve ark., 1998; Cerutti ve Trump, 1991; Trachootham, Lu ve ark., 2008; Van Zoeren-Grobbe, Lindeman ve ark., 1997).

Nöral hücreler, serbest oksijen radikallerinin istenmeyen etkilerinden korunmak için çok sayıda enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlara sahiptir. Aynı zamanda serbest oksijen radikallerinin parçalanması için mitokondriler, nöral hücrelerin metabolik

aktivitesinin önemli düzenleyicileridir. Çevresel uyaranlar ve birçok farklı sinyaller aracılığıyla hücrel oksidatif strese yanıt olarak mitokondriyal biyogenezis aktivasyonu sağlanır (Tokmak, Yuksel ve ark., 2015). Reaktif oksijen ve nitrojen türleri oksidatif stresin zararlı etkilerinden sorumlu moleküllerdir. Oksidatif stresin artması ile serbest radikallerin bir araya gelmesi birçok nörodejeneratif hastalığın patogeneğinde rol oynar. Serbest radikaller ve diğer reaktif türler *in vivo* olarak sürekli olarak üretilir ve biyomoleküllerde oksidatif hasara neden olur. Bu süreç çoklu antioksidan sistemleri ile kontrol edilir ve hasarlı nükleik asitlerin, proteinlerin ve lipitlerin onarılmasında etkilidir. Antioksidan tedavilerin ve ROS/RNS aktivitesinin etkisini ölçmek için oksidatif stres indükleyicilerini baskılamak çok önemlidir. Antioksidan enzim savunma mekanizmasının uyarılmasının stresin büyüklüğüne bağlı olarak olabileceği bildirilmiştir (Tuzmen, Candan ve ark., 2007).

2.8. Glutamat ve Glutamin Ekspresyonu

2.8.1. Glutamat Ekspresyonu

MSS'de bulunan en yaygın eksitator (uyarıcı) nörotransmitter olan glutamat 1866 yılında Alman biyokimyager Karl Heinrich Ritthausen (1826-1912) tarafından keşfedilmiştir. Cerebrumdaki sinaptik bağlantıların %90'ından fazlasında eksitator fonksiyonunda görevlidir. Esansiyel olmayan, hayvan fizyolojisi ve metabolizmasında önemli bir bileşen olan ve birçok yiyecekte bulunan 20 aminoasitten biridir. Öğrenme ve hafıza gibi kognitif süreçlerde büyük rol oynamaktadır. Önemli bir hücre içi antioksidan olan glutatyonun prekürsörüdür (Caballero-Solares, Viegas ve ark., 2015). Aynı zamanda sindirimi düzenleyen bir sinyal molekülüdür. Glutamat iki yoldan sentezlenir. Birinci yol glutaminaz enzimi yardımıyla glutaminden sentezlenmesi, ikinci yol ise glutamat dehidrogenaz, glutamat oksalatransaminaz enzimleri yardımıyla α -ketoglutarattan (sitrik asit siklusu'nun bir parçası olarak üretilen α -ketoglutarik asit) transaminasyon yoluyla sentezlenir. Glutamat, kan-beyin bariyerini desteksiz bir şekilde geçemez fakat yüksek afiniteli bir taşıma sistemi ile sinir sistemine aktif olarak geçer (Smith, 2000). Glutamat'ın biyokimyasal reseptörleri ikiye ayrılır. Direkt olarak iyon kanallarını kontrol eden reseptörlerine iyonotropik reseptörler denilir. Bunlar NMDA (N-metil-D-aspartik-asit), AMPA (alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolpropionik asit), kainik asit (kainat) reseptörleridir. Bu reseptörlerin aktivite stimülasyonu ve bozulması glutamat homeostazisi nörodejeneratif hastalıkların gelişimi ve oluşumunda önemli rol oynar (Quincozes-Santos, Bobermin

ve ark., 2014). İkinci haberciler üzerinden iyon kanallarını dolaylı olarak kontrol eden reseptörlere ise metabotropik reseptörler denilir. Hedef hücreleri üzerinde yavaş ve kalıcı etkiler oluşturmak için ikinci haberci sistemini kullanırlar. Örneğin, öğrenme, hafıza, uyarıcı iletim ve eksitotoksisite (akut uyarılma tepkisi) gibi işlevleri vardır. Yapılan çalışmalar, öğrenme ve hafızanın nörokimyasal temelini oluşturan bir fenomen olan hipokampal uzun süreli potansiyasyonunun (LTP) indüksiyonunda glutamat'ın önemli bir rol oynadığını ve LTP sırasında hipokampüste glutamat salınımının anlamlı olarak arttığını bildirmiştir (Hossain, Suzuki ve ark., 2008).

Glutamat'ın Hücresel Etkileri ve Etki Mekanizması

Glutamat, hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak reseptörlerin aktivasyonunu sağlar. AMPA ve kainat reseptörleri sodyum ve potasyum için membran permeabilitesini artırırken, NMDA reseptörleri de kalsiyum için aynı işlevi yapar. Bu iyonotropik reseptörler aktive edildiğinde iyonların geçmesine izin veren membran kanallarını açarak etkilerini göstermektedirler. Metabotropik reseptörler G protein-ili kili reseptörler olduğu için etkilerini ikinci haberci sistem üzerinden gösterirler. Glutamat kimyasal sinapslarda veziküllerde depolanmaktadır. Uyarılar pre-sinaptik nörondan glutamat salınımını tetikler. Postsinaptik nöronda bulunan glutamat reseptörleri aktive olur ve sinaptik aralıktaki glutamat taşıyıcıları aracılığıyla temizlenir. Glutamat taşıyıcıları ekstrasellüler glutamata (hücre dışı glutamata dengede tutmak için) hızla sinaptik aralıktan reabsorbe eder. Glial hücrelerde glutamat taşıyıcıları, glutamatın sinaptik aralıktan reabsorbsiyonunda önemli bir rol oynar ve glutamat taşıyıcılarının bastırılması, sinaptik aralıkta glutamat konsantrasyonunu artırır. Glutamatın reabsorbsiyonu, hücre içi metabolizmaya da bağlıdır, bununla birlikte hücre içi glutamatın artması, glutamat taşıyıcıları ile sinaptik aralıktan reabsorpsiyonu baskılayabilir. Bazı nörotoksikolojik hasarlarda (serbest oksijen radikalleri gibi) taşıyıcıların işlevi mekanizmasındaki bir aksaklıktan dolayı ekstrasellüler glutamat stimülasyonu görülmektedir. Glutamat aktivasyonu intrasellüler Ca^{+2} yüklenmesine sebep olarak hücre hasarı yaratmaktadır ve bu durum glutamat eksitotoksitesisi olarak adlandırılmaktadır. Glutamat aktivasyonu NMDA tipi glutamat reseptörlerinin akut aktivasyonunu indükleyebilir ve nöronlara Ca^{+2} alımını artırabilir. Hücre içine akut Ca^{+2} alımı, hücrelere zarar veren reaktif oksijen/nitrojen türlerinin (ROS/RNS) oluşumuna sebep olabilmektedir (Murphy, 1999; Dong, Wang ve ark., 2009; Zhang, Miao ve ark., 2011; Duchon, 2012; Quincozes-Santos, Bobermin ve ark., 2014).

Glutamat eksitotoksitesisi, $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPaz}$ ve glutamin sentetaz (GS) aktivitesine neden olabilir (Quincozes-Santos, Bobermin ve ark., 2014). Glutamin sentetaz (GS), glutamat metabolizmasında kritik bir rol oynar. Ayrıca glutamin sentezini katalize ederek hücre içi glutamati azaltır. Sonuç olarak glutamat reabsorpsiyonunu ve glutamat eksitotoksitesisini etkiler (Zhang, Miao ve ark., 2011). Ca^{+2} konsantrasyonu, farklı mitokondriyal fonksiyonları düzenleyerek kontrol edilemez şekilde arttıkça, hücre içi yüksek Ca^{+2} konsantrasyonu, mitokondriye zarar verebilir. Ca^{+2} konsantrasyonu hücre içi nitrik oksit (NO) konsantrasyonunu artırır. Ayrı NO molekülleri serbest radikaller oluşur ve böylece hücrenin oksidatif stresini artırır. Glutamat ve Ca^{+2} , pro-apoptotik genler için transkripsiyon faktörlerinin desteklenmesine, anti-apoptotik genler için ise transkripsiyon faktörlerinin downregülasyonuna aracılık eder. Böylece artan Glutamat/ Ca^{+2} konsantrasyonunun net etkisi hücre apoptozudur. Primer olarak nöral membranlarda bulunan sinaptik reseptörlerin bazı nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde rol aldıkları düşünülmektedir (Dong, Wang ve ark., 2009; Duchen, 2012; Murphy, 1999). Ayrıca yüksek glutamat konsantrasyonları, lipid, protein ve DNA oksidasyonuna yol açabilen ve hücre hasara sebep olabilen oksidatif ve nitrosatif stresi indükler (Quincozes-Santos, Bobermin ve ark., 2014).

2.8.2. Glutamin Ekspresyonu

Glutamat-glutamin döngüsü hipokampüste önemli bir seviye sahiptir. Glutamin kan-beyin bariyerini geçebilen, BOS'ta yüksek oranda bulunan ve proteinlerin biyosentezinde kullanılan bir α -amino asittir. Glutamin sentetaz ile glutamat'tan sentezlenir ve glutaminaz ile glutamat haline dönüşür. L-glutamin ve D-glutamin olarak iki formda bulunabilir. L-glutamin doğada bulunan ekliptir. Glutamin, biyolojik koşullar altında protonlanmış $-\text{NH}^{3+}$ formunda α -amino grubu ve fizyolojik koşullar altında karboksilat olarak da bilinen deprotonlanmış $-\text{COO}^-$ formunda karboksilik asit grubu içerir. Yeterli miktarda sentezlenmesine rağmen bazı durumlarda vücudun glutamin'e olan ihtiyacı artar. Böyle durumlarda diyet ek olarak diyetten glutamin alınmalıdır. Glutamin sentezi asit-baz dengesinin düzenlenmesinde, proteinlerin sentezi ve degradasyonunda önemli rol oynar (Caballero-Solares, Viegas ve ark., 2015). Glikozun yanında ek bir hücre enerji kaynağı olarak kullanılır. Ayrıca pürin ve pirimidin nükleotidlerinin öncüsü olarak hücre proliferasyonu için gereklidir (Caballero-Solares, Viegas ve ark., 2015).

Glutamin, redoks potansiyeli, hücre dışı matriks sentezi, hücre içi sinyal yollarının aktivasyonu, immun sistemin regülasyonu ve strese karşı adaptasyon mekanizmasının geliştirilmesi gibi fonksiyonlara sahiptir. Glutamat-glutamin döngüsünde taşıyıcılar tarafından alınan glutamat, nöronlara geri alınmadan önce glutamin sentetaz (GS) ve ATP tarafından glutamine dönüştürülür. Glutamin, döngüyü tamamlamak için glutamata dönüştürüldüğü nöronlara girer. Glutamat ve glutamin regülasyonu, glikozun oksidatif metabolizmasına da yakından bağlıdır. Düşük glutamin-glutamat oranı, glutamatın hem glutamat transportunda hem de GS'deki disfonksiyonun bir sonucu olarak glutamatın yeterince glutamine dönüştürülmediğini göstermektedir. Emilimden sonra glial hücrelerde glutamat, GS tarafından glutamin haline dönüştürülür. Bu nedenle, normal ekstraselüler glutamat konsantrasyonlarının korunması, glutamat taşıyıcısının yanı sıra GS'nin aktivitesine de bağlıdır. Benzer şekilde GS, hücre dışı glutamat konsantrasyonunun korunmasında ve oksidatif hasarın en aza indirilmesinde önemli bir rol oynar. Artmış intraselüler glutamat konsantrasyonu ve glial hücrelerin glutamat reabsorpsiyon yetersizliği, hücre eksitabilitesinin artmasına ve glutamat eksitotoksitesine yol açabilir (Newsholme, Lima ve ark., 2003; Zhang, Miao ve ark., 2011).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deney Grupları

Deneylerde a ırlıkları 250-270 gr. olan 64 adet *Rattus norvegicus* Wistar albino cinsi eri kin erkek rat kullanılmı tır. Ratlar deney süresince 12 saat ı ık (7.⁰⁰-19.⁰⁰)/karanlık siklus (19.⁰⁰-7.⁰⁰), gıda ve su *ad libitum*, ortam sıcaklı ı 21 ± 2 °C ve nem oranı % 60 ± 10 olan odalarda yer almı tır. Denekler polikarbon effaf kafeslerde ve her kafese 4 sıçan dü ecek ekilde yerle tirilmi tir. Deney gruplarına mısır özü ya ı (CO, 1lt, Sırma, stanbul, Türkiye), deltametrin (DTM) (Decis® 2.5 EC, Bayer AG, Leverkusen, Germany) ve sirinjik asit (SA) (Syringic acid 98%, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, California, Kat: 530-57-4) uygulaması her gün 12⁰⁰-13³⁰ arasında yapılmı tır. Tüm i lemler Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun onayı alındıktan sonra uygulanmı tır (Protokol no: 2017.01.05 Karar no: 04.01.2017 Sayı: B.30.2.AKD.0.05.07.00/5).

- **Cins ve Tür:** DTM'nin uzun süreli ya da kronik etkisinin de erlendirildi i çalı malarda daha çok Wistar albino cinsi erkek ratlar (Guo, Sun ve ark., 2008; Huang, Qing ve ark., 2010; Husain, Adhami ve ark., 1996; Li, Shi ve ark., 2005; Li HY, 2006; Sharma, 2015) çalı ılmı tır. Sadece birkaç çalı mada akut DTM maruziyetinde Sprague-Dawley ve Druckerey türü ratlar kullanılmı tır (Khalatbary, Ghaffari ve ark., 2015; Wu ve Liu, 1999; Wu ve Liu, 2000). Kronik DTM maruziyetiyle oksidatif hasar olu turdu umuz deneysel modelimizde literatürle uyumluluk göstermesi için **Wistar albino Rattus Norvegicus** türü ratlar ile çalı ılmı tır.
- **Cinsiyet:** Deltametrin (DTM) ile yapılan çalı mlarda farklı cinsiyetler üzerinde çalı ılmı tır (Afoke I. K. , 2014). Fakat toksik etkisinin de erlendirildi i çalı malarda cinsiyet açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmemi tir (Tuzmen, Candan ve ark., 2007). Yapılan çalı malarda daha çok erkek rat kullanıldı ı için ve literatürle uyumluluk göstermesi açısından **erkek** ratlar ile çalı ılmı tır.
- **A ırlık:** Yapılan çalı malarda rat a ırlıkları 200-270 gr. arasında seçilmi tir (Afoke I. K. , 2014; Aydın, Yıldız ve ark., 2015). Yapılan çalı malarla uyumluluk göstermesi ve istatistiksel anlamlılık açısından a ırlıkları **250-270 gr.** arasında olan ratlarla çalı ılmı tır.

- **Ya :** Literatürde ya a ba lı toksisitesini incelemek için DTM'nin farklı dozlarına maruz bırakılan, farklı ya gruplarındaki erkek ratların total beyin dokusunda ölçümler yapılmı tır. Genç ratların yeti kinlerden doza ba lı olarak daha duyarlı olduklarını bulmu lardır (Sheets, Doherty ve ark., 1994). Özellikle nörogenez döneminde geli en hayvanların DTM ile indüklenen toksisiteye kar ı daha duyarlı oldu unu gösteren çalı malar vardır (Aziz, Agrawal ve ark., 2001). Bu nedenle **eri kin** rat kullanılmı tır.
- **Dozaj:** Pretreoitlerin toksisite verileri oldukça de i kendir. Deltametrin için LD50 (Lethal Doz, DTM uygulanan hayvanların yüzde 50'sinde ölümlerle sonuçlanan doz, LD50 genel olarak kilogram (kg) vücut a rlı ı ba na miligram (mg) cinsinden doz olarak ifade edilir.) de eri (128 mg/kg), mısır ya ı ile uygulanmasına dayanır ve toksisitesi sulu çözeltilerdekinden daha dü üktür (Tayebati, Di Tullio ve ark., 2009). DTM'nin oral LD50 de eri Dünya Sa lık Örgütü (WHO, 1996) verilerine göre 135 mg/kg'dır (Hossain, Suzuki ve ark., 2008). Bu veriler dikkate alınarak sıçanlarda oksidatif stres meydana getiren en az DTM dozu olarak (1/100 LD50) 1.28-1.35 mg/kg seçilmi tir.
- **Çözücü:** Mısır ya ında deltametrin oral gavaj ile uygulandı ında, intraperitoneal (IP) yola göre etkinli i daha fazladır. Uygulanan doz hedef doku konsantrasyonlarına kar ı net bir ekilde farklıla masına izin verir ve deltametrin gücündeki alım ve da ılım kineti inin rolünün belirlenmesine yardımcı olur (Crofton, Kehn ve ark., 1995). Bu nedenle çözücü olarak mısır ya ı seçilmi tir.

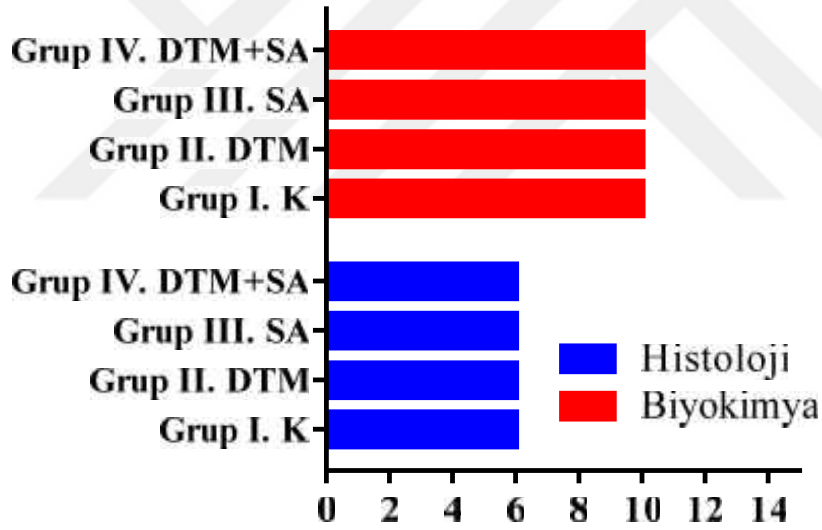
3.2. Grupların Olu turulması ve Uygulamalar

Grup sayısının 16 olarak seçilmesinin sebebi istatistiksel anlamlılık için gerekli olan en az sayıda hayvan ile çalı ılması için ve grupların farklı yöntemler için (biyokimya, histoloji) alt deney grupları olu turmayı gerektirdi indendir (Tablo 3.1). Sakrifikasyon a masında %10'luk formalinli PBS ile fikse edilen grup (n=6), immunohistokimya incelemesi için transkardial perfüzyon i lemine tabi tutulmu tur ve total beyin dokuları alınmı tır. Sakrifikasyon a masında SF (serum fizyolojik, biofleks % 0.9 izotonik sodyum klorür solüsyonu, Abdi brahim, stanbul, Türkiye) ile fikse edilen grup (n=10) ise biyokimyasal analizler için transkardial perfüzyon ile hipokampusleri alınan gruptur. Bu nedenle her grupta 16 olan denek sayısı histoloji için 6, biyokimya

deneyleri için 10 olarak ayrılmıştır (ekil 3.1). Deneylere başlamadan 3 gün önce ratlar (n=64) ortama adaptasyonu için deney hayvanları laboratuvarına alınmıştır. Grupların kendi içerisinde homojen olmasına, gruplardaki rat a ırlıklarının yaklaşık aynı de erde olmasına ve her kafeste (4 kafes) e it sayıda (n=4) hayvan olacak ekilde aynı fizyolojik ve biyolojik özelliklere sahip ratlar gruplandırılmıştır. Çalışma mada oksidatif ve toksik etki yaratan DTM kullanıldı ı için (toksikoloji) hayvan sayısı az tutulmuştur. Çalışmamız a a ıda belirtilen 4 grup üzerinde gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.1)

Tablo 3.1. Deney grupları ve gruplardaki hayvan sayıları

Deney Grupları	Histoloji	Biyokimya
Grup I. Kontrol (K)	6	10
Grup II. Deltametrin (DTM)	6	10
Grup III. Deltametrin + Sirinjik Asit (DTM+SA)	6	10
Grup IV. Sirinjik Asit (SA)	6	10
Total	24	40



ekil 3.1. Grupların histoloji ve biyokimya deneylerine dağılımı

3.2.1. Deney Gruplarının A ırlık Ölçümü

Toplam 8 hafta boyunca haftada 1 kez hayvanlar tartılarak, her grup için a ırlık de i imi hesaplanmıştır ve gruplar arasında karşılaştırılmıştır. Deney gruplarının ortalama a ırlıkları grubun kendi içerisinde (One Way Anova) ve gruplar arasında (Tukey) karşılaştırılarak istatistiksel analizi yapılmıştır. Grup ortalamalarının (Ort. \pm SD) karşılaştırılması, a ırlık de i imi, toplam artı /azalış miktarı tablolar halinde gösterilmiştir (ekil 4.1, Tablo 4.1).

3.2.2. Kontrol Grubu (Grup I)

Kontrol (K) grubundaki ratlara (n=16) mısır özü ya ı 0.5 ml oral gavaj yoluyla iki ay boyunca her gün saat 12⁰⁰-13³⁰ arasında verilmi tir. DTM ile yapılan çalı malarda kontrol gruplarına özündü ü madde verildi i için mısır ya ı verilmi tir. Sakrifikasyon i leminden yakla ık 40 gün önce ö renme deneyleri ba latılmı , ö renme testlerinden 1 hafta önce de her bir rat için 5 dakika handling i lemi uygulanmı tir ve kafeslere çikolata konularak çikolataya alı tırma i lemine ba lanmı tir. 8.gün ö renme deneylerinin habitiasyon (radial arm maze düzene ine alı tırma, kollardan ve kaplardan çikolata yemeye alı tırma) a masına geçilmi tir. 15.gün ö renme deneylerine ba lanmı ve gruptaki her bir sıçan için 7 dakika, 2 tur olacak ekilde 10 gün süreyle uygulanmı tir. Ö renme deneyleri gruptaki her rat için her gün aynı saatte (17.³⁰-19.³⁰), aynı deney ortamında, aynı ko ullarda (ses, ıklandırma, havalandırma, perdelerin konumu) aynı ki i tarafından yapılmı tir. Deney saati olarak 17.³⁰ seçilme sebebi laboratuvar uygunlu u, ortamın sessizli i ve ratların nokturnal (gece aktif) hayvanlar olmasındandır. Ö renme deneyleri yapılmadan önce ratlar'ın ta ndıkları yere adaptasyonu için yarım saat önce ratlar deney ortamına getirilmi tir. Sakrifikasyon i lemlerinden 1 gün önce Open Field (OF, açık alan) testi gruptaki her bir rat için 5'er dakika uygulanmı tir.

3.2.3. Deltametrin Grubu (Grup II)

Deltametrin (DTM) grubundaki ratlara (n=16) 0.5 ml mısır özü ya ı (1lt, Sırma, stanbul, Türkiye) ve DTM (Decis® 2.5 EC, Bayer AG, Leverkusen, Germany) 1.28-1.35 mg/kg bw (body weight, vücut a ırlı ı) dozda verilmi tir. DTM, iki ay boyunca her gün aynı saatte 12⁰⁰-13³⁰ arasında oral gavaj yoluyla verilmi tir. Tartım ve ö renme deneyleri için DTM grubu içinde aynı prosedür izlenmi tir. DTM grubundaki ratlara oral gavaj yoluyla madde verildikten hemen sonra ve iki aylık gavaj i lemi boyunca ratlarda e itli davranı sal de i iklikler gözlenmi tir. Bunlar a a ıda özetlenmi tir.

Kronik DTM verilen grupta gözlenen de i imler:

- Salivasyon (hipersalivasyon)
- Gömme davranı ı (anksiyete)
- Hareketsizlik, uyku
- DTM uygulaması sonrası artan hiperaktivite

- Ataksi
- Koordinasyon kaybı
- Hipereksitabilite
- Konvülsiyonlar
- Agresif davranı
- Motor aktivitede azalma
- Lakrimasyon
- Diyare

3.2.4. Deltametrin + Sirinjik Asit Grubu (Grup III)

Deltametrin + Sirinjik asit (DTM+SA) grubundaki ratlara (n=16) ise 0.5 ml mısır özü ya ı (1lt, Sırma, stanbul, Türkiye), DTM (Decis® 2.5 EC, Bayer AG, Leverkusen, Germany) 1.28- 1.35 mg/kg doz ve 25 mg/kg sirinjik asit (SA) (Kat: 530-57-4, Syringic acid 98%, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, California, USA) iki ay boyunca her gün aynı saatte 12⁰⁰-13³⁰ arasında oral gavaj yoluyla verilmi tir. A ırlık kontrolü ve ö renme deneyleri için di er gruplarla aynı i lemler uygulanmı tir. DTM+SA grubunda sadece hareketsizlik, uyku, DTM+SA uygulaması sonrası artan hiperaktivite ve agresif davranı gözlenmi tir.

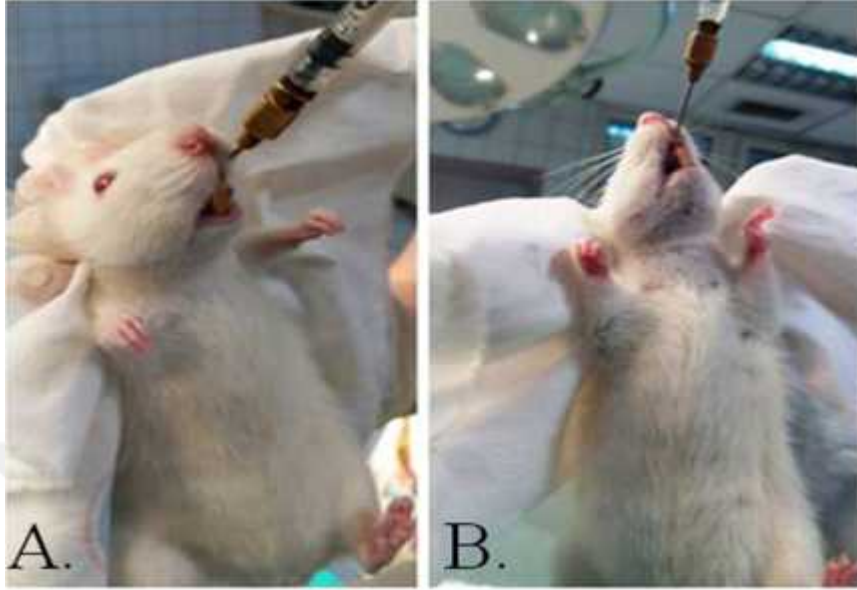
3.2.5. Sirinjik Asit Grubu (Grup IV)

Sirinjik asit (SA) grubuna (n=16), 0.5 ml mısır özü ya ı (1lt, Sırma, stanbul, Türkiye) ve 25 mg/kg dozundaki SA (Kat: 530-57-4, Syringic acid 98%, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, California, USA), iki ay boyunca her gün aynı saatte 12⁰⁰-13³⁰ arasında oral gavaj yoluyla verilmi tir. A ırlık kontrolü ve ö renme deneyleri için di er gruplarla aynı i lemler uygulanmı tir.

