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

VALPROİK ASİTLE İNDÜKLENMİŞ OTİZM MODELİNDE mGluR1/5 BAĞIMLI HİPOKAMPAL PLASTİSİTENİN RESEPTÖR ANTAGONİSTLERİ (MTEP ve JNJ) İLE MODÜLASYONU

Hazırlayan
Tuğba KIRBOĞA

Danışman
Prof. Dr. Nurcan DURSUN

Doktora Tezi

Nisan 2026
KAYSERİ

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

VALPROİK ASİTLE İNDÜKLENMİŞ OTİZM MODELİNDE mGluR1/5 BAĞIMLI HİPOKAMPAL PLASTİSİTENİN RESEPTÖR ANTAGONİSTLERİ (MTEP ve JNJ) İLE MODÜLASYONU

Doktora Tezi

Hazırlayan
Tuğba KIRBOĞA

Danışman
Prof. Dr. Nurcan DURSUN

Bu Tez Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından TDK-2024-13753 kodlu proje ve TÜSEB A4-02 42554 kodlu proje ile desteklenmiştir.

NİSAN 2026
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, tüm bilgilerin akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda akademik ve etik kuralların gerektirdiği gibi tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve kaynaklar listesinde gösterdiğimi belirtirim.

Tuğba KIRBOĞA

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

"Valproik Asitle İndüklenmiş Otizm Modelinde mGluR1/5 Bağımlı Hipokampal Plastisitenin Reseptör Antagonistleri (MTEP ve JNJ) İle Modülasyonu" adlı **Doktora Tezi,** Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesine uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan	**Danışman**
Tuğba KIRBOĞA	Prof. Dr. Nurcan DURSUN

Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Nurcan DURSUN

KABUL VE ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Nurcan DURSUN danışmanlığında **Tuğba KIRBOĞA** tarafından hazırlanan **"Valproik Asitle İndüklenmiş Otizm Modelinde mGluR1/5 Bağımlı Hipokampal Plastisitenin Reseptör Antagonistleri (MTEP ve JNJ) ile Modülasyonu"** adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalında **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

…./…./……

JÜRİ **İmza**

Danışman: Prof. Dr. Nurcan DURSUN

Üye: Prof. Dr. Cem SÜER

Üye: Prof. Dr Hamiyet ALTUNTAŞ

Üye: Prof. Dr. Leyla ŞAHİN

Üye: Doç. Dr. Seval MÜSÜROĞLU

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununun ……. tarih ve …… sayılı kararı ile onaylanmıştır.

……/……/…….

Prof. Dr. Aydın ALAN

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi, birikim ve deneyimi ile yoluma ışık tutan, bana inancını her daim hissettiren çok kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Nurcan DURSUN'a, bu yolculukta bütün sorularımı sabırla cevaplayan değerli hocam Prof. Dr. Cem SÜER'e;

Deneylerin gerçekleştirilmesinde, laboratuvar tecrübelerini benimle paylaşan değerli hocalarım Doç. Dr. Ercan BABUR, Doç. Dr. Burak TAN, Öğr.Üyesi Dr. Bilal KOŞAR'a, hayvan deneylerine çok büyük katkısı bulunan Arş. Gör. Ömer Yusuf İPEK'e, her türlü sorunda gönül rahatlığı ile kapısını çalabildiğim, tezime büyük katkısı olan Arş. Gör. Oğuzhan YAYLALI'ya;

Fizyoloji Anabilim Dalı'ndaki yolcuğuma eşlik eden Arş. Gör. Dr. Zeynep Büşra UZUNCAN, Arş. Gör. Dr. Muharrem Özer BAŞTÜRK, Arş. Gör. Tuğba ERASLAN ve Hatice KAVAK'a;

Bu yolcukta tanıştığım, desteklerini hiç eksik etmeyen, her aşamada yanımda olan yol arkadaşlarım sevgili Seza Nur SULUHAN ve Ceylan TAŞYÜREK'e;

Akademik yolcuğumda beni destekleyen ve her zaman yanımda olduğunu hissettiren, yorulduğumda yoluma devam etmemi sağlayan çok kıymetli eşime, benim her halime katlanan, dönem dönem kendilerine daha az zaman ayırsam da her zaman yanımda olan ve bana anlayış gösteren çok sevdiğim çocuklarıma en içten duygularımla teşekkür ederim.

VALPROİK ASİTLE İNDÜKLENMİŞ OTİZM MODELİNDE mGluR1/5 BAĞIMLI HİPOKAMPAL PLASTİSİTENİN RESEPTÖR ANTAGONİSTLERİ (MTEP ve JNJ) İLE MODÜLASYONU

Tuğba KIRBOĞA

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Fizyoloji Ana Bilim Dalı

Doktora Tezi, Nisan 2026

Danışman Prof. Dr. Nurcan DURSUN

ÖZET

Prenatal dönemde uygulanan valproik asit (VPA), otizm spektrum bozukluğu (OSB) benzeri davranışsal ve nörobiyolojik fenotiplerin ortaya çıkmasına neden olur. Bu çalışmada prenatal VPA maruziyetinin hipokampal sinaptik plastisite üzerindeki etkilerinin elektrofizyolojik ve moleküler düzeyde incelenmesi ve metabotropik glutamat reseptörleri (mGluR1/5)'in Uzun Dönem Baskılanma (UDB) sürecindeki rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

Gebeliğin 12,5. gününde Wistar albino dişi sıçanlara intraperitoneal 500 mg/kg VPA uygulanmış ve bu annelerden doğan erkek yavrular çalışmada kullanılmıştır. Doğumdan sonra nörogelişimsel parametreler izlenmiş ve otizm modelinin doğrulanması için davranış testleri uygulanmıştır. Öğrenme ve bellek performansı yeni nesne tanıma ve Y-labirent testleri ile değerlendirilmiştir. Elektrofizyolojik deneylerde eşleştirilmiş çift darbe (PP) protokolü ile UDB indüklenmiş ve mGluR1 antagonisti (JNJ) ile mGluR5 antagonisti (MTEP) PP-UDB sırasında intrahipokampal olarak uygulanmıştır. Elektrofizyolojik kayıtların ardından hipokampal dokularda Western blot yöntemi ile protein düzeyleri analiz edilmiştir.

Prenatal VPA maruziyeti yavrularda kuyruk malformasyonlarına ve göz açma zamanında gecikmeye neden olmuştur. Izgara yürüme testinde VPA grubunun performansının kontrol grubuna göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Toplam sosyal etkileşim süresi benzer bulunmasına rağmen, sosyal tercih testinde VPA grubunun sosyal uyaranı seçme eğilimi azalmıştır. Yeni nesne tanıma ve Y-labirent testlerinde VPA grubunun bellek performansı kontrol grubuna göre daha zayıf bulunmuştur. UDB yalnızca kontrol grubunda gözlenmiş; hem mGluR1/5 antagonizması uygulanan kontrol grubunda hem de VPA maruziyeti bulunan gruplarda UDB indüklenememiştir. Moleküler analizlerde GluA1 ve PSD95 düzeylerinde anlamlı değişiklik saptanmazken, GluA2 ve sinapsin protein düzeylerinin VPA grubunda azaldığı belirlenmiştir. VPA maruziyeti sinaptik plastisiteyi hem pre hem postsinaptik düzeyde etkilemiştir.

Elde edilen bulgular prenatal VPA uygulamasının nörogelişimsel gecikmeler, sosyal tercih bozukluğu ve bellek performansında azalma ile karakterize otizm benzeri fenotiplerin ortaya çıkmasına yol açtığını göstermektedir. Elektrofizyolojik veriler VPA maruziyetinin hipokampusta mGluR1/5 aracılı UDB oluşumunu bozduğunu ve mGluR antagonizmasının kontrol koşullarında gözlenen sinaptik depresyon yanıtını ortadan kaldırdığını ortaya koymaktadır. Ayrıca moleküler bulgular AMPA reseptör alt birimlerinden GluA2 düzeyindeki azalma ile birlikte presinaptik sinapsin düzeyindeki değişimin VPA modelinde sinaptik iletim ve plastisite

mekanizmalarının yeniden düzenlenmesine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir.
Anahtar kelimeler: Otizm; mGluR1/5; Uzun Dönem Baskılanma; Valproik Asit.

MODULATION OF mGLUR1/5-DEPENDENT HIPPOCAMPAL PLASTICITY BY RECEPTOR ANTAGONISTS (MTEP AND JNJ) IN A VALPROIC ACID-INDUCED RODENT MODEL OF AUTISM

Tuğba KIRBOĞA

Erciyes University, Institute of Health Sciences
Department of Physiology
PhD Thesis, April 2026
Supervisor: Prof. Dr. Nurcan DURSUN

ABSTRACT

Prenatal administration of valproic acid (VPA) is widely used to induce behavioral and neurobiological phenotypes resembling Autism Spectrum Disorder (ASD). The aim of this study was to investigate the effects of prenatal VPA exposure on hippocampal synaptic plasticity at electrophysiological and molecular levels and to evaluate the role of metabotropic glutamate receptors mGluR1/5 in the Long-Term Depression (LTD) process.

Pregnant Wistar albino rats received an intraperitoneal injection of VPA (500 mg/kg) on gestational day 12.5, and male offspring born from these dams were used in the study. After birth, neurodevelopmental parameters were monitored and behavioral tests were conducted to validate the autism model. Learning and memory performance were assessed using the Novel Object Recognition and Y-maze tests. Electrophysiological analyses were performed using a paired-pulse (PP) protocol to induce LTD. The mGluR1 antagonist (JNJ) and mGluR5 antagonist (MTEP) were administered intrahippocampally during the PP-LTD protocol. Following electrophysiological recordings, hippocampal tissues were collected and protein levels were analyzed by Western blot.

Prenatal exposure to valproic acid (VPA) caused tail malformations in the offspring and delayed eye-opening time. In the grid-walking test, the performance of the VPA group was lower than that of the control group. Although the total duration of social interaction was similar between groups, the VPA group showed a reduced tendency to prefer the social stimulus in the social preference test. In the novel object recognition and Y-maze tests, the VPA group exhibited poorer memory performance compared to controls. LTD was observed only in the control group; it could not be induced in either the control group treated with mGluR1/5 antagonists or in the VPA-exposed groups. Molecular analyses revealed no significant changes in GluA1 and PSD95 levels, whereas GluA2 and synapsin protein levels were decreased in the VPA group. VPA exposure affected synaptic plasticity at both pre- and postsynaptic levels.

The findings indicate that prenatal VPA exposure leads to autism-like phenotypes characterized by neurodevelopmental delays, impaired social preference, and deficits in memory performance. Electrophysiological data suggest that VPA exposure disrupts mGluR1/5-mediated LTD formation in the hippocampus and that mGluR antagonism abolishes synaptic depression under control conditions. Furthermore,

molecular findings suggest that decreased GluA2 and presynaptic synapsin levels may contribute to the reorganization of synaptic transmission and plasticity mechanisms in the VPA model.
Keywords: Autism; mGluR1/5; Long Term Depression; Valproic Acid.

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK .....
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI ii
KABUL VE ONAY SAYFASI iii
TEŞEKKÜR iv
ÖZET v
ABSTRACT vii
İÇİNDEKİLER ix
KISALTMALAR VE SİMGELER xii
TABLO LİSTESİ xv
ŞEKİL LİSTESİ xvii
1. GİRİŞ ve AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 4
2.1. PLASTİSİTE 4
2.2. SİNAPTİK PLASTİSİTE 5
2.2.1. Uzun Dönem Güçlenme (UDG) 6
2.2.2. Uzun Dönem Baskılanma (UDB) 7
2.2.2.1. NMDAR Bağımlı UDB 8
2.2.2.2. mGluR Bağımlı UDB 9
2.2.3. mGlu Reseptörleri 10
2.2.4. mGluR'nin Bulunduğu Yerler 11
2.2.5. mGlu Reseptörleri Etki Mekanizması 13
2.2.6. mGluR Bağımlı UDB Mekanizması 15
2.2.7. AMPAR İnternalizasyonu 17
2.2.8. Memeli Rapamisin Hedefi (mTOR) ve UDB'deki Rolü 20
2.3. YAPISAL PLASTİSİTE 23
2.3.1. Yapısal plastisite ve UDB 26
2.3.2. Sinaptik Budama 27
2.3.3. Otofaji, Sinaptik Plastisite ve Nöroplastisite İlişkisi 28
2.4. OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU 31
2.4.1. OSB'de PI3K-Akt-mTOR Yolağı ve Plastisite 32

2.5. VALPROİK ASİT 35
2.6. HİPOKAMPÜS 35
2.6.1. Hipokampüs ve UDB 38
3. GEREÇ VE YÖNTEM 40
3.1. GEREÇ 40
3.2. YÖNTEM 41
3.2.1.Valproik Asit ile Otizm Modelinin Oluşturulması 42
3.2.2. Gelişimsel Parametrelerin Takibi 43
3.2.2.1. Ağırlık ve boy ölçümleri 43
3.2.2.2. Konjenital malformasyonlar 44
3.2.2.3. Göz açma skoru 44
3.2.2.4. Negatif Jeotaksi (NJ) Testi 45
3.2.2.5. Izgara Yürüme Testi 45
3.2.3. Davranış Deneyleri 46
3.2.3.1. Sosyal Etkileşim Testleri 47
3.2.3.2. Yeni Nesne Tanıma Testi 49
3.2.3.3. Y-Labirent Testi 50
3.2.3.4. Davranış Testleri İtatistiksel Analiz 52
3.2.4. Elektrofizyolojik Deneyler 52
3.2.4.1. Girdi Çıktı Eğrilerinin (I/O) Elde Edilmesi ve Bazal Kayıt 55
3.2.4.2. Eşleştirilmiş Darbeli Uzun Dönem Baskılanma (Paired-Pulse UDB; PP-UDB) Protokolü 55
3.2.4.3. Antagonist İnfüzyonu 56
3.2.4.4. Elektrofizyoloji verilerin analizi 57
3.2.5. Western Blot Yöntemi ile Protein Analizi 57
3.2.5.1. Western Blot İstatiksel Analiz 58
4. BULGULAR 60
4.1. GELİŞİMSEL PARAMETRE BULGULARI 60
4.1.1. Boy 60
4.1.2. Ağırlık 61
4.1.3. Negatif Jeotaksi Bulguları 62
4.1.4. Göz Açma Skoru Bulguları 64

4.1.5. Izgara Yürüme Testi 65
4.2. DAVRANIŞ DENEYLERİ BULGULARI 66
4.2.1. Sosyal Etkileşim Testi Bulguları 66
4.2.1.1. Sosyal Etkileşim Testi 67
4.2.1.2. Sosyal Tercih Testi 72
4.2.2. Yeni Nesne Tanıma Testi 76
4.2.3. Y-Labirent Testi 78
4.3. ELEKTROFİZYOLOJİ BULGULARI 81
4.3.1. PP-UDB İndüksiyonu Öncsi Elde Edilen Girdi/Çıktı (I/O) Bulguları 81
4.3.2. Sf ve Antagonist İnfüzyonu Yapılarak UDB İndüklenen Kontrol ve VPA Gruplarında Elektrofizyolojik Bulgular 82
4.4. Sf VE ANTAGONİST İNFÜZYONU YAPILARAK UDB İNDÜKLENEN GRUPLARIN HİPOKAMPAL DOKULARINDA PROTEİN EKSPRESYON SEVİYELERİ 90
5. TARTIŞMA 98
5.1. GELİŞİMSEL PARAMETRELERİN DEĞERLENDİRİLMESİ 99
5.2. DAVRANIŞ DENEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ 103
5.3. ELEKTROFİZYOLOJİK BULGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ 107
5.4. PROTEİN ANALİZLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ 110
6. SONUÇ 118
7. KAYNAKLAR 120
EKLER
ÖZGEÇMİŞ

KISALTMALAR VE SİMGELER

4E-BP : Ökaryot çeviri başlatma proteini

AKT : Alfa serin/treonin-protein kinaz

AMPA : α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonik asit

AMPAR : α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonik asit reseptörü

AMPK : 5' adenozin monofosfat ile aktive olan protein kinaz

Ant : Antagonist

Arc : Aktivite düzenleyici hücre iskeleti ile ilgili protein

Atg101 : Otofagozom 101

Atg13 : Otofagozom 13

ATP : Adenozin tri-fosfat

Ca : Kalsiyum

CA1-CA3 : Hipokampüs cornu amnonis bölgesi 1-3

Ca^{2+} : Kalsiyum iyonu

CaMKII : Kalsiyum kalmodulin kinaz 2

cAMP : Siklik adenozin 3’5’ monofosfat

CREB : cAMP yanıt elemanı bağlanma proteini

CTD : C- terminal hücre içi bölge

DAG : Diaçilgliserol

DEPTOR : mTORC1 ve mTORC2 inhibe eden protein

DG : Hipokampüs dentat girus alanı

DHPG : R, S-dihidroksifenilglisin

DMSO : Dimetilsülfoksit

EEG : Elektroensefelogram

elF4E : Ökaryotik başlatma faktörü 4

ERK : Hücre dışı sinyal düzenleyici kinaz

fEPSP : Eksitatör post sinaptik alan

FIP200 : FAK ailesi etkileşim proteini 200kDa

fMRI : Fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme

GABA : Gama-amino bütirik asit

GluA1 : Glutamat AMPA reseptörü A1 altbirimi

GluA2 : Glutamat AMPA reseptörü A2 altbirimi

GPCR : G protein eşlenik reseptör

GRIP1 : Glutamat reseptörü ile ilişkili protein 1

I/O : Girdi/çıktı

IP3 : İnositol-1,4,5-trifosfat

JNJ : (3,4-dihydro-2H-pyrano[2,3-b]quinolin-7-yl)-(cis-4-methoxycyclohexyl)-methanone

KA : Kainat reseptörü

LAMP-2A : Lizozomal membran proteini

LBD : Ligand bağlayıcı bölge

MAGUK : Membranla ilişkili guanilat kinaz

MAPK : Mitojenle aktive edilmiş protein kinaz

Mg^{2+} : Magnezyum iyonu

mGluR : Metabotropik glutamat reseptörleri

mGluR-UDB : mGlu bağımlı uzun dönem baskılanma

MRI : Manyetik rezonans görüntüleme

MTEP : 3-[(2-methyl-1,3-thiazol-4-yl) ethynyl]pyridine

mTOR : Memeli rapamisin hedefi

mTORC1 : Memeli rapamisin hedefi kompleks 1

mTORC2 : Memeli rapamisin hedefi kompleks 2

Na^{+} : Sodyum iyonu

NJ : Negatif jeotaksi testi

NMDA : N-methyl-D-aspartik asit

NMDAR : N-methyl-D-aspartik asit reseptörü

NMDA-UDB : NMDA bağımlı uzun dönem baskılanma

NTD : N-terminal hücre dışı bölge

NTM : Nörotransmitter

OSB : Otizm spektrum bozukluğu

PDZ : C terminaline bağlanan ve protein-protein etkileşimi sağlayan bölge

PI3K : Fosfatidilinozitol-3-kinaz

PICK1 : Protein kinaz C ile etkileşen protein

PIKE : Fosfatidilinozitol-3-kinaz hızlandırıcı protein

PIKK : Fozfatidilinozitol-3-kinaz ile ilişkili kinazlar

PIP2 : Fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfat

PIP3 : Fofatidilinozitol-3,4,5- trifosfat

PKA : Protein kinaz A

PKC : Protein kinaz C

PLCβ : Fosfo lipaz C beta

PN : Doğum sonrası

PP1 : Protein fosfotaz

PP2B : Protein fosfotaz 2B

PP-DFU : Eşleştirilmiş çift darbe ile düşük frekans uyarımı

PP-UDB : Eşleştirilmiş çift darbe ile oluşturulan uzun dönem baskılanma

PRAS40 : Prolinden zengin Akt substratı 40kDa

PS : Popülasyon spike

PSD : Post sinaptik yoğunluk

PSD95 : Postsinaptik yoğunluk 95 proteini

PTEN : Fosfotaz ve tensin homoloğu

RAPTOR : mTORC1 ilişkili düzenleyici protein

RICTOR : mTORC2 ilişkili düzenleyici protein

ROS : Reaktif oksijen türleri

S6K1 : p70 ribozomal S6 Kinaz 1

SF : Serum fizyolojik

TMB : Transmembran bölge

TSC1 : Tüberoskleroz kompleks 1

TSC2 : Tüberoskleroz kompleks 2

UDB : Uzun dönem baskılanma

UDG : Uzun dönem güçlenme

ULK1 : Unc-51 benzeri kinaz 1

VPA : Valproik asit

TABLO LİSTESİ

Tablo 3.1. Kullanılan antibody listesi ve dilüsyon oranları. 40

Tablo 4.1. Grupların zamanla boy değişimi (cm). 61

Tablo 4.2. Grupların zamanla ağırlık değişimi (gr). 62

Tablo 4.4. Negatif jeotaksi testi, platformdan düşme sayısı sonuçları. 63

Tablo 4.5. Kontrol ve VPA grubunda göz açma sonuçları[a]. 65

Tablo 4.6. Izgara yürüme testi sonuçları. 66

Tablo 4.7. Kontrol ve VPA gruplarının koklaşma alanına giriş frekansı ve bekledikleri süre (sn). 68

Tablo 4.8. Kontrol ve VPA gruplarının bölmelere giriş frekansı ve bekledikleri süre (sn). 70

Tablo 4.9. Sosyal etkileşim testinde Kontrol ve VPA gruplarının hız, mesafe ve sosyallik indeksi ortalamaları. 72

Tablo 4.10. Sosyal tercih testi grupların koklaşma alanına girme frekansı ve alanda geçirdikleri süre (sn). 73

Tablo 4.11. Sosyal tercih testinde grupların bölmelere girme frekansı ve bölmelerde geçirdiği süre (sn). 74

Tablo 4.12. Sosyal tercih testi, gruplarının hız, mesafe ve sosyallik indeksi ortalamaları. 76

Tablo 4.13. Grupların koklama alanına giriş frekansı, alanda geçirdiği süre, hız ve kat edilen mesafe ortalamaları. 78

Tablo 4.14. Y-labirent testi yeni kola giriş sayısı, geçirilen süre, alternasyon oranı, maksimum alternasyon sayısı, hız ve kat edilen mesafe ortalamaları. 80

Tablo 4.15. Kontrol ve VPA gruplarında I/O bulguları. 82

Tablo 4.16. Deney gruplarının PP-DFU cevapları. 86

Tablo 4.17. Kontrol grupları ve VPA gruplarının fEPSP eğimi ve PS genliği bulguları. 88

Tablo 4.18. Sf ve Antagonist gruplarının fEPSP eğimi ve PS genliği ortalamaları. 90

Tablo 4.19. PP-UDB indüklenen grupların hipokampal dokularında GluA1 protein ekspresyon seviyeleri. 91

Tablo 4.20. PP-UDB indüksiyonu uygulanan grupların hipokampal dokularında GluA2 protein ekspresyon seviyeleri. 93
Tablo 4.21. PP-UDB indüklenen grupların hipokampal dokularında sinapsin ve p-sinapsin ekspresyon seviyeleri. 95
Tablo 4.22. PP-UDB indüksiyonu uygulanan grupların hipokampal dokularında PSD 95 protein ekspresyon seviyeleri. 97

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. Glutamatın iyonotropik NMDA ve metabotropik mGlu reseptörleri. 7
Şekil 2.2. AMPA ve NMDA reseptörleri. 8
Şekil 2.3. Metabotropik glutamat (mGlu) reseptörlerinin gruplara göre sınıflandırılması ve hücre içi sinyal iletim mekanizmaları.. 10
Şekil 2.4. mGlu reseptörünün yapısal organizasyonu ve glutamat bağlanmasına bağlı konformasyonel değişimi. 11
Şekil 2.5. Presinaptik ve postsinaptik mGluR'in sinaptik iletim ve hücre içi sinyal yolaklarındaki rolleri.. 14
Şekil 2.6. UDG) ve UDB süreçlerinde AMPAR'ların dinamik düzenlenmesi**.** 16
Şekil 2.7. Postsinaptik mGluR1 ve mGluR5'e ait başlıca sinyal iletim yolakları ve NMDA reseptörleri ile etkileşimleri. 17
Şekil 2.8. AMPA reseptörleri ve altüniteleri. 18
Şekil 2.9. PKC'nin GluA2 fosforilasyonu. PKC GluA2'nin C-ucunu (CTD) fosforile eder, GRIP/ABP ile ilişkisini bozar PICK1 ile etkileşimi kolaylaştırır. 19
Şekil 2.10. mTORC1 ve mTORC2 komplekslerinin yapısal bileşenleri ve aşağı akım hedefleri. mTOR kinazı iki farklı multiprotein kompleks oluşturur: mTORC1 ve mTORC2. 21
Şekil 2.11. Spin yapısı ve formları. A) dendrit yapısı, B) dendritik spin formları 24
Şekil 2.12. Gelişimsel süreçte sinaptik budama. 28
Şekil 2.13. Hipokampusun morfolojisi, anatomik lokalizasyonu ve devre organizasyonu. 36
Şekil 2.14. Hipokampüste perforan yolak şeması 37
Şekil 3.1. Deney grupları şeması. 42
Şekil 3.2. Çiftleşme öncesi vajinal yaymada östrus evresinde kornifiye epitel hücreler (40X) (A), Çiftleşme sonrası vajinal yaymada görülen sperm hücreleri (40X) (B). 42

Şekil 3.3. VPA ile otizm modelinin oluşturulması ve takip edilen gelişimsel parametreler. 43
Şekil 3.4. Prenatal VPA maruziyeti olan sıçanlarda görülen kuyruk çarpıklıkları. 44
Şekil 3.5. Prenatal VPA maruziyeti olan sıçanlarda göz açma zamanı belirleme. Kapalı göz (A), yarı açık göz (B) ve tam açık göz (C). 45
Şekil 3.6. Yavrularda negatif jeotaksi testi. 45
Şekil 3.7. Yavrularda ızgara yürüme testinin uygulaması. 46
Şekil 3.8. Gruplarda yapılan davranış testleri. 47
Şekil 3.9. Fizyoloji Ana Bilim Dalında kullanılan sosyal etkileşim test platformu. 47
Şekil 3.10. Sosyal etkileşim testleri deney şeması. 48
Şekil 3.11. Fizyoloji Ana Bilim Dalında kullanılan yeni nesne tanıma platformu ve kayıt alınması. 49
Şekil 3.12. Sıçanlarda yeni nesne tanıma testi şeması. 50
Şekil 3.13. Fizyoloji Ana Bilim Dalında kullanılan Y-labirent test platformu ve kayıt alınması. 50
Şekil 3.14. Y-Labirent testi uygulama şeması. 51
Şekil 3.15. Elektrofizyoloji deney şeması. 52
Şekil 3.16. Kranyumun açılarak Dura materin uzaklaştırılması. 53
Şekil 3.17. Hayvanların stereotasik çatıya yerleştirilmesi ve elektrotların yerleşimi. 54
Şekil 3.18. Tipik bir elektrofizyoloji kaydı fEPSP eğimi (A), PS genliği (B). 55
Şekil 3.19. Elektrofizyoloji deneylerinde uygulanan PP-UDB protokolü. 56
Şekil 3.20. Western Blot deneyi aşamaları. 58
Şekil 4.1. Gruplarının zamanla boy değişimi (cm). Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi. 60
Şekil 4.2. Grupların zamanla ağırlık değişimi (gr). Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi. 61
Şekil 4.3. Negatif jeotaksi dönme latansı sonuçları (sn). Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi. 62

Şekil 4.4. Negatif jeotaksi testi, platformdan düşme sayısı sonuçları. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi. 63
Şekil 4.5. Kontrol ve VPA gruplarının göz açma sonuçları. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi. 64
Şekil 4.6. Izgara yürüme testi sonuçları. VPA grubunun Kontrol grubuna kıyasla daha fazla ayak basma hatası yaptığı bulundu 65
Şekil 4.7. Sosyal etkileşim testi koklaşma alanına giriş sayısı ve geçirilen süre sonuçları.. 67
Şekil 4.8. Sosyal etkileşim testi bölmelere giriş frekansı ve geçirilen süre sonuçları. 69
Şekil 4.9. Sosyal etkileşim testi hız, katedilen mesafe ve sosyallik indeksi sonuçları. 71
Şekil 4.10. Sosyal tercih testi koklaşma alanına giriş sayısı ve alanda geçirilen süre 72
Şekil 4.11. Sosyal tercih testinde bölmelere giriş sayısı ve geçirilen süre sonuçları. 73
Şekil 4.12. Sosyal tercih testi hız, katedilen mesafe ve sosyallik indeksi sonuçları. 75
Şekil 4.13. Yeni nesne tanıma testi sonuçları. 77
Şekil 4.14. Y-labirent testi sonuçları. 79
Şekil 4.15. Kontrol ve VPA gruplarında I/O bulguları. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi. 81
Şekil 4.16. Kontrol ve VPA gruplarında mGluR1/5 antagonist infüzyonunun fEPSP eğimine etkisi. 83
Şekil 4.17. Kontrol ve VPA gruplarında mGluR1/5 antagonist infüzyonunun PS genliği. üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi. 83
Şekil 4.18. PP-UDB indüklenen gruplarda fEPSP cevapları (bazal değer %100 alınarak bazale göre kıyaslanmıştır) 84
Şekil 4.19. PP-UDB indüklenen gruplarda PS genliği cevapları (bazal değer %100 alınarak, bazale kıyaslanmıştır), ... 85

Şekil 4.20. Kontrol grupları ve VPA gruplarının fEPSP eğimi ve PS genliği bulguları. 87
Şekil 4.21. Sf ve Antagonist gruplarının fEPSP eğimi ve PS genliği bulguları. 89
Şekil 4.22. PP-UDB indüklenen grupların hipokampal dokularında GluA1 protein ekspresyon seviyleri. 90
Şekil 4.23. PP-UDB indüksiyonu uygulanan grupların hipokampal dokularında GluA2 protein ekspresyon seviyeleri. 92
Şekil 4.24. PP-UDB indüklenen grupların hipokampal dokularında sinapsin ve p-sinapsin ekspresyon seviyeleri. 94
Şekil 4.25. PP-UDB indüksiyonu uygulanan grupların hipokampal dokularında PSD 95 protein ekspresyon seviyeleri. 96
Şekil 4.26. PP-UDB indüksiyonu uygulanan grupların hipokampal dokularından elde edilen proteinlere ait membran bant görüntüleri. 97

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Nöroplastisite, beyinde sinaptik bağlantıların yeniden düzenlenmesi yoluyla değişme yeteneğini ifade eder ve öğrenme, bellek ile çevresel uyaranlara uyum için temel bir mekanizmadır. Farklı beyin bölgeleri, örneğin korteks, serebellum ve hipokampüs birbirinden farklı plastisite formları gösterebilir. Nöroplastisite iki ana kategoriye ayrılır: yapısal plastisite ve sinaptik plastisite. Sinaptik plastisite, sinaptik proteinler ve reseptörler aracılığıyla sinaptik iletinin gücünü veya verimliliğini değiştirirken; yapısal plastisite dendritik diken yoğunluğu, ile dendrit ve akson morfolojisinde kalıcı değişiklikleri kapsar. Sinaptik plastisite ile başlayan süreç, yapısal plastisite ile devam ederek sinaptik spinlerin büyümesi, küçülmesi veya silinmesi gibi yeniden yapılanmaları içerir (Weerasinghe-Mudiyanselage ve ark., 2022). Aktiviteye bağlı bu sinaptik değişiklikler öğrenmenin temelini oluşturur ve iki ana form altında incelenir: Uzun Dönem Güçlenme (UDG) ve Uzun Dönem Baskılanma (UDB) (Gladding ve ark., 2009).

UDB, merkezi sinir sisteminin eksitatör nörotransmitteri glutamat aracılığıyla indüklenebilir ve bu süreç iyonotropik N-methyl–D-aspartat (NMDA) reseptörleri veya Grup I metabotropik glutamat reseptörleri (mGluR) üzerinden gerçekleşir. Her ne kadar bu plastisite mekanizmaları birbirinden bağımsız olsa da, aynı sinaps üzerinde bir arada bulunabilir ve birbirini tamamlayabilir (Valdivia ve ark., 2023). UDB, hem kimyasal hem de elektrofizyolojik protokollerle tetiklenebilir (Bellone ve ark., 2008).

mGlu reseptörleri G-protein bağlı reseptörlerdir ve üç gruba ayrılır. Grup I mGluR (mGluR1 ve mGluR5), postsinaptik membranda Gq proteini aracılığıyla fosfolipaz C'yi aktive ederek IP3 ve DAG oluşumunu sağlar. Grup II (mGluR2–3) ve Grup III

(mGluR4,6,7,8) reseptörleri ise Gi aracılığıyla adenilat siklazı inhibe ederek presinaptik nörotransmitter salınımını düzenler (Bellone ve ark., 2008; Page ve ark., 2006). Grup I mGluR aktivasyonu, PKC bağımlı sinyal yollarını tetikler ve hipokampüs CA1 ile serebellar Purkinje hücrelerinde mGluR-UDB için kritik rol oynar (Bellone ve ark., 2008). Ayrıca mGluR1/5, MAPK–ERK ve PI3K–Akt–mTOR yolaklarını aktive ederek translasyonla ilişkili mekanizmaları başlatır. UDB'nin temel özelliklerinden biri, AMPA reseptörlerinin sinaptik yüzeyden endositozudur (Bhattacharyya, 2016; Cheyne ve Montgomery, 2008). Bu süreçte PI3K–Akt–mTOR sinyal yolu aktive olur ve 4E-BP, S6K1, PSD-95, Arc ve Homer gibi plastisite ile ilişkili proteinlerin sentezi artar (Antion ve ark., 2008; Auerbach ve ark., 2011; Brazil ve Hemmings, 2001; Hou ve Klann, 2004; Lüscher ve Huber, 2010). Arc proteininin ise AMPA reseptör internalizasyonu ve eksitatör sinaps eliminasyonunda kritik rol oynadığı gösterilmiştir (Mikuni ve ark., 2013; Waung ve ark., 2008; Wilkerson ve ark., 2014).

