

TC.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA BİR BATINDA DOĞAN YAVRU
SAYISININ VE KAFESLEMENİN FİZİKSEL VE
MENTAL GELİŞİM ÜZERİNE ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

MERYEM ÇALIŞIR

LABORATUVAR HAYVANLARI BİLİMİ

DOKTORA TEZİ

İZMİR-2019

TEZ KODU: DEU.HSI.-PhD-2012970047

TC.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA BİR BATINDA DOĞAN YAVRU
SAYISININ VE KAFESLEMENİN FİZİKSEL VE
MENTAL GELİŞİM ÜZERİNE ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

**LABORATUVAR HAYVANLARI BİLİMİ
DOKTORA TEZİ**

MERYEM ÇALIŞIR

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Osman YILMAZ

(Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü tarafından 2017. KB. SAG.
007 sayı ile desteklenmiştir.)

TEZ KODU: DEU.HSI.-PhD-2012970047

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı, Doktora programı öğrencisi Meryem ÇALIŞIR, '**Sıçanlarda Bir Batında Doğan Yavru Sayısının ve Kafeslemenin Fiziksel ve Mental Gelişim Üzerine Etkilerinin İncelenmesi**' konulu Doktora tezini 28.02.2019 tarihinde başarılı olarak tamamlamıştır.



BAŞKAN

Prof. Dr. Osman YILMAZ
(DEÜ Sağlık Bilimleri Ens., Laboratuvar Hayvanları Bilimi ABD)



ÜYE

Prof. Dr. Tonay İNCEBOZ
(DEÜ Tıp Fak., Tıbbi Parazitoloji ABD)



ÜYE

Prof. Dr. Meral KARAMAN
(DEÜ Tıp Fak., Tıbbi Mikrobiyoloji ABD)



ÜYE

Prof. Dr. Bayram YILMAZ
(Yeditepe Ü., Tıp Fak., Fizyoloji ABD)



ÜYE

Prof. Dr. Figen KIRKPINAR
(Ege Ü., Ziraat Fak., Zootekni Böl.,
Yemler ve Hayvan Besleme ABD)

YEDEK ÜYE

Prof. Dr. Çetin PEKÇETİN
(DEÜ Tıp Fak., Histoloji ve Embriyoloji ABD)

YEDEK ÜYE

Prof. Dr. Siyami KARAHAN
(Kırıkkale Ü., Veteriner Fak.,
Histoloji ve Embriyoloji ABD.)

İÇİNDEKİLER

TABLO DİZİNİ	i
ŞEKİL DİZİNİ.....	iii
TERİMLER DİZİNİ.....	iv
KISALTMALAR.....	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	1
ABSTRACT	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ	4
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. Sıçanların Genel Özellikleri.....	6
2.2. Sıçanların Üretimi ve Yetiştirilmesi.....	6
2.3. Sıçanların Barındırılma Koşulları.....	9
2.4. Sıçanların Beslenmeleri	11
2.5. Sıçanların Davranış Özellikleri	11
2.6. Hayvan Deneğinde Yaygın Kullanılan Davranış Testleri	14
2.6.1. Lokomotor Aktivite, Stres ve Anksiyete Benzeri Davranışları Değerlendirme Testleri.....	14
2.6.2. Öğrenme ve Bellek Testleri.....	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. Araştırmanın tipi	21
3.2. Araştırmanın yeri ve zamanı	21
3.3. Araştırmanın evreni ve örnekleme.....	21
3.4. Çalışma materyali	21
3.5. Araştırmanın değişkenleri.....	21
3.6. Veri toplama araçları	22
3.6.1. Hayvanların temini ve barındırma koşulları.....	22
3.6.2. Fiziksel Gelişim Parametrelerinin Değerlendirilmesi ve Kafesleme.....	23
3.6.3. Kafeslenen Hayvanların Haftalık, Yem ve Su Tüketimleri İle Canlı Ağırlık Artışlarının Ölçülmesi.....	25
3.6.4. Davranış Testlerinin Yapılması	25
3.6.5. Annelik Davranışlarının Gözlenmesi	28
3.6.6. Kortikosteroid Analizi	29

3.7. Araştırma Planı ve Takvimi	31
3.8. Verilerin Değerlendirilmesi	32
3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları.....	33
3.10. Etik Kurul Onayı	33
4. BULGULAR	34
4.1. Fiziksel Gelişim Özelliklerinin Gözlemlenmesi	34
4.2. Açık Alan Davranış Testi (OFT)	36
4.3. Yükseltiymiř Artı Labirent Testi (EPM).....	38
4.4. Morris Su Labirenti Testi(MWM).....	42
4.5. Kortikosteroid Analizi.....	44
4.6. Grupların Canlı Vücut Ağırlığının Ölçülmesi.....	45
4.7. Yem ve Su Tüketimlerinin Ölçülmesi.....	48
4.8. Annelik Davranışlarının Değerlendirilmesi.....	54
5. TARTIşMA	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	65
7. KAYNAKLAR	68
8. EKLER.....	76
8.1. Etik Kurul Onayı	76
8.2. Özgeçmiş	77

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. Sıçanların Yaş Dönemleri.....	8
Tablo 2. Kafeste Hayvan Başına Düşen Zemin Alan, Minimum Kapalı Alan ve Yükseklik.....	11
Tablo 3. Yavruların Cinsiyet Dağılımı ve Emzirme Süresince Yaşanan Yavru Kayıpları.....	23
Tablo 4. Hayvanları Kafesleme Biçimi.....	25
Tablo 5. Deneysel Çalışmanın Takvimi.....	31
Tablo 6. Bir Batında Doğan Yavru Sayısının Yavruların Fiziksel Gelişim Özellikleri Üzerine Etkileri.....	34
Tablo 7. Yavru Sayısına Göre 0. ve 28. Gün Ağırlıklarının Karşılaştırılması.....	35
Tablo 8. Açık Alan Davranış Testinde, Standart, Orta ve Yüksek Yoğunlukta Barındırılan Sıçanların Davranışlarının Kıyaslanması.....	37
Tablo 9. Yükseltmiş Artı Labirent Testinde, Standart, Orta ve Yüksek Yoğunlukta Barındırılan Sıçanların Davranışlarının Karşılaştırılması.....	39
Tablo 10. Açık Alan Test Alanındaki Dışkı Miktarının Değerlendirilmesi.....	40
Tablo 11. Yükseltmiş Artı Labirent Test Alanındaki Dışkı Miktarının Değerlendirilmesi.....	41
Tablo 12. MWM' de Standart, Orta ve Yüksek Yoğunlukta Barındırılan Sıçanların Öğrenme ve Bellek Davranışlarının Değerlendirilmesi (İlk Dört Gün-Deneme Günleri)	42
Tablo 13. MWM' de Standart, Orta ve Yüksek Yoğunlukta Barındırılan Sıçanların Öğrenme ve Bellek Davranışlarının Değerlendirilmesi (5. Gün-Test Günü)	43
Tablo 14. Standart, Orta ve Yüksek Yoğunlukta Barındırmanın ve Cinsiyetin Kortikosteroid Ölçümleri Üzerine Etkisi.....	44

Tablo 15. Dişi Sıçanların Vücut Ağırlığı Ortalamaları.....	45
Tablo 16. Erkek Sıçanların Vücut Ağırlığı Ortalamaları.....	47
Tablo 17. Dişi Sıçanların Kafeste Hayvan Başına Düşen Ortalama Yem Tüketimi.	48
Tablo 18. Erkek Sıçanların Kafeste Hayvan Başına Düşen Ortalama Yem Tüketimi.....	50
Tablo 19. Dişi Sıçanların Kafeste Hayvan Başına Düşen Ortalama Su Tüketimi...	51
Tablo 20. Erkek Sıçanların Kafeste Hayvan Başına Düşen Ortalama Su Tüketimi.....	53
Tablo 21. Sabah 8.00 - Akşam 20.00 'de Gözlemlenen Annelik Davranışlarının Değerlendirilmesi.....	55
Tablo 22. Aydınlık(8.00, 12.00, 16.00) ve Karanlık(20.00) Saatlerde Gözlemlenen Annelik Davranışlarının Değerlendirilmesi.....	56

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. Yenidoğan dönemindeki sıçan yavruları.....	8
Şekil 2. Sıçanlarda öz bakım (Grooming) davranışı.....	13
Şekil 3. Sıçanlarda iki ayaküstüne kalkma (Rearing) davranışı.....	13
Şekil 4. Açık alan davranış test alanı.....	16
Şekil 5. Yükseltilmiş artı labirent test alanı.....	18
Şekil 6. Morris su labirenti test alanı.....	20
Şekil 7. Sıçanların Barındırılmasında Kullanılan Kafes Tipi.....	24
Şekil 8. Dişi Sıçanların Vücut Ağırlığı Ortalamaları.....	46
Şekil 9. Erkek Sıçanların Vücut Ağırlığı Ortalamaları.....	47
Şekil 10. Dişi Sıçanların Kafeste Hayvan Başına Düşen Ortalama Yem Tüketimi....	49
Şekil 11. Erkek Sıçanların Kafeste Hayvan Başına Düşen Ortalama Yem Tüketimi.....	50
Şekil 12. Dişi Sıçanların Kafeste Hayvan Başına Düşen Ortalama Su Tüketimi.....	52
Şekil 13. Erkek Sıçanların Kafeste Hayvan Başına Düşen Ortalama Su Tüketimi...53	
Şekil 14. Farklı Sayılarda Barındırılan Dişi Sıçanların Bir Batında Doğurduğu Yavru Sayısı.....	54

TERİMLER DİZİNİ

Frekans: Sıçanların OFT alanında merkez, kenar ve köşelere giriş sıklığının, EPM test alanında merkez, açık ve kapalı kollara giriş sıklığının, MWM test alanında ise güneybatı zonuna giriş sıklığının ölçümüdür.

Kaldığı toplam süre: Sıçanların OFT, EPM ve MWM davranış test alanlarında belirlenen bölgelerde geçirdiği toplam süreyi göstermektedir. Ölçüm birimi saniye olup “s” ile gösterilmiştir.

Hız: Sıçanların OFT, EPM ve MWM davranış test alanlarında minimum, maksimum ve ortalama hareket etme hızını göstermektedir. Ölçüm birimi santimetre/saniye olup “cm/s” ile gösterilmiştir.

İlk giriş zamanı: Sıçanların OFT, EPM ve MWM davranış test alanlarında belirlenen bölgelere ilk giriş yaptığı süreyi göstermektedir. Ölçüm birimi saniye olup “s” ile gösterilmiştir.

Hareketli olduğu toplam süre: Sıçanların Açık Alan Davranış test alanında hareketli oldukları toplam süreyi göstermektedir. Ölçüm birimi saniye olup “s” ile gösterilmiştir.

Hareketsiz kaldığı toplam süre: Sıçanların Açık Alan Davranış test alanında hareketsiz kaldıkları toplam süreyi göstermektedir. Ölçüm birimi saniye olup “s” ile gösterilmiştir.

Alınan toplam mesafe: Sıçanların OFT, EPM ve MWM davranış test alanlarında test süresi boyunca aldıkları toplam mesafeyi göstermektedir. Ölçüm birimi santimetre olup “cm” ile gösterilmiştir.

KISALTMALAR

OFT: Açık Alan Davranış Testi (Open Field Test)

EPM: Yükseltilmiş Artı Labirent Testi (Elevated Plus Maze Test)

MWM: Morris Su Labirenti (Morris Water Maze)

OECD: Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (Organization for Economic Cooperation and Development)

HPA: Hipotalamus Hipofiz Adrenal Aksı

ELISA: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay



TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca, tez çalışmamın her aşamasında destek olan, alanımla ilgili diğer projelerde de bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, kendisinden çok şey öğrendiğim değerli hocam ve danışmanım Prof. Dr. Osman Yılmaz' a,

Tez çalışmam süresince tezimin ilerlemesine ve gelişmesine katkıda bulunan değerli hocalarım, Prof. Dr. Meral Karaman, Prof. Dr. Tonay İnceboz, Prof. Dr. Pembe Keskinöğlü, Prof. Dr. Ensari Güneli' ye,

Kendilerinden çok şey öğrendiğim ve destek aldığım meslektaşlarım Aslı Çelik ve Efsun Kolatan' a, projede emeği geçen arkadaşım Ayşe Koçak' a,

Birimde geçirdiğim süre boyunca her konuda desteğini çok yakından hissettiğim Laboratuvar Hayvanları Bilimi personeli; Şule Ünlü, Tevhide Değirmenci, Adem Ulu ve Bahri Kaytaz' a,

Beni ben yapan değerlere sahip olmamı sağlayan ve hiçbir zaman desteğini esirgemeyen aileme,

Tanıdığım günden bu yana kendisinden çok şey öğrendiğim, hayatıma değer katan, biricik eşim Ulaş Çalışır' a sonsuz teşekkür ederim.

Meryem Çalışır

Şubat, 2019

ÖZET
SIÇANLARDA BİR BATINDA DOĞAN YAVRU SAYISININ ve KAFESLEMENİN
FİZİKSEL ve MENTAL GELİŞİM ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Meryem Çalışır

**Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Laboratuvar Hayvanları
Bilimi**

meryemcalisir@gmail.com

Amaç: Bu çalışmada amacımız farklı yavru sayısına sahip annelerin büyüttüğü yavruların ve bir kafeste barındırılan hayvan sayısının, bu yavruların fiziksel, fizyolojik ve mental özellikleri üzerine etkisinin olup olmadığını değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada ağırlıkları 200-250 gr arasında, 30 adet Wistar albino dişi sıçan kullanılmıştır. Monogamik yöntemle çiftleştirilen dişilerin, doğum sonrası yavrularının doğum ağırlığı ve haftalık ağırlık artışları ölçülmüş ve fiziksel gelişim parametreleri takip edilmiştir. Yavrular süttten kesildikten sonra randomize bir şekilde, dişi ve erkek ayrı olarak bir kafeste üçerli, beşerli ve yedişerli sıçan olacak biçimde bir ay boyunca barındırılmıştır. Yavrular 12 haftalık olduklarında sırasıyla, açık alan, yükseltilmiş artı labirent ve Morris su labirenti davranış testlerine tabi tutulmuşlardır. Davranış testlerinden 24 saat sonra ve 33. haftada plazma kortikosteroid seviyesi ölçülmüştür. Daha sonra her kafesleme grubundan dişiler çiftleştirilerek, annelik davranışları gözlemlenmiştir.

Bulgular: Sıçanlarda bir batında doğan yavru sayısı, yavruların fiziksel gelişimini ve canlı ağırlık artışını etkilemiştir. Kafeslemenin sıçanların, ağırlık artışını etkilediği, özellikle yedili kafeslenen sıçanların vücut ağırlığının diğer gruplardan az olduğu saptanmıştır. Kafeslenmenin, hayvanların davranış test parametreleri üzerine etkisi saptanmamıştır. Cinsiyet faktörünün, sıçanların davranış testinde değerlendirilen parametreler üzerine etkisi saptanmıştır. Sıçanların kortikosteroid düzeylerine bakıldığında, yedişerli barındırılan dişi sıçanların plazma kortikosteroid seviyesinin diğer gruplardan yüksek olması, kafesleme stresinden daha çok

etkilendiklerinin göstergesidir. Tüm karşılaştırmalarda istatistik anlamlılık sınır değeri $p<0,05$ olarak kabul edilmiştir.

Sonuç: Sonuç olarak, bu soya ait sıçanların bir kafeste üçlü ve beşli barındırılmasının hayvanların fiziksel ve mental durumlarını etkilemediği, fakat yedili barındırmanın bu değişkenleri etkileyebildiği saptanmıştır.

Anahtar sözcükler: sıçan, kafesleme, bir batında doğan yavru sayısı, hayvan refahı



ABSTRACT
INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF LITTER SIZE AND CAGING ON
PHYSICAL AND MENTAL DEVELOPMENT IN RATS

Meryem Çalışır

**Dokuz Eylül University, Institute of Health Sciences, Department of Laboratory
Animal Science**

meryemcalisir@gmail.com

Objective: In this study, we aimed to evaluate if different litter size of the mothers and different cage density affect the physical and mental development of the their pups.

Materials and Methods: In the study 30 adult female Wistar Hannover albino rats weighing 200-250 g were used. Starting from the birth, the weights of the pups were measured weekly. The physical development parameters were observed. After the pups were weaned, they were randomly divided into cages, according to sex. Rats were housed in groups of three, five and seven per cage. When the pups were 12 weeks old, they were subjected to the behavioral tests(open field, elevated plus maze and Morris water maze) and then plasma corticosterone level was measured. Random selected females of each group were mated for observing maternal behavior.

Results: During lactation, the litter size influenced the physical development parameters and body weight of rats. It was determined that the cage density affected the weight gain and the body weight between groups. It was observed that only gender factor caused significant differences in animal behavior. Females which are housed seven rats per cage, have higher corticosteroid levels than other females. All statistical comparisons were considered statistically significant at p value <0.05.

Conclusion: As a result, it was found that caging groups of three and five, did not affect the physical and mental status of rats; however, rats housed in seven per cage were affected.

Key words: rat, caging, litter size, animal welfare

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hayvanların deneylerde kullanımı tıp alanındaki gelişmelere paralel olarak artmıştır. Tarihsel süreçte, özellikle enfeksiyöz ajanların ve hastalıkların keşfinde, ilk aşı çalışmalarında, çeşitli cerrahi tekniklerin geliştirilmesinde, ilaç geliştirme ve güvenlik testlerini de içeren prelinik araştırmaların ilerlemesinde deney hayvanları çok önemli rol oynamıştır. Kemirgenler, biyomedikal araştırmalarda kullanılan hayvanların büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır. Norveç sıçanı bilimsel amaçlar için evcilleştirilen ilk memeli türü olup, Avrupada 1850 den önce sıçanların beslenme deneylerinde kullanıldığına ilişkin bazı kanıtlar vardır. Ancak sıçanların deneysel amaçlı ilk kullanımı Philipeaux'un albino sıçanlarda yaptığı adrenalectomi çalışması olup 1856 yılında Fransa'da yayınlanmıştır. Crampe, hem albino hem de vahşi sıçanları kullandığı ilk yetiştirme deneylerini Almanya'da yapmıştır. Amerika'da sıçanların kullanıldığı ilk deneyler nöroanatomik çalışmalardır. Günümüzde, deneysel hayvan çalışmalarında farelerin kullanımı çoğunlukta olsa da, sıçanların fizyolojik olarak insanlara daha çok benzemesi, fareye kıyasla büyük ve çok daha iyi cerrahi model olması çalışmalarda kullanımını arttırmıştır. Teknolojideki ilerlemelerin artmasıyla sıçanların, gelecekte biyomedikal çalışmalarda kullanımının daha da artacağı bir gerçektir (1-3).

Bir batında doğan yavru sayısı, sıçanın soyu ve yaşına bağlı olarak 3-15 arasında olabilmekte ve genellikle ortalama 6-12 arasında değişmektedir (2, 3). Bir batında doğan yavru sayısının değişken olması anneden alınan süt miktarını açıkça etkilemektedir. Çok yavrulu olanlar emzirme süresince yetersiz beslenirken, az yavru sayısına sahip olanlar daha iyi beslenmektedir. Bu yavrulardan kurulan deney ve kontrol gruplarından elde edilen deneysel verilerin bu durumdan etkilenip etkilenmediğine cevap bulmak için bu çalışmanın yapılmasına ihtiyaç duyulmuştur. Benzer çalışmalarda, yavru sayılarının farklı olmasının yetişkinlikte hipotalamus, görsel korteks ve hipokampusta farklı değişikliklere sebep olduğu tanımlanmıştır (3, 4). Yetişkinlik davranışları üzerine erken etkileri incelerken, potansiyel olarak önemli olabilecek değişkenlerden biri de kafeste barındırılan hayvan sayısıdır. Rodent davranış çalışmalarını etkileyen faktörler arasında, bir batında doğan yavru sayısı veya bir kafeste barındırılan hayvan sayısı tek tek araştırılmış olmakla birlikte, her iki değişkenin etkisini eş zamanlı olarak araştıran bir çalışma bulunmamaktadır.

Stok yoğunluğu (kafeste hayvan başına düşen zemin alanı) laboratuvar hayvanlarında barındırmanın diğer özellikleriyle birlikte refahla ilgili önemli bir parametreyi oluşturmaktadır. Laboratuvar rodentlerinde stresi hafifletmek için kafes tasarımına ve stok yoğunluğunun rolüne odaklanılmıştır (5). Deneysel olarak stok yoğunluğu, ya hayvan başına düşen zemin alanının ya da kafeste barındırılan hayvan sayısının değiştirilmesiyle oluşturulmaktadır (6, 7). Önceki çalışmalarda, barındırmanın etkisine bakılırken, sadece çevresel koşulların incelendiği ancak cinsiyetin etkisinin değerlendirilmediği görülmüştür (8, 9), bazılarında ise mekânsal ve popülasyona ilişkin bilgiler verilmemiştir (10). Bir diğer çalışmada ise aynı hayvanlar sırasıyla kalabalık ve bireysel barındırılmıştır ancak bu durum rutin barındırma biçimleriyle örtüşmemektedir (11). Avrupa Birliği, bilimsel amaçlar için kullanılan hayvanların korunmasına yönelik, “*Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes*” direktifinde, sıçanların barındırılmasında kullanılacak kafeslerde bulunması gereken zemin alanı, minimum kapalı alan ve yüksekliği belirtmiştir (12). Direktife göre 200 g bir sıçan için hayvan başına minimum 200 cm² bir alan düşmelidir. Dolayısıyla 800 cm² 'lik kapalı alana sahip olan bir kafeste, 200 g ağırlığında maksimum 4 sıçan barındırılabilir. Kalabalık kafes ortamının sıçanların hem davranışsal hem de fizyolojik cevaplarını etkileyen bir stres faktörü olup ve hayvan refahı üzerine etkisi olduğu kabul edilmektedir (11-14). Sıçanlarda, bir kafeste barındırılan hayvan sayısını standardize etmek ve bu şekilde barındırmanın olumsuz bir yanı varsa ortadan kaldırmak için bu çalışma planlanmıştır.

Bu çalışmada amacımız farklı yavru sayısına sahip annelerin büyüttüğü yavruların ve bir kafeste barındırılan hayvan sayısının, yavruların fiziksel ve mental özellikleri üzerine etkisinin olup olmadığını değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sıçanların Genel Özellikleri

Araştırmalarda kullanılan laboratuvar sıçan soylarının, Asya'dan köken aldığı ve Avrupa'ya oradan da Kuzey Amerika'ya göç eden, çoğunlukla evcilleştirilmiş Norveç ratının (*Rattus norvegicus*) albino soyları olduğuna inanılmaktadır. Sıçanlar da fareler gibi Rodentia takımında yer alan, Muridae ailesine mensupturlar (2, 15). *Rattus* cinsi 130'dan fazla tür içerir ama Norveç ratı (*Rattus norvegicus*) ve siyah rat (*Rattus rattus*) bu cinse bağlı en yaygın iki türdür. Biyomedikal araştırmalarda kullanılan ilk sıçan soyu Philadelphia'da Wistar Enstitüsü'nde geliştirilmiştir. Fareler gibi sıçanlarda genetik olarak outbred, inbred ve genetiği değiştirilmiş sıçanlar olarak sınıflandırılmakta olup en yaygın kullanılan iki outbred soy, Sprague-Dawley ve Wistar soyudur (16).