3.2.6. Uygulama Yolu

Mısır özü ya ı (CO, 1lt, Sırma, stanbul, Türkiye), DTM (Decis® 2.5 EC, Bayer AG, Leverkusen, Germany) ve SA (Kat: 530-57-4, Syringic acid 98%, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, California, USA) uygulamaları oral gavaj yoluyla yapılmı tir. DTM ratlara sistemik olarak enjekte edildi inde (intraperitoneal) titreme ve koreoatetoz ile karakterize ciddi motor sendromu tetikledi i (Brodie ve Opacka, 1985) için ve literatürle uyumluluk göstermesi açısından DTM **oral gavaj** ile verilmi tir. Vücut a ırlı na göre deltametrin dozajında gerekli düzeltmeleri yapmak için bütün ratlar haftalık olarak tartılmı tir. Ratlar enseden ve boyun derisinden tutulup ba

ekstansiyon pozisyonuna getirilerek gavaj uygulaması yapılmı tır (ekil 3.2.A). Di ler arasından gavaj kateteri geçirilerek, oesophagus'a giren kateter yoluyla mısır özü ya 1, SA ve DTM verilmi tır (ekil 3.2.B).



ekil 3.2. Oral gavaj uygulaması. **A.** Gavaj yöntemi **B.** Gavaj kateteri ile madde (Mısır özü ya 1, SA ve DTM) verilmesi

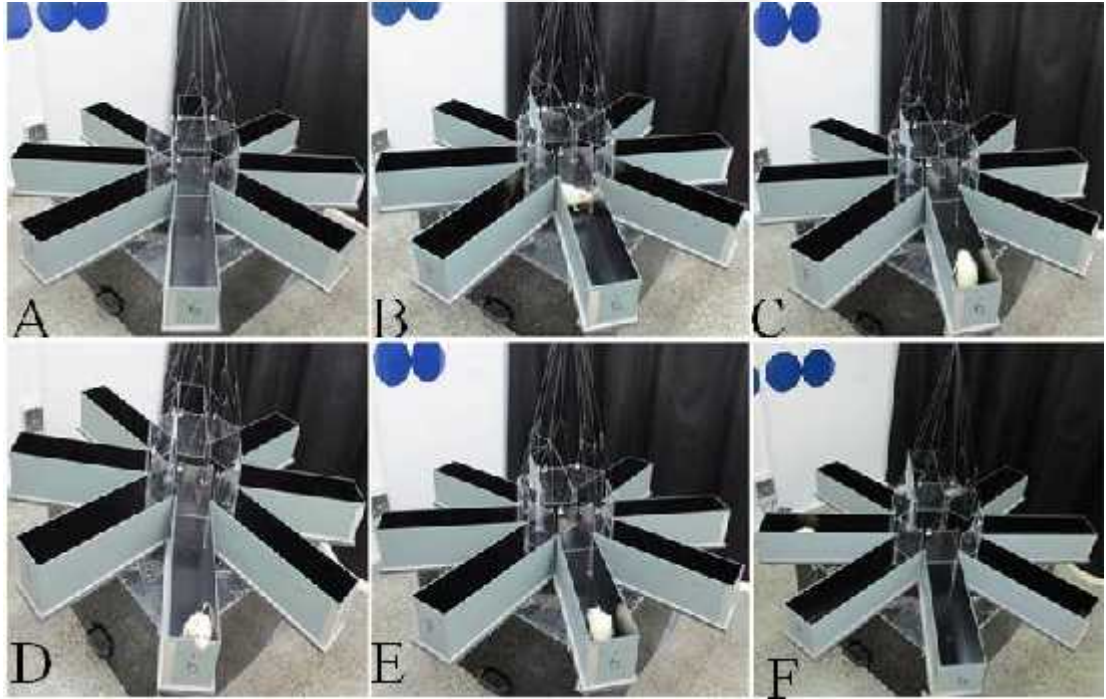
3.3. Ö renme Deneyleri

Ö renme deneyleri için Radial Arm Maze ve Open field (Açık alan) testleri **Noldus Ethovision XT system** (Noldus Information Technology, Wageningen, The Netherlands) kullanılarak de erlendirilmi tır.

3.3.1. Radial Arm Maze (RAM) Testi

Radial arm maze (RAM) deneyi dairesel bir alanı çevreleyen 42x12x12 cm boyutlarında sekiz e koldan olu an siyah mat tabanlı bir düzenekte yapıldı (ekil 3.3.A). Ö renme deneylerine ba lamadan önce hayvanlara 7 gün boyunca 5'er dakika ele alı tırma (handling) uygulandı. Daha sonra ratlar labirente alı maları için 5 gün boyunca günde 5'er dakika labirente bırakıldı. Habitiasyon (ön alı tırma) a amasında merkeze (3 adet), kaplara (8 adet) ve kollara (24 adet) çikolata yerle tirildi. Her etabın ba nda düzenek temizlenerek sekiz kolun her birine yedikleri çikolata sayısı kadar çikolata yerle tirildi. Testin ba nda sıçan merkezi alana bırakılarak, bütün kapılar açıldı (ekil 3.3.B). Dört aya mın hepsi o kolda oldu unda, sıçanın bir kola girdi i kabul edilerek, tüm kapılar indirildi ve sıçanın girdi i koldaki çikolataları yemesine izin verildi (ekil 3.3.C). Çikolatayı yedikten sonra girdi i koldan labirent dı ndaki görsel ipuçlarına bakmasına izin verildi (ekil 3.3.D) ve girdi i kolun kapısı 10 saniye

sonra kaldırılarak, sıçanın dairesel merkezi alana dönmesi sağlandı (ekil 3.3.E). Daha sonra sekiz kapının tamamı indirilerek ve deney 5 dakika (habitasyon; 5 dakika, öğrenme deneyi; 7 dakika) devam ettirildi. Deney bitince sıçan düzenden alındı ve bu işlem yaklaşık 1 saat sonra her bir sıçan için tekrar edildi. Bu uygulama sırasında sıçanların koku duyusuna göre hareketlerini engellemek için labirent düzenine, her sıçan testi tamamladıktan sonra % 70'lik etanol ile temizlendi. Deneyin öğrenme aşamasında sıçanlar 2, 3, 5 ve 7. kollarında çikolata bulunan labirentin merkezine konuldu ve her gün 7'er dakika gezmelerine izin verildi (2 tur). Habitasyon aşaması ardından beşinci test günü her bir sıçan için 5'er dakika 2 tur, öğrenme testi ise ardından 10 gün boyunca her bir sıçan için 7'er dakika 2 tur yapıldı. Çikolata bulunan kollara bir kez girmeleri veya çikolatayı yemeleri doğrudan seçim olarak kaydedildi. Bu sırada denemelerde hayvanın toplam kollara girişi sayısının %80'inin doğrudan seçim olması öğrenme kriteri olarak kabul edildi. Öğrenme aşaması % 80 doğruluk kriteri elde edilene kadar tekrar edildi (ekil 3.3.F).



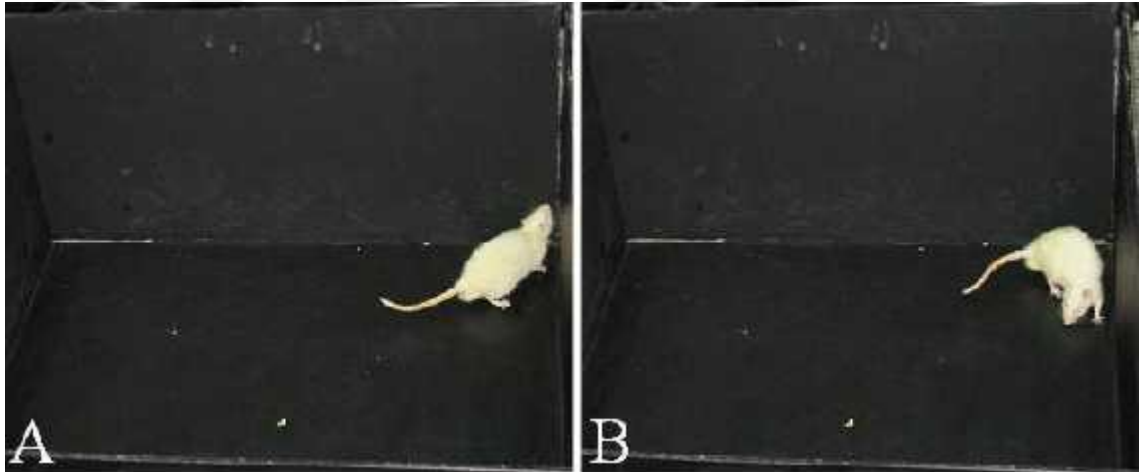
ekil 3.3. Radial arm maze öğrenme deneyi **A.** Teste başlamadan önce radial arm maze düzeni hazırlandı. **B.** Test başlarken sıçan merkeze konularak süre ve dijital kamera kaydı başlatıldı. **C.** Öğrenme deneyinde sıçanın çikolata olmayan kola (6 numaralı kola) gelmesi RME **D.** Test odası, uzaysal hafızayı değerlendirmek için çeşitli görsel ipuçlarını içermektedir ve sıçan labirentindeki görsel ipuçlarından yararlanır. **E.** Sıçan kolda çikolata olup olmadığını kontrol ettikten sonra başka bir kolu tercih etmek için merkeze dönmek zorundadır. **F.** Sıçan'ın her seferinde sekiz olası seçeneği vardır ve başka bir kola (8 numaralı kola) girer.

Çikolatalı kollara bir kez girmesi beklenen hayvanın girdiği çikolatalı kola tekrar girmesi çalışılan hafıza hatası (**Working memory errors= WME**), çikolata olmayan

kolu ara tırmak için girmesi ise referans hafıza hatası (**Referance memory errors=RME**) olarak kaydedildi (ekil 3.3.F) (Jakubowska-Dogru, Gumusbas ve ark., 2003; Noorafshan, Asadi-Golshan ve ark., 2013).

3.3.2. Open Field (OF, Açık Alan) Testi

Açık alan deneyleri duvar yüksekli i 40 cm olan, tabanı 80x80 cm ebatlarında kare ekinde siyah mat tabanlı düzenekte yapıldı. Alan, **Noldus Ethovision XT Syst.** (Noldus Information Tech., Wageningen, Netherlands) kullanılarak 20 cm² büyüklü ünde birbirine e it 16 küçük daireye bölündü. Deneyin ba langıcında ratlar sırayla bu alanın merkezine bırakıldı ve 5 dakika boyunca hareketleri dijital olarak kaydedildi (ekil 3.4.A). Deney sakrifikasyondan 1 gün önce her hayvan için 1 kez yapıldı. Her rat için girdi i kare sayısı, katetti i toplam mesafe ve ortalama hız ölçüldü (ekil 3.4.B) (Berry, Tomidokoro ve ark., 2008; Denenberg, 1969).



ekil 3.4. Open field (Açık alan) deneyi **A.** Açık alan düzene indeki hayvan gezinirken hızı, konumu, süresi, katetti i mesafe dijital olarak kaydedildi. **B.** Hayvanların arena boyunca hareketleri (merkezde, kenarda) kaydedildi.

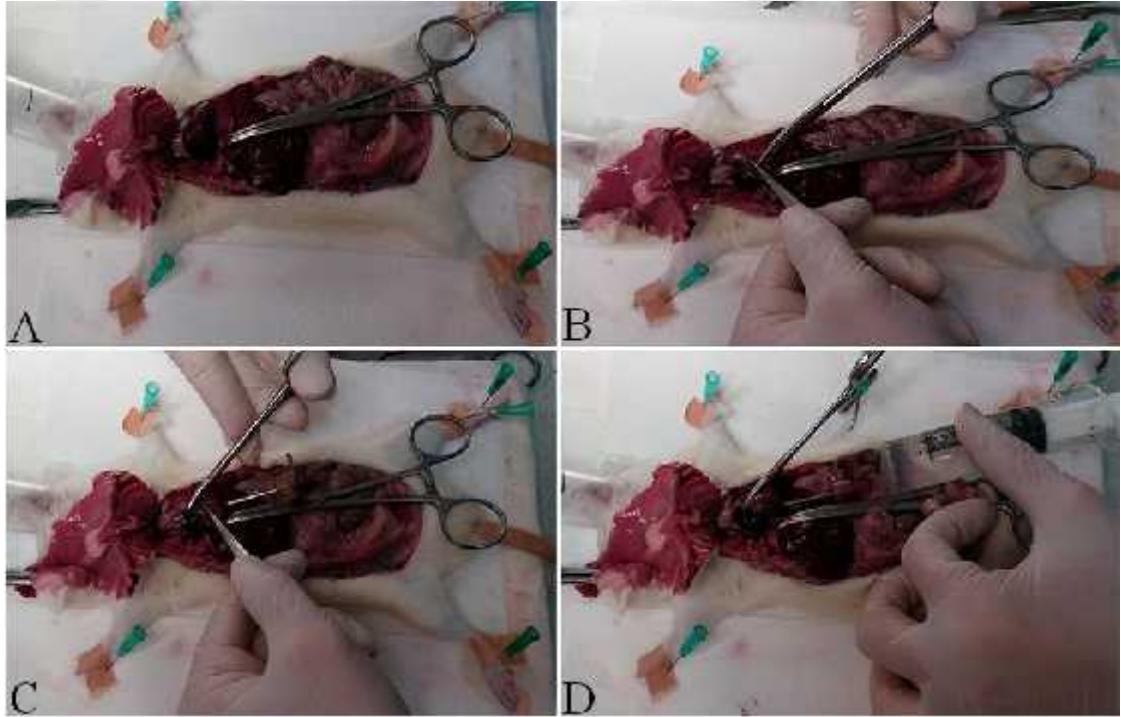
3.4. Deneklerin Sakrifikasyonu

2 aylık deney süresi sonunda tüm ratlar vücut a ırlı ı tartıldıktan sonra derin ketamin (Kat: 6740-88-1, Ketamine Hydrochloride, Pfizer, USA) (200 mg/kg) + ksilazin (Xylazin Bio %2, Bioveta, Czech Republic) (10 mg/kg) anestezisi altında kardiyak ponksiyon uygulanarak perfüze edildi. Biyokimya için SF, histoloji için %10 formalinli pbs ile perfüzyon yapıldı (ekil 3.5). Hayvanların beyin dokuları dekapitasyon yapılarak çıkartıldı. Histopatolojik ve immunohistokimya deneyleri için ayrılan ratların (n=24) total beyin dokuları çıkartıldı (ekil 3.6). Dekapitasyondan hemen sonra biyokimya deneyleri için ayrılan ratların (n=40) hipokampusleri

çıkartılarak sağ ve sol olarak ikiye ayrıldı (ekil 3.7). Dokular ayrı cryo tüplere konularak, önce sıvı nitrojen tankına daha sonra da tüm dokular muhafaza edilmek üzere -80°C 'ye kaldırılmı tır.

3.4.1. Transkardiyal Perfüzyon

Transkardiyal perfüzyon tekni i cerebrum'u istenilen protokole göre perfüze etmek için kullanıldı. Sıçanlar, ketamin (200 mg/kg) + ksilazin (10 mg/kg) anestezisi altındayken diseksiyon masasına supin pozisyonda yerleştirildi. Karın boşluğu açılarak diaphragma insizyonu ile cavitas thoracis açılı a çıkartıldı. Cavitas thoracis'i ve kalbi açılı a çıkarabilmek için 'Y' ekinde bir insizyon yapıldı. Daha sonra ventriculus sinister insizyonu yapılarak, bir kanül yardımıyla drenaj için atrium dextrum'a küçük bir insizyon daha yapıldı. %10 formalinli PBS ve SF ventriculus sinister'e aynı kanül yoluyla verilerek, rigor gözlenene kadar perfüzyona devam edildi (ekil 3.5).

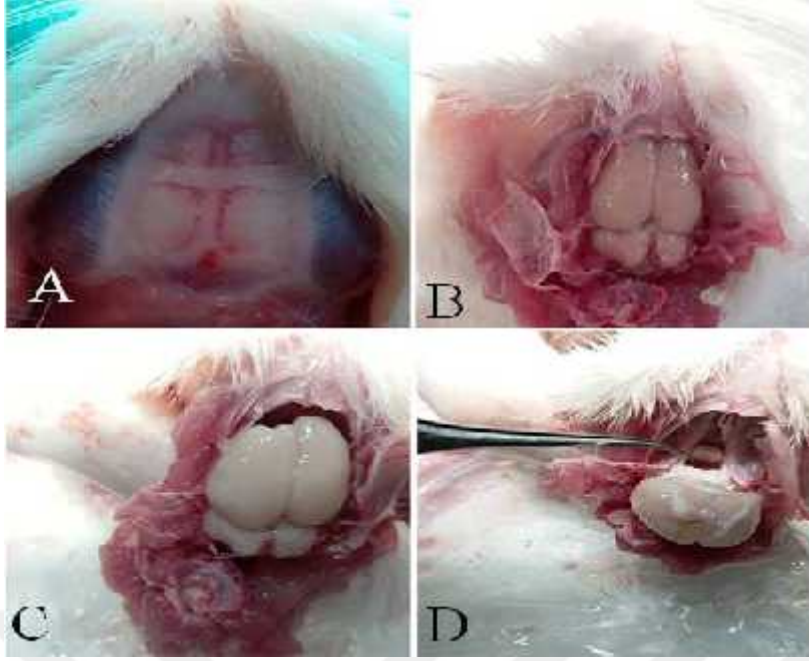


ekil 3.5. Transkardiyal perfüzyon yapılması **A.** nsizyon ve doku tespiti **B.** Ventrikülüs sinister insizyonu **C.** Kanül takılması **D.** PBS ve SF perfüzyonu

3.4.2. Doku Temini

Total Beyin Dokularının Alınması

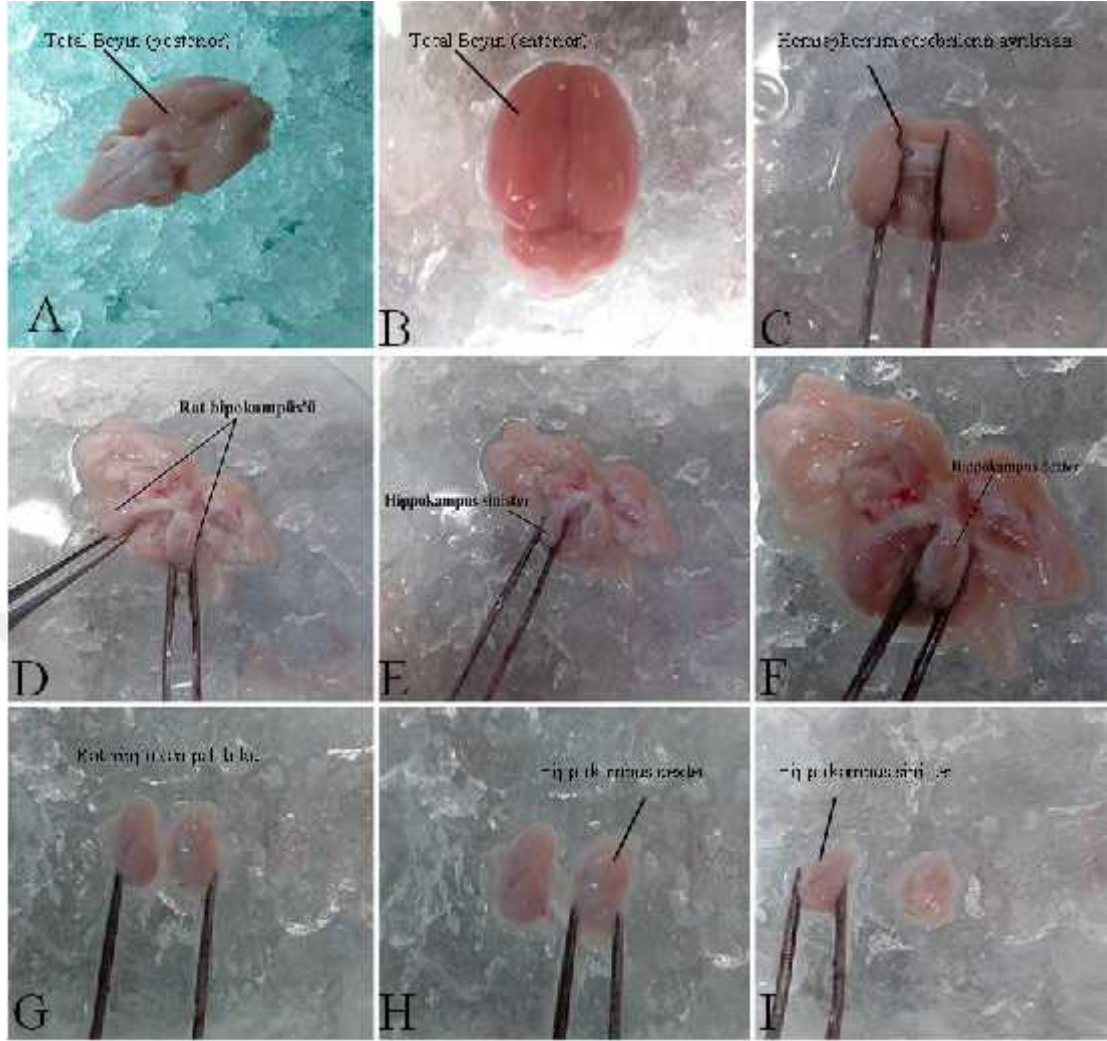
Perfüze edilen ratlara regio cervicalis posterior'dan bir insizyon yapılarak, cranium dikkatlice çıkartıldı. Art. atlantooccipitale'den girilerek e ri uçlu makas yardımıyla kafa kemikleri ekarte edildi ve beyin dokuları çıkartıldı (ekil 3.6. A-D).



ekil 3.6. A-D.Total beyin dokularının alınması

Hipokampüs Dokularının Alınması

Hipokampüs dokularını almak için ince uçlu penset kullanıldı. Fissura longitudinalis cerebri yoluyla hemispherium cerebri dexter ve sinister dikkatlice ayrılarak, hipokampüs dokuları açığa çıkartıldı (ekil 3.7.A-H). Uzaysal hafıza ve glutamat/glutamin ekspresyonu için **hipokampüs dextra**; TAK, ROS/RNS ve total protein tayini için ise **hipokampüs sinistra** ayrılarak sıvı nitrojen tankına yerleştirildi (ekil 3.7.A-H).

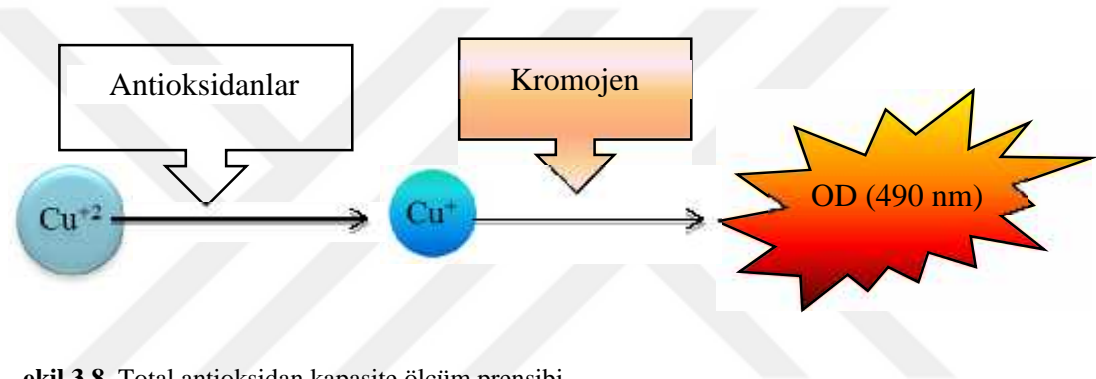


ekil 3.7. Hipokampus dokularının alınması **A.** Total beyin (posterior) **B.** Total beyin (anterior) **C.** Fissura longitudinalis cerebri yoluyla hemispherium cerebrilerin ayrılması **D.** Rat hipokampus'ünün diseksiyonu **E.** Cerebrumda hipokampus sinistra **F.** Cerebrumda hipokampus dextra **G.** Rat hippocampal dokularının cerebrumdan ayrılması **H.** Diseke edilen hipokampus dextra **I.** Diseke edilen hipokampus sinistra

3.5. Dokularda Biyokimyasal Analizler

3.5.1. Hipokampüste Total Antioksidan Kapasitenin Tayini

Hipokampüste total antioksidan kapasite; Total Antioxidant Capacity (TAK) Assay kit (STA-360: OxiSelect™, Cell Bio. Inc., San Diego, USA) kullanılarak değerlendirilmiştir. TAK Deneyi antioksidanlar tarafından bakırın (II) Cu^{+2} , bakır (I) Cu^{+1} 'e indirgenmesi esasına dayanır. Redüksiyon üzerine, Cu^{+1} 490 nm'de maksimum absorbanza sahip bir renk üreten kromojenik reaktif ile reaksiyona girer (ekil 3.8). Antioksidanların net absorbanstaki değişimleri, bilinen bir ürik asit standart değerleri ile karşılaştırılır. Absorbans değerleri, numunenin toplam redüksiyon kapasitesi ile orantılıdır. Sonuçlar “ μM Bakır Azaltıcı Etkinlikleri” veya “mM Uric Acid Equivalents” olarak ifade edilir.



ekil 3.8. Total antioksidan kapasite ölçüm prensibi

Prensip:

Bu metod Fenton reaksiyonu ile oluşan potent bir radikal olan hidroksil radikalinin renksiz bir substratı o-dianisidine ile reaksiyona girerek parlak sarı-kahve renkli dianisil radikali oluşması esasına dayanır (ekil 3.8). Supernatantlara hidroksil radikalinin ilave edilmesi oksidatif reaksiyonları başlatır ve bu reaksiyon antioksidanlar tarafından baskılanarak renk değişimi önlenir. Bu süreçte dokudaki TAK'nin efektif ölçümü sağlanır.

Reaktifler:

- 1X Reaksiyon Tamponu (Part No. 236002): Reaksiyon Tamponu 1:100'ü 1X PBS (hidrofilik) dilüe edildi.
- 1X Bakır İyon Reaktifi (Part No. 236003): Bakır İyon Reaktifi 1:100'ü deiyonize su (hidrofilik) ile dilüe edildi.
- 1X Durdurma Solüsyonu (Part No. 236004): 1:10'ü deiyonize su (hidrofilik) ile dilüe edildi.

lemler:

1. 96-kuyulu mikrottest plate'e 20 µL dilüe edilmi ürik asit standartları ve hipokampüs dokuları eklendi.
2. Her kuyuya çok kanallı pipetle 1X Reaksiyon Tamponu 180 µL eklendi ve karı tırıldı.
3. Plate 490 nm'de okunarak ba langıç absorbansı elde edildi.
4. Reaksiyonu ba latmak için, her kuyuya 1X Bakır yon Reaktifinin 50 µL'sini eklendi ve shaker'da 5 dakika inkübe edildi.
5. Reaksiyonu sonlandırmak için her kuyuya 50 µL 1X durdurma solüsyonu eklendi.
6. Plate tekrar 490 nm'de okundu.