Otizm spektrum bozukluğu (OSB)'nda hem sinaptik hem de yapısal plastisitenin bozulduğu bilinmektedir. mGluR-UDB mekanizmasının bozulduğu modellerde serebellumda sinaptik spin eliminasyonunun bozulduğu gösterilmiştir (Phillips ve Pozzo-Miller, 2015). mGluR1/5 antagonizmasının OSB ile ilişkili sinaptik ve davranışsal fenotipleri azalttığı rapor edilmiştir (Kleijer ve ark., 2014; Su ve ark., 2022), ancak altta yatan mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır.

Valproik asit (VPA), kısa zincirli bir yağ asidi olup yaygın olarak kullanılan bir antiepileptik ajandır. Gebelik döneminde VPA'ya maruziyetin, nöral tüp defektleri, gelişimsel gecikmeler, bilişsel bozukluklar ve artmış otizm riski ile güçlü biçimde ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle VPA, hem klinik hem de deneysel çalışmalarda nörogelişimsel bozuklukların modellenmesinde sıklıkla tercih edilmektedir. Prenatal VPA maruziyeti ile oluşturulan kemirgen modellerinde; azalmış sosyal etkileşim, tekrarlayıcı davranışlar, artmış anksiyete ve öğrenme-bellek bozuklukları gibi OSB-benzeri davranış fenotipleri tutarlı biçimde gözlenmiştir. Ayrıca bu modellere Purkinje hücre kaybı ile birlikte serebellar ve kortikal yapısal bozukluklar gibi belirgin nöroanatomik değişiklikler eşlik etmektedir.

Bu çalışmada, prenatal dönemde intraperitoneal VPA uygulanarak oluşturulan otizm modeli sıçanlarda, hipokampal plastisite kapsamında Grup I mGluR (mGluR1/5) reseptörlerinin Uzun Dönem Baskılanma (UDB) sürecindeki rolü elektrofizyolojik olarak incelenmiştir. Ayrıca, VPA'ya maruz kalan hayvanlarda mGluR1/5 antagonistleri (MTEP ve JNJ) uygulanarak UDB yanıtındaki değişiklikler değerlendirilmiştir. Bunun yanı sıra, OSB ile ilişkili sinaptik ve yapısal plastisite değişiklikleri moleküler düzeyde analiz edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. PLASTİSİTE

Plastisite terimi, Yunanca *"plastikos"* sözcüğünden türetilmiş olup "şekillendirilebilirlik, kalıplanabilirlik ve yeniden biçimlenebilirlik" anlamına gelmektedir. Nörobilim bağlamında plastisite, beynin çevresel girdiler, deneyimler veya içsel fizyolojik süreçler sonucunda yapısal ve işlevsel olarak değişebilme kapasitesini ifade eder (Şahin, 2023; Weerasinghe-Mudiyanselage ve ark., 2022). Uzun yıllar boyunca yetişkin beyin dokusunun sabit olduğu, gelişimsel dönem sonrasında yeni bağlantı oluşmadığı varsayılmıştır. Ancak 20. yüzyılın ikinci yarısından itibaren gerçekleştirilen deneysel çalışmalar, merkezi sinir sisteminde yaşam boyu devam eden değişikliklerin varlığını ve nöral devrelerin yeniden yapılanma kabiliyetini açık biçimde ortaya koymuştur (Leuner ve Gould, 2010). Bu yeniden yapılanma yeteneği, öğrenme ve bellek gibi yüksek kognitif süreçlerin nörobiyolojik temelini oluşturmaktadır.

Plastisite genel olarak iki ana başlık altında ele alınmaktadır: sinaptik plastisite ve yapısal plastisite. Sinaptik plastisite, nöronlar arasındaki sinaptik iletimin gücünde meydana gelen kısa veya uzun süreli değişiklikleri (Magee ve Grienberger, 2020); yapısal plastisite ise dendritik dallanma, aksonal uzama, dendritik diken (spin) dinamikleri ve nörogenez gibi daha makroskobik hücresel yapılanmaları kapsamaktadır (Rampon ve Tsien, 2000). Her iki plastisite türü de çevresel deneyimler ile nöronal fonksiyon arasındaki ilişkinin sürdürülmesinde kritik öneme sahiptir.

2.2. SİNAPTİK PLASTİSİTE

İlk olarak 1970'lerin başında yapılan deneylerde, presinaptik ve postsinaptik nöronların eş zamanlı tekrarlayan aktivasyonunun yalnızca uyarılan sinaptik girişlerde iletim gücünü artırdığı gösterilmiş ve bu olgu uzun dönem güçlenme (UDG) olarak adlandırılmıştır. Daha sonra hipokampusta UDG'nin tersi yönde çalışan, sinaptik etkinliğin uzun süreli zayıflamasıyla karakterize uzun dönem baskılanma (UDB) mekanizması da tanımlanmıştır (Ito ve ark., 1982; Magee ve Grienberger, 2020).

Sinaptik plastisite homosinaptik veya heterosinaptik şekilde ortaya çıkabilir. Homosinaptik plastisite, bir sinapstaki presinaptik-postsinaptik aktivitenin kendi bağlantı gücünde değişime yol açmasıdır; heterosinaptik plastisite ise başka sinaptik yolların aktivitesine bağlı olarak sinaptik gücün modüle edilmesidir (Milner ve ark., 1998; Turrigiano, 2012). Bu iki süreç mekanizma düzeyinde aynı sonuca ulaşsa da altta yatan moleküler düzenekler farklılık gösterir.

Sinaptik plastisite çeşitli yollarla gerçekleşebilir:

- Yeni sinaptik bağlantıların oluşması veya mevcut bağlantıların elimine edilmesi,
- Var olan sinapslarda iletim etkinliğinin modülasyonu,
- Sinaptik membranların uyarılabilirliğinde değişiklik.

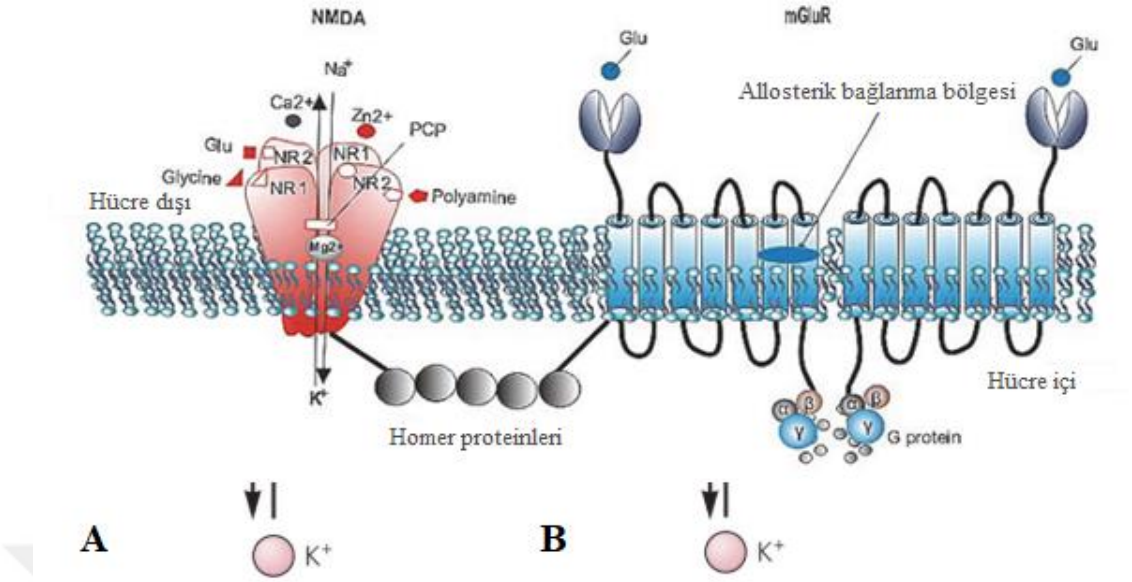
Bu değişiklikler hem presinaptik hem de postsinaptik bileşenleri içerir. Presinaptik uçta nörotransmitter salınım olasılığının, vezikül füzyon etkinliğinin veya nöromodülatör girdilerin değişmesi sinaptik gücü etkileyebilir. Postsinaptik uçta ise özellikle glutamaterjik reseptör trafiği kritik öneme sahiptir; örneğin α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonik asit (AMPA) ve N-methyl-D-aspartatik asit (NMDA) reseptörlerinin membrana eklenmesi, içselleştirilmesi veya postsinaptik yoğunlukta (PSD) yeniden düzenlenmesi plastisite sonucunu belirler. Bunun yanında kalsiyuma bağlı sinyal yolaklarının aktivasyonu yeni protein sentezini tetikleyerek dendritik spin morfolojisini değiştirir (Blanpied ve ark., 2008); bu durum kalıcı yapısal plastisite ile sonuçlanır.

Sinaptik plastisite nöronal fonksiyon açısından iki ana formda incelenir: UDG ve UDB. UDG tekrarlı ya da yüksek frekanslı uyarılarla sinaptik iletim gücünün artışıyla sonuçlanırken, UDB düşük frekanslı uyarılarla sinaptik etkinliğin azaltılmasıyla karakterizedir (Ahnaou ve ark., 2020). Sinapslar statik yapılar olmayıp çevresel girdilere duyarlı dinamik yapılardır. Deneyime bağlı değişiklikler, UDG/UDB dengesine bağlı olarak uzun süreli biçimde stabilize olabilir (Kemp ve Manahan-Vaughan, 2004; Şahin, 2023). Bu nedenle sinaptik plastisite öğrenme, bellek kodlama ve adaptif davranış süreçlerinin merkezinde yer alır.

2.2.1. Uzun Dönem Güçlenme (UDG)

Hipokampusta tekrarlı ve kısa süreli yüksek frekanslı elektriksel uyarılar, postsinaptik yanıtların kalıcı olarak artmasına yol açmakta ve bu UDG olarak tanımlanmaktadır. Bir sinaptik uyaranın UDG oluşturması için eksitatör özellikte olması ve yeterli frekansta tekrarlanması gerekmektedir (Ağar, 2021). UDG'nin temel nörotransmitteri glutamat olup bu süreç iyonotropik NMDA, AMPA, Kainat (KA) ve metabotropik glutamat reseptörleri (mGluR) üzerinden yürütülmektedir (Şekil 2.1).

UDG, NMDA reseptörü (NMDAR) -bağımlı veya mGluR-bağımlı mekanizmalar aracılığıyla indüklenebilir. NMDAR-bağımlı UDG'de yüksek frekanslı uyarım, postsinaptik membranda güçlü bir depolarizasyona yol açarak NMDA reseptörleri üzerindeki magnezyum (Mg^{+2}) blokajının kalkmasını ve kalsiyum (Ca^{+2}) girişinin artmasını sağlar. İçeri giren Ca^{+2}, kalsiyum kalmodulin kinaz II (CaMKII) ve protein kinaz C (PKC) gibi kalsiyum-duyarlı kinazları aktive ederek AMPA reseptörlerinin (AMPAR) postsinaptik membrana eklenmesini, reseptör iletim etkinliğinin artmasını ve sonuç olarak sinaptik güçlenmenin kalıcı hale gelmesini sağlar (Magee ve Grienberger, 2020). Bu yolla UDG yalnızca iletim gücünü değil, aynı zamanda dendritik spin yapısını da modüle ederek öğrenme ve hafızanın nöronal temelini oluşturur (Coley ve Gao, 2018).



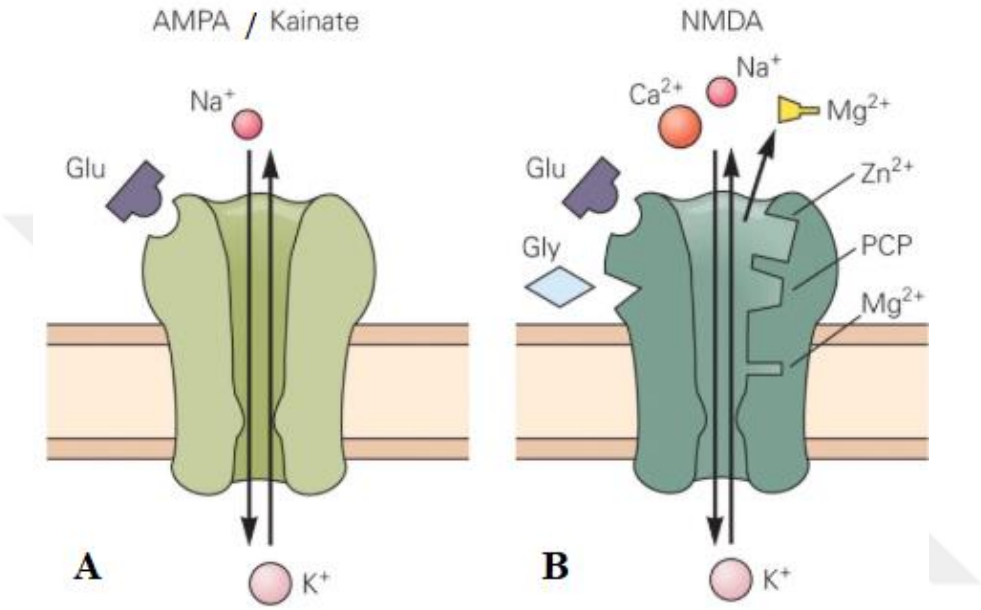
Şekil 2.1. Glutamatın iyonotropik NMDA ve metabotropik mGlu reseptörleri. A) NMDA'nın dört alt birimi (NR1–NR2) ve bunların bağlanma bölgeleri, B) mGlu reseptörünün iki özdeş parçasından oluşan mGlu homodimeri sağda gösterilmiştir. Reseptörü aktive etmek için iki ortosterik bağlanma bölgesinin bir liganda bağlanması gerekir. Yedi transmembran bölge içerisinde bir allosterik bağlanma bölgesi mevcuttur. Buna karşılık, metabotropik reseptörler ikinci haberci sistemlerine bağlıdır ve MSS'de daha çok modülatör bir rol üstlenirler.

2.2.2. Uzun Dönem Baskılanma (UDB)

Sinaptik plastisitenin bir diğer formu da sinaptik gücün uzun dönem azalması anlamına gelen UDB'dir. UDB, postsinaptik akım amplitüdünde veya uyarıcı postsinaptik potansiyel/uyarıcı postsinaptik akım (EPSP/EPSC) büyüklüğünde uzun süreli azalma ile karakterizedir. Farklı beyin bölgelerinde UDB, farklı uyarı protokolleri (düşük frekanslı uyarım, eş zamanlı presinaptik-postsinaptik eşleşme, farmakolojik aktivasyon vb.) ile indüklenebilmektedir ve her bir UDB tipi kendine özgü moleküler mekanizmalar tarafından düzenlenir. UDG'de olduğu gibi UDB'de de glutamatın NMDA, AMPA, KA ve mGlu reseptörleri rol oynar (Collingridge ve ark., 2010). UDB NMDAR-bağımlı veya mGluR-bağımlı yollar üzerinden ortaya çıkabilir. Her iki mekanizmada da nihai çıktı postsinaptik AMPAR seviyelerinin azalmasıdır; ancak Ca^{2+} dinamikleri, sinyal ağları ve translasyonel gereksinimler bakımından farklılaşırlar.

2.2.2.1. *NMDAR* Bağımlı UDB

Glutamat merkezi sinir sisteminde en yaygın uyarıcı nörotransmitterdir ve hem iyonotropik (NMDA, AMPA, KA) hem de metabotropik reseptörleri aracılığıyla sinyal iletir. İyonotropik reseptörler ligand kapılı iyon kanallarıdır ve hızlı sinaptik iletimde görev alırlar (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. AMPA ve NMDA reseptörleri. A) AMPA/kainat reseptörleri glutamat bağlanmasıyla aktive olur ve başlıca Na^+ girişine, K^+ çıkışına aracılık eder. B) NMDA reseptörleri glutamat ve glisin ko-agonist bağlanmasıyla aktive olur; Ca^{2+} ve Na^+ geçirgendir ve voltaja bağlı Mg^{2+} blokajı gösterir. NMDA reseptörü ayrıca Zn^{2+} ve PCP için modülatör bağlanma bölgeleri içerir (Medical Neuroscience, Neurophysiology).

Presinaptik uçtan salınan glutamat, postsinaptik NMDA reseptörlerine bağlanarak Na^+ girişi sağlar ve membranı depolarize eder. Depolarizasyon NMDA reseptörlerinin üzerindeki voltaj bağımlı Mg^{+2} blokajının kalkmasına yol açar, böylece NMDAR kanalı Na^+ ve özellikle Ca^{+2} iyonlarına geçirgen hale gelir (Şahin, 2023). Sinaptik plastisitenin yönü, NMDAR aracılı Ca^{2+} girişinin şiddeti ve zamanlaması ile belirlenir (Yashiro ve Philpot, 2008).

Yüksek Ca^{+2} amplitüdleri CaMKII, PKC ve tirozin kinazları aktive ederek UDG'ye neden olurken daha düşük düzeyde ve daha uzun süreli Ca^{2+} girişleri kalsinörin ve Protein fosfotaz-1 (PP1) gibi fosfatazları aktive ederek UDB'nin moleküler temelini

oluşturur. Bu nedenle uyarım frekansı belirleyicidir: UDG için yüksek frekanslı, UDB için düşük frekanslı uyarım gerekmektedir (Ağar, 2021).

Düşük frekanslı uyarımda NMDAR kısmen açılır, daha sınırlı Ca^{2+} girişi olur ve bu Ca^{2+} seviyesi kinaz eşik değerinin altındadır ancak fosfatazları aktive etmek için yeterlidir. Ca^{2+}/kalmodulin kompleksi kalsinörini aktive eder, kalsinörin is e PP1'i serbest bırakarak AMPAR altbirimlerinin (özellikle GluA1 Ser-845/Ser-831 bölgelerinin) defosforilasyonuna yol açar. Bu defosforilasyon, AMPAR iletkenliğini azaltır ve klatrin-aracılı endositozu kolaylaştırarak AMPAR'ların postsinaptik yüzeyden uzaklaşmasına neden olur. Böylece sinaptik yanıt amplitüdü kalıcı olarak azalır (Diering ve Huganir, 2018).

Bu mekanizma UDB'in hızlı ve translasyon bağımsız formlarını tanımlar; bazı beyin bölgelerinde (örn. yetişkin hipokampus CA1) presinaptik glutamat salınımının da azalabildiği gösterilmiştir ancak postsinaptik AMPAR kaybı temel belirleyicidir.

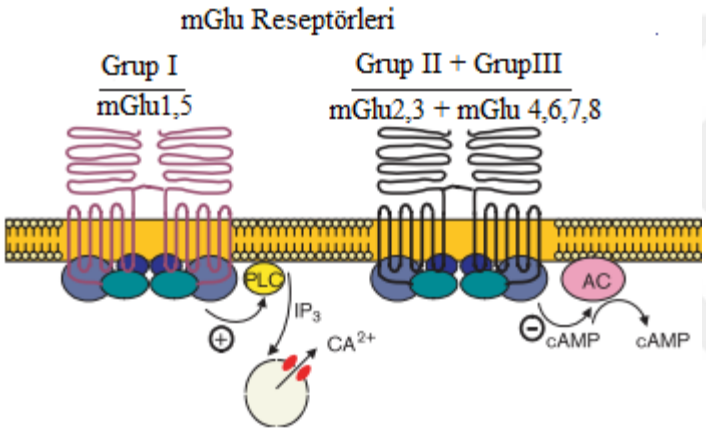
2.2.2.2. *mGluR* Bağımlı UDB

mGluR bağımlı UDB, glutamatın Grup I mGluR (özellikle mGluR1 ve mGluR5) üzerinden postsinaptik sinyal yolaklarını aktive etmesiyle indüklenen, NMDA reseptörlerinden bağımsız bir sinaptik plastisite formudur. Bu plastisite türü, PLC aktivasyonu, hücre içi Ca^{2+} salınımı ve PKC başta olmak üzere PI3K–Akt–mTOR ve MAPK–ERK yolaklarının aktivasyonunu içerir. mGluR bağımlı UDB'nin temel mekanizması, yeni protein sentezine bağlı olarak AMPA reseptörlerinin postsinaptik membrandan internalizasyonu ve sinaptik iletinin kalıcı olarak zayıflatılmasıdır. Bu süreç, özellikle hipokampüs ve serebellum gibi öğrenme ve motor koordinasyonla ilişkili beyin bölgelerinde sinaptik ölçeklenme ve devre olgunlaşması açısından kritik bir rol oynamaktadır (Bellone ve ark., 2008; Lüscher ve Huber, 2010). İyonotropik reseptörler hızlı sinaptik iletimi sağlarken, mGlu reseptörleri daha modülatör bir rol üstlenir. Sinaptik zayıflamayı, nöronal uyarılabilirliği ve plastisite eşiğini ayarlar (Chaki ve Fukumoto, 2018)

2.2.3. mGlu Reseptörleri

mGlu reseptörleri G-protein bağlı reseptör (GPCR) ailesine ait olup glutamat aracılı yavaş sinaptik modülasyonda rol oynarlar. Sekiz farklı mGluR tanımlanmıştır ve 3 gruba ayrılır:

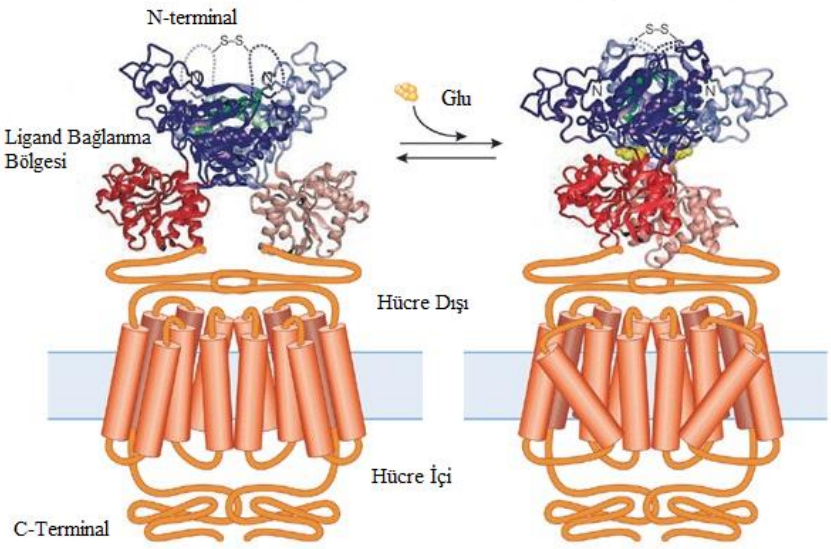
- Grup I: mGlu1, mGlu5
- Grup II: mGlu2, mGlu3
- GrupIII: mGlu4, mGlu6, mGlu7, mGlu8 (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Metabotropik glutamat (mGlu) reseptörlerinin gruplara göre sınıflandırılması ve hücre içi sinyal iletim mekanizmaları. Grup I mGlu reseptörleri (mGlu1 ve mGlu5) Gq/11 proteinleri ile eşleşerek fosfolipaz C (PLC) aktivasyonuna yol açar; inositol 1,4,5-trifosfat (IP_3) üretimi ve hücre içi Ca^{2+} salınımını artırır. Grup II (mGlu2, mGlu3) ve Grup III (mGlu4, mGlu6, mGlu7, mGlu8) reseptörleri ise Gi/o proteinleri ile eşleşerek adenilat siklazı (AC) inhibe eder ve hücre içi cAMP düzeylerini azaltır. Bu farklı sinyal yolları, sinaptik iletimin ve plastisitenin düzenlenmesinde özgül roller üstlenir. (Spooren ve ark., 2003).

Grup I mGluR'ler Gq proteinleri üzerinden PLCβ yolunu aktive eder ve hücre içi Ca^{2+} salınımı ile uyarıcı etki gösterir. Grup II ve III reseptörler ise Gi/o proteinleri üzerinden adenilat siklaz inhibisyonu yaparak cAMP düzeylerini azaltır ve çoğunlukla inhibitör etki oluşturur (Bellone ve ark., 2008). Hipokampal nöronlarda Grup II–III mGluR'ler, presinaptik Gi/o–cAMP–PKA yolunu baskılayarak presinaptik nöronda Ca^{2+} girişini ve vezikül salım olasılığını azaltır; böylece eksitatör sinaptik iletim zorlaşır.

mGluR'i hücre zarını 7 kez kat eden GPCR'lerdir. N-terminal bölümü glutamat bağlanma bölgesi iken C-terminal bölge G-protein eşleşmesini sağlar (Niswender ve Conn, 2010). Bu yapı, mGluR'ni hem membran potansiyel değişikliklerine hem de hücre içi sinyal ağlarına bağlayan kritik bir ara yüz haline getirir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. mGlu reseptörünün yapısal organizasyonu ve glutamat bağlanmasına bağlı konformasyonel değişimi. Reseptörün hücre dışı N-terminal bölgesinde yer alan ligand bağlanma bölgesi, glutamat bağlanması ile açık konformasyondan kapalı konformasyona geçiş yapar. Bu yapısal değişim, disülfit bağları (S–S) ile stabilize edilen dimerik yapı üzerinden yedi transmembran heliks içeren bölgeye iletilir ve hücre içi C-terminal domen aracılığıyla G proteinlerine sinyal aktarımını başlatır. Reseptörün membran-spanning bölgesi hücre dışı ve hücre içi kompartmanları birbirinden ayırmaktadır (Moepps ve Fagni, 2003).

2.2.4. mGluR'nin Bulunduğu Yerler

mGluR'i sinir sisteminde oldukça geniş bir dağılım gösterir ve hem sinaptik hem de ekstrasinaptik konumlarda bulunabilir. Reseptörün lokalizasyonu, bağlandığı G-protein tipi ile birlikte, gerçekleştirdiği fonksiyonu belirlemede kritik öneme sahiptir. Genel çerçevede:

Grup I mGluR'leri (mGlu1/5) başlıca postsinaptik membranda lokalizedir (Luján ve ark., 1997). Bu reseptörler dendritik dikenlerde NMDAR ve AMPAR'ların yakınında bulunarak sinaptik girdilerin bütünleştirilmesinde rol oynarlar (Lüscher ve Huber, 2010). Hem postsinaptik yoğunluk bölgelerinde hem de perisinaptik alanlarda yer aldıkları için yüksek glutamat yoğunluğuna değil, sinaptik aktiviteye bağlı glutamat

birikimine daha duyarlıdırlar. Aktivasyonları hücre içi Ca^{2+} artışı, membran depolarizasyonu, iyon kanallarının modülasyonu ve nöronal uyarılabilirliğin artışı ile sonuçlanır (Cheyne ve Montgomery, 2008).

Grup II (mGlu2/3) ve Grup III (mGlu4/6/8) mGluR'ler ise çoğunlukla presinaptik terminalde lokalizedir. Bu reseptörler voltaj kapılı Ca^{2+} kanallarını inhibe ederek veya adenilat siklaz-cAMP yolağını baskılayarak glutamat salınımını azaltır. Böylece özellikle yüksek sinaptik aktivite dönemlerinde negatif geri besleme görevi görürler. Grup II ve III reseptörlerin presinaptik konumu hem glutamaterjik sinapslarda hem de GABAerjik terminallerde nörotransmitter salınım kontrolünü mümkün kılar (Nakanishi, 1994).

mGluR ekspresyonu sadece sinaps düzeyiyle sınırlı olmayıp astroglia**,** mikroglia ve oligodendrositler (McMullan ve ark., 2012) gibi glial hücrelerde de tanımlanmıştır. Bu reseptörler glia tarafından glutamat alımı, inflamasyon yanıtı ve metabolik destek gibi süreçlerin düzenlenmesine katkı sağlar. Örneğin mGluR3'ün astrositlerde yüksek oranda bulunması, glutamat geri alımı ve nöroproteksiyon ile ilişkilendirilmiştir (Planas-Fontánez ve ark., 2020).

Beyin bölgeleri açısından değerlendirildiğinde mGluR ifadeleri oldukça heterojendir. Hipokampus, serebellum, neokorteks, bazal gangliyonlar ve talamus gibi bölgelerde farklı alt tiplerin seçici dağılımı rapor edilmiştir (Lüscher ve Huber, 2010). Örneğin mGluR1 Purkinje hücre dendritlerinde yoğunlaşırken, mGluR5 hipokampal CA1 ve striatal nöronlarda belirgin düzeyde eksprese edilir. Buna karşılık Grup II ve III reseptörler özellikle presinaptik olarak hipokampal yosunsu lif sinapsları, kortikostriatal terminaller, talamokortikal bağlantılar ve subkortikal bölgelerde daha baskın bulunur (Niswender ve Conn, 2010).

Bu genel çerçeve geçerli olmakla birlikte, reseptör alt tiplerine, gelişim dönemine, hücre tipine ve beyin bölgesine göre istisnalar tanımlanmıştır; dolayısıyla sınıflama kesin değildir.

2.2.5. mGlu Reseptörleri Etki Mekanizması

Grup I mGluR'lerin glutamatla aktivasyonu, Gq/11 proteinine bağlı olarakFosfolipaz C (PLCβ)'nin aktivasyonuna yol açar. PLCβ, membran fosfolipidi olan fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfat (PIP2)'i iki önemli ikinci haberciye ayırır: inositol-1,4,5-trifosfat (IP3) ve diaçilgliserol (DAG). IP3, endoplazmik retikulumda bulunan IP3 reseptörlerine bağlanarak hücre içi depolardan Ca^{2+} salınımını tetikler. DAG ise hücre membranında PKC aktivasyonuna aracılık eder (Asrar ve Jia, 2013). PKC'nin özellikle hipokampüs CA1 ve serebellar purkinje hücrelerinde mGluR-bağımlı UDB süreçlerinde kritik rol oynadığı gösterilmiştir (Bellone ve ark., 2008; Chung ve Kim, 2017).

Ca^{2+} sinyali ve PKC aktivasyonu postsinaptik hücrelerde birden fazla hedef protein üzerinde fosforilasyon değişikliklerine yol açarak AMPAR internalizasyonu, sinaptik iletinin zayıflaması ve yapısal modifikasyon gibi süreçlerin başlamasını sağlar (Lüscher ve Huber, 2010). Grup I mGluR aktivasyonu ile ortaya çıkan Ca^{2+} artışı aynı zamanda Ca^{2+}/kalmodulin bağımlı protein kinaz (CaMK) ailesi ve kalpain gibi proteazları da uyararak plastisiteyle ilişkili proteolitik ve translasyonel süreçlere katkı sunar (Gladding ve ark., 2009).

Grup I mGluR'ler ayrıca PLC'den bağımsız daha uzun süreli sinaptik değişikliklerin temelini oluşturan iki ana hücre içi sinyal yolunu aktive eder:

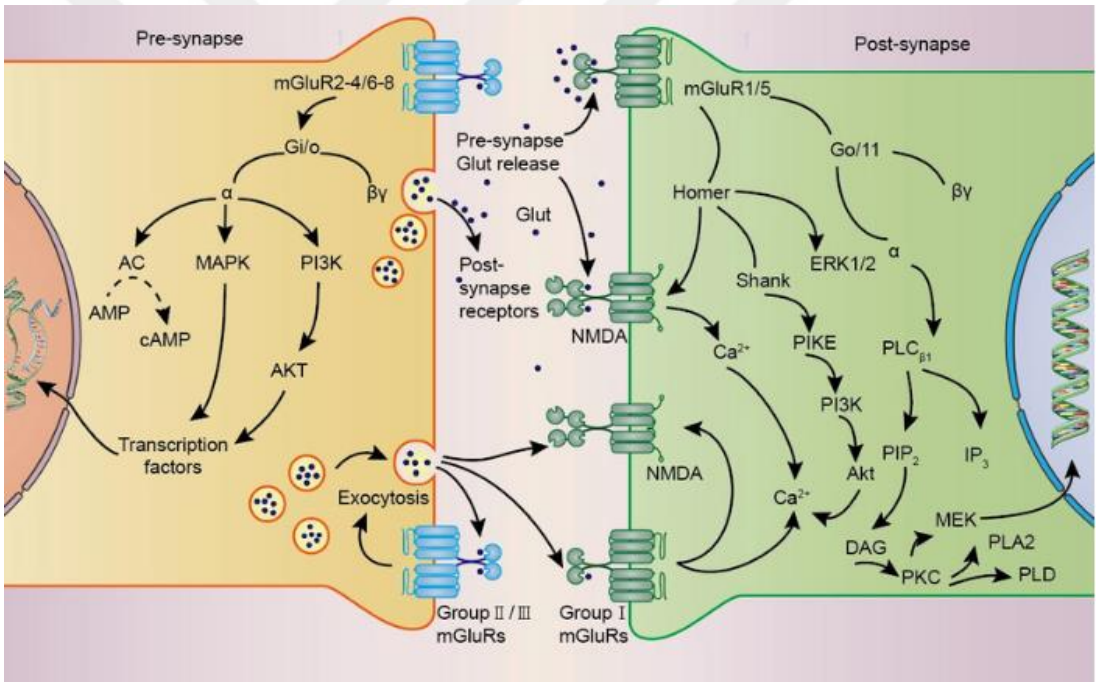
1. MAPK–ERK sinyal yolu
2. PI3K–Akt–mTOR sinyal yolu

MAPK–ERK yolu, Ras veya Rap1 üzerinden aktive olup MEK1/2 → ERK1/2 fosforilasyon basamaklarını takip eder. ERK1/2 aktivasyonu, nükleer transkripsiyon faktörleri (örn. Elk-1, CREB) ve postsinaptik proteinlerin fosforilasyonu aracılığıyla protein sentezi, dendritik diken morfolojisi ve AMPAR trafiği üzerinde düzenleyici etki gösterir (Thomas ve ark., 2023).