İnsanların korkmasına karşın, sıçanlar genellikle sessiz, uysal, zeki ve kolay eğitilebilir hayvanlardır. Kısa gebelik süreleri ve ömre sahip olmaları, sağlık ve genetik altyapısının iyi tanımlanmış olması, sıçanların önemli bir laboratuvar hayvanı olmasını sağlamıştır. Sıçanlar çoğunlukla, temel tıp, ilaç, gıda, davranış, nörofizyoloji ve toksisite çalışmalarında kullanılmaktadır (2, 15, 16).

2.2. Sıçanların Üretimi ve Yetiştirilmesi

Sıçanlar, poliöstrik hayvanlar olup, östrus döngüleri 4-5 gündür. Östrus döngüsü, proöstrus, östrus, metöstrus ve diöstrus olmak üzere dört dönemden oluşur. Bu döngüde dişi sıçanın, çiftleşme için erkeği kabul ettiği dönem proöstrus ve östrustur. Sıçanların puberte dönemine girme süresi, stok, cinsiyet ve soya bağlı olarak değişir. Genellikle 2-3 ay arasında puberteye ulaşırlar. Çoğunlukla, üç aydan önce üretimde kullanılmazlar (Tablo 1)(2, 3, 15). Dişi sıçanlarda doğurganlık yedinci aydan sonra azalmaya başlarken, erkeklerde bu süreç daha uzun olup yaklaşık iki yıldır. Sıçan yetiştirmede ya monogami ya da poligami yetiştirme sistemleri kullanılmaktadır. Monogami çiftleştirme sisteminde bir dişi bir erkek çiftleştirilir ve yavrular süttten kesime kadar anne ile kalır ve süttten kesimden sonra farklı kafeslere

alınır. Poligami çiftleştirme sisteminde bir erkek ile iki veya daha fazla dişi bir arada barındırılır. Dişiler doğumdan birkaç gün önce farklı kafeslere alınır ve bu kafeslerde doğum yaparlar, yavrular sütten kesildikten sonra dişiler yetiştirme kafesine geri götürülmektedir (2). Çiftleştirme için dişi sıçan, erkeğin bulunduğu kafese götürülmelidir aksi durumda dişi erkeği kabul etmeyebilir. Çiftleşme çoğunlukla günün karanlık periyodunda gerçekleşir. Çiftleşme şansını arttırmak için dişi sıçanda, vajinal smear ile östrus döngüsüne bakılarak, döngünün hangi döneminde olduğu belirlenebilir. Proöstrus ve östrusta bulunan dişilerin gebe kalma şansı yüksektir. Dişinin gebe kalıp kalmadığını anlamak için, ertesi gün vajinal sürüntü alınarak sperm varlığına bakılabilir. Geç dönemde ise özellikle fetüsün gelişiminin 10. ve 12. günlerinde dişi sıçanın karın bölgesi palpasyon hareketi ile kontrol edilerek gebe olup olmadığı anlaşılabilir.

Gebe dişi doğumdan birkaç gün önce yuvasını yapmaya başlar. Yuvasını yapması için zenginleştirme materyali olarak pamuk, kağıt parçaları ya da peçete gibi yuva yapma materyalleri kafesine konulabilir. Gebe dişi pamuk ve talaşı harmanlayarak genellikle kafesin suluk ve yemin olmadığı geniş kısmına yuvasını yapar. Yuvanın kenarları, talaş ve pamuk duvarla çevrili olup zemin kısmında neredeyse talaş yok denecek kadar azdır. Gebelik ve laktasyon süresince dişi, dışkı ve idrarını kafesin yuva olmayan tarafında yapar ve böylece yuvasını temiz tutar. Gebelik süresi ortalama 21-23 gündür. Bir batında doğan ortalama yavru sayısı 6-12 olup, bu sayı sıçanın soyuna ve yaşına bağlı olarak değişebilmektedir. Dişi doğumdan birkaç gün önce ve sonra rahatsız edilmemelidir, bu sırada verilen bir rahatsızlık yavrularını yemesine sebep olabilir. Anne doğum sırasında genital bölgeyi sürekli yalar ve yavrunun dışarı çıkmasına yardımcı olur. Dışarı çıkan her yavruya ait plasentayı yer, yavruyu yalayarak temizler ve bu döngü bütün yavrular doğana kadar devam eder. Doğum süresince yavrular etrafa dağılmış vaziyette olurlar. Anne doğum süreci tamamlandıktan sonra yavruları yuvaya toplar ve emzirerek yalamaya devam eder.



Şekil 1. Yenidoğan dönemindeki sıçan yavruları

Sıçan yavruları prematüre, tüysüz, gözleri ve kulakları kapalı tamamıyla anneye bağımlı olarak dünyaya gelirler (Şekil 1). Tam olarak tüylenmeleri 7-10 gün, kulakların açılması 2,5-3,5 gün, gözlerin açılması 14-17 günde ve kesici dişlerin çıkması 6-8 günde oluşmaktadır. Sütten kesme yaşı 21 gündür (2, 15).

Tablo 1. Sıçanların Yaş Dönemleri (2, 3, 15)

Zaman	Yaş dönemleri
0 - 7 gün	Yenidoğan
0 - 21 gün	Laktasyon
21. gün	Sütten kesme
21 - 75 gün	Puberte
3 -15 ay	Yetişkinlik, üretimde kullanma yaşı
15 aydan sonra	Yaşlılık
2-3 yıl	Yaşam süresi

Sıçanlar sosyal hayvanlar oldukları için tek barındırılmaları önerilmez, genellikle bir kafeste iki ya da daha fazla sayıda sıçan birlikte barındırılır. Sütten kesilen yavrular, dişi ve erkek olarak cinsiyetlerine ayrılır ve aynı yaş grubunda olan sıçanlar stok kafeslerinde birlikte barındırılırlar. Sütten kesildikten sonra tek barındırılan ve yetişkinlikte bir araya getirilen erkek sıçanların birbirlerine karşı agresif

davranmaya meyilli oldukları ve bazen ciddi yaralanmalara neden olduğu bilinmektedir. Dişi sıçanlar, böyle bir durumda erkeklere göre daha uyumlu olsalar bile, yine de istenmeyen durumlar oluşabilmektedir. Bu nedenle sıçanların özellikle sütten kesildikten sonra yaşlıları ile uygun kafeslerde barındırılmaları gerekir. Yavruların sütten kesimden sonra bir arada barındırılmaları birbirlerine uyumu kolaylaştırmaktadır.

2.3. Sıçanların Barındırılma Koşulları

Çevre, laboratuvar hayvanlarının refahı için önemli bir unsurdur ve dolayısıyla hayvanların davranışlarını, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri ile bağışıklık sistemini etkileyebilmektedir (8, 9). Çevresel faktörleri, makroçevre (sıcaklık, nisbi nem, CO₂, amonyum konsantrasyonu, ışık ve gürültüyü içeren faktörler) ve mikroçevre (stok yoğunluğu, altlık tipi, temizleme sıklığı ve kafes tipi gibi faktörler) oluşturur. Biyomedikal araştırmalarda sadece hayvanlar değil, sonuçların tekrarlanabilirliği açısından en az hayvanlar kadar çevresel faktörlerde standardize edilmelidir. Sıçanların barındırıldıkları oda sıcaklığı 20-24 °C, nisbi nem oranı % 40-60, havalandırma saatte 10-15 defa olmalıdır (15, 17). Sirkadiyen ritim biyolojik bir süreç olup, dünyanın dönmesi sonucu meydana gelen karanlık ve aydınlıktan oluşan bir günlük döngüye denmektedir. Karasal hayvanlar davranışlarını bu ritme göre koordine etmektedirler (18). Sirkadiyen ritimden kısa süren döngülere ultradiyen ritim, uzun süren döngülere infradiyen ritim denmektedir (19). Hormon seviyeleri, vücut sıcaklığı, kan akışı, idrar üretimi, saçların uzaması gibi vücuttaki birçok biyolojik işlem günlük ritimlerden etkilenmektedir. Rodentlerde uyku, hem hayvanın fiziksel olarak dinlenmesini hem de yuvasının termal izolasyonunu sağlamaya yardımcı olmaktadır. Sirkadiyen ritmi dolayısıyla uyku düzeni bozulan sıçanların, vücut ısılarının anormal derecede düştüğü, kuyruk ile pençelerinde yaralar oluştuğu ve sıçanların ömrünün üç hafta gibi ciddi bir oranda kısaldığı belirtilmiştir (18). Dolayısıyla hayvanların biyolojik fonksiyonlarının düzenli bir şekilde işlemesi için sirkadiyen ritmin de düzenli olması gerekmektedir. Bu nedenle laboratuvar hayvanlarının üretildiği ve kullanıldığı tesislerde genellikle 12 saat gündüz /12 saat gece olacak şekilde bir fotoperiyot uygulanmaktadır (2, 15).

Sıçanlar, özel çalışmalar dışında, çoğunlukla dayanıklı plastikten (genellikle polikarbon, polietilen veya polipropilen) üretilmiş, sert ve üstü ızgaralı paslanmaz çelik tel ile kaplı, şeffaf, içinde altlık bulunan konvansiyonel kafeslerde barındırılırlar. Kafes altlığı olarak, mısır koçanı parçacıkları, geri dönüştürülmüş kağıt parçaları ya da odun talaşı kullanılmaktadır. Kafeslerde zenginleştirme materyalleri olmalı ve bu materyaller, güvenli, hijyenik ve sindirilemez olmalı ve toksik olmamalıdır (2, 15).

1950' lerde laboratuvar rodentlerine daha kontrollü bir çevre yaratmak için geliştirilen ilk bireysel havalandırılmalı kafes sistemleri (individually ventilated cages-IVCs), statik filtreli kafeslerdir. Ancak bu kafesler, kafes içini dış çevreden etkili bir şekilde korurken, kafes içi havalandırma kalitesini düşürmüştür. Hava kalitesini geliştirmek amacıyla 1970' lerde raktaki her kafese aynı basınç, hız ve sıcaklıkta hava sağlayan bireysel havalandırılmalı kafes sistemleri (individually ventilated cages-IVCs) geliştirilmiştir. Günümüzde daha iyi mikroçevre yaratan ve yüksek düzeyde koruma sağlayan IVC sistemlerinin kullanımı gittikçe yaygınlaşmaktadır (20).

Toksikolojik çalışmalar gibi özel durumlarda, paslanmaz çelik ızgaralı, altlığı olmayan kafesler kullanılmaktadır. Fakat bu kafesler sadece çalışma süresince kullanılmakta ve hayvanların uzun süreli barındırılmasında kullanılması önerilmemektedir (16).

Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsünün (NIH) yayımlamış olduğu kılavuzda (The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, Guide; ILAR, 2011), tüm türlerin psikolojik ve sosyal ihtiyaçlarını karşılamaya yardımcı olmak için çevresel zenginleştirmenin uygun şekilde sağlanmasına ve sosyal barındırmanın artırılmasına vurgu yapılmıştır. Kılavuza göre, protokole uygun ve uyumlu olacak şekilde, sosyal hayvanlar fiziksel olarak temas edecek şekilde barındırılmalıdır. Sıçanlar da sosyal hayvanlar oldukları için, en iyisi çiftler ya da küçük uyumlu gruplar halinde barındırılmalarını sağlamaktır (2). Avrupa Birliği bilimsel amaçlar için kullanılan hayvanların korunmasına yönelik direktifinde, sıçanların barındırılmasında kullanılacak kafeslerde, bulunması gereken zemin alanı, minimum kapalı alan ve yüksekliği belirtmişlerdir (Tablo 2)(12).

Tablo 2. Kafeste Hayvan Başına Düşen Zemin Alan, Minimum Kapalı Alan ve Yükseklik (12)

Tür	Vücut ağırlığı (g)	Minimum kapalı alan (cm ²)	Zemin alanı/ Hayvan (cm ²)	Minimum kapalı yükseklik (cm)
Fare	<20	330	60	12
	20-25	330	70	12
	25-30	330	80	12
	>30	330	100	12
Sıçan	<200	800	200	18
	200-300	800	250	18
	300-400	800	350	18
	400-600	800	450	18
Hamster	<60	800	150	14
	60-100	800	200	14
	>100	800	250	14
Kobay	<200	1800	200	23
	200-300	1800	350	23
	300-450	1800	500	23
	450-700	2500	700	23

2.4. Sıçanların Beslenmeleri

Beslenme hayvanların büyümesi, üremesi, sağlıklı ve uzun ömürlü olmaları üzerinde önemli etkilere sahiptir. Laboratuvar hayvanları genel olarak ad libitum (istediği kadar) yem ve su verilmek suretiyle beslenmektedirler. Sıçanlar beslenme alışkanlığı açısından omnivor hayvanlar olup, standart ticari rodent yemleri ile beslenmelidir. Rodent yemleri genellikle pelet denilen, yaklaşık 10 mm çapında sert blok parçalardan oluşmaktadır. Sıçanlar ortalama olarak bir günde, 5-6 g/100 g vücut ağırlığı yem, 10-12 ml/100 g vücut ağırlığı su tüketirler. Yem ve su tüketimleri ad libitum olarak sağlanmaktadır (2).

2.5. Sıçanların Davranış Özellikleri

Davranış biliminin amacı, hayvanların doğal ortamlarında kendi hayatlarını korumak ve türünün varlığını sürdürebilmek için nasıl davrandığını öğrenmektir. Davranış bilimi için “nasıl” sorusu mekanik, “niçin” sorusu evrimsel nedenlere değinmektedir. Hayvanların davranışlarını incelemede iki farklı yaklaşım vardır; birincisi etologlar (davranış bilimcisi) tarafından hayvanların doğal ortamlarında

gözlenmesi, ikincisi ise bilim insanlarının hayvanları laboratuvar ortamında incelemesidir (21). Davranış çalışmaları sadece insan ve hayvanların normal davranışlarını anlamaktan ziyade aynı zamanda normal davranışlardan yola çıkarak çeşitli davranış bozukluklarının belirlenmesine de fayda sağlamaktadır.

Laboratuvar ortamında nörobiyoloji ve davranış çalışmalarında en çok kullanılan hayvanlar sıçan ve maymundur. Maymunlar insanlara evrimsel yakınlığından dolayı önemli bir deney hayvanıdır fakat özellikle bakımı ve barındırma şartları çok pahalı olduğundan çok az araştırma merkezinde kullanılabilir. Buna karşılık sıçanların üretimi, bakımı ve barındırılması oldukça kolay ve ekonomik olduğu için günümüzde de sıkça kullanılmaya devam etmiştir (21).

Sıçanlar sessiz, uysal ve kolay eğitilebilir hayvanlardır, gece aktif olup (noktürnal), gündüz dinlenirler. Sirkadiyen ritmin, karanlık döngüsünün başlangıcında ve bitişine yakın hareket açısından en aktif oldukları dönemdir. Gündüzleri vakitlerini çoğunlukla dinlenerek ve uyuyarak geçirirler. Sıçanlar, sosyal hayvanlardır ve doğada gruplar halinde yaşarlar. Rodentlerde gelişimlerinin her döneminde oyun davranışları gözlenir de, özellikle gençlik döneminde daha sık gözlenir. Ayrıca kendi alanını koruma, sosyal hiyerarşi ve aile bağları mevcuttur. Ortamdaki yabancı hayvanlar ve nesnelere kokusu aracılığıyla belirlenir. Agresif davranışlar, kendi alanını savunma ve sosyal hiyerarşiyi kurmak için kullanılır (3). Bir kafeste barındırılan hayvanların çoğu hiyerarşik olarak ast konumundadır ve genellikle en ağır vücut ağırlığına sahip olan sıçan baskındır. Hiyerarşik durum hayvanların test alanlarındaki davranışlarını da etkilemektedir. Ast durumunda olan hayvanların baskın olanlara göre daha az keşif davranışı sergiledikleri ve daha az hareket ettikleri saptanmıştır (22). Hem dişi hem de erkeklerde agresif davranışlar oyun davranışlarından farklı olup ayırt edilebilir ve kavga anında genellikle rakiplerinin sırt ve kalça kısımlarını ısırırlar (3). Sıçan ve farelerde agresif davranışlar dişilere kıyasla erkeklerde daha fazla ve belirgin bir şekilde görülmektedir (23, 24). Öz bakım (grooming) davranışı türe özgü davranışlardan olup, sıçanlar bu davranışı kendilerini temizlemek ve ısı dengelerini sağlamak için yaparlar. Önce ön pençelerini yalarlar, daha sonra sırasıyla yüzlerini, vücutlarını, arka bacaklarını ve kuyruklarını temizlerler (Şekil 2). Öz bakım davranışını yapamayan sıçanlarda porfirinden kaynaklı olarak gözlerde çapaklanma görülmektedir (3, 15, 16).



Şekil 2. Sıçanlarda öz bakım (Grooming) davranışı

Sıçanlar kafeslerinden alınıp yeni bir ortama bırakıldığında koklama, iki ayaküstüne kalkma (rearing) gibi keşfetme davranışları sergilerler (Şekil 3). Aynı zamanda çok iyi yüzerler ve itme gücünü arka bacaklardan alırlar, ön bacaklar hayvanın yönünü belirlemesine yardımcı olur (3, 15, 16).



Şekil 3. Sıçanlarda iki ayaküstüne kalkma (Rearing) davranışı

2.6. Hayvan DeneYlerinde Yaygın Kullanılan Davranış Testleri

2.6.1. Lokomotor Aktivite, Stres ve Anksiyete Benzeri Davranışları Değerlendirme Testleri

Lokomotor aktivite, hayvanın bir yerden başka bir yere hareket ettiğinde sergilediği, yürüme, koşma, dönme, keşfetme, iki ayaküstüne kalkma ve yüzme gibi davranışlarının bütününe kapsamaktadır (3). Hayvanın lokomotor davranışlarını, stres, anksiyete ile ilişkili durumlarını, öğrenme ve bellek yetisinde meydana gelen herhangi bir değişikliği belirlemek amacıyla, çeşitli davranış testlerinden yararlanılmaktadır. Rodentlerde, lokomotor aktivite ve spontan davranışların ölçülmesinde, hayvanın kendi kafesi (home cage), açık alan testi (Open Field Test), silindir test ve aktivite kafesleri kullanılmaktadır.

Anksiyete bozuklukları, toplumda çok yaygın olup, sıklıkla somut bir tehlike olmaksızın, belirli bir nesneye veya duruma cevaben gösterilen aşırı korku ile dikkat çekmektedir (25). Korku da benzeri bir uyarıdır fakat korku dışarıda bulunan, bilinen, açık seçik olarak tanımlanabilir ve kökeni iç çatışmaya dayalı olmayan bir tehdide karşı gösterilen tepkidir. Bir olayın stresli olarak algılanıp algılanmaması, olaya ve kişinin olayla baş etme ve savunma mekanizmalarına bağlıdır (26). Stres sistemi, limbik-hipotalamo-hipofiz-adrenal aksının (LHPA) aktivasyonuna yol açarak, kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH), adenokortikotropin ve kortizol gibi stres hormonlarının salgılanmasını sağlar. Bu durum oldukça spesifik olup korku ve anksiyetenin nöronal devreleriyle de yüksek oranda ilişkilidir (25). Stres ve anksiyete benzeri davranışların ölçülmesinde ise, yükseltilmiş artı labirent testi (Elevated Plus Maze), açık alan testi (OFT), aydınlık/karanlık kutu (Light/dark box) sıklıkla kullanılmaktadır.

Hayvanların keşfetme ve bellek fonksiyonlarının birlikte değerlendirilmesinde, sosyal etkileşim testi (social interaction test) ve yeni obje tanıma testleri (novel object recognition test) kullanılmaktadır. Öğrenme ve bellek alanında sık kullanılan testlere, pasif ve aktif kaçınma testi, mekânsal bellek testleri, Y labirenti, radyal labirent, Barnes labirenti ve Morris su labirenti testleri örnek gösterilebilir.

2.6.1.1. Açık Alan Davranış Testi (Open Field Test-OFT)

Açık alan davranış testi, 1934 yılında Hall tarafından, dışkı sayısının ölçümü yoluyla hayvanların duygusal durumunu değerlendirmek amacıyla tasarlanmıştır (27). Hayvan psikolojisinde davranışların ölçümü en çok kullanılan yöntemlerden biri haline gelmiştir (28). Test oldukça popüler olup, primatlar, buzağı, domuz, kuzu, tavşan, tavuk, bal arısı ve ıstakoz dahil olmak üzere birçok türde kullanılmıştır (29). Testin bu kadar yaygın kullanılmasının nedenleri arasında, basit ve ekonomik olması, ön deneme gerektirmemesi, verilerin kolay ve net olarak toplanabilmesi sayılabilir. Test alanının çok farklı biçimleri (daire, kare veya dikdörtgen) ve versiyonları vardır (Şekil 4). Test alanında aydınlatma önemlidir ve ışıklandırma bazen test alanı üzerinde, bazen şeffaf zeminin altında bazen de kırmızı ışık kullanılmaktadır (30).

Hayvan, test alanının merkezine veya yüzü duvara dönük olacak şekilde yerleştirilir ve davranışları 2-20 dk arasında değişmekle birlikte genelde 5 dk boyunca kaydedilir. Test süresince, hayvanların köşelere, kenarlara ve merkez alana giriş sıklığı, buralarda geçirdiği süreler, öz bakım (grooming) ve iki ayaküstüne kalkma (rearing) davranışları daha sonra değerlendirmek üzere kaydedilir. Rodentler, noktürnal hayvanlar olup genellikle sosyal gruplar halinde, küçük tünellerde, kapalı ve karanlık yerlerde yaşamaya alışkın olduklarından, aydınlık ve açık alanlardan korkarlar. Bu ortamda hayvanın hareketliliğini etkileyen faktörler şunlardır: hayvana özgü spontan aktivite, geniş ve aydınlık ortamın uyandırdığı korku ile yeni ortamdan kaynaklanan merak ve keşfetme isteğidir (21, 29). Rodentler spontan olarak test aparatının duvar kenarlarını merkez alana tercih ederler ve burada daha çok vakit geçirme eğiliminde olurlar (29). Ayrıca hayvanın öz bakım (grooming) davranışı da yeni bir çevreye girdiğinde artmakta ve aynı çevrede vakit geçirdikçe azalmaktadır. OF testinde açık alana bırakılan hayvanın lokomotor aktivitesi, keşfetme ve anksiyete durumları eş zamanlı olarak değerlendirilmektedir.



Şekil 4. Açık alan davranış test alanı

Çalışmamızda dişi ve erkek sıçanların standart, orta ve yüksek yoğunlukta barındırma grupları arasında lokomotor aktivite, hayvanların köşelere, kenarlara ve merkez alana giriş sıklığı, buralarda geçirdiği süreler, öz bakım (grooming) ve iki ayaküstüne kalkma (rearing) davranışları arasında fark olup olmadığını değerlendirmek için açık alan davranış testi seçilmiştir. Test sonunda farklı barındırma gruplarının sıçanlarda oluşturduğu lokomotor aktivite değişiklikleri, stres ve anksiyete ile ilgili davranışlar değerlendirilmiştir.