3.5.2. Hipokampüste Total Serbest Radikal Aktivite tayini

Hipokampüste total serbest radikal aktivite tayini, **OxiSelect™ In Vitro ROS/RNS Assay Kit** (STA-347, OxiSelect™, Cell Bio. Inc., San Diego, USA) kullanılarak ölçülmü tür. Bu metotta, örnekte bulunan oksidanlar bir katalizatör eklenerek oksidatif reaksiyonu hızlandırmaya yardımcı olur. Deney, 2',7' diklorodihidrofloresin diasetat ile benzer kimyasal özelliklere sahip spesifik ROS/RNS florojenik probu olan diklorodihidrofluoresin DiOxyQ (DCFH-DiOxyQ) kullanıldı. DCFH-DiOxyQ probu daha sonra yüksek oranda reaktif DCFH formuna stabilize edildi. Bu reaktif durumda, ROS ve RNS türleri, yüksek oranda floresan 2',7'-dikloro dihidrofloresin (DCF)'e hızla oksitlenen DCFH ile reaksiyona girebilir. Floresan yo unlu u, numune içindeki toplam ROS/RNS seviyeleri ile orantılıdır. DCFH-DiOxyQ probu hidrojen peroksit (H₂O₂), peroksil radikali (ROO), nitrik oksit (NO) ve peroksinitrit anyonu (ONOO-) ile reaksiyona girebilir. Bu serbest radikal moleküller, hem ROS hem de RNS'yi temsil eder, böylece bir örnek içindeki toplam serbest radikal miktarının ölçülmesine izin verir (ekil 3.9) .OxiSelect™ In Vitro ROS / RNS Test Kiti ayrıca antioksidanların serbest radikaller üzerindeki etkisini de erlendirmek için de kullanılmı tır. Kit, DCF için 10 pM ve H₂O₂ için 40 nM'lik bir algılama hassasiyet sınırına sahiptir.

Prensip:

Kısa bir inkübasyondan sonra hazırlanan diklorodihidrofloresein (DCFH) probu oksidatif reaksiyonunun hızlanmasına yardımcı olur. Örnekler, bir hidrojen peroksit veya 7'-diklorodihidrofloresein (DCF) standardına kar ı florometrik olarak ölçülür. Örnekte mevcut olan oksidan moleküllerin serbest radikal içeri i, önceden belirlenmi DCF veya hidrojen peroksit standart e risiyle kar ıla tırma yoluyla belirlenir.



Şekil 3.9. ROS/RNS analiz prensibi

Reaktifler:

- 1X Stabilizasyon Çözeltisi: 10X stabilizasyon solüsyonu (Part No. 234702) 1:10'u, 13.5 ml deiyonize suya 1.5 mL çözelti ilave ederek seyreltildi.
- 1X Katalizör: 250X Katalizör (Part No. 234703) 1:250 PBS içinde seyreltildi.
- DCFH Solüsyonu (Part No. 234202): DCFDiOxyQ'un stok çözeltisi (Part No. 234704) seyreltilerek DCFH Solüsyonu hazırlandı.
- Priming Reaktif (Part No. 234701): 1:5 oranında hazırlandı (50 test için, 100 µL Priming Reaktifine 25 µL DCF-DiOxyQ eklendi). Çözelti oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. 1:40 oranında 1X stabilizasyon solüsyonu ile seyreltildi (50 test için, 125 µL DCFDiOxyQ / Priming Reaktif reaksiyonunu 4.875 ml stabilizasyon solüsyonuna eklendi).

İlemler:

1. Floresan ölçümü için 96 kuyulu plate'in kuyucuklarına 50 µL hidrojen peroksit eklendi.
2. Her kuyucu başına 50 µL katalizör eklendi ve iyice karıştırılarak oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi.
3. Her kuyucu başına 100 µL DCFH solüsyonu eklendi. Işıktan korunarak oda sıcaklığında 15-45 dakika inkübe edildi.
4. 480 nm eksitasyon/530 nm emisyonunda floresan plate reader ile okundu.

3.5.3. Kütle Spektrometresi ile Hipokampüste Glutamat ve Glutamin Tayini

Perfüze edilerek çıkarılan hipokampus dokularına hacminin 4 katı metanol eklenerek homojenize edilmiş tir sonrasında 18000 g'de 10 dakika boyunca santrifüj edilerek süpernatantlar alınmıştır. Peletinden ayrılan 1 ml süpernatant 10 µl iç standart solüsyonu ve 10 µl su ile 5 dakika vortekslenmiştir. Daha sonra 3000 g'de 10 dakika santrifüj edilerek tekrar süpernatant alınmıştır. Alınan süpernatant 35°C'de kuruyana kadar nitrojen ile uçurulduktan sonra elde edilen kuru ekstrakt 100 µl su eklenerek tekrar çözülmüştür ve hazırlanan örneğin 2 µl'si UFLC-MS/MS sisteminde Mass

Lynx NT Software (LYNX Computer Technologies, Wyomissing, USA) yazılımı ile analiz edilmiştir.

3.5.4. Hipokampüste Total Protein Tayini

Alkali çözeltide oluşan bakır-protein kompleksinin fosfomolibdat-fosfotungstat reaktifini redüklemesi ve oluşan rengin 750 nm'de ölçülmesi prensibine dayanır. Oluşan rengin koyuluğu ile ortamdaki protein konsantrasyonunun doğru orantılı olduğunu gösterir. Her bir numune için protein miktarı bovine serum albumin çözeltisi ile hazırlanan standart seriye bakılarak ve dilüsyon faktörüyle çarpılarak hesaplanmıştır (Lowry OH, 1961). %10'luk doku homojenatında ve 10.000G'de protein miktarı mg cinsinden hesaplanmıştır.

3.6. Histolojik Değerlendirmeler

3.6.1. Histopatolojik Analiz

Fiksasyon ve Doku Takibi

Hipokampus bölgesine ait nöronlardaki olası histopatolojik değişiklikleri gözlemlenmesi amacıyla alınan tüm doku örnekleri % 10'luk formalin ile 24 saat oda sıcaklığında fikse edildi. %70, %80, %90 ve %100'lük dereceli alkol serilerinden geçirilerek, dehidrasyon işlemi sonrasında, ksilol ile effla tırma yapıldı. Doku örnekleri parafin serilerinden geçirilerek parafin bloklar hazırlandı.

Hazırlanan parafin bloklardan, 5 µm. kalınlığında kesitler alındıktan sonra, hipokampüse ait kesitler hematoksilin-eozin (H & E) ve krezil violet boyaları ile boyandı. Krezil violet ile nöronların nükleuslarının boyanması amaçlanmıştır. Boyanma protokolü tamamlandıktan sonra, ışık mikroskopunda (Zeiss Axioplan, Oberkochen, Germany) histopatolojik değerlendirmeler gerçekleştirildi. Bu amaçla rat hipokampusüne ait CA1 ve CA3 bölgelerindeki olası değişiklikler değerlendirildi.

Hematoksilen ve Eozin (H & E) Boyama Protokolü

Adımler:

1. Parafin bloklardan alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler, 56°C'lik etüvde gece boyu bekletildi.
2. Deparafinizasyonu gerçekleştirmek üzere, iki kez 10'ar dakika ksilollerden geçirilip, her birinde 5 dakika olmak kaydıyla % 100, %90, %80, %70'lik alkol

serileri ile muamele edildi. Alkol serilerinden sonra kesitler, 5 dakika boyunca distile suda (dH₂O) bekletildi.

3. 30 saniye hematoksilene (Kat:1.051.740.500, Merck) daldırıldıktan sonra akarsu altında yıkandı.
4. Yıkamadan sonra eozine (Kat:1.15935.0100, Merck) 2-3 kere daldırılıp çıkarılarak, tekrar akarsu altında yıkandı.
5. Alkol serilerinden ve ksilolden geçirildikten sonra entellan (Kat:1.079.610.100, Merck) ile kapatıldı.

Krezil Viyolet Boyama Protokolü

lemler:

1. 5 mikron kalınlığında alınan kesitler kurutuldu.
2. 56°C'lik etüvde 1 saat bekletildi.
3. Deparafinizasyonu gerçekleştirmek üzere, iki kez 10'ar dakika ksilollerden geçirilip, her birinde 5 dakika olmak kaydıyla %100, %90, %80, %70'lik alkol serileri ile muamele edildi. Alkol serilerinden sonra kesitler, 5 dakika boyunca distile suda bekletildi.
4. Crystal violet (BDH.34023) 1 gr
Metyl violet (Kat: 8559712, Merck) 0.5 gr
%10 luk alkol 100 ml
5 dakika bekletildi.
5. %1 lik asetik asitte yıkandı.
6. 1 dak distile suda bekletildi.
7. Alkol serilerinden ve ksilolden geçirildikten sonra entellan (Merck, kat. no: 1.079.610.100) ile kapatıldı.

3.6.2. İmmünohistokimyasal Analiz

Tüm deney gruplarına ait aktif kaspaz-3 protein ekspresyonunun değerlendirilmesi ve apoptotik hücre yüzdesinin hesaplanabilmesi için immünohistokimya tekniği uygulanmıştır.

lemler:

1. 5 µm kalınlığında alınan parafin kesitler, poli L-Lizin kaplı lamalar üzerine alındı ve bir gece boyunca 56 °C'lik etüvde bekletildi.

2. Deparafinizasyonu gerçekle tirmek üzere, iki kez 10'ar dakika ksilollerden geçirilip, her birinde 5 dakika olmak kaydıyla % 100, %90, %80, %70'lik alkol serileri ile muamele edildi. Alkol serilerinden sonra kesitler, 5 dakika boyunca distile suda bekletildi.
3. Antijenik maskelenmenin giderilmesi için, kesitler pH'ı 6.0 olan sitrat tamponu çözeltisinde 750 Watt'ta 7 dakika boyunca kaynatılarak antijen retrieval uygulaması yapıldı ve 20 dakika oda ısısında so umaya bırakıldı.
4. Kesitler daha sonra, distile suda yıkandı. Dokudaki endojen peroksidaz aktivitesini baskılamak amacıyla %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) solüsyonu (Kat:1.086.001.000, Merck) (63ml metanol ve 7ml hidrojen peroksit karı tırıldı) ile kesitler 15 dakika muamele edildi.
5. Hidrojen peroksit uygulamasından sonra kesitler PBS (Phosphate Buffer Salin, pH: 7.2-7.4) solüsyonunda 3 kez 5'er dakika yıkandı ve hidrofobik kalemle kesitlerin etrafı çizildi.
6. Oda sıcaklı nda ve nemli ortamda özgül olmayan immunoglobulin ba lanmalarını önlemek amacıyla, bloklama serumu (Ultra V Block, Thermo, kat no: TA-125-UB) ile 7 dakika muamele edildi.
7. Bloklama a amasından sonra herhangi bir yıkama ilemi yapılmadan, kesitler aktif kaspaz-3 antikorunu (Kat: 9661S, Cell Signaling, dilüsyon: 1: 200) ile üretici firmanın önerileri do rultusunda uygulandı. Negatif kontrol için kullanılacak kesitlere primer antikor ile aynı protein miktarında izotip kontrol uygulandı ve +4 derecede gece boyu (O/N ,Overnight) kesitler inkübe edildi.
8. Gece boyu inkübasyondan sonra, PBS solüsyonunda 3 kez 5'er dakika yıkandıktan sonra kesitler biyotinli anti-tav an sekonder antikor (Kat: BA-1000, Vector, 1:400) ile muamele edildi ve 1 saat boyunca oda ısısında bekletildi.
9. Kesitler sekonder antikor ile inkübasyondan sonra PBS solüsyonunda 3 kez 5'er dakika yıkandı. Streptavidin peroksidaz solüsyonu (Kat: TS-125-HR, Thermo) ile 30 dakika oda ısısında inkübe edildi.
10. Yıkama i lemi sonrasında, DAB (Di-Amino Benzidine, Kat: D4168-50SET, Sigma) kromojeni uygulanarak, reaksiyon alanları kahverengi renkte görünür hale getirildi.

Bütün gruplara ait kesitler aynı koşullar altında incelenmiştir. İlk mikroskopu düzeyinde hipokampus kesitlerinde aktif kaspaz-3 immünoaktivitesi tespit edilip fotoğraflandırılmıştır. Aktif kaspaz-3 ile boyanan hücre sayısı, alandaki total hücre sayısına oranlanarak apoptotik hücre oranı belirlenip grafik haline getirilmiştir.

Kullanılan Solüsyonlar:

PBS solüsyonu (1lt) (Phosphate buffered saline, Fosfat tamponlu tuz çözeltisi) hazırlanması:

- 2,85 gr Na_2HPO_4 (Sodyum fosfat dibasik)
- 16 gr NaCl (Sodyum klorid)
- 0,8 gr $\text{H}_2\text{K}_2\text{O}_4\text{P}$ Potasyum Dihidrojen Fosfat
- 2000 ml (2litre) distile su (dH_2O)
- ph:7,4, 2M NaOH

Sitrik Asit Solüsyonu:

- 2,1 gr Sitrik Asit
- 900 ml distile su (dH_2O)
- ph:6,0, 2M NaOH

Hidrojen peroksit (H_2O_2) solüsyonu:

- 63ml metanol
- 7ml hidrojen peroksit

ABC solüsyonu:

- 1 ml PBS
- 10 μl A
- 10 μl B

DAB solüsyonu: 1ml distile suda (dH_2O) hazırlandı ve 5' geli tirildi.

3.7. Statistikselsel Analiz

Verilerin analizi SPSS 21.0 (IBM Electronics, USA) ve Sigma Stat 4.0 (Systat Electronics, USA) programları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Normal dağılıma uygunluğu için Shapiro Wilk test yöntemi uygulandıktan sonra grupların

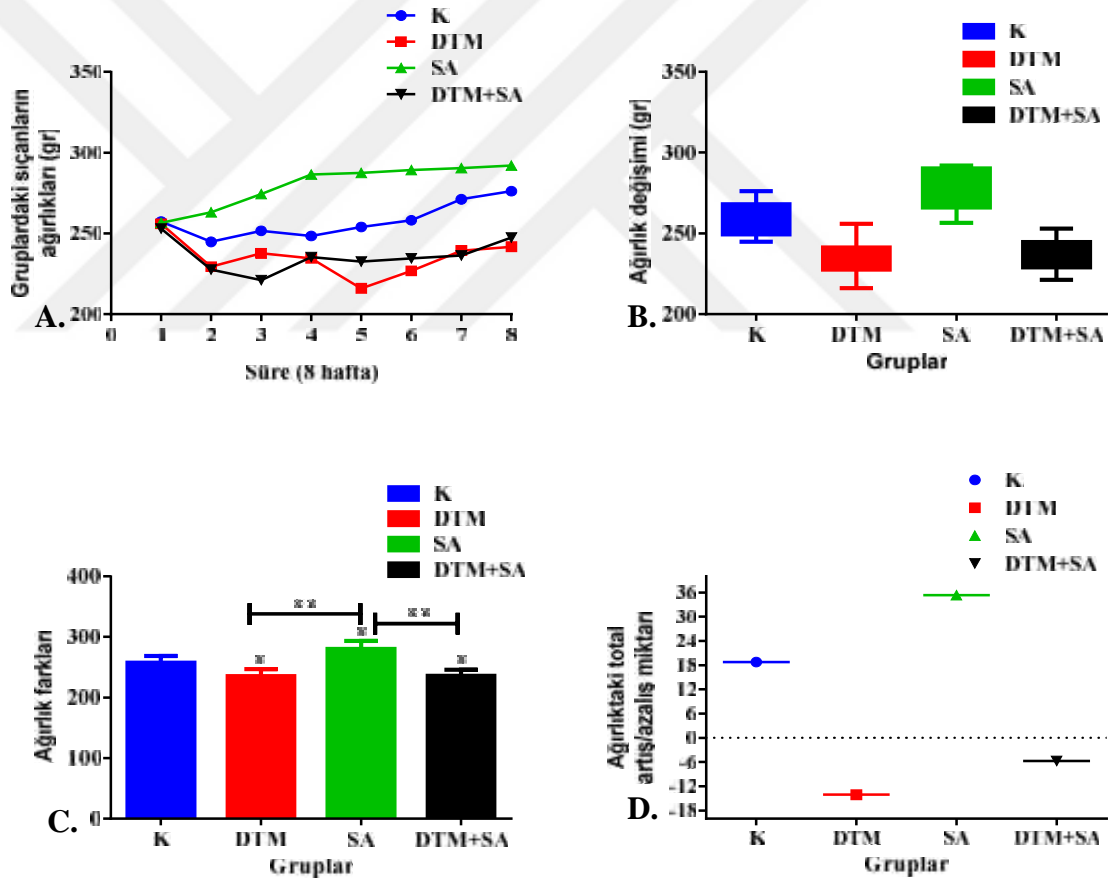
kar ıla tırılması One-way ANOVA, alt grupların ikili kar ıla tırılmasında post-hoc Tukey testi kullanılmı tır. Radial Arm Maze Testi, açık Alan testi, grupların a ırılık de i imleri, TAK, ROS/RNS, total protein miktarı, glutamat ve glutamin ekspresyonu ve immunohistokimyasal veriler One Way ANOVA istatistik yöntemi ile analiz edilmi tir. Çoklu kar ıla tırma da Tukey testi kullanılmı tır. Sonuçlar Ortalama±SEM olarak verilmi tir. $p<0.05$ olanların istatistiksel olarak anlamlı oldu u kabul edilmi tir. statiksel grafiklerin çizimi için GraphPad Prism 7 (GraphPad Electronics, USA) programı kullanılmı tır.



4. BULGULAR

4.1. Grupların A ırlık De iimleri

Kontrol (K), DTM, SA ve DTM+SA gruplarının, deney protokolünün ba ında ve sonunda vücut a ırlıkları ortalamaları, total a ırlık de iimi (a ırlık kazancı veya kaybı) gösterilmiştir (ekil 4.1, Tablo 4.1). DTM' nin a ırlık art ımının K ve SA gruplarına göre anlamlı olarak azald ı tespit edilmiştir ($p<0,05$). SA'nın DTM+SA ve DTM gruplarına göre a ırlık art ımının anlamlı olarak daha fazla oldu u tespit edilmiştir ($p<0,05$). Kontrol ve SA gruplarında a ırlık art ımı, DTM ve DTM+SA gruplarında di er gruplarla kıyasland ında 2 ay sonunda a ırlık azal ı tespit edilmiştir ($p<0,05$) (ekil 4.1).



ekil 4.1. Grupların a ırlık de iimleri **A.** Gruplardaki sıçanların 2 aylık a ırlık ortalamaları **B.** Grupların a ırlık de iimleri **C.** Grupların a ırlık farkının *One Way ANOVA* ile istatistiksel analizinin grafiksel gösterimi **D.** Grupların a ırlıktaki total art ıř/azal ıř miktarlarının kar ıla tırılması

Tablo 4.1. Grupların ortalama a ırlıkları ve a ırlık de iimleri. De erler ortalama \pm standart sapma olarak verilmi tir.

Gruplar	1.Hafta Ort. A ırlık \pm SD	8.Hafta Ort. A ırlık \pm SD	A ırlık De i imi(gr)
K	247.42 \pm 23,16	266.18 \pm 28.57	18.76 \pm 8.52
DTM	275.87 \pm 20.96	267.81 \pm 29.34	-8.06 \pm 5.70
SA	236.61 \pm 24.64	272.01 \pm 27.28	35.38 \pm 1.8
DTM+SA	243.11 \pm 29.01	237.41 \pm 27.71	-5.71 \pm 9.8

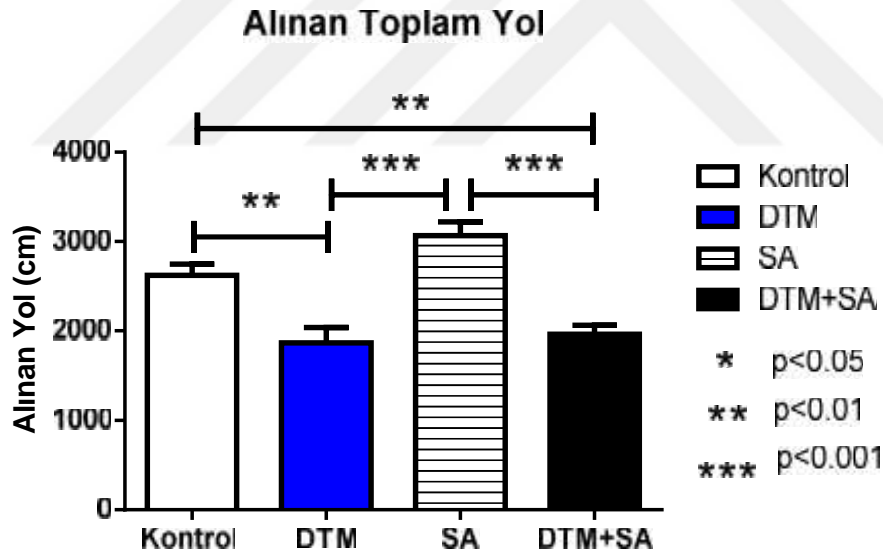
4.2. Ö renme Deneyi Sonuçları

4.2.1. Open Field (OF) Testi Sonuçları

Lokomotor aktivite parametresi olarak alınan yol (distance), girilen kare sayısı (frequency) ve ortalama hızları (velocity) de erlendirildi.

Alınan Toplam Yol

Alınan toplam yola baktı ımızda kontrol grubu ile DTM ve DTM+SA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmü tür ($p<0.05$) (ekil 4.2).



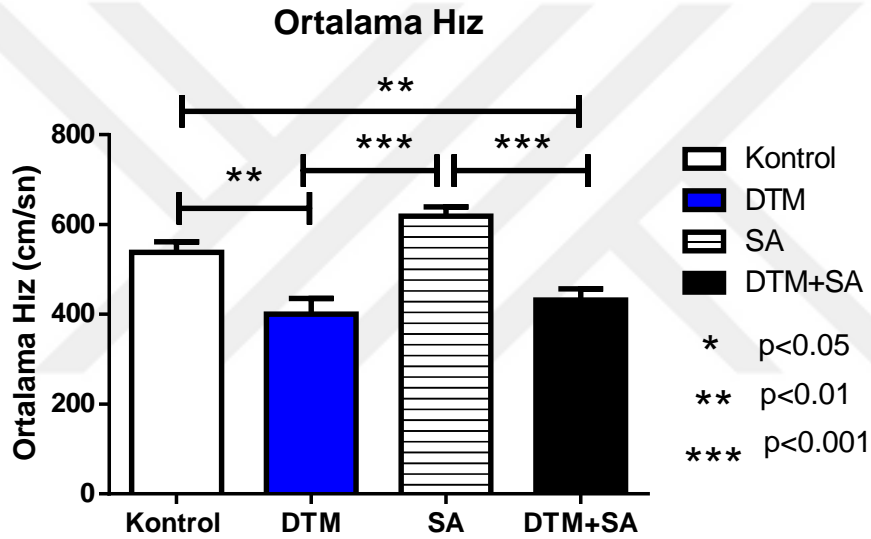
ekil 4.2. Tüm grupların open field testi alınan toplam yol verilerinin istatistiksel olarak kar ıla tırılması

Kontrol (Grup I) ve Deltametrin (Grup II) alınan toplam yola bakıldı ında kontrol grubunun deltametrin grubuna göre üstünlü ü görülmektedir ($p<0,05$). Kontrol grubu ile SA grubunda, kontrol grubununa göre artı olmasına ra men herhangi bir fark görülmemi tir ($p>0,05$). DTM ve DTM+SA grubuna kıyasla SA grubunda anlamlı bir artı görülmü tür ($p<0.01$) DTM grubuna göre DTM+SA grubunda alınan toplam yol

daha fazla olmasına rağmen anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$) (ekil 4.2, Tablo 4.2).