PI3K–Akt–mTOR yolu, Grup I mGluR'lere bağlı translasyonel kontrolün kritik bileşenidir. PI3K aktivasyonu fosfatidilinozitol (3,4,5)-trisfosfat (PIP3) üretimine,

bunun sonucunda Akt ve ardından mTOR kompleks 1 (mTORC1) aktivasyonuna yol açar. mTORC1, protein translasyonunun başlamasında rol alan 4E bağlayıcı protein (4EBP) ve ribozomal S6 kinaz (S6K) gibi efektörleri fosforile ederek sinaptik plastisiteyle ilişkili proteinlerin lokal dendritik translasyonunu destekler (Dayas ve ark., 2012). Özellikle mGluR-bağımlı UDB'de yeni protein sentezinin gerekli olduğu hipokampus ve serebellum çalışmalarında gösterilmiştir (Niswender ve Conn, 2010).

Bu iki yolak sinaptik plastisiteyi yalnızca başlatmakla kalmaz, oluşan değişikliklerin sürdürülebilir ve kalıcı olmasını sağlar. Bu durum özellikle dendritik translasyon, AMPAR internalizasyonu, dendritik diken morfolojisi ve sinaps proteinlerinin düzenlenmesi gibi UDB ile ilişkili süreçler için temel biyokimyasal alt yapı oluşturur (Cheyne ve Montgomery, 2008).



Şekil 2.5. Presinaptik ve postsinaptik mGluR'in sinaptik iletim ve hücre içi sinyal yolaklarındaki rolleri. Presinaptik bölgede Grup II/III mGluR'ler (mGluR2/4/6/8) Gi/o proteinleri ile eşleşerek adenilat siklazı (AC) inhibe eder, cAMP düzeylerini azaltır ve MAPK ile PI3K/Akt yolakları üzerinden nörotransmitter salınımını modüle eder. Postsinaptik bölgede Grup I mGluR'ler (mGluR1/5) Gq/11 aracılığıyla PLCβ aktivasyonunu başlatır; PIP_2'nin IP_3 ve DAG'a hidrolizi sonucunda hücre içi Ca^{2+} artışı ve PKC aktivasyonu gerçekleşir. Ayrıca ERK1/2, PI3K/Akt ve diğer aşağı akım sinyal yolakları Homer ve Shank gibi iskele proteinleri aracılığıyla düzenlenir. Bu mekanizmalar NMDA reseptörleri ile etkileşim içinde sinaptik plastisite süreçlerinin kontrolüne katkı sağlar (Huang ve ark., 2024).

2.2.6. mGluR Bağımlı UDB Mekanizması

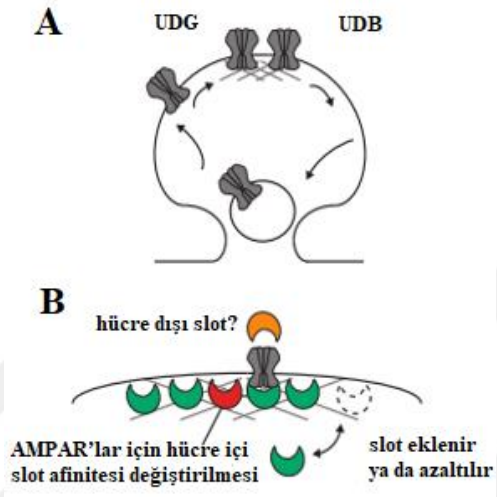
mGluR-bağımlı uzun dönem baskılanma (mGluR-UDB), ilk olarak serebellumda granül hücresi–paralel lif sinapslarında, Purkinje hücrelerinde tanımlanmış, daha sonraki çalışmalarla hipokampus, neokorteks, dorsal ve ventral striatum ile omurilik gibi farklı beyin bölgelerinde de gösterilmiştir (Bellone ve ark., 2008; Gladding ve ark., 2009). Bu nedenle mGluR1/5 tarafından indüklenen UDB, postsinaptik glutamerjik plastisitenin en iyi tanımlanmış modellerinden biri olarak kabul edilmektedir.

mGluR'i sinaptik plastisiteyi yalnızca membran reseptör dinamiklerini değiştirerek değil, aynı zamanda lokal protein sentezini modüle ederek de düzenler. mGluR1/5 aktivasyonu, translasyonun hem başlatılma (initiation) hem de uzama (elongation) basamaklarını etkileyen bir dizi hücre içi sinyal yolunu tetikler. Translasyonun başlatılmasında en kritik rollerden ikisi MAPK–ERK ve PI3K–Akt–mTOR yolaklarıdır. Bu yolakların aktivasyonu, ökaryotik başlatma faktörü 4E (eIF4E) ve eIF4E bağlayıcı protein (4EBP)'in fosforilasyonu yoluyla ribozomal translasyon kapasitesini arttırır (Lüscher ve Huber, 2010). Böylece dendritik spinlerde yerel protein sentezi artar ve uyarılmış sinapslarda uzun süreli yapısal ve fonksiyonel değişiklikler kalıcı hale gelir.

mGluR5'in sinaptik alan içindeki işlevselliği, iskele proteinleriyle olan etkileşimleri tarafından da şekillenir. Homer proteini, mGluR5'i PIKE ile ilişkilendirerek PI3K aktivitesinin sürdürülmesini sağlar. PIKE, küçük GTPaz yapısında olup PI3K'in katalitik aktivitesini doğrudan artırır. Bu nedenle Homer–mGluR5–PIKE eksenindeki bozuklukların, translasyonel başlatmanın baskılanmasına ve dolayısıyla mGluR-bağımlı plastisitenin bozulmasına yol açtığı bildirilmiştir (Rong ve ark., 2003). Bu mekanizma özellikle serebellar purkinje hücrelerinde ve hipokampal CA1 nöronlarında gösterilmiştir.

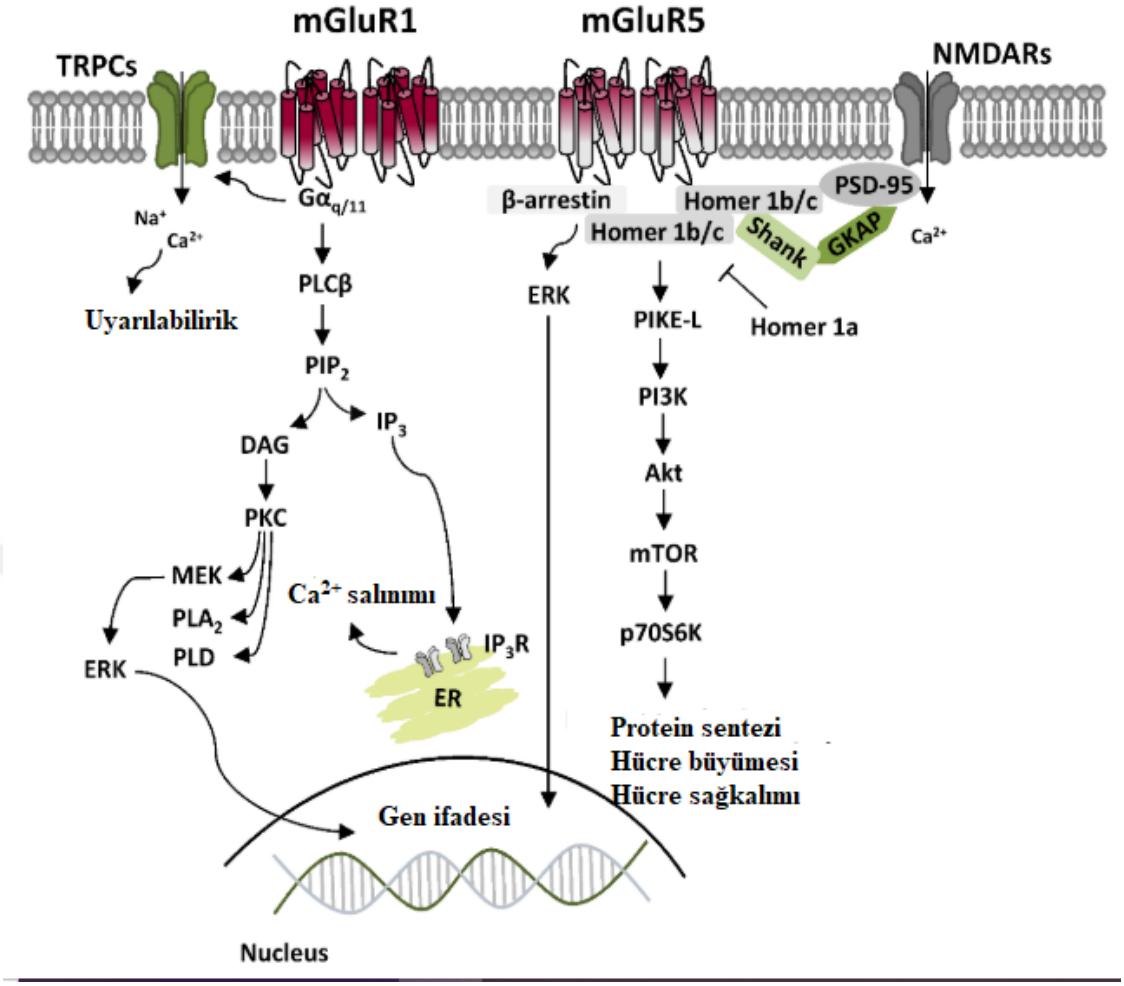
mGluR1/5 sinyallemesi aynı zamanda dendritik spinlerdeki postsinaptik yoğunluk (PSD) ile yakın ilişki içindedir. PSD, uyarıcı sinapsların dendritik dikenlerinde yer alan, reseptörler, kinazlar, sitoskeletal bileşenler ve translasyonel regülasyon proteinlerini içeren yoğunlaştırılmış bölgedir. PSD'nin temel proteinlerinden biri

olan PSD95, membranla ilişkili guanilat kinaz (MAGUK) ailesine aittir, PDZ bağlanma bölgesi, SH3 bağlanma bölgesi ve GK (guanilat kinaz-benzeri) bağlanma bölgsi içerir. PSD95, postsinaptik membranda AMPA ve NMDA reseptörlerini doğru yere getirip orada tutan ve işlevsel sinapsın kurulmasını sağlayan ana iskele proteinidir (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. UDG ve UDB süreçlerinde AMPAR'ların dinamik düzenlenmesi**. A)** UDG sırasında postsinaptik membrana AMPAR eklenmesi ve sinaptik iletimin artışı; UDB sırasında ise reseptörlerin internalizasyonu ile sinaptik etkinliğin azalması. **B)** hücre dışı "slot" proteinlerinin AMPAR'ların sinaptik membranda tutulmasını belirlediği; hücre içi mekanizmalar aracılığıyla slot sayısının veya slot afinitesinin değiştirilmesinin reseptör eklenmesi ya da uzaklaştırılması. Bu dinamik denge, sinaptik plastisitenin moleküler temelini oluşturur (Diering ve Huganir, 2018).

PSD95'in düzeyi ve dağılımı glutamerjik sinaptik iletim, dendritik diken morfolojisi ve aktif sinapsların uzun dönemli modülasyonunda belirleyici rol oynar (Coley ve Gao, 2018). Bu bağlamda mGluR-UDB, yalnızca reseptör içermesi üzerinden değil; aynı zamanda translasyonel kontrol, sinaptik proteinler, iskele protein–reseptör etkileşimleri ve yapısal sinaptik organizasyon gibi çok katmanlı mekanizmalar üzerinden gerçekleşen bir plastisite modelidir.



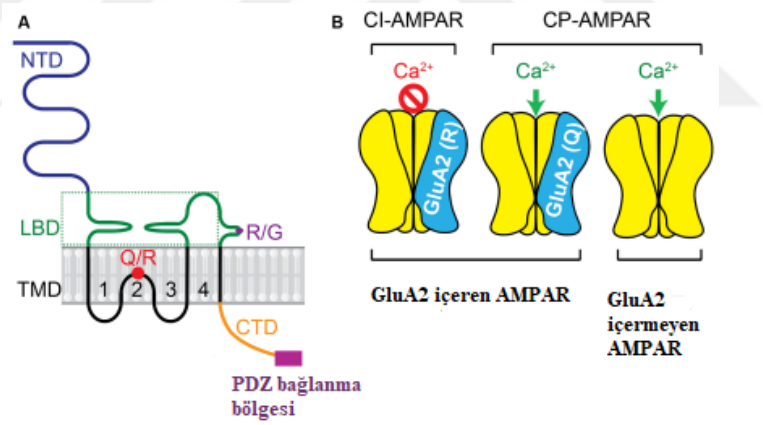
Şekil 2.7. Postsinaptik mGluR1 ve mGluR5'e ait başlıca sinyal iletim yolakları ve NMDA reseptörleri ile etkileşimleri. mGluR1, Gq/11 proteinleri aracılığıyla PLCβ aktivasyonunu başlatır; PIP_2'nin IP_3 ve DAG'a hidrolizi sonucunda IP_3 reseptörleri üzerinden endoplazmik retikulumdan (ER) Ca^{2+} salınımı gerçekleşir ve PKC, MEK/ERK yolakları aktive olur. mGluR5 ise β-arrestin ve Homer 1b/c aracılığıyla PIKE-L/PI3K/Akt/mTOR/p70S6K sinyal kaskadını düzenleyerek protein sentezi, hücre büyümesi ve hücre sağkalımını modüle eder. Homer–Shank–GKAP–PSD-95 iskele kompleksi üzerinden NMDA reseptörleri ile fonksiyonel bağlantı sağlanır; ayrıca Homer1a bu etkileşimi negatif yönde düzenleyebilir. Bu yolaklar gen ifadesi ve sinaptik plastisite mekanizmalarında kritik rol oynar (Ledonne ve Mercuri, 2020).

2.2.7. AMPAR İnternalizasyonu

İyonotropik glutamat reseptörlerinden AMPA reseptörleri, merkezi sinir sisteminde hızlı eksitatör sinaptik transmisyonun büyük bölümünden sorumludur. Sinaptik güçlenme veya zayıflama süreçlerinde AMPAR'lerin postsinaptik membranda bulunma miktarı, alt birim kompozisyonu, iletkenlik özellikleri ve geçirgenlik profili değişebildiğinden, bu reseptörler sinaptik plastisitenin son efektörleri arasında kabul

edilmektedir. Hem NMDAR-UDB hem de mGlu-UDB süreçlerinde aktive edilen hücre içi sinyal ağları, nihai olarak AMPAR'lerin hücre içine alınması (internalizasyonu) veya membrana eklenmesi (ekzositoz) üzerine etkili olur. Bu nedenle AMPAR trafiği, sinaptik plastisite kavramının biyofiziksel karşılığını oluşturur (Diering ve Huganir, 2018)

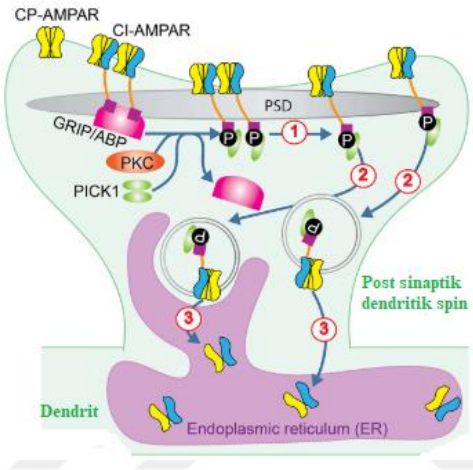
AMPAR'ler dört farklı alt birimden (GluA1–GluA4) oluşan tetramerlerdir. Reseptörlerin iyon geçirgenliği ve sinaptik davranışı, bu alt birimlerin kombinasyonuna bağlıdır. Özellikle GluA2 alt birimi, sinaptik plastisitede ayırt edici bir rol oynar. GluA2'nin Q/R bölgesinde RNA düzenlemesi sonucu glutamin (Q) yerine arjinin (R) bulunur ve bu yapı reseptörün Ca^{2+} geçirgenliğini ortadan kaldırır. Bu biyokimyasal değişiklik sayesinde, GluA2 içeren AMPAR'ler Ca^{2+} geçirimsiz, GluA2 içermeyen AMPAR'ler ise Ca^{2+} geçirgendir (Şekil 2.8). Gelişimsel dönemlerde veya belirli patolojik durumlarda GluA2'siz reseptörlerin arttığı ve bunun sinaptik stabiliteyi etkilediği bilinmektedir (Salpietro ve ark., 2019).



Şekil 2.8. AMPA reseptörleri ve altüniteleri. **A)** N-terminal hücre dışı bölge (NTD), ligand bağlanma bölgesi (LBD), transmembran bölge (TMB), C-terminal hücre içi bölge (CTD), Q-R editing bölgesi, **B)** Ca^{2+} geçirgen ve Ca^{2+} -geçirmeyen AMPA reseptörleri ve alt üniteleri (Guo ve Ma, 2021).

Sinaptik plastisite açısından bakıldığında, UDG sürecinde CaMKII gibi kinazlar GluA1 alt birimindeki belirli serin bölgelerini fosforile eder ve bunun sonucunda AMPAR'lerin postsinaptik membrana eklenmesi hızlanır. Bu mekanizma sinaptik yanıt amplitüdünde artışla sonuçlanır. Buna karşılık UDB süreçlerinde ise fosfatazlar (ör. PP2B/Calcineurin, PP1), AMPAR alt birimlerinin fosforilasyon durumunu

tersine çevirir ve reseptörlerin klatrin aracılı endositoza doğru yönelmesini kolaylaştırır (Sathler ve ark., 2021). PKC'nin, GluA2'nin PDZ-bağlanma bölgesindeki serin kalıntısı S880'i fosforile etmesi, GRIP/ABP'nin GluA2'nin C-terminal bölgesi (CTD) ile olan ilişkisinin bozulmasına yol açar. Bu durum PICK1'in GluA2 CTD'ye bağlanmasını arttırır. PICK1 AMPAR'ları sinaptik yüzeyden koparak klatrin aracılı endositoza yönlendirir. Sinaptik membranda AMPAR kümeleri bozulur, sinaptik GluA2 alt birimlerinin içselleştirilir ve GluA2 alt birimlerinin endoplazmik retikulumdaki (ER) hücre içi havuzda tutulması sağlanır.



Şekil 2.9. PKC'nin GluA2 fosforilasyonu. PKC GluA2'nin C-ucunu (CTD) fosforile eder, GRIP/ABP ile ilişkisini bozar PICK1 ile etkileşimi kolaylaştırır (Guo ve Ma, 2021).

Dolayısıyla, GRIP/ABP ve PICK1 proteinlerinin aktivasyonu, GluA2 alt biriminin içselleştirilmesine ve sinaptik membranda daha fazla CP-AMPAR'ların bulunmasına yol açar (Guo ve Ma, 2021).

UDB sırasında sinaptik zayıflama, yalnızca AMPA reseptör sayısındaki azalmaya değil, reseptörlerin PSD içindeki nano-ölçekli yeniden dağılımına ve buna eşlik eden dendritik spinlerdeki yapısal değişikliklere bağlıdır. Bu durum, fonksiyonel plastisitenin bazı sinapslarda iletkenlik azalmasıyla sınırlı kalırken, diğerlerinde yapısal plastisiteye ilerleyerek spin küçülmesi veya sinaps kaybıyla sonuçlanmasının moleküler temelini oluşturur (Coley ve Gao, 2018).

AMPAR internalizasyonunun mGluR-bağımlı UDB ile ilişkisi de dikkat çekicidir. mGluR1/5 aktivasyonu sonrası ERK, PI3K-Akt-mTOR gibi yolaklar üzerinden yeni protein sentezi (örneğin Arc üretimi) uyarılır ve bu proteinler membrana gömülü

AMPAR'lerin endositozunu hızlandırır. Böylece UDB sadece post-translasyonel modifikasyonlar yoluyla değil, aynı zamanda aktivite-bağımlı translasyon ile de sürdürülebilir hale gelir. Bu mekanizma, özellikle öğrenme ve hafıza süreçlerinde geç UDB formlarının kalıcılığı açısından önemlidir (Asrar ve Jia, 2013).

AMPAR düzeyindeki değişikliklerin nöropatolojik yansımaları da klinik açıdan önem taşır. Reseptör alt birim kompozisyonundaki kaymalar, Ca^{2+} geçirgenlik değişimleri veya AMPAR trafiğini kontrol eden proteinlerdeki bozulmalar; epilepsi, iskemik hasar, nörodejeneratif hastalıklar ve nörogelişimsel bozukluklar gibi durumlarda gözlenmiştir. Alzheimer hastalığında sinaptik bölgelerdeki anormal UDB benzeri mekanizmalar AMPAR kaybına yol açarak bilişsel bozuklukları desteklerken; iskemik süreçlerde GluA2 düzeyinin azalması Ca^{2+} geçirgen reseptörlerin artmasına ve nöronal hasarın ağırlaşmasına neden olabilir. Bu nedenle AMPAR dinamiği hem temel bilim hem de klinik açıdan yüksek translasyonel değere sahip bir mekanizmadır (Choquet ve ark., 2025; L.Wang, ve ark., 2023).

Sonuç olarak; AMPAR'in sinaptik membrana eklenmesi, orada tutulması veya hücre içine alınması, sinaptik plastisitenin fonksiyonel sonucunu belirleyen başlıca süreçtir. UDG'de AMPAR birikimi sinaptik güçlenmeyi, UDB'de AMPAR kaybı ise sinaptik zayıflamayı ortaya çıkarır. Bu nedenle AMPAR trafiği, deneyime bağlı öğrenme ve bellek oluşumunun moleküler temeli olarak kabul edilmektedir.

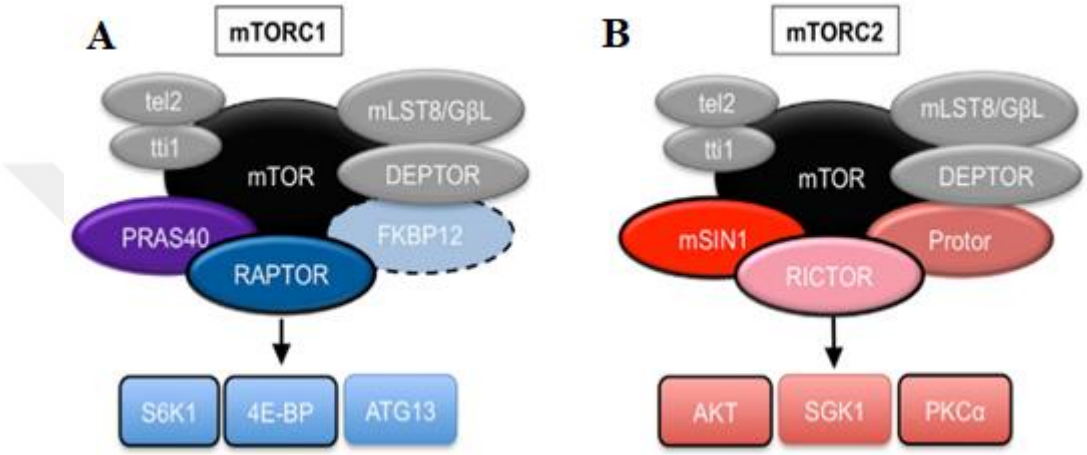
2.2.8. Memeli Rapamisin Hedefi (mTOR) ve UDB'deki Rolü

mTOR (memeli rapamisin hedefi-mammalian Target of Rapamycin), ökaryotik hücrelerde geniş şekilde korunmuş, yaklaşık 250–289 kDa ağırlığında bir serin/treonin protein kinazıdır ve fosfatidilinozitol 3-kinaz (PI3K) ile ilişkili kinazlar (PIKK) ailesinin bir üyesi olarak tanımlanmıştır. mTOR, hücre büyümesi, proliferasyon, metabolizma, enerji dengesi ve stres yanıtı gibi temel biyolojik süreçlerin merkezi düzenleyicisidir (Lipton ve Sahin, 2014; Zoncu ve ark., 2011).

mTOR'un sinir sistemindeki işlevi, hem protein sentez kontrolü hem de uzun süreli sinaptik plastisite süreçleriyle sıkı bir şekilde ilişkilidir. mTOR sinyal yolunun nörobiyolojik önemi, öğrenme ve bellek süreçleri ile sinaptik modifikasyonlarda

merkezi bir role sahip olmasından kaynaklanmaktadır; bu süreçler rapamisin kullanımıyla modüle edilebilmiş ve genetik modifikasyon modellerinde mTOR bozulmasının plastisite ve davranışsal çıktılarda değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir (Hoeffer ve Klann, 2010).

mTOR'un iki kompleksden oluşur; mTOR Kompleks 1 (mTORC1) ve mTOR Kompleks 2 (mTORC2) (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. mTORC1 ve mTORC2 komplekslerinin yapısal bileşenleri ve aşağı akım hedefleri. mTOR kinazı iki farklı multiprotein kompleks oluşturur: mTORC1 ve mTORC2. **A)** mTORC1; mTOR, RAPTOR, PRAS40, mLST8/GβL ve DEPTOR'dan oluşur. S6K1, 4E-BP ve ATG13 gibi hedefleri fosforile ederek protein sentezi ve otofajiyi düzenler. **B)** mTORC2 ise mTOR, RICTOR, mSIN1, Protor, mLST8/GβL ve DEPTOR bileşenlerini içerir; AKT, SGK1 ve PKCα'yı fosforile ederek hücre sağkalımı, metabolizma ve hücre iskeleti organizasyonunu kontrol eder (Lipton ve Sahin, 2014).

mTOR sinyalizasyonu özellikle sinaptik translasyon kontrolünde kritik bir role sahiptir. mTORC1 aracılı S6K1 ve 4E-BP1 düzenlemesi, dendritik spinlerde lokal protein sentezini artırarak uzun süreli plastisite (UDG/UDB) süreçlerine katkıda bulunur. Translasyonel kontrol eksikliği; öğrenme, hafıza ve davranışsal çıktılarda bozulmaya neden olabilir (Hoeffer ve Klann, 2010; Santini ve Klann, 2011). mTOR ayrıca sinaptik yapının ve dendritlerin gelişimi ve korunmasında da rol oynar; bu, özellikle mTORC2 ve Akt aracılığı ile hücre iskeleti ile ilgili düzenlemeler üzerinden gerçekleşir (Urbanska ve ark., 2012).

mTOR sinyalleme bozuklukları, otizm spektrum bozuklukları, epilepsi ve nörodejeneratif hastalıklar gibi nörobiyolojik patolojilerle ilişkilendirilmiştir; bu da

mTOR yolunun nörolojik sağlığın sürdürülebilmesi açısından önemini göstermektedir (Lipton ve Sahin, 2014).

mGluR1/5'in aktivasyonu, postsinaptik bölgede başta ERK–MAPK ve PI3K–Akt–mTOR olmak üzere bir dizi sinyal yolunu eş zamanlı olarak devreye sokar. Bu yollar, dendritik spinlere yakın alanlarda lokal protein sentezini artırarak mGluR-bağımlı UDB'nin başlatılması ve sürdürülmesi için zorunlu moleküler zemini sağlar (Zhu ve ark., 2018). Özellikle Grup I mGluR aktivasyonunun uyardığı translasyon, hızlı başlangıçlı ve sinapsa özgü olması nedeniyle plastisitenin bölgesel olarak düzenlenmesine katkıda bulunur. Sonuç olarak; mGluR1/5'in uyarılması UDB sürecini başlatır, gerekli proteinler doğrudan aktif sinapsa yakın dendritlerde sentezlenir. Protein sentezi doğru sinapsta, doğru zamanda gerçekleşir.

mTOR, iki fonksiyonel kompleks hâlinde organize olur: mTORC1 ve mTORC2. Bu iki kompleksin sinaptik plastisite üzerindeki etkileri farklı yönlerde gelişir. mTORC1 ve UDB; mTORC1'in özellikle hipokampus ve beyincik gibi plastisite çalışmaları için kritik bölgelerde UDB ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Lipton ve Sahin, 2014). mTORC1'in temel görevleri arasında: dendritik protein sentezinin başlatılması, S6K1 ve 4EBP1 gibi translasyon hedeflerinin fosforilasyonu, sinaptik bölgelerde protein sentez kapasitesinin artırılması yer alır.

mTORC1'in negatif düzenleyicilerinin –örneğin TSC1/TSC2 veya PTEN– genetik olarak ortadan kaldırılması, aşırı aktivasyon sonucu: anormal ya da aşırı güçlenen plastisite, UDG/UDB dengesinin bozulması, bozulmuş öğrenme ve hafıza, ile sonuçlanmaktadır (Costa-Mattioli ve ark., 2009). Bu bulgu, sinaptik plastisitede "optimum mTORC1 aktivasyonu" gerektiğini, aşırısının da eksikliğinin de işlev bozukluğuna yol açtığını göstermektedir.

mTORC2'nin ilk olarak nöronal olmayan hücrelerde aktin iskeletinin düzenlenmesinde görev aldığı gösterilmiş, ardından benzer işlevlerin nöronlarda da bulunduğu anlaşılmıştır. Özellikle: aktin filament dinamiği, büyüyen nöronların akson ve dendrit uzamaları, spin morfolojisinin stabilizasyonu mTORC2 aktivitesi ile ilişkilidir.

Hücre kültürü çalışmalarında riktor veya raptor gibi alt birimlerin bozulması, nöronal uzantıların gelişimini belirgin şekilde engellemiş ve omurga yapılarında organizasyon bozukluklarına yol açmıştır (Urbanska ve ark., 2012).

Yeni çalışmalar, mTORC2'nin yalnızca gelişim döneminde değil, yetişkin plastisitesinde de kritik olduğunu göstermiştir. Özellikle: Prefrontal kortekste riktor'un bozulması, UDG süreçlerinde bozulma, hipokampal sinapslarda aktin iskeleti oluşumunda azalma ile sonuçlanmıştır (Ma ve ark., 2023). Bu sonuçlar mTORC2'nin daha çok yapısal plastisite ile ilişkili olduğunu ve UDG ile UDB'nin dengelenmesinde mTORC2'nin rolünün sanılandan daha önemli olduğunu düşündürmektedir.

2.3. YAPISAL PLASTİSİTE

Yapısal plastisite, sinaptik bağlantıların morfolojik yeniden düzenlenmesini içeren bir plastisite formudur; bu süreç dendritlerin dallanma şeklindeki değişiklikler, dendritik spin ve akson terminallerinin yeniden şekillenmesi ile sinaptik alanın genişlemesi veya daralmasını sağlar (Weerasinghe-Mudiyanselage ve ark., 2022). Yapısal plastisite, sinaptik etkinliğe uyum sağlayan uzun dönemli sinaptik değişikliklerin anatomik yansıması olarak düşünülebilir.

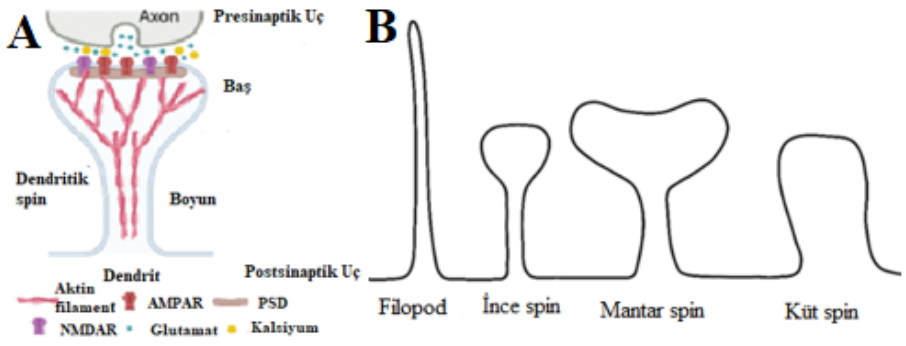
Dendritik spinler, dendrit gövdesine genellikle ince bir boyunla bağlanan ve uç kısmında genişlemiş bir "baş" bölgesi bulunan çıkıntılardır. Postsinaptik yoğunluk bu diken başının ucunda yer alır ve presinaptik terminale oldukça yakın konumda; reseptörler, sinyal iletim molekülleri, kinazlar, iskelet proteinleri ve adaptör proteinler bakımından zengin bir yapıyı temsil eder (Bonilla-Quintana ve Rangamani, 2022). Dendritik spin morfolojisi esas olarak aktin hücre iskeleti ile belirlenir ve dendritik spin başı ile boyun dinamik olarak aktin filamentlerin polimerizasyonu/ depolimerizasyonu tarafından şekillendirilir (Blanpied ve ark., 2008).

Sinaptik uyarılara yanıt olarak spin yapısında görülen değişiklikler, postsinaptik sinyal ağları yoluyla stabilize edilir ve korunur. Bu süreçte mikrotübül düzenleyici

proteinler, nörotransmitter reseptör aktivasyonu, glukokortikoid sinyalleri ve çeşitli büyüme faktörleri gibi etkenler sinaptik yapının dinamik kontrolünde rol üstlenir.

Dendritik spinler, morfolojik özelliklerine göre farklı kategorilere ayrılır:

- **Mantar spinler:** Geniş bir kafa bölgesi ve dar boyun içerir; hipokampal ağlarda güçlü sinapslar oluşturarak uzun dönemli bilgi depolama ile ilişkilidir.
- **İnce spinler:** Daha küçük hacimli ve dar kafa bölgesine sahip olan bu tipler, daha esnek ve geçici sinaptik yapılar olarak düşünülür.
- **Küt spinler:** Kafa ve gövde arasında belirgin bir daralma olmayan, daha stabil bir morfoloji sergiler.
- **Filopodyum:** Çok ince, saç benzeri ve genellikle kısa ömürlü dikenlerdir; sinaps oluşumunun ilk adımında önemli yer tutar.
- **Dallanmış spinler:** Birden fazla baş bölgesine sahip olup aynı anda birden çok presinaptik aksonla sinaps yapabilen kompleks yapılardır (Asrar ve Jia, 2013; Bonilla-Quintana ve Rangamani, 2022):



Şekil 2.11. Spin yapısı ve formları. A) dendrit yapısı, B) dendritik spin formları (Bonilla-Quintana ve Rangamani, 2022).