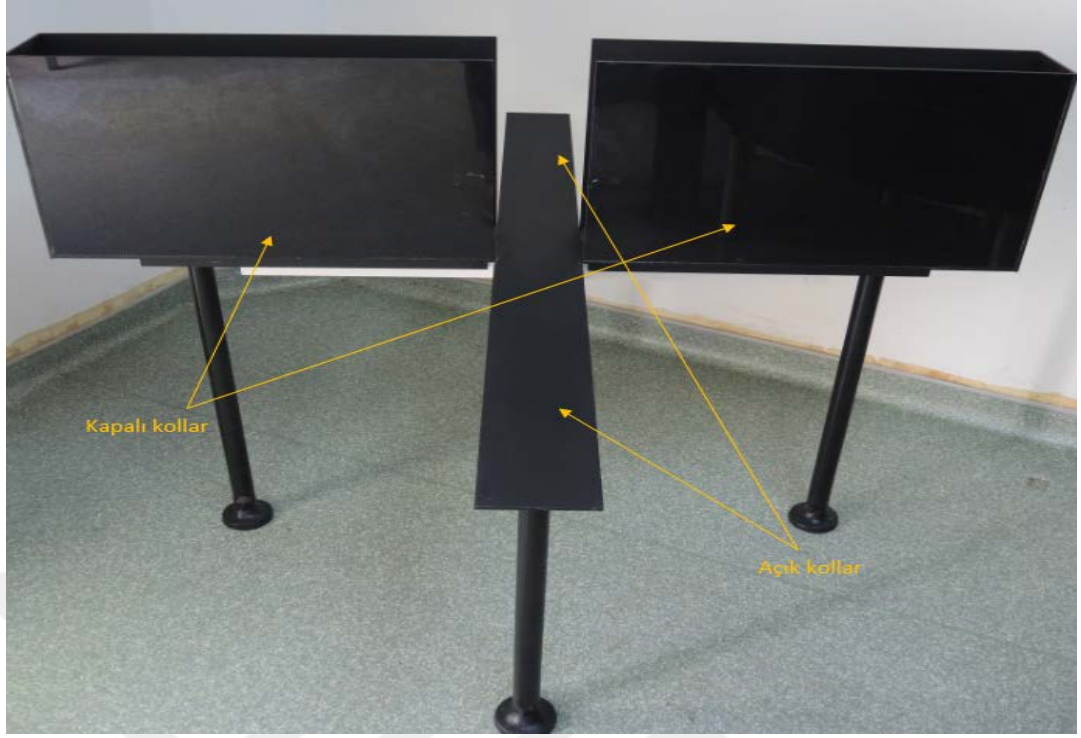
2.6.1.2. Aktivite Kafesleri

Hayvanların spontan lokomotor aktivitesi, deneysel cerrahi müdahale ile veya psikotropik ilaçlarla değiştirilebilir. Dolayısıyla deney süresince lokomotor aktiviteye ilişkin elde edilen bilgiler, hayvanın tedaviye yanıtı, psikotropik ilaçların sedatif, kas gevşetici ve psikostimülan etkileri hakkında bilgi verebilir. Genellikle kare şeklinde bir pleksiglas kafes ve kafesin bir kenarında kızılötesi (infrared:IR) ışık kaynağı ve diğer tarafında bunları algılayan alıcılar mevcuttur. Kafesin boyutları kullanılan deney hayvanına göre değişmekle birlikte, rodentlerde bir kenarı 40-45 cm arasındadır. Hayvanın tüm yatay ve dikey hareketleri ve ne kadar mesafe katettiği bilgisayar ile kaydedilmektedir. Locomotor aktivite ölçümleri IR sensörler, kamera ve yazılım programları kullanılarak rodentlerin kendi kafeslerinde de yapılabilmektedir. Bu durum özellikle hayvanın yeni bir çevreye girişinden kaynaklanan davranış

değişikliklerini ortadan kaldırarak, verilerin güvenilirliğini arttırmakta ve hayvan refahına katkıda bulunmaktadır (21, 31, 32).

2.6.1.3. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi (Elevated Plus Maze-EPM)

Yükseltilmiş artı labirent testi, File ve arkadaşları tarafından, rodentlerin anksiyeteye verdikleri yanıtları değerlendirmede kullanılan basit bir metot olarak tanımlanmıştır (33). Montgomery' nin çalışmasından esinlenerek ve modifiye edilerek ilk olarak Handley ve Mithani tarafından anksiyetenin değerlendirilmesinde ve ilaçların anksiyoselektif etkilerinin taranmasında kullanılmıştır (34-36). Bu yazarlar, açık kollarda geçirilen zamanı, kapalı kollarda geçirilen zamana oranlayarak rodentlerin anksiyete davranışının değerlendirilebileceğini tarif etmişlerdir (Şekil 5)(37). Günümüzde ise, anksiyete hastalıklarının alt tipleri olan, anksiyete, fobi ve post travmatik stres kadar, bağımlılık, hormonlar, ağrı, öğrenme ve hafıza ile ilişkili duyguların biyolojik temellerinin anlaşılmasına yönelik olarak geniş çapta kullanılmaktadır. Aynı zamanda korku ve anksiyete ile ilişkili beyin bölgelerinin belirlenmesinde, yaşa bağlı üremenin ve doğum öncesi, esnası ve sonrasındaki çeşitli stresörlere maruziyetin etkilerinin değerlendirilmesinde kullanılabilir. EPM testinin çok kullanılmasının nedenleri arasında, ekonomik, hızlı ve basit tasarımının olması, iki yönlü ilaç duyarlılığının test edilebilmesi, uzun deneme prosedürlerinin olmaması, su/yemek kısıtlaması ve elektrik şoku içermemesi sayılabilir (36). Rodentler, EPM de açık kollara az girer, vaktinin çoğunu kapalı kollarda harcarlar. Rodentlerin EPM test alanında, donması/hareketsiz kalması, defekasyon ve açık kollara oranla, kapalı kollarda daha fazla vakit geçirmesi, anksiyete ile ilişkili davranışlardır (37).



Şekil 5. Yükseltilmiş artı labirent test alanı

Çalışmamızda, dişi ve erkek sıçanların standart, orta ve yüksek yoğunlukta barındırma grupları arasında, açık ve kapalı kollarda geçirilen zaman, buralara ilk giriş süreleri, hareketli ve hareketsiz kaldığı süreler arasında fark olup olmadığını değerlendirmek için yükseltilmiş artı labirent davranış testi seçilmiştir. Böylece farklı barındırma gruplarının sıçanlar üzerinde yarattığı stres ve anksiyete ile ilgili davranışlar değerlendirilmiştir.

2.6.2. Öğrenme ve Bellek Testleri

2.6.2.1. Morris Su Labirenti Testi (Morris Water Maze-MWM)

Bilimsel çalışmalarda farklı öğrenme ve bellek mekanizmalarını araştırmak için çeşitli davranış testleri geliştirilmiştir. Rodentlerin yaşam alanları genellikle, toprak altında 600-700 m uzunluğunda olabilen labirentlerden oluşmaktadır. Dolayısıyla bu yaşam tarzı için güçlü bir mekânsal belleğe ihtiyaçları vardır ve mekânsal bellek fare ve sıçanlarda oldukça kuvvetlidir (21).

MWM testi, ilk olarak nöro bilimci Richard G. Morris tarafından uzun süreli uzamsal belleği ve uzamsal belleğin kazanımını da içeren hipokampusa bağımlı öğrenmenin test edilmesi için kurulmuştur (33). Nörobilim ve nörofarmakoloji alanında, uzamsal öğrenme ve bellek çalışmalarında yoğun olarak kullanılmaktadır. Alzheimer hastalığı gibi nörokognitif hastalıkların rodent modellerinin değerlendirilmesinde MWM önemli bir rol oynamaktadır (21, 33). Test, çapı 1-2,5 m arasında değişen, daire şeklinde suyla doldurulmuş bir havuz ve havuzun içine gizlenmiş küçük bir kaçış platformu olan ortamda yapılmaktadır (Şekil 6). Deney hayvanlarının, tür, soy, yaş, cinsiyet, vücut ağırlığı ve fiziksel gelişim gibi çeşitli özellikleri MWM performansını etkileyebilmektedir (21, 33, 38). MWM testinde uzamsal öğrenme performansı hayvanların yaşı arttıkça azalmaktadır. Bu durumun, hipokampal oluşumun morfolojisi ve fonksiyonundaki değişikliklerden kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Çalışmalara göre, rodentlerde erkekler dişilerden daha iyi yüzmekte ve fareler ise sıçanlara göre daha iyi yüzmektedir. Soylar arasında ise albino Sprague-Dawley sıçanlar, Wistar-Kyoto sıçanlardan daha iyi performans sergilemişlerdir. Ayrıca çevresel faktörlerin (sıcaklık, ışık ve gürültü vb) strese sebep olabileceği ve stresli hayvanların MWM testinde kötü performans sergiledikleri kanıtlanmıştır (33, 38). İnsan ve hayvanların her ikisinin de kognitif fonksiyonlarının stresten etkilendiği bilinmektedir. Stres akılda tutma performansını da etkilemektedir. Adrenal steroid hormonların salgılanması stresin bir sonucu olup hafıza durumunu direkt olarak etkilemektedir (39).



Şekil 6. Morris su labirenti test alanı

Çalışmamızda, dişi ve erkek sıçanların standart, orta ve yüksek yoğunlukta barındırılmasının, hayvanların öğrenme ve bellek yetenekleri üzerindeki etkisini değerlendirmek için Morris su labirenti davranış testi kullanılmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın tipi

Araştırma deneysel niteliktedir.

3.2. Araştırmanın yeri ve zamanı

Araştırma 2016 Mayıs-2018 Haziran tarihleri arasında, Dokuz Eylül Üniversitesi Multidisipliner Deney Hayvanları Birimi' nde yürütülmüştür.

3.3. Araştırmanın evreni ve örneklemi

Bu çalışma deneysel hayvan çalışmasıdır. Çalışmada, ortalama 200-250 g ağırlığında, Wistar Hannover albino dişi sıçan ve bu sıçanlardan elde edilen yavrular kullanılmıştır. Sıçanların, barındırma gruplarının oluşturulması ve deneysel çalışmalara seçilmesinde randomizasyon yapılmıştır.

3.4. Çalışma materyali

Çalışmada, ortalama 250 g ağırlığında, Wistar Hannover albino dişi sıçan ve bu sıçanlardan elde edilen yavrular kullanılmıştır.

3.5. Araştırmanın değişkenleri

Bağımsız değişkenler: Kafesleme grupları, bir batında doğan yavru sayısı.

Bağımlı değişkenler: Fiziksel gelişim özellikleri, yem ve su tüketim miktarları, davranış testleri, annelik davranışları, kortikosteroid testi.

3.6. Veri toplama araçları

3.6.1. Hayvanların temini ve barındırma koşulları

Bu çalışmada sıçanlar, Dokuz Eylül Üniversitesi Multidisiplin Laboratuvarı Deney Hayvanları Biriminden temin edilmiştir. Daha önce hiç çiftleştirilmemiş, ağırlıkları 200-250 gr arasında olan, 30 adet Wistar Hannover albino dişi sıçan kullanılmıştır. Barındırma koşulları; oda sıcaklığı 20-24°C, nisbi nem % 45-65, 12 saat gündüz/ 12 saat gece fotoperiyodu uygulanmıştır. Hayvanlara yem ve su ad libitum olarak verilmiştir.

Hayvanlar katıma (çiftleştirme) alınmadan 2 gün önce kafeslerine ayrıldı ve etiketlendi. Damızlık erkekler bir gün öncesinde katım kafeslerine konuldu. Dişilere vajinal smear testi uygulanarak östrus döneminde olup olmadıkları kontrol edildi. Monogamik (bir dişi- bir erkek) çiftleştirme yöntemi kullanıldı ve çiftleşme başarısını arttırmak için bütün hayvanlar 4 gün katımda tutuldu. Çiftleştirme sonrası damızlık erkekler kafeslerden alındı ve dişiler gebelik belirtileri açısından gözlemlendi. Katıma alınan sıçanlardan 17 tanesi gebe kaldı. Annelerin doğum yaptıkları gün PND "0" (Post Natal Day "0") olarak kaydedildi ve yavruların sayısı not edilerek, yavruların doğum ağırlıkları tartıldı. Doğum yapan dişilerin ilk gebeliği olduğundan, annenin bilmeden yavruların üzerine basması veya bakmaması gibi nedenlerle doğumdan hemen sonra ya da birkaç gün içinde bazı yavru kayıpları gözlemlendi (Tablo 3). Doğumdan sonra erken yavru kaybı, hayvan üretim bölümünde de gözlenmekte olan normal bir durumdur, bu nedenle bu anneler de çalışmaya alınmıştır. Deneyden çıkarma kriterleri şu şekilde belirlenmiştir:

-Erken yavru kaybı % 50 den fazla olan anne deneye alınmamıştır.

-Bir batında doğan yavru sayısının bağımlı değişkenler üzerinde etkisini görebilmek için 6, 7, 8, 9, 10 ile 11, 12, 13, 14, 15 yavru doğuran anneler çalışmaya alınacak ve bunlardan elde edilen bulgular karşılaştırılacaktı. Fakat 10 ve altında yavru doğuran sadece üç dişi olduğundan bunlarda deneysel çalışma için yeterli olmadığından bu anneler çalışmaya dahil edilmemiştir. Ayrıca benzer batın sıklığı etkisi oluşturulması için, altıdan az, 15 den fazla doğuran anneler çalışmaya alınmayacaktı ve 17 yavru doğuran anne hem erken yavru kaybının fazla olması hem de istenilenden fazla yavru sayısına sahip olması nedeniyle çalışmaya dahil edilmemiştir.

Doğumdan sonra bütün annelerin yavruları, fiziksel gelişim parametreleri açısından gözlemlenmiş olup, çalışmanın geri kalanına sadece 11,12,13,14, ve 15 yavru doğuran annelerin yavruları dahil edilmiştir.

Tablo 3. Yavruların Cinsiyet Dağılımı ve Emzirme Süresince Yaşanan Yavru Kayıpları

Anneler	Doğumdaki yavru sayısı	Ex olan	Kalan yavru sayısı	Dişi sayısı	Erkek sayısı
1. anne	14	0	14	8	6
2. anne	14	1	13	6	7
3. anne	17	11	6	4	2
4. anne	12	0	12	7	5
5. anne	14	1	13	11	2
6. anne	12	0	12	5	7
7. anne	13	0	13	6	7
8. anne	12	0	12	4	8
9. anne	9	0	9	2	7
10. anne	14	0	14	9	5
11. anne	15	1	14	7	7
12. anne	12	1	11	4	7
13. anne	11	0	11	3	8
14. anne	11	0	11	7	4
15. anne	10	1	9	5	4
16. anne	9	0	9	5	2
17. anne	13	2	11	7	4
Toplam	212	18	194	100	92

3.6.2. Fiziksel Gelişim Parametrelerinin Değerlendirilmesi ve Kafesleme

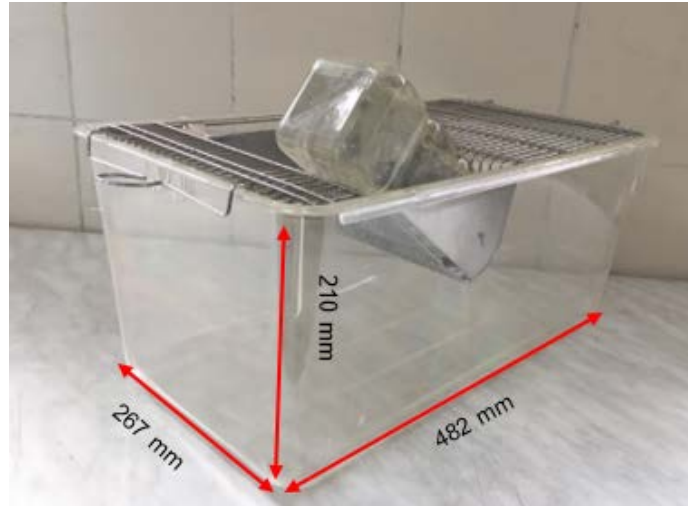
Doğumdan sonra her gün yavrular bireysel olarak, fiziksel gelişim parametreleri açısından gözlemlenmiş ve belirtilerinin kaçınıcı günde gözlemlendiği kaydedilmiştir. Gözlemlenecek fiziksel gelişim parametreleri: kulak kepçesinin ayrılması (Pinna detachment -unfolding of the external ear), tüylenmenin başlaması (Hair growth), kesici dişlerin çıkması (Incisor eruption), Gözlerin açılması (Eye opening), testislerin inmesi (Desensus testis) olarak belirlenmiştir (40). Yavruların doğumdan itibaren fiziksel gelişim parametreleri takip edilmiş ve ağırlıkları haftalık

olarak ölçülmüştür. Vajinal açılma, PND "30". günden sonra gerçekleştiğinden ve hayvanlar 30. günden itibaren, üçerli, beşerli ve yedişerli olarak kafeslendiğinden bu özellik değerlendirilmemiştir. Yavrular bir aylık olduklarında, dişi ve erkek olarak ayrılmış ve bunlar randomize olarak bir kafeste üçerli, beşerli ve yedişerli olacak şekilde barındırılmıştır. Kafeslemede, polikarbondan yapılmış, kafes ebatları 482 x 267 x 210 mm zemin alanı: 940 cm² olan (Tecniplast, İtalya) kafes kullanılmıştır (Şekil 7). Avrupa Birliği bilimsel amaçlar için kullanılan hayvanların korunmasına yönelik direktifinde sıçanların grup barındırılmasında belirtilen gerekli zemin alanı dikkate alındığında (Tablo 2), gruplar aşağıdaki şekilde oluşturulmuştur.

1. Standart Barındırılan Grup (SB): Bir kafeste üç sıçan standart koşullarda barındırıldı ve hayvan başına düşen zemin alanı yaklaşık 313 cm²'dir.

2. Orta Yoğunlukta Barındırılan Grup (OYB): Bir kafeste beş sıçan olacak şekilde orta yoğunlukta barındırılmış olmakta ve hayvan başına düşen zemin alanı yaklaşık 188 cm²'dir.

3. Yüksek Yoğunlukta Barındırılan Grup (YYB): Bir kafeste yedi sıçan olacak şekilde, kalabalık koşullarda barındırılmış olmakta ve hayvan başına düşen zemin alanı yaklaşık 134 cm²'dir. Her kafesleme grubundan üçer tane oluşturulmuştur (Tablo 4).



Şekil 7. Sıçanların Barındırılmasında Kullanılan Kafes Tipi (Tecniplast, İtalya)

Tablo 4. Hayvanları Kafesleme Biçimi

	Bir batında doğan yavru sayısı 11, 12, 13, 14, 15 olan annelerin yavruları					
Gruptaki hayvan sayısı	SB		OYB		YYB	
Cinsiyeti	D	E	D	E	D	E
1.1. Grup	3	3	5	5	7	7
1.2. Grup	3	3	5	5	7	7
1.3. Grup	3	3	5	5	7	7
Hayvan başına düşen ortalama zemin alanı	313 cm ²		188 cm ²		134 cm ²	

3.6.3. Kafeslenen Hayvanların Haftalık, Yem ve Su Tüketimleri İle Canlı Ağırlık Artışlarının Ölçülmesi

Sütten kesilen yavrular, kafeslendikten sonra da canlı ağırlık artışı ölçümleri davranış testleri uygulanana kadar haftalık olarak yapılmaya devam edilmiştir. Ayrıca yem ve su tüketimleri de haftalık olarak ölçülmüştür. Bütün ölçümler her hafta aynı gün ve aynı saatte yapılmıştır. Yem ve su tüketimleri 24 saatlik ölçülmüştür. Hayvan başına tüketilen yem ve su miktarı, 24 saatlik yem ve su tüketim miktarının kafeste barındırılan hayvan sayısına bölünerek hesaplanmıştır.

3.6.4. Davranış Testlerinin Yapılması

Yavrular 12 haftalık olduklarında, sırasıyla açık alan, yükseltilmiş artı labirent ve Morris su labirenti davranış testi uygulanmıştır. Bütün davranış testleri ve kan alma, dolaşımdaki kortikosteroid seviyesinin aydınlık ve karanlık döngünün en düşük seviyesinde olduğu, gündüz saat 8:00- 14:00 arasında gerçekleştirilmiştir (41, 42). Davranış odası sıcaklığı 20-24 °C, nisbi nem % 40-60 arasında ve aydınlatma 20 lüks olarak ölçülmüştür. Bütün davranış çalışmalarının kaydedilmesi ve verilerin toplanmasında Ethovision XT 13. (Noldus Information Technology, Hollanda) davranış yazılımı paketi kullanılmıştır.

3.6.4.1. Açık Alan Davranış Testi (Open Field Test-OFT)

Açık alan davranış testi, rodentlerde sıklıkla lokomotor aktivite ve anksiyete ile ilişkili davranışların değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (43). Ayrıca fare ve sıçanlarda davranışsal tercihlerin yanı sıra tam felçten normal harekete kadar değişen motor fonksiyonlarının değerlendirilmesinde de kullanılır (44-46). Çalışmamızda dişi ve erkek sıçanların standart, orta ve yüksek yoğunlukta barındırma grupları arasında lokomotor aktivite, hayvanların köşelere, kenarlara ve merkez alana giriş sıklığı, buralarda geçirdiği süreler, öz bakım (grooming) ve iki ayaküstüne kalkma (rearing) davranışları arasında fark olup olmadığını değerlendirmek için açık alan davranış testi seçilmiştir. Test sonunda farklı barındırma gruplarının sıçanlarda oluşturduğu lokomotor aktivite değişiklikleri, stres ve anksiyete ile ilgili davranışlar değerlendirilmiştir.

Açık alan davranış test alanı kare, 60 x 60 cm² ölçülerinde olup, zemini siyah, duvarlar 40 cm yükseklikte şeffaftır (Şekil 4). Test alanı, bilgisayar ekranında 16 kareye bölünmüş olarak görülecek, bu karelerden merkezdeki 4 tanesi test alanının merkezi, her köşede yer alan dört kare test alanının köşelerini, kalan kareler ise test alanının kenarı olarak tanımlanmıştır. Alanın merkezine bırakılan sıçanın davranışları 5 dakika boyunca bilgisayar yazılımı tarafından kaydedilmiştir. Hayvanın tanımlanmış bölgelerde hareketli ve hareketsiz olarak geçirdiği süreler, iki arka ayaküstüne kalkış sıklığı, yürüdüğü mesafe gibi parametreler gözlemlenmiş ve bunlar bilgisayar tarafından analiz edilmiştir. Test sonunda hayvanın yaptığı dışkı miktarı not edilmiştir (45-47). Her denemeden sonra test alanı % 10' luk etil alkol ile silinip kurulanmıştır (48).

3.6.4.2. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi (Elevated Plus Maze-EPM)

Yükseltilmiş artı labirent testi, rodentlerin anksiyeteye gösterdikleri tepki davranışlarının ölçülmesine yarayan artı (+) şeklinde basit bir alettir (Şekil 5). Çoğunlukla anksiyete ve anksiyete ilişkili davranışların yanında farmakolojik ajanların aksiyolitik ve anksiyojenik etkilerinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca yaşa bağlı üremenin etkileri ile doğum öncesinde, esnasında veya sonrasında maruz kalınan çeşitli stresörlerin etkilerinin değerlendirilmesinde de kullanılabileceği

belirtilmiştir (33). Bu çalışmada, dişi ve erkek sıçanların standart, orta ve yüksek yoğunlukta barındırma grupları arasında, açık ve kapalı kollarda geçirilen zaman, buralara ilk giriş süreleri, hareketli ve hareketsiz kaldığı süreler arasında fark olup olmadığını değerlendirmek için yükseltilmiş artı labirent davranış testi seçilmiştir. Böylece farklı barındırma gruplarının sıçanlar üzerinde yarattığı stres ve anksiyete ile ilgili davranışlar değerlendirilmiştir.