Ortalama Hız

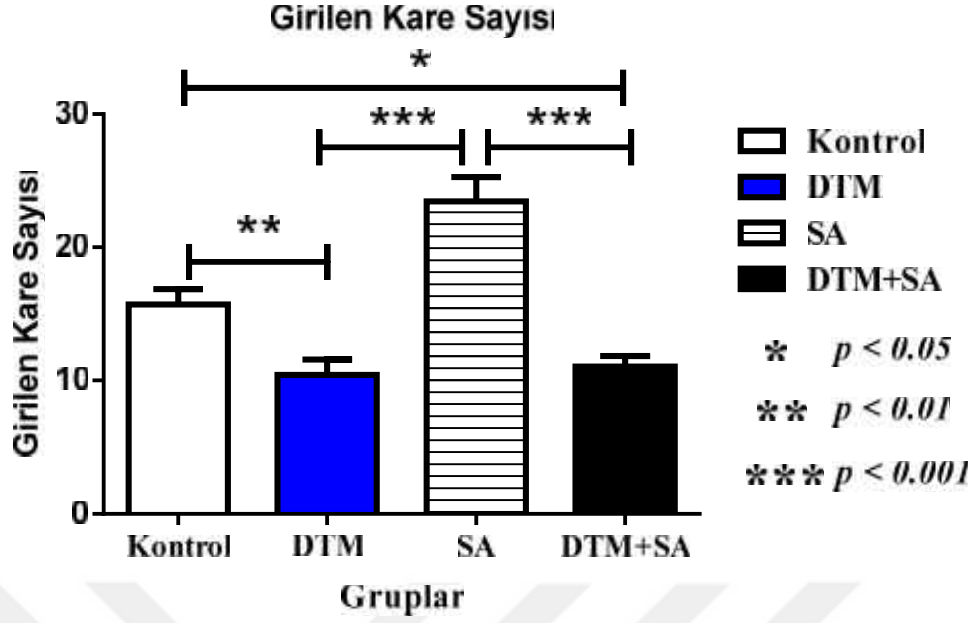
Ortalama hız verisinde alınan toplam yol verisine benzer sonuçlara rastlanmıştır. Kontrol grubu ile DTM ve DTM+SA grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüştür ($p<0,01$). Kontrol grubu ile SA grubunda kontrol grubuna göre artı olmasına rağmen anlamlı farklılık görülmemiştir ($p>0,05$). DTM ve DTM+SA grubuna kıyasla SA grubunda anlamlı bir artı görülmüştür ($p<0,001$). DTM ve DTM+SA grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$) (ekil 4.3, Tablo 4.2).



ekil 4.3. Tüm grupların ortalama hızlarının istatistiksel olarak karşılaştırılması

Girilen Kare Sayısı

Girilen kare sayısı verilerine göre Kontrol grubuna kıyasla DTM+SA grubunda $p<0,05$ ve DTM grubunda $p<0,01$ 'lik istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüştür. DTM ve DTM+SA grupları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0,05$). SA grubunda DTM ve DTM+SA gruplarına göre $p<0,001$ 'lik anlamlı bir artı görülmüştür (ekil 4.4, Tablo 4.2). Lokomotor aktivite değerlendirilmesinde kullanılan Açık Alan testinde Kontrol ve SA gruplarına göre DTM ve DTM+SA gruplarında alınan toplam yol, ortalama hız ve girilen kare sayısında yani lokomotor aktivite testinde anlamlı bir azalma görülmüştür ($p<0,05$). Sonuç olarak DTM'nin lokomotor aktivite üzerinde azaltıcı, SA'nın ise arttırıcı bir etkiye sahip olduğu görülmüştür ($p <0,05$).



ekil 4.4. Tüm grupların girilen kare sayılarının istatistiksel olarak karşılaştırılması

Tablo 4.2. Tüm grupların alınan toplam yol, ortalama hız ve girilen kare sayısı değerlerinin ortalama ve standart sapma verileri

Açık Alan Testi

Gruplar		Alınan Toplam Yol	Ortalama Hız	Girilen Kare Sayısı
Kontrol	Mean	2621,0353	538,6037	15,7200
	Std. Error of Mean	128,43457	22,75592	1,14715
DTM	Mean	1869,6607	400,0633	10,4286
	Std. Error of Mean	168,54894	35,74979	1,17021
SA	Mean	3066,1188	618,4630	23,4545
	Std. Error of Mean	150,63047	20,42366	1,83086
DTM+SA	Mean	1965,9437	431,7652	11,0714
	Std. Error of Mean	97,43891	25,00912	,75930
Total	Mean	2394,0118	500,8163	15,3143
	Std. Error of Mean	98,99606	18,10310	1,02219

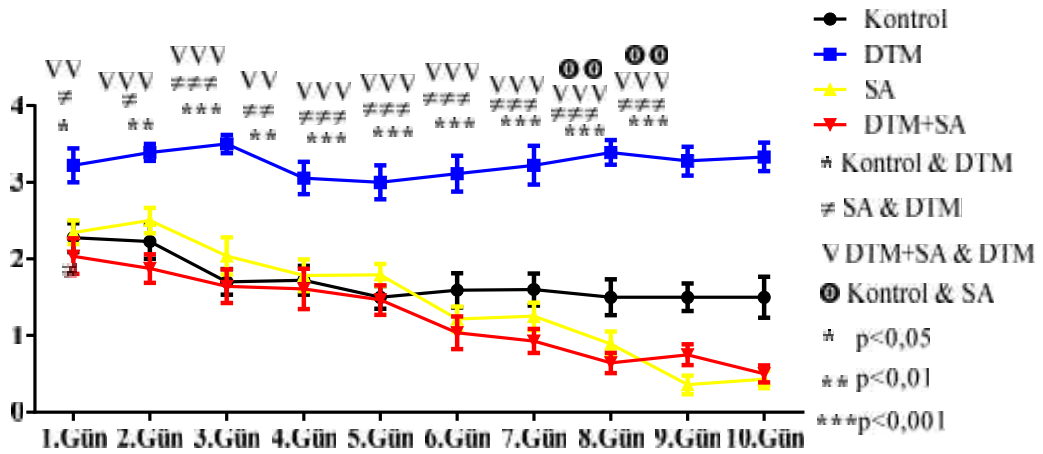
4.2.2. Radial Arm Maze (RAM) Testi Sonuçları

Radial Arm Maze (RAM) testinde Referans Hafıza Hatası, Çalı an Hafıza Hatası ve %80 Doğruluk Kriterini Tamamlama Süresi verileri değerlendirilmiştir.

- **Referans Hafıza Hatası;** yemsi kola ilk giri sayısı,
- **Çalı an Hafıza Hatası;** yemli kola tekrar giri sayısı,
- **%80 Doğruluk Kriterini Tamamlama Süresi;** ise doğru olan herhangi dört koldan üçüne girmesi olarak değerlendirilmiştir.

Referans Hafıza Hatası (RME)

Testte kullanılan grubun yemsi kola giri sayısı referans hafıza hatası olarak değerlendirilmiştir. Referans hafıza hatasında, 1.-10. günlerde Deltametrin (DTM) grubuna kıyasla Kontrol, Sirinjik Asit (SA) ve Deltametrin+ Sirinjik Asit (DTM+SA) grupları arasında anlamlı bir azalma görülmüştür ($p<0.01$). 9. ve 10. günlerde SA grubu Kontrole göre anlamlı bir azalış göstermiştir ($p<0.01$). DTM+SA grubu ile Kontrol ve SA grupları arasında herhangi bir farka rastlanmamıştır ($p>0.05$). Referans hafıza hatasında, kontrol grubuna göre DTM grubunda artış SA grubunda ise azalma görülmüştür ($p<0.01$). DTM+SA grubuna bakıldığında DTM ile bozulan referans hafızayı SA'nın düzelttiği görülmüştür (Tablo 4.3, ekil 4.5).



ekil 4. 5. Grupların referans hafıza hata verilerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması

Tablo 4.3. Tüm grupların referans hafıza hatası değerlerinin ortalama ve standart sapma verileri

Referans Hafıza Hatası

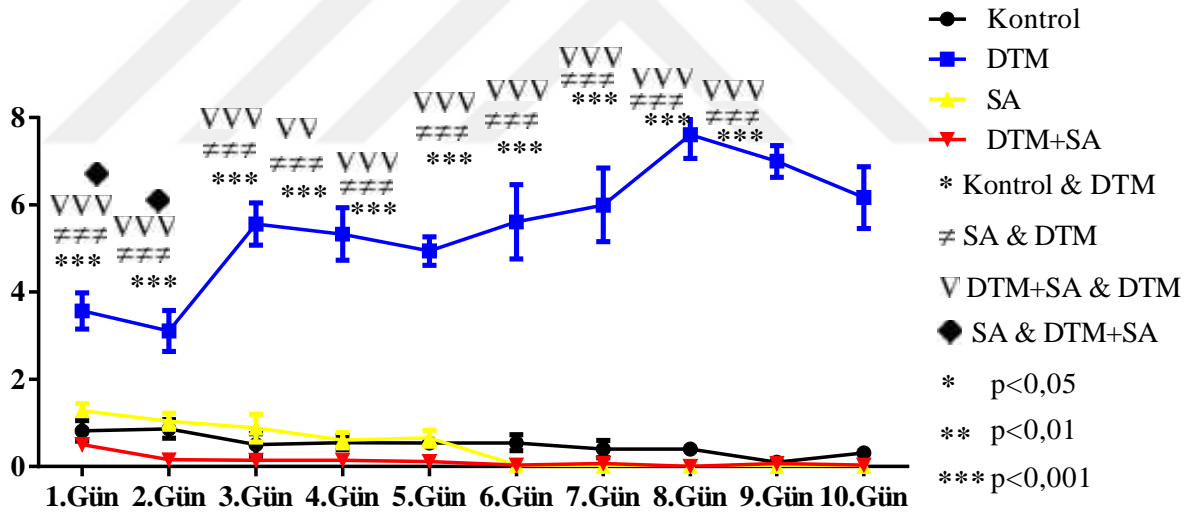
Grup	I.RE	II.RE	III.RE	IV.RE	V.RE	VI.RE	VII.RE	VIII.RE	IX.RE	X.RE	
K	Mean	2,2778	2,2273	1,7000	1,7222	1,5000	1,5909	1,6000	1,5000	1,5000	1,5000
	Std. Error of Mean	,18840	,22727	,16997	,18840	,14907	,22175	,20817	,23570	,18257	,26968
DTM	Mean	3,2222	3,3889	3,5000	3,0556	3,0000	3,1111	3,2222	3,3889	3,2778	3,3333
	Std. Error of Mean	,22222	,11111	,11785	,21155	,22048	,23241	,25154	,16197	,18840	,18634
SA	Mean	2,3462	2,5000	2,0385	1,7857	1,7917	1,2143	1,2500	,8929	,3571	,4286
	Std. Error of Mean	,15385	,16575	,24325	,20778	,14379	,16336	,17967	,15880	,12212	,11552
DTM+SA	Mean	2,0357	1,8750	1,6429	1,6071	1,4643	1,0357	,9286	,6429	,7500	,5000
	Std. Error of Mean	,23124	,18592	,21882	,26301	,19233	,21268	,15599	,13289	,13618	,11323

Çalı an Hafıza Hatası (WME)

Çalı ılan grubun yemli kola (çikolata konulan kabın yer aldı ı kol) tekrar giri sayısını çalı an hafıza hatasıdır. Benzer sonuçlar **çalı an hafıza hatasında** da görülmü tür. Çalı an hafıza hatasında, DTM gurubuna göre Kontrol grubu, SA ve DTM+SA gruplarında 1.-10. günlerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmü tür ($p<0.05$). SA grubu ile DTM+SA grubu arasında çalı an hafıza hatasında 1. ve 2. günlerde anlamlı bir azalma görülmü tür ($p<0.05$). Kontrol ile SA ve DTM+SA grupları arasında anlamlı bir fark görülmemi tir ($p>0.05$). Özellikle SA ve DTM+SA grubunda 5. günden sonra referans ve çalı an hafıza hatalarında anlamlı bir ekilde azalma görülmü tür ($p<0.05$). SA grubunun 8., 9. ve 10. günlerinde deney 30 saniyede tamamlanmı tür ve deneklerde herhangi bir hataya rastlanılmamı tür ($p<0.05$). (Tablo 4.4, ekil 4.6).

Tablo 4.4. Tüm grupların çalı an hafıza hatası de erlerinin ortalama ve standart sapma verileri

		Çalı an Hafıza Hatası									
	Grup	I.RE	II.RE	III.RE	IV.RE	V.RE	VI.RE	VII.RE	VIII.RE	IX.RE	X.RE
K	Mean	,8182	,8636	,5000	,5500	,5455	,5455	,4000	,4000	,1000	,3182
	Std. Error of Mean	,23619	,21417	,25820	,15723	,12531	,18408	,19437	,12472	,06667	,12197
DTM	Mean	3,5714	3,1111	5,5625	5,3333	4,9444	5,6111	6,0000	7,6111	7,0000	6,1667
	Std. Error of Mean	,41445	,46976	,48585	,60093	,32750	,84893	,84163	,54504	,36324	,70711
SA	Mean	1,2857	1,0385	,8846	,6071	,6538	,0357	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
	Std. Error of Mean	,15473	,18311	,32103	,17524	,18244	,03571	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
DTM+SA	Mean	,5000	,1538	,1429	,1429	,1154	,0357	,0714	0,0000	,0714	,0357
	Std. Error of Mean	,13868	,08742	,06265	,08168	,06081	,03571	,04853	0,00000	,07143	,03571

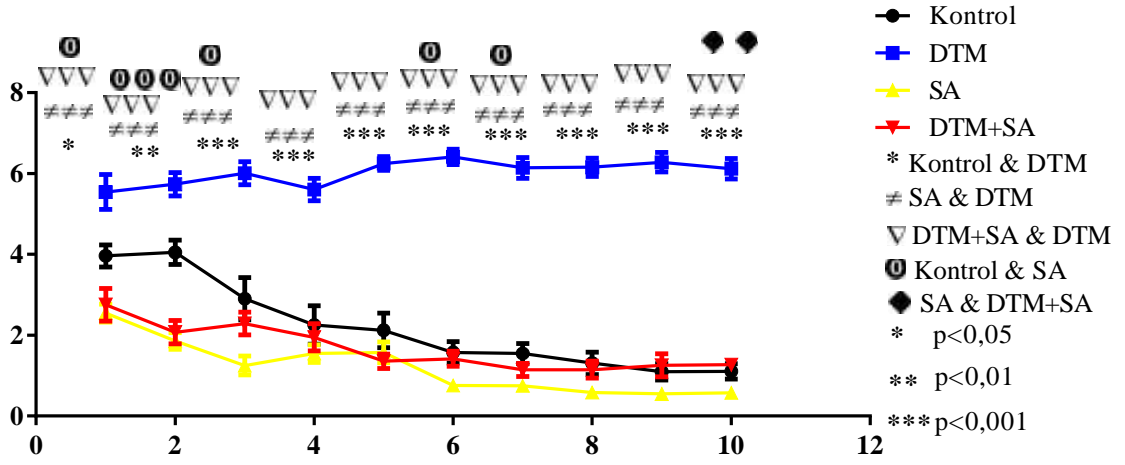


ekil 4.6. Grupların çalı an hafıza hata verilerinin istatistiksel olarak kar ıla tırılması

%80 Do ruluk Kriterini Tamamlama Süresi

%80 do ruluk kriterini tamamlama süresinde 1.-10. günlerde DTM grubuna kıyasla Kontrol, SA ve DTM+SA grupları arasında anlamlı bir azalma görülmü tür ($p<0.05$). DTM+ SA grubuna göre SA grubunda 10. günde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmü tür ($p= 0,009, p<0.05$). 1., 2., 3., 6. ve 7. günlerde Kontrol grubuna göre SA grubunda %80 do ruluk kriterini tamamlama süresinde anlamlı bir azalma

görümü tür ($p<0.05$). Kontrol grubu ile DTM+SA grubu arasında herhangi bir fark görülmemi tir ($p>0.05$) (ekil 4.7, Tablo 4.5).



ekil 4.7. Grupların %80 do ruluk kriterini tamamlama süresi verilerinin istatikselsel olarak karşılaştırılması

Sonuç olarak uzaysal hafıza ve çalı an hafıza de erlendirmesinde kullanılan RAM testi verilerine göre deltametrinin ö renme ve hafızayı bozdu u görümü tür. Sirinjik Asitin ö renme üzerine olumlu etkilerinin oldu u ve ö renmeyi güçlendirdi i sonucuna varılmı tür. Deltametrinin bozdu u ö renmeyi, uzaysal ve çalı an hafızayı antioksidan bir ajan olan SA uygulamasının düzeltti i görümü tür. SA'nın ö renme üzerine etkisi 10 günlük deney protokolünde özellikle 6. günden sonra görümü tür ($p<0.05$).

Tablo 4.5. Tüm grupların %80 do ruluk kriterini tamamlama süresi de erlerinin ortalama ve standart sapma verileri

Grup		I.RE	II.RE	III.RE	IV.RE	V.RE	VI.RE	VII.RE	VIII.RE	IX.RE	X.RE
K	Mean	3,9655	4,0515	2,9035	2,2565	2,1218	1,5795	1,5475	1,3090	1,0960	1,1085
	Std. Error of Mean	,27423	,30257	,52180	,47177	,42802	,26630	,24808	,27567	,19904	,19126
DTM	Mean	5,5428	5,7356	6,0067	5,6056	6,2494	6,4117	6,1417	6,1572	6,2794	6,1206
	Std. Error of Mean	,43198	,28711	,28059	,27834	,17239	,18836	,25709	,22408	,24280	,25234
SA	Mean	2,5513	1,8592	1,2500	1,5477	1,5775	,7558	,7488	,5804	,5471	,5796
	Std. Error of Mean	,22202	,20413	,23109	,21834	,25844	,13534	,11009	,09235	,06937	,06667
DTM +SA	Mean	2,7550	2,0750	2,2908	1,9468	1,3561	1,4188	1,1419	1,1519	1,2546	1,2718
	Std. Error of Mean	,40410	,28708	,28201	,33787	,18038	,18359	,16103	,20736	,28556	,15258

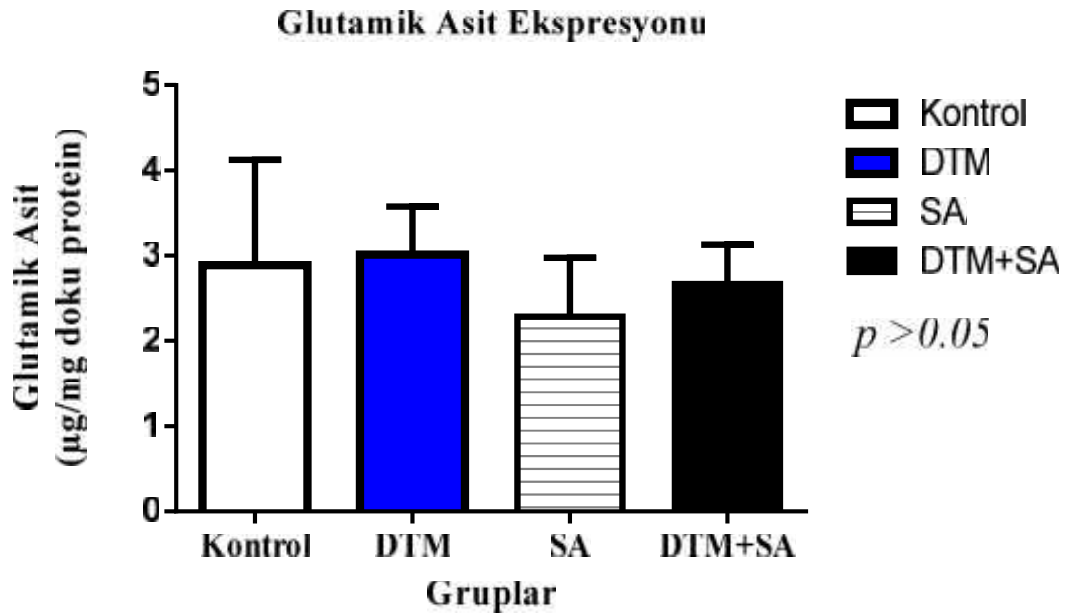
4.3. Dokularda Biyokimyasal Analiz Sonuçları

4.3.1. Hipokampus Glutamik Asit De erleri

Kontrol = $13,68 \pm 1,8$, Deltametrin = $15,06 \pm 0,99$, Sirinjik Asit = $13,89 \pm 1,66$, Deltametrin + Sirinjik Asit = $13,02 \pm 1,23$. Sirinjik Asit Grubu glutamik asit (ug/ml) de erlerine bakıldı ında Kontrol ve Deltametrin + Sirinjik Asit grubuna göre glutamik asit (ug/ml) açısından anlamlı bir artı olmu tur ancak gruplar arasında istatikselsel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamı tur ($p=0,114$, $p>0,05$). DTM grubu glutamik asit de erleri di er gruplara göre daha fazladır. Fakat bu fazlalık anlamlı de ildir ($p>0,05$) (Tablo 4.6, ekil 4.8). Bu sonuçlar DTM'nin glutamat ekspresyonunu bozdu unu göstermektedir.

Tablo 4.6. Grupların glutamik asit de erleri

Gruplar	Glutamik Asit ($\mu\text{g}/\text{mg}$ doku protein)	Glutamik Asit ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Protein (mg/ml)
Kontrol (K)	$2,89 \pm 1,23$	$13,68 \pm 1,8$	$5,48 \pm 2,05$
Deltametrin (DTM)	$3,02 \pm 0,56$	$15,06 \pm 0,99$	$5,17 \pm 1,15$
Sirinjik Asid (SA)	$2,28 \pm 0,69$	$13,89 \pm 1,66$	$6,51 \pm 1,64$
DTM+SA	$2,67 \pm 0,47$	$13,02 \pm 1,23$	$4,95 \pm 0,58$



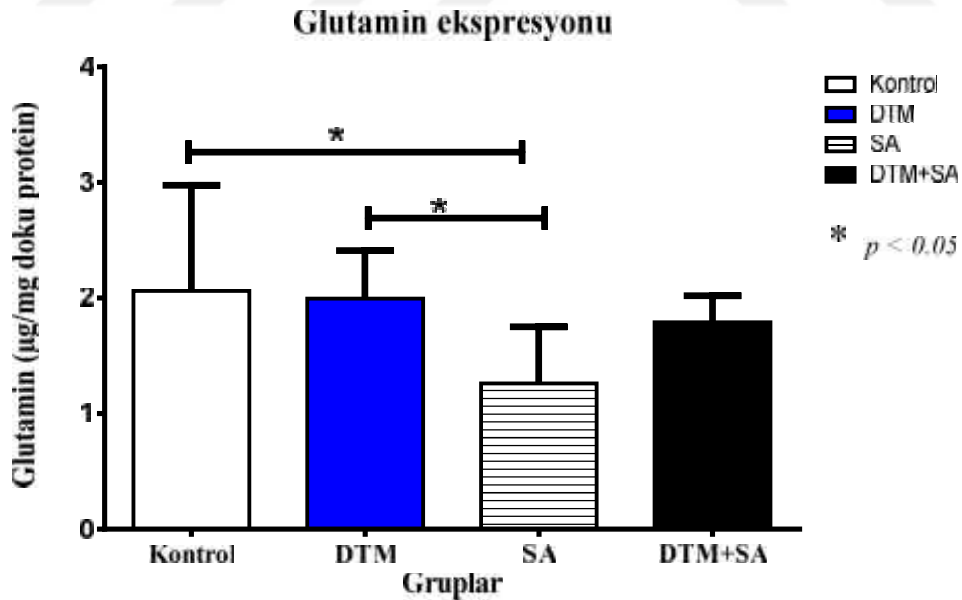
ekil 4.8. Grupların glutamik asit de erlerinin istatikselsel olarak kar ıla tırılması

4.3.2. Hipokampus Glutamin De erleri

Kontrol = $9,68 \pm 1,79$, Deltametrin = $9,92 \pm 0,56$, Sirinjik Asit = $7,52 \pm 1,34$, Deltametrin + Sirinjik Asit = $8,77 \pm 0,77$. statiksel olarak Deltametrin ve Deltametrin + Sirinjik Asit grupları arasında anlamlı bir farklılık yoktur. Kontrol ve Deltametrin grupları Sirinjik Asit grubuna göre glutamin ($\mu\text{g/ml}$) de erleri açısından istatikselsel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($p < 0,05$). Bu sonuçlar Sirinjik Asidin farklı bir yolak (asetil kolin, dopamin gibi) üzerinden öğrenmeyi güçlendirdiğini ve Deltametrinin de glutamin ekspresyonu üzerinden öğrenmeyi bozduğunu göstermektedir (Tablo 4.7, ekil 4.9).

Tablo 4.7. Grupların glutamin de erleri

Gruplar	Glutamin ($\mu\text{g/mg}$ doku protein)	Glutamin ($\mu\text{g/ml}$)	Protein (mg/ml)
Kontrol (K)	$2,06 \pm 0,91$	$9,68 \pm 1,79$	$5,48 \pm 2,05$
Deltametrin (DTM)	$2 \pm 0,41$	$9,92 \pm 0,56$	$5,17 \pm 1,15$
Sirinjik Asit (SA)	$1,26 \pm 0,49$	$7,52 \pm 1,34$	$6,51 \pm 1,64$
DTM+SA	$1,79 \pm 0,23$	$8,77 \pm 0,77$	$4,95 \pm 0,58$



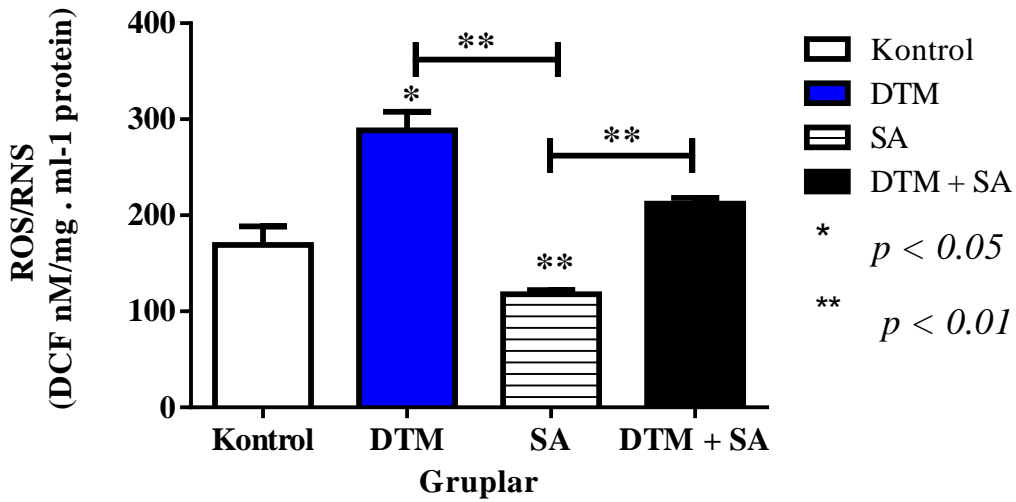
ekil 4.9. Grupların glutamin de erlerinin istatikselsel olarak karşılaştırılması

4.3.3. Hipokampus ROS/RNS Aktivite Sonuçları

Deltametrin (DTM) doku oksidan düzeyini kontrol ve sirinjik asit gruplarına göre arttırmı tır. Deltametrin verilen hayvanlara sirinjik asit verilmesi (DTM+SA) doku oksidan de erlerini deltametrin (DTM) grubuna göre dü ürmü olsa da iki grup arasında anlamlı farklılık bulunmamı tır ($p>0.05$). Sirinjik asit verilen gruplarda oksidan olu umu, deltametrin+sirinjik asit (DTM +SA) grubuna göre anlamlı olarak daha dü ük bulunmu tur ($p<0.05$). Kontrol grubu ROS/RNS de erleri ortalama =169,15 ± 19,31 DCF (nM)/mg.ml⁻¹ protein, Deltametrin ortalama = 288,63 ± 19,13 DCF (nM)/mg.ml⁻¹ protein, Sirinjik Asit (SA) = 117,97 ± 4,02 DCF (nM)/mg.ml⁻¹ protein, DTM+ SA= 212,23 ± 6,07 DCF (nM)/mg.ml⁻¹ protein (Tablo 4.8, ekil 4.10).