Dendritik gövdeden uzanan filopodi-benzeri çıkıntılar, presinaptik aksonlarla temas kurarak sinaps oluşumunu başlatır; bu yapılar zamanla önce ince dikenlere, ardından olgunlaşarak mantar dikenlere dönüşebilir. İnce spinler, sinaptik uyarılara karşı daha duyarlı olmaları nedeniyle öğrenme ve adaptif sinaptik modifikasyon süreçlerinde önemli geçiş formları olarak değerlendirilir. Buna karşın mantar spinler daha stabil

olup, kalıcı sinaptik bağlantıların ve uzun dönemli hafıza izlerinin oluşumu ile ilişkilidir.

Yaşam süreleri açısından değerlendirdiğinde, mantar spinlerin aylar boyunca korunabildiği, ince spinlerin ise yalnızca günler içinde ortadan kalkabildiği bildirilmiştir; bu da spin morfolojisinin sinaptik kararlılık ile direkt ilişkisini destekler (Asrar ve Jia, 2013; Bonilla-Quintana ve Rangamani, 2022).

Spin şekli sadece morfolojik bir sınıflama değildir; sinaptik güç, kararlılık ve fonksiyon ile doğrudan ilişkilidir. Örneğin mantar spinler daha yüksek AMPAR içeriği barındırır ve daha yüksek sinaptik iletim etkinliğine sahiptir; buna karşılık ince spinler düşük AMPAR yoğunluğu ve daha değişken iletim özellikleri gösterir (Lieberman ve ark., 2019).

Bu yapısal değişimler, yapısal plastisite terimi ile tanımlanır ve sinaptik etkinliğin kısa süreli modifikasyonundan kalıcı anatomik yeniden yapılanmaya geçişin temel mekanizmasını oluşturur. Yapısal plastisite hem gelişimsel süreçlerde hem de yetişkin beyinde öğrenme, bellek, adaptasyon ve davranışsal modifikasyonlarda kritik rol oynar.

Sinaptik etkinliğin değişmesi ile başlayan sinaptik plastisitenin yapısal plastisiteye dönüşmesinin en önemli bağlantı noktalarından biri AMPAR trafiği ve iki yönlü modülasyonudur: AMPAR'lerin sinaptik yüzeye eklenmeleri veya internalizasyonları, hem uyarılmış plastisite süreçlerini (UDG/UDB) düzenler hem de dendritik spin morfolojisi ile korelasyon gösterir (Asrar ve Jia, 2013). Bu bağlamda AMPAR dinamiğinin sinaptik güç ve spin yapısı arasındaki ilişki hem fonksiyonel hem de yapısal plastisitenin moleküler bir köprüsünü oluşturur.

Dendritik spin plastisitesi, sadece yapısal dönüşümle sınırlı olmayıp aynı zamanda glutamaterjik sinaptik güç ile doğrudan bağlantılıdır. Bu bağlamda, AMPAR trafiği ve yüzey ekspresyonu, spinlerin morfolojik olgunlaşmasının hem nedeni hem sonucu olan çift yönlü bir ilişki sergiler. UDG sırasında AMPAR'lerin sinaptik bölgeye ekspresyonu ve stabilizasyonu, spin başı hacminin artışı ile ilişkilidir; buna karşın UDB süreçlerinde AMPAR'lerin internalizasyonu ve yüzeyde azalması spin

hacminin küçülmesine ve ince-daha geçici morfolojilere dönüşüme aracılık eder (Asrar ve Jia, 2013; Lieberman ve ark., 2019).

Bu süreç, postsinaptik yoğunlukta bulunan PSD-95, GRIP1, PICK1 gibi hücre iskelet proteinlerin yanı sıra CaMKII, küçük GTPaz'lar (Rac1, RhoA, Cdc42) aktin iskeleti üzerindeki düzenleyici etkisiyle yürütülür (Bosch ve Hayashi, 2012; Hotulainen ve Hoogenraad, 2010). Aktin polimerizasyonu spin başı hacmini artırırken, depolimerizasyonu spin hacmini azaltır; dolayısıyla AMPAR stabilizasyonu, spin yapısal stabilitesinin önemli bir belirleyicisidir. Örneğin CaMKII-AMPAR etkileşimi, UDG'de AMPAR stabilitesini artırırken, kalsinörin ekseni UDB'de aktin depolimerizasyonunu tetikleyerek spin hacmini azaltır (Zhou ve ark., 2004).

2.3.1. Yapısal plastisite ve UDB

Dendritik spinler, sinapsın postsinaptik bileşenini oluşturan kritik yapılardır ve glutamaterjik iletimde iyonotropik reseptörlerin büyük kısmını barındırırlar. Sinaptik iletimin şiddeti, frekansı ve örüntüsüne bağlı olarak uzun süreli morfolojik değişiklikler geçirebilirler (Wu ve ark., 2024). Sinaptik plastisitenin iki temel formu olan UDG ve UDB, dendritik dikenlerin yoğunluğu ve morfolojisinde birbirine zıt yönlü değişikliklerle seyreder. UDG, yeni spinlerin oluşumu (spinogenez**)** ve mevcut dikenlerin hacimsel büyümesi ile ilişkilendirilmişken; UDB, spinlerin küçülmesi, incelmesi veya tamamen kaybı ile karakterizedir (Segal, 2005). Bu nedenle UDG çoğunlukla yapısal güçlenme, UDB ise yapısal zayıflama süreçleriyle eşleştirilir.

Morfolojik seviyedeki bu değişiklikler, fonksiyonel sinaptik etkinlikteki yönelime paralellik gösterir. UDB, sinaptik iletimin azalmasına bağlı olarak sinapsların zayıflamasıyla veya ortadan kalkmasıyla sonuçlanabilir. Bu olaylar, dendritik diken başı hacminin küçülmesi, boyun uzunluğunun artması veya dikenin tamamen silinmesi gibi morfolojik sonuçlar doğurur (Segal, 2005). Ancak sinaptik plastisite ve yapısal plastisitenin moleküler düzeyde nasıl birbirine bağlandığına dair bilgiler sınırlıdır (Asrar ve Jia, 2013).

Son yıllarda elde edilen bulgular, bu bağlantının glutamaterjik reseptör trafiği ile kurulduğunu göstermektedir. Özellikle UDB'de görülen diken küçülmesinin,

postsinaptik membranda bulunan AMPAR internalizasyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. AMPAR'lerin endositoz yoluyla yüzeyden uzaklaştırılması, sinaptik akımı düşürmekte ve bu durum aktin sitoskeletonu aracılığıyla spin yapısına yansımaktadır. Böylece AMPAR içeriği azalan dikenler daha ince ve dengesiz morfolojiye kayarak elimine olmaya yatkın hale gelmektedir (Asrar ve Jia, 2013; Zhou ve ark., 2004).

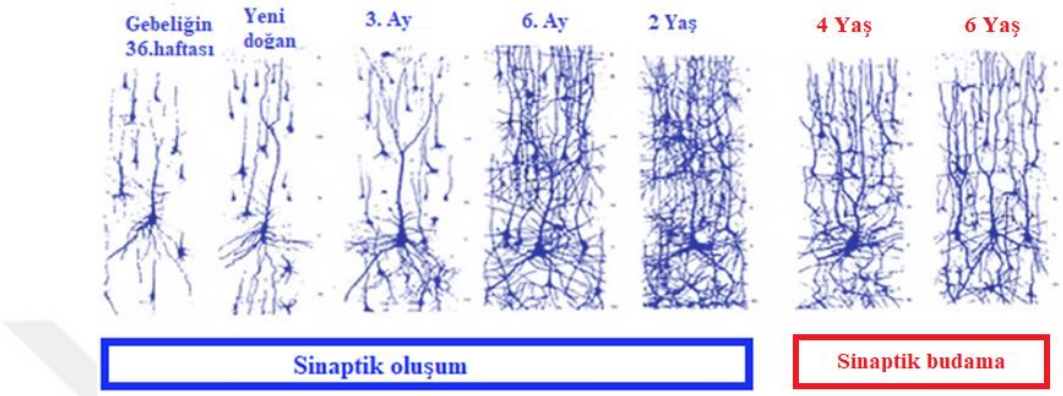
Hipokampüste diken kaybı yalnızca deneyime bağlı plastisite sonucu ortaya çıkan bir süreç değildir; aynı zamanda gelişimsel dönemlerde fazla veya gereksiz sinaptik bağlantıların elimine edilmesini içeren sinaptik budama mekanizmalarıyla da ilişkilidir. Özellikle gelişimsel dönemde mikroglia aracılı fagositozun, faaliyet düzeyi düşük sinapsları hedefleyerek spin eliminasyonunda rol aldığı rapor edilmiştir (Faust ve ark., 2021). Böylece yapısal plastisite, yalnızca öğrenme ve bellek süreçlerinde değil, aynı zamanda nöronal devrelerin hassas düzenlenmesi ve olgunlaşmasında da kritik rol oynamaktadır.

Bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, dendritik diken morfolojisinin deneyime bağlı nöronal adaptasyonun hem sonucu hem de belirleyicisi olabileceği; sinaptik ve yapısal plastisite arasında çift yönlü bir etkileşim bulunduğu anlaşılmaktadır. Bununla birlikte spin düzeyindeki moleküler olayların tam olarak nasıl zamanlandığı, hangi eşiklerde gerçekleştiği ve hangi hücresel popülasyonlarda baskın olduğu gibi sorular literatürde aktif araştırma konusudur.

2.3.2. Sinaptik Budama

Memeli beyni doğumda sinaptik bağlantılar açısından aşırı bir yoğunluk içerir; gelişimsel süreç boyunca bu fazla bağlantıların aktivite-bağımlı sinaptik budama ile ortadan kaldırılması, hassas ve olgunlaşmış nöral devrelerin kurulması için gereklidir. Bu süreçte daha aktif sinapslar güçlendirilirken, daha az aktif olanlar önce zayıflar ve sonunda elimine edilir. Bu tür aktivite-bağımlı budama, presinaptik ve postsinaptik hücrelerdeki moleküler sinyallerin kompleks etkileşimini içerir ve yalnızca yapısal değil, fonksiyonel plastisite ile de sıkı bir ilişki içindedir (Jessy Presumey, 2017).

Bir sinaps uzun süreli zayıf iletime maruz kaldığında UDB ile başlayan moleküler sürecin zaman içinde daha kalıcı yapısal değişikliklere (spin silinmesi) dönüşmesi beklenir. Bu bakış açısıyla, UDB fonksiyonel zayıflama ile yapısal eliminasyon arasında bir geçiş mekanizması olarak kabul edilebilir (Şekil 2.11).



Şekil 2.12. Gelişimsel süreçte sinaptik budama.

Örneğin, kalsinörin-fosfataz aktivasyonu, UDB sırasında AMPAR defosforilasyonuna yol açar; bu aynı fosfataz mekanizması dendritik spin aktin ağlarının stabilizasyonunun bozumasına ve budamaya yatkınlığa da katkıda bulunur (Zhou ve ark., 2004).

2.3.3. Otofaji, Sinaptik Plastisite ve Nöroplastisite İlişkisi

Otofaji, sinaptik plastisite ile doğrudan ilişkilidir ve özellikle UDB süreçlerinde postsinaptik proteinlerin degradasyonu için önemli bir yol sağlar. Son çalışmalarda dendritik otofajinin UDB benzeri plastisite için gerekli olduğu gösterilmiştir; örneğin dendritik otofaji inhibe edildiğinde AMPAR internalizasyonu ve UDB'nin ifadesi azalmakta, bu da yapısal ve fonksiyonel plastisite değişimlerini etkiler (Kallergi ve ark., 2022). Bu veriler, otofaji süreçlerinin yalnızca homeostatik kalite kontrol değil aynı zamanda sinaptik güç değişimleri ve spine yeniden modellenmesi üzerinde de etkili olduğunu göstermektedir.

Nöronlar—istisnai durumlar dışında—post-mitotik hücrelerdir; yani bölünmezler ve organizmanın yaşam süresi boyunca hayatta kalırlar. Bu nedenle nöronlarda protein kalitesi kontrolü, enerji dengesi ve organel bütünlüğünün korunması yaşam boyu gereklidir. Bu özellikleri, nöronlarda otofajinin düzenlenmesini proliferatif

dokulardan farklı kılar. Nitekim açlık stresinin farelerde böbrek ve karaciğer gibi bölünebilen dokularda otofajiyi güçlü şekilde tetiklerken, beyin dokusunda benzer bir etki göstermemesi, nöronal otofajinin metabolik açıdan farklı yönetildiğini ortaya koymuştur (Lieberman ve ark., 2019).

Nöronlarda hem erken nörogelişim döneminde hem de erişkin dönemde hücre içi bileşenlerin uzaklaştırılmasına dayalı kalite kontrol sistemleri kritik öneme sahiptir. Özellikle birikmiş protein agregatları, hasarlı mitokondriler, yaşlanmış lizozomlar ve bozulmuş sinaptik komponentlerin eliminasyonu, nörodejenerasyonun engellenmesi açısından gereklidir (Deng ve ark., 2021). Bu nedenle bazal otofaji, nöronal homeostazın korunması için bir "hayatta kalma mekanizması" olarak değerlendirilir.

Erken gelişim döneminde otofaji, yalnızca hücresel atık uzaklaştırma süreci değil, aynı zamanda nöronal devrelerin inşa edildiği bir düzenleme mekanizmasıdır. Örneğin: aksonal yön bulma, sinaptogenez, sinaptik vezikül kümelenmesi ve aktif bölge oluşumu gibi süreçlerde otofajinin kritik görevleri olduğu gösterilmiştir. Otofaji, presinaptik terminallerde sinaptik veziküllerin dinamiğini kontrol ederek iletişim kapasitesini belirler. Otofaji bileşenlerinde mutasyon bulunan bireylerde aktif bölge oluşumu ve sinaptik vezikül kümelenmesinin bozulması, ilgili fenotipin nörodejenerasyona bağlı değil, hatalı sinaps oluşumuna bağlı olduğunu göstermiştir (Stavoe ve Holzbaur, 2019).

Buna ek olarak otofaji, sinaptik budama açısından da önemlidir. Postsinaptik bölgede otofajinin aktivasyonu, gereksiz spinlerin ortadan kaldırılması ve sinaptik devrelerin iyileştirilmesi sürecine katkı sağlar (Shen ve ark., 2020).

Erişkin dönemde otofaji, yalnızca homeostatik işlev görmez; aynı zamanda: nöronal aktivite, sinaptik plastisite (özellikle UDB), sinaptik budama, öğrenme ve bellek gibi süreçlerin düzenlenmesinde doğrudan görev alır (Stavoe ve Holzbaur, 2019; Shen ve ark., 2020). Bu durumun moleküler temelleri son yıllarda giderek daha net açıklanmaktadır. Özellikle düşük nöronal aktivite, duyusal depresyon veya nörotrofik faktör eksikliği (örn. BDNF azalması) gibi durumlarda mTOR baskılanarak otofaji aktivasyonu artmaktadır (Hwang ve ark., 2019). mTOR'un otofaji üzerindeki bu

frenleyici rolü, nöronal aktivite ile otofaji arasında plastisiteye bağlı bir denge kurulduğunu düşündürmektedir.

Nöronal otofajideki bozulmalar, beyinde hem gelişimsel hem dejeneratif patolojilere yol açabilir. Örneğin otofaji genlerinin silinmesi: protein agregasyonuna, mitokondriyal disfonksiyona, sinaptik kayıplara, davranışsal fenotiplerde bozulmaya neden olmaktadır (Deng ve ark., 2021).

Bu nedenle otofaji disfonksiyonu: nörodejeneratif hastalıklar (Alzheimer, Parkinson, Huntington), nörogelişimsel bozukluklar (OSB, şizofreni), psikiyatrik bozukluklar ile ilişkilendirilmiştir. Bu veriler, otofajinin yalnızca basit bir katabolik sistem olmadığını; nöronal ağların kurulması, korunması ve plastisiteye adaptasyonu açısından zorunlu olduğunu göstermektedir.

mTOR, hücre büyümesi, hücre çoğalması, protein sentezi, hücresel enerji algısı, hücrenin hayatta kalması ve otofaji gibi birçok hayati sürecin merkezinde yer alan serin-treonin kinaz aktivitesine sahip bir düzenleyici kompleks oluşturur. Nöronlarda mTOR hem presinaptik hem de postsinaptik kompartmanlarda lokalizedir ve özellikle mTORC1 formu üzerinden otofajiyi negatif yönde regüle ettiği bilinmektedir (Hwang ve ark., 2019). Genetik veya farmakolojik inhibisyonlarının otofajiyi başlatması, mTOR aktivitesi ile otofaji arasında ters yönlü bir ilişkinin bulunduğunu göstermektedir (Kim ve Guan, 2015).

mTOR iki farklı kompleks içerir: mTORC1 ve mTORC2, otofajinin baskılanmasından sorumlu kompleks mTORC1'dir; mTORC2'nin otofaji üzerindeki etkisi daha çok dolaylıdır ve aktin hücre iskeleti ile hücre sağkalımı yolları üzerinden gerçekleşir (Kim ve Guan, 2015). Otofaji Unc-51 Benzeri Kinaz 1 (ULK1) kompleksi aktivasyonu ile başlar. ULK, Atg13, FAK ailesi etkileşim proteini 200 kDa (FIP200) ve Atg101 (kompleksi stabilize eder) bileşenlerinden oluşur. Bu kompleksin aktivitesi hücredeki enerji durumu ve büyüme faktörü sinyalleri tarafından belirlenir. ULK1 kompleksi hem mTORC1 hem AMPK tarafından fosforile edilebilir; ancak bu iki fosforilasyonun etkileri zıt yönlüdür. mTORC1 aktifken, ULK1'i inhibe edici bölgelerden fosforile ederek otofajiyi baskılar. AMPK aktifken, ULK1'i aktive edici bölgelerden fosforile ederek otofajiyi başlatır (Deng ve

ark., 2021). Dolayısıyla mTORC1–AMPK ekseni hücresel enerji sinyalizasyonunun otofaji üzerindeki temel karar verici noktasıdır. Enerji eksikliği (yüksek AMP/ATP oranı), aminoasit eksikliği veya büyüme faktörü kesilmesi gibi durumlarda mTORC1 baskılanarak otofaji tetiklenir. mTORC1'in aktif olması ULK1'i baskılar; mTORC1'in inaktif olması ise otofajiyi başlatan sinyal yollarının etkinleşmesine neden olur. Bu süreçte: mTORC1 baskısı kalkar, ULK1–Atg13–FIP200 kompleksi aktive olur, kompleks endoplazmik retikulum çıkış bölgelerinde (ERES) fagofor membranının başlangıç noktalarına yönlenir (Lin ve Hurley, 2016). Böylece fagofor oluşumu başlar, ULK1, Atg13 ve FIP200 fagofora katılan ilk otofaji bileşenleri olup otofagozomun oluşmasında görev alır (Randall-Demllo ve ark., 2013). Nöronlara özgü olarak mTOR sinyallemesi yalnızca otofaji kontrolüyle sınırlı değildir; aynı zamanda: dendritik spin stabilitesi, lokal protein sentezi, AMPAR trafik regülasyonu, sinaptik plastisite (özellikle UDB) ile de yakından ilişkilidir. Düşük nöronal aktivite koşullarında mTORC1 baskısının kalkarak otofajinin postsinaptik bölgedeki reseptör geri dönüşümü ile bağlantılı olduğu, özellikle AMPAR internalizasyonu ile kesişen noktaları bulunduğu son çalışmalarla desteklenmektedir (Shen ve ark., 2020).

2.4. OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU

Amerikan Psikoloji Derneği (APA), Otizm Spektrum Bozukluğu'nu (OSB) sosyal etkileşim, iletişim, davranış ve bilişsellikle ilişkili nörolojik ve gelişimsel bir bozukluk olarak tanımlar. OSB, geçmişte nadir görülen bir bozukluk olarak kabul edilse de son 50 yılda yaygınlık, fenotipik çeşitlilik ve klinik araştırma ilgisi açısından dramatik bir artış göstermiştir (Lord ve ark., 2000). OSB klinik olarak tanımlanan semptomlar arasında sosyal iletişimde bozulma, kısıtlı ilgi alanları, tekrarlayıcı davranışlar ve duyusal farklılıklar yer alır; bu davranışsal belirtiler genellikle 3 yaş civarında belirginleşir, ancak ileriye dönük çalışmalarda 14. aya kadar erken sinyallerin görülebileceği bildirilmiştir.

OSB'nin nörobiyolojik temeli, gelişim sürecinde sinaptik bağlantıların organize edilmesi, plastisite mekanizmaları ve nöronal devrelerin işlevsel bağlantısallığı gibi süreçlerle ilişkilidir. Erken dönemde sinaptogenez süreci normalden hızlı ilerler ve fazla sinaps oluşumu ile sonuçlanır; daha sonra bu sinapsların aktivite-bağımlı budanması gerçekleşir. Sağlıklı gelişimde bu budama ile gereksiz bağlantılar ortadan

kaldırılarak işlevsel devreler iyileştirilirken, OSB'de bu denge bozulmuş ve sinaptik budama yetersizliği veya aşırı sinaptik yoğunluk gibi nörobiyolojik anormallikler ortaya çıkmıştır (Guang ve ark., 2018). Bu anormallikler, sosyal davranış ve bilişsel işlevler için kritik olan kortikal ve subkortikal devrelerin gelişimini etkiler.

Son yıllarda artan in vivo MRI çalışmalarında OSB'de erken dönem beyin gelişiminde atipik büyüme, bağlantısal değişiklikler, makrosefali/mikrosefali gibi nöroanatomik bozukluklar ve bozulmuş işlevsel bağlantısallık gösterilmiştir (Pardo ve Eberhart, 2007). OSB'ye eşlik eden nöroanatomik bulgular arasında beyin hacminde artış, hücre yoğunluğu değişiklikleri, serebellumda Purkinje hücre sayısında azalma ve kortikal göç bozuklukları sayılabilir.

Moleküler düzeyde bakıldığında OSB, çok sayıda genetik risk faktörü ve sinaptik moleküler yolak anormalliği ile ilişkilidir. Sinaptik plastisite ve sinaptik yapı proteinlerini kodlayan genlerdeki mutasyonlar, OSB riskini önemli ölçüde artırmaktadır. Örneğin SHANK3, NLGN, NRXN, FMR1 ve MECP2 gibi genler sinaptik iskelet, yapışma molekülleri ve glutamaterjik sinyalizasyonla ilişkilidir ve bu genlerdeki mutasyonlar sinaptik gelişim, plastisite ve bağlantı dengesini bozarak OSB fenotipleri ile ilişkilendirilmiştir (Kleijer ve ark., 2014). Ayrıca bu genlerin çoğunun, nöronal AMPA ve NMDA reseptörlerinin trafikleri, sinaptik stabilite ve UDG/UDB gibi plastisite süreçleri ile doğrudan bağlantılı olduğu gösterilmiştir.

OSB'nin moleküler temelleri sinaptik plastisite bozuklukları, genetik mutasyonlara bağlı sinaptik yapı proteinlerinde anormallikler, eksitatör-inhibitör dengesizliği, mTOR ve otofaji yolaklarında düzen bozuklukları gibi çok yönlü ve etkileşimli mekanizmaları içerir. Bu moleküler anormallikler, gelişimsel dönemde beyin devrelerinin doğru şekilde rafine olamamasına ve sonuç olarak sosyal, bilişsel ve davranışsal bozukluklara yol açmaktadır.

2.4.1. OSB'de PI3K-Akt-mTOR Yolağı ve Plastisite

Otizmin nedenleri oldukça heterojen olmakla birlikte, özellikle mTOR sinyal yolunu doğrudan etkileyen genetik bozuklukların OSB ile ilişkili olması, bu yolakların bozukluğun etiyolojik merkezinde yer alabileceğini düşündürmektedir (Lipton ve

Sahin, 2014). mTOR, hücresel büyüme, protein sentezi, sinaptik yeniden şekillenme ve otofaji gibi süreçlerin ana düzenleyicilerindendir ve özellikle nöronal hücrelerde sinaptik plastisiteyle yakından ilişkilidir (Kim ve Guan, 2015).

Post-mortem OSB beyin dokusu incelemelerinde, dendritik sinaps fazlalığı ile mTOR hiperaktivitesi arasında anlamlı bir bağlantı olduğu bildirilmiştir (Pagani ve ark., 2021). Genetik çalışmalar, beyin malformasyonları, gelişimsel gerilik ve otizm görülen çocukların yaklaşık %50'sinde PI3K–Akt–mTOR yolak bileşenlerinde çeşitli mutasyonlar bulunduğunu göstermiştir. Bu mutasyonların, dendritik dikenlerde protein sentezini düzenleyen mekanizmaları etkileyerek otizm benzeri davranışsal fenotiplere yol açtığı öne sürülmektedir (Wang, ve ark., 2023).

Genetik olarak oluşturulmuş otizm modellerinin incelenmesi, protein translasyonunu düzenleyen sinyal yolaklarında belirgin değişiklikler olduğunu ortaya koymuştur. Bu yolaklar, Grup I mGluR tarafından aktive edilmekte, ardından mTOR sinyali başlatılmakta ve lokal mRNA translasyonu artırılmaktadır (Hansel, 2019). mTOR'un aşağı akış hedeflerinin (ör. S6K1, 4E-BP1) birçoğunun OSB ile ilişkili gen ürünleri olması, bu sinyal yolunun OSB etiyolojisindeki önemini desteklemektedir (Kleijer ve ark., 2014).

OSB'de sinaptik budama mekanizmalarının bozulduğu, bunun da dendritik spin yoğunluğunda artış ile sonuçlandığı gösterilmiştir. Bu durumun, özellikle mTOR'un artmış fosforilasyon düzeyi ile ilişkili olduğu ifade edilmektedir (Thomas ve ark., 2023). Budamanın yetersizliği, hiperbağlantılı nöronal devrelerin ortaya çıkmasına ve bunun da OSB patolojisine katkı sağlamasına yol açabilir. Dolayısıyla PI3K/Akt/mTOR yolunun nöronal büyüme, sinaptik plastisite, protein sentezi ve otofaji gibi süreçleri kontrol ettiği düşünüldüğünde, bu yolda meydana gelen bozulmaların otizmin nörobiyolojik temelinde önemli bir rol oynadığı kabul edilmektedir (Thomas ve ark., 2023).

Sonuç olarak, mTOR sinyal yolunu etkileyen genetik ve moleküler bozukluklar yalnızca sinaptik protein sentezini değil, aynı zamanda eksitatör-inhibitör dengesini, sinaptik budama süreçlerini, dendritik omurga yoğunluğunu ve beyin bağlantısallığını etkileyerek OSB'ye özgü davranışsal ve bilişsel bozukluklara

katkıda bulunabilir. Bu nedenle PI3K/Akt/mTOR sinyal yoluna farmakolojik müdahale, potansiyel bir terapötik strateji olarak değerlendirilmektedir (Lipton ve Sahin, 2014; Thomas ve ark., 2023).

OSB'de anormal otofajik aktivasyon, yalnızca nörodejeneratif bozukluklarla değil, nörogelişimsel bozuklukları da içeren çeşitli merkezi sinir sistemi hastalıklarıyla ilişkilendirilmiştir. OSB'li bireylerin beyin dokularında otofaji belirteçlerinde bozulma olduğu ve otofaji eksikliği bulunan hayvan modellerinde OSB-benzeri sinaptik patoloji ve sosyal davranış anormallikleri gözlendiği bildirilmiştir (Ham ve ark., 2025; Onore ve ark., 2017). Bu bulgular, bozulmuş otofajinin OSB patogenezinde kritik bir rol oynadığını vurgulamaktadır ve otofajinin bazı OSB alt gruplarında ortak bir moleküler yolak olabileceğini düşündürmektedir (Tang ve ark., 2014).

Aktive olmuş mTORC1, otofaji bastırarak sinaptik budama süreçlerini inhibe eder; bu da gelişimsel dönemde gereksiz sinapsların yeterince ortadan kaldırılmamasına yol açabilir (Kim ve Guan, 2015; Thomas ve ark., 2023). mTORC1'in aşırı aktivasyonu hiperdendritik spin yoğunluğu ile beraber sinaptik budama defektleri ve sosyal davranış bozuklukları ile ilişkilendirilmiştir; mTOR inhibitörü rapamisin kullanımı bu anormallikleri model hayvanlarda düzeltmektedir (Tang ve ark., 2014).

mTOR sinyal yolağındaki dengesizlikler, sinaptik protein sentezi, translasyon kontrolü, dendritik spin morfolojisi ve AMPA reseptör havuzlarının düzenlenmesinde değişikliklere neden olabilir. Bunun sonucunda, normalde aktiviteye bağlı olarak ortadan kaldırılması gereken zayıf sinapsların kalıcılığı artar ve bu da eksitatör-inhibitör (E/I) dengesini bozan aşırı bağlantıya yol açmaktadır.

Bununla birlikte, mTOR yolundaki düzensizliğin OSB'de evrensel bir ortak mekanizma olup olmadığı ve bu yolun UDB ve AMPAR internalizasyon gibi spesifik süreçlerde kesin rolünün ne olduğu hâlen araştırılmaktadır. Örneğin bazı çalışmalar mTOR sinyalleşmesinin düşüklüğünü de OSB patolojisinde tanımlamış, bunun da sinaptik protein translasyonu ve devre stabilitesi üzerinde olumsuz etkileri olabileceğini göstermiştir (Nicolini ve ark., 2015). Bu heterojen bulgular, OSB'nin

moleküler etiyolojisinin çok boyutlu ve alt tiplere özgü olabileceğini düşündürmektedir.

2.5. VALPROİK ASİT

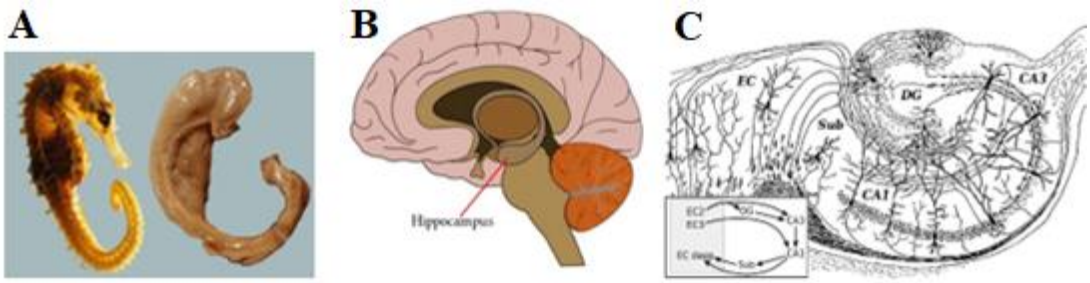
Kısa zincirli bir yağ asidi olan valproik asit (2-propylpentanoic acid; VPA), epilepsi ve bipolar bozukluğun tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır. Hücre içine kolaylıkla geçebilir, suda düşük, organik çözücülerde yüksek derecede çözünür ve oda sıcaklığında stabil kalabilmektedir (Kostrouch, 2007). Gebeliğin erken evrelerinde VPA kullanımı; özellikle nöral tüp defektleri, beyin dışı malformasyonlar, gelişimsel gecikmeler ve bilişsel yetersizlikler gibi doğumsal anomali riskinin anlamlı düzeyde artmasıyla ilişkilidir. Klinik çalışmalarda bildirilen bu bulgular, VPA kullanılarak otizm benzeri davranış fenotiplerinin oluşturulduğu sıçan ve fare modellerinin geliştirilmesine öncülük etmiştir (Mabunga ve ark., 2015).