Standart yükseltilmiş artı labirent, yerden yüksekliği 55 cm, uzunlukları 50 x 10 cm² olan ve birbirlerini dik açıyla kesen dört koldan oluşmaktadır. Bu kollardan karşılıklı olan ve kapalı olarak adlandırılan kol 40 cm yükseklikte duvarla kapatılmıştır. Test edilecek sıçan dört kolun kesiştiği orta alana, açık kollardan birisine bakacak şekilde tarafsız alana yerleştirilmiş ve davranışları 5 dakika boyunca bilgisayar yazılımı kullanılarak videoya kaydedilmiştir. Hayvanın açık ve kapalı kollara giriş sıklığı ve kollarda geçirdiği süre ve bilgisayar izleme sistemi ile labirent içinde kat ettiği mesafe ölçülmüştür. Test bitiminde hayvanın yaptığı dışkı miktarı not edilmiştir. Her denemeden sonra test alanı % 10' luk etil alkol ile silinip kurulanmıştır (36, 48).

3.6.4.3. Morris Su Labirenti Testi (Morris Water Maze-MWM)

Çalışmamızda, dişi ve erkek sıçanların standart, orta ve yüksek yoğunlukta barındırılmasının, hayvanların öğrenme ve bellek yetenekleri üzerindeki etkisini değerlendirmek için Morris su labirenti davranış testi kullanılmıştır.

Morris su tankı, 123 cm çapında, 65 cm yüksekliğinde bir tank olup, yaklaşık 43 cm yüksekliğine kadar suyla doldurularak ve suyun sıcaklığı 25±1 °C olacak şekilde ayarlanır. Tank alanı, hipotetik olarak 4 eşit parçaya bölünerek kuzey, güney, doğu, batı olarak tanımlanır. Çapı 12 cm olan bir platform suyun 1 cm aşağısında kalacak şekilde dörtte birlik kadrantlardan birinin (bu çalışma için güneydoğu çeyreği) merkeze yakın noktasına yerleştirilir. Tankın bulunduğu odada üç farklı yönde duvarlara hayvanın yönünü belirlemede kullanabileceği ipuçları (örneğin, farklı renkte geometrik şekillerde kartonlar) yerleştirilir. Dördüncü yön belirleyici ise her gün aynı noktada duran araştırmacıdır. Test, her sıçana günde 4 deneme yздürmesi yaptırılacak şekilde ardışık 4 günde uygulanmıştır. İlk 4 gün sıçanın tanka hangi yönlerden hangi sırayla bırakılacağı (bu çalışma için 1. günden başlayarak sırasıyla

batı-güney-doğu-kuzey, kuzey-doğu-güney-batı, doğu-kuzey-batı-güney, güney-batı-kuzey-doğu ve kuzey yönleri) önceden belirlenir. Her yüzme seansında sıçanların platformu bulmaları için 60 saniye verilir. Platformu bulan sıçanların platformda 10 saniye kalmalarına izin verilir. Bu süre içerisinde platformu bulamayan sıçanlar, deneyi yapan kişi tarafından nazikçe platforma doğru yönlendirilir ve platform üzerinde 20 saniye kalmalarına izin verilir. Deneyin son günü olan 5. gün ise platform kaldırılır ve hayvanlar tek seans olarak 60 saniye yüzdürülür. Bu süre içerisinde hayvanın, platformun bulunduğu çeyreğe ilk giriş süresi ve burada geçirdiği süre kaydedilir. Sıçanlar yüzme seanslarından sonra altlarına kağıt havlu yerleştirilerek elektrikli ısıtıcı-lamba karşısında hızlıca kurutulur (33, 49, 50).

3.6.5. Annelik Davranışlarının Gözlenmesi

İnsanlarda, insan olmayan primatlarda (Nonhuman primat) ve rodentlerde yapılan çalışmalarda, doğum sonrası çevrede oluşturulan küçük değişikliklerin bile yavruların fizyolojisinde ve davranışlarında belirgin ve kalıcı etkilere sebep olabildiği gösterilmiştir. İnsan olmayan primatlarda, yapılan araştırmalarda çevresel olumsuzlukların, anne-bebek etkileşimindeki kaliteyi etkilediğini ve stresin, nöroendokrin sistem aracılığıyla annelik davranışlarını direkt olarak etkileyerek değiştirebileceği gösterilmiştir. Hem primatlarda hem de rodentlerde yavruların anne bakımından uzun süre yoksun bırakılması, yavrularda aşırı korkmaya, uygunsuz ve genellikle aşırı saldırgan sosyal davranış kalıplarına ve yetersiz bilişsel gelişime sebep olduğu belirtilmiştir. Annelik davranışları üç kategoride toplanmıştır (51-53):

1) Bakım dışı davranışlar; yeme, içme, keşfetme, öz bakımını yapma (grooming), dinlenme, yavruardan uzakta olmak gibi davranışları içerir.

2) Aktif bakım davranışları; yüksek ve alçak kambur oluşturacak (kifozis) şekilde emzirmek, yavruları hem yalayıp hem de emzirme (licking-grooming) davranışlarını içerir.

3) Pasif bakım davranışları; yavruların üstüne tam yatarak emzirmek (blanket), vücudunun bir tarafına yatarak emzirme davranışlarını kapsar.

Çalışmamızda annelik davranışlarını gözlemlemek için, 08.00, 12.00, 16.00 ve 20.00 saatlerinde olmak üzere günde dört defa, 3 dakikada bir olmak üzere 25 kez gözlenmiştir (25 gözlem x 4 farklı gözlem saati x 6 gün x 1 anne = 600 gözlem)(52, 53).

3.6.6. Kortikosteroid Analizi

Strese maruziyet sırasında, Hipotalamus-Hipofiz-Adrenal (HPA) aksı ve sempatik sinir sistemi ile adrenal medulla sistemini de içeren stres düzenleme sistemlerinin tümü aktive olur. Böylece, Kortikotropin- Salgılatıcı Hormon (Corticotropin-Releasing Hormone-CRH), Adrenokortikotropik Hormon (Adrenocorticotropik Hormone -ACTH), kortikosteroid ve noradrenalin gibi çeşitli hormonlar büyük miktarlarda kana salınır (54, 55). Mental sağlık çıktıalarının değerlendirilmesinde, nörolojik yapısal değişiklikler, strese karşı verilen duygusal ve davranışsal yanıtlar, nöbetler, HPA aksı hormonlarının ölçülmesi, öğrenme bozukluğu ve konsantrasyon eksikliği gibi bilişsel değişiklikler, stres fizyolojisi ve nöroendokrinale değişiklikler gibi çeşitli değerler kullanılmıştır (56). Kortikosteroidler, stres seviyesini gösteren kolay ölçülebilen bir belirteç olsa da, glukokortikoidlerin ölçümünün her zaman strese maruziyetin ya da stresin etkisinin apaçık bir göstergesi olmayabileceği, kortikosteroid seviyesinin zamana ve stresin kronikliğine de bağlı olabileceği unutulmamalıdır (24).

Çalışmamızda, bir batında doğan farklı yavru sayılarının ve kafeste barındırılan birey sayısının, stresi tetikleyebileceği düşüncesi ile sıçanların fizyolojik parametreleri üzerine etkisinin olup olmadığını değerlendirmek için plazma kortikosteroid düzeyleri ölçülmüştür. Davranış testleri tamamlandıktan 24 saat sonra, her üç gruptan altı dişi ve altı erkek 12'şer sıçan olmak üzere toplamda 36 hayvanın kuyruklarından 2 ml' lik kan alınarak plazma kortikosteroid düzeyi (R&D Corticosterone Parameter Assay Kit, Lot:P150601, ABD) ELISA (Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay) yöntemi ile ölçüldü. Kortikosteroid ölçümlerine hem davranış testlerinin hemen sonrasında yani 13 haftalık olduklarında, hem de 33 haftalık olduklarında bakılmıştır. Sıçanların bir kafeste farklı sayılarda uzun süreli (yaklaşık 7 ay) barındırılmasının, hayvanların kortikosteroid düzeylerine etkisini değerlendirmek için 33. haftada tekrar kan alınarak kortikosteroid düzeyleri ölçülmüştür.

3.6.6.1. ELISA Yöntemi İle Kortikosteroid Ölçümü

Sıçanlardan alınan total kan örnekleri deney sonunda 2000 g (Relative Centrifugal Force)' de 20 dakika santrifüj (Sabit açılı santrifüj-Heraus) edildi. Süpernatant olarak ayrılan serum örnekleri iki ependorf tüpe paylaşılıp, ayrıldı ve kullanılmak üzere -80 °C'de saklandı. Kortikosteroid konsantrasyonlarını (ng/ml) ölçmek için immunoassay kitleri ile Solid Faz Sandwich ELISA yöntemi kullanıldı. İşlem basamakları şu şekildedir:

- Serum örnekleri, kit içeriğindeki dilüsyon reaktifi ile ½ oranında dilüe edildi.
- Tüm serum örneklerine, ölçümden 8 saat önce ön işlem yapıldı. Serum örneklerinden ve 0.6 N Trichloroasetik asitten 150 µl alınarak vortekslendi.
- 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
- 12000g'de, 4 dakika santrifüjlendi.
- Süpernatant alındı ve işlem sırasına kadar -20 °C'de saklandı.
- 8 saat sonrasında kit içeriğindeki 96 kuyucuklu plate kullanılarak örnek ve standart kuyularına 50 µl Kortikosteron Primer Antikor Solüsyonu eklendi.
- Mikroplate, 1 saat oda sıcaklığında, mikroplate çalkalayıcıda (0.12" orbit) - 500 ± 50 rpm inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrası, 4 kez, 400 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Çalışılan her kuyuya, 50 µl standart ve örnekler eklendi.
- Çalışılan her kuyuya, 50 µl kortikosteron konjugate reaktifi eklendi ve iki saat, oda sıcaklığında, plate çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrası, 4 kez, 400 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı.
- Çalışılan her kuyuya, 200 µl of substrat solüsyon eklendi ve ışıktan koruyarak, 30 dakika, oda sıcaklığında inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrasında, kit içeriğindeki 100 µl sonlandırma reaktifi eklendi. Çalışılan tüm örneklerde, rengin maviden sarıya döndüğü gözlemlenmiştir.
- 450 nm absorbans değerinde, BioTEK, Synergy HT marka plate okuyucuda ölçümler yapıldı.

Çalışılan tüm örneklerin absorbans değerlerinden standart grafiği çıkarıldı her örnek için konsantrasyon miktarları (ng/ml) hesaplandı.

3.7. Araştırma Planı ve Takvimi

Araştırmanın Etik kurul onayı 2012 yılında alınmış olup deneysel çalışmalar 2017-2018 yılları arasında gerçekleştirilmiştir. Projenin iş paketleri aşağıda açıklanmıştır.

1. İş paketi (2012-2013): Literatür taraması yapılmış ve proje taslağı oluşturulmuştur. 2012 yılında Etik Kurul Onayı alınmış, tez önerisi hazırlanarak ve tez önerisi onayı alınmıştır.
2. İş paketi (2014-2015): Davranış testleri ile ilgili deneyim kazanılmıştır.
3. İş paketi (2016-2017): Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP)' ne başvuru yapılarak ve BAP onayı alınmıştır. Projenin malzeme ve hizmet satın alımları tamamlanmıştır.
4. İş paketi (2017-2018): Projenin deneysel çalışmaları yapılmış, veriler değerlendirilmiş ve tez yazımı tamamlanmıştır.

Çalışmamıza ilişkin takvimin birinci yılı, Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP)' ne başvuru, tez çalışmasında kullanılacak ekipman ile malzemelerin temini ve laboratuvara kurulması ile geçmiş olup ikinci yıl aşağıdaki şekilde planlanmıştır (Tablo 5).

Tablo 5. Deneysel Çalışmanın Takvimi

Faaliyetler	Aylar											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Hayvan temini, katım, doğum, fiziksel gelişim parametrelerinin gözlemi	■											
Sütten kesim ve kafeslere ayırma		■										
Davranış testlerinin uygulanması, kan alma			■									
Yavruların katımı, doğum, Annelik davranışlarının gözlemlenmesi, kan alma				■	■							
Verilerin düzenlenmesi, istatistik, literatür okuma	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Tez yazımı- basımı						■	■	■	■	■	■	■

3.8. Verilerin Değerlendirilmesi

Tanımlayıcı istatistik

Grupların tanımlanmasında elde edilen veriler, süreklilik ve parametrik dağılım özelliğindeyse ortalama \pm sapma ile, nonparametrik dağılım özelliğindeyse ortanca (min-max) değerleri ile verilmiştir. Parametrik dağılıma uygunluk Shapiro-Wilk testiyle sınanmış, kategorik değişkenler frekans ve yüzde değerleri ile tanımlanmıştır.

Analitik istatistik

Sürekli değişkenlerin karşılaştırılması: Gerçekleştirilen analiz için sürekli değişkenlerin parametrik koşula uyum varsayımının sağlandığı durumda İki Yönlü ANOVA F test uygulanarak çok değişkenli olarak faktörlerin sonuca olan etkisi incelenmiştir. İki Yönlü ANOVA' nın değerlendirme basamakları:

1. Normal dağılım koşulunun sağlanması: iki yönlü ANOVA için oluşturulan GLM (General Linear Model) de normal dağılım koşulu test edilir.

2. Çok değişkenli modele dahil edilen faktörler:

-Birinci faktör zamana bağlı tekrar etkisi (önce-sonra ölçümleri)

-İkinci faktör bağımsız gruplar arası fark (bir batında doğan yavru sayısı ve kafesleme grubu)

-Çok değişkenli modelde incelenen faktörler arası etkileşim etkisi

3. Modelde yer alan iki faktör arasında etkileşim etkisi (interaction) saptandığında, etkileşime neden olan faktör gruplarına bölünerek ikinci faktör açısından tek değişkenli analiz One Way ANOVA veya Repetead Measure ANOVA ile gerçekleştirilmiştir.

4. Çok değişkenli model anlamlı bulunduğu gruplar arası ve tekrarlar arası farkın hangi çoklu karşılaştırmalardan kaynaklandığı post-hoc Tukey test ile karşılaştırılmıştır.

Tüm parametrik karşılaştırmalarda varyansların homojenlik varsayımı sağlanıyorsa (Levene test $>$ 0,05) parametrik karşılaştırma yapılmıştır. Verimizde çok değişkenli tüm karşılaştırmalarda parametrik koşulların sağlandığı belirlenmiştir.

Kategorik değişkenlerin karşılaştırılması:

Sayımla elde edilen frekans değerlerinin gruplara göre karşılaştırılmasında çok gözlü (3x2 ki kare düzeni) Ki-Kare testi uygulanmıştır. Farkın hangi ikili grup karşılaştırmasından kaynaklandığı da düzeltme yapılarak Pearson 2x2 Ki-Kare analizi ile karşılaştırılmıştır.

Tüm karşılaştırmalarda istatistik anlamlılık sınır değeri $p<0,05$ olarak kabul edilmiştir. Bütün hesaplamalar, SPSS v.24 (IBM, ABD) kullanılarak hesaplanmıştır.

3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları

Hipotez aşamasında, bir batında doğan yavru sayısının bağımlı değişkenler üzerinde etkisini görebilmek için; bir batında 6, 7, 8, 9, 10 yavru doğuran anneler ile 11, 12, 13, 14, 15 arasında yavru doğuran annelerin yavruları çalışmaya alınacak ve bu yavrulardan elde edilen bulgular karşılaştırılacaktır. Fakat 10 ve altında yavru doğuran sadece üç dişi olduğundan bunlarda deneysel çalışma için yeterli olmadığından bu anneler çalışmaya dahil edilmemiştir. Bu nedenle bir batında doğan yavru sayısının sadece yavruların fiziksel gelişim parametreleri üzerindeki etkisine bakılabilmiş ve diğer bağımlı değişkenler üzerine etkisi değerlendirilememiştir.

3.10. Etik Kurul Onayı

Çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Multidisiplin Laboratuvarı Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 11.05.2012 tarihinde 37/2012 protokol numarası ile onaylanarak yapılması uygun bulunmuştur (Bkz. EK 1).

4. BULGULAR

4.1. Fiziksel Gelişim Özelliklerinin Gözlemlenmesi

Doğum yapan 17 annenin yavruları, fiziksel özelliklerinin gelişimleri açısından gözlemlenmiş ve özelliklerin ilk gözlemlendiği günler kaydedilmiştir. Fiziksel gelişim özelliklerinin gün olarak ortanca, minimum ve maksimum değerlerinin eşit olmasına rağmen ortaya çıkan fark, verilerin belli bir günde yığılmasından kaynaklanmaktadır. Bu farklılık sıra değer ortalamalarının farklılığı ile de görülmektedir. Fiziksel gelişim özelliklerine bakıldığında, kesici dişlerin çıkması hariç, diğer özellikler açısından bir batında 9, 10, 11 ve 12 yavru doğuran annelerin yavrularının gelişimi, 13, 14, 15 ve 17 yavrululara göre istatistiksel olarak daha erken olmuştur (Tablo 6).

Tablo 6. Bir Batında Doğan Yavru Sayısının Yavruların Fiziksel Gelişim Özellikleri Üzerine Etkileri

Fiziksel özellikler	Median (minimum-maksimum)		Sıra değerlerinin ortalaması		P* değeri
	9,10,11,12 yavru doğuran anneler	13,14,15,17 yavru doğuran anneler	9,10,11,12 Yavru doğuran anneler	13,14,15,17 yavru doğuran anneler	
Kulak kepçesinin ayrılması (gün)	2 (0-4)	2 (0-4)	98,77	113,27	0,030
Tüylenmenin başlaması (gün)	3 (0-4)	4(0-4)	88,74	122,06	0,001<
Kesici dişlerin çıkması (gün)	8 (0-9)	9 (0-9)	104,02	108,68	0,557
Gözlerin açılması (gün)	14 (0-16)	14 (0-16)	92,20	119,03	0,001
Testislerin inmesi (gün)	20 (0-22)	21,5 (0-23)	84,07	126,15	0,001<

* Mann-Whitney U

Yavruların sıfırıncı gün “PND0” doğum ağırlıkları karşılaştırıldığında, doğum ağırlıkları açısından yavrular arasında fark bulunmamıştır. Doğumdan sonra, yavruların canlı ağırlık artışları haftalık olarak ölçülmüştür. İkinci ve üçüncü haftalarda, yavruların ağırlık artışlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık

görülmemiştir. Dördüncü haftada (28. gün) 11 yavru olan grubun ağırlık ortalamasının, istatistiksel anlamlı olarak diğer gruplardaki yavru ağırlık ortalamalarından fazla olduğu saptanmıştır (Tablo 7).

Tablo 7. Yavru Sayısına Göre 0. ve 28. Gün Ağırlıklarının Karşılaştırılması

Günler	Yavru sayısı	Ortalama \pm ss	p*	p**
	n	Gram(g)		
PND0	11	6,1 \pm 0,3	0,247	NA(non-available)
	12	5,7 \pm 1		
	13	5,5 \pm 1,6		
	14	5,7 \pm 0,9		
	15	6,0 \pm 0,5		
PND28	11	66,9 \pm 7,7	0,001<	p ₁₁₋₁₂ =0,001 p ₁₁₋₁₃ =0,001 p _{11/12,13,14,15} =0,001
	12	53,4 \pm 9,5		
	13	49,1 \pm 15,1		
	14	50,2 \pm 11,1		
	15	45,1 \pm 13,0		

* Two way ANOVA F test **Tukey post hoc test

4.2. Açık Alan Davranış Testi (OFT)

Açık alan davranış testinde, kafesleme grupları ile cinsiyetin, lokomotor aktivite ve anksiyete davranışları üzerine etkisi, çok değişkenli regresyon modeli ile analiz edilmiştir. Her değişken için iki değişkenin yer aldığı ayrı 19 model oluşturulmuştur. Sonuçlara bakıldığında, alınan toplam mesafe, ortalama hız, hareketsiz kalınan sürelerin ve iki ayaküstüne kalkma davranışının cinsiyet faktöründen etkilendiği fakat barındırma gruplarının test sonuçları için anlamlı fark oluşturmadığı saptanmıştır (Tablo 8). Dişi sıçanlar, erkek sıçanlara göre daha hızlı hareket ederek ($p=0,001$), daha fazla mesafe kat etmişler ($p=0,001$) ve dolayısıyla erkekler daha fazla hareketsiz kalmışlardır ($p=0,004$). İki ayaküstüne kalkma (rearing) açısından yine kafesleme grupları arasında fark yok iken, cinsiyet açısından fark vardır ve bu fark anlamlıdır. Dişi sıçanlar, erkek sıçanlara oranla daha fazla iki ayaküstüne kalkmışlardır ($p=0,004$).

Tablo 8. Açık Alan Davranış Testinde, Standart, Orta ve Yüksek Yoğunlukta Barındırılan Sıçanların Davranışlarının Kıyaslanması

	SB		OYB		YYB		Full model	Cinsiyet	Kafes
	Dişi ortalama±ss	erkek ortalama±ss	Dişi ortalama±ss	erkek ortalama±ss	Dişi ortalama±ss	erkek ortalama±ss	p	p*	p**
Frekans									
Merkez	6,5±3	6±3,2	7,3±2,9	6,3±2,3	8,1±3,3	4,6±3,7	0,513	0,121	0,896
Kenar	25,6±8,6	25,8±10,6	33±6	23,3±10,7	30,8±7,3	26±8,9	0,405	0,111	0,714
Köşe	20,6±6,5	20,5±8,8	26,1±3,6	16,8±6,4	23,6±4,8	20,1±7	0,225	0,053	0,875
Kalış süresi (s)									
Merkez	10,3±4,8	19,6±14,4	15,2±4,5	22,6±14,7	15,2±10,1	9,0±7,5	0,208	0,317	0,285
Kenar	107±48,1	127,4±55,6	143,1±31	122,9±59,5	106±31,4	90,8±46,4	0,461	0,750	0,208
Köşe	182,3±51,6	152,6±51	141,6±33,2	152,2±73,3	177,9±35	199,4±48,6	0,352	0,964	0,147
Hız (cm/s)									
Minimum	0,010±0,010	0,004±0,001	0,009±0,007	0,004±0,004	0,006±0,004	0,002±0,001	0,236	0,026	0,482
Ortalama	3,6707±0,99	3,26±0,83	4,7369±0,72	2,86±0,98	4,2910±1,03	3,34±0,90	0,014	0,001	0,583
Maksimum	40,8±14,6	57,0±49,7	32,8±0,8	64,5±82,7	34,2±5,0	31,9±3,7	0,610	0,263	0,547
İlk giriş zamanı (s)									
Merkeze ilk giriş zamanı	25,1±26,6	17,0±16,9	28,4±30,9	22,3±25,8	32,5±31,8	51,0±54,9	0,619	0,897	0,291
Kenarlara ilk giriş zamanı	3,4±4,3	10,1±13,1	1,2±1,2	0,2±0,2	2,2±4,3	2,9±2,7	0,106	0,303	0,058
Köşelere ilk giriş zamanı	0,1±0,2	7,4±14,8	2,2±3,5	1,7±2,2	2,4±2,8	1,6±3,4	0,519	0,370	0,753
Alınan toplam mesafe (cm)	1100,9±297,	980,3±250,8	1420,8±216,8	860,1±294,6	1287,2±311,3	1002,4±270,2	0,014	0,001	0,583
özbakım (Grooming)	5±3,4	1,8±1,1	3±1,6	3,1±3,3	2,3±1,2	1,8±1,7	0,186	0,138	0,347
İki ayak üstüne kalkma (Rearing)	26,8±6,8	19±5,8	32,1±10,3	18,3±10,2	22,5±6,2	18,8±8,3	0,037	0,004	0,402
Hareketli olduğu toplam süre (s)	134,1±29,2	133,1±28,6	176,2±16,0	108,6±38,2	153,1±28,6	126,2±37,9	0,014	0,004	0,774
Hareketsiz kaldığı toplam süre(s)	165,7±29,1	166,8±28,5	123,7±16,0	191,3±38,2	146,8±28,6	173,7±37,9	0,014	0,004	0,778

*İki yönlü ANOVA Ftest ** Tukey post

4.3. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi (EPM)

Grupların anksiyete ile ilişkili davranış özelliklerinin değerlendirildiği EPM testinde, barındırma gruplarının, ölçümü yapılan değişkenler üzerine istatistiksel olarak etkisinin olmadığı saptanmıştır. Cinsiyet faktörünün ise alınan toplam mesafe ve ortalama hız üzerinde etkisi olduğu görülmüştür (Tablo 9). Dişi sıçanlar, erkek sıçanlara oranla ortalama olarak daha hızlı hareket etmiş ($p=0,032$), erkek sıçanlardan daha fazla mesafe kat etmişlerdir ($p=0,009$).