Tablo 4.8. Grupların ROS/RNS ortalama de erleri

Gruplar	DCF (nM)	Protein (mg/ml)	ROS/RNS ortalama de erleri (DCF nM/mg.ml ⁻¹ protein)
Kontrol (K)	2,56	0,015	169,15 ± 19,31
Deltametrin (DTM)	3,33	0,012	288,63 ± 19,13
Sirinjik Asit (SA)	2,02	0,018	117,97 ± 4,02
DTM+SA	2,99	0,014	212,23 ± 6,07



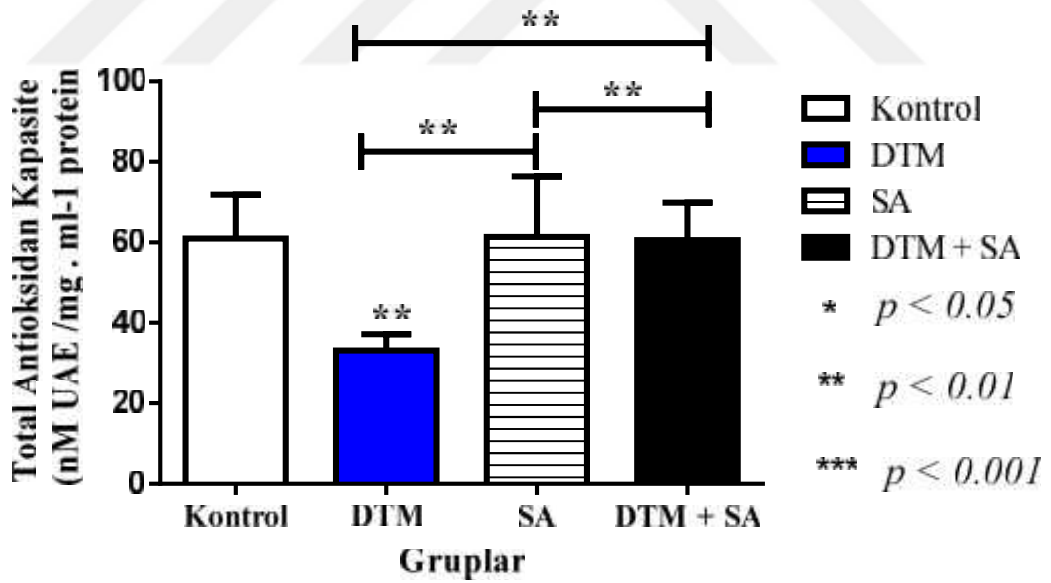
ekil 4.10. Grupların ROS/RNS de erlerinin istatikselsel olarak kar ıla tırılması

4.3.4. Hipokampüste Total Antioksidan Kapasite Sonuçları

Total Antioksidan Kapasiteye bakıldığında Kontrol = $60,94 \pm 10,96$ nM UAE/mg.ml⁻¹ protein, DTM = $33,14 \pm 4,09$ nM UAE/mg.ml⁻¹ protein, SA = $61,33 \pm 15,08$ nM UAE/mg.ml⁻¹ protein, DTM + SA = $61,78 \pm 9,78$ nM UAE/mg.ml⁻¹ protein olarak bulunmuştur. Sirinjik Asit Total Antioksidan düzeyini DTM ve DTM+SA'ya göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde arttırmıştır ($p < 0,05$). DTM de antioksidan kapasitesini kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşürmüştür ($p < 0,05$). DTM+SA ve SA'nın antioksidan düzeyi ortalamasının Kontrol ve DTM gruplarına göre fazla olması SA'nın antioksidatif etkisini göstermektedir (Tablo 4.9, ekil 4.11).

Tablo 4.9. Grupların TAK ortalama değerleri

Gruplar	Doku protein de erleri (mg/ml)	TAK ortalama de erleri (nM UAE/mg.ml ⁻¹ protein)
Kontrol (K)	7,32	$60,93 \pm 10,95$
Deltametrin (DTM)	7,48	$33,14 \pm 4,09$
Sirinjik Asid (SA)	7,28	$61,33 \pm 15,07$
DTM+SA	7,06	$61,78 \pm 9,78$



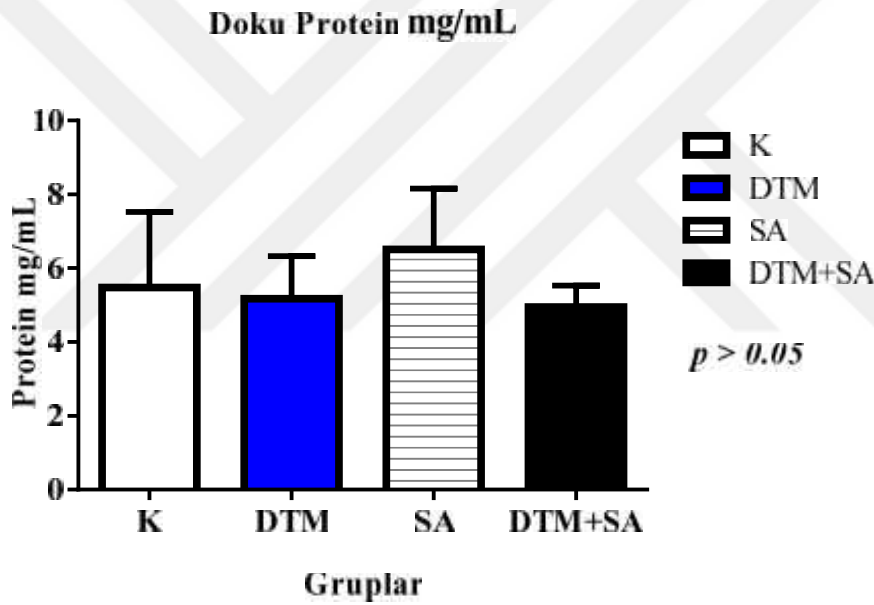
ekil 4.11. Grupların TAK de erlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması

4.3.5. Hipokampus Total Protein Sonuçları

Hipokampus total protein miktarı ortalamaları Sirinjik Asit grubunda diğer gruplara (DTM, DTM+SA, Kontrol) oranla daha fazla bulunmuştur. Fakat bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$) (ekil 4.12, Tablo 4.10).

Tablo 4.10. Grupların hipokampus total protein miktarı değerleri

Gruplar	Protein x DF DF=1/1000	Total Protein miktarı(mg/ml)
Kontrol (K)	5479,757	5,48
Deltametrin (DTM)	5174,089	5,17
Sirinjik Asid (SA)	6513,066	6,51
DTM+SA	4949,393	4,94

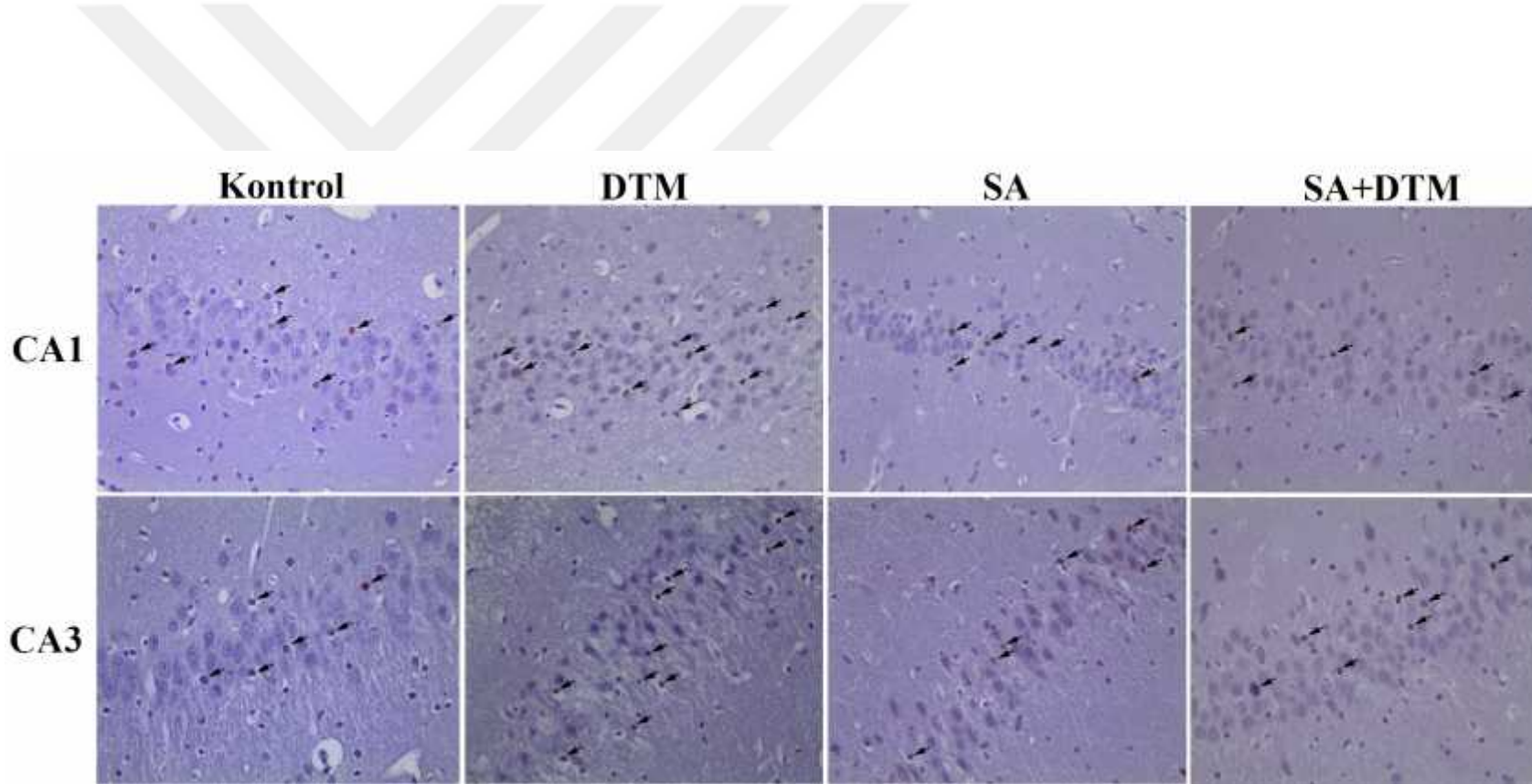


ekil 4.12. Grupların total protein değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması

4.4. Dokularda Histolojik Analiz Sonuçları

4.4.1. İmmünohistokimyasal Değerlendirmeler

İmmünohistokimyasal olarak, aktif kaspaz-3 ile boyanan hücre sayısı, alandaki total hücre sayısına oranlanarak apoptotik hücre oranı belirlenmiştir (ekil 4.13). Sonuçlar grafik haline getirilerek ortaya konulmuştur (ekil 4.14, ekil 4.15).



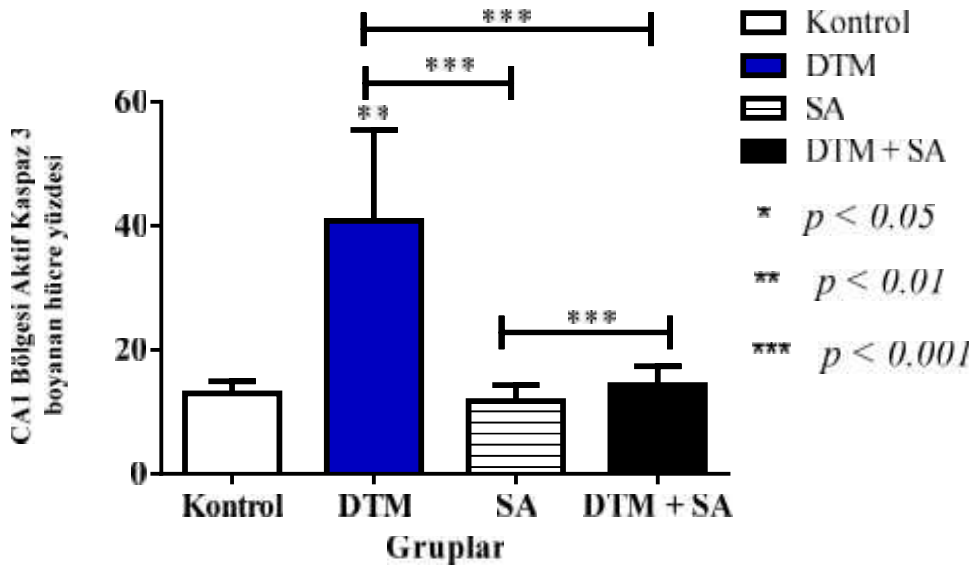
ekil 4.13. Hipokampus CA1 ve CA3 alanlarında immünohistokimyasal olarak, aktif kaspaz-3 ile boyanan hücre sayısı. (Siyah oklar aktif kaspaz-3 ile boyanan hücreleri göstermektedir).

CA1 Bölgesi ve Aktif Kaspaz-3 İmmünohistokimyası

Aktif kaspaz-3 immünohistokimyasal analizler yapılarak apoptotik hücre yüzdesi ortaya konuldu. CA1 bölgesinde en fazla reaksiyonun Deltametrin (DTM) grubunda olduğu görüldü (%36.52 ± 2.38). Kontrol grubunda %12.82 ± 0.35 olan bu oran, sirinjik asit (SA) grubunda %10.96 ± 0.31, sirinjik asit ve deltametrinin birlikte uygulandığı grupta (SA+DTM) ise %15.38 ± 0.67 olarak belirlendi (Tablo 4.11, ekil 4.14). Statistiki de erlendirmelerde, kontrol ve SA grubu ile; kontrol ile SA+DTM grupları arasında herhangi bir farklılık bulunmamıştır. Bununla birlikte DTM grubu, gerek kontrol, gerek SA ve SA+DTM gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksek apoptotik aktif kaspaz-3 boyanmış hücre oranı gösterdi ($p < 0.001$). Bununla birlikte SA ve SA+DTM grupları arasında da anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p < 0.001$). Bu sonuçlar sirinjik asidin tek başına veya deltametrinle birlikte verildiğinde CA1 apoptoz oranı üzerinde etkili olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.11. Grupların hipokampus CA1 alt alanı apoptoz de erleri

Gruplar	Ort. ± Std. Sapma	Maximum	Minimum
Kontrol (K)	12.82 ± 0.35	16	10
Deltametrin (DTM)	36.52 ± 2,38	54	17
Sirinjik Asit (SA)	10.96 ± 0.31	14	8
DTM+SA	15.38 ± 0.67	21	6



ekil 4.14. CA1 Aktif Kaspaz 3 İmmünohistokimya de erlendirmesi

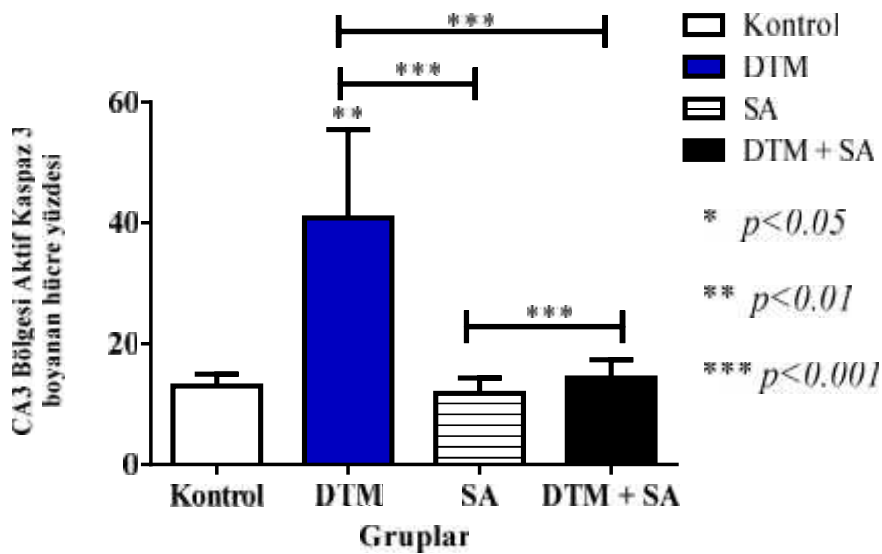
CA3 Bölgesi ve Aktif Kaspaz 3 İmmünohistokimyası

CA1 bölgesinde olduğu gibi, en yüksek apoptotik hücre yüzdesinin DTM grubunda olduğu tespit edildi (%40.81 ± 3.20). Bu gruptaki artmış apoptotik hücre yüzdesi histopatolojik bulguları da desteklemiştir. Kontrol grubu, SA ve SA+DTM grupları, sırasıyla %13.05 ± 0.41, %11.77 ± 0.50, ve %14.35 ± 0.60 apoptotik hücre indekslerine sahiptir (Tablo 4.12, ekil 4.15).

Tablo.4.12. Grupların hipokampus CA3 alt alanı apoptoz değerleri

Gruplar	Ort. ± Std. Sapma	Maximum	Minimum
Kontrol (K)	13.05 ± 0.41	16	10
Deltametrin (DTM)	40.81 ± 3.20	58	15
Sirinjik Asid (SA)	11.77 ± 0.50	19	9
DTM+SA	14.35 ± 0.60	21	9

statistiksel olarak karşılaştırmalar yapıldığında, CA1 bölgesindeki benzer şekilde kontrol ve SA grubu ile; kontrol ile SA+DTM grupları arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. DTM grubunda belirlenen artmış apoptotik hücre oranının, kontrol, SA ve SA+DTM gruplarına göre ise istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenirken ($p < 0.001$), bu farklılık SA ve SA+DTM grupları arasında da izlenmemiştir ($p < 0.001$). Dolayısıyla aktif kaspaz-3 immün boyanmalarını esas alarak değerlendirildiğimiz bulgularımızın, CA1 ve CA3 bölgeleri için benzer şekilde olduğu görülmüştür (ekil 4.15).



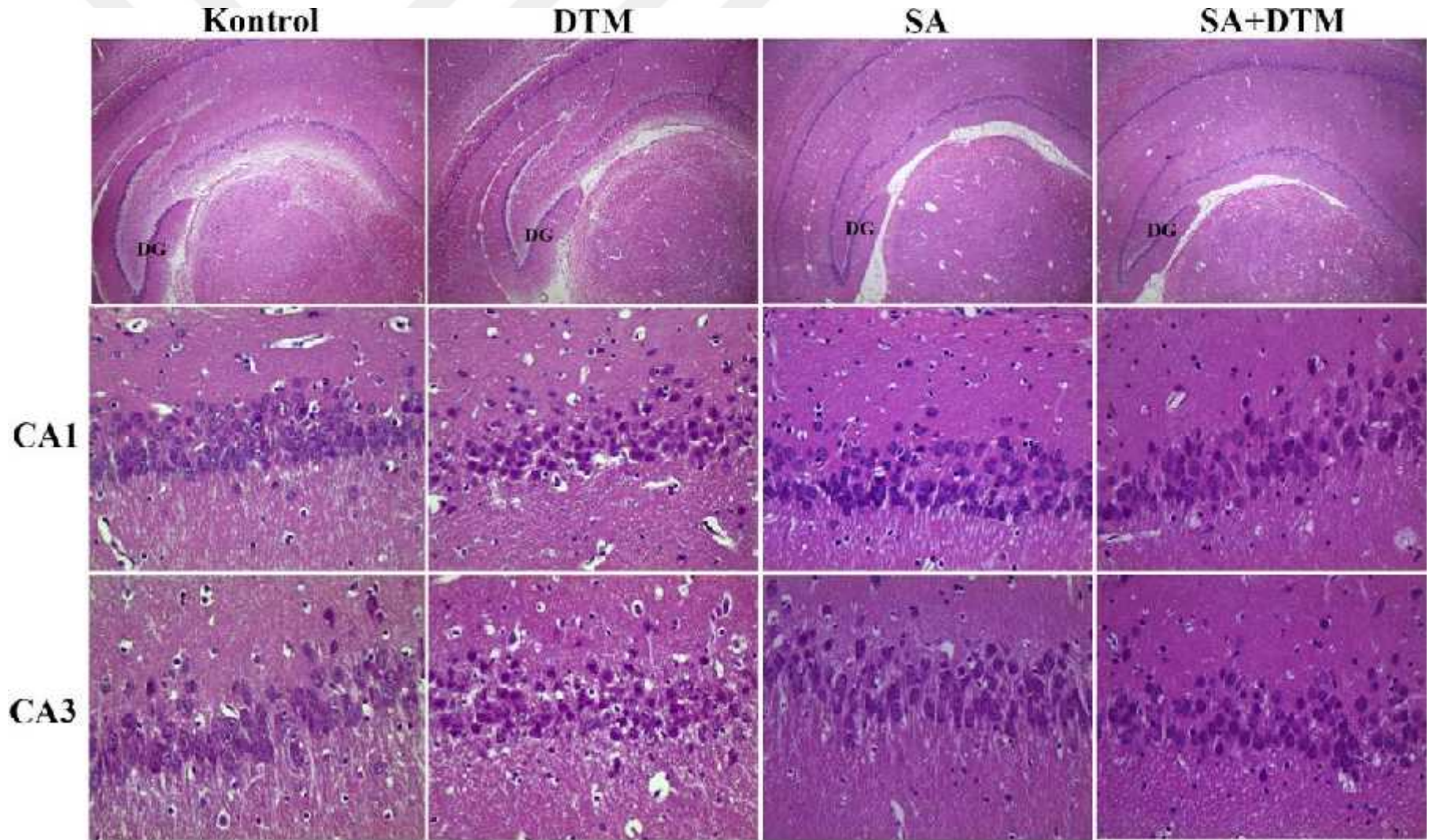
ekil 4.15. CA3 Aktif Kaspaz 3 İmmünohistokimya değerlendirilmesi

4.4.2. Histopatolojik Analiz Sonuçları

Hematoksilen ve Eozin (H & E) Boyama

I ık mikroskopu düzeyinde kontrol ve deney gruplarına ait örneklerde hipokampüs seviyesinde CA1 ve CA3 alanları de erlendirildi. Gerek CA1 gerekse CA3 alanları için en fazla nöronal hasarın DTM deney grubunda oldu u saptandı (ekil 4.16, ekil 4.17). Özellikle bu grupta hücre organizasyonunun bozuldu u ve bazı hücrelerin dejenerasyon karakteristiklerini gösterdi i dikkat çekmi tir. Deltametrin grubu ratlardan alınan kesitlerde hipokampüs'ün CA1 ve CA3 bölgeleri, nüklear piknoz ve hücre büzülmesi ile karakterize hücreler içermi tir (ekil 4.16).



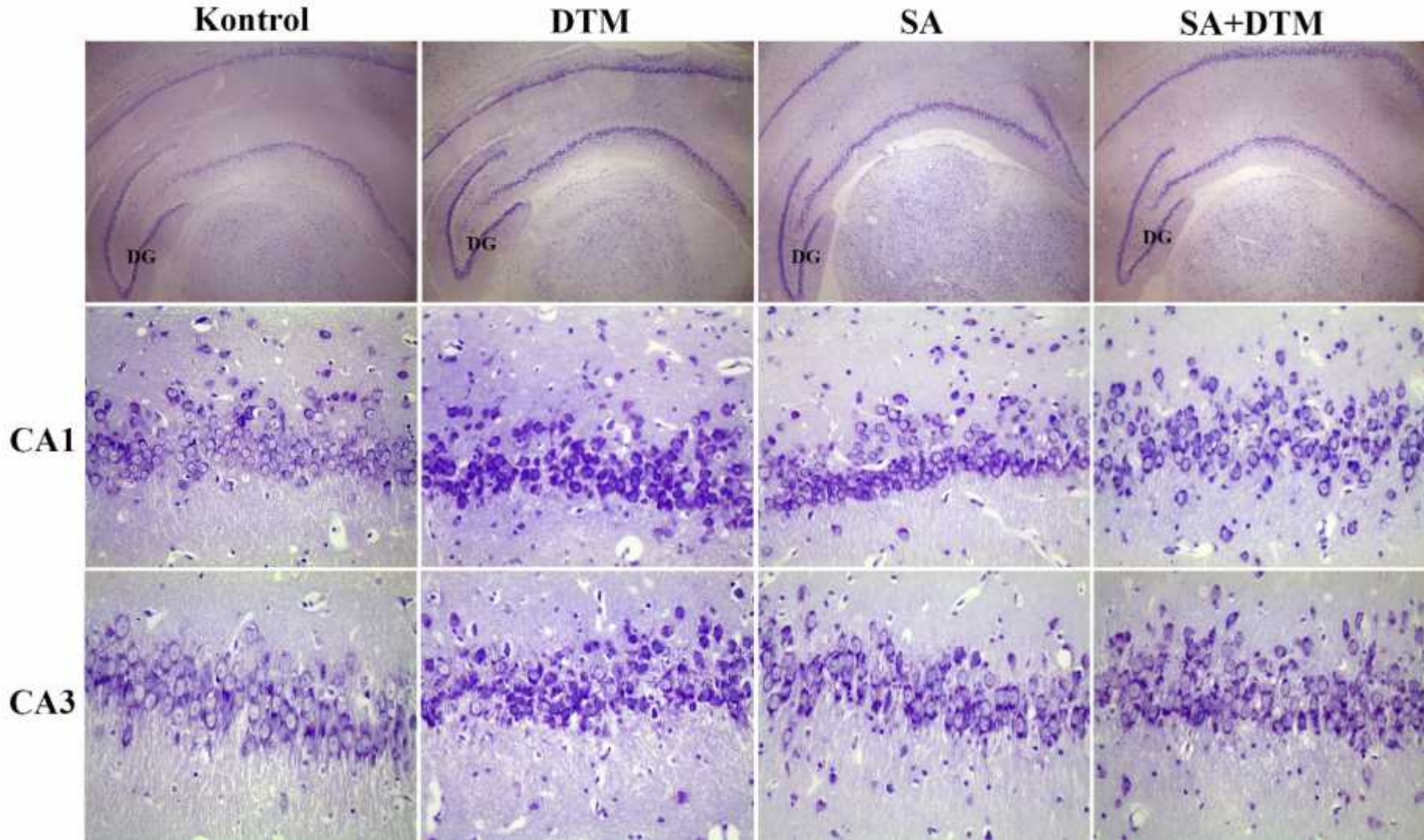


ekil 4.16. I ık mikroskobu düzeyinde kontrol ve deney gruplarına ait örneklerde hipokampüs seviyesinde CA1 ve CA3 alanlarının Hematoksilen ve Eozin (H & E) boyama sonuçları (DG = Gyrus Dentatus).

Krezil Viyolet Boyama

Bölge farkı olmaksızın histopatolojik olarak kontrol ve SA grupları arasında belirgin bir farklılık tespit edilmedi (ekil 4.17). Bununla birlikte SA+DTM grubu, sadece deltametrin grubu kadar olmasa da kondanse kromatin yapısına sahip, Nissl büzü mesi ile yoğun bazofili gösteren hasarlı nöron yapıları içermi tir (ekil 4.17). Deltametrin grubu ratlardan alınan kesitlerde hipokampusun CA1 ve CA3 bölgeleri krezil violet ile boyanmış bazı sinir hücrelerinin Nissl büzü mesi ile birlikte güçlü boyanarak, benzer morfolojik değişiklikleri içerdikleri görüldü (ekil 4.17).





ekil 4.17. I ık mikroskobu düzeyinde kontrol ve deney gruplarına ait örneklerde hipokampus seviyesinde CA1 ve CA3 alanları krezil viyoleto boyama sonuçları

5. TARTI MA

Deltametrin'in beyinde yüksek afiniteye sahip olması (Martinez-Larranaga, Anadon ve ark., 2003) burada bulunan en önemli eksitatör nörotransmitter olan glutamati akla getirmektedir. Glutamat'ın nöral uyarı ve plastisite gibi fonksiyonları vardır (Martinez-Larranaga, Anadon ve ark., 2003). Evonuk ve ark. yaptıkları çalı mada glutamat'ın hem amino asit yıkımı hem de fazla azotun atılmasının yanı sıra ö renme ve hafızada önemli bir rol oynadı ını belirtmektedirler (Evonuk, Baker ve ark., 2015; Sloniecka, Le Roux ve ark., 2015). Sinaptik aralı a aksonların presinaptik terminalinden salınan glutamat, sinyal iletiminden sonra astrositik glial hücreleri tarafından reabsorbe olur. Reabsorbsiyon a aması, özel glutamat veya eksitatör aminoasit taşıyıcı proteinleri ile sa lanır. Bu taşıyıcı proteinler, nörodejeneratif hastalıklarda az oranda bulunur (Rothstein, Van Kammen ve ark., 1995). Glutamat transportundaki aksaklık, sinaptik aralıktaki eksitatör nörotransmitterlerin sürekli glutamat reseptörünü uyarmasına ve hücre içine sürekli Ca^{+2} girmesine sebep olur. Hücre içindeki a ırı Ca^{+2} , proteinler ve mitokondriler tarafından depolanır (Van Den Bosch, Schwaller ve ark., 2002). Kalsiyum seviyesi depolanma kapasitesini a arsa inhibitör enzimler tarafından katalizlenerek, apoptozu olu turan reaktif oksijen ve nitrojen türleri gibi serbest radikallerin olu masına neden olur (Van Den Bosch, Schwaller ve ark., 2002). Glutamat aktivasyonu NMDA tipi glutamat reseptörlerinin a ırı aktivasyonunu indükleyebilir ve hücre içine a ırı Ca^{+2} alımı, hücrelere zarar veren oksidatif /nitrozatif türlerin olu umuna sebep olabilmektedir. (Quincozes-Santos, Bobermin ve ark., 2014). Benzer ekilde yaptı ımız çalı mada DTM verilen gruptaki ROS/RNS artı ı ve a ırı glutamat ekspresyonuna bakıldı ında glutamat aktivasyonu'nun intraselüler Ca^{+2} artı ına sebep olarak hücre hasarı yaratıp, serbest radikallerin olu umunu tetikledi ini dü ünmekteyiz.