Prenatal dönemde VPA'ya maruz kalan annelerin çocuklarında gözlenen nöral tüp kapanma bozukluklarının benzer şekilde farelerde de ortaya çıkması ile VPA-kemirgen modeli ouşturulmuş, otizmin nörobiyolojisini incelemek ve yeni terapötik ajanları taramak amacıyla yaygın biçimde kullanılan standart bir deneysel model haline gelmiştir. Kemirgenlerde prenatal VPA maruziyeti; azalmış sosyal etkileşim, artmış tekrarlayıcı davranışlar ve yükselmiş kaygı düzeyleri gibi davranışsal bozukluklarla birlikte, serebellar purkinje hücre sayısında azalma, serebellar çekirdeklerde hasar ve kortikal sinaptik organizasyonda değişiklikler gibi nöroanatomik bozukluklarla ilişkilendirilmiştir. Bu nöroanatomik ve davranışsal bulguların, insan OSB'sinde gözlenen özelliklerle paralellik göstermesi modelin geçerliliğini desteklemektedir. Ayrıca yüksek dozda akut VPA maruziyetinin; beyin ağırlığında azalma, kortikal tabaka kalınlığında artış ve prefrontal ile somatosensoriyel korteksin yanı sıra hipokampusta hücre yoğunluğunda artış gibi yapısal değişiklikler oluşturduğu bildirilmiştir (Nicolini ve Fahnestock, 2018)

2.6. HİPOKAMPÜS

Hipokampüs, öğrenme ve hafıza süreçlerinin nörobiyolojik temellerini inceleyen çalışmalarda merkezi bir yapı olarak kabul edilmektedir. Temporal lob içinde

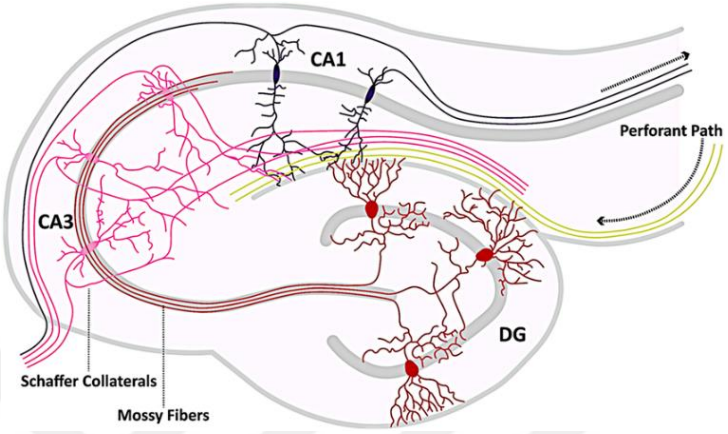
konumlanan hipokampüsün bu alandaki önemi, 1957 yılında ilaçla kontrol edilemeyen epilepsiyi tedavi etmek amacıyla medial temporal lobun cerrahi olarak çıkarılması sonrasında hastanın yeni anılar oluşturma yetisini kaybetmesiyle klinik olarak ortaya konmuştur. Bu vaka, hipokampüsün deklaratif bellek oluşumundaki rolünü ilk kez açık biçimde göstermiş ve UDG gibi sinaptik plastisite mekanizmalarının keşfine zemin hazırlamıştır (C. Wang ve ark., 2014). Anatomik olarak hipokampüs; dentat girus (DG), Cornu Ammonis (CA1–CA3), subikulum ve entorhinal korteks gibi birbirine bağlı alt bölümlerden oluşur ve bu formasyon medial temporal lobun inferior bölümünde konumlanır (Chauhan ve ark., 2021; Keary ve ark., 2023). Hipokampal formasyonun bu organizasyonu sadece bellek süreçlerinin nörofizyolojik temelini oluşturmamakta, aynı zamanda sinaptik bağlantıların düzenlenmesi ve bilgi akışının yönlendirilmesi açısından da kritik öneme sahiptir.



Şekil 2.13. Hipokampusun morfolojisi, anatomik lokalizasyonu ve devre organizasyonu. **A)** Hipokampusun denizatı benzeri morfolojik görünümü ve embriyonik gelişim sırasında oluşan karakteristik kıvrımlı yapısı. **B)** İnsan beyninin sagittal kesitinde hipokampusun medial temporal lob içerisindeki konumu. **C)** Hipokampal trisinaptik devrenin şematik gösterimi: Entorhinal korteksten (EC) dentat girusa (DG) perforan yol ile giriş; DG'den CA3 bölgesine yosunsu fiber projeksiyonları, CA3'ten CA1'e Schaffer kollateralleri; CA1'den subikuluma (Sub) ve tekrar entorhinal kortekse çıkış bağlantıları. Bu organizasyon, hipokampusun öğrenme ve bellek süreçlerindeki temel sinaptik iletim yolunu oluşturur.

Hipokampal bölgelerde nöronal çeşitlilik belirgindir; CA1-CA3 alanlarında apikal ve bazal dendritlere sahip piramidal nöronlar baskınken DG'ta koni biçimli dendrit ağaçları bulunan granüler nöronlar yer alır (Weerasinghe-Mudiyanselage ve ark., 2022). Bu yapısal farklılıklar hipokampüsün bilgi kodlama stratejilerine yansır. Örneğin entorhinal korteksten perforan yol aracılığıyla DG'ye ulaşan girdiler yosunsu fiber bağlantılarıyla CA3 bölgesine, oradan da Schaffer kolateralleri

üzerinden CA1'e aktarılır ve son aşamada yeniden entorhinal kortekse iletilerek "trisinaptik döngü" olarak bilinen devreyi tamamlar (Wang ve ark., 2014). Bu devrenin işlevsel çıktıları hafıza oluşumu, geri çağırma ve uzamsal navigasyon süreçlerinde temel rol oynar (Şekil 2.14).



Şekil 2.14. Hipokampüste perforan yolak şeması (Leifeld ve ark., 2022).

Hipokampüs aynı zamanda çevresel uyaranların bilişsel temsillerini ayrıştırma kapasitesi olan örüntü ayrıştırma ile ilişkilidir; DG'nin birbirine benzer girdileri ayrıştırarak farklı sinaptik aktivite desenlerine dönüştürdüğü gösterilmiştir. DG ayrıca yetişkin dönemde nörogenezin sürdüğü nadir beyin bölgelerinden biridir ve bu süreç yeni nöronların fonksiyonel devrelere entegrasyonu yoluyla bellek ve duygusal süreçlerde rol oynayabilir (Jonas ve Lisman, 2014).

Sinaptik plastisite hipokampüsün temel işlevsel özelliklerinden biridir. CA1–CA3 devresinde indüklenen UDG, sinaptik etkinliğin uzun süreli artışıyla ilişkilendirilmiş olup öğrenme ve bellek süreçlerinin model sistemlerinden biri olarak kabul edilirken; mGluR-UDB, sinaptik etkinliğin azaltılması ve devre rafinasyonunun sağlanması açısından kritik bir mekanizmadır (Wang ve ark., 2014). Dendritik dikenlerdeki hacim ve morfoloji değişikliklerinin UDG ile artış, UDB ile azalma yönünde eşlik ettiği gösterilmiş olup bu süreçlerde aktin iskeleti dinamiklerinin belirleyici olduğu bildirilmektedir (Weerasinghe-Mudiyanselage ve ark., 2022). Bu veriler, hipokampal plastisitenin yapısal ve moleküler düzeyde entegre bir mekanizma olduğunu ortaya koymaktadır. Sonuç olarak hipokampüs, anatomik organizasyonu, nöronal çeşitliliği ve sinaptik plastisite özellikleri ile öğrenme, bellek ve bilişsel işlevlerin

nörobiyolojik temelini oluşturan en kritik yapılardan biri olarak değerlendirilmektedir.

2.6.1. Hipokampüs ve UDB

Öğrenme ve belleğin merkezindeki kritik yapılardan biri olan hipokampus, pek çok plastisite formunun ortaya çıktığı bir bölgedir ve burada özellikle UDB mekanizmalarının davranışsal çıktılarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Nitekim hipokampusa bağlı işlevlerde mGluR-bağımlı UDB'nin mekansal gezinme, korku belleği ve davranışsal esneklik gibi kognitif süreçlerde rol oynadığı bildirilmiştir (Keary ve ark., 2023).

Hipokampal nöronlarda mGluR-UDB, genellikle perforan yolağın uzun süreli düşük frekanslı uyarımı (1–3 Hz; 5–15 dk) veya Grup I mGluR agonisti R, S-dihidroksifenilglisin (DHPG)'in kısa süreli uygulanması (5–15 dk) ile indüklenmektedir. Bu plastisite formu hem dilim preparatlarında hem de kemirgenlerde yapılan in vivo elektrofizyolojik deneylerde tekrar eden şekilde gözlemlenmiştir. Ayrıca düşük frekanslı eşleşmeli uyarımlar (1 Hz, 50 ms aralık; PP-DFU) da mGluR1/5 aktivasyonu yoluyla benzer şekilde UDB oluşturabilmektedir. Bu bağlamda PP-DFU ile indüklenen UDB'nin yalnızca mGluR1/5 antagonistlerinin uygulanması ile engellenebilmesi, söz konusu plastisite formunun mGluR1/5'e bağımlı olduğunu açıkça göstermektedir (Lüscher ve Huber, 2010).

OSB'li bireylerde hipokampal işlevi doğrudan inceleyen çalışma sayısı görece az olmakla birlikte, mevcut literatür hipokampal aktivite ve bağlantısallıkta anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir. Yapısal MRI ve fonksiyonel görüntüleme çalışmalarının kombinasyonunu içeren araştırmalar, OSB'li bireylerde hipokampüs hacminde, kortikal tabaka kalınlığında ve dendritik spine morfolojisinde atipik değişikliklerin sıklıkla rapor edildiğini ortaya koymuştur (Nicolini ve Fahnestock, 2018). Bu bulgular, hipokampal nöronal yapının sadece hacimsel olarak değil aynı zamanda mikroanatomik düzeyde de farklılaştığını düşündürmektedir.

Fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme (fMRI) ile yapılan çalışmalarda, OSB'li bireylerde epizodik bellek testi sırasında hipokampal aktivitenin bütüncül beyin

ağlarındaki bağlantısallığının yaygın biçimde azaldığı bulunmuştur. Bu durum özellikle hipokampal–prefrontal ve hipokampal–parietal bağlantıların zayıflığı ile ilişkilendirilmiştir; bu da hem bellek performansında hem de bilişsel esneklik ve dikkat süreçlerinde ortaya çıkan performans düşüklüğüne katkıda bulunabilir (Banker ve ark., 2021). Buna karşılık dinlenim hâlindeyken, hipokampusun işlevsel bağlantısının daha güçlü olduğu ve atipik hiper-bağlantısallığın görüldüğü rapor edilmiştir (Washington ve ark., 2014). Bu konsolidasyon anormalliği, hipokampal aktivitelerin öğrenmeye bağlı modifikasyonları uygun şekilde düzenlenmesini engelleyebilir.

OSB'de hipokampal işlev bozuklukları yalnızca bellek süreçleriyle sınırlı değildir; aynı zamanda sosyal biliş, duygusal işleme ve mekansal bellek gibi alanlarda da kritik roller üstlenen bu yapının fonksiyonel bütünlüğü bozulmuştur. Örneğin sosyal etkileşim görevleri sırasında hipokampal aktivitenin tipik artışı, OSB'li bireylerde ya zayıf ya da düzensizdir; bu da sosyal bağlamda anı ve çevresel ipuçlarını entegre etme becerisini zayıflatabilir (Rudie ve ark., 2013). Aynı şekilde, mekansal hafıza ve yön bulma görevlerinde hipokampal ilişkilendirme OSB grubunda farklılaşmıştır; bu farklılıklar, davranışsal ölçümlerle anlamlı korelasyonlar göstermiştir (Banker ve ark., 2021).

Hipokampal işlev bozuklukları OSB'nin yalnızca bilişsel ve sosyal yönleriyle değil, aynı zamanda nörofizyolojik ağ organizasyonu ile de ilişkili görünmektedir. Örneğin EEG ve fMRI dinlenim çalışmalarında hipokampal bölgenin gama ve teta dalga aktivitesinde atipik paternler bildirilmiş; bu da özellikle uzamsal bellek kodlama ve geri çağrımı ile ilişkilidir. Ayrıca, hipokampal bağlantı bozukluklarının nöronal etkileşimlerde eksitatör-inhibitör dengesizlikleriyle (E/I dengesizliği) bağlantılı olduğu ileri sürülmekte; bu durum hem moleküler hem de devre düzeyinde OSB'nin fenotipik heterojenliğine katkıda bulunabilir (Rubenstein ve Merzenich, 2003).

Sonuç olarak, OSB'li bireylerde hipokampal bağlantı ve işlev bozuklukları, hem bellek, sosyal davranış ve öğrenme süreçlerinin kesintiye uğramasına hem de hipokampal merkezli ağ modifikasyonlarının atipik hale gelmesine yol açmaktadır. Bu bulgular, OSB'nin nörobiyolojik temellerini anlamak için hipokampal bağlantısallık çalışmalarının önemini bir kez daha vurgulamaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

VPA; Sigma-Aldrich, P4543.

Western Blot yöntemi için kullanılan sarf malzemeler; Trisma base; Sigma, Glycine; Sigma, Sodium dodesil sulphate; Biorad, Readygel-4-15 %, Ready Gel, Tris-HCL; Sigma, Sodium Cloride, Tween 20; Sigma, Nonfat dry milk; Biorad, Western ECL substrate; Thermo, 2-mercaptoethanol; Sigma, Methanol (Alkol metilico); Merc, Immun-Blot PVDV- Membrane for protein blotting; Biorad, Phosphatase reaction buffer, Sigma 4x laemli buffer; Biorad, DC protein assay reagent a+b kit; Biorad, Primer Antibody (Tablo 3.1), Sekonder Antibody Anti Mouse, Anti Rabbit.

Tablo 3.1. Kullanılan antibody listesi ve dilüsyon oranları.

Antikor	**Marka**	**Dilusyon Oranı**
Anti-GluA2	Cell Signaling Technology	1:1000
Anti-GluA1	Santa Cruz Biotecnology, INC.	1:1000
Anti-Sinapsin 1	Cell Signaling Technology	1:1000
Anti-p-Sinapsin (ser9)	Cell Signaling Technology	1:1000
Anti-PSD95	Cell Signaling Technology	1:1000
Anti-b-Aktin	Santa Cruz Biotecnology, INC.	1:1000

Demirbaş malzemeler: Faraday kafesi, Pipet ucu hazırlama cihazı, Nichiryo Mikropipet, stereotaksik çatı (David Kopf Instruments), ince uçlu matkap (FM3545), P50 tüp 25µl Hamilton şırıngası, Head-Stage ön yükseltici (Physiologic Ins. VCC60C), Tujuna, CA Sigma Santrifüj cihazı, Scilogex Doku parçalayıcı, Heidolph Vortex cihazı, Perfect Spin, Bio-Spec Nano Spectrophotometer, Grainer Ependorf tüp, – 20 °C Blok, + 4 °C Blok, Siemens Buzdolabı, Siemens -80°C dolap, Etüv (NUVE), Soğutmalı santrifüj ve cerrahi malzemeler kullanılmıştır.

3.2. YÖNTEM

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimi tarafından **TDK -2024-13753** kodlu proje ve **TÜSEB A4-02 42554** kodlu proje ile desteklenmiştir. Çalışma Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulunun 06.03.2024 tarih ve 24/047 sayılı onayı ile gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada Wistar Albino türü sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir. Sıçanlar herhangi bir kısıtlama yapılmaksızın musluk suyu ve standart sıçan yemi ile beslenmiş ve sabit çevre koşullarında ortam sıcaklığı 25 ± 3 ^{0}C, sabit bağıl nem %50-60 ve 12 saat aydınlık, 12saat karanlık döngüsü olacak şekilde 42 x 24 x 19cm'lik plastik kafeslere (her bir kafeste 4 sıçan) yerleştrilmiştir. Çalışmada etik ilkelere özen gösterilerek gereksiz deney hayvanı kullanmamaya dikkat edilmiştir.

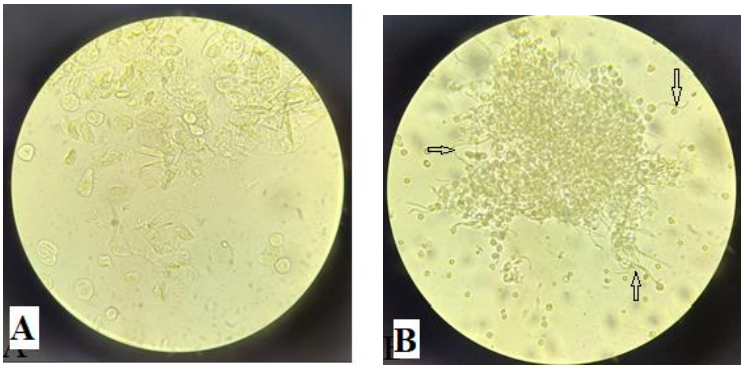
Davranış deneylerinin öğrenme süreci içermesinden dolayı çalışmada elektrofizyoloji deneyleri ve davranış deneyleri için ayrı hayvanlar kullanılmıştır. Davranış deneylerinde kullanılacak hayvan sayısını belirlemek için ön çalışma yapılmış ve Power Analiz Testi sonucunda her bir grup için 16 hayvan kullanılması gerektiği belirlenmiştir. Buna göre davranış deneyleri VPA grubu (n=16) ve Kontrol Grubu (n=16) olmak üzere 2 grup olarak oluşturulmıştur. Elektrofizyoloji deneyleri için ise bütün gruplarda PP-UDB indüklenmek üzere VPA Sf, Kontrol Sf ve antagonist infüze edilen VPA Ant, Kontrol Ant grubu olarak 4 grup oluşturulmuştur. Deney grupları Şekil 3.1'de gösterilmiştir.

<table>
<tr><th colspan="3">DAVRANIŞ DENEYLERİ</th></tr>
<tr><td colspan="2">Kontrol (n=16)</td><td rowspan="2">• Gelişimsel parametrelerin takibi
• VPA'lı modellerde gözlemlenen davranış fenotipleri için testler
• Bellek performansı</td></tr>
<tr><td colspan="2">VPA (n=16)</td></tr>
<tr><th colspan="3">ELEKTROFİZYOLOJİ DENEYLERİ</th></tr>
<tr><td rowspan="2">Kontrol</td><td>Kontrol Sf (n=12)</td><td>İntrahipokampal Sf inf. (20µl, 60 dk)</td></tr>
<tr><td>Kontrol Ant (n=12)</td><td>İntrahipokampal Ant inf. (20µl, 10µM- 60 dk)</td></tr>
<tr><td rowspan="2">VPA</td><td>VPA Sf (n=12)</td><td>İntrahipokampal Sf inf. (20µl, 60 dk)</td></tr>
<tr><td>VPA Ant (n=12)</td><td>İntrahipokampal Ant inf. (20µl, 10µM- 60 dk)</td></tr>
</table>

Şekil 3.1. Deney grupları şeması. Davranış deneyleri Kontrol ve VPA (prenatal VPA uygulanan) gruplar, elektrofizyoloji deneyleri Sf infüze edilen Kontrol Sf ve VPA Sf grubu, Antagonist infüze edilen Kontrol Ant ve VPA Ant grubu.

3.2.1.Valproik Asit ile Otizm Modelinin Oluşturulması

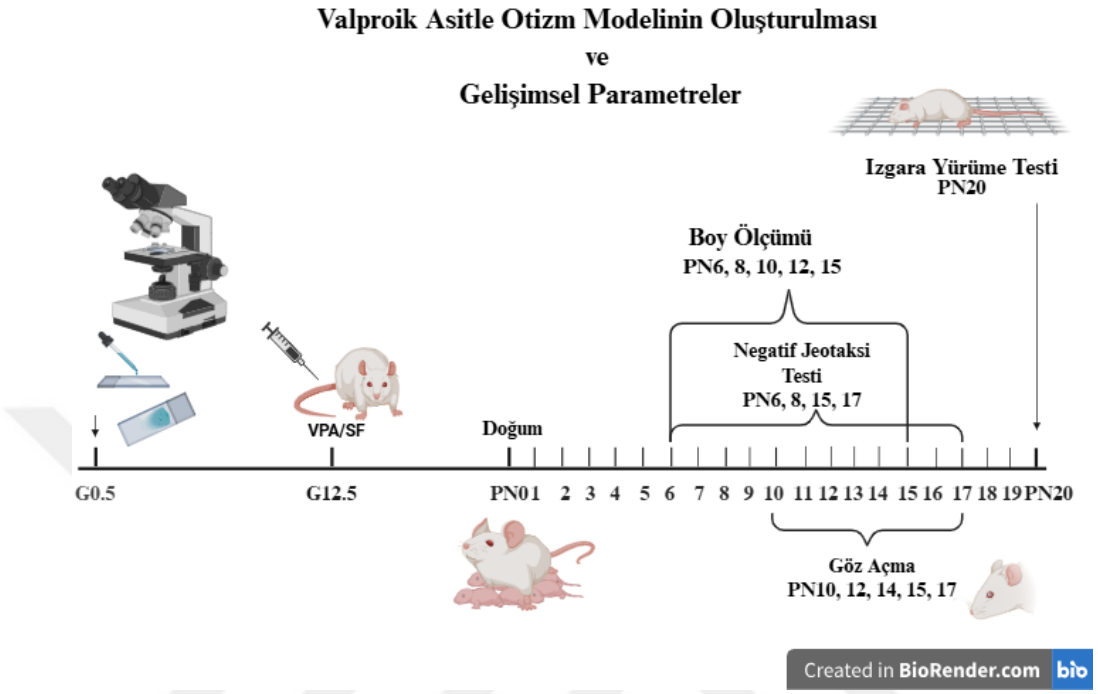
Valproik asit uygulaması için nöronal tüpün kapanma zamanı olan gebeliğin 12.5ncu günü kritik önem arz ettiğinden gebeliğin takibi çok önemlidir. Bu nedenle sıçanlar çiftleştirilmeden önce vajinal yaymada östrus evrelerine bakılmış, eğer östrus fazında ise 2 dişi sıçan, 1 erkek sıçanla aynı kafese alınmıştır. Dişi sıçanlarda vajinal tıkaç oluşumu gözlemlenmiş ve ayrıca vajinal yaymada sperm görülerek gebelik doğrulanmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Çiftleşme öncesi vajinal yaymada östrus evresinde kornifiye epitel hücreler (40X) (A), Çiftleşme sonrası vajinal yaymada görülen sperm hücreleri (40X) (B).

Bu doğrulama zamanı gebeliğin 0.5nci günü olarak kabul edilmiş ve dişiler erkeklerden ayrılmıştır. Gebeliğin 12.5ncu günü ise intraperitoneal 500 mg/kg

valproik asit (VPA, SF'de çözdürülmüştür) tek enjeksiyon olarak uygulanmıştır (Qi ve ark., 2021).



Şekil 3.3. VPA ile otizm modelinin oluşturulması ve takip edilen gelişimsel parametreler.

3.2.2. Gelişimsel Parametrelerin Takibi

Gebeliği doğrulanan anneler günlük takip edildi ve doğum sonrası 0. gün (PN0 = postnatal 0. gün) olarak kabul edildi. Yavrular anne ile aynı kafeste 28. güne kadar birlikte tutuldu, 28. gün anneden ayrı bir kafese alınarak sütten kesildi. Doğumdan PN60. güne kadar sıçanların gelişimleri, malformasyonları, motor koordinasyonları takip edildi (Şekil 3.3).

3.2.2.1. Ağırlık ve boy ölçümleri

PN7 den başlayarak, haftalık olarak vücut ağırlığı takip edildi ve PN6, PN8, PN10, PN12 ve PN15. günlerde boy uzunluğu (burundan kuyruk dibine kadar) ölçülerek büyüme ve gelişmeleri takip edildi.

3.2.2.2. Konjenital malformasyonlar

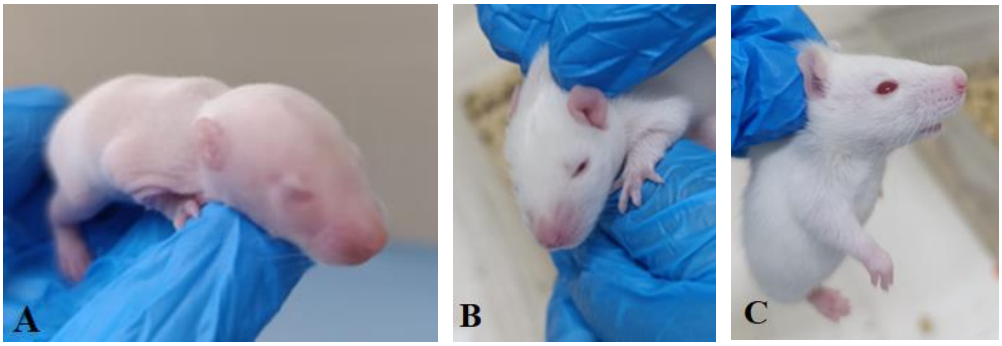
VPA ile oluşturulan otizm modelinde sıklıkla görüldüğü bildirilen kuyruk malformasyonları değerlendirildi (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Prenatal VPA maruziyeti olan sıçanlarda görülen kuyruk çarpıklıkları.

3.2.2.3. Göz açma skoru

Yeni doğan sıçan yavrularının gözleri kapalıdır ve PN7- PN10ncu gün arasında açılır. Böylece görme korteksi olgunlaşmaya başlar ve görme ile derinlik algısı, navigasyon, çevre ile iletişim sağlanır.VPA uygulanan annelerin yavrularında sağlıklı anne yavrularına göre göz açma zamanının 1-2 gün geç açıldığı bildirilmiştir (Chomiak ve ark., 2010). Bunun nedeni olarak VPA'nın etkisiyle kortikal olgunlaşmanın gecikmesi gösterilmişitr. Çalışmamızda bu test Demaestri ve ark. nın uyguladığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Buna göre PN10, PN12, PN14, PN15, PN17. günlerde yavru sıçanlar kısa bir süre için alınarak açık gözlerin açıklığı değerlendirildi. Her bir göz ayrı olarak değerlendirilerek kapalı göz 0, yarı açık göz 0,5 ve tam açık göz 1 olarak skorlandı (Demaestri ve ark., 2020) (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Prenatal VPA maruziyeti olan sıçanlarda göz açma zamanı belirleme. Kapalı göz (A), yarı açık göz (B) ve tam açık göz (C).

3.2.2.4. Negatif Jeotaksi (NJ) Testi

NJ testi yer çekimine karşı oluşan sensorimotor koordinasyonun yeterliliğini ölçmek için kullanılan refleks bir yanıttır (Ruhela ve ark., 2019). Çalışmamızda NJ testi Ruhela ve ark. (2019) kullandığı yönteme göre PN6, PN10, PN15 ve PN17. günlerde 12,5x45 cm boyutunda ve 45° eğik bir platforma başı aşağıya yönelecek şekilde yerleştirildi (Şekil 3.6). Yavru sıçanın ekseni etrafında 180° dönmesi için geçen süre (dönme latansı) el kronometresi ile hesaplanmştır. Bir dakikalık süre içerisinde ekseni etrafında dönmeyen sıçanlarda bu süre 60 sn olarak kabul edildi. Bir dakikalık süre içerisinde platformdan düşen yavrular, tekrar platform yerleştirilecek ve düşme sayıları not edildi.



Şekil 3.6. Yavrularda negatif jeotaksi testi.

3.2.2.5. Izgara Yürüme Testi

Otizm davranışsal anormallikler yanı sıra motor gelişim geriliği ile de karakterizedir (Ozonoff ve ark., 2008). Bu test sırasında, 45x55 cm boyutunda, ızgara tel kalınlığı

2,5 cm ve ızgara boşluk alanları 6,25 cm^2 olan yatay tel ızgara kullanıldı. Tel ızgara üzerine konan yavrunun 1 dakika süreyle yürümesine izin verildi ve yaptıkarı ayak hataları (ızgara boşluğuna basma) sayıldı (Şekil 3.7)

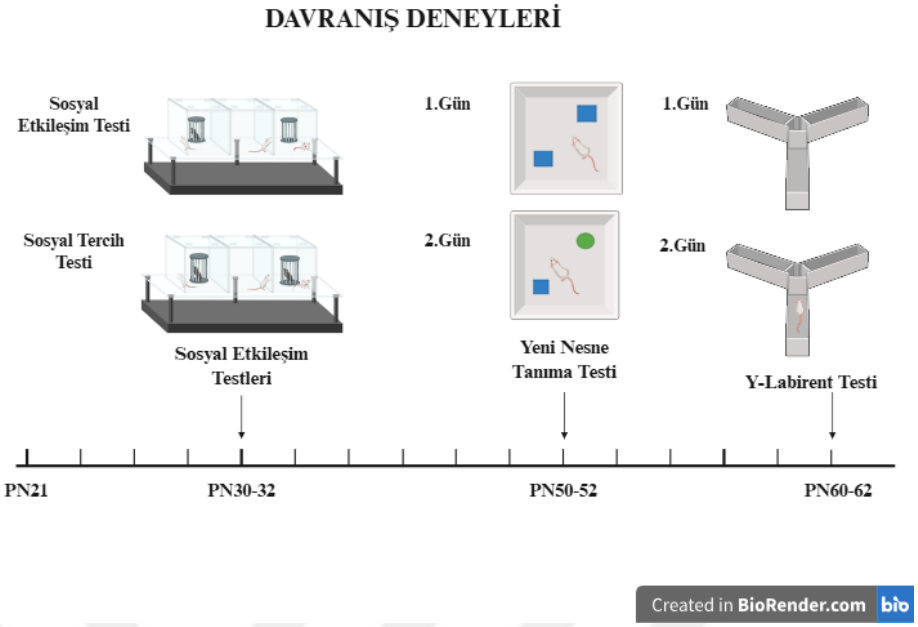


Şekil 3.7. Yavrularda ızgara yürüme testinin uygulaması.

Kontrol grubu yavrularda pençelerini tam olarak tel ızgara üzerine yerleştirmeleri ve tel boyunca hareket ettirmeleri; hiç veya çok az hata yapmaları ve yaptıklarında da bu hataların sağ ve sol ayak için eşit olması beklenir. Motor gelişme geriliği gösteren sıçanlar ise pençelerini tel ızgaranın boşluklarına koyarak "ayak hatası" yaparlar.

3.2.3. Davranış Deneyleri

Prenatal VPA maruziyeti olan sıçanlarda otistik davranışların varlığını tespit etmek ve bellek fonksiyonlarını test etmek açısından Sosyal Etkileşim Testleri, Yeni Nesne Tanıma Testi ve Y-Labirent testi yapıldı (Şekil.3.8). Kayıtlar Noldus Programı, Ethovision 18 ile yapıldı.



Şekil 3.8. Davranış testleri şeması.

3.2.3.1. Sosyal Etkileşim Testleri

Crawley'in (Crawley, 2004) üç odacıklı test olarak da adlandırılan sosyal etkileşim testi basit ama objektif puanlama imkanı veren ve birçok otizm hayvan modelinde sıklıkla kullanılan bir testtir (Jabarin ve ark., 2022). Test için 120x40x40 cm boyutunda üç bölmeli pleksiglastan yapılmış düzenek kullanılmıştır (Şekil 3.9). Düzenek sağ, sol ve orta bölme olmak üzere, hayvanın bölmelere rahat geçiş yapacak büyüklükte kapılardan oluşmaktadır. Sağ ve sol bölmelerde ise kafesler bulunmaktadır.



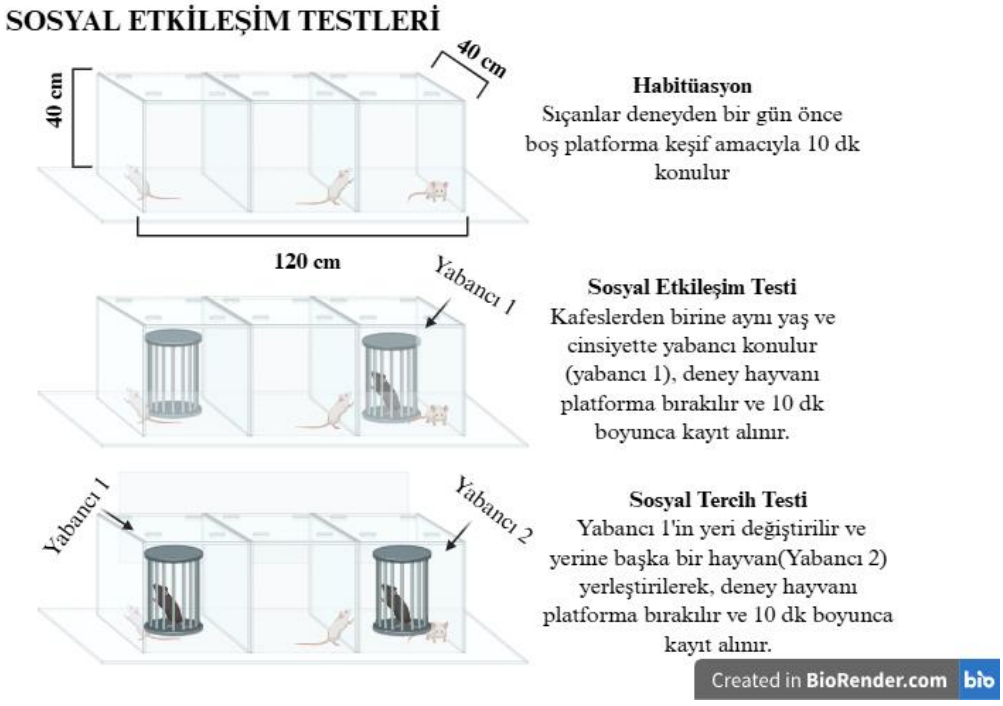
Şekil 3.9. Fizyoloji Ana Bilim Dalında kullanılan sosyal etkileşim test platformu.

Test üç aşamalıdır:

1.Habitüasyon: İlk aşamada test sıçanı, kafesler boş ve kapılar kapalı iken orta bölmeye bırakıldı, daha sonra kapılar açılarak serbestçe 3 dk keşfetmesine müsaade edildi, habitüasyon sağlandı.

2. Sosyal Etkileşim Testi: İkinci aşamada sağdaki boş kafese sıçanlarla aynı yaş, aynı cins, farklı kafes ve farklı anne babadan olan bir sıçan yerleştirilerek (yabancı 1) kapılar kapalı iken test sıçanı orta bölmeye konuldu. Kapılar açılıp 10 dk serbest bırakılarak test sıçanının sosyalleşme performansı ölçüldü. Test sıçanı düzenekten alındı.

3. Sosyal Tercih Testi: Testin bu aşamasında yabancı 1 sıçanı sol kafese alınarak yine aynı yaş ve aynı cins başka bir sıçan (yabancı 2) sağ kafese konuldu. Test sıçanı 5 dk dinlendirildikten sonra kapılar kapalı iken orta bölmeye bırakıldı ve kapılar açıldı. 10 dakika boyunca serbestçe dolaşmasına izin verilerek test sıçanın sosyal tercihi (tanıdık/yabancı) kaydedildi (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. Sosyal etkileşim testleri deney şeması.

3.2.3.2. Yeni Nesne Tanıma Testi

Sonunda ödüllendirme olmadan, yalnızca hayvanların keşif davranışına dayalı olarak tanıma hafızasını ölçen bir testtir. VPA'lı otizm modellerinde tanıma belleğinin bozulduğu bilinmektedir (Grayson ve ark., 2015).