Tablo 9. Yükseltilmiş Artı Labirent Testinde, Standart, Orta ve Yüksek Yoğunlukta Barındırılan Sıçanların Davranışlarının Karşılaştırılması

	SB		OYB		YYB		Full model	Cinsiyet	Kafes
	Dişi ortalama±ss	Erkek ortalama±ss	Dişi ortalama±ss	Erkek ortalama±ss	Dişi ortalama±ss	Erkek ortalama±ss	P*	p**	p**
Frekans									
Kapalı Kollar	10,8±5,9	14±5,3	12,3±6,3	6,1±3,6	9±4,4	7,1±2,4	0,069	0,330	0,097
Açık Kollar	7,5±4,6	4±2	6±2,2	2,6±1,3	3,5±2	6,3±5,2	0,112	0,233	0,575
Merkez	15,5±5,9	17,1±3,5	18,5±6,3	8,1±3,9	12±3,6	11,1±4,3	0,015	0,081	0,099
Kalış Süresi (s)									
Kapalı Kollar	157±81,5	233,8±29,7	207±31	207,9±104,5	245,9±21,2	223,8±54,5	0,213	0,375	0,291
Açık Kollar	32,4±21,7	15,7±24,3	39,2±25,4	17,5±19,2	17,9±13,6	37,4±41,2	0,401	0,469	0,910
Merkez	46,3±24,8	44,8±14,2	45,4±23,6	27,1±12,8	34,2±10,8	34,1±23,7	0,422	0,308	0,317
Hız (cm/s)									
Minimum	0,008±0,003	0,010±0,005	0,011±0,010	0,016±0,032	0,009±0,006	0,005±0,001	0,834	0,868	0,506
Ortalama	4,2±1,0	4,1±0,6	5,1±0,5	3,4±1,1	3,7±1,1	3,4±0,9	0,038	0,032	0,158
Maksimum	243,9±274,1	34,0±2,6	39,7±5,5	32,2±3,5	44,0±15,5	51,7±26,9	0,017	0,073	0,065
İlk Giriş Zamanı (s)									
Açık Kollara İlk Giriş Zamanı	8,6±8,4	16,8±18,7	11,3±16,1	6,7±7,5	11,2±12,4	18±14,5	0,722	0,475	0,628
Kapalı Kollara İlk Giriş Zamanı	3,2±5,1	9,7±22,8	22,1±26	7,9±11,2	5±8,8	1,4±2,7	0,292	0,499	0,207
Alınan Toplam Mesafe (cm)	1234,8±306,1	1248,4±211,3	1525,0±194,3	803,2±386,8	1135,4±349,7	1023,3±267,8	0,006	0,009	0,412

*İki yönlü ANOVA Ftest ** Tukey post hoc test

Sıçanların açık alan ve yükseltilmiş alana bıraktıkları dışkı skorları hayvanların duygusal durumları ile yakından ilişkilidir. Açık alan ve yükseltilmiş artı labirent test alanındaki dışkı adetleri her sıçanın teste tabi tutulmasından sonra sayılarak grup bazında toplanmış ve ortalamaları hesaplanmıştır.

Cinsiyet ve barındırma yoğunluğu faktörlerinin, sıçanların açık alan test alanında bıraktığı dışkı miktarını nasıl etkilediği çok değişkenli ANOVA yöntemi ile değerlendirilmiştir. Sıçanların test alanında bıraktıkları dışkı miktarı incelendiğinde, erkek sıçanların dışkı miktarı dişi sıçanlara göre daha fazladır. Bununla birlikte, test alanındaki dışkı miktarında, kafesleme ve cinsiyetin istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi tespit edilmemiştir (Tablo 10).

Tablo 10. Açık Alan Test Alanındaki Dışkı Miktarının Değerlendirilmesi

Gruplar	Dişi	Erkek	p* full model	p** cinsiyet	p** kafes
	(Dışkı adedi)	(Dışkı adedi)			
	ortalama± ss	ortalama± ss			
SB	2±1,8	3±1,5	0,368	0,092	0,327
OYB	3,17±2	4±1,7			
YYB	1,67±2,7	3,33±1,8			

*İki yönlü ANOVA Ftest ** Tukey post hoc test

Cinsiyet ve barındırma yoğunluğu faktörlerinin, sıçanların yükseltilmiş artı labirent test alanında bıraktığı dışkı miktarını nasıl etkilediği çok değişkenli ANOVA yöntemi ile değerlendirilmiştir. Sıçanların test alanında bıraktıkları dışkı miktarı incelendiğinde, erkek sıçanların dışkı miktarı dişi sıçanlara göre daha fazladır. Bununla birlikte, test alanındaki dışkı miktarında, kafes yoğunluğunun ve cinsiyetin istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi saptanmamıştır (Tablo 11).

Tablo 11. Yükseltilmiş Artı Labirent Test Alanındaki Dışkı Miktarının Değerlendirilmesi

Gruplar	Dişi (Dışkı adedi)	Erkek (Dışkı adedi)	p* full model	p** cinsiyet	p** kafes
	ortalama± ss	ortalama ±ss			
SB	0,6±1,6	0,8±1,1			
OYB	0,6±1,2	1,5±1,9	0,528	0,166	0,514
YYB	0,8±2	2,3±2,2			

*İki yönlü ANOVA Ftest ** Tukey post hoc test

4.4. Morris Su Labirenti Testi(MWM)

Sıçanların öğrenme ve bellek davranışlarının değerlendirildiği MWM testinde, ilk dört gün öğrenme denemeleri yapılmıştır. İlk dört günlük test sonuçları değerlendirildiğinde, barındırma yoğunluğunun değerlendirilen parametreler üzerine etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Cinsiyet faktörünün ise sıçanların minimum ve ortalama hızlarını etkilediği saptanmıştır (p=0,033 ve p=0,008). Dişi sıçanların, minimum ve ortalama hızları erkek sıçanlara göre daha yüksektir (Tablo 12).

Tablo 12. MWM' de Standart, Orta ve Yüksek Yoğunlukta Barındırılan Sıçanların Öğrenme ve Bellek Davranışlarının Değerlendirilmesi (İlk Dört Gün-Deneme Günleri)

	SB		OYB		YYB		Full model	Cinsiyet	Kafes
	Dişi ortalama±ss	Erkek ortalama±ss	Dişi ortalama±ss	Erkek ortalama±ss	Dişi ortalama±ss	Erkek ortalama±ss	P*	p**	p**
Frekans									
Güneybatı zonuna giriş sıklığı	2,4±1,3	2,2±0,9	2,3±1,3	2,1±0,9	2,8±1,1	2,1±1	0,001	0,136	0,477
Kalış Süresi (s)									
Güneybatı zonunda kaldığı süre	5,6±3,7	5,6±3,6	5,4±3,8	5,6±2,8	6,2±3,4	4,4±2,5	<0,001	0,510	0,919
Hız (cm/s)									
Minimum	0,156±0,19	0,096±0,10	0,171±0,16	0,069±0,05	0,180±0,14	0,119±0,09	0,005	0,033	0,374
Ortalama	11,3±6,6	10,3±4,2	11,4±6,1	10,0±3,5	11,8±2,7	10,5±3,6	<0,001	0,008	0,191
Maksimum	98,6±128	85,4±102	91,7±112	38,8±11	40,6±7	42,9±17	0,045	0,325	0,243
Platforma ilk giriş zamanı (s)	9,6±6,6	12,2±7	11,4±7,5	13,4±6,2	13,3±7,8	8,7±4,8	0,002	0,996	0,854
Güneybatı zonuna ilk giriş zamanı (s)	3,2±2,4	3,7±2,6	2,5±1,1	3,2±2,3	2,8±1,8	2,5±1,6	0,006	0,441	0,266
Alınan toplam mesafe (cm)	368,4±326	343,1±229	390,8±319	312,1±186	425,4±194	303±195	<0,001	0,115	0,934

*İki yönlü ANOVA Ftest ** Tukey post hoc test

Sıçanların öğrenme ve bellek davranışlarının değerlendirildiği MWM testinde, beşinci gün (probe test günü) öğrenme denemeleri yapılmıştır. Beşinci gün test sonuçları değerlendirildiğine, barındırma yoğunluğunun ve cinsiyetin değerlendirilen parametreler üzerine etkisi olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 13).

Tablo 13. MWM' de Standart, Orta ve Yüksek Yoğunlukta Barındırılan Sıçanların Öğrenme ve Bellek Davranışlarının Değerlendirilmesi (5. Gün-Test Günü)

	SB		OYB		YYB		Full model	Cinsiyet	Kafes
	Dişi ortalama±ss	Erkek ortalama±ss	Dişi ortalama±ss	Erkek ortalama±ss	Dişi ortalama±ss	Erkek ortalama±ss	P*	p**	p**
Frekans									
Güneybatı zonuna giriş sıklığı	12,5±3,3	9,5±2,5	10,3±3	10,8±3,5	11±4	11±1,6	0,706	0,432	0,932
Kalış Süresi (s)									
Güneybatı zonunda kaldığı süre	24,4±4,5	24±2,5	24,9±5,1	26,5±5,9	21,7±6,1	27,9±4,9	0,394	0,152	0,764
Hız (cm/s)									
Minimum	1,3±1,5	1,2±1,1	1,0±0,8	1,6±1,8	2,4±2,9	0,9±0,6	0,699	0,581	0,809
Ortalama	23,8±2,5	17,5±3,3	19,7±5,4	19±6,2	21,9±3,6	22,7±3,5	0,130	0,164	0,269
Maksimum	49,9±3,8	43,5±10	46,8±4,2	46,4±7,8	47,6±3	48,6±3,3	0,562	0,330	0,795
Platforma ilk giriş zamanı (s)	4,9±5,6	7,5±13,2	9,6±5	7,3±11	14,5±11,8	11,6±15,9	0,735	0,823	0,334
Güneybatı zonuna ilk giriş zamanı(s)	2,4±4,8	2±2,7	2,3±2,4	1,2±2	2,8±3,5	0,7±1,6	0,863	0,264	0,928
Alınan toplam mesafe (cm)	1430,7±159,4	1051,8±198,4	1184,8±332,3	1143,1±370,5	1311,5±219,8	1365,5±215,8	0,133	0,170	0,274

*İki yönlü ANOVA Ftest ** Tukey post hoc test

4.5. Kortikosteroid Analizi

Kafesleme grupları, cinsiyet farkı ve tekrarlı ölçümlerin farkı birlikte tek modelde değerlendirildiğinde, kortikosteroid değişiminin cinsiyete bağlı farklılık gösterdiği saptanmıştır ($p=0,024$). Her üç barındırma grubunda da dişi sıçanların kortikosteroid değerleri erkek sıçanlardan daha yüksek bulunmuştur (Tablo 14). Dişiler ayrıca kendi aralarında değerlendirildiğinde de gruplar arasında fark bulunmuştur ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,031$). Yüksek yoğunluklu (yedili) barındırılan dişilerin, standart (üçlü) barındırılan dişilerden daha yüksek plazma kortikosteroid düzeyine sahip oldukları ölçülmüştür ($p=0,048$). Erkek sıçanlar kendi aralarında değerlendirildiğinde barındırma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,118$).

Tablo 14. Standart, Orta ve Yüksek Yoğunlukta Barındırmanın ve Cinsiyetin Kortikosteroid Ölçümleri Üzerine Etkisi

Gruplar	cinsiyet	Kortikosteroid(ng/ml)	Kortikosteroid(ng/ml)	P*
		13.hafta	33.hafta	
		ortalama± ss	ortalama± ss	
SB	E	32,5± 27,3	42,8± 9,9	P _{terrarlar arası} =0,205
	D	73,8± 29,7	79,1± 28,8	P _{cinsiyet} = 0,024
OYB	E	41,2± 19,8	43,2± 9	P _{dişi kafesler arası} = 0,031
	D	100,7± 22,5	97,2± 14,7	P ₃₋₇ =0,048
YYB	E	42,2± 13,6	59,5± 13,1	P _{erkek kafesler arası} = 0,118
	D	216,3± 334,6	358,1± 422,4	

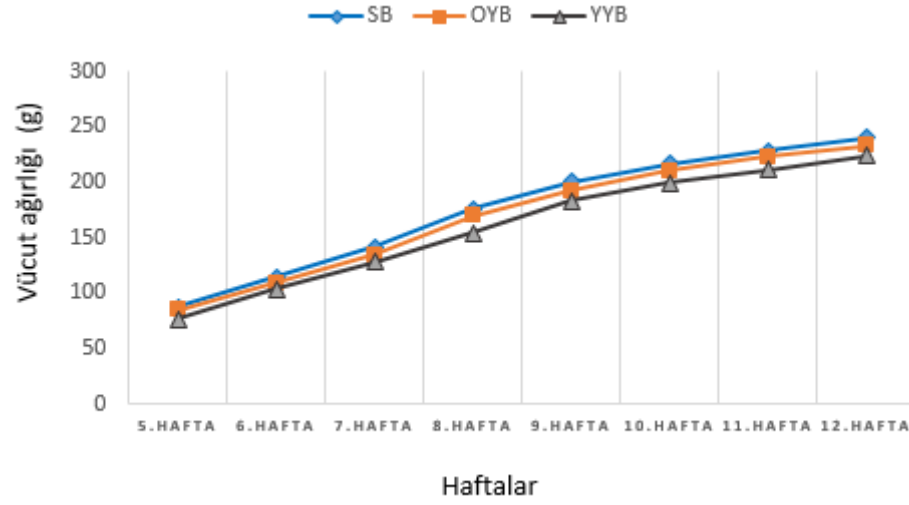
4.6. Grupların Canlı Vücut Ağırlığının Ölçülmesi

Dişi ve erkek sıçanların biyolojik gelişimleri farklı olduğundan ve istatistiksel analizde de cinsiyete bağlı etkileşim etkisi (interaction) saptandığı için, dişi ve erkek sıçanların haftalara ve barındırma yoğunluğuna göre ağırlık değişimleri ayrı ayrı incelenmiştir. Erkek ve dişi sıçanların, barındırma grupları ve 5-12 haftalardaki sekiz tekrarlı ağırlık ölçümleri tek modelde değerlendirilmiştir.

Dişi sıçanların ağırlıklarındaki değişimin, hayvanın gelişimiyle birlikte tüm haftalar arasında zamana bağlı olarak arttığı görülmektedir. Bununla birlikte yüksek yoğunlukta barındırılan dişi sıçanların, hem standart hem de orta yoğunlukta barındırılan dişi sıçanlardan daha az ağırlık artışına sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 15 ve Şekil 8).

Tablo 15. Dişi Sıçanların Vücut Ağırlığı Ortalamaları

	5.hafta	6.hafta	7.hafta	8.hafta	9.hafta	10.hafta	11. hafta	12.hafta	
	ortalama±ss	ortalama±ss	ortalama±ss	ortalama±ss	ortalama±ss	ortalama±ss	ortalama±ss	ortalama±ss	$p_{\text{haftalar}} < 0,001$
	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	tüm ikili post-hoc $< 0,001$
SB	87,5 ±8,5	114,1 ±9,4	141,4 ±12,5	175,6 ±13,9	200,5 ±14	216,6 ±13,4	228,1 ±11,5	239,6 ±10,9	$p_{\text{kafes}} < 0,001$
OYB	84,7 ±6,6	109 ±9,9	134,5 ±13,6	169,9 ±15,9	192 ±16,2	209,9 ±16,8	222,5 ±22,6	233 ±20,9	$p_{3-7} < 0,001$
YYB	76,9 ±18,4	103,6 ±8,4	128,4 ±10	153,8 ±14	183 ±13,1	199,4 ±14,3	211,3 ±15,3	224 ±15,3	$p_{5-7} < 0,001$

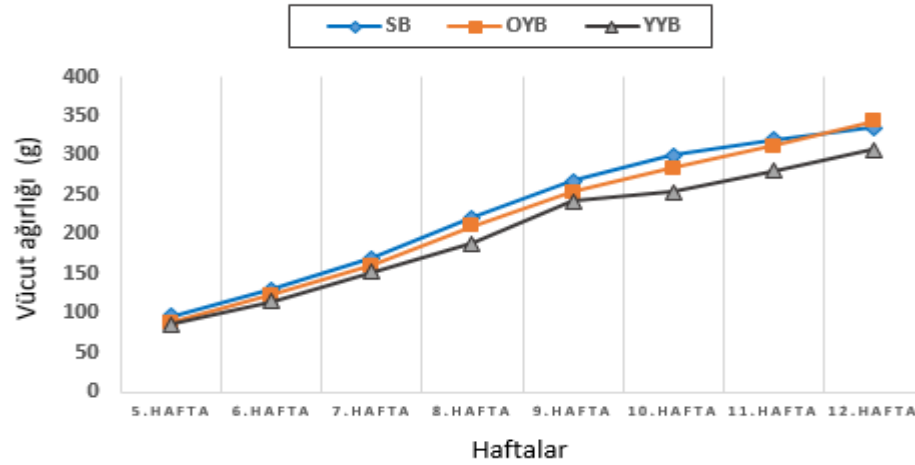


Şekil 8. Dişi Sıçanların Vücut Ağırlığı Ortalamaları

Erkek sıçanların ağırlıklarındaki değişimin, hayvanın gelişimiyle birlikte tüm haftalar arasında zamana bağlı olarak arttığı görülmektedir. Bununla birlikte yüksek yoğunlukta barındırılan erkek sıçanların, hem standart hem de orta yoğunlukta barındırılan erkek sıçanlardan daha az ağırlık artışına sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 16 ve Şekil 9).

Tablo 16. Erkek Sıçanların Vücut Ağırlığı Ortalamaları

	5.hafta	6.hafta	7.hafta	8.hafta	9.hafta	10.hafta	11. hafta	12.hafta	
	ortalama±ss	ortalama±ss	ortalama±ss	ortalama±ss	ortalama±ss	ortalama±ss	ortalama±ss	ortalama±ss	p _{haftalar} <0,001
	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	tüm ikili posthoc<0,001
SB	96,3 ±10,4	130,4 ±13,9	169,6 ±18,1	221,9 ±23	268,2 ±26,5	300,4 ±29,8	319,8 ±28,2	334,9 ±39,4	p _{kafes} <0,001
OYB	88,6 ±23,3	124,1 ±12,7	160,5 ±16,2	211,1 ±19,9	254,4 ±24,3	283,7 ±31,5	312,2 ±32	343 ±35,7	p ₃₋₇ =0,001
YYB	86,6 ±9,8	116 ±12,1	153,2 ±15,3	188,3 ±17,8	242 ±20,7	254 ±61,2	280,5 ±69,5	307 ±76,5	p ₅₋₇ =0,008



Şekil 9. Erkek Sıçanların Vücut Ağırlığı Ortalamaları

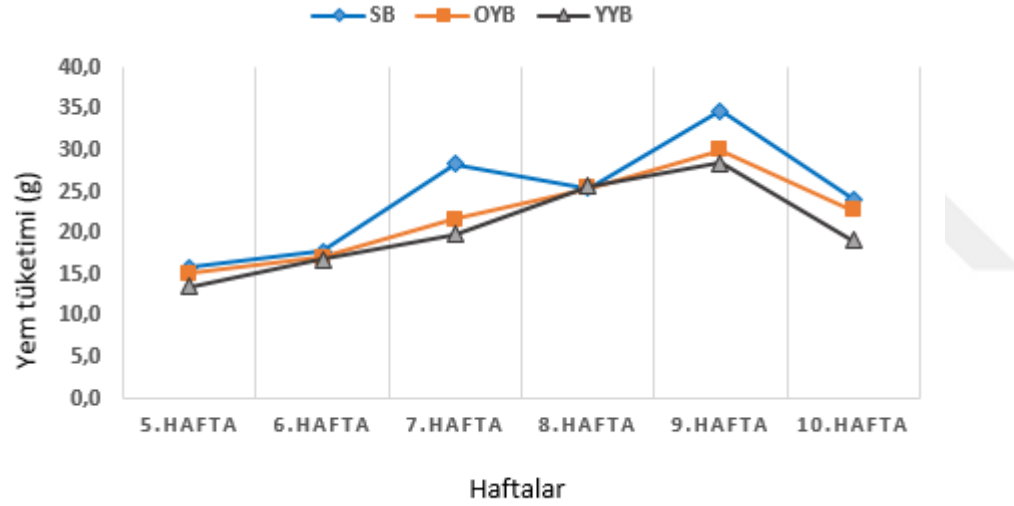
4.7. Yem ve Su Tüketimlerinin Ölçülmesi

Barındırma gruplarının 24 saatte tükettikleri yem ve su miktarı, altı hafta süresince haftada bir kez hep aynı gün ve saatte olacak şekilde ölçülmüştür. Elde edilen ölçüm miktarı bir kafeste barındırılan sıçan sayısına bölünmüş ve ortalamaları alınmıştır. Dişi ve erkek sıçanların canlı ağırlık artışlarının cinsiyete göre değişiklik göstermesi, hayvanların yem ve su tüketimlerini de etkilemektedir. Dolayısıyla barındırmanın dişi ve erkek sıçanların yem ve su tüketim ölçümleri üzerine etkisi ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

Dişi sıçanların yem tüketimi miktarına bakıldığında standart barındırılanların, hem orta hem de yüksek yoğunlukta barındırılan sıçanlardan fazla yem tükettiği görülmektedir (Şekil 10). Dişi sıçanların yem tüketimleri haftalara göre değişkenlik göstermekle birlikte, barındırma gruplarının yem tüketimine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi tespit edilmemiştir (Tablo 17).