Meyer ve arkadaş ları 2008 yılında yapımı oldukları çalı mada DTM verilen grupta DTM'yi ba layan reseptörleri inhibe ederek hipokampal nöronlardan glutamat salınımını hızlı bir ekilde arttırdı ını bulmu lardır. DTM potansiyel etkisini konsantrasyona ba lı bir ekilde hipokampal nöronların glutamaterjik a ların inhibisyonu yoluyla gerçekleştirir. Bu da presinaptik nöronlardan spontan glutamat salınımını ve glutamaterjik transmisyonu etkiler (Meyer, Carter ve ark., 2008). Glutamat seviyeleri DTM verilen grupta doza ba lı olarak artmı tır. DTM, 10

mg/kg'lık dozda, glutamat salınımında anlamlı olmayan bir artışa neden olurken, 20 mg/kg'lık DTM dozda, hipokampal glutamat salınımını daha çok arttırmıştır, 60 mg/kg DTM dozda ise çok yüksek glutamat ekspresyonuna yol açmıştır. Böylece hipokampüsteki ekstraselüler glutamat düzeyini artırıp, hücre dışı GABA'nın doza bağımlı bir şekilde ekspresyonunu azaltmıştır. En yüksek DTM dozunun glutamat üzerindeki uyarıcı etkileri Na^+ ve diğer iyon kanallarına (voltage duyarlı Ca^{2+} kanallarına) bağlıdır (Hossain, Suzuki ve ark., 2008). Bu sonuç, deltametrinin, hipokampüste hücre dışı glutamati arttırmak için hem Na^+ hem de Ca^{2+} kanalları üzerinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. Presinaptik sinir terminallerinde DTM ile güçlendirilmiş Ca^{2+} aracılı glutamat salınımı DTM ile indüklenen nörotransmitter salınımının kalsiyum alımıyla yüksek oranda ilişkili olduğunu bildirmektedir (Hossain, Suzuki ve ark., 2008). Hossain ve ark. deltametrin'in hipokampüste ekstraselüler glutamat düzeylerini doza bağımlı arttırdığını ve hipokampüsteki eksitator glutamaterjik nöronların inhibitör GABA salan internöronlarla modüle edildiğini göstermektedir (Hossain, Suzuki ve ark., 2008). Wu ve ark. deltametrin'in glutamata bağımlı bir yolak aracılığı ile nörodejenerasyonu indüklediğini bildirmektedir (Wu A ve Y., 2003). Rat cerebrokortikal sinaptosomal membranın, glutamat reseptörünü bulaşmasına DTM'nin etkisinin analiz edildiği çalışmalarda, DTM verilen grupta glutamat bulaşma oranı artarken, DTM nörotoksitesinin, glutamat'ın nörotransmitter mekanizmasını bozduğunu göstermektedir (Zhao X, Dai S ve ark., 1995; Zhao, Zhu X ve ark., 1997). Tayebati ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada kronik DTM maruziyetinin toksisiteye karşı toleransın gelişmesinde azalan nikotinik ve muskarinik reseptörler yoluyla nörotransmisyon mekanizmasını bozduğunu bildirmektedir (Tayebati, Di Tullio ve ark., 2009). Subakut DTM intoksikasyonuna maruz kalan ratların, kontrol deşerlerine göre deneyin erken ve son aşamalarında cerebral glutamik asit (eksitator amino asit) seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artışa neden olmuştur. Bu artışın sebebi olarak DTM'nin cerebral sinaptozomlarından Ca^{2+} 'ya bağımlı L-glutamat salınımını stimüle ettiğini ve DTM nörotoksitesinin glutamat metabolizmasının bozulmasında önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Aynı zamanda DTM maruziyetinin ratlarda orta derecede hipoglisemiyi karakterize eden nörolojik belirtiler ve semptomlar gösterdiğini ve orta derecede hipoglisemide alternatif enerji kaynakları olarak glutamat/glutamin gibi amino asitlerin kullanılmasının glutamat ve glutamin'in hücre dışı konsantrasyonlarında önemli bir artışa neden olduğunu bildirmektedir. Özellikle deltametrin'in alfa-siyano grubu ile

yüksek afiniteli glutamat alımında beyin dokusunun i levini bozabilece ini ve glutamata ba lı bir yoldan nörodejenerasyona yol açtı ını bildirmi lerdir (El-Zayat E, Rawi S ve ark., 2008). Yaptı ımız çalı mada literatürle uyumlu olarak DTM verilen gruplarda (Grup II ve IV) DTM'nin glutamat ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırdı ını saptadık. Glutamat ekspresyonunun artmasının nedeni olarak glutamat eksitotoksisitesini arttırarak glutamin ve glutamat nörotransmitter mekanizmasını bozdu nu veya glutamat transport sistemini bozarak, nörotoksik a ırı reaktif oksijen ve nitrojen türlerini (ROS/RNS) olu turdu nu dü ünmekteyiz. Olu an serbest oksijen radikalleri, glutamat uptake inhibisyonu veya iyon kanallı reseptörlerin a ırı aktivasyonu (hüce içi Ca^{+2} artı ı) ile glutamin ve glutamat ekspresyonunu bozmu olabilir. Ya da glutamata ba lı bir yoldan glutamat ve glutamin ekspresyonunu arttırarak nörodejenerasyonun indüklenmesine sebep olmu olabilir. Bu nedenle DTM nörotoksisitesinin geli imindeki potansiyel rolünü açıklı a kavu turmak için, DTM'nin glutamaterjik fonksiyon üzerindeki moleküler etkileri hakkında daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulmaktadır.

Yüksek dozda deltametrin'e maruz kalmak rat hipokampus hücrelerinde intraselüler Ca^{+2} konsantrasyonunu ve apoptotik hızı artırır (Li, Shi ve ark., 2002). *n vitro* ve *in vivo* çalı malar, deltametrin nörotoksisitesinin önemli bir mekanizmasının da apoptozda p53, bax, bcl-2 ve kaspazların ekspresyonu oldu nu göstermi tir (Cicerale, Lucas ve ark., 2010; Wu A, Li L ve ark., 2003; Wu A ve Y., 2000). Kaspaz, apoptoz mekanizmasında önemli rol oynayan bir sistein proteaz ailesidir (Alnemri, Livingston ve ark., 1996). Wistar albino erkek ratların nöron hücrelerinde deltametrin'in apoptotik hızı ve kaspaz-3 ekspresyonu üzerine etkisini ara tırmak için yapılan bir çalı mada, hipokampüste akut DTM'ye maruz kalan gruplarda apoptoz oranları daha yüksek oranda bulunmu tur. Deltametrin nörodejenerasyonunda rat hipokampusünde 24 ve 48 saat sonra dejenerasyon ve apoptoz indüklenmi tir (Wu A ve Y., 2000). Yüksek dozda deltametrine maruz kalan ratların nöronal hücrelerinde olu an apoptoz, kaspaz-3 aktivitesini ve ekspresyonunu etkiler (Huang, Qing ve ark., 2010; Li, Shi ve ark., 2004). Bu sonuçlar deltametrin'in, rat hipokampusünde dejenerasyon ve apoptotik hücre ölümüne neden oldu nu ve deltametrin nörotoksisitesinde apoptozun önemli bir rol oynadı ını dü ündürmektedir (Wu A, Li L ve ark., 2003; Wu A ve Y., 2000). Literatürde DTM'ye maruz kalan gruplarda hipokampus kalınlı ında ve a ırlı ında azalma (Husain, Malaviya ve ark., 1994),

nörodejenerasyon, CA1 ve CA3 alt alanlarında piramidal hücre yoğunluğunun azalması, vakualizasyon, nekrozis, glial hücre dejenerasyonu, *invivo* ve *invitro* apoptozis'in arttığı gözlenmiştir (Sharma, 2015; Tayebati, Di Tullio ve ark., 2009). Hematoksilen-eozin (H & E) boyama ile, 12,5 mg /kg'lık bir dozda deltametrin uygulanmasından sonra hipokampüste çok sayıda dejeneratif hücre (hücre çekirdeklerinin piknozisi, eozinofilik sitoplazmanın bozulması) görülmüştür. Dejeneratif hücrelerin benzer morfolojik değişiklikleri, krezil viyole ile de gözlenmiştir (Wu A ve Y., 2000). Çalışmamızda da her iki boyama yönteminde de DTM grubunda hipokampüste piknozis ve nörodejeneratif hücre sayısı diğer gruplara oranla daha fazla bulunmuştur ($p<0,05$). DTM grubundan alınan kesitlerde hipokampüste CA1 ve CA3 alt alanları bozuk hücre organizasyonu, nörodejeneratif hücreler, nüklear piknoz, hücre büzülmesi ve krezil violet ile boyanmış bazı sinir hücrelerinde ise nissl büzülmesi gibi morfolojik değişiklikler görülmüştür. Benzer şekilde çalışmamızda hipokampus CA3 alt alanlarında DTM verilen grupta diğer gruplara göre apoptoz oranı istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($p<0,05$). Mekansal öğrenme ve hafıza için önemli olan hipokampus CA1 bölgesi nöronları değerlendirildiğinde deltametrin grubunda diğer gruplara (Kontrol, Sirinjik Asit (SA), Deltametrin+Sirinjik Asit (SA+DTM)) göre apoptoz oranı istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($p<0,05$). Sirinjik Asit (SA) grubu ile Deltametrin+Sirinjik Asit (SA+DTM) grupları arasındaki fark da anlamlıdır ($p<0,05$). Bu sonuçlar Sirinjik Asit verilen grubun CA1 alt alanındaki apoptoz oranının diğerlerine göre daha az olduğunu ve DTM nörotoksitesine karşı etkili olduğunu göstermektedir. DTM ise artan oksidatif kapasite, serbest radikal indüksiyonu, nörotransmitter transport mekanizması veya uptake inhibisyonu yoluyla hipokampal nöral hücrelerde apoptozisi ve nörodejenerasyonu tetikleyebilir.

Hossain ve ark. tekrarlı deltametrin maruziyetinin hipokampus ve öğrenme üzerindeki etkilerini de değerlendirdikleri bir çalışmada deltametrin verilen grupta hipokampüsteki hücrelerin azalmasına ve hipokampal nevrojenezin potansiyel olarak bozulmasına neden olduğunu bildirmişlerdir ve sonuç olarak deltametrin maruziyetinin, hipokampal prekürsör proliferasyonundaki açığa yol açtığını ve bunun da öğrenme bozukluğu ile ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır (Hossain, DiCicco-Bloom ve ark., 2015). Chen ve arkadaşlarının oral gavaj ile 28 gün DTM uyguladıkları ratlarda hafızada önemli rol oynayan sinaptik proteinlerden olan N-metil-D-aspartat reseptör

1, sinaptofizin ve sinapsin'in e zamanlı olarak azaldı ını ve böylece uzaysal hafıza ve ö renmenin bozuldu unu bildirmi lerdir. Aynı zamanda hiperfosforilasyon yoluyla hipokampüste nöron kaybı ve kognitif anormallikler oldu unu saptamı lardır (Chen, Luo ve ark., 2012). Ratlarda hipokampus ve striatum üzerine yapılan bir çalı mada a ırlıklı olarak DTM uygulanan gruplarda davranı sal testlerin sonuçları (açık alan ve labirent testleri), anksiyete, ö renme, hafıza düzeyini ve genel motor aktivitesini kötü yönde etkiledi ini ve önemli davranı sal de i ikliklere sebep oldu unu göstermektedir (Gasmi, Rouabhi ve ark., 2017). Deltametrin ile ilgili yapılan bu çalı malar ö renme i levini belirgin bir e kilde bozdu unu göstermektedir (Husain, Husain ve ark., 1996; Husain, Malaviya ve ark., 1994). Benzer e kilde çalı mamızda kontrol, SA ve DTM+SA gruplarının do ruluk indeksleri DTM grubuna göre daha yüksektir ($p<0,05$). Testi bitirme süresinde (open field, radial arm maze testleri) kontrol grubuna göre özellikle SA grubunda anlamlı bir e kilde azalma görülürken, DTM+SA grubu kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir artı göstermi tir ($p<0,05$). Bu sonuçlar deltametrin maruziyetinin hipokampal nöronal hücreleri etkileyerek uzaysal hafıza ve ö renmenin bozuldu unu göstermektedir.

Literatürde deltametrin maruziyetinin cerebral dokularda lipid peroksidasyon düzeyini (Abdel-Daim, Abd Eldaim ve ark., 2014; Dubey, 2012; Galal, Khalaf ve ark., 2014; Li H. Y, Shi ve ark., 2005) ve antioksidan enzim kapasitesini farklı yollardan etkiledi i gösterilmi tir (Abdel-Daim, Abd Eldaim ve ark., 2014; Limon-Pacheco ve Gonsebatt, 2009; Tuzmen, Candan ve ark., 2008). Merkezi sinir sistemi, oksidatif hasardan daha fazla etkilenir. Bunun ba lıca nedenleri O_2 'nin yüksek kullanımı, az geli mi antioksidan a ı ve çok sayıda oksitlenebilen ya asitleri içermesidir (Tuzmen, Candan ve ark., 2007). Bu nedenle deltametrin verilen gruplarda beyindeki total protein seviyesinin azaldı ı ve bu azalmanın çe itli antioksidan enzim seviyesinin ve hücre içi geçirgenli in azalması nedeniyle oldu u bildirilmi tir (Sharma, 2015). Benzer e kilde çalı mamızda DTM verilen grupta oksidatif hasarın (ROS/RNS) di er gruplara göre daha fazla oldu u tespit edilmi tir.

DTM'ye maruz bırakılan ratlarda lokomotor aktivitenin azaldı ını gösteren birçok çalı ma yapılmı tır. Open field testleri ile DTM uygulanan gruplarda azalan lokomotor aktivite ve artan hareketsizlik süresi tespit edilmi tir. DTM, lokomotor aktivitede do za ba lı dü ü ler üretmektedir (Ricci E.L, Ferreira V ve ark., 2013). Spontan lokomotor aktivitede olan de i ikli in sebebi uygulama süresinin artı na ba lı olarak (kronik)

hipokampüste DTM ve metabolitlerinin birikimidir (Dayal, Parmar ve ark., 2001). Literatürle uyumlu olarak open field testlerinde Kontrol ve SA gruplarına göre DTM ve DTM+SA gruplarında alınan toplam yol, ortalama hız ve girilen kare sayısında yani lokomotor aktivite testinde anlamlı bir azalma görülmü tür ($p<0,05$). DTM'nin lokomotor aktivite üzerinde azaltıcı bir etkisinin oldu u, SA'nın ise lokomotor aktivite üzerinde arttırıcı bir etkiye sahip oldu u tespit edilmi tir ($p<0,05$). DTM verildikten sonra açık alan aktivitesinin azalması, (çok dü ük dozlarda bile olsa uygulama süresine ba lı olarak) arttı 'anksiyete' nin bir sonucu olabilir. SA verildikten sonra artan lokomotor aktivitenin sebebi ise antioksidatif ve nöroprotektif etkisinin anksiyete düzeylerini azaltması olarak açıklanabilir.

Biyoflavonoidlerin antiinflamatuvar aktivite, sitokrom P450 enzimlerinin inhibisyonu ve antiviral aktivite gibi çe itli biyolojik aktiviteleri gösterdikleri bilinmesine ra men, nöroprotektif rolleri tam olarak bilinmemektedir. Bu nedenle SA'nın biyolojik etkisinin ara tırıldı ı bir çalı mada SA'nın ROS ile indüklenen oksidatif hasara kar ı nöroprotektif etki gösterdi i tespit edilmi tir. Kang ve ark. apoptozise aracılık etti i bilinen staurosporin ile yaptıkları çalı mada, SA'nın nöroprotektif etkisinin hücre ölüm kaskadlarını veya apoptoza yol açan sinyallerin do rudan blokajı ile ili kili olabilece ini ortaya koymu lardır (Tokmak, Yuksel ve ark., 2015). Hipokampal nöral hücrelerin oksijen-glukoz yoksunlu unu takiben reperfüzyon yapılan *in vitro* bir çalı mada SA'nın farklı dozlarının hipokampus nöronlarında apoptozun azalmasına ve güçlü nöroprotektif etkiler göstermesine neden oldu u bildirilmi tir (Cao, Zhang ve ark., 2016). SA'nın oksidatif hasarı (ROS/RNS), apoptozu ve nörodejenerasyonu istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttı ı çalı malar vardır (Tokmak, Yuksel ve ark., 2015). Kim ve arkadaş larının sirinjik asidin hipokampus CA1 alt alanında potansiyel etkisini de erlendirdikleri bir çalı mada 20 mg/kg SA'nın glia aktivasyonunun inhibisyonunu sa layarak güçlü nöroprotektif etki gösterdi ini bildirmiş lerdir (Kim, Yan ve ark., 2013). Yaptı ımız çalı mada benzer ekilde SA tedavisinden sonra hipokampüste TAK de erlerinde artı ve CA1 ve CA3 alt alanlarında ROS/RNS seviyelerinde ve oksidatif hasarda bir azalma bulunmu tur ($p<0,05$). Bunun sebebi olarak SA'nın, nöral dokuları oksidatif hasara kar ı daha duyarlı hale getirdi ini ve bunun da antioksidan enzim indüksiyonu ile TAK düzeyini arttırdı ını dü ünülmekteyiz.

Kaspaz-3'ün (intrinsik yol) aktivasyonunun, nörodejeneratif hücrelerin neden oldu u apoptozda önemli ve irreversible oldu u bilinmektedir. Yapılan çalı malarda ratlarda

kaspaz-3 aktivitesinin sirinjik asit verilen gruba kıyasla di er gruplarda belirgin bir ekilde arttı ı bildirilmi tir (Tokmak, Yuksel ve ark., 2015). Bizim çalı mamızda da SA grubu DTM grubu ile kar ıla tırıldı ında daha az kaspaz-3-immünopozitif nöron gösterdi i ve DTM+SA grubu ile kar ıla tırıldı ında ise kaspaz-3 immünopozitif nöronların SA uygulandı ında önemli ölçüde azaldı ı görülmü tür ($p<0,05$). Hipokampüs CA1 ve CA3 alt alanları ortalamalarına bakıldı ında en az apoptotik hücre sayısı Sirinjik Asit ve SA+DTM gruplarında iken en fazla apoptoz gösteren hücreler DTM grubundadır ($p<0,05$). Bu sonuçlar sirinjik asidin tek ba ına veya deltametrinle birlikte verildi inde CA3 alt alanında apoptoz oranı üzerinde etkili oldu unu göstermektedir. Sirinjik asitin bu etkisini hipokampüsteki total antioksidan seviyesini arttırarak veya serbest radikalların inhibisyonu yoluyla apoptoz oranını azalttı ını dü ünmekteyiz.

Husein R ve ark. ratlarda deltametrin'in davranı sal, nörokimyasal ve nöromorfolojik etkilerini inceledikleri bir çalı mada oral olarak DTM'ye maruz bırakılan ratların vücut a ırlı ında 9. günden itibaren bir dü ü oldu unu ve maruziyetin 15.gününde vücut a ırlıklarının önemli ölçüde azaldı ını bulmu lardır (Husain, Husain ve ark., 1996). Benzer ekilde çalı mamızda DTM ve DTM+SA verilen gruplarda total vücut a ırlı ında istatikselsel olarak anlamlı bir ekilde azalma bulunmu tur ($p<0,05$). DTM+SA verilen grupta DTM grubuna göre bu azalma daha azdır. Vücut a ırlı ında en fazla artı ın SA verilen grupta oldu u tespit edilmi tir. Bu artı di er gruplara göre istatikselsel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Bu sonuçlar SA'nın DTM üzerinde a ırlık de i imi açısından olumlu bir etkisi oldu unu göstermektedir. DTM verilen gruplardaki azalmanın nedeni olarak kronik uygulanan DTM'nin (uygulama süresine ba lı) hayvanlarda oksidatif hasar olu turarak yem tüketimini azalttı ını ve kalori kaybı sonucu vücut a ırlı ı artı ımın azaldı ını dü ünmekteyiz.

Elde edilen bulgular sirinjik asidin, deneysel kronik deltametrin maruziyetine kar ı reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin hipokampüste olu turdu u oksidatif hasarı iyile tirebilece ini dü ündürmektedir. Ayrıca total antioksidan seviyesindeki artı a ba lı olarak nörodejenerasyonu ve bozulmu hücreyel organizasyonunu azaltabilece ini göstermektedir. Nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde etkili bir terapötik ajan olarak sirinjik asit kullanımını de erlendirmek için daha fazla deneysel çalı ma yapılması gerekmektedir. Özellikle sirinjik asidin hipokampüste hangi fizyolojik mekanizma yoluyla (resptörler, yolaklar ve nörotransmitterler) kısa ve uzun

sürelî hafıza üzerine etki etti ini ara tıran çalı malara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu alı madaki parametreler geleneksel Çin tıbbında kullanılan alternatif sirinjik asit tedavisinin gelecekte kullanılmak üzere daha da geli tirilmesi için yararlı bir temel sa lar.



6. SONUÇ ve ÖNER LER

- **Deltametrin (DTM) uygulanması;** Hipokampüste CA1 ve CA3 alt alanlarındaki total antioksidan kapasitesini, total protein miktarını azaltarak, ROS/RNS aktivitesini, apoptoz oranını arttırması toksisite çalı malarında kullanılabilce ini göstermektedir. Ancak ö renme deneyleri bulgularına göre ö renmeyi bozmu ve hipokampüste glutamat/glutamin ekspresyonunu arttırmı tır. Bunun sebebi olarak bozulmu glutamat/glutamin transport mekanizması, hücre içerisine a ırı glutamat alımı, eksitator glutamat resptörlerinin kineti inin de i mesi, glutamat eksitotoksitesisi ve ekspresyon mekanizmasının bozulmu olabilece ini göstermektedir.
- **Sirinjik Asit (SA) uygulanması;** Hipokampüste CA1 ve CA3 alt alanlarında total antioksidan kapasitesini, total protein miktarını arttırması, ROS/RNS aktivitesi ile apoptoz oranını azaltması SA'nın potansiyel koruyucu rolünü ve antioksidan etkisini göstermektedir. Ö renme deneyleri ile de kısa, uzun süreli hafıza ve ö renme üzerine olumlu etkisi görölmektedir fakat glutamin ekspresyonunu azaltması farklı bir yolak (dopamin, asetil kolin vs.) üzerinden hafızayı güçlendirdi ini dü ündürmektedir.
- **Deltametrin ve Sirinjik Asidin (DTM+SA) birlikte uygulanması;** DTM+SA birlikte verildi inde DTM grubu'na göre total antioksidan kapasiteyi ve total protein miktarını arttırması SA'nın DTM üzerindeki potansiyel antioksidan etkisini göstermektedir ve hipokampus CA1 ve CA3 alt alanlarındaki apoptoz oranını ve ROS/RNS aktivitesini azaltması ise DTM'nin oksidatif etkisini azalttı ını göstermektedir. Glutamat/glutamin ekspresyonunu DTM grubu kadar bozmamı olsa da kısa/uzun süreli hafıza ve ö renme testlerinde de DTM grubu'na göre daha iyi sonuçlar elde edilmi tir.
- **Uygulama Süresi;** Deltametrin'in akut toksisitesi kapsamlı bir ekilde ara tırılmı ken, Wistar Albino türü ratlar'ın DTM'nin kronik (2 ay) maruziyeti üzerine daha az bilgi mevcuttur. DTM'nin kronik etkisine bakılan bu çalı mada oksidatif ve apoptotik etkisi tespit edilmi tir. Fakat uygulama süresine ba lı olarak DTM nörotoksitesisi, nörodejenerasyonu, glutamat ve glutamin ekspresyon düzeyi, nörodejeneratif hücre sayısı, hipokampüsteki piknozis,

ratlarda gözlenen davranışsal değişiklikler, vücut ağırlığı, lokomotor aktivite ve anksiyete düzeyi deşmektedir.

- **Sirinjik Asidin potansiyel koruyucu etkisi;** Literatürde Wistar albino ratların deltametrin'in kronik toksisitesine karşı sirinjik asidin hipokampus CA1 ve CA3 alt alanlarındaki nöron morfolojisi üzerindeki potansiyel nöroprotektif etkisini, antioksidan potansiyelini uzun, kısa süreli hafıza ve öğrenme üzerindeki etkisini deşlendiren bir çalışmada yoktur. Öğrenme deneyleri ile SA'nın istatistiksel olarak anlamlı etki gösterdiği açıktır. DTM ile birlikte uygulandıında DTM grubuna göre farklılık göstermesi DTM üzerinde etkisiz olduğunu göstermez. SA tedavisinden sonra hipokampüste antioksidan enzim indüksiyonu ile TAK düzeyini arttırması, CA1/CA3 alt alanlarında ROS/RNS seviyelerinde, oksidatif hasarda bir azalma olması antioksidatif ve nöroprotektif etkisini göstermektedir. DTM grubunda belirlenen artmış apoptotik hücre oranının, SA ve SA+DTM gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı olması, SA'nın antiapoptotik etkisini göstermektedir. Vücut ağırlığındaki anlamlı artışı, lokomotor aktivite üzerinde arttırıcı etkisi, öğrenme testlerini bitirme süreleri ve doşuluk indeksleri kısa/uzun süreli hafıza üzerindeki anlamlı etkisini göstermektedir. Bu nedenle SA'nın moleküler mekanizmasının aydınlatılabilmesi için tek doz yerine farklı dozaj çalışmaları ile hipokampüsteki farklı nörotransmitterler, reseptörler veya yollar (dopamin, asetil kolin gibi) üzerinden hafıza üzerindeki etkisini incelemek, yeni ve alternatif bir tedaviye yol açabilir.
- Uyguladığımız antioksidan madde ve dozu hipokampüste oksidatif stres, apoptoz ve nörodejenerasyonu azaltmaktadır. Bu nedenle çalışmanın biyokimyasal ve histopatolojik sonuçları ile SA'nın alternatif bir tedavi yöntemi olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.
- Sirinjik asidin nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde ilaçların geliştirilmesi için potansiyel bir kaynak olabileceğini düşünmekteyiz.
- Literatürde hipokampüste deltametrin ile indüklenen oksidatif stres üzerine çok çeşitli antioksidanlar kullanılmıştır. Fakat deltametrinle oluşturulan oksidatif hasarı ve apoptoz'u önlemek için sirinjik asit'in (SA) olası koruyucu etkisini

gösteren bunun yanı sıra hafıza ve öğrenme üzerindeki etkisini de erlendiren deneysel bir çalışmada bulunmamaktadır. Sirinjik asidin glutamat ve glutamin ekspresyonu üzerinden öğrenmeyi etkilemediği açıktır. Bu nedenle sirinjik asidin öğrenme deneylerindeki etkilerine bakılarak öğrenme ve hafıza bozukluklarında hangi yollar (asetil kolin, dopamin, GABA) üzerinden hafızayı güçlendirebiliriz ileride yapılacak çalışmalarla araştırılması gerekir.