Şekil 3.11. Fizyoloji Ana Bilim Dalında kullanılan yeni nesne tanıma platformu ve kayıt alınması.

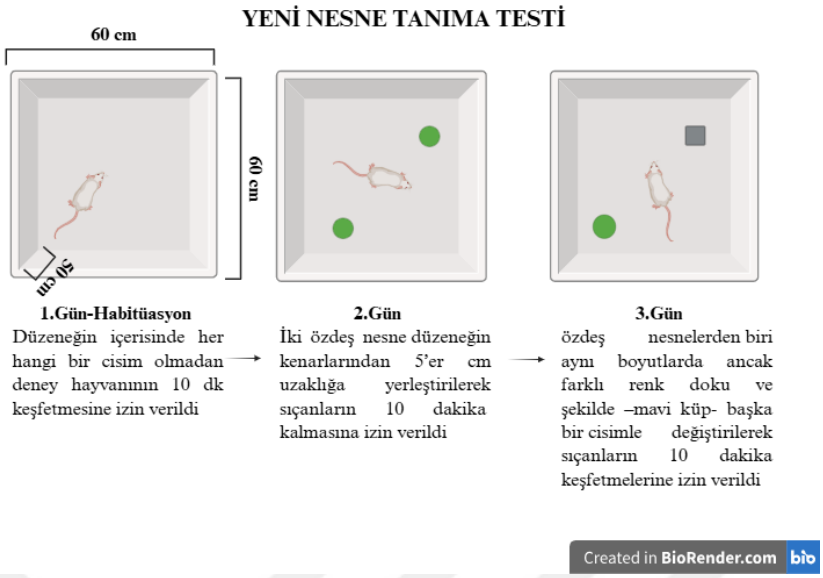
Yeni nesne tanıma testi 3 ayrı aşamadan oluşmaktadır.

1.gün: sıçanlar 60x60x50 cm ölçülerindeki düzeneğe, içinde herhangi bir cisim olmadan bırakıldı, 10 dk boyunca keşfetmesine izin verilerek alışma-habitüasyon sağlandı.

2.gün: silindir şeklinde iki özdeş nesne düzeneğin kenarlarından 5'er cm uzaklığa yerleştirilerek sıçanların 10 dakika kalmasına izin verildi.

3.gün: özdeş nesnelerden biri aynı boyutlarda ancak farklı renk doku ve şekilde – mavi küp- başka bir cisimle değiştirilerek sıçanların 10 dakika keşfetmelerine izin verildi.

Burnu kullanarak ya da ön pençeleri ile temas etmesi keşif olarak kabul edildi. Yeni nesne alanına giriş sayısı, yeni nesne alanında geçirilen süre kaydedildi (Şekil 3.11).



Şekil 3.12. Sıçanlarda yeni nesne tanıma testi şeması.

3.2.3.3. Y-Labirent Testi

"Y" şeklinde birbiri ile birleştirilmiş 50x10x15 cm ebatında 3 eş koldan oluşan sıçanların uzamsal hafızasını ölçmek amacıyla kullanılır.



Şekil 3.13. Fizyoloji Ana Bilim Dalında kullanılan Y-labirent test platformu ve kayıt alınması.

A, B ve C kolu olarak her bir kol isimlendirilmiş ve çevreye öğrenebilecekleri geometrik şekiller asılmıştır.

Test iki aşamadan oluşmaktadır.

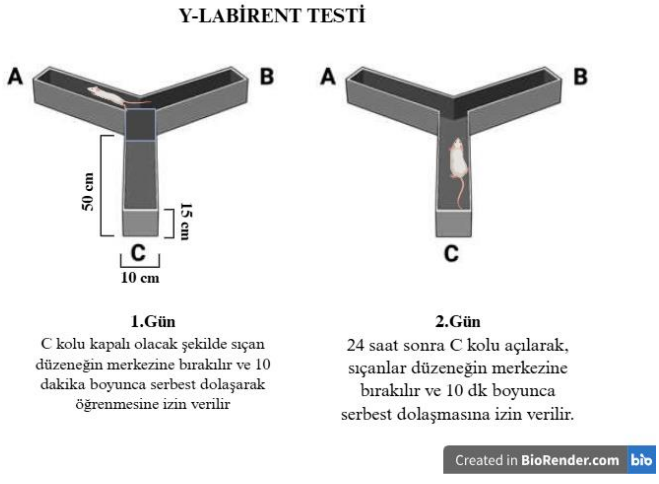
1.gün: C kolu kapalı olacak şekilde sıçan düzeneğin merkezine bırakıldı ve 10 dakika boyunca serbest dolaşarak öğrenmesine izin verildi. Hayvanın A ve B kollarını keşfetmesi beklendi.

2. gün: 24 saat sonra C kolu açılarak, sıçanlar düzeneğin merkezine bırakıldı ve 10 dk boyunca serbest dolaşmasına izin verildi.

Hayvanların 4 pençesi ile bir kolda bulunması o kola giriş olarak değerlendirildi ve tüm kollara girişin yüzdesi olarak ifade edildi (Şekil 3.13). Alternasyon oranı, yeni kola giriş yüzdesi ve yeni kolda geçirilen süre, hız (cm/sn) ve kat edilen mesafe değerlendirildi.

Alternasyon, hayvanın ardışık üç girişte üç farklı kola girmesi olarak değerlendirildi ve hesaplama aşağıdaki şekilde yapıldı.

$$\text{Alternasyon (\%)} = \frac{\text{Gerçekleşen alternasyon sayısı}}{\text{Toplam mümkün alternasyon sayısı}} \text{X100}$$



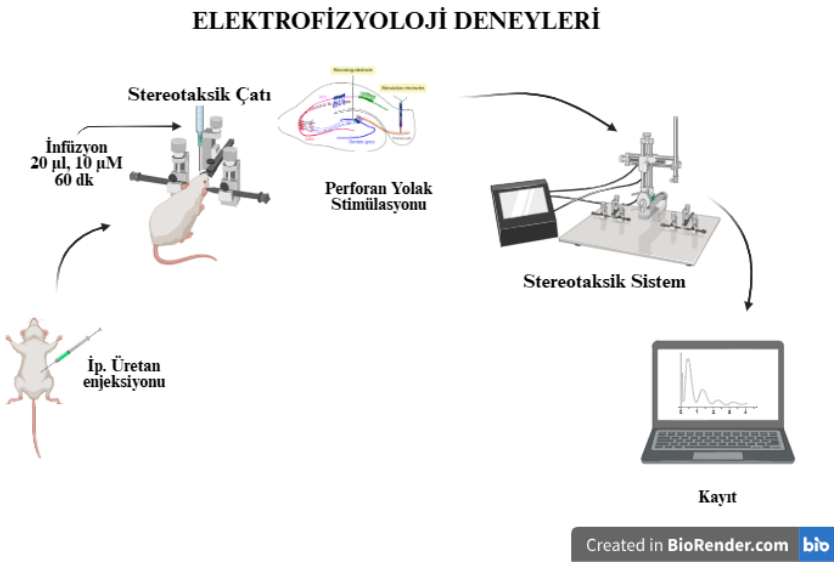
Şekil 3.14. Y-Labirent testi uygulama şeması.

3.2.3.4. Davranış Testleri İstatistiksel Analiz

Sosyal etkileşim testi ve yeni nesne tanıma testi için grupların yabancı ve yeni nesneye gitmesi ile ilgili veriler eşleştirilmiş tek örneklem t testi ile karşılaştırıldı. Hız, katedilen mesafe, soyallik indeksi sonuçları bağımsız örneklem t testi ile değerlendirildi. Y-labirent testi için gruplar bağımsız örneklem t testi ile kıyaslandı. Non-parametrik veriler Mann Whitney U testi ile kıyaslandı.

3.2.4. Elektrofizyolojik Deneyler

2 aylık sıçanlar 1,2g/kg üretan ile intraperitoneal (gerektiğinde ek doz 0,1-0,2 mg/kg) anestezi altında (Ahnaou ve ark., 2020) stereotaksik çatıya (David Kopf Instruments, Tujuna, CA), kulak ve ağız çubukları vasıtasıyla sabitlenerek yerleştirildi (Şekil 315).



Şekil 3.15. Elektrofizyoloji deney şeması.

Kulak çubukları ağız çubuğunun orta hattına eşit mesafede ayarlandı ve cerrahi prensiplere uygun olarak kafa derisine orta hat çizgisi atıldı. Kranyuma ulaştıktan sonra fasial doku uzaklaştırılarak bregma işaretlendi. Sağ hemisferin kranyumu ince uçlu matkap (FM3545) kullanılarak oval bir şekilde açıldı ve kafatası parçası çıkarıldı. Dura mater ince bir pens yardımıyla uzaklaştırıldı (Şekil 3.16).



Şekil 3.16. Kranyumun açılarak Dura materin uzaklaştırılması.

Sıçan atlasından (Paxinosand Watson, 1998) perforan yol ve DG için hesaplanan koordinatlara uyarıcı ve kaydedici elektrotlar yerleştirildi. Bipolar uyarıcı elektrot (SS-NE-100: Teflon kaplı, paslanmaz çelik, 127 µm çaplı, ucunun yüzeyi izole edilmiş) koordinatları bregmaya göre: Anteriyor- Posteriyor (AP): 6,5 mm, Medial-Lateral (ML): 3,8 mm olacak şekilde yerleştirildi. Uyarıcı elektrodun iki kutbu düşük dirençli kablolar ile bir uyarım izolatörüne (A385, World Precision Instruments, USA) bağlandı. Kaydedici elektrot yerleştirilmeden önce iki kanallı ve uzunluğu 10mm olan boroksillenmiş kapiller cam pipet mikropipet çekici (SutterIns Coop. P-30) aracılığı ile hazırlandı. Kanallardan birine 3M konsantrasonda NaCl doldurulurken diğerine infüzyon maddesi (MTEP+JNJ veya SF) ile dolduruldu. İnfüzyon maddesi doldurulan kanal bir P50 tüp ile 25µl hacimli Hamilton şırıngasına bağlandı. NaCl ile doldurulan diğer kanala ise bir Ag/AgCl elektrot yerleştirildi. Koordinatları Bregmaya göre AP: 3,00 mm, ML: 2,13 mm olacak şekilde yerleştirildi. Bu kayıt elektrodu alan potansiyellerinin kaydı için Head-Stage ön yükseltici ile (Physiologic Ins. VCC60C) bir akım yükselticisine bağlandı (Şekil 3.17). Elektrik puls uyarımı, uyarı-izolasyon ünitesi kullanılarak (World Precision Ins. A385) üretilen puls akımlar düşük dirençli kablolar ile uyarıcı elektrota iletildi. Uyarının tetklenmesi ve biyolojik yanıt bir A/D çevirici içeren bilgisayar sisteminde (Scope) sayısal verilere dönüştürülerek görüntülendi.



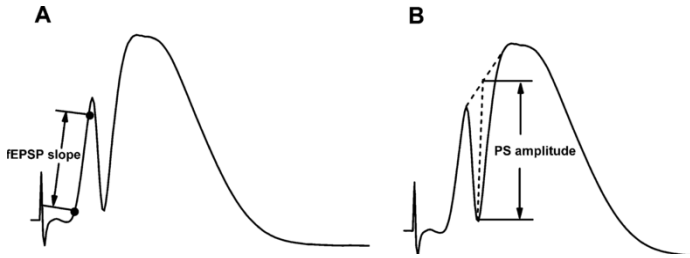
Şekil 3.17. Hayvanların stereotaksik çatıya yerleştirilmesi ve elektrotların yerleşimi.

Hem uyarıcı hem de kayıt elektrotu, eksitatör post sinaptik potansiyel (EPSP) olarak tanımlanan pozitif yönlü bir sapmayı takip eden ve populasyon spike (PS) olarak tanımlanan maksimum negatif (-) yönlü sapma elde edilene kadar derin yapılara inildi. Tipik yanıt elde edilmeye başlandığında elektrotların derinlikleri 0,1mm artırılarak en büyük cevap elde edildi. fEPSP, hipokampusta presinaptik liflerin uyarılmasıyla, yakınlardaki birçok postsinaptik nöronun dendritlerinde eşzamanlı olarak oluşan eksitatör postsinaptik potansiyellerin oluşturduğu alan potansiyelinin hızlı yükselen bileşenidir. fEPSP genellikle negatif yönlü bir alan potansiyeli olarak kaydedilir. fEPSP eğimi, fEPSP dalga formunun başlangıcındaki lineer kısmın doğrusal regresyonla hesaplanan yükselme hızıdır (Şekil 3.18 (A)). fEPSP eğiminin hesaplanmasında; EPSP dalgasının başlangıç değerinin %20 fazlası ve bitiş değerlerinin %20 azı esas alındı. Bu kısımda:

$$\text{fEPSP eğimi} = \frac{\Delta\text{voltaj (mV)}}{\Delta\text{zaman (ms)}}$$

Populasyon Spike, özellikle dentat girus veya CA1 bölgelerinde, presinaptik uyarının tetiklediği nöronal aksiyon potansiyeli oluşumlarının toplamını gösteren çift fazlı (negatif → pozitif → negatif) bir dalga formudur (Şekil 3.18 (B)).

PS genliği (mV)=Pozitif pik(mV)-Negatif pik(mV) olarak hesaplanır.



Şekil 3.18. Tipik bir elektrofizyoloji kaydı fEPSP eğimi (A), PS genliği (B).

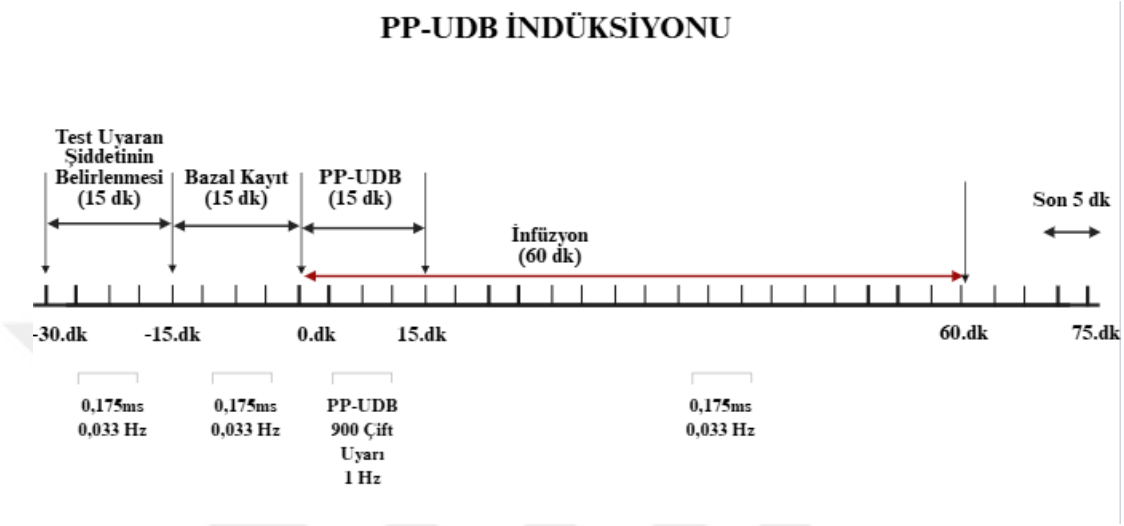
3.2.4.1. Girdi Çıktı Eğrilerinin (I/O) Elde Edilmesi ve Bazal Kayıt

Input/Output (I/O) eğrileri, uygulanan elektriksel uyaran şiddeti ile elde edilen sinaptik yanıt arasındaki ilişkinin grafiğe dökülmesiyle elde edilen, sinaptik iletim gücünü ve nöronal uyarılabilirliği değerlendirmede kullanılan temel bir elektrofizyolojik parametredir. I/O analizi, sinaptik cevabın fizyolojik sınırlarını belirler, kayıt stabilitesini doğrular ve deney boyunca kullanılacak test uyaran şiddetinin (genellikle maksimum yanıtın %50'si) seçilmesine olanak sağlar. Elektrotlar yerleştirildikten sonra ilk 15 dakika akım şiddeti 0.1 mA'den 1.5 mA'e kadar 0,2 mA'lik adımlarla artırılan 175ms süreli tek fazlı sabit akım pulsları her 20sn'de bir verilerek Input/Output (I/O) eğrileri elde edildi. Her akım şiddeti için kaydedilen üç ardıl yanıtın ortalaması akım şiddetine karşı grafiklendi. Maksimum PS genliğinin yarısını oluşturan akım şiddeti test uyaran şiddeti olarak belirlendi ve bu akım şiddeti ile deney devam edilerek sonlandırıldı. Test uyaran şiddeti belirlendikten sonra 30sn'de bir 15 dakika süre ile bazal kayıt alındı.

3.2.4.2. Eşleştirilmiş Darbeli Uzun Dönem Baskılanma (Paired-Pulse UDB; PP-UDB) Protokolü

Dentat girus granül hücrelerindemGlu1/5 reseptörlerinin uyarılması Gq/PLC yolağını etkin haler getirir ve post sinaptik uçta Ca^{2+} artışına neden olur. Ca^{2+} düzeyinin belirli seviyede artışı ile protein Kinaz C, AMPAR'leri ile ilişkili proteinleri fosforile ederek AMPA resptörlerinin endositoz ile hücre içine aınmasına neden olur. Post sinaptik uçta AMPAR sayısı azalmasıyla EPSP/fEPSP amplitüdü ve PS genliği azalır. Bu azalma mGluR1-bağımlı UDB olarak kaydedilir.

Kayıt protokolü: 15 dakika bazal kaydın ardından, doku stabilizasyonu sağlandıktan sonra PP-UDB protokolüne geçilerek 15 dakika süre ile saniyede 1 kez elekriksel olarak, 900 çift uyaran verildi. Çift uyaranlar arası 30 ms olarak belirlendi (Şekil 3.19).



Şekil 3.19. Elektrofizyoloji deneylerinde uygulanan PP-UDB protokolü.

3.2.4.3. Antagonist İnfüzyonu

mGluR5 antagonisti olarak bilinen 3-[(2-methyl-1,3-thiazol-4-yl) ethynyl]pyridine (MTEP) hydrochloride ve mGluR1 antagonisti olarak bilinen (3,4-dihydro-2H-pyrano[2,3-b]quinolin-7-yl)-(cis-4- methoxycyclohexyl)-methanone (JNJ16259685) (Chuhma ve ark., 2018; Sebastianutto ve ark., 2020) maddelerinin infüzyon miktarları belirtilen literatüre uygun şekilde hazırlandı.

Elektrofizyoloji deneyleri sırasında mGlu1/5 reseptörlerini bloke etmesi için MTEP hydrochloride ve JNJ16259685 maddelerinin birlikte çözeltisi hazırlanması: 5 mg MTEP alınarak, 10,6 ml dimetilsülfoksit (DMSO) ile çözünmesi sağlandı ve 2 mM konsantrasyonda stok çözelti oluşturuldu. Daha sonra, 2 mM stok çözeltilerden 150 µl alınarak 30 ml kadar ultra distile su ile sulandırıldı ve sonuçta 10 µM MTEP ve 10 µM JNJ16259685 çözeltisinin bulunduğu karışım elde edildi. Oluşan karışımın Kontrol Ant ve VPA Ant grubu için elektrofizyoloji deneyleri sırasında bazal kaydın ardından PP-UDB protokolü başlangıcı ile 60 dakika süreyle 20 µl, 10 µM olacak şekilde infüze edildi (Chuhma ve ark., 2018; Sebastianutto ve ark., 2020).

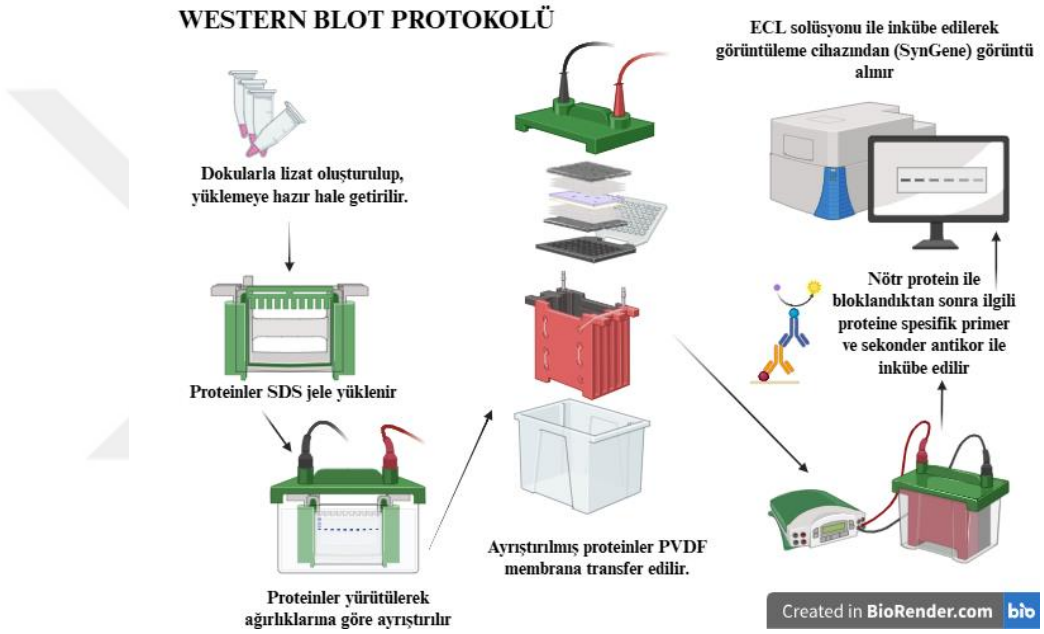
3.2.4.4. Elektrofizyoloji verilerin analizi

Alan potansiyellerinin her biri için Eksitatör Postsinaptik Potansiyel dalgasının ortalama eğimi (EPSP) ve Popülasyon Spike (PS) bileşeninin genliği SCOPE yazılımı aracılığıyla hesaplandı. EPSP eğiminin hesaplanmasında; EPSP dalgasının başlangıç değerinin %20 fazlası ve bitiş değerlerinin %20 azı esas alındı. PS genliğinde ilk pozitif yükselti ve sonraki negatif yükselti (maximum ve minimum değerler) arasındaki fark esas alınarak hesaplandı. 15 dakikalık bazal kayıt süresinde 30 EPSP eğimi ve PS genliğinin ortalama değerleri bulunup, her uyarana karşı elde edilen ortalama EPSP eğim ve PS genlik değerleri 100 kabul edildi. İndüksiyon sonrasındaki her EPSP eğimi ve PS genliği değerleri 100 kabul edilen değerlerin yüzdesi cinsinden hesaplanarak ve istatistiksel analizlerde kullanıldı. Bu değerlerin istatistiksel karşılaştırmaları yapılırken; gruplar arasında anlamlılık olup olmadığını saptamak için Bağımsız Örneklem t testi ve Kruskal Wallis Testi kullanıldı. VPA ve antagonistleri etkisi 2X2 ANOVA ile analiz edilidi. Bir grup içinde elde edilen değerin %100'den (bazal değerden) farklılığını test etmek için Tek Örneklem t testi kullanıldı.

3.2.5. Western Blot Yöntemi ile Protein Analizi

Elektrofizyolojik deneyleri tamamlanan hayvanlar dekapite edilerek, kranyumları açıldı. Beyin dokusu çıkarılarak bir camın üzerinde bistüri yardımı ile önce sağ ve sol beyin olarak ayrıldı daha sonra elektriksel uyarı verdiğimiz hipokampus dokusu ayrıldı. Dokular ependorf tüplere alınarak -80 ^{0}C' ye saklandı. Hipokampus dokusunda protein izolasyonu RIPA lizis tampon ile yapıldı. Biçinkonik asit (BCA) belirteci ile konsantrasyonları belirlendi ve her kuyucukta 20µg protein olacak şekilde sodium dodesil sülfat- poliakrilamid jel (SDS-PAGE)'e yüklendi. Maksimum voltaj (V) ve jel başına 25 miliamper (mA) olacak şekilde proteinler yürütüldü. Yürütülme işleminden sonra proteinler poliviniliden diflorür (PVDF) membrana trandfer edilidi. Tris-Buffered salin-Tween (TBS-T) içinde hazırlanmış %5'lik süt tozu ile 1 saat bloklama yapıldıktan sonra, blotlar TBS-T ile 5'er kez 5 dakika aralıklarla yıkandı. Yıkama işleminin ardından primer antikor, %5'lik bovine serum albumin (BSA) ve TBS-T ile hazırlanarak +4^{0}C'de 12-16 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 5'er kez % dakika TBS-T ile yıkandı. Horse radish peroksidaz

(HRP) ile konjuge seconder antikorlar %5 BSA ile hazırlanan, anti-mouse veya anti-rabbit 1:5000/1:10000 sulandırma ile 1 saat inkübe edildi. Kemilüminesans görüntüler western blot substrat solüsyonu ile (Enhanced chemiluminescence: ECL; Pierce™ Western Blotting Substrate, catalog number: 32106), SynGene G: BOX Chemi (Beacon House, Cambridge, UK) cihazında alındı (Şekil 3.20). Elde edilen membran görüntüleri imageJ (NationalInstitutesofHealth, USA) programı kullanılarak hesaplandı. Kullanılan antibody kullanım klavuzunda tavsiye edilen prosedürlere dikkat edildi.



Şekil 3.20. Western Blot deneyi aşamaları.

3.2.5.1. Western Blot İstatiksel Analiz

PVDF (polivinilidin diflorür) membranlara aktarılan proteinlere ait spesifik bandların optik yoğunluğunun analizi Image J yazılımı (NationalInstitutes of Health, USA) ile yapıldı. Elde edilen verilerin normalizasyonu β-aktin bantlarının optik yoğunluğuna göre değerlendirildi. Her membrana ait standart kontrol grubu normalize edilmiş değerine göre bağıl değerlere çevrildi. Bu değerler 2X2 ANOVA ile analiz edildi. Anlamlı ($P < 0,05$) bulunan p değerleri için, bağımsız örneklem t-testi ile karşılaştırmalar yapıldı. Non-parametrik veriler için Mann Whitney U testi ile

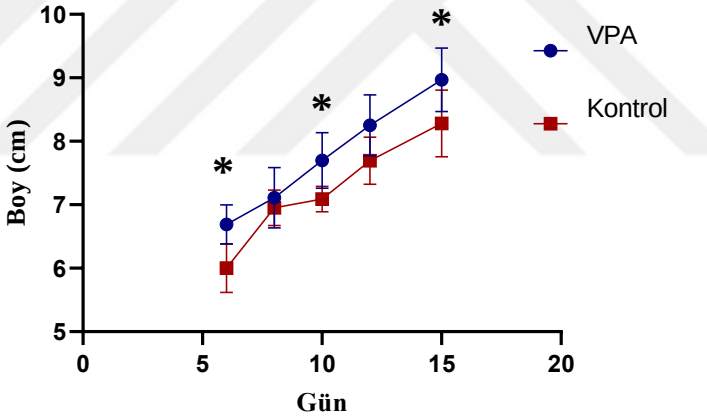
yapıldı. Anlamlılık değeri $P < 0,05$ olarak kabul edildi. Elde edilen değerler ± standart hata olarak verilmştir.

4. BULGULAR

4.1. GELİŞİMSEL PARAMETRE BULGULARI

4.1.1. Boy

Yavru sıçanların, doğdukları gün PN0. gün olarak kabul edildi. Doğumdan sonra PN6, PN8, PN10, PN12.gün ve PN15.gün burun ucundan kuyruk dibine kadar boy ölçümü yapıldı.



Şekil 4.1. Gruplarının zamanla boy değişimi (cm). Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi (* P < 0,001).

Gruplar arası tekrarlayan ANOVA testi yapıldı. Elde edilen sonuçlara göre hem VPA hem de Kontrol grubunda güne bağlı artış anlamlı bulundu ($F_{4,140}$ = 190,861; P < 0,001). Gruplar arasında gün*grup etkileşimi görüldü ($F_{4,140}$ = 3,388; P = 0,011) bulundu (Şekil 4.1). Bu sonuçlar; hem VPA hem de kontrol gruplarında boy gelişiminin zaman içinde anlamlı biçimde değiştiğini gösterirken, VPA grubunda boy uzama hızının Kontrol grubuna göre yüksek olduğu bulundu. Ortalama değerler Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Grupların zamanla boy değişimi (cm).

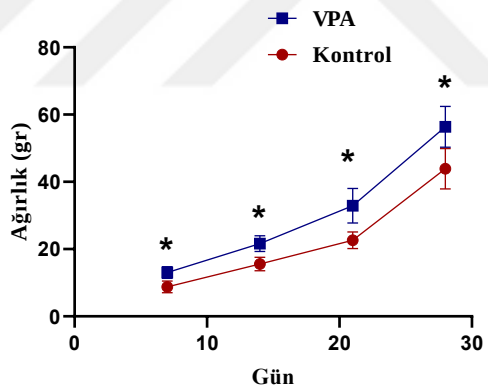
	Kontrol	VPA	P değeri
n	16	16	
PN6. gün	6,00 ± 0,078	6,687 ± 0,890*	P < 0,001
PN8. gün	6,95 ± 0,083	7,113 ± 0,095	P > 0,05
PN10. gün	7,014 ± 0,077	7,700 ± 0,088**	P < 0,001
PN12. gün	7,695 ± 0,102	8,188 ± 0,116	P > 0,05
PN15. gün	8,271 ± 0,113	8,969 ± 0,130***	P < 0,001

Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

** $t_{(30)}$ = 5,818; P < 0,001, 6. günde VPA grubunun boy uzaması daha hızlı bulundu,*
*** $t_{(30)}$ = 5,864; P < 0,001, 10. günde VPA grubunun boy uzaması daha hızlı bulundu,*
**** $t_{(30)}$ = 4,051; P < 0,001, 15.günde VPA grubunun boy uzaması daha hızlı bulundu.*

4.1.2. Ağırlık

Doğdukları gün PN0 olarak kabul edien yavru sıçanların PN7, PN14, PN21 ve PN28. günlerinde ağırlıkları hassas tartı ile tartılmıştır.



Şekil 4.2. Grupların zamanla ağırlık değişimi (gr). Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi. (* P < 0,001)

Gruplar arası Tekrarlayan ANOVA testi yapıldı. Her iki grupta da vücut ağırlığı artışı zamana bağlı olarak anlamlı bulunmuştur ($F_{2,038;61,137}$ = 840,868; P < 0,001). Ayrıca gruplar arasında gün*grup etkileşiminin anlamlı olduğu görüldü ($F_{2,038;61,137}$ = 10,426; P < 0,001). Gruplar gün bakımından bağımsız örneklem t testi ile değerlendirildi ve 7, 14, 21 ve 28. günlerde VPA grubunun ağırlık artışı Kontrol grubuna göre yüksek bulundu (Şekil 4.2).

Bulgular hem VPA hem de kontrol gruplarında ağırlık artışının zaman içinde anlamlı biçimde değiştiğini göstermektedir. Bununla birlikte, iki grup arasındaki ağırlık değişimi farklılık göstermiş ve VPA grubunun ağırlık artışının Kontrol grubuna kıyasla daha fazla olduğu bulundu. Ortalama değerler Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Grupların zamanla ağırlık değişimi (gr).

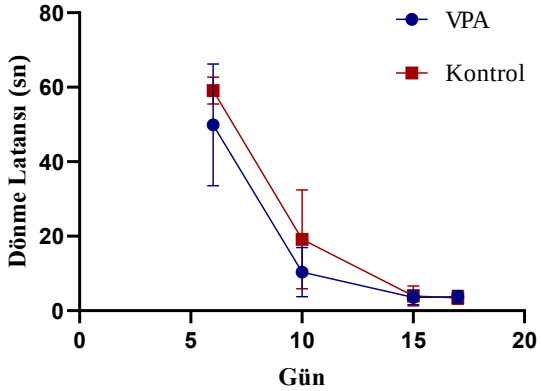
	Kontrol	VPA	P değeri
n	16	16	
PN7. gün	8,788 ± 0,443	13,050 ± 0,443*	P < 0,001
PN14. gün	15,569 ± 0,540	21,625 ± 0,540**	P < 0,001
PN21. gün	24,619 ± 1,013	32,931 ± 1,013***	P < 0,001
PN28. gün	43,881 ± 1,506	56,363 ± 1,506****	P < 0,001

Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

** $t_{(30)}$ = 6,797; P < 0,001, 7. günde VPA grubunda ağırlık artışı yüksek bulundu,*
*** $t_{(30)}$ = 7,930; P < 0,001, 14. günde VPA grubunda ağırlık artışı yüksek bulundu,*
**** $t_{(30)}$ = 7,202; P < 0,001, 21. günde VPA grubunda ağırlık artışı yüksek bulundu,*
***** $t_{(30)}$ = 5,861; P < 0,001, 28. günde VPA grubunda ağırlık artışı yüksek bulundu.*

4.1.3. Negatif Jeotaksi Bulguları

Gebeliğin 12,5. günü VPA veya SF enjeksiyonu yapılmış annelerin yavruları 45° eğik bir platforma başı aşağıya yönelecek şekilde yerleştirilerek sıçanın ekseni etrafında 180° dönmesi için geçen süre hesaplandı.



Şekil 4.3. Negatif jeotaksi dönme latansı sonuçları (sn). Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

Gruplar arası tekrarlayan ANOVA testi yapıldı. Elde edilen sonuçlara göre VPA ve Kontrol grubunda güne bağımlı anlamlı fark bulunurken ($F_{1,875;\ 65,20}$ = 285,162; P <

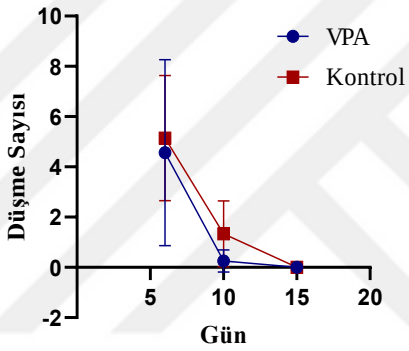
0,001). Gruplar arası gün*grup etkileşimi anlamlı bulunmadı ($F_{1,875;\ 65,620}$ = 2890, P > 0,05) (Şekil 4.3). Ortalamalar Tablo 4.3'de verilmiştir.