Tablo 17. Dişi Sıçanların Kafeste Hayvan Başına Düşen Ortalama Yem Tüketimi

	5.hafta	6.hafta	7.hafta	8.hafta	9.hafta	10.hafta	
	ortalama±ss	ortalama±ss	ortalama±ss	ortalama±ss	ortalama±ss	ortalama±ss	
	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	
SB	15,9±2,3	17,8±0,4	28,3±12,1	25,5±1,3	34,7±1,9	24,1±2,9	p _{full model} <0,001
OYB	15,1±0,5	17,1±0,3	21,7±1,6	25,4±0,3	30±1,5	22,8±0,7	p _{kafes} = 0,078
YYB	13,5±0,8	16,7±0,3	19,8±0,3	25,7±3	28,5±0,3	19,1±4,2	

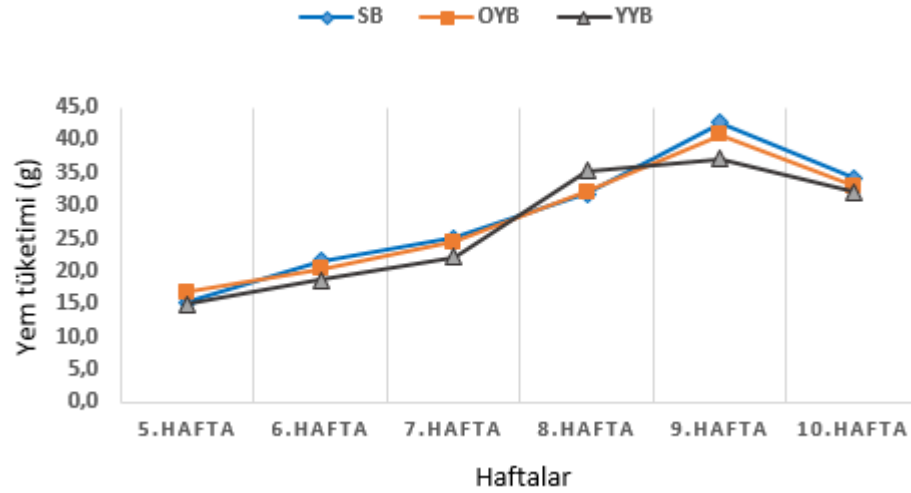


Şekil 10. Dişi Sıçanların Kafeste Hayvan Başına Düşen Ortalama Yem Tüketimi

Erkek sıçanların yem tüketimi miktarına bakıldığında standart barındırılanların, hem orta hem de yüksek yoğunlukta barındırılan sıçanlardan fazla yem tükettiği görülmektedir (Şekil 11). Erkek sıçanların yem tüketimleri haftalara göre değişkenlik göstermekle birlikte, barındırma gruplarının yem tüketimine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi tespit edilmemiştir (Tablo 18).

Tablo 18. Erkek Sıçanların Kafeste Hayvan Başına Düşen Ortalama Yem Tüketimi

	5.hafta	6.hafta	7.hafta	8.hafta	9.hafta	10.hafta	
	ortalama±ss (g)	ortalama±ss (g)	ortalama±ss (g)	ortalama±ss (g)	ortalama±ss (g)	ortalama±ss (g)	
SB	15,2±5,2	21,6±1	25,1±1,1	31,8±1	42,7±1	34,2±3,2	p _{full model} <0,001
OYB	16,7±0,8	20,3±0,2	24,5±2,5	32,1±0,9	40,7±1,5	32,1±2,8	p _{kafes} = 0,187
YYB	14,9±1	18,6±,12	22,1±1,4	35,3±2,3	37,1±1	33±1,4	

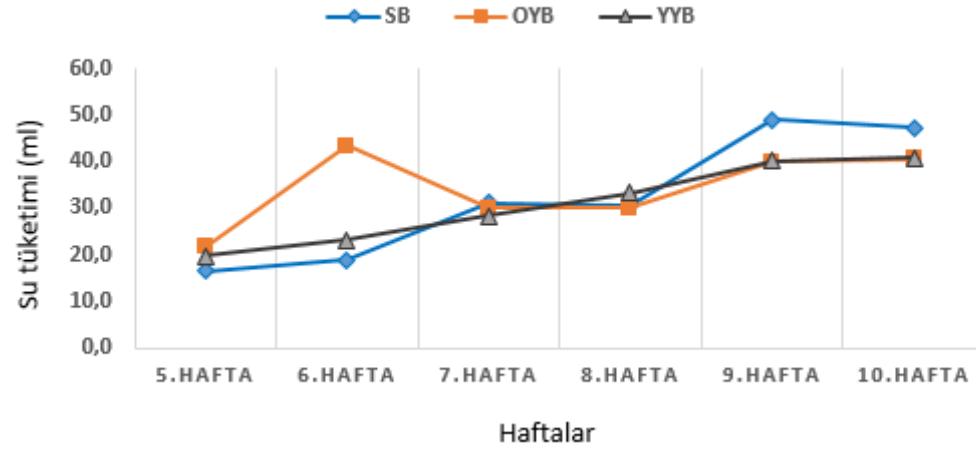


Şekil 11. Erkek Sıçanların Kafeste Hayvan Başına Düşen Ortalama Yem Tüketimi

Dişi sıçanlarda barındırma grupları arasında su tüketiminin yem tüketimi gibi stabil olmadığı görülmektedir (Şekil 12). Dişi sıçanların su tüketimleri haftalara göre değişkenlik göstermekle birlikte, barındırma gruplarının su tüketimine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi tespit edilmemiştir (Tablo 19).

Tablo 19. Dişi Sıçanların Kafeste Hayvan Başına Düşen Ortalama Su Tüketimi

	5.hafta	6.hafta	7.hafta	8.hafta	9.hafta	10.hafta	
	ortalama±ss (ml)	ortalama±ss (ml)	ortalama±ss (ml)	ortalama±ss (ml)	ortalama±ss (ml)	ortalama±ss (ml)	
SB	16,6±8,3	18,8±1,9	31,1±10,1	30,5±4,8	48,8±1,9	47,2±4,8	p _{full model} <0,001
OYB	21,6±2,8	43,3±24,8	30±0	30±5	40±0	40,6±1,1	p _{kafes} = 0,453
YYB	19,7±1,7	23,3±4,5	28,3±3,2	33,3±8,2	40,2±2,2	40,7±1,8	

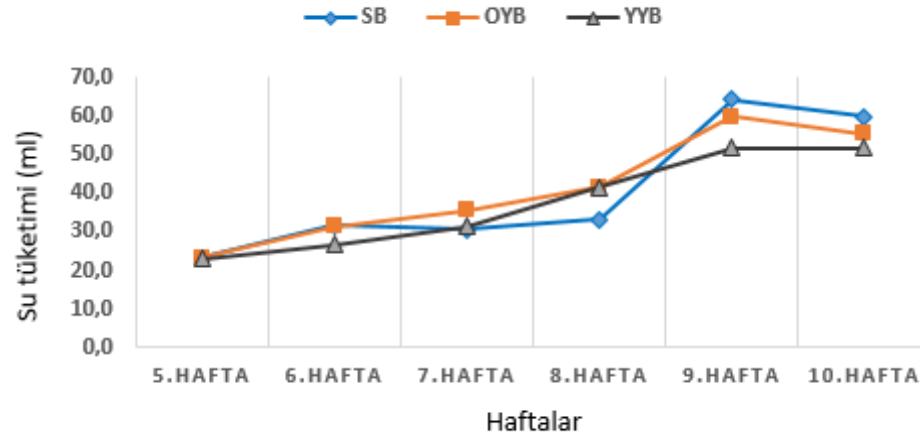


Şekil 12. Dişi Sıçanların Kafeste Hayvan Başına Düşen Ortalama Su Tüketimi

Erkek sıçanlarda, barındırma grupları arasında su tüketiminin yem tüketimi gibi stabil olmadığı görülmektedir (Şekil 13). Erkek sıçanların su tüketimleri haftalara göre değişkenlik göstermekle birlikte, barındırma gruplarının su tüketimine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi tespit edilmemiştir (Tablo 20).

Tablo 20. Erkek Sıçanların Kafeste Hayvan Başına Düşen Ortalama Su Tüketimi

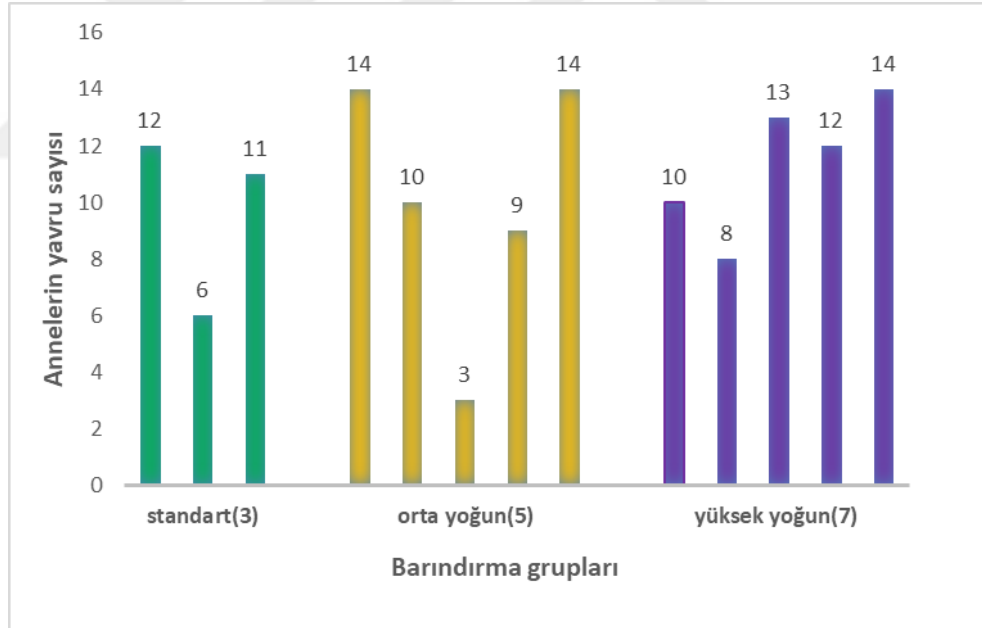
	5.hafta	6.hafta	7.hafta	8.hafta	9.hafta	10.hafta	
	ortalama±ss (ml)	ortalama±ss (ml)	ortalama±ss (ml)	ortalama±ss (ml)	ortalama±ss (ml)	ortalama±ss (ml)	
SB	23,3±8,8	31,6±10,9	30,5±12,7	33,3±0	64,4±17,1	60±8,8	p _{full model} <0,001
OYB	23,3±2,8	31,3±1,1	35,5±4	41,6±7,6	60±0	55,3±4,6	p _{kafes} = 0,592
YYB	23±1,7	26,6±7,1	31,4±3,7	41,6±5,4	51,9±7,8	51,6±14,9	



Şekil 13. Erkek Sıçanların Kafeste Hayvan Başına Düşen Ortalama Su Tüketimi

4.8. Annelik Davranışlarının Değerlendirilmesi

Çalışmamızda kullanılan dişi ve erkek yavrular 14 haftalık olduklarında, her barındırma grubundan altı dişi alınıp çiftleştirilerek, yavruların gebe kalma oranları ve annelik davranışları gözlenmiştir. Standart barındırılan dişilerden 3 tanesi, orta ve yüksek yoğunlukta barındırılan dişilerden de biri gebe kalmamıştır (Şekil 14). Her üç barındırma grubundaki anneler, sabah 08.00 de aktif ve pasif annelik davranışlarını daha çok gerçekleştirirken, akşam 20.00 de ise çok fazla bakım dışı (nonnursing) davranışları sergilemişlerdir. Her üç grupta da sabah 08.00' de bakım dışı, aktif ve pasif davranışlar sırasıyla gittikçe artan bir şekilde yapılmıştır. Yüksek yoğunlukta barındırılan dişiler, bu davranışları orta yoğunlukta barındırılanlara göre fazla yapmıştır. Orta yoğunlukta barındırılan annelerde, standart barındırılan annelere göre daha fazla sayıda yapmıştır (Tablo 21).



Şekil 14. Farklı Sayılarda Barındırılan Dişi Sıçanların Bir Batında Doğurduğu Yavru Sayısı

Tablo 21. Sabah 08:00 - Akşam 20:00 'de Gözlemlenen Annelik Davranışlarının Değerlendirilmesi

Kafes grupları	Annelik davranışları	Sabah 08:00		Akşam 20.00		p* 0-1	p* 0-2	p* 1-2
		n	%	n	%			
SB	0-bakımdışı	99	14,2	600	85,8	0,001<	0,001<	0,003
	1-aktif	102	85,7	17	14,3			
	2-pasif	325	72,4	124	27,6			
OYB	0- bakımdışı	137	14	842	86	0,001<	0,001<	0,032
	1-aktif	173	73,9	61	26,1			
	2-pasif	567	66,5	285	33,5			
YYB	0- bakımdışı	175	16,1	912	83,9	0,001<	0,001<	0,001<
	1-aktif	197	74,6	67	25,4			
	2-pasif	562	73,7	201	26,3			

*2x2 ki-kare

Her üç barındırma grubundaki anneler, aydınlık periyotta en çok pasif annelik davranışlarını gerçekleştirmiştir. Aydınlık periyotta bakım dışı davranışlar aktif davranışlardan daha fazla yapılmıştır. Karanlık periyotta, sırasıyla en çok bakım dışı davranışlar ve pasif davranışlar gözlenmiştir. Aktif davranışlar hem aydınlık hem de karanlık periyotta diğer iki davranış grubuna göre az gerçekleştirilmiştir. Ancak standart ve orta yoğunlukta barındırılan anneler bakım dışı davranışları daha çok günün karanlık periyodunda gerçekleştirirken, yüksek yoğunlukta barındırılan anneler bu davranışı daha çok gündüz gerçekleştirmiştir. Yüksek yoğunlukta barındırılan annelerin, gözlemlenen davranışları sırasıyla orta yoğunlukta ve standart barındırılan annelerden daha fazla sayıda gerçekleştirdiği tespit edilmiştir (Tablo 22).

Tablo 22. Aydınlık (08.00, 12.00, 16.00) ve Karanlık (20.00) Saatlerde Gözlemlenen Annelik Davranışlarının Değerlendirilmesi

Kafesleme grupları	Annelik davranışları	Aydınlık (08:00, 12:00, 16:00)		Karanlık (20:00)		p* ₀₋₁	p* ₀₋₂	p* ₁₋₂
		n	%	n	%			
SB	0- bakımdışı	384	39	600	61			
	1-aktif	267	94	17	6	0,001<	0,001<	0,001
	2-pasif	985	88,8	124	11,2			
OYB	0- bakımdışı	513	37,9	842	62,1			
	1-aktif	493	89	61	11	0,001<	0,001<	0,031
	2-pasif	1667	85,4	285	14,6			
YYB	0- bakımdışı	1008	52,5	912	47,5			
	1-aktif	520	88,6	67	11,4	0,001<	0,001<	0,889
	2-pasif	1593	88,8	201	11,2			

*2x2 ki-kare

5. TARTIŞMA

Rodentlerde doğum sonrası çevrenin kalitesinin, hayvanların yetişkinlik dönemleri üzerinde uzun süreli fizyolojik ve davranışsal etkileri vardır (57). Laboratuvar sıçanları genellikle, standardize koşullar altında, düz ve sert zemini olan, altlık maddesi bulunan kafeslerde tekli veya küçük gruplar halinde barındırılmaktadırlar. Bu kafeslerde sıçanların fiziksel aktiviteleri kısıtlıdır fakat fiziksel aktivitenin hayvanların refahı, sağlığı ve yaşam süresi üzerinde pozitif etkiye sahip olduğu bilinmektedir (58, 59). Bununla birlikte aile yaşamı ile anne-yavru iletişiminin kalitesi bireyin hastalıklarla ve stresle baş edebilme yeteneğini etkilemektedir. Bir batında doğan yavru sayısının farklı olması, yavruların erken dönemdeki vücut ağırlığı artışına ve ileri dönemde yavruların duygusal gelişimine etkisinin olduğu belirtilmiştir (57). Bu çalışma, sıçanlarda bir batında doğan yavru sayısı ile kafeste barındırılan sıçan sayısının hayvanların gelişimlerinde, davranışlarında ve duygusal durumları üzerindeki etkilerini değerlendirmek için yapılmıştır. Richter ve arkadaşları, deneysel çalışmalarda, belirli özelliklerde hayvan kullanılmasının (yaş, cinsiyet, vücut ağırlığı gibi), benzer barındırma ve test prosedürlerinin uygulanması gibi deneysel koşullardaki standardizasyonun, deney içi varyasyonu azaltarak, tekrarlanabilir sonuçlardan ziyade, yanıltıcı sonuçlara yol açabildiğini vurgulamıştır. Deneysel koşullardaki sistematik varyasyonun (heterojenizasyonun), sanılanın aksine deneylerin tekrarlanabilirliğini arttırabileceğini ve yanıltıcı sonuçları azaltabileceğini belirtmişlerdir (60, 61). Dolayısıyla bizim çalışmamızda, batın sıkışıklığı, barındırma koşulları, fiziksel gelişim özellikleri, davranış testleri ve kortikosteroid analizi gibi parametrelerin kullanımı sistematik olup deney içi varyasyonlarla kendine özgüdür.

Bir batında doğan ortalama yavru sayısı sıçanın soyuna, beslenmesine ve barındırma koşullarındaki değişikliğe bağlı olarak değişebilmektedir. Bu nedenle farklı deneyleri karşılaştırmak ve bir batında doğan yavru sayısının normal büyüklüğünü belirleyebilmek zordur (57). Üreme toksisitesinde, fazla yavru sayısına sahip annelerin, yavrularını öldürerek itlaf edip (culling), azaltarak standardize etme işlemi uzun zamandır tartışılmaktadır (62). Araştırmacılar, bir batında doğan yavru sayılarındaki farklılığın, yavruların doğumdan sonraki büyüme ve gelişim özelliklerini etkilediğini, bu nedenle yavru sayısının laktasyonun erken dönemlerinde belirli bir

sayıda sabit tutulmasını önermektedir (63). Yeni OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) yönergelerinde ise itlaf ederek azaltma ya isteğe bağlıdır ya da açıkça önerilen bir prosedür olarak uygulanmaktadır (62). Bir batında doğan yavru sayısının, uzun dönemde hayvanların davranışları üzerinde önemli etkilerinin olduğu saptanmıştır. Kardeş sayısı az olan sıçanların, kardeş sayısı fazla olan sıçanlara göre, EPM testinde çok daha endişeli ve duygusal oldukları, zorunlu yüzme testinde de daha az aktif kaçınma davranışı gösterdiği saptanmıştır. Kardeş sayısının fazla olmasının ise, sosyal oyun deneyiminin miktarını ve anneden bağımsız olmanın başlangıcını etkileyebildiği belirtilmiştir. Dolayısıyla bir batında doğan yavru sayısı, yavruların sosyalleşme gelişimi ve yavru-yavru etkileşimi ile birlikte yavruların yetişkinlikte, yeni çevreleri keşfetme, anksiyete ve stresle başa çıkma durumlarını etkileyebilmektedir (57). Bir batında doğan yavru sayısının tüylenme, kesici dişlerin çıkması ve gözlerin açılması gibi fiziksel gelişim özelliklerini geciktirdiği saptanmıştır (64). Çalışmamızda, benzer bir şekilde kesici dişlerin çıkması hariç, diğer özellikler (kulak kepçesinin ayrılması, tüylenme, gözlerin açılması ve testislerin inmesi) açısından bir batında 9, 10, 11 ve 12 yavru doğuran annelerin yavrularının fiziksel gelişimi, 13, 14, 15 ve 17 yavrululara göre istatistiksel anlamı olarak daha erken olmuştur. Eğer hipotezimizde belirttiğimiz gibi 10 ve altında yavru doğuran anneler ile 11 ve üstünde yavru doğuran annelerin yavrularının, fiziksel gelişim özellikleri açısından kıyaslayabilseydik, gözlemlenen farkın çok daha belirgin olacağı kanaatindeyiz.

Bir batında doğan yavru sayısı fazla olan sıçanlarda, anneden süt emmek öz kardeşler arası rekabeti arttırabilmektedir. Kardeş sayısı fazla olan sıçanların, daha fazla süt emebilmek ve diğer kardeşleriyle rekabet edebilmek için farklı stratejiler izlemesi gerektiği belirtilmiştir (57). Dimitsantos ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, üç farklı batın sıklığı (yavru sayısı<10, yavru sayısı 10-15 arasında ve yavru sayısı>15) yavruların vücut ağırlıkları üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Yavruların süttten kesildikten sonraki vücut ağırlıkları kıyaslandığında, yavru sayısı 10' dan az olan grubun vücut ağırlıkları diğer iki gruba göre istatistiksel olarak fazla bulunmuştur. Fakat yetişkinlikte, gruplar arasında vücut ağırlıkları açısından bir fark tespit edilmemiştir (57). Chahoud ve Paumgarten, yaptıkları çalışmada laktasyon süresince yavruların vücut ağırlığı ile bir batında doğan yavru sayısının ters orantılı

olduğunu belirtmişlerdir (64). Çalışmamızda, yavruların sıfırinci gün “PND0” doğum ağırlıkları karşılaştırıldığında, doğum ağırlıkları açısından yavrular arasında fark bulunmamıştır. Doğumdan sonra, yavruların canlı ağırlık artışları haftalık olarak ölçülmüştür. İkinci ve üçüncü haftalarda, yavruların ağırlık artışlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Ancak dördüncü haftada (28. gün) 11 yavrulu olan grubun vücut ağırlığı ortalamasının, istatistiksel anlamlı olarak diğer gruplardaki (12, 13, 14 ve 15) yavruların vücut ağırlığı ortalamalarından fazla olduğu saptanmıştır. Hipotez aşamasında, bir batında doğan yavru sayısının bağımlı değişkenler üzerinde etkisini görebilmek için; bir batında 6, 7, 8, 9, 10 yavru doğuran anneler ile 11, 12, 13, 14, 15 arasında yavru doğuran annelerin yavruları çalışmaya alınacak ve bu yavrulardan elde edilen bulgular karşılaştırılacaktır. Eğer hipotezimizdeki gibi bir batında doğan yavruların oluşturduğu sıkışıklık etkisini kıyaslayabilseydik canlı ağırlık artışındaki farkın daha belirgin olabileceği kanaatindeyiz.

Açık alan davranış testi, rodentlerde anksiyete ve spontan keşif davranışlarını test etmede kullanılmaktadır (28, 45, 65). Stresli uyaranların dişi ve erkek deneklerde farklı hormonal ve davranışsal etkilere sebep olduğu bilinmektedir. Aynı stresli koşullara maruz bırakılan dişi ve erkek sıçanlardan, dişilerin bu durumdan etkilendiği fakat erkeklerin etkilenmediği saptanmıştır (66). Yine stresli bir uyarandan sonra, katalepsi gibi davranışlar ve lokomotor aktivite değişikliklerinin, erkeklerde dişilere göre daha fazla görüldüğü belirtilmiştir (41, 42, 67, 68). Dolayısıyla dişi ve erkek sıçanların strese maruz kaldıktan sonra verdikleri davranışsal tepkiler farklı olabilmektedir. Arakawa' nın yapmış olduğu bir çalışmada geniş kafeslerde ikili ve dörtlü barındırılan sıçanlar 40 ve 65 günlük iken OFT alanında bir fark gözlenmezken, 130 günlük olduklarında test alanın kenarlarında geçişlerin arttığını tespit etmiştir. Bu duruma, kafeste barındırılan hayvan sayısı ile birlikte hayvanın yaşının artmasıyla ortaya çıkan sosyal hiyerarşi ve alanını koruma gibi yetişkinlik davranışlarının da katkısının olduğunu belirtmiştir (34). Kalabalık stresi oluşturulmuş önceki çalışmalarda, stok yoğunluğu arttıkça hayvanların OFT alanında aşırı aktif olduğu gözlenirken (69), bazı çalışmalarda ise stok yoğunluğuna bağlı olarak her hangi bir davranış farklılığı gözlenmemiş (70), bazılarında ise aktivite değişkenlerinde azalma ve defekasyonda artış gözlenmiştir (71, 72). Çalışmamızda, açık alan

davranış testi parametrelerine bakıldığında, hayvanların alınan toplam mesafe, ortalama hız, hareketsiz kalınan süre ve iki ayaküstüne kalkma davranışlarında, dişi ve erkekler arasında fark olduğu saptanmıştır. Hareketsiz kalınan toplam süre açısından, erkek sıçanlar dişi sıçanlara göre test alanında daha fazla hareketsiz kalmışlardır. Alınan toplam mesafe, ortalama hız ve iki ayaküstüne kalkma davranışlarına bakıldığında, dişilerin bu davranışları erkeklerden daha fazla sayıda yaptığı belirlenmiştir. Sıçanlarda, OF test alanında hareketsiz kalmanın anksiyete durumunda arttığı fakat normalde de erkeklerde dişilere göre daha fazla gözleendiği ve daha çok defekasyona sebep olduğu önceki çalışmalarda belirtilmiştir (42, 73, 74, 75). Bu durum yukarıda bahsedilen cinsiyetler arasındaki davranış farklılıklarıyla uyumludur. Erkek sıçanlar açık alan davranış testinde, dişilere göre hareketsizlik gibi daha fazla korkuyla ilişkili davranışlara ve daha çok dışkılama oranlarına sahip olup, yükseltilmiş artı labirent testinde de açık kollara girme oranları daha düşüktür (74-78). Daha önceki çalışmalarda cinsiyetten bağımsız olarak, yükseltilmiş artı labirent testinde genç sıçanların, yaşlılara oranla daha az korku davranışı sergiledikleri belirtilmiştir. Ayrıca 90 günlük erkek sıçanların yaşlıları olan dişilerden daha fazla aktif oldukları bildirilmiştir (78). Çalışmamızdaki, yükseltilmiş artı labirent testi parametrelerine bakıldığında, farklı barındırma gruplarının değerlendirilen test değişkenleri üzerine etkisinin olmadığı saptanmıştır. Ancak hayvanların, alınan toplam mesafe ve ortalama hız açısından, cinsiyet faktöründen etkilendiği görülmüştür. Dişiler, erkeklere oranla ortalama olarak daha hızlı hareket ederek, erkeklerden daha fazla mesafe kat etmişlerdir. Açık ve kapalı kollara giriş ile bu kollarda geçirilen sürelerde fark olmamasını, standart, orta ve yüksek yoğunluktaki barındırma gruplarının sıçanlarda stres ve anksiyete benzeri davranışları geliştirmesine yol açmadığı şeklinde açıklayabiliriz.