- Bulgularımız halk sağlığı açısından deltametrinle etkilenmiş yiyecek ve su tüketimi yoluyla maruz kalanlara, antioksidan özellikleri nedeniyle sirinjik asit takviyesinin deltametrin nörotoksitesine karşı olumlu etkilerinin olabileceğini göstermektedir.
- Sirinjik asit'in (SA) ve DTM+SA'nın hipokampüsteki total antioksidan aktivitesine bakılarak serbest radikallerin inhibisyonuna sebep olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle deltametrinin oluşturduğu hasarın önlenmesinde özellikle uygulayanlara destek verilebileceği ya da ilaç geliştirilmesi amacıyla SA'dan yararlanılabileceğini düşünmekteyiz.
- SA tedavisi histopatolojik ve immünohistokimyasal ekspresyon açısından DTM ile indüklenen apoptoza karşı koruyucu sağlamaktadır.
- Bu sonuçlar deltametrin kaynaklı nörotoksitesite mekanizmalarına ve sirinjik asidin öğrenme, glutamat/glutamin ekspresyonu, aktif kaspaz-3 ekspresyonu, total antioksidan kapasite, reaktif oksijen ve nitrojen türlerine etkilerine dair önemli bilgiler sağlar. Bu nedenle deltametrin maruziyeti ile oluşan nöron hasarına karşı nöroprotektif önlemler hakkında daha fazla araştırma yapılmasının gerektiğini düşündürmektedir.
- Literatürde kronik sirinjik asidin kısa ve uzun süreli hafıza üzerindeki etkilerini de erlendiren (open field, radial arm maze), ek olarak kronik deltametrin nörotoksitesine karşı potansiyel koruyucu rolünü araştıran herhangi bir çalışmada yapılmamıştır.

KAYNAKLAR

Abaza MSI, Afzal M. ve ark. Anti-mitogenic and Chemo-Sensitizing Activities of Syringic Acid in Human Colorectal Cancer Cells: potential molecular mechanisms of action. *Faseb Journal*. 2011;25(1):1.

Abdel-Daim M, Abd Eldaim MA. ve ark. *Trigonella foenum-graecum* protection against deltamethrin-induced toxic effects on haematological, biochemical, and oxidative stress parameters in rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 2014;92(8): 679-685.

Abdollahi M, Mostafalou S, Pournourmohammadi S, Shadnia S. Oxidative stress and cholinesterase inhibition in saliva and plasma of rats following subchronic exposure to malathion. *Biochem. Physiology. Part C*. 2003;137:29–34.

Abdollahi MR, Shadnia A, Nikfar S, Rezaie S. Pesticides and oxidative stress: a review. *Med Sci Monit*. 2004;10(6): 141-147.

Adamec RE. Partial Kindling of the Ventral Hippocampus - Identification of Changes in Limbic Physiology Which Accompany Changes in Feline Aggression and Defense. *Physiology & Behavior*. 1991;49(3): 443-453.

Adibhatla RM, Hatcher JF. Altered lipid metabolism in brain injury and disorders. *Subcell Biochem*. 2008;49:241-268.

Afoke IK, Igho OE. A histomorphologic analysis of pyrethroid pesticide on the cerebrum and cerebellum of adult albino rats. *Journal of Experimental and Clinical Anatomy*. 2014;13(2): 54-59.

Allard JP, Aghdassi E. ve ark. Oxidative stress and plasma antioxidant micronutrients in humans with HIV infection. *Am J Clin Nutr*. 1998;67 (1): 143-147.

Alnemri ES, Livingston DJ. ve ark. Human ICE/CED-3 protease nomenclature. *Cell*. 1996;87(2): 171.

Amaral D, Lavenex P. Ch 3. Hippocampal Neuroanatomy. In Andersen P, Morris R, Amaral D, Bliss T and O. K. J. *The Hippocampus Book*. Oxford University Press; 2006.

Amaral DG, Insausti R. Hippocampal formation. Paxinos G. The Human Nervous System. California: Academic Press Inc; 1990.

Anagnostaras SG, Gale GD. ve ark. The hippocampus and Pavlovian fear conditioning: reply to Bast et al. Hippocampus. 2002;12(4): 561–565.

Andersen P, Bliss TV. ve ark. Lamellar organization of hippocampal excitatory pathways. Acta Physiol Scand. 1969;76(1): 4A-5A.

Andersen P, Morris R. ve ark. The Hippocampus Book. New York Oxford University Press; 2007.

Areti A, Yerra VG. ve ark. Oxidative stress and nerve damage: role in chemotherapy induced peripheral neuropathy. Redox Biol. 2014;2:289-295.

Arumugam B, Balagangadharan K. ve ark. Syringic acid, a phenolic acid, promotes osteoblast differentiation by stimulation of Runx2 expression and targeting of Smad7 by miR-21 in mouse mesenchymal stem cells. J Cell Commun Signal. 2018.

Aydin M, Yildiz A. ve ark. The protective role of glutamine against acute induced toxicity in rats. Toxicol Mech Methods. 2015;25(4): 296-301.

Aziz MH, Agrawal AK. ve ark. Neurodevelopmental consequences of gestational exposure (GD14-GD20) to low dose deltamethrin in rats. Neurosci Lett. 2001;300(3): 161-165.

Ballı E, Mazmanci B, Mazmanci MA, Ünyayar A, Akarsuba 1 , Çömeleko lu U. Deltametrinin karaci erde olu turdu u lipit peroksidasyonunda Funalia trogii' nin koruyucu rolü. Mersin Üniversitesi Sa lık Bilimleri Dergisi 2009;2:23-29.

Banerjee BD, Seth V. ve ark. Pesticide-induced oxidative stress: perspectives and trends. Rev Environ Health. 2001;16(1): 1-40.

Barlow SM, Sullivan FM. ve ark. Risk assessment of the use of deltamethrin on bednets for the prevention of malaria. Food and Chemical Toxicology. 2001;39 (5): 407-422.

Barr ML, Klernam JA. The human nervous system. Philadelphia: JB Lippincott Comp; 1988.

Berry A, Tomidokoro Y. ve ark. Human chorionic gonadotropin (a luteinizing hormone homologue) decreases spatial memory and increases brain amyloid-beta levels in female rats. *Horm Behav.* 2008;54(1): 143-152.

Bir SC, Ambekar S. ve ark. Julius Caesar Arantius (Giulio Cesare Aranzi, 1530-1589) and the hippocampus of the human brain: history behind the discovery. *Journal of Neurosurgery.* 2015;122(4): 971-975.

Bliss TV, Collingridge GL. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature.* 1993;361(6407): 31-39.

Bogert M, Jacob E. The synthesis of certain pyrogallol ethers, including a new acetophenetide derived from the ethyl ether of syringic acid". *Journal of the American Chemical Society.* 2013;41(5): 798–810.

Brewer JS, Bellinger SA. ve ark. Enriched Open Field Facilitates Exercise and Social Interaction in 2 Strains of Guinea Pigs (*Cavia porcellus*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science.* 2014;53(4): 344-355.

Brodie ME, Opacka J. Dissociation between circling behaviour and striatal dopamine activity following unilateral deltamethrin administration to rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1985;331(4): 341-346.

Brown MF, Farley RF. ve ark. Remembrance of places you passed: Social spatial working memory in rats. *Journal of Experimental Psychology-Animal Behavior Processes.* 2007;33(3): 213-224.

Buck LB. The search for odorant receptors. *Cell.* 2004;116(2):117-119.

Bunge SA, Ochsner KN. ve ark. Prefrontal regions involved in keeping information in and out of mind. *Brain.* 2001;124(10): 2074-2086.

Burr SA, Ray DE. Structure-activity and interaction effects of 14 different pyrethroids on voltage-gated chloride ion channels. *Toxicol Sci.* 2004;77(2): 341-346.

Caballero-Solares A, Viegas I. ve ark. Diets supplemented with glutamate or glutamine improve protein retention and modulate gene expression of key enzymes of hepatic metabolism in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture*. 2015;444:79-87.

Cao Y, Zhang L. ve ark. Neuroprotective effects of syringic acid against OGD/R-induced injury in cultured hippocampal neuronal cells. *Int J Mol Med*. 2016;38(2):567-573.

Cavallucci V, D'Amelio M. Matter of life and death: the pharmacological approaches targeting apoptosis in brain diseases. *Curr Pharm Des*. 2011;17(3): 215-229.

Celik A, Mazmancı B, Camlica Y, Comelekoglu U, Askin A. Evaluation of cytogenetic effects of lambda-cyhalothrin on Wistar rat bone marrow by gavage administration. *Ecotox Environ Safe* 2005 61:128-133.

Cerutti PA, Trump BF. Inflammation and oxidative stress in carcinogenesis. *Cancer Cells*. 1991;3(1): 1-7.

Chandra N, Jain NK. ve ark. Deltamethrin induced toxicity and ameliorative effect of alpha-tocopherol in broilers. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2013;90(6): 673-678.

Chen D, Shi N. ve ark. Effects of deltamethrin on permeability of mitochondrial membrane and expression of cytochrome C in brain tissue of rats. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*. 2006;24(6): 326-329.

Chen NN, Luo DJ. ve ark. Pesticides induce spatial memory deficits with synaptic impairments and an imbalanced tau phosphorylation in rats. *J Alzheimers Dis*. 2012;30(3): 585-594.

Cho JY, Moon JH. ve ark. Antimicrobial activity of 4-hydroxybenzoic acid and trans 4-hydroxycinnamic acid isolated and identified from rice hull. *Biosci Biotechnol Biochem*. 1998;62(11): 2273-2276.

Cicerale S, Lucas L. ve ark. Biological activities of phenolic compounds present in virgin olive oil. *Int J Mol Sci*. 2010;11(2):458-479.

Cikman O, Söylemez O. ve ark. Antioxidant Activity of Syringic Acid Prevents Oxidative Stress in l-arginine-Induced Acute Pancreatitis: An Experimental Study on Rats. *Int Surg.* 2015;100(5): 891-896.

Copara MS, Hassan AS. ve ark. Complementary roles of human hippocampal subregions during retrieval of spatiotemporal context. *J Neurosci.* 2014;34(20): 6834-6842.

Cotoras M, Vivanco H. ve ark. In vitro and in vivo evaluation of the antioxidant and prooxidant activity of phenolic compounds obtained from grape (*Vitis vinifera*) pomace. *Molecules.* 2014;19(12): 21154-21167.

Crofton KM, Kehn LS. ve ark. Vehicle and route dependent effects of a pyrethroid insecticide, deltamethrin, on motor function in the rat. *Neurotoxicol Teratol.* 1995;17(4): 489-495.

Daitz HM, Powell TP. Studies of the connexions of the fornix system. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1954;17(1): 75-82.

Dalmagro AP, Camargo A. ve ark. Morus nigra and its major phenolic, syringic acid, have antidepressant-like and neuroprotective effects in mice. *Metabolic Brain Disease.* 2017;32(6): 1963-1973.

Daumas S, Halley H. ve ark. Encoding, consolidation, and retrieval of contextual memory: differential involvement of dorsal CA3 and CA1 hippocampal subregions. *Learn Mem.* 2005;12(4): 375-382.

Dayal M, Parmar D. ve ark. Induction of rat brain cytochrome P450s (P450s) by deltamethrin: regional specificity and correlation with neurobehavioral toxicity. *Neurotox Res.* 2001;3(4): 351-357.

Dekeyzer S, Kock ID. ve ark. Unforgettable-a pictorial essay on anatomy and pathology of the hippocampus. *Insights Imaging.* 2017;8(2): 199-212.

Denenberg VH. Open-field behavior in the rat: what does it mean? *Ann N Y Acad Sci.* 1969;159(3): 852-859.

Doi H, Kikuchi H. ve ark. Motor neuron disorder simulating ALS induced by chronic inhalation of pyrethroid insecticides. *Neurology*. 2006;67(10): 1894-1895.

Dong XX, Wang Y. ve ark. Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta Pharmacol Sin*. 2009;30(4): 379-387.

Dubey N, Raina R, Khanc AM. Toxic effects of deltamethrin and fluoride on antioxidant parameters in rats. *Fluoride* 2012;45(3): 242-246.

Dubreuil D, Tixier C. ve ark. Does the radial arm maze necessarily test spatial memory? *Neurobiology of Learning and Memory*. 2003;79(1): 109-117.

Duchen MR. Mitochondria, calcium-dependent neuronal death and neurodegenerative disease. *Pflugers Arch*. 2012;464(1): 111-121.

Durackova Z. Some Current Insights into Oxidative Stress. *Physiological Research*. 2010;59(4): 459-469.

Anderson EB, Grossrubatscher I. ve ark. Dynamic Hippocampal Circuits Support Learning and Memory-Guided Behaviors. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 2014;79:51-58.

El-Zayat E, Rawi S, ve ark. Delayed Effects of Acute Deltamethrin Toxicity on Brain and Blood Monoamines and Free Amino Acids: Therapeutic Role of Selenium-Supplementation. *Research Journal of Environmental Toxicology*. 2008;2(1): 35-52.

Evonuk KS, Baker BJ. ve ark. Inhibition of System Xc(-) Transporter Attenuates Autoimmune Inflammatory Demyelination. *J Immunol*. 2015;195(2): 450-463.

Fanselow MS, Dong HW. Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? *Neuron*. 2010;65(1): 7-19.

Farag MA, Hufman D. ve ark. Metabolic profiling and systematic identification of flavonoids and isoflavonoids in roots and cell cultures of *Medicago truncatula* using HPLCUV-ESI-MS and GC-MS. *Phytochem* 2007;68:342-354.

Galal MK, Khalaf AA. ve ark. Vitamin E attenuates neurotoxicity induced by deltamethrin in rats. *BMC Complement Altern Med.* 2014;14:458.

Galloway PG, Roessmann U. Neuronal karyorrhexis in Sommer's sector in a 22-week stillborn. *Acta Neuropathol.* 1986;70(3-4): 343-344.

Galvez MC, Barroso CG. ve ark. Analysis of Polyphenolic Compounds of Different Vinegar Samples. *Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung.* 1994;199(1): 29-31.

Gasmi S, Rouabhi R. ve ark. Effects of Deltamethrin on striatum and hippocampus mitochondrial integrity and the protective role of Quercetin in rats. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2017;24(19): 16440-16457.

Gilbert ME, Acheson SK. ve ark. An Examination of the Proconvulsant Actions of Pyrethroid Insecticides Using Pentylenetetrazol and Amygdala Kindling Seizure Models. *Neurotoxicology.* 1990;11(1): 73-86.

Gray AJ. Pyrethroid structure-toxicity relationships in mammals. *Neurotoxicology.* 1985;6(2): 127-137.

Grosse G, Thiele T. ve ark. Deltamethrin differentially affects neuronal subtypes in hippocampal primary culture. *Neuroscience.* 2002;112(1): 233-241.

Guimaraes CM, Giao MS. ve ark. Antioxidant activity of sugar molasses, including protective effect against DNA oxidative damage. *J Food Sci.* 2007;72(1): C039-043.

Guo L, Sun M. ve ark. Effects of melatonin on nerve cell apoptosis and expression of Bcl-2 & cytochrome C genes in rat cerebrum with deltamethrin induction. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi.* 2008;26(4): 215-218.

Gupta A, Agarwal R. ve ark. Functional impairment of blood-brain barrier following pesticide exposure during early development in rats. *Hum Exp Toxicol.* 1999;18(3): 174-179.

Gupta A, Nigam D. ve ark. Effect of pyrethroid-based liquid mosquito repellent inhalation on the blood-brain barrier function and oxidative damage in selected organs of developing rats. *J Appl Toxicol.* 1999;19(1): 67-72.

Güven M, Aras AB. ve ark. The protective effect of syringic acid on ischemia injury in rat brain. *Turk J Med Sci.* 2015;45(1): 233-240.

Habr SF, Macrini DJ. ve ark. Repeated forced swim stress has additive effects in anxiety behavior and in catecholamine levels of adult rats exposed to deltamethrin. *Neurotoxicology and Teratology.* 2014;46:57-61.

Hallenbeck WH, Cunningham-Burns KM. *Pesticides and Human Health*; New York: Springers-Verlag; 1985, 118.

Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr.* 1993;57(5): 715-724.

Hayes J, W.J. *Pesticides Derived from Plants and Other Organisms. Pesticides Studied in Man.* ed. Baltimore, MD: Williams & Wilkins; 1982.

Heath RG, Harper JW. Ascending projections of the cerebellar fastigial nucleus to the hippocampus, amygdala, and other temporal lobe sites: evoked potential and histological studies in monkeys and cats. *Exp Neurol.* 1974;45(2): 268-287.

Hodges H. Maze procedures: The radial-arm and water maze compared. *Cognitive Brain Research.* 1996;3(3-4): 167-181.

Hossain MM, DiCicco-Bloom E. ve ark. Hippocampal ER stress and learning deficits following repeated pyrethroid exposure. *Toxicol Sci.* 2015;143(1): 220-228.

Hossain MM, Richardson JR. Mechanism of pyrethroid pesticide-induced apoptosis: role of calpain and the ER stress pathway. *Toxicol Sci.* 2011;122(2): 512-525.

Hossain MM, Suzuki T. ve ark. Differential presynaptic actions of pyrethroid insecticides on glutamatergic and GABAergic neurons in the hippocampus. *Toxicology.* 2008;243(1-2): 155-163.

Huang XW, Qing Y. ve ark. Protected effects of MG-132 on apoptosis induced by deltamethrin in rat's hippocampus. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi.* 2010;28(7): 505-507.

Hudson EA, Dinh PA. ve ark. Characterization of potentially chemopreventive phenols in extracts of brown rice that inhibit the growth of human breast and colon cancer cells. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2000;9(11):63–1170.

Husain R, Adhami VM. ve ark. Behavioral, neurochemical, and neuromorphological effects of deltamethrin in adult rats. *J Toxicol Environ Health.* 1996;48(5): 515-526.

Husain R, Malaviya M. ve ark. Differential responses of regional brain polyamines following in utero exposure to synthetic pyrethroid insecticides: a preliminary report. *Bull Environ Contam Toxicol.* 1992;49(3): 402-409.

Husain R, Malaviya M. ve ark. Effect of deltamethrin on regional brain polyamines and behaviour in young rats. *Pharmacol Toxicol.* 1994;74(4-5): 211-215.

Igho OE, Afoke IK. A histomorphologic analysis of pyrethroid pesticide on the cerebrum and cerebellum of adult albino rats. *J Exp. Clin. Anat.* 2014;13(2): 54-59.

Ishizawa T, Ko LW. ve ark. Selective neurofibrillary degeneration of the hippocampal CA2 sector is associated with four-repeat tauopathies. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2002;61(12): 1040-1047.

zci Y, Erba YC. Hippocampus: Its Structure and Functions. *Türk Nöro ir Derg.* 2015;25(3): 287-295.

Jacob-Ferreira AL, Schulz R. Activation of intracellular matrix metalloproteinase-2 by reactive oxygen nitrogen species: Consequences and therapeutic strategies in the heart. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 2013;540(1-2): 82-93.

Jakubowska-Dogru E, Gumusbas U. ve ark. Individual variation in the spatial reference and working memory assessed under allothetic and idiothetic orientation cues in rat. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 2003;63(1): 17-23.

Jayaprakasha GK, Singh RP. ve ark. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chemistry.* 2001;73(3): 285-290.

Jung MW, Wiener SI. ve ark. Comparison of spatial firing characteristics of units in dorsal and ventral hippocampus of the rat. *J Neurosci.* 1994;14(12): 7347-7356.

Kalkan Yildirim H, Delen Akcay Y. ve ark. Protection capacity against low-density lipoprotein oxidation and antioxidant potential of some organic and non-organic wines. *Int J Food Sci Nutr.* 2004;55(5): 351-362.

Khalatbary AR, Ghaffari E. ve ark. Protective Role of Oleuropein against Acute Deltamethrin-Induced Neurotoxicity in Rat Brain. *Iran Biomed J.* 2015;19(4): 247-253.

Kim IH, Yan BC. ve ark. Neuroprotection of a novel synthetic caffeic acid-syringic acid hybrid compound against experimentally induced transient cerebral ischemic damage. *Planta Med.* 2013;79(5): 313-321.

Knock GA, Ward JPT. Redox Regulation of Protein Kinases as a Modulator of Vascular Function. *Antioxidants & Redox Signaling.* 2011;15(6): 1531-1547.

Knowles WD, Schwartzkroin PA. Axonal ramifications of hippocampal Ca1 pyramidal cells. *J Neurosci.* 1981;1(11): 1236-1241.

Koprucu, SS, Yonar E. ve ark. Effects of deltamethrin on antioxidant status and oxidative stress biomarkers in freshwater mussel, *Unio elongatulus eucirrus*. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2008;81(3): 253-257.

Kumar S, Prahalathan P. ve ark. Syringic acid ameliorates (L)-NAME-induced hypertension by reducing oxidative stress. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2012;385(12): 1175-1184.

Laskowski DA. Physical and chemical properties of pyrethroids. *Rev Environ Contam Toxicol.* 2002;174:49-170.

Le DA, Wu Y. ve ark. Caspase activation and neuroprotection in caspase-3- deficient mice after in vivo cerebral ischemia and in vitro oxygen glucose deprivation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002; 99 (23): 15188-15193.

Lee I, Kesner RP. Differential contributions of dorsal hippocampal subregions to memory acquisition and retrieval in contextual fear-conditioning. *Hippocampus.* 2004;14(3): 301-310.

Li HY, Shi N. ve ark. Oxidative stress of deltamethrin on rat nervous system. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*. 2005;23(2): 97-101.

Li HY, Shi N. ve ark. Time course of gene expression of gamma-glutamylcysteine synthetase subunit and Nrf2 in brain tissues of rats exposed by deltamethrin. *Wei Sheng Yan Jiu*. 2006;35(2): 130-134.

Li HY, Shi N, Dai ZH, Zhong YF, Wu SY. Effects of deltamethrin on gene expression of some antioxidant, gamma glutamylcysteine synthetase and NFE2 related factor 2 (Nrf2) in brain tissue. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*. 2006;24(5): 273-277.

Li T, Shi N. ve ark. Effects of deltamethrin on intracellular free Ca²⁺ concentration and apoptosis in rat neural cells. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*. 2002;20 (6): 427-429.

Li T, Shi N. ve ark. Effects of deltamethrin on the apoptosis and the expression of caspase-3 in rat neural cells. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*. 2004;22(5): 371-374.

Li Y, Wang SY. ve ark. Differential hippocampal protein expression between normal aged rats and aged rats with postoperative cognitive dysfunction: A proteomic analysis. *Molecular Medicine Reports*. 2015;12(2): 2953-2960.

Lieben CKJ, Oorsouw K. ve ark. Acute tryptophan depletion induced by a gelatin-based mixture impairs object memory but not affective behavior and spatial learning in the rat. *Behavioural Brain Research* 2004 151:53-64.

Limon-Pacheco J, Gonsbatt ME. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutat Res*. 2009;674(1-2): 137-147.

Lo Conte M, Carroll KS. The Redox Biochemistry of Protein Sulfenylation and Sulfinylation. *Journal of Biological Chemistry*. 2013;288(37): 26480-26488.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin Phenol reagent. *J Biol Chem* 1961;193:265-275.

Mark LP, Daniels DL ve ark. The hippocampus. *AJNR Am J Neuroradiol.* 1993;14(3): 709-712.

Martinez-Larranaga MR, Anadon A. ve ark. 5-HT loss in rat brain by type II pyrethroid insecticides. *Toxicol Ind Health.* 2003;19(7-10): 147-155.

McHail DG, Valibeigi N. ve ark. A Barnes maze for juvenile rats delineates the emergence of spatial navigation ability. *Learn Mem.* 2018;25(3): 138-146.

Memon AA, Luthria D. ve ark. Phenolic acids profiling and antioxidant potential of mulberry (*Morus laevigata* W., *Morus nigra* L., *Morus alba* L.) leaves and fruits grown in Pakistan. *Pol J Food Nutr Sci* 2010;60:25–32.

Meyer DA, Carter JM. ve ark. Pyrethroid modulation of spontaneous neuronal excitability and neurotransmission in hippocampal neurons in culture. *Neurotoxicology.* 2008;29(2): 213-225.

Meyer DA, Shafer TJ. Permethrin, but not deltamethrin, increases spontaneous glutamate release from hippocampal neurons in culture. *Neurotoxicology.* 2006;27(4): 594-603.

Mnif W, Hassine AI. ve ark. Effect of endocrine disruptor pesticides: a review. *Int J Environ Res Public Health.* 2011;8(6): 2265-2303.

Morris RG, Garrud P. ve ark. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature.* 1982;297(5868): 681-683.

Morton LW, Croft KD. ve ark. Phenolic acids protect low density lipoproteins from peroxynitrite-mediated modification in vitro. *Redox Rep.* 2000;5(2-3): 124-125.

Moser E, Moser MB. Mapping your every move. *Cerebrum.* 2014;2014:4.

Moser EI, Kropff E. ve ark. Place cells, grid cells, and the brain's spatial representation system. *Annu Rev Neurosci.* 2008;31:69-89.

Moser EI, Roudi Y. ve ark. Grid cells and cortical representation. *Nat Rev Neurosci.* 2014;15(7): 466-481.

Moser MB, Moser EI. Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus*. 1998;8(6): 608-619.

Moser MB, Rowland DC. ve ark. Place cells, grid cells, and memory. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2015;7(2):a021808.

Murphy MP. Nitric oxide and cell death. *Biochim Biophys Acta*. 1999;1411(2-3): 401-414.

Nadeem S, Jain S, Raj C, Chouhan K, Nandi P. Ameliorative effects of *Alpinia calcarata* Roscoe in alloxan-induced diabetic rats . *Dig J Nanomater Bios* 2011;6:991-997.

Nadel L, Hardt O. Update on memory systems and processes. *Neuropsychopharmacology*. 2011;36(1): 251-273.

Narahashi T. Neuronal ion channels as the target sites of insecticides. *Pharmacol Toxicol*. 1996;79(1): 1-14.

Narahashi T. Nerve membrane ion channels as the target site of insecticides. *Mini Rev Med Chem*. 2002;2(4): 419-432.