Tablo 4.3. Negatif jeotaksi dönme latansı sonuçları (sn).

	Kontrol	**VPA**	**P değeri**
n	16	16	
PN6. gün	57,762 ± 2,658	49,875 ± 3,045	P > 0,05
PN10. gün	18,619 ± 2,584	10,375 ± 2,960	P > 0,05
PN15. gün	3,867 ± 0,487	3,570 ± 0,552	P > 0,05
PN17. gün	3,053 ± 0,371	3,793 ± 0,425	P > 0,05

Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

Yavrular platforma yerleştirilerek 60 sn'de düşme sayıları kaydedildi (Şekil4.4).



Şekil 4.4. Negatif jeotaksi testi, platformdan düşme sayısı sonuçları. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

Gruplar arası tekrarlayan ANOVA testi yapıldı. Sonuçlara göre VPA ve Kontrol grubunda gün geçtikçe motor gelişim göstererek, düşme sayısında azalma görülürken ($F_{1,205;\ 42,169}$ = 77.259; P < 0,001), gruplar arasında motorgelişim açısından anlamlı fark görülmedi ($F_{1,205;\ 42,169}$ = 0,975; P > 0,05), (Şekil 4.4). Ortalamalar Tablo 4.4'de verilmiştir.

Tablo 4.4. Negatif jeotaksi testi, platformdan düşme sayısı sonuçları.

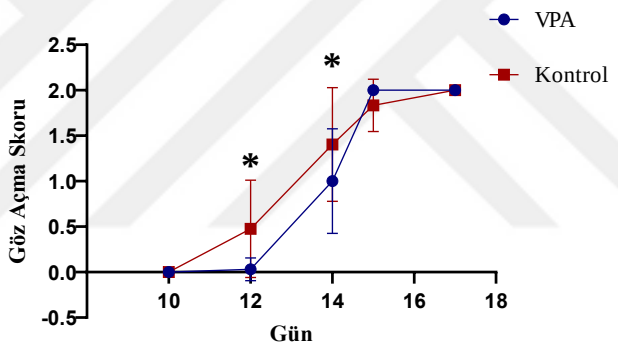
	Kontrol	**VPA**	**P değeri**
n	16	16	
PN6. gün	5,143 ± 0,671	4,563 ± 0,768	P > 0,05
PN10. gün	1,333 ± 0,226	0,250 ± 0,259	P > 0,05
PN15. gün	000 ± 000	000 ± 000	P > 0,05

Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

Elde edilen bulgular, VPA ve kontrol gruplarında dönme latanslarının zaman içinde belirgin şekilde değiştiğini**,** yani ölçümlerin günlere göre anlamlı bir farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır. Ancak bu değişimin gruplar arasındaki bir farktan kaynaklanmadığı**,** aksine her iki grubun da zaman içerisindeki benzer bir değişim eğilimini takip ettiği görülmektedir. Başka bir ifadeyle, VPA uygulamasının dönme latansı üzerinde kontrol grubuna kıyasla ek bir etkisinin olmadığı**,** ancak her iki grubun da günlere bağlı olarak anlamlı bir değişim sergilediği anlaşılmaktadır.

4.1.4. Göz Açma Skoru Bulguları

VPA maruziyetli yavrular ve Kontrol Grubu yavrularda PN10, PN12, PN14, PN15 ve PN17. günlerde göz açılması skorlanmıştır. Her bir göz için ayrı olarak: kapalı göz 0, yarı açık göz 0,5 ve açık göz 1 olarak skorlanmıştır.



Şekil 4.5. Kontrol ve VPA gruplarının göz açma sonuçları. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

Gruplar arası tekrarlayan ölçümler ANOVA sonuçları, günler arasında anlamlı bir değişim olduğunu gösterdi ($F_{(2,078;\ 68,583)}$ = 287,60; P < 0,001). Ayrıca, gruplar arasında gün*grup etkielşimi görüldü. Kontrol grubundaki hayvanların, 12. Ve 14. günlerde VPA grubuna kıyasla anlamlı düzeyde daha erken göz açtığı belirlenmiştir (P < 0,001), (Şekil 4.5). Bu bulgular, VPA uygulamasının gelişimsel süreç üzerinde belirgin bir geciktirici etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Ortalamalar Tablo 4.5'te verilmiştir.

Tablo 4.5. Kontrol ve VPA grubunda göz açma sonuçları[a].

	Kontrol	**VPA**	**P değeri**
n	16	16	
PN10. gün	000 ± 000	000 ± 000	0
PN12. gün	0,500 ± 2,584	10,375 ± 2,960*	P < 0,001
PN14. gün	1,474 ± 0,137	3,570 ± 0,552**	P < 0,001
PN15. gün	1,816 ± 0,51	3,793 ± 0,425	P > 0,05
PN16. gün	2,000 ± 000	2,000 ± 000	0

Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

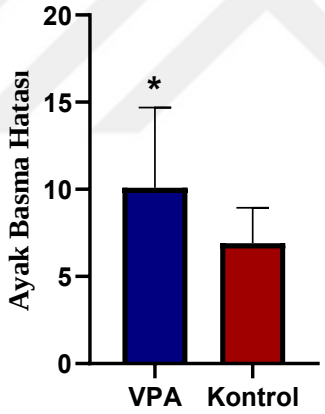
[a]*Herbir göz için ayrı olarak; kapalı göz 0, yarı açık göz 0.5, tam açık göz 1.*

$t_{(30)}$= 3,915; P < 0,001, 12. günde Kontrol grubunun daha erken göz açtığı bulundu,

** $t_{(30)}$= 7,203; P < 0,001, 14. günde Kontrol grubunun daha erken göz açtığı bulundu.*

4.1.5. Izgara Yürüme Testi

Tel ızgara üzerine konan yavruların 1 dakika süreyle yürümesine izin verildi ve yaptıkları ayak basma hataları (ızgara boşluğuna basma) sayıldı.



Şekil 4.6. Izgara yürüme testi sonuçları. VPA grubunun Kontrol grubuna kıyasla daha fazla ayak basma hatası yaptığı bulundu (* P < 0,001).

Verilerin normal dağılım göstermemesi nedeniyle gruplar arasındaki karşılaştırma parametrik olmayan Mann–Whitney U testi ile gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları VPA grubunun Kontrol grubuna göre daha fazla ayak hatası yaptığı bulundu, (U = 272,50; z = 3,38, P < 0,001), (Şekil 4.6). Bu bulgu, VPA'nın motor gelişimi üzerine olumsuz etki gösterdiğini düşündürmektedir. Ortalamalar Tablo 4.6'da verilmiştir. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

Tablo 4.6. Izgara yürüme testi sonuçları.

	Kontrol	VPA	P değeri
n	16	16	
Ayak basma hatası	6,91 ± 0,355	10,09 ± 0,814*	P < 0,001

Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

**P < 0,001, VPA grubunun ayak basma hatası Kontrol grubuna göre daha fazladır.*

4.2. DAVRANIŞ DENEYLERİ BULGULARI

4.2.1. Sosyal Etkileşim Testi Bulguları

Kontrol ve VPA gruplarında hayvanlar deneyden 1 gün önce boş platforma 10 dakika bırakılarak platforma alıştırıldı (habitüasyon). Ertesi gün kafeslerden birine aynı yaş ve cinsiyette "yabancı 1" yerleştirildi ve diğer kafes boş bırakıldı. Deney hayvanı platforma bırakılarak kapılar açıldı ve hayvanın serbest dolaşımına izin verildi (Sosyal etkileşim testi). Noldus xt17.5 programı ile video kayıt alındı. 10 dakika sonunda hayvan platformdan alındı ve platform alkol ile temizlendi. Yabancı 1 bulunduğu bölmeden alınarak diğer bölmeye konuldu, artık "tanıdık" hayvan olarak isimlendirildi. Aynı yaşta ve cinsiyette Yabancı 2, daha önce yabancı 1'in olduğu kafese yerleştirildi. Sosyal etkileşim testinden sonra deney hayvanı 5 dakika dinlendirildi. Dinlenen hayvan sosyal tercih testi için tekrar platforma bırakılarak 10 dakika kayıt alındı. Deneyler PN30-32. günde yapıldı.

Sosyal etkileşim testinde hayvanların yabancı 1'in olduğu kafesin ve boş kafesin koklaşma alanına girme sayısı, koklaşma alanında bekleme süresi, her bir bölmede bekleme süresi, hayvanların hızları ve kat ettikleri mesafe Noldus program ile hesaplandı. Sosyal tercih testinde ise deney hayvanının tanıdık hayvan ve yabancı hayvanın bulunduğu kafeslerin koklaşma alanına girme sayısı, koklaşma alanında bekleme süresi, bölmelerde bekleme süresi, hızları ve kat ettikeri mesafe hesaplandı. Sosyallik indeksi sosyal etkileşim testi için;

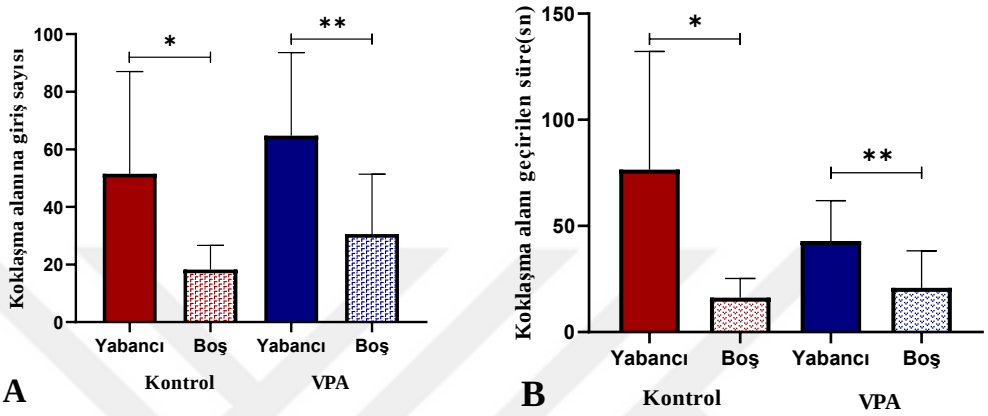
$$\text{Sosyallik indeksi} = \frac{\text{Yabancı} - \text{Boş}}{\text{Yabancı} + \text{Boş}}$$

olarak, sosyal tercih testi için;

$$\text{Sosyallik indeksi} = \frac{\text{Tanıdık} - \text{Yabancı}}{\text{Tanıdık} + \text{Yabancı}}$$

olarak hesaplandı. Gruplar arası analizler eşleştirilmiş örneklem t-testi ile yapıldı.

4.2.1.1. *Sosyal Etkileşim Testi*



Şekil 4.7. Sosyal etkileşim testi koklaşma alanına giriş sayısı ve geçirilen süre sonuçları. (A) Kontrol grubunda yabancı hayvanın koklaşma alanına girme sayısı daha fazla görüldü, (* P = 0,005), aynı şekilde VPA grubunda da yabancı hayvanın koklaşma alanına girme sayısı daha fazla bulundu (** P = 0,004), (B) Kontrol grubunda yabancı hayvan koklaşma alanında geçirdiği süre boş kafesin koklaşma alanında geçirdiği süreden fazla bulundu, (* P = 0,001), benzer şekilde VPA grubu da yabancı hayvanın koklaşma alanında geçirdiği süre daha fazla bulundu (** P = 0,004). Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

Sosyal etkileşim testinde, test hayvanlarının yabancı hayvanın bulunduğu kafesin koklaşma alanına ve boş kafesin koklaşma alanına giriş sayıları ile bu alanlarda bekleme süreleri değerlendirilmiştir. Grupların kendi içi karşılaştırmaları eşleştirilmiş örneklem t-testi ile analiz edilmiştir.

Şekil 4.7, **(A)** Kontrol grubunda, test hayvanının yabancı hayvanın koklaşma alanına giriş sayısı, boş kafesin koklaşma alanına giriş sayısından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($t_{(15)}$ = 3,268; * P = 0,005). Benzer şekilde, VPA grubunda da yabancı hayvanın bulunduğu koklaşma alanına giriş sayısı, boş kafes koklaşma alanına giriş sayısından anlamlı olarak daha yüksektir ($t_{(15)}$ = 3,423; ** P = 0,004). **(B)** Kontrol grubunun yabancı koklaşma alanında geçirdiği süre, boş kafesin koklaşma alanında geçirdiği süreden anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($t_{(15)}$ = 4,063; * P = 0,001). Aynı şekilde, VPA grubunda yabancı hayvanın koklaşma alanında geçirilen süre, boş

kafesin koklaşma alanında geçirilen süreden anlamlı derecede daha fazla bulunmuştur ($t_{(15)}$ = 3,350, ** P =0,004). Ortalamalar Tablo 4.7'de verilmiştir.

Tablo 4.7. Kontrol ve VPA gruplarının koklaşma alanına giriş frekansı ve bekledikleri süre (sn).

	Kontrol	**VPA**	**P değeri**
n	16	16	
Yabancı frekans	51,50 ± 8,86*	64,75 ± 7,20**	*P = 0,005 **P = 0,004
Boş frekans	18,25 ± 2,10	30,56 ± 5,20	P > 0,05
Yabancı süre (sn)	76,51 ± 13,93 ***	42,92 ± 4,75****	***P=0,001****P=0,004
Boş süre (sn)	16,27 ± 2,25	20,85 ± 4,30	P > 0,05

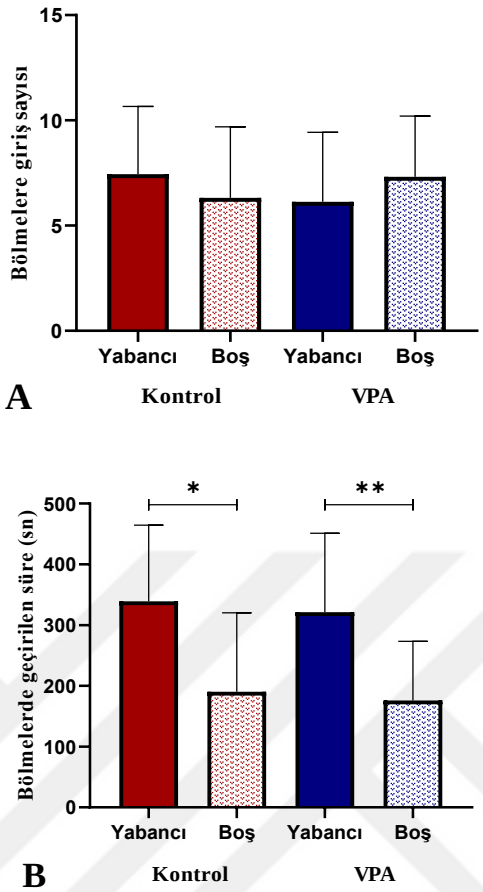
Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

**, kontrol grubunda yabancı hayvanın koklaşma alanına girme sayısı, boş kafese göre daha yüksek (P = 0,005),*

***, VPA grubunda yabancı hayvanın koklaşma alanına girme sayısı, boş kafese göre daha yüksek (P = 0,004),*

****, kontrol grubunda yabancı hayvanın koklaşma alanına girme sayısı, boş kafese göre daha yüksek (P = 0,001),*

*****, VPA grubunda yabancı hayvanın koklaşma alanına girme sayısı, boş kafese göre daha yüksek (P = 0,004).*



Şekil 4.8. Sosyal etkileşim testi bölmelere giriş frekansı ve geçirilen süre sonuçları. (A) Kontrol grubunda bölmelere giriş sayısı açısından anlamlı fark bulunmadı (P > 0,05), aynı şekilde VPA grubunda da anlamlı bir fark bulunmadı (P > 0,05), **(B)** Kontrol grubunda yabancı bölmede geçirilen süre boş kafesin olduğu bölmeden anlamlı derecede yüksek bulundu (* P = 0,033), VPA grubunda benzer biçimde yabancı hayvanın bulunduğu bölgede daha fazla geçirdiği (** P = 0,015) görüldü. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

Test hayvanının yabancının olduğu bölmeye ve boş kafesin olduğu bölmeye giriş sayısı ve bölmede beklediği süre hesaplanmıştır. Gruplar kendi içinde eşleştirilmiş örneklem t-testi ile analiz edilmiştir (Şekil 4.8). **(A)** Kontrol grubunun yabancı hayvanın bulunduğu bölmeye giriş frekansı ile boş bölmeye giriş frekansı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (P > 0,05). Benzer biçimde VPA grubundada anlamlı bir fark görülmemiştir (P > 0,05), **(B)** Kontrol grubunda yabancının bulunduğu bölmede boş kafesin bulunduğu bölmeye kıyasla daha fazla zaman geçirdiği bulunmuştur ($t_{(15)}$ = 2,343; * P = 0,033). VPA grubunda da aynı şekilde yabancının bulunduğu bölmede boş kafesin bulunduğu bölmeye göre daha

fazla zaman geçirdiği bulunmuştur ($t_{(15)}$ = 2,749; ** P = 0,015). Ortalamalar Tablo 4.8'de verilmiştir.

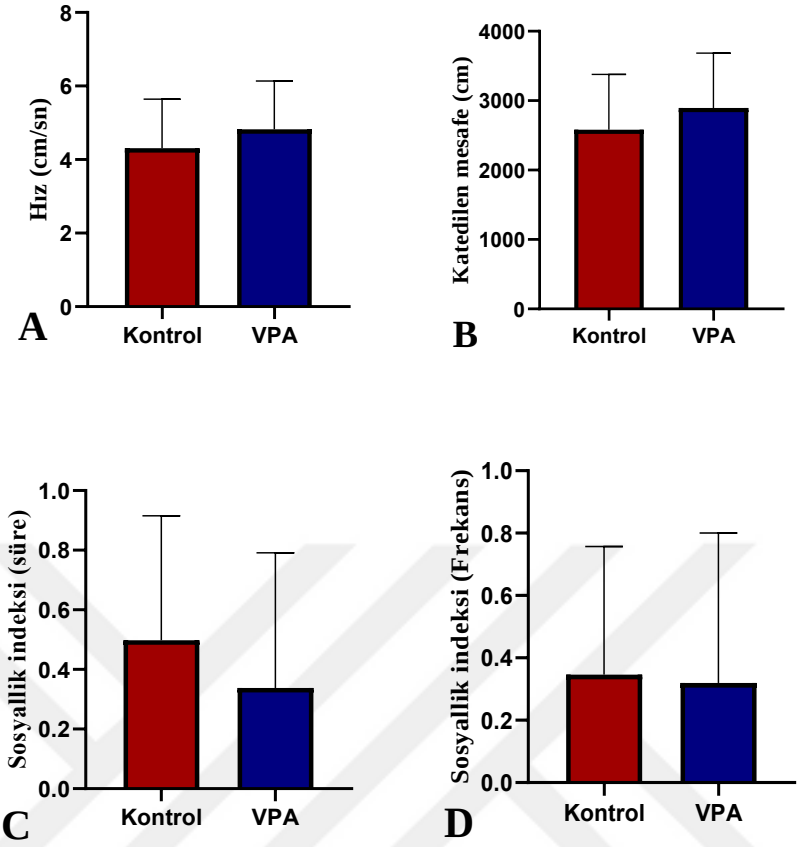
Tablo 4.8. Kontrol ve VPA gruplarının bölmelere giriş frekansı ve bekledikleri süre (sn).

	Kontrol	**VPA**	**P değeri**
n	16	16	
Yabancı frekans	7,43 ± 0,80	6,12 ± 0,82	P > 0,05
Boş frekans	6,31 ± 0,84	7,31 ± 0,72	P > 0,05
Yabancı süre (sn)	338,97 ± 31,38*	321,13 ± 32,50**	*P = 0,033 **P = 0,015
Boş süre (sn)	190,45 ± 32,42	175,77 ± 24,37	P > 0,05

Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

** P = 0,033 Kontrol grubunda yabancının olduğu bölmede geçirilen süre, boş kafesin olduğu bölmeden fazla,*

*** P = 0,015 VPA grubunda yabancının olduğu bölmede geçirilen süre, boş kafesin olduğu bölmeden fazla bulundu.*



Şekil 4.9. Sosyal etkileşim testi hız, katedilen mesafe ve sosyallik indeksi sonuçları. **(A)** Kontrol ve VPA gruplarının hızları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (P > 0,05), **(B)** Grupların katettikleri mesafe açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (P > 0,05), **(C)** Sosyallik indeksi (süre) değişkeninde anlamlı bir fark görülmemiştir (P > 0,05), **(D)** Sosyallik indeksi (frekans) bakımından da gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (P > 0,05). Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

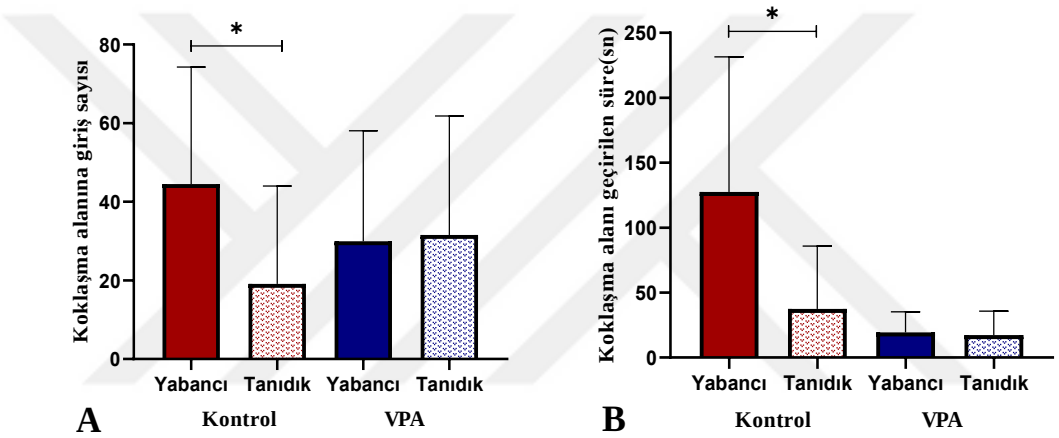
Bağımsız örneklem t-testi sonuçlarına göre (Şekil 4.9), **(A)** sosyal etkileşim testi kapsamında kontrol ve VPA grupları arasında hız değişkeni açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($t_{(30)}$ = 1,099; P > 0,05). Benzer şekilde, grupların kat ettikleri mesafe değerlendirildiğinde anlamlı bir fark saptanmamıştır ($t_{(30)}$ = 1,119; P > 0,05). Sosyallik indeksi süre bakımından analiz edildiğinde iki grup arasında anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür ($t_{(30)}$= 1,035; P > 0,05). Ayrıca, sosyallik indeksi frekans değişkeni incelendiğinde de anlamlı bir fark bulunmamıştır ($t_{(30)}$ = 0,169; P > 0,05). Ortalamalar Tablo 4.9'da verilmiştir.

Tablo 4.9. Sosyal etkileşim testinde Kontrol ve VPA gruplarının hız, mesafe ve sosyallik indeksi ortalamaları.

	Kontrol	VPA	P değeri
n	16	16	
Hız(cm/sn)	4,31 ± 0,33	4,82 ± 0,32	P > 0,05
Katedilen mesafe (cm)	2583,00 ± 198,58	2895,96 ± 197,04	P > 0,05
Sosyallik indeksi (süre)	0,49 ± 0,10	0,33 ± 0,11	P > 0,05
Sosyallik indeksi (frekans)	0,34 ± 0,10	0,31 ± 0,12	P > 0,05

Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

4.2.1.2. Sosyal Tercih Testi



Şekil 4.10. Sosyal tercih testi koklaşma alanına giriş sayısı ve alanda geçirilen süre (A) Kontrol grubunda yabancı hayvanın koklaşma alanına giriş frekansı, tanıdık hayvanın alanına giriş frekansından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (P = 0,032), VPA grubunda anlamlı bir fark görülmemiştir (P > 0,05). **(B)** Kontrol grubunda yabancı hayvanın koklaşma alanında geçirilen süre, tanıdık hayvanın alanında geçirilen süreden anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (P = 0,027); VPA grubunda anlamlı bir fark saptanmamıştır. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

Deneyin sosyal tercih testi bölümünde, test hayvanlarının koklaşma alanına giriş sayıları ve bu alanlarda bekleme süreleri değerlendirilmiştir. Grup içi karşılaştırmalar eşleştirilmiş örneklem t-testi ile analiz edilmiştir. Şekil 4.10 **(A)** Kontrol grubunda yabancı hayvanın koklaşma alanına girme frekansı, tanıdık hayvanın koklaşma alanına girme frekansından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($t_{(13)}$ = 2,399; * P = 0,032). Buna karşılık, VPA grubunda yabancı ve tanıdık hayvanın koklaşma alanına girme frekansları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($t_{(15)}$ = 0,321; P > 0,05). **(B)** Ayrıca, kontrol grubunda yabancı hayvanın koklaşma alanında geçirilen süre

tanıdık hayvanın koklaşma alanında geçirilen süreye kıyasla fazla bulundu ($t_{(15)}$ = 2,449; * P = 0,027). VPA grubunda ise anlamlı bir fark bulunmadı ($t_{(15)}$ = 0,021; P > 0,05). Bu bulgular, VPA uygulamasının sosyal tercih davranışlarını etkilediğini göstermektedir. Ortalamalar Tablo 4.10 da verilmiştir.

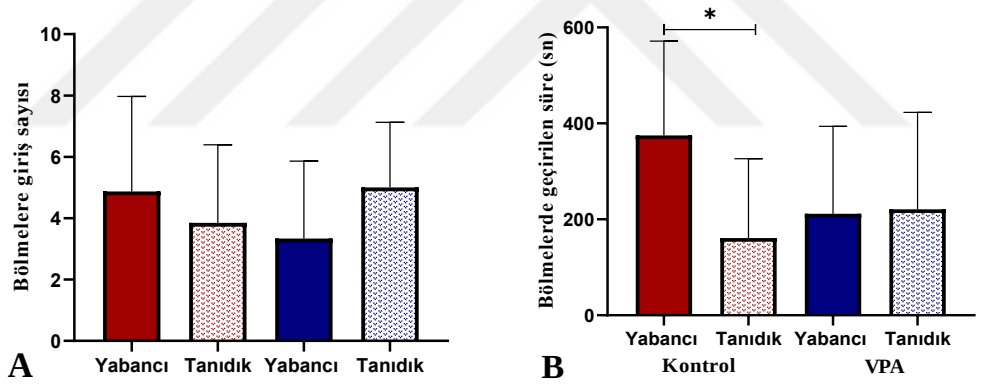
Tablo 4.10. Sosyal tercih testi grupların koklaşma alanına girme frekansı ve alanda geçirdikleri süre (sn).

	Kontrol	**VPA**	**P değeri**
n	14	16	
Yabancı frekans	44,5 ± 7,95*	29,33 ± 7,26	P = 0,032
Tanıdık frekans	16,85 ± 6,05	33,66 ± 7,77	P > 0,05
Yabancı süre (sn)	111,83 ± 26,46**	22,69 ± 5,13	P = 0,027
Tanıdık süre (sn)	30,425 ± 11,46	22,91 ± 7,19	P > 0,05

Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

**P = 0,032, Kontrol grubunda yabancı hayvanın koklaşma lanına giriş sayısı yüksek buundu,*

***P = 0,027, Kontrol grubunda yabancı hayvanın koklaşma alanında geçirilen süre tanıdık hayvanın yanın da geçirilen süreden yüksek bulundu.*



Şekil 4.11. Sosyal tercih testinde bölmelere giriş sayısı ve geçirilen süre sonuçları. **(A)** Kontrol grubu ve VPA grubunda Yabancı hayvanın bulunduğu bölmeye giriş sayısı ve tanıdık hayvanın olduğu bölmeye giriş sayısı arasında bir fark bulunmadı. **(B)** Kontrol grubunun yabancı bölmede geçirdiği süre tanıdıkta geçirdiği süreden fazla bulundu (* P = 0,030). VPA grubunda ise fark bulunmadı. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

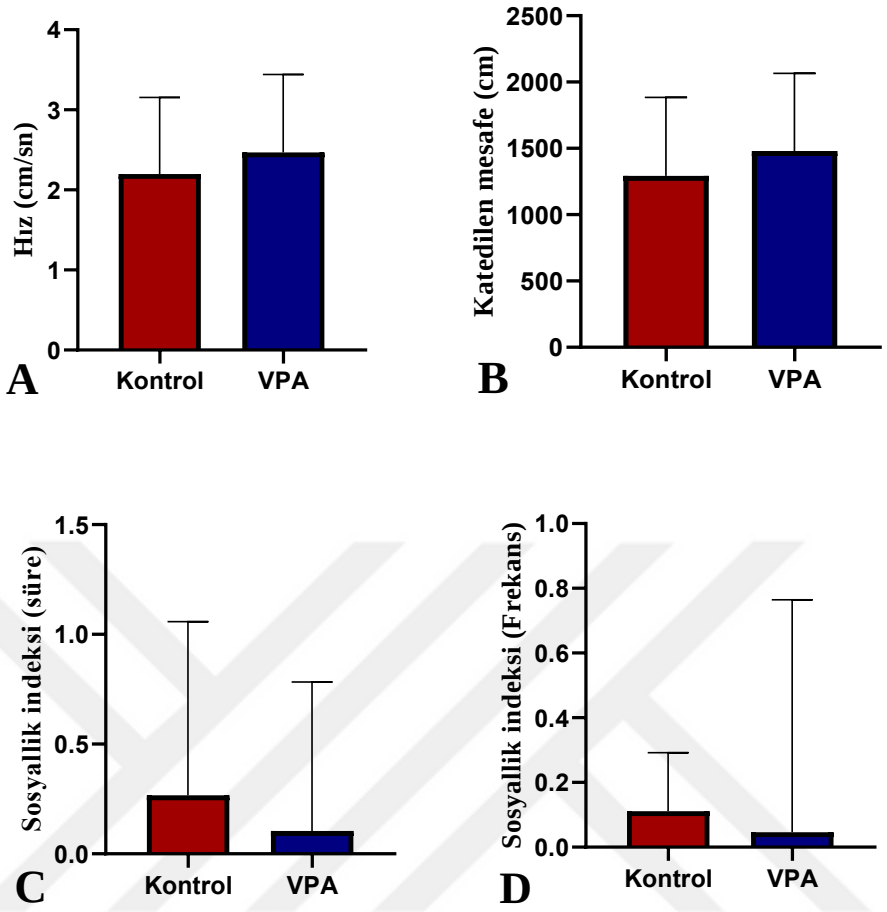
Sosyal tercih testinde hayvanların yabancının olduğu bölmeye ve tanıdık hayvanın olduğu bölmeye girme frekansı ve bölmelerde geçirilen süre değerlendirilmiştir. Şekil 4.11, **(A)** Kontrol grubunda yabancı ve tanıdık hayvanın bulunduğu bölmelere giriş sayısı arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($t_{(15)}$ = 1,493; P > 0,05). Benzer şekilde VPA grubunda da anlamlı bir fark görülmemiştir ($t_{(15)}$ = 1,876; P > 0,05). **(B)** Kontrol grubunda yabancının bulunduğu bölmede geçirilen süre, tanıdık bölmede

geçirilen süreden fazla bulundu (t_{13} = 2,443; * P = 0,030). VPA grubunda ise anlamlı bir fark bulunmadı ($t_{(15)}$ = 0,118; P > 0,05). Elde edilen bu sonuçlara göre gruplar arasında bölmelere geçiş sayısında anlamlı bir fark görülmezken, VPA'nın hayvanların bölmelerde geçirdiği süreyi azalttığı daha az etkileşime girdikleri görüldü. Ortalamalar Tablo 4.11'de verilmiştir.

Tablo 4.11. Sosyal tercih testinde grupların bölmelere girme frekansı ve bölmelerde geçirdiği süre (sn).

	Kontrol	**VPA**
n	16	16
Yabancı frekans	4,87 ± 0,77	3,33 ± 0,65
Tanıdık frekans	3,84 ± 0,70	5,00 ± 0,53
Yabancı süre (sn)	375,05 ± 52,46	211,66 ± 48,67
Tanıdık süre (sn)	161,99 ± 42,65	220,71 ± 52,18

Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.



Şekil 4.12. Sosyal tercih testi hız, katedilen mesafe ve sosyallik indeksi sonuçları. **(A)** Kontrol ve VPA gruplarının hızları arasında fark görülmedi (P > 0,05), **(B)** Gruplar arsası katedilen mesafede fark görülmedi (P > 0,05), **(C)** süre bakımından sosyallik indeksinde fark bulunmadı (P > 0,05), **(D)** frekans bakımından anlamlı bir fark bulunmadı (P > 0,05). Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

Gruplar arası kıyaslamalar bağımsız örneklem t-testi ile yapılmıştır. Şekil 4.12 **(A)** Kontrol ve VPA grubunun hızları değerlendirildi ve anlamlı bir fark görülmedi ($t_{(30)}$ = 0,789; P > 0,05), **(B)** katedilen mesafe değerlendirildiğinde gruplar arası anlamlı bir fark bulunmadı ($t_{(30)}$ = 0,901; P > 0,05), **(C)** Sosyallik indeksi süre bakımından analiz edildiğinde gruplar aesında anlamlı bir fark görülmedi ($t_{(30)}$ = 0,627; P > 0,05), **(D)** frekans bakımından sosyallik indeksi değerlendirildi ve gruplar arsında fark bulunmadı ($t_{(30)}$ = 0,353, P > 0,05). Ortalamalar Tablo 4.12'de verilmiştir.