Hayvanların test alanında bıraktıkları dışkı skorları onların duygusal durumları hakkında bilgi vermektedir (79, 80). Bazı çalışmalarda erkek sıçanların, test alanında dişilerden daha fazla defekasyon sayısına sahip olabildiği belirtilmiştir (42, 73). Çalışmamızda OF ve EPM test alanında bıraktıkları dışkı adetleri sayılarak değerlendirilmiştir. Hem OFT hem de EPM testinde erkek sıçanların alanda bıraktıkları dışkı sayısı dişilerden fazla olmasına rağmen barındırma grupları ile cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Sıçanların öğrenme ve bellek durumlarının değerlendirilmesinde Morris su labirenti testi uygulanmıştır. Bazı araştırmalarda, farklı öğrenme ve bellek testleri uygulanan erkek sıçanların elektrik şoku, pedal basma gibi koşullu testlerde dişilerden daha iyi performans sergiledikleri, dişi sıçanların ise duyuşal-lokomotor aktivite gerektiren davranışlarda erkek sıçanlardan daha hareketli ve üstün oldukları belirtilmiştir (74, 75). Çalışmamızda, MWM testinin ilk dört alıştıırma günü sonuçlarına bakıldığında farklı barındırma gruplarının değerlendirilen test değişkenleri üzerine etkisinin olmadığı saptanmıştır. Cinsiyet faktörünün ise minimum ve ortalama hız açısından istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturduğu tespit edilmiştir. Dişi sıçanlar, minimum ve ortalama hız açısından erkek sıçanlardan daha hızlı yüzmüşlerdir. Test günü (5. gün) değerlendirildiğinde ise hem cinsiyet hem de farklı barındırma gruplarının değişkenler üzerine etkisinin olmadığı saptanmıştır.

Stresli uyarılara maruz kalan sıçanlarda, dişilerin plazma kortikosteroid düzeyleri erkeklere göre büyük artış göstermektedir (81, 82). Erkek sıçanların, kronik bir stresörle karşı karşıya kaldıklarında hormonal olarak ortama hızlıca alıştığı ve kortikosteroid yanıtının normale döndüğü ama dişilerdeki bu hormonal alışma süresinin kısıtlanmadan 21 gün sonra bile devam ettiği gözlenmiştir (42, 83). Önceki çalışmalarda, sırasıyla önce kalabalık, sonra bireysel barındırılan dişi ve erkek sıçanların plazma kortikosteroid seviyesi ölçülmüş ve erkeklerin bireysel barındırılmaya nazaran, kalabalık barındırıldıktan sonraki kortikosteroid seviyesi daha yüksek ölçülmüş ve dişilerde ise tam tersi bir durum gözlenmiştir (11). Çalışmamızda farklı barındırma grupları ile oluşturulmaya çalışılan kalabalık stresinin erkeklerde kortikosteroid düzeyini etkilemediği görülmüştür. Ancak yüksek yoğunlukta barındırılan dişilerin kortikosteroid düzeylerinin, standart barındırılan dişilere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte cinsiyet faktörünün kortikosteroid düzeyleri üzerine etkisi olmuştur ve dişi sıçanların kortikosteroid düzeylerinin erkek sıçanlara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Hem 13. hafta ölçümlerinde hem de 33. haftada aynı durum gözlenmiştir. Kant ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da dişi sıçanların erkeklerden daha yüksek kortikosteroid seviyesine sahip oldukları belirtilmiştir (84).

Farelerde yapılan ve kalabalık stresinin değerlendirildiği bir çalışmada, yaratılan sıkışıklığın sadece birinci neslin kilo alımını ve hayatta kalmasını

etkilemekle kalmadığı, ikinci nesli de etkilediği saptanmıştır (85). Ayrıca kalabalık barındırmanın sıçanların vücut ağırlığı artışını negatif yönde etkilediği belirtilmiştir (9, 86). Çalışmamızda, dişi ve erkek sıçanların canlı vücut ağırlıklarındaki değişimin, tüm haftalar arasında zamana bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Yüksek yoğunlukta barındırılan dişi ve erkek sıçanların, hem standart hem de orta yoğunlukta barındırılan sıçanlara göre daha az canlı vücut ağırlığı ortalamasına sahip olduğu saptanmıştır. Standart ve orta yoğunlukta barındırılan sıçanların ağırlık artışları arasında istatistiksel olarak fark saptanmamıştır. Ancak standart barındırılan sıçanların vücut ağırlığı hem orta hem de yüksek yoğunlukta barındırılanlara göre fazladır. Chvedoff ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptığı bir çalışmada kafes yoğunluğu yüksek olan grupta yem ve su tüketiminin, kafes yoğunluğu az olan gruplara göre azaldığını belirtmişlerdir (86). Yapılan bir çalışmada, kalabalık barındırmanın sıçanların vücut ağırlığı artışını negatif yönde etkilediği ama yem tüketimi üzerine etkisi olmadığı gösterilmiştir (9). Augustsson ve arkadaşlarının erkek sıçanlarda yaptığı çalışmada geniş kafes alanı (3150 cm²/sıçan) ile standart makrolon tip kafes (1121 cm²/ sıçan) alanını kıyaslamıştır. Geniş kafeste barındırılan sıçanların makrolon kafestekilere göre, daha düşük vücut ağırlığına, artan lokomotor aktiviteye, daha çok kas performans kapasitesi ile artan kas enzimi aktivitesine sahip oldukları belirtilmiştir. Ayrıca geniş kafeste barındırılan hayvanların koşma ve zıplama gibi daha çeşitli davranış örnekleri sergiledikleri gözlenmiştir (58). Farelerde farklı kafes tipinin ve kafes içi yoğunluğun etkisinin değerlendirildiği çalışmada, bu değişkenlerin hayvanların büyüme oranlarında, yem ve su tüketimleri üzerinde anlamlı bir farklılık oluşturmadığı saptanmıştır (87). Çalışmamızda da yüksek yoğunlukta barındırılan sıçanların, standart ve orta yoğunlukta barındırılanlardan daha az ağırlık ortalamasına sahip oldukları bulunmuştur. Sıçanların, altı haftalık yem ve su tüketim miktarları değerlendirildiğinde, standart, orta ve yüksek yoğunlukta barındırılan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

Hem insanlarda hem de insan olmayan primatlarda elde edilen kanıtlar, bebeğe yönelik davranışlardaki bireysel farklılıkların anneden yavrusuna geçtiğini göstermektedir. Nitekim insanlarda çocuk istismarı vakaları, çocukken istismar edilen ebeveynler arasında daha sık gözlenmektedir (51). Ebeveynlerin ruh sağlığı ebeveyn- çocuk etkileşimlerinin kalitesi ile ilişkili olup daha sonra yavruların bakımını

ve duygusal gelişimini etkilemektedir (88, 89). İnsan dışı primatlarda yapılan çalışmalar göstermektedir ki, çevresel sıkıntılar anne-bebek etkileşiminin kalitesini doğrudan etkileyebilmektedir (90, 91). Çevresel olumsuzlukların annenin refah durumunu değiştirdiği, kronik stresin, anksiyete ve korkuyu artırarak, maternal sorumlulukta azalmaya yol açtığı ve yavruların strese verdikleri tepkinin gelişmesini de etkilediği belirtilmiştir (52, 89). Annelik bakımında doğal olarak oluşan varyasyonların, hipokampal sinaptik gelişimin yanı sıra strese karşı oluşturulan davranışsal ve endokrin yanıtı düzenleyen genlerin ekspresyonunu da değiştirebildiği belirtilmiştir. Anneleri tarafından daha az ilgi gören sıçanların fazla ilgi gören sıçanlara oranla, strese karşı yüksek HPA yanıtı verdikleri ve bazı davranış testlerinde daha duygusal davrandıkları saptanmıştır. Aktif annelik davranışını fazla gerçekleştiren dişi sıçanlar, az gerçekleştiren sıçanlara göre strese karşı daha az korku ve düşük HPA yanıtı vermişlerdir. Ayrıca annenin, maternal bakımının dişi yavruların annelik davranışlarını da etkileyerek soylar arasında etkisini devam ettirebildiği saptanmıştır. Nitekim aktif annelik davranışını fazla gerçekleştiren sıçanların, dişi yavruları da kendi yavrularına karşı daha fazla aktif annelik davranışı göstermişlerdir (89). Laktasyon dönemindeki dişi sıçanların, aktif ve pasif bakım davranışlarını daha çok günün aydınlık periyodunda yaptığı, yuva yapma, beslenme gibi bakım dışı davranışları ise karanlık periyotta gerçekleştirdiği gözlenmiştir (92, 93). Farelerin de benzer bir laktasyon dönemi geçirdiği görülmüştür (94). Bu çalışmada bir kafeste barındırılan sıçan sayısının, sıçanların annelik davranışları üzerine etkisi değerlendirildiğinde, bakım dışı olan davranışların karanlık periyotta daha çok gerçekleştirilmesi literatürle (92, 93) uyumludur. Yine aktif ve pasif davranışların da daha çok günün aydınlık saatlerinde gerçekleştirilmesi önceki yapılan çalışmalarla (92-94) uyumluluk göstermektedir. Sabah 08.00 ile akşam 20.00 saatleri birebir kıyaslandığında (Tablo 21), bütün barındırma gruplarının, sabah 08.00 de aktif davranışları, bakım dışı davranışlardan daha fazla gerçekleştirdiği görülmektedir. Gözlemler aydınlık (08.00, 12.00 ve 16.00) ve karanlık (20.00) olarak kıyaslandığında (Tablo 22) ise sadece yüksek yoğunlukta barındırılan sıçanlar, bakım dışı olan davranışları karanlık yerine günün aydınlık periyodunda daha çok gerçekleştirmişlerdir. Bunun nedeni yüksek yoğunlukta barındırılan annelerin yavru sayısının (YYB=57), standart ve orta yoğunlukta barındırılan annelerin yavru

sayısından (SB=29, OYB=50), fazla olmasından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Bununla birlikte, yüksek yoğunlukta barındırılan dişilerin, annelik davranış özelliklerini standart ve orta yoğunlukta barındırılanlardan sayıca fazla yapmasının nedeni de, yine yavru sayılarının fazla olmasıyla ilişkilendirilebilir. Dişi farelerde yapılan bir çalışmada, yavru sayısı az olan anneler zamanını, daha çok yuva yapmaya ve yavrularını yalamaya ayırırken, yavru sayısı fazla olan annelerin ise daha çok yeme ve içmeye vakit ayırdıkları gözlenmiştir (95). Hem aydınlık-karanlık hem de sabah-akşam kıyaslamasına bakıldığında, orta yoğunlukta barındırılan sıçanların diğer gruplara göre, pasif annelik davranışlarını fazla sayıda yaptıkları gözlenmiştir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Laboratuvar sıçanlarının sütten kesimden sonra ve deneysel çalışmalar süresince barındırılma koşulları, hem hayvanların refahı ve sağlığı, hem de deneysel sonuçların güvenilirliği ve tekrar edilebilirliği açısından dikkat edilmesi gereken bir konudur.

Bir batında doğan yavru sayısının (batın sıkışıklığının), yavruların fiziksel gelişim parametreleri üzerine etkili olduğu saptanmıştır. Eğer hipotezimizde belirttiğimiz gibi 10 ve altında yavru doğuran anneler ile 11 ve üstünde yavru doğuran annelerin yavrularının, fiziksel gelişim özellikleri açısından kıyaslayabilseydik, gözlemlenen farkın çok daha belirgin olacağı kanaatindeyiz. Ayrıca sıçanların laktasyon süresince canlı vücut ağırlık artışları değerlendirildiğinde, batın sıkışıklığının, yavruların vücut ağırlığı artışını etkilediği görülmektedir. Sıçanların bir kafeste standart, orta ve yüksek yoğunlukta barındırılmasının dişi ve erkek sıçanlarda canlı ağırlık artışını etkilediği, özellikle yedili barındırılan sıçanlarda ağırlık artışının diğer iki gruba göre az olduğu saptanmıştır. Bu durum, kullanılan kafes tipinde, hem erkek hem de dişi sıçanları yedili barındırmanın uygun olmadığını göstermektedir. Eğer bu sıçanlar, obezite veya enerji metabolizması ile ilgili toksikolojik testlerde hayvan modeli olarak kullanılacak olsaydı, kurulan deney grupları arasında ortaya çıkacak vücut ağırlığı farkının nedeni konusunda şüpheler olabilirdi. Bu farklılıkların giderilmesi için deney gruplarının oluşturulmasında kısmi standardizasyon yapılarak, ağırlıkları birbirine yakın olan hayvanlar çalışmaya alınabilir.

Sıçanların kafeste farklı yoğunlukta barındırılmasının, hayvanların açık alan davranış parametreleri üzerine etkisinin olmadığı, sadece cinsiyet faktörünün hayvan davranışlarında belirgin farklılıklara sebep olduğu görülmüştür. Alınan toplam mesafe, ortalama hız ve iki ayaküstüne kalkma davranışlarına bakıldığında, dişilerin bu davranışları erkeklerden daha fazla sayıda yaptığı tespit edilmiştir. Yükseltilmiş artı labirent testinde, farklı barındırma gruplarının değerlendirilen test değişkenleri üzerine etkisinin olmadığı saptanmıştır. Ancak hayvanların, alınan toplam mesafe ve ortalama hız açısından, cinsiyet faktöründen etkilendiği görülmüştür. Dişiler, erkeklere oranla ortalama olarak daha hızlı hareket ederek, erkeklerden daha fazla

mesafe kat etmişlerdir. Sıçanların yeni bir ortama bırakılınca ortamı koklaması, hareket etmesi ve iki ayaküstüne kalkması hayvanın keşif isteğinden kaynaklanan spontan lokomotor davranışlarıdır. Bu davranışların dişi sıçanlarda daha fazla gözlenmesi, yeni ortama adaptasyon sürecinin erkek sıçanlara göre daha hızlı ve kolay olmasına yardımcı olabildiği söylenebilir. OFT alanında açık alan ve kenarlarda geçirilen süreler ile EPM alanında açık ve kapalı kollarda geçirilen sürelerle bakıldığında, gruplar arasında fark olmamasını, standart, orta ve yüksek yoğunluktaki barındırmanın sıçanlarda stres ve anksiyete benzeri davranışları geliştirmede yardımcı olmadığını söyleyebiliriz.

Sıçanların kafeste farklı yoğunlukta barındırılmasının, öğrenme ve bellek yetenekleri üzerine etkisi saptanmamıştır. Cinsiyet faktörünün minimum ve ortalama hız açısından istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturduğu saptanmıştır. Dişi sıçanlar, minimum ve ortalama hız açısından erkek sıçanlardan daha hızlı yüzmüşlerdir. Her üç davranış testinin sonuçları değerlendirildiğine, cinsiyet faktörünün sıçanların test alanlarındaki davranışlarını etkilediği saptanmıştır. Dişi sıçanların erkek sıçanlara göre daha fazla hareket ettikleri ve daha hızlı oldukları tespit edilmiştir. Benzer durum OFT ve EPM testlerinde de saptanmıştır. Dişilerin yeni ortamı keşfetme dürtüsünden kaynaklanan lokomotor aktivitenin, MWM testinde minimum ve ortalama yüzmeye hızı olarak karşımıza çıktığı görülmektedir. Dolayısıyla dişi sıçanların davranış testlerinde erkek sıçanlara göre genellikle daha hızlı ve daha hareketli olması, bu davranış testlerini içeren deneysel çalışmaları planlarken dikkat edilmesi gereken bir faktör olarak göz önünde bulundurulmalıdır.

Sıçanların stres ve anksiyete düzeylerini ölçme değişkenlerinden olan kortikosteroid düzeylerine bakıldığında, cinsiyet faktörünün kortikosteroid düzeyleri üzerine etkisi tespit edilmiştir. Dişi sıçanların kortikosteroid düzeyleri erkeklere göre daha yüksek bulunmuştur. Farklı yoğunlukta barındırma gruplarının, erkek sıçanların plazma kortikosteroid düzeyini etkilemediği saptanmıştır. Bununla birlikte, yüksek yoğunlukta barındırılan dişi sıçanların plazma kortikosteroid seviyesinin standart barındırılanlardan yüksek çıkması, kalabalık stresinden daha çok etkilendikleri anlamına gelmektedir. Özellikle dişi sıçanların kalabalık ortamlardan etkilendiği ve bundan dolayı hayvan ağırlığı başına düşen zemin alanına dikkat ederek

barındırılmaları gerektiği önerilmektedir. Kafes yoğunluğu stres modeli çalışmalarında, erkek sıçanların yerine dişi sıçanların seçilmesi önerilebilir.

Annelik davranışları açısından bakıldığında yüksek yoğunlukta barındırılan dişiler en fazla yavru sayısına sahip olduklarından, bütün annelik davranışlarında (bakım dışı, aktif ve pasif davranışlar) da sayıca en yüksek orana sahiptirler. Kendi içinde en fazla aktif bakım davranışının yapıldığı barındırma grubu standart barındırılan dişiler olup, bu durumun barındırma yoğunluğundan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim diğer barındırma gruplarıyla kıyaslandığında, barındırma şekli standart ve stres seviyesi düşük olan dişi sıçanların, daha yüksek aktif annelik davranışı göstermesi beklenmekteydi ve sonuçlar beklenti ile uyumludur. Annelik davranışlarındaki değişikliklerin, yavruların sinir sisteminin gelişimini ve yetişkinlik davranışlarını etkilediği ve annelik davranışının nesiller arasında aktarıldığı göz önüne alındığında, barındırma koşullarının laboratuvar hayvanları açısından ne kadar önemli olduğu açıktır.

Sıçanlarda kalabalık barındırma, hayvanların hem davranışsal hem de fizyolojik cevaplarını etkileyen bir stres faktörüdür. Çalışmamızda üçlü barındırılan sıçanlar standart, beşli barındırılanlar orta yoğunlukta ve yedili barındırılanlar ise yüksek yoğunlukta barındırılarak kalabalık etkisi yaratılmıştır. Bu soya ait sıçanların bir kafeste üçlü (313 cm²) ve beşli (188 cm²) barındırılmasının hayvanların fiziksel ve mental durumlarını etkilemediği, fakat yedili (134 cm²) barındırmanın sıçanları etkilediği saptanmıştır. Sıçanlar sosyal hayvanlardır ve bir kafeste hayvanı tek başına barındırmak bu hayvanlar için uygun değildir. Benzer şekilde kalabalık barındırmak da sıçanlarda fiziksel ve mental açıdan olumsuz durumların oluşmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla olumsuz çevre koşulları altında yetiştirilen sıçanlardan oluşturulacak deneysel gruplardan elde edilen davranışsal testler veya fizyolojik parametreler sonuçların yanıltıcı olmasına yol açabilir.

Sonuç olarak, gerek batin sikişikligi gerekse kafes yoğunluğunun hayvanların fiziksel ve mental gelişimleri üzerinde farklı etkileri olmuştur. Çalışmamızdaki sonuçların, hem translasyonel tıpa hem de laboratuvar hayvanları bilimine katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Allen KP, et al. Comparison of 2 rat breeding schemes using conventional caging. *Journal Of The American Association For Laboratory Animal Science* 2013; 52(2):142-145.
2. Hrapkiewicz K, Colby L, Denison P. Rats, clinical laboratory animal medicine : an introduction. Fourth edition, ABD, John Wiley & Sons, 2013:106-144.
3. Suckow MA, Weisbroth SH, Franklin CL. Reproduction and breeding, the laboratory rat. Second edition, ABD, Elsevier Academic Press, 2006:147-159.
4. Dimitsantos E, Escorihuela RM, Fuentes S, Armario A, Nada R, Litter size affects emotionality in adult male rats. *Physiology & Behavior* 2007; 92(4): 708-716.
5. Hurst JL, et al. Housing and welfare in laboratory rats: effects of cage stocking density and behavioural predictors of welfare. *Animal Behaviour* 1999; 58(3): 563–586.
6. Lobb M, McCain G. Population density and nonaggressive competition. *Animal Learning & Behavior* 1978; 6(1): 98-105.
7. Van L, Pascalle LP, et al. Modulation of aggression in male mice: influence of group size and cage size. *Physiology & behavior* 2001; 72(5): 675-683.
8. Calhoun JB. Population density and social pathology. *Scientific American* 1962; 206(2): 139-149.
9. Gamallo A, Villanua A, Beato MJ. Body weight gain and food intake alterations in crowd-reared rats. *Physiology & behavior* 1986; 36(5): 835-837.
10. Riley V. Animal models in biobehavioral research: Effects of anxiety stress on immunocompetence and neoplasia. *Perspectives In Behavioral Medicine* 1981: 433-445.
11. Brown KJ, Grunberg NE, Effects of housing on male and female rats: crowding stresses males but calms females. *Physiology & Behavior* 1995; 58(6): 1085-1089.
12. Directive 2010/63/EU of the european parliament and of the council of 22 september 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official journal of the european communities* L276.