Nergiz C, Unal K. Determination of Phenolic-Acids in Virgin Olive Oil. *Food Chemistry*. 1991;39(2): 237-240.

Newsholme, P., M. M. Lima, ve ark. Glutamine and glutamate as vital metabolites. *Braz J Med Biol Res*. 2003;36(2): 153-163.

Noorafshan A, Asadi-Golshan R. ve ark. Curcumin, the main part of turmeric, prevents learning and memory changes induced by sodium metabisulfite, a preservative agent, in rats. *Exp Neurobiol*. 2013;22(1): 23-30.

Nouhigh A, Cherif M. ve ark. Solubility of gallic acid, vanillin, syringic acid, and protocatechuic acid in aqueous sulfate solutions from (293.15 to 318.15) K. *Journal of Chemical and Engineering Data*. 2008;53(7): 1675-1678.

O'Keefe J, Conway DH. Hippocampal place units in the freely moving rat: why they fire where they fire. *Exp Brain Res*. 1978;31(4): 573-590.

O'Neil EB, Newsome RN. ve ark. Examining the Role of the Human Hippocampus in Approach-Avoidance Decision Making Using a Novel Conflict Paradigm and Multivariate Functional Magnetic Resonance Imaging. *J Neurosci.* 2015;35(45): 15039-15049.

Oboh G, Isaac AT. ve ark. Inhibition of key enzymes linked to type 2 diabetes and sodium nitroprusside induced lipid peroxidation in rats' pancreas by phenolic extracts of avocado pear leaves and fruit. *Int J Biomed Sci.* 2014;10(3): 208-216.

Ogaly HA, Khalaf AA. ve ark. Influence of green tea extract on oxidative damage and apoptosis induced by deltamethrin in rat brain. *Neurotoxicol Teratol.* 2015;50(23-31).

Orabi KY, Abaza MS. ve ark. Selective growth inhibition of human malignant melanoma cells by syringic acid-derived proteasome inhibitors. *Cancer Cell Int.* 2013;13(1): 82.

Pacheco-Palencia LA, Mertens-Talcott S. ve ark. Chemical composition, antioxidant properties, and thermal stability of a phytochemical enriched oil from Acai (*Euterpe oleracea* Mart.). *J Agric Food Chem.* 2008;56(12): 4631-4636.

Papez JW. A proposed mechanism of emotion. 1937. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 1995;7(1): 103-112.

Pari L, Mohamed Jalaludeen A. Protective role of sinapic acid against arsenic: induced toxicity in rats. *Chem Biol Interact.* 2011;194(1): 40-47.

Pearce JM. Ammon's horn and the hippocampus. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2001;71(3): 351.

Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology.* 2003;463(1-3): 3-33.

Purves D, Augustine G. ve ark. *Neuroscience.* 5th Edition. Yale J Biol Med. 2013;86(1): 113-114.

Pyoa YH, Lee TC, Logendrac L. ve ark. Antioxidant activity and phenolic compounds of Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cycla*) extracts. *Food Chemistry*. 2004;85(1): 19-26.

Quincozes-Santos A, Bobermin LD. ve ark. Oxidative stress mediated by NMDA, AMPA/KA channels in acute hippocampal slices: Neuroprotective effect of resveratrol. *Toxicology in Vitro*. 2014;28(4): 544-551.

Ray DE, Fry JR. A reassessment of the neurotoxicity of pyrethroid insecticides. *Pharmacol Ther*. 2006;111(1): 174-193.

Rebolledo-Solleiro D, Roldan-Roldan G. ve ark. Increased anxiety-like behavior is associated with the metabolic syndrome in non-stressed rats. *PLoS One*. 2017;12(5): e0176554.

Rehman H, Ali M. ve ark. The modulatory effect of deltamethrin on antioxidants in mice. *Clin Chim Acta*. 2006;369(1): 61-65.

Rekha KG, Selvakumar GP. ve ark. Effects of syringic acid on chronic MPTP/probenecid induced motor dysfunction, dopaminergic markers expression and neuroinflammation in C57BL/6 mice. *Biomedicine & Aging Pathology*. 2014;4:95–104.

Ricci EL, Ferreira V. ve ark. Behavioral and neurochemical evidence of deltamethrin anxiogenic-like effects in rats. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci*. 2013;50(1): 33-42.

Rothstein JD, Van Kammen M. ve ark. Selective loss of glial glutamate transporter GLT-1 in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol*. 1995;38(1): 73-84.

Saeed N, Khan MR. ve ark. Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts. *Torilis leptophylla* L. *Bmc Complementary and Alternative Medicine*. 2012;12(1):221.

Sarnat HB, Flores-Sarnat L. Neuropathology of pediatric epilepsy. *Handb Clin Neurol*. 2013;111:399-416.

Seth V, Banerjee BD, Bhattacharya A, Chakravorty AK. Lipid peroxidation, free radical scavenging enzymes, and glutathione redox system in blood of human poisoning with Propoxur. *Clinical Biochemistry*. 2000;33 (8): 683-685.

Shah A, Jhawar SS. ve ark. Analysis of the anatomy of the Papez circuit and adjoining limbic system by fiber dissection techniques. *Journal of Clinical Neuroscience*. 2012;19(2): 289-298.

Sharma P, Jan M, Singh R. Deltamethrin toxicity. *Ind J Biol Stud Res*. 2013;2(2): 91–107.

Sharma P, Jan M, Singh R. Toxic Effects of Deltamethrin Doses on Antioxidative Defence Mechanism and Acetylcholinesterase Activity in Rat brain. *Asian Journal of Pharmacology and Toxicology*. 2015;3(10): 19-25.

Sheets LP, Doherty JD. ve ark. Age-dependent differences in the susceptibility of rats to deltamethrin. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1994;126(1): 186-190.

Simonyi A, Wang Q. ve ark. Polyphenols in cerebral ischemia: novel targets for neuroprotection. *Mol Neurobiol*. 2005;31(1-3): 135-147.

Sloniecka M, Le Roux S. ve ark. Expression Profiles of Neuropeptides, Neurotransmitters, and Their Receptors in Human Keratocytes In Vitro and In Situ. *PLoS One*. 2015;10(7): e0134157.

Smith DM, Mizumori SJ. Hippocampal place cells, context, and episodic memory. *Hippocampus*. 2006;16(9): 716-729.

Smith QR. Transport of glutamate and other amino acids at the blood-brain barrier. *J Nutr*. 2000;130 (4): 1016-1022.

Soderlund DM. Pyrethroid-receptor interactions: stereospecific binding and effects on sodium channels in mouse brain preparations. *Neurotoxicology*. 1985;6(2): 35-46.

Sommer W. Erkrankung des Ammon's horn als aetiologis ches moment der epilepsien. *Arch Psychiatr Nurs*. 1880;10:631–675.

Sosa V, Moline T. ve ark. Oxidative stress and cancer: an overview. *Ageing Res Rev.* 2013;12(1): 376-390.

Srinivasan S, Muthukumaran J. ve ark. Antihyperglycemic effect of syringic acid on attenuating the key enzymes of carbohydrate metabolism in experimental diabetic rats. *Biomed Prev Nutr* 2014;4:595–602.

Sun M, Xu PP. ve ark. Protective effect of melatonin on oxidative damage by deltamethrin in rat brain. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi.* 2007;25(3): 155-158.

Sutherland RJ, Kolb B. ve ark. Spatial mapping: definitive disruption by hippocampal or medial frontal cortical damage in the rat. *Neuroscience Letters.* 1982;31(3): 271-276.

Sutherland RJ, Weisend MP. ve ark. Retrograde amnesia after hippocampal damage: recent vs. remote memories in two tasks. *Hippocampus.* 2001;11(1): 27-42.

Suzuki M, Hagino H. ve ark. Male-specific volume expansion of the human hippocampus during adolescence. *Cereb Cortex.* 2005;15(2): 187-193.

Tanaka T, Kawaguchi N. ve ark. Antiosteoporotic activity of a syringic acid diet in ovariectomized mice. *J Nat Med.* 2017;71(4): 632-641.

Tankeu FN, Pieme CA. ve ark. In vitro organo-protective effect of bark extracts from *Syzygium guineense* var *macrocarpum* against ferric-nitrotriacetateinduced stress in wistar rats homogenates. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 2016;16:315.

Tarragon E, Lopez L. ve ark. The Radial Arm Maze (RAM) for the Evaluation of Working and Reference Memory Deficits in the Diurnal Rodent *Octodon degus*. *Proceedings of Measuring Behavior.* 2012;98-100.

Tayebati SK, Di Tullio MA. ve ark. Influence of dermal exposure to the pyrethroid insecticide deltamethrin on rat brain microanatomy and cholinergic/dopaminergic neurochemistry. *Brain Research.* 2009;1301:180-188.

Thipparaboina R, Mittapalli S, Thatikonda S, Nangia A, Naidu VGM, Shastri NR. Syringic Acid: Structural Elucidation and Co-Crystallization. *Crystal Growth & Design*. 2016;16(8): 4679-4687.

Tien RD, Felsberg GJ. ve ark. Normal anatomy of the hippocampus and adjacent temporal lobe: high-resolution fast spin-echo MR images in volunteers correlated with cadaveric histologic sections. *AJR Am J Roentgenol*. 1992;159(6): 1309-1313.

Tokmak M, Yuksel Y. ve ark. The Neuroprotective Effect of Syringic Acid on Spinal Cord Ischemia/Reperfusion Injury in Rats. *Inflammation*. 2015;38(5): 1969-1978.

Trachootham D, Lu W ve ark. Redox regulation of cell survival. *Antioxid Redox Signal*. 2008;10(8): 1343-1374.

Tucker LB, McCabe JT. Behavior of Male and Female C57BL/6J Mice Is More Consistent with Repeated Trials in the Elevated Zero Maze than in the Elevated Plus Maze. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2017;11:13.

Turgut NH, Kara H. ve ark. Effect of Capparis spinosa L. on cognitive impairment induced by D-galactose in mice via inhibition of oxidative stress. *Turk J Med Sci*. 2015;45(5): 1127-1136.

Tuzmen MN, Candan N. ve ark. The evaluation of altered antioxidative defense mechanism and acetylcholinesterase activity in rat brain exposed to chlorpyrifos, deltamethrin, and their combination. *Toxicol Mech Methods*. 2007;17(9): 535-540.

Tuzmen N, Candan N. ve ark. Biochemical effects of chlorpyrifos and deltamethrin on altered antioxidative defense mechanisms and lipid peroxidation in rat liver. *Cell Biochem Funct*. 2008;26(1): 119-124.

Uyama H, Ryohei I, Shigeru Y, Shiro K. "Polymers from Renewable Resources". *ACS Symposium Series*. 2001, 764:113.

Van Den Bosch L, Schwaller B. ve ark. Protective effect of parvalbumin on excitotoxic motor neuron death. *Exp Neurol*. 2002;174(2): 150-161.

Van Emden HF, Pealall DB. *Beyond Silent Spring*. London: Chapman & Hall; 1996:322.

Van Zoeren-Grobben D, Lindeman JH. ve ark. Markers of oxidative stress and antioxidant activity in plasma and erythrocytes in neonatal respiratory distress syndrome. *Acta Paediatr.* 1997;86(12): 1356-1362.

VanElzakker M, Fevurly RD. ve ark. Environmental novelty is associated with a selective increase in Fos expression in the output elements of the hippocampal formation and the perirhinal cortex. *Learn Mem.* 2008;15(12): 899-908.

Verbon EH, Post JA. ve ark. The influence of reactive oxygen species on cell cycle progression in mammalian cells. *Gene.* 2012;511(1): 1-6.

Vij Verberg HP, Van Den Bercken J. Neurotoxicological effects and the mode of action of pyrethroid insecticides. *Crit Rev Toxicology.* 1990;21(2): 105-126.

Walf AA, Frye CA. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols.* 2007;2(2): 322-328.

Wei X, Chen D. ve ark. Syringic Acid Extracted from *Herba dendrobii* Prevents Diabetic Cataract Pathogenesis by Inhibiting Aldose Reductase Activity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2012;(2012):13.

WHO. The impact of pesticides on health. World Health Organization. Geneva;2004:1.

WHO. Environmental Health Criteria 97 - Deltamethrin; International Programme on Chemical Safety. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1990, 1-133.

Wu A, Li L. ve ark. Deltamethrin induces apoptotic cell death in cultured cerebral cortical neurons. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2003;187(1): 50-57.

Wu A, Liu Y. Apoptotic cell death in rat brain following deltamethrin treatment. *Neurosci Lett.* 2000;279(2): 85-88.

Wu A, Liu Y. Deltamethrin induces delayed apoptosis and altered expression of p53 and bax in rat brain. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2000;8(3): 183-189.

Wu A, Liu Y. Prolonged expression of c-Fos and c-Jun in the cerebral cortex of rats after deltamethrin treatment. *Brain Res Mol Brain Res.* 2003;110(1): 147-151.

Wu A, Liu Y. Effects of deltamethrin on nitric oxide synthase and poly(ADP-ribose) polymerase in rat brain. *Brain Res.* 1999;850(1-2): 249-252.

Wu A, Liu Y. Apoptotic cell death in rat brain following deltamethrin treatment. *Neurosci Lett.* 2000;279(2): 85-88.

Wyllie AH, Kerr JF. ve ark. Cell death: the significance of apoptosis. *Int Rev Cytol.* 1980;68:251-306.

Yildirim HK, Akçay YD. ve ark. Protection capacity against low-density lipoprotein oxidation and antioxidant potential of some organic and non-organic wines. *Int J Food Sci Nutr.* 2004;55(5): 351-362.

Yousef MI, Awad TI. ve ark. Deltamethrin-induced oxidative damage and biochemical alterations in rat and its attenuation by Vitamin E. *Toxicology.* 2006;227(3): 240-247.

Zhang, WQ, Miao YF. ve ark. Neuroprotective effects of ischemic postconditioning on global brain ischemia in rats through upregulation of hippocampal glutamine synthetase. *Journal of Clinical Neuroscience.* 2011;18(5): 685-689.

Zhao X, Dai S. ve ark. Inhibition of glutamate uptake in rat brain synaptosome by pyrethroids. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi.* 1995;29(2): 89-91.

Zhao X, Zhu X. ve ark. Effects of deltamethrin on the binding of glutamate receptor to rat cerebral cortical synaptosomal membrane. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi.* 1997;31(3): 157-159.

ÖZGEÇM

Kişisel Bilgiler

Adı	Eren	Uyru u	T.C.
Soyadı	Ö ÜT	Tel no	05304633651
Do um tarihi	30.05.1983	e-posta	erenogut@akdeniz.edu.tr

Eğitim Bilgileri

	Mezun oldu u kurum	Mezuniyet yılı
Lise	Isparta Anadolu Lisesi	2001
Lisans	İstanbul Üniversitesi Cerrahpa a Tıp Fakültesi/Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü	2006
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı	2014
Doktora	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı	2014-Devam ediyor

Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Ara tırma Görevlisi	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı	2011-2018
Erasmus Doktora Ö rencisi	Universita Degli Di Siena, Anatomi Anabilim Dalı, Siena, talya	01.07.2015-27.09.2015

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	Yökdil	88,75
İngilizce	Teachig Knowledge Test (TKT) Modül I, II, III	3, 2, 2
İngilizce	Preliminary English Test (PET)	156

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Siyatik sinir kesisini takiben intraperitoneal yöntemle uygulanan ozon'un sinir rejenerasyonu üzerine etkisi: ultrastrüktürel, biyokimyasal elektromiyografik ve fonksiyonel analizi	BAP Yüksek Lisans 2013.02.0122.002	2013-2014

Plastine materyal ile e itimin lisans öğrencilerinin başarı düzeylerine etkisi	BAP Ara tırma Projesi TSA-2015-710	2016-2017
Fasiyal sinir hasarı sonrası terapötik ultrasonun paralize vibrisseal kasta poli-innervasyon paterni ve kollateral aksonal dallanma üzerine etkisi	Tübitak Projesi, 214S564	2015-2018
Ratlarda A il Tendon yile mesinde Kitosan ve Terapötik Ultrason Tedavisinin Etkisi: Fonksiyonel ve Histolojik Çalışma	BAP Doktora Projesi, TDK-2016-2061	2017-2018
Kronik Deltametrin Uygulaması Sonrası Sirinjik Asidin Hipokampus ve Ö renme Üzerindeki Etkilerinin Ara tırılması	BAP Doktora Projesi, TDK-2017-2361	2017-2018

Yayınlar ve Bildiriler

SCI, SSCI, AHCI Indexlerine Giren Dergilerde Yayımlanan Makaleler
Özsoy U., ekerici R., Ö üt E., "Effect of sitting, standing, and supine body positions on facial soft tissue: detailed 3D analysis". International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 2015;44:1309-1316.
Özsoy Ö., Yildirim F.B., Ö üt E., Kaya Y., Tanriöver G., Parlak H., et al., "Melatonin is protective against 6-hydroxydopamine-induced oxidative stress in a hemiparkinsonian rat model". Free Radical Research. 2015;49:1004-1014.
Yildirim F.B., Özsoy Ö., Tanriöver G., Kaya Y., Ö üt E., Gemici B., et al., "Mechanism of the beneficial effect of melatonin in experimental Parkinson's disease". Neurochemistry International. 2014;79:1-11.

Di er Dergilerde Yayımlanan Makaleler

Sindel A., Ö üt E., Kastan Ö.Z., Sindel M., "Position, variation, and asymmetry of the mental foramen: A Morphological study", Gaziantep Tıp Dergisi. 2017;1:19-23.
Sindel A., Aytaç G., Ö üt E., Gürçay S., Sindel M., "Pterygomaxillary junction: morphometric analysis and clinical aspect", International Journal of Anatomical Variations. 2017;1:62-63.
Ö üt E., enol Y., Yildirim F.B., "Do learning styles affect study duration and academic success?", Eur J Anat.2017;21:235-240.
Regoli M. , Ö üt E., Bertelli E., "An osteologic study of human ethmoidal foramina with special reference to their classification and symmetry", Italian Journal of Anatomy and Embryology.2016;121:66-76.
Sindel A., Ö üt E., Aytaç G., O uz N., Sindel M., "Morphometric Study of Pterion", International Journal of Anatomy and Research.2016;4:1954-1957.
Sindel A., Ö üt E., Aytaç G., Sindel M., "Bifid alveol and root of the canine teeth", Gaziantep Tıp Dergisi.2016;2:63-65.

Sindel A., Ö üt E., Akda M., Bostanci Topta A., Sindel M., "An endoscopic cadaveric study : Accessory maxillary ostia.", Dicle Med J. 2014;40:262 -267.

Hakemli Kongre/Sempozyum Bildiri Kitaplarında Yer Alan Yayınlar

Ö üt E., Yildirim F.B., "Is there a correlation between the lingula and coronoid process types of mandible?" 18th National Anatomy Congress, Bolu, 25-27 Eyl. 2017;11(2):132.

Ö üt E., Yildirim F.B., "The incidence of bipartite zygomatic bones types", 18. Ulusal Anatomi Kongresi, Bolu, 25-27 Eylül 2017;11(2):132.

Yildirim F.B., Ö üt E., Özsoy U., Yildirim A., "Posterior Interosseous Nerve Syndrome (PINS) originating from lipoma of the proximal radius: a case report", 18th National Anatomy Congress, Bolu, 25-27 Eylül 2017;11(2):131-132.

Ö üt E., Yildirim F.B., "The Effects of Skulls and Orbita Measurements on Gender Prediction", II. International Academic Research Congress, Antalya, 18-21 Ekim 2017: 679

Yildirim F.B., enol A.U., Ö üt E., enol Y., "A special example for special study modules in Akdeniz University Faculty of Medicine: cross-sectional anatomy " 17. Ulusal Anatomi Kongresi, Eski ehir, 5-9 Eylül 2016;10(2):158-159.

Ö üt E., Yildirim F.B., Demir N., "A Light Microscopic Study of Rat Sciatic Nerve Cut Injury After Ozone Therapy", 14. Ulusal Sinirbilim Kongresi, Ankara, 26-29 Mayıs 2016;10(1):50.

Ö üt E., Yildirim F.B., "Functional analyses of sciatic nevre cut injury after ozone therapy. ", 7th International Symposium of Clinical and Applied Anatomy (ISCAA), Bratislava, Slovakya, 17-20 Eylül 2015:164.

Ö üt E., Yildirim F.B., Demir N., "Electron microscobic analyses of sciatic nevre cut injury after ozone theraphy", 7th International Symposium of Clinical and Applied Anatomy (ISCAA), Bratislava, Slovakya, 17-20 Eylül 2015:163.

Ö üt E., Yildirim F.B., "Electrophysiological analyses of sciatic nevre cut injury after ozone theraphy. ", 7th International Symposium of Clinical and Applied Anatomy (ISCAA), Bratislava, Slovakya, 17-20 Eylül 2015:165.

Ö üt E., Sindel M., Yildirim F.B., "Influence of Supraorbital Foramina or Notch on Gender", International Congress of Anthropological Sciences (ICAS), Ankara, Türkiye, 9-11 Nisan 2015:152.

Kabakçı A.A., Büyükmumcu M., Sindel M., Ö üt E., "Morfometric Evaluation of foramen magnum in dried human skulls", 16. Ulusal Anatomi Kongresi, Malatya, 11-14 Eylül 2014;8:27-28.

Ö üt E., Yildirim F.B., Sarıkcio lu L., Aydın Aslan M., "Effects of Ozone on Nerve Regeneration After Sciatic Nerve Cut Injury". 16. Ulusal Anatomi Kongresi, Malatya, 11-14 Eylül 2014;8:31.

Yildirim F.B., Aydın Aslan M., Kaya Y. , Özsoy Ö., Ö üt E., A ar A., "Deneysel Parkinsonda Melatoninin Substantia Nigra Siklooksijenaz, Nüklear Faktör Kappa-B ve Kaspaz-3 Seviyelerine Etkisi", 15. Ulusal anatomi kongresi, Samsun, 5-8 Eylül 2013:192.

Ö üt E., Sindel A., O uz N., Sindel M., "Pterion Tipleri ve Sulcus Arteria Meningea Media Arasındaki li ki", 15. Ulusal anatomi kongresi , Samsun, 5-8 Eylül 2013:128.

Ö üt E., enol Y., Yildirim F.B., "Ö renme Stilleri ve Cinsiyetin Anatomi Ba arı Puanı le li kisi", 15. Ulusal anatomi kongresi , Samsun, 5-8 Eylül 2013:202.

Ö ü t E., Ü rgü den M., Oruç F., O uz N., Yildirim F.B., "Anomalous fusion between lunate and triquetrum: a case presentation ", 4 th International Symposium of Clinical and Applied Anatomy, Ankara, 28 Haziran – 1 Temmuz 2012:140.

Katıldı ı Bilimsel Kongre/Sempozyum ve Bilimsel Toplantılar

18. Ulusal Anatomi Kongresi, Bolu, Eylül 2017
II. International Academic Research Congress, Antalya, Ekim 2017
14. Ulusal Sinir Bilim Kongresi, Ankara, Mayıs 2016
7 th International Symposium of Clinical and Applied Anatomy (ISCAA 2015), Bratislava, Eylül 2015
International Congress of Anthropological Sciences (ICAS)- 2015, Ankara, Nisan 2015
16. Ulusal Anatomi Kongresi, Malatya, Eylül 2014
15.Ulusal anatomi kongresi Ondokuzmayıs Üniversitesi , Samsun, Eylül 2013
14.Ulusal Anatomi Kongresi , Ankara, Haziran 2012
4.ISCAA International symposium of clinical and applied anatomy, Ankara, Temmuz 2012

Katıldı ı Kurs ve Sertifikalar

Neocortex Sinirbilim Günü, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, 2018
Teaching Knowledge Test (TKT) Module 1-3, University of Cambridge, 2017
Fetüs Mikrodiseksiyon Kursu-1 (Tübitak-2229), Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, Konya, 2017
Sa lık Kurumları Yöneticili i, Uluda Üniversitesi Ara tırma ve Uygulama Merkezi, Bursa 2017
Tübitak Ara tırma Projesi Hazırlık E itimi (Tübitak-2237), Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya, 2017
Cambridge English Entry Level Certificate in ESOL International (Entry 3) Preliminary, University of Cambridge, 2017
veren ve veren Vekilinin Sa lı ı ve Güvenli i E itimi, Anadolu Üniversitesi, 2017
Beyin Plastinasyonu Kursu, TOBB ETÜ Tıp Fakültesi, Morfoloji Tüm Vücut Plastinasyon Laboratuvarı, Ankara, 2016
Proje Yazımı ve Yönetimi, Sakarya Üniversitesi Ara tırma ve Uygulama Merkezi, 2016
Deney Hayvanlarında Anksiyete Testleri, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara, 2016
Research-Development and Innovation Management, Sakarya Üniversitesi Ara tırma ve Uygulama Merkezi, Sakarya, 2016
Endnote X3, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Ara tırmaları Geli tirme Kurulu, Antalya, 2015
Endoscopic Carpal Tunnel and Cubital Tunnel Release System, Cadaver Workshop and Live Surgery Surgeon Training Workshop, Antalya, 2015

Ayak ve Ayak Bile inde Cerrahi Kesiler, Osteotomi ve Artroplasti E itim Toplantısı, Türk Ortopedi ve Travmatoloji Derne i, Antalya, 2015
Nörostimülasyon Kadavra Kursu, Nöromodülasyon Ara tırma ve E itim Derne i, Antalya, 2015
Hands-on Cadaver Course The 3 rd Asian Congress , Minimally Invasive Spine Surgery & Techniques The 7 th ISMISS Turkey Congress, Antalya, 2014
Alt Ekstremitte Trigonlar ve Periferel Geçitler Diseksiyon Kursu, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, zmir, 2014
Üst Ekstremitte Trigonlar ve Periferel Geçitler Diseksiyon Kursu, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, zmir, 2014
Eri kin Dirsek Travmaları Uygulamalı Kadavra Kursu, Omuz ve Dirsek Cerrahisi Derne i , Antalya, 2014
Bilgisayar letmenli i, Milli E itim Bakanlığı , Antalya, 2014
1.Ayak ve Ayak Bile i Hastalıkları Kadavra Kursu TOTBID, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya, 2013
6. Kadavrada Omuz Artroskopisi Kursu , Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya, 2013
Servikal Omurgada Posterior Tespit Yöntemleri ve Posterior Spinal Osteotomi Teknikleri , Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya, 2013
Temporomandibular Joint Arthroscopy, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, Antalya, 2013
MSA Shoulder , Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya, 2012
Tübitak Bilimsel Ara tırma Projesi Hazırlama ve Uygulama Kursu, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, 2012
Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Kursu, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya, 2012
Kalça Artroplastisinde Yakla ımlar; Kadavra Kursu, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya, 2012
3.Pelvis-Acetabulum Kırıkları Cerrahi Tedavisi Uygulamalı E itim Toplantısı, TOTB D Ortopedik Travma ubesi, Antalya, 2011
Gıda Kontrol Müfreze Komutanlı ı Mikrobiyoloji Laboratuvarı Bonservisi, Ege Ordusu A Tipi Gıda Kontrol Müfreze Komutanlı ı, zmir, 2009