13. Hughes PCR, Nowak M. The effect of the number of animals per cage on the growth of the rat. *Laboratory Animals* 1973; 7(3): 293-296.
14. Peters A, Festing . M, Population density and growth rate in laboratory mice. *Laboratory Animals* 1990; 24(3): 273-279.
15. İde T. Laboratuvar hayvanlari biliminin temel ilkeleri. Birinci baski, Ankara, Medipres Yayınları, 2003;11-145.
16. Fox J, et al. *Laboratory animal medicine. Second Edition.* ABD, Academic Press, 2002: 121-165.
17. Baumans V, et al. Individually ventilated cages: beneficial for mice and men? *JAALAS* 2002;41(1): 13-19.
18. Habbal OA, Al-Jabri AA. Circadian rhythm and the immune response: a review. *International reviews of immunology* 2009; 28(1-2): 93-108.
19. Aschoff J. *Biological rhythms.* Birinci baskı. ABD, Springer US, 2013, 3-10.
20. Spangenberg EMF, et al. Housing breeding mice in three different ivc systems: maternal performance and pup development. *Laboratory Animals* 2014; 48(3): 193-206.
21. Karakaş S. *Kognitif Nörobilimler.* Üçüncü baskı. İstanbul, Nobel Tıp, 2010;1046-1080.
22. Arakawa H. Age dependent effects of space limitation and social tension on open-field behavior in male rats. *Physiology & behavior*, 2005, 84(3): 429-436.
23. Palanza P. Animal models of anxiety and depression: how are females different? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 2001; 25(3): 219-233.
24. Beery AK, Kaufer D. Stress, social behavior, and resilience: insights from rodents. *Neurobiology of stress* 2015; 1: 116-127.
25. Shin, LM, Liberzon I. The neurocircuitry of fear, stress, and anxiety disorders. *Neuropsychopharmacology* 2010; 35(1): 169.
26. [http://www.ctf.edu.tr/stek/pdfs/47/4719.pdf\(30.10.2018\)](http://www.ctf.edu.tr/stek/pdfs/47/4719.pdf(30.10.2018))
27. Hall CS. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *Journal of Comparative psychology* 1934;18(3): 385.
28. Walsh RN, Cummins RA. The open-field test: a critical review. *Psychological bulletin* 1976; 83(3): 482.

29. 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.
30. Roth KA, Katz RJ. Stress, behavioral arousal, and open field activity a reexamination of emotionality in the rat. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 1979; 3(4): 247-263.
31. Redfern WS, et al. Automated recording of home cage activity and temperature of individual rats housed in social groups: The Rodent Big Brother project. *PloS one* 2017; 12(9): e0181068.
32. Stanford SC. The open field test: reinventing the wheel. *Journal of psychopharmacology* 2007; 21(2): 134-136.
33. Bromley-brits K; Deng Y, SW. Morris water maze test for learning and memory deficits in Alzheimer's disease model mice. *JoVE* 201; 53.
34. Handley SL, Mithani S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of fear-motivated behaviour. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology* 1984, 327(1): 1-5.
35. Espejo EF. Effects of weekly or daily exposure to the elevated plus-maze in male mice. *Behavioural brain research* 1997; 87(2): 233-238.
36. Carobrez AP, Bertoglio LJ. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 2005; 29(8): 1193-1205.
37. 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.
38. D'hooge R, De deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain research reviews* 2001; 36(1): 60-90.
39. Sandi C. The role and mechanisms of action of glucocorticoid involvement in memory storage. *Neural plasticity* 1998; 6(3): 41-52.
40. Chiavegatto S, Oliveira CA, Bernardi MM. Prenatal exposure of rats to diphenhydramine: Effects on physical development, open field, and gonadal hormone levels in adults. *Neurotoxicology and teratology* 1997;19(6): 511-516.
41. Yamada K, Nabeshima T. Stress-induced behavioral responses and multiple opioid systems in the brain. *Behavioural brain research* 1995; 67(2): 133-145.

42. Brotto LA, Barr AM, Gorzalka BB. Sex differences in forced-swim and open-field test behaviours after chronic administration of melatonin. *European Journal of Pharmacology* 2000; 402(1-2): 87-93.
43. Azarfarin M et al. Effects of troxerutin on anxiety-and depressive-like behaviors induced by chronic mild stress in adult male rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 2018, 21 (8): 781-786.
44. Sheets AL, et al. Quantitative evaluation of 3D mouse behaviors and motor function in the open-field after spinal cord injury using markerless motion tracking. *PloS one* 2013, 8 (9): e74536.
45. Kanari K, et al. Multidimensional structure of anxiety-related behavior in early-weaned rats. *Behavioural brain research* 2005, 156(1): 45-52.
46. Mathis V, et al. The lateral habenula interacts with the hypothalamo-pituitary adrenal axis response upon stressful cognitive demand in rats. *Behavioural brain research* 2018, 341: 63-70.
47. Atkinson HC, Waddell BJ. Circadian variation in basal plasma corticosterone and adrenocorticotropin in the rat: sexual dimorphism and changes across the estrous cycle. *Endocrinology* 1997, 138 (9): 3842-3848.
48. Casarrubea M, et al. The effects of different basal levels of anxiety on the behavioral shift analyzed in the central platform of the elevated plus maze. *Behavioural brain research* 2015, 281: 55-61.
49. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of neuroscience methods* 1984; 11(1): 47-60.
50. Enomoto T, et al. Lurasidone reverses MK-801-induced impairment of learning and memory in the Morris water maze and radial-arm maze tests in rats. *Behavioural brain research*, 2008, 186 (2): 197-207.
51. Champagne FA, Meaney MJ. Stress during gestation alters postpartum maternal care and the development of the offspring in a rodent model. *Biological psychiatry* 2006; 59 (12): 1227-1235.
52. Champagne FA, et al. Variations in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment on development. *Physiology & Behavior* 2003; 79(3): 359-371.

53. Coutellier L, et al. Effects of rat odour and shelter on maternal behaviour in c57bl/6 dams and on fear and stress responses in their adult offspring. *Physiology & Behavior* 2008; 94(3): 393-404.
54. Mulder EJH, et al. Prenatal maternal stress: effects on pregnancy and the (unborn) child. *Early human development* 2002; 70(1-2): 3-14.
55. Kofman O. The role of prenatal stress in the etiology of developmental behavioural disorders. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 2002; 26(4): 457-470.
56. Beydoun H, Saftlas AF, Physical and mental health outcomes of prenatal maternal stress in human and animal studies: a review of recent evidence. *Paediatric and perinatal epidemiology* 2008; 22(5): 438-466.
57. Dimitsantos E, et al. Litter size affects emotionality in adult male rats. *Physiology & Behavior*, 2007, 92(4): 708-716.
58. Augustsson H, et al. Human–animal interactions and animal welfare in conventionally and pen-housed rats. *Laboratory animals*, 2002, 36(3): 271-281.
59. Spangenberg EMF, et al. Housing-related activity in rats: effects on body weight, urinary corticosterone levels, muscle properties and performance. *Laboratory animals*, 2005, 39(1): 45-57.
60. Richter SH, Garner JP, Würbel H. Environmental standardization: cure or cause of poor reproducibility in animal experiments?. *Nature methods*, 2009, 6(4): 257.
61. Richter SH, et al. Systematic variation improves reproducibility of animal experiments. *Nature Methods*, 2010, 7(3): 167.
62. OECD. Draft proposal for a new guideline 426: Development neurotoxicity study. ENV/JM/ TG, 2007.
63. Agnish ND, Keller KA. The rationale for culling of rodent litters. *Toxicological Sciences* 1997; 38(1): 2-6.
64. Chahoud I, Paumgarten FJR. Influence of litter size on the postnatal growth of rat pups: is there a rationale for litter-size standardization in toxicity studies? *Environmental research* 2009; 109(8): 1021-1027.
65. Budde MD, et al. Primary blast traumatic brain injury in the rat: relating diffusion tensor imaging and behavior. *Frontiers in neurology* 2013; 4: 154.

66. Wood GE, Shors TJ. Stress facilitates classical conditioning in males, but impairs classical conditioning in females through activational effects of ovarian hormones. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1998; 95(7): 4066-4071.
67. Heinsbroek RPW, et al. Sex differences in passive avoidance behavior of rats: sex-dependent susceptibility to shock-induced behavioral depression. *Physiology & behavior* 1988; 43(2): 201-206.
68. Steenbergen HL, Farabollini F, Heinsbroek RPW. Sex-dependent effects of aversive stimulation on holeboard and elevated plus-maze behavior. *Behavioural brain research* 1991; 43(2): 159-165.
69. Syme LA. Social isolation at weaning: Some effects on two measures of activity. *Animal Learning & Behavior* 1973; 1(3): 161-163.
70. Armario A, Ortiz R, Balasch J. Effect of crowding on some physiological and behavioral variables in adult male rats. *Physiology & behavior* 1984; 32(1): 35-37.
71. Bronson FH. Density, subordination and social timidity in *Peromyscus* and C57BL/10J mice. *Animal Behaviour* 1963; 11(4): 475-479.
72. Gamallo A, et al. Stress adaptation and adrenal activity in isolated and crowded rats. *Physiology & behavior* 1986; 36(2): 217-221.
73. Blizard DA, Lippman HR, Chen JJ. Sex differences in open-field behavior in the rat: the inductive and activational role of gonadal hormones. *Physiology & behavior* 1975; 14(5): 601-608.
74. Markowska AL. Sex dimorphisms in the rate of age-related decline in spatial memory: relevance to alterations in the estrous cycle. *Journal of Neuroscience* 1999; 19(18): 8122-8133.
75. Saavedra MA, et al. Sex differences in aversive and appetitive conditioning in two strains of rats. *Physiology & behavior* 1990; 47(1): 107-112.
76. Archer J. Rodent sex differences in emotional and related behavior. *Behavioral biology* 1975; 14(4): 451-479.
77. Johnston AL, File SE. Sex differences in animal tests of anxiety. *Physiology & behavior* 1991; 49(2): 245-250.
78. Imhof JT, et al. Influence of gender and age on performance of rats in the elevated plus maze apparatus. *Behavioural brain research* 1993; 56(2): 177-180.

79. Denenberg VH, Rosenberg KM. Programming life histories: Effects of maternal and environmental variables upon open-field behavior. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology* 1968; 1(2): 93-96.
80. Dixon LK, Defries JC. Development of open-field behavior in mice: Effects of age and experience. *The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology* 1968; 1(2): 100-107.
81. Aloisi AM, Ceccarelli I, Lupo C. Behavioural and hormonal effects of restraint stress and formalin test in male and female rats. *Brain research bulletin* 1998; 47(1): 57-62.
82. Aloisi AM, et al. Sex-dependent effects of restraint on nociception and pituitary-adrenal hormones in the rat. *Physiology & behavior* 1994; 55(5): 789-793.
83. Galea LAM, et al. Sex differences in dendritic atrophy of CA3 pyramidal neurons in response to chronic restraint stress. *Neuroscience* 1997; 81(3): 689-697.
84. Kant G, et al. Comparison of stress response in male and female rats: pituitary cyclic AMP and plasma prolactin, growth hormone and corticosterone. *Psychoneuroendocrinology* 1983; 8(4): 421-428.
85. Christian JJ, Lemunyan CD. Adverse effects of crowding on lactation and reproduction of mice and two generations of their progeny. *Endocrinology* 1958; 63(5): 517-529.
86. Chvédoff M, et al. Effects of housing conditions on food intake, body weight and spontaneous lesions in mice. A review of the literature and results of an 18-month study. *Food and cosmetics toxicology*, 1980, 18(5): 517-522.
87. Smith AL, et al. Effects of housing density and cage floor space on C57BL/6J mice. *Comparative medicine*, 2004, 54(6): 656-663.
88. Fleming AS, Corter C. Factors influencing maternal responsiveness in humans: usefulness of an animal model. *Psychoneuroendocrinology* 1988; 13(1-2): 189-212.
89. Meaney MJ. Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Annual review of neuroscience*, 2001, 24(1): 1161-1192.

90. Rosenblum LA, Andrews MW. Influences of environmental demand on maternal behavior and infant development. *Acta Paediatrica* 1994; 83: 57-63.
91. Lyons DM., et al. Postnatal foraging demands alter adrenocortical activity and psychosocial development. *The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology* 1998; 32(4): 285-291.
92. Grotta LJ, Ader R. Behavior of lactating rats in a dual-chambered maternity cage. *Hormones and Behavior* 1974; 5(4): 275-282.
93. Rüedi-bettschen D, Feldon J, Pryce CR. Circadian-and temperature-specific effects of early deprivation on rat maternal care and pup development: Short-term markers for long-term effects? *Developmental psychobiology* 2004; 45(2): 59-71.
94. Shoji H, Kato K. Maternal behavior of primiparous females in inbred strains of mice: a detailed descriptive analysis. *Physiology & behavior* 2006; 89(3): 320-328.
95. Priestnall R. Effects of litter size on the behaviour of lactating female mice (*Mus musculus*). *Animal Behaviour* 1972; 20(2): 386-394.

8. EKLER

8.1. Etik Kurul Onayı

 **DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU**
35340, Inciraltı, İzmir-232 4122234
<http://deu.edu.tr/idenyetil/>

Toplantı No : 07/09/2012
Toplantı Tarihi : 11 Mayıs 2012


Sayın, Prof.Dr.Osman YILMAZ
Multidisipliner Laboratuvarı Araştırmaları Anabilim Dalı

37/2012 Protokol No'lu; Multidisipliner Laboratuvarı Araştırmaları Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Prof.Dr.Osman YILMAZ'ın yürütücüsü olduğu "Sıçanlarda bir batında doğan yavru sayısının ve kafeslemenin fiziksel ve emtal gelişim üzerindeki etkilerinin incelenmesi" isimli projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca yoktur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

Prof.Dr.Osman YILMAZ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik
Kurul Başkanı
(Araştırmacı-Topl.Katılmadı)


Prof.Dr.A.Necati GÖKMEN
Başkan Yardımcısı


Prof.Dr.Alper SOYLU
Üye

Prof.Dr.Ayşe GELAL
Üye (Topl.katılmadı)

Prof.Dr.O.Nejat SARIOSMANOĞLU
Üye (Topl.katılmadı)

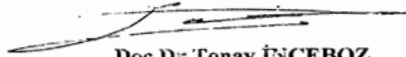

Prof.Dr.Hüseyin BASKIN
Üye

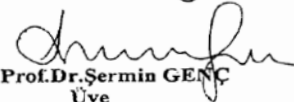
Prof.Dr.Abdullah KUMRAL
Üye (Topl.katılmadı)

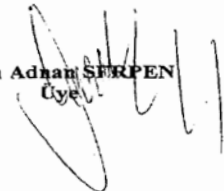
Prof.Dr.Gülgün OKTAY
Üye

Prof.Dr.Turna İLKNUR
Üye (Topl.katılmadı)

Doç.Dr.H.Alper BAĞRIVANIK
Üye


Doç.Dr.Tonay İNCEBOZ
Üye


Prof.Dr.Sermin GENÇ
Üye


Vtr.Hekim Adnan ŞİRPEN
Üye

8.2. Özgeçmiş

MERYEM ÇALIŞIR

E-posta: meryemcalisir@gmail.com

Telefon: 05305607787

Yazışma Adresi: Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Laboratuvar Hayvanları Bilimi AD. Zeytin Binası Kat:3 35340 İnciraltı/ İzmir

EĞİTİM BİLGİLERİ

Lisans: Biyoloji Bölümü- Fen Edebiyat Fakültesi- Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 2003-2007.

Yüksek Lisans: Tıbbi Mikrobiyoloji ABD- Sağlık Bilimleri Enstitüsü- Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 2008-2010.

Doktora: Laboratuvar Hayvanları Bilimi- Sağlık Bilimleri Enstitüsü- Dokuz Eylül Üniversitesi, 2012-Devam ediyor.

PROJE DENEYİMİ

Proje Adı	Projedeki Görevi
Sıçanlarda kolistin nefrotoksisitesine karşı lipoik asit'in koruyucu rolünün araştırılması	Araştırmacı
Sıçanlarda demir sükrözün oksidan etkilerine karşı lipoik asitin koruyucu rolünün araştırılması	Araştırmacı
İsohermetin ve sisplatinin nöroblastom deneysel modellerinde hipoksi ilişkili mekanizmalar üzerine etkisi	Araştırmacı
Sıçanlarda nanopartükül hidrojen peroksit ve gümüş formülasyonunun gastrointestinal flora ve iç organlar üzerine olan etkisinin araştırılması	Araştırmacı
Damardan demir verilen sıçanlarda lipoik asidin böbrek hasarı üzerine olası koruyucu etkisine aracılık eden moleküler mekanizmaların araştırılması	Araştırmacı

Menzenkimal kök hücrelerin kanser tedavisine etkisi	Araştırmacı
Gürültüye Bağlı İşitme Kaybında Oleuropeinin Etkisinin Araştırılması	Araştırmacı
Bor bileşiklerinin meme kanser modellerindeki etkileri	Araştırmacı
Hiperoksi ilişkili apoptoz oluşturulan yenidoğan rat beyinlerinde D vitamininin nöroprotektif etkisinin araştırılması	Araştırmacı
Bor bileşiklerinin in vivo nöroblastom üzerindeki etkileri	Araştırmacı
Hiperoksi ilişkili apoptoz oluşturulan rat beyinlerinde lakozamit ve memantinin nöroprotektif etkisinin araştırılması	Araştırmacı
Brown Norway, Wistar Albino, Lewis ve Sprague Dawley Sıçan Soyları Üzerinde Morfometrik Bir Çalışma	Araştırmacı
Laboratuvar hayvanları tesisleri altyapı geliştirme projesi	Araştırmacı
Kronik pulmoner tromboemboli modelinde anti IL-6 ve metil palmitatın koruyucu etkinliği	Araştırmacı
Konvansiyonel Wistar Albino Standart Sıçan Kolonisinin Oluşturulması ve Bilimsel Araştırmalarda Kullanılması	Araştırmacı
Ciddi Femoral Arter Kanaması Olan Deneysel Rat Modelinde Lokal Traneksamik Asid ve Traneksamik Asid ile Chitosan Linear Polymer Uygulamasının Hemostatik Etkileri	Araştırmacı
Hedeflendirilmiş Ultrason Kontrast Ajanı Mikroköpükçükler İle İlaç Taşınımı Ve Kontrollü Lokal İlaç Salınımı İle Kanser Tedavisinde Kullanılması	Bursiyer
Adipojenik mezenkimal kök hücrelerinin sıçanlarda oluşturulan overyan iskemi-reperfüzyon modeli üzerindeki koruyucu etkileri	Araştırmacı
Sıçanlarda Sklerozan Enkapsüle Peritonit Modelinde Pirfenidone' nin Periton Fibrozisini Tedavi Edici Etkisinin İncelenmesi	Araştırmacı
Sıçanlarda Akustik Travmaya Bağlı İşitme Kaybı Modelinde Likopenin(Lycopene) Etkisinin Araştırılması	Araştırmacı
Yavru Sıçanlarda Deneysel Kafa Travması Modelinde MK-801 İN Nöroprotektif Etkisinin Değerlendirilmesi	Araştırmacı
Kobaylarda Sisplatin Ototoksisitesinde Hidrojel İçerisinden Kontrollü Salınan Deksametazonun Koruyucu Etkisinin Araştırılması	Araştırmacı
Sprague-Dawley standart sıçan kolonisinin oluşturulması ve bilimsel araştırmalarda kullanılması	Araştırmacı

KİTAP İÇİ BÖLÜM

Osman Yılmaz, Meryem Çalışır. 18. Bölüm 112. Deney hayvanları ve enfeksiyon modelleri. Enfeksiyon patogenezi ve bağışıklık. İstanbul, 2015

YAYINLARI

SCI, SSCI, AHCI indekslerine giren dergilerde yayınlanan makaleler

Sönmez, A., Sayın, O., Gürgen, S. G., & Çalışır, M. Neuroprotective effects of MK-801 against traumatic brain injury in immature rats. Neuroscience letters, 2015, 597, 137-142.

Elkar, B., Barış, M., Çalışır, M., Çakır, Y., Aktaş, S., Tütüncü, M., ... & Altun, Z.. Endothelial Dysfunction in Breast Cancer In-Vivo Model. In Multidisciplinary Digital Publishing Institute Proceedings 2018, 2, 25, 1536.

Diğer dergilerde yayınlanan makaleler

Yaman G., Parlak M., Demirel M., Güdücüoğlu H., & Berktaş M. Çeşitli Klinik Örneklerin EZN Boyama ve Tüberküloz Kültür Sonuçlarının Değerlendirilmesi. Ortadoğu Medical Journal/Ortadoğu Tıp Dergisi, 2012, 4.1.

Hakemli konferans/sempozyumların bildiri kitaplarında yer alan yayınlar

Aslıer NGY, Tağaç AT, Durankaya SM, Çalışır M, Ersoy N, Kırkım G, Yurdakoç K, Bağrıyanık HA, Yılmaz O, Sütay S, Güneri EA. Genipin Çapraz Bağlayıcılı Hidrojel İçerisinden Kontrollü Salınan Deksametazon ile Sisplatin Ototoksitesini Önlemek Mümkün mü? 40. Türk Ulusal Kulak Burun Boğaz Ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi, 2018.

<p>Aktas S, Ercetin P, Aydın M, Calisir M, Bekcioglu O, Yilmaz O, Olgun N. Mesenchimal Stem Cell and Cisplatin Interference in Neuroblastoma Experimental Animal Model, 50th Congress of the International Society of Pediatric Oncology (SIOP), Japonya, 2018.</p>
<p>Çoban Ş, Yıldız D, Bozkaya E, Çavdar Z, Ünlü M, Ural C, Çalışır M, Yılmaz O, Çamsarı T. Sıçanlarda sklerozan enkapsüle peritonit modelinde pirfenidonun periton fibrozisini tedavi edici etkisinin incelenmesi, 34. Ulusal Nefroloji, Hipertansiyon, Diyaliz ve Transplantasyon Kongresi, 2017</p>
<p>Serinan EO, Baris M, Kurkcu G, Onercan C, Calisir M, Altun Z, Aktaş S, Aydın M, Özdemir S, Yılmaz O, Özdemir E. Investigation of therapeutic effects of doxorubicin loaded microbubbles in in-vivo breast cancer model.1.joint EACR-MRS Conference, In Clinical & Experimental Metastasis, Netherlands: Springer. 2017, Vol. 34, No. 8, Pp. 494-495.</p>
<p>Altun Z, Serinan EO, Aktas S, Calisir M, Aydın M, Yılmaz O, Korkmaz M, Olgun N. The effects of disodium pentaborate decahydrate on in-vivo neuroblastoma animal model. 1.joint EACR-MRS Conference, In Clinical & Experimental Metastasis. Netherlands: springer 2017, Vol. 34, No. 8, pp. 495-495.</p>
<p>Serinan EO, Baris M, Kurkcu G, Çalışır M, Onercan C, Altun Z, Aktaş S, Aydın M, Özdemir S, Yılmaz O, Özdemir E. The effect of doxorubicine loaded microbubbles on breast cancer in vivo experimental animal model, vi. International congress of moleculer medicine,2017.</p>
<p>Serinan EO, Baris M, Kurkcu G, Çalışır M, Onercan C, Altun Z, Aktaş S, Aydın M, Özdemir S, Yılmaz O, Özdemir E. Doxorubicin yüklenmiş mikroköpülçüklerin in –vivo deney hayvanı modelinde meme kanseri üzerine etkisi, 22. Ulusal kanser kongresi, 2017</p>
<p>Çalışır M, Yılmaz O., Translasyonel Tıp ve Laboratuvar Hayvanları, 4. Ulusal Laboratuvar Hayvanları Bilimi Kongresi, 2015.</p>
<p>Kolatan E, Çalışır M, Canda T, Yılmaz O, Deney Hayvanı Laboratuvarında Yetiştirilen Dişi Fare ve Sıçanlarda Gözlenen Spontan Meme Tümörlerinin</p>

Karakterleri, Laboratuvar Hayvanları Bilimi 3. Ulusal Kongresi, Kayseri, 2013.

Kolatan HE, Calisir M, Celik A, Akhisarođlu M, Karaman M, Güneli E, Sönmez A, Yılmaz O. The Effects of Foster Mother Care on Behaviour Parameters in Rat Pups, 12th FELASA Congress Animal Research: Better Science from Fewer Animals, Spain 2013.