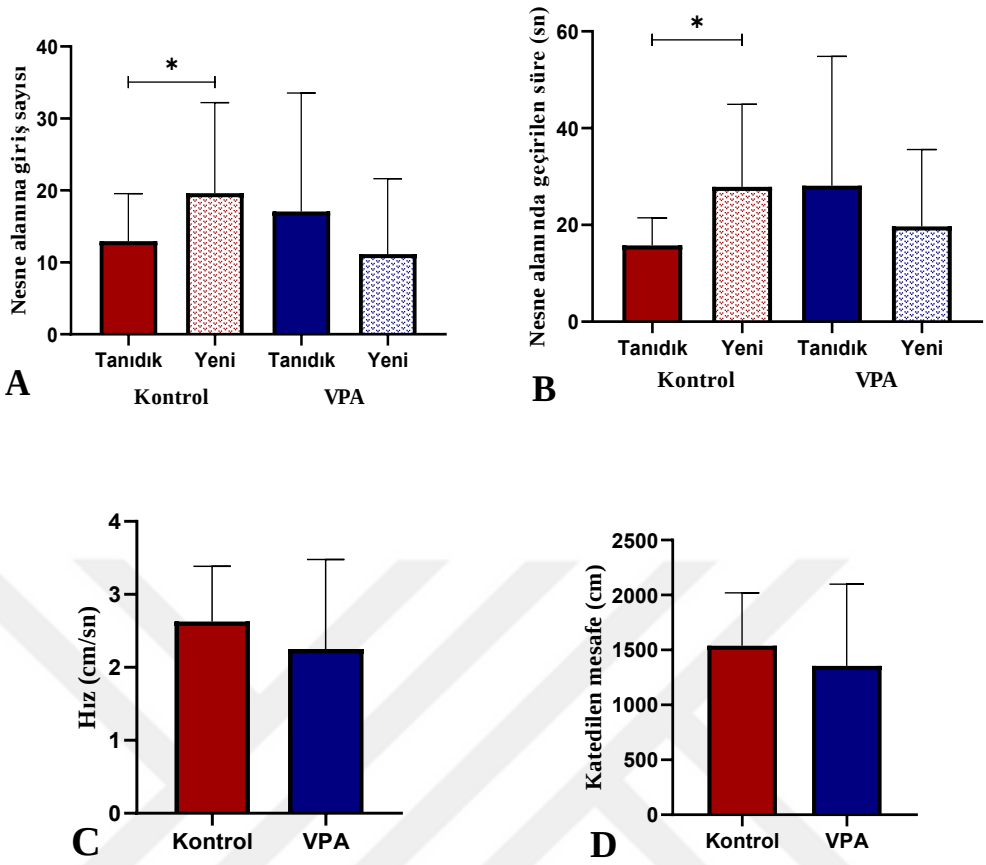
Tablo 4.12. Sosyal tercih testi, gruplarının hız, mesafe ve sosyallik indeksi ortalamaları.

	Kontrol	**VPA**	**P değeri**
n	16	16	
Hız (cm/sn)	2,19 ± 0,23	4,82,46 ± 0,24	P > 0,05
Katedilen mesafe (cm)	1293,05 ± 147,61	1480,37 ± 146,45	P > 0,05
Sosyallik indeksi (süre)	0,26 ± 0,19	0,10 ± 0,16	P > 0,05
Sosyallik indeksi (frekans)	0,11 ± 0,04	0,04 ± 0,17	P > 0,05

Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

4.2.2. Yeni Nesne Tanıma Testi

Kontrol ve VPA grubundaki hayvanlar deneyden bir gün önce içerisinde herhangi bir nesne bulunmayan boş platforma bırakıldı ve 10 dakika boyunca platformu keşfetmesine izin verilerek habitüasyon sağlandı. İkinci gün iki özdeş (kırmızı renkli silindir şeklinde) cisim platforma yerleştirilerek hayvanlar bırakıldı ve 10 dakika boyunca kayıt alındı. Üçüncü gün özdeş nesnelerden biri şekil ve doku bakımından farklı (mavi plastik kaplı bir küp) bir cisimle değiştirildi ve 10 dakika kayıt alındı.



Şekil 4.13. Yeni nesne tanıma testi sonuçları. **(A)** Kontrol grubunda hayvanların yeni nesne koklama alanına giriş sayısının fazla olduğu görüldü (* P = 0,022), VPA grubunda ise anlamlı bir fark görülmedi (P > 0,05). **(B)** Kontrol grubunun yeni nesne alanında geçirdiği süre tanıdık nesne alanında geçirdiği süreden fazla bulundu (* P = 0,020), VPA grubunda anlamlı bir fark görülmedi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

Hayvanların yeni nesne ve tanıdık nesne koklama alanına giriş sayısı ve alanda geçirdiği süre eşleştirilmiş örneklem t testi ile analiz edildi. Hız ve katedilen mesafe bulguları bağımsız örneklem t testi ile değerlendirildi. Şekil 4.13 **(A)** Kontrol grubunda yeni nesne koklama alanına giriş frekansı tanıdık nesne alanına giriş sayısından fazla olduğu bulundu ($t_{(14)}$ = 2,575; * P = 0,022), VPA grubunda ise yeni nesne koklama alanına giriş sayısı daha az olsa da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($t_{(14)}$ = 1,828; P > 0,05). **(B)** Kontrol grubunda yeni nesne koklama alanında geçirilen süre tanıdık nesne alanına kıyasla arttığı gözlemlenmiştir ($t_{(14)}$ = 2,625; * P = 0,020), VPA grubunda ise yeni nesne alanında geçirilen süre tanıdık nesneye göre azalmıştır ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($t_{(14)}$ = 1,610; P > 0,05). **(C)** Gruplar hız açısından değerlendirilmiş ancak Kontrol ve VPA

grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($t_{(28)}$ = 0,807; P > 0,05). **(D)** Gruplar katedilen mesafe açısından değerlendirildiğinde VPA grubu daha az mesafe kat etmiş olsa da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($t_{(28)}$ = 0,318; P > 0,05). Elde edilen bu bulgulara göre VPA uygulanan hayvanların yeni nesneye olan ilgisinin Kontrol grubuna göre daha az olduğu gözlemlenmiştir. Ortalamalar Tablo 4.13'de verilmiştir.

Tablo 4.13. Grupların koklama alanına giriş frekansı, alanda geçirdiği süre, hız ve kat edilen mesafe ortalamaları.

	Kontrol	**VPA**	**P değeri**
n	15	15	
Tanıdık frekans	12,93 ± 1,70	17,06 ± 4,25	P > 0,05
Yeni frekans	19,60 ± 3,25*	11,13 ± 2,70	P = 0,022
Tanıdık süre (sn)	15,77 ± 1,46	28,11 ± 6,89	P > 0,05
Yeni süre (sn)	27,86 ± 4,40**	19,70 ± 4,09	P = 0,020
Hız (cm/sn)	2,62 ± 0,19	2,25 ± 0,30	P > 0,05
Katedilen mesafe (cm)	1539,19 ± 124,07	1354,52 ± 192,16	P > 0,05

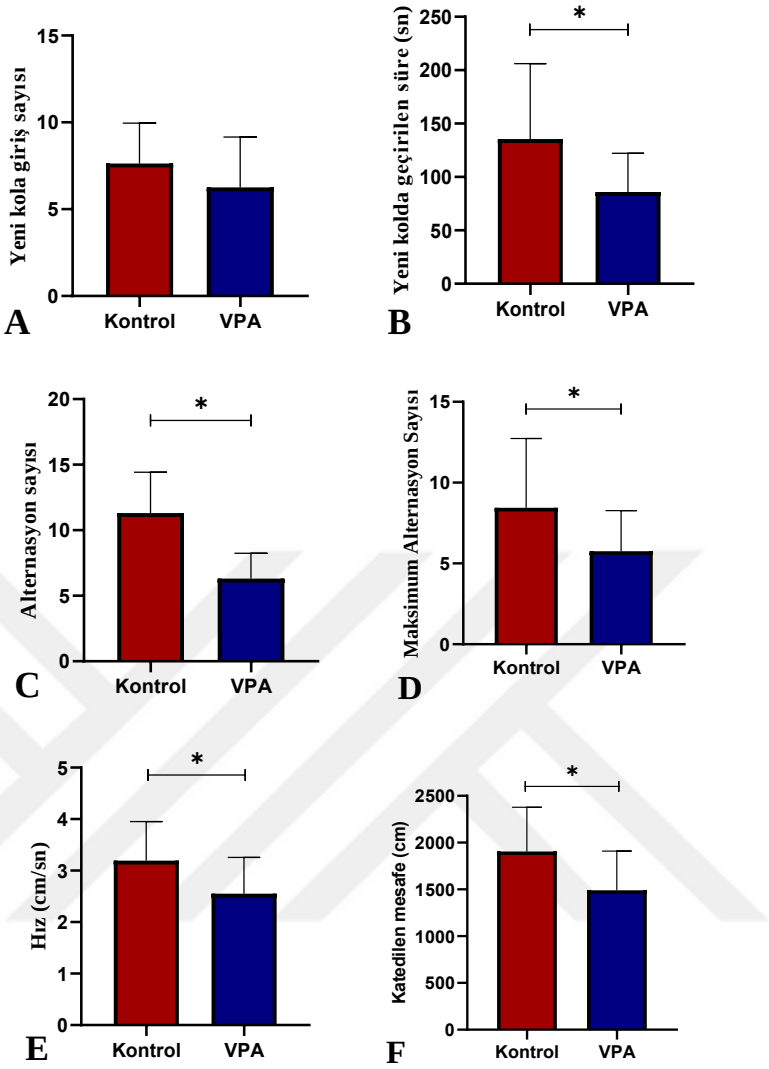
Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

**P = 0,022, Kontrol grubunda yeni nesne alanına giriş sayısı fazla bulundu.*

***P = 0,020, Kontrol grubunda yeni nesne alanında geçirilen süre fazla bulundu.*

4.2.3. Y-Labirent Testi

Kontrol ve VPA gruplarının bellek performanslarını ölçmek amacıyla Y-labirent testi uygulandı. İlk gün hayvanlar bir kolu kapalı olan Y şeklinde platforma bırakıldı ve 10 dakika kayıt alındı. 24 saat sonra kapalı kol açılarak hayvanlar tekrar platforma bırakıldı ve 10 dakika kayıt alındı.



Şekil 4.14. Y-labirent testi sonuçları. **(A)** Yeni kola giriş sayısında gruplar arası anlamlı bir fark görülmedi (P > 0,05). **(B)** Kontrol grubunda yeni kolda geçirilen süre VPA grubuna göre daha fazla bulundu (* P = 0,018). **(C)** Kontrol grubunda alternasyon oranı VPA grubuna göre yüksek bulundu (* P < 0,001). **(D)** Kontrol grubunda maksimum alternasyon oranı VPA grubuna kıyasla yüksek bulundu (* P < 0,001). **(E)** Kontrol grubunda ortalama hız VPA grubuna göre yüksek bulundu (* P = 0,023). **(F)** Kontrol grubunda katedilen mesafe VPA'ya göre daha fazla bulundu (* P = 0,019).

Gruplar arası istatistiksel analizler için bağımsız örneklem t testi kullanıldı. Kontrol ve VPA gruplarında kapalı kola giriş sayı, kapalı kolda geçirilen süre, alternasyon oranı, maksimum alternasyon oranı, hız ve katedilen mesafe değerlendirildi. Alternasyon oranı;

$$\text{Alternasyon (\%)} = \frac{\text{Gerçekleşen alternasyon sayısı}}{\text{Toplam mümkün alternasyon sayısı}} \text{X100}$$

olarak hesaplandı. Maksimum alternasyon oranı;

Hayvanın toplam kol giriş sayısı = *N* alındı, incelenebilecek üçlü sayısı: 2

Maksimum alternasyon sayısı = N – 2 olarak hesaplandı.

Şekil 4.14 **(A)** Grupların yeni kola giriş sayısında anlamlı bir fark görülmedi ($t_{(30)}$ = 1,474; P > 0,05). **(B)** Kontrol grubunun yeni kolda geçirdiği süre VPA grubuna göre daha fazla bulundu ($t_{(30)}$ = 2,497; * P = 0,018). **(C)** Hayvanların bellek performansını gösteren bir ölçüt olan alternasyon oranı Kontrol grubunda VPA'ya göre daha yüksek bulundu ($t_{(30)}$ = 5,495; P < 0,001). **(D)** Kontrol grubunda maksimum alternasyon sayısı VPA grubuna kıyasla daha fazla bulundu ($t_{(30)}$ = 6,415; P < 0,001). **(E)** Kontrol ve VPA grupları hız bakımından kıyaslandığında Kontrol grubunun daha hızlıolduğu bulundu ($t_{(28)}$ = 2,398; P = 0,023). **(F)** Katedilen mesafe gruplar arasında kıyaslandığında Kontrol grubun VPA grubuna göre daha fazla mesafe katettiği görülmüştür ($t_{(30)}$ = 5,495; P < 0,001). Ortalamalar Tablo 4.14'de verilmiştir. Elde edilen bulgular, VPA uygulamasının hayvanların keşif davranışlarını, bellek performansını ve motor aktivitelerini olumsuz etkilediğini göstermektedir.

Tablo 4.14. Y-labirent testi yeni kola giriş sayısı, geçirilen süre, alternasyon oranı, maksimum alternasyon sayısı, hız ve kat edilen mesafe ortalamaları.

	Kontrol	**VPA**	**P değeri**
n	16	16	
Yeni kola giriş sayısı	7,62 ± 0,58	6,25 ± 0,72	P > 0,05
Yeni kolda geçirilen süre (sn)	135,57 ± 17,65[a]	86,03 ± 9,05	P = 0,018
Alternasyon oranı	11,31 ± 0,77[b]	6,31 ± 0,48	P < 0,001
Maksimum alternasyon sayısı	16,56 ± 1,25[c]	7,68 ± 0,58	P < 0,001
Hız (cm/sn)	3,19 ± 0,19d	2,55 ± 0,18	P = 0,023
Katedilen mesafe (cm)	1904,43 ± 122,39[e]	1490,74 ± 111,61	P = 0,019

Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

a; P = 0,018, Kontrol grubunun yeni kolda geçirdiği süre VPAgrubuna göre fazla bulundu.

b; P < 0,001 Kontrol grubunun alternasyon oranı VPA grubuna göre fazla bulundu.

c; P < 0,001 Kontrol grubunun maksimum alternasyon sayısı VPA grubuna göre fazla bulundu.

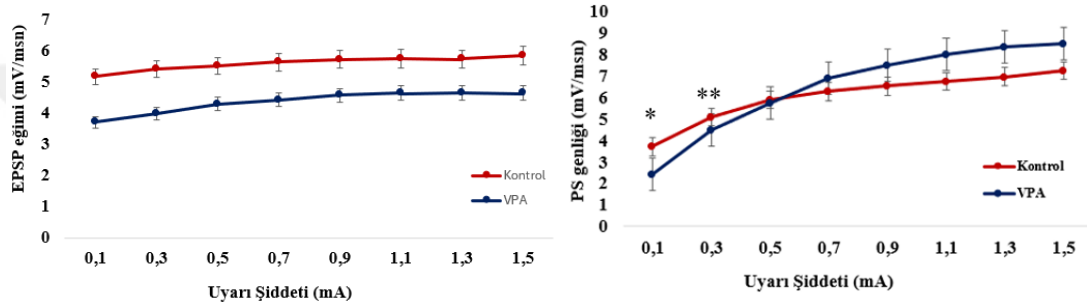
d; P = 0,023 Kontrol grubunun ortalama hızı VPA grubuna göre yüksek bulundu.

e; P = 0,019 Kontrol grubunda kat edilen mesafe VPA grubuna göre daha fazla bulundu.

4.3. ELEKTROFİZYOLOJİ BULGULARI

4.3.1. PP-UDB İndüksiyonu Öncsi Elde Edilen Girdi/Çıktı (I/O) Bulguları

Kontrol ve VPA gruplarında mGluR1/5 antagonistlerinin etkisinin PP-UDB'yi nasıl etkilediğinin incelendiği elektrofizyoloji deneylerinin başlangıcında test uyarı şiddetinin belirlenmesi için I/O eğrileri elde edilmiştir. (Şekil 4.15). VPA maruziyetli ve kontrol grubu sıçanların I/O eğrileri sinaptik ve somatik etkinliği değerlendirmede önemlidir.



Şekil 4.15. Kontrol ve VPA gruplarında I/O bulguları. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi. (* P = 0,001, ** P = 0,010)

EPSP eğimi ve PS genliği verileri tekrarlayan ANOVA ile analiz edildi. mV artışına bağımlı olarak EPSP eğiminde anlamlı artış bulundu ($F_{1,509;\ 51,290}$ = 14,443; P < 0,001). Gruplar arası anlamlı bir fark bulunmadı (P > 0,05). PS genliğinde mV artışına bağımlı olarak artış anlamlı bulundu ($F_{1,201;\ 40,822}$ = 31,992; P < 0,001). Ayrıca PS genliğinde grup*mV etkileşimi olduğu görüldü ($F_{1,201;\ 40,822}$ = 4,316; P < 0,037). VPA grubunda 0,1mV (* $t_{(34)}$ = 3,515, P = 0,001*)* ve 0,3 mV (** $t_{(34)}$ = 2,719, P = 0,010) uyarı şiddetinde PS genliğinin düşük olduğu bulundu (Şekil 4.15). Ortalamalar Tablo 4.15'de verilmiştir.

Elde edilen bu bulgular, artan uyarım şiddetiyle hem EPSP eğimi hem de PS genliğinin beklenen şekilde arttığını göstermektedir. VPA uygulamasının sinaptik iletimi belirgin olarak etkilemediği, ancak sinaptik girdinin nöronlarda ateşlemeye dönüşme kapasitesini yansıtan PS genliği üzerinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir değişime yol açtığı görülmektedir.

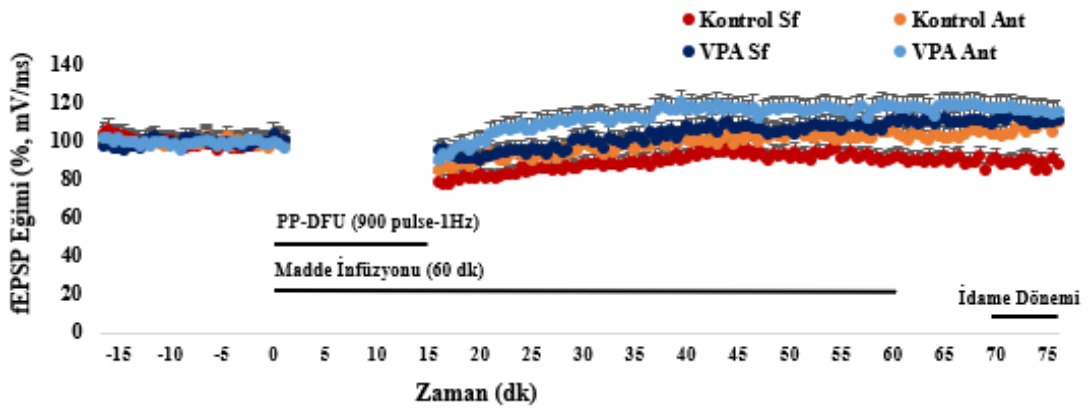
Tablo 4.15. Kontrol ve VPA gruplarında I/O bulguları.

	Kontrol	**VPA**	**P değeri**
n	20	16	
0,1 mV	4,386 ± 0,419	2,179 ± 0,468*	P = 0,001
0,3 mV	5,875 ± 0,422	4,152 ± 0,472**	P = 0,010
0,5 mV	6,629 ± 0,556	5,774 ± 0, 622	P > 0,05
0,7 mV	7,006 ± 0,667	7,201 ± 0,745	P > 0,05
0,9 mV	7,308 ± 0,844	8,014 ± 0,944	P > 0,05
1,1 mV	7,5223 ± 0.912	8,600 ± 1,019	P > 0,05
1,3 mV	7,739 ± 0,989	8,959 ± 1,106	P > 0,05
1,5 mV	8,071 ± 0,988	9,210 ± 1,105	P > 0,05

Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.
** $t_{(34)}$ = 3,515, P = 0,001, PS genliği Kontrol grubunda 0,1 mV uyarı şiddetinde VPA grubuna göre yüksek bulundu,*
*** $t_{(34)}$ = 2,719, P = 0,010, PS genliği Kontrol grubunda 0,3 mV uyarı şiddetinde VPA grubuna göre yüksek bulundu.*

4.3.2. Sf ve Antagonist İnfüzyonu Yapılarak UDB İndüklenen Kontrol ve VPA Gruplarında Elektrofizyolojik Bulgular

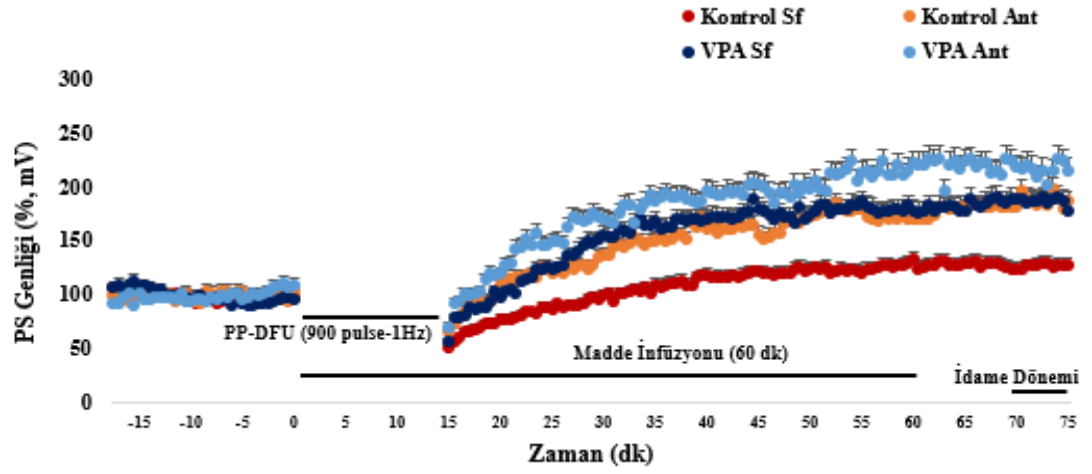
Gebeliğin 12.5ncu günü SF veya VPA yapılan annelerin yavrularında, doğumdan 8 hafta sonra DG sinapslarında madde infüzyonu ile birlikte PP-DFU uyarımına sinaptik yanıtları araştırmak için kaydın başlangıcında belirlenen test uyaran şiddetindeki uyarı impulsları (0,33 Hz, 0,175ms) 30 sn'de bir verilerek 15 dk bazal kayıt alındı. Bazal kaydın ardından, 15 dk boyunca 1 Hz frekansla 30 ms aralıklarla çift darbeli 900 uyarı ile PP-DFU protokolü uygulandı. PP-DFU uygulamasının başında madde infüzyonu başlatıldı ve ara verilmeden 60 dk boyunca infüze edildi (20µ/saat). Alınan kaydın PP-DFU sonrası ilk 5 dk'sı ve 1 saatin sonundaki son 5 dk (idame dönemi- 70-75. dk'lar arası) ait EPSP eğimi ve PS genliği değerleri kayıt başlangıcında alınan ve %100 olarak kabul edilen bazal değerler ile karşılaştırıldı.



Şekil 4.16. Kontrol ve VPA gruplarında mGluR1/5 antagonist infüzyonunun fEPSP eğimine etkisi.

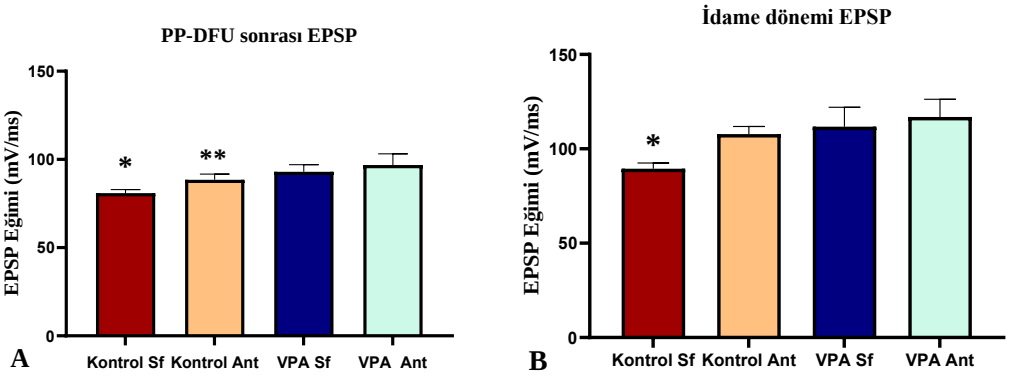
VPA uygulamasının ve mGluR1/5 antagonist uygulamasının PP-DFU sonrası dönem ve idame döneminde fEPSP eğimi üzerine olan etkisi 2x2 ANOVA ile analiz edildi.

VPA uygulamasının PP-DFU sonrası dönemde ($F_{1,32}$ = 8,185; P = 0,007) ve idame döneminde fEPSP eğimi üzerine etkili olduğu bulundu ($F_{1,32}$ = 5,171; P = 0,030) (Şekil 4.16).



Şekil 4.17. Kontrol ve VPA gruplarında mGluR1/5 antagonist infüzyonunun PS genliği üzerine etkisi. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

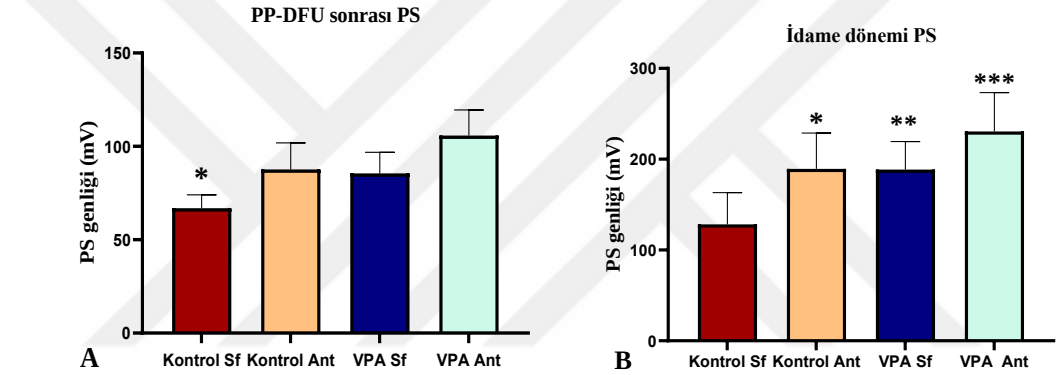
VPA uygulaması ve mGluR1/5 antagonisti uygulamasının PS genliği üzerine etkisi 2x2 ANOVA ile analiz edildi. PP-DFU sonrası PS genliği üzerinde etkili olduğu bulundu ($F_{1,32}$ = 5,317; P = 0,028) (Şekil 4.17).



Şekil 4.18. PP-UDB indüklenen gruplarda fEPSP cevapları (bazal değer %100 alınarak bazale göre kıyaslanmıştır) (A) PP-DFU sonrası fEPSP eğimi, Kontrol Sf grubunda bazal değere göre baskılanma görüldü (* P < 0,001), Kontrol Ant grubunda bazal dğere göre baskılanma görüldü (** P = 0,002), (B) İdame dönemi fEPSP eğimi, Kontrol grubunda bazaldeğere göre baskılanma (* P = 0,002). Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

Her bir deney grubu için sinaptik etkinlik düzeyinin bazal değere göre kıyaslanması tek örneklem t-testi ile analiz edildi. Başlangıç bazal kayıt değeri %100 olarak kabul edildi (Şekil 4.18). **(A)** PP-DFU sonrası EPSP eğimi Kontrol Sf grubunda bazal değere %80,8 ± 1.6'sına kadar baskılandı ($t_{(9)}$ = 11,778; * P < 0,001). mGluR1/5 antagonist infüzyonu yapılan Kontrol Ant grubunda fEPSP eğimi bazal değerin %88,8 ± 2,7'sine kadar baskılandı ($t_{(9)}$ = 4,231; ** P < 0,002). VPA Sf grubunda PP-DFU sonrası fEPSP eğimi bazal değere göre %93,02 ± 3,9'una kadar bir baskılanma görülse de istaristiksel olarak anlamlı bulunmadı ($t_{(8)}$ = 1,766; P > 0,005). VPA Ant grubunda PP-DFU sonrası fEPSP eğimi bazal değerin %96,8 ± 6,31'ine kadar baskılanma görüldü ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($t_{(6)}$ = 0,498; P > 0,005). **(B)** Kontrol Sf grubunda İdame dönemi fEPSP eğimi bazal değerin %89,5 ± 2,3'üne kadar baskılandı ($t_{(9)}$ = 4,400; * P = 0,002). Kontrol Ant grubunda İdame dönemi fEPSP eğimi bazal değerin %107,81 ± 3.97'sine kadar arttığı gözlendi ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($t_{(9)}$ =1,965; P > 0,05). VPA Sf grubunda idame dönemi fEPSP eğimi bazal değerin %111,72 ± 10.34'üne kadar artmış olsa da istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($t_{(8)}$ = 1,133; P > 0,05). VPA Ant grubunda idame dönemi fEPSP eğimi bazal değerin %116,88 ± 9.4'üne kadar arttı, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ($t_{(6)}$ = 1,133; P > 0,05). Ortalama değerler Tablo 4.16'da verilmiştir.

Bu bulgular doğrultusunda, Kontrol Sf grubunda PP-DFU protokolünün etkili olduğu ve PP-DFU sonrası dönem ile idame döneminde fEPSP eğiminin bazal değerlere kıyasla anlamlı düzeyde baskılandığı gözlenmiştir. Bu durum, Kontrol Sf grubunda PP-UDB'nin başarıyla indüklendiğini göstermektedir. Kontrol Ant grubunda ise 60 dakikalık mGluR1/5 antagonist infüzyonunun PP-DFU sonrası fEPSP eğimini baskıladığı, ancak idame döneminde istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte fEPSP eğiminde kısmi bir toparlanma eğilimi oluşturduğu belirlenmiştir. Bu nedenle Kontrol Ant grubunda PP-UDB'nin sürdürülemediği değerlendirilmiştir. VPA gruplarında ise bazal sinaptik iletimin bozulduğu ve PP-DFU protokolü ile PP-UDB'nin indüklenemediği ortaya konmuştur.



Şekil 4.19. PP-UDB indüklenen gruplarda PS genliği cevapları (bazal değer %100 alınarak, bazale göre kıyaslanmıştır), **(A)** PP-DFU sonrası PS genliği Konrol Sf grubunda PS genliğinde azalma görüldü (* P = 0,004). **(B)** İdame dönemi PS genliği, Kontrol Ant grubunda PS genliğinde artış (*p=0,001), VPA Sf grubunda PS genliğinde artış (** P = 0,021), VPA Ant grubunda PS genliğinde artış görüldü (*** P = 0,023). Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

Her bir deney grubu için sinaptik etkinlik düzeyinin bazal değere göre kıyaslanması tek örneklem t-testi ile analiz edildi. Başlangıç bazal kayıt değeri %100 olarak kabul edildi. Şekil 4.19 **(A)** Kontrol Sf grubunda PS genliği bazal değere göre %72,6 ± 7,17 göre azaldı ($t_{(9)}$ = 3,810; * P = 0,004), Kontrol Ant grubunda PS genliği bazal değere göre % 95.45 ± 5.7'sine kadar azalsa da istatistiksel olarak anlamlı değildi ($t_{(9)}$ = 0,800; P > 0,05), VPA Sf grubunda PS genliği bazal değerin % 85,56 ± 11,22'sine kadar azalsa da istatistiksel olarak anlamlı değildi ($t_{(8)}$ = 1,286; P > 0,05). VPA Ant grubunda PS genliği bazal değerin %105,79 ± 13,7'sine kadar artsa da anlamlı bir artış değildi ($t_{(6)}$ = 0,423; P > 0,05). **(B)** İdame dönemi PS genliği, Kontrol

Sf grubunda İdame dönemi PS genliği bazal değerin % 146,1 ± 24,67'sine kadar artmış olsa da anlamlı değildi ($t_{(9)}$ = 1,871; P > 0,05), Kontrol Ant grubunda İdame dönemi PS genliği bazal değerin %194,41 ± 20,25'ine kadar artmıştır ($t_{(9)}$ = 4,660; * P = 0,001), VPA Sf grubu İdame dönemi PS genliği bazal değere göre % 111,72 ± 10,34'üne kadar artmıştır ($t_{(8\ )}$= 2,874; ** P = 0,021), VPA Ant grubunda İdame dönemi PS genliğinde bazal değerin % 230,49 ±42,8'ine kadar arttı ($t_{(6)}$ = 3,048; *** P = 0,023). Ortalama değerler Tablo 4.16'da verilmiştir.

Bu sonuçlar, PP-DFU sonrası dönemde yalnızca Kontrol Sf grubunda PS genliğinde bazal değere kıyasla anlamlı bir baskılanma olduğunu, antagonist uygulanan kontrol grubunda ve VPA gruplarında ise PS genliğindeki değişimlerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığını göstermektedir. Buna karşılık idame döneminde, Kontrol Ant ve her iki VPA grubunda PS genliğinde bazal değere kıyasla anlamlı artışlar gözlenmiş, Kontrol Sf grubunda ise artış anlamlı düzeye ulaşmamıştır. Bu bulgular, PP-DFU'ya verilen PS yanıtının grup ve antagonist uygulamasına bağlı olarak farklılaştığını ve özellikle VPA uygulamasının PS genliği üzerinden uyarılabilirliği etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Tablo 4.16. Deney gruplarının PP-DFU cevapları.

	Kontrol Sf	**Kontrol Ant**	**VPA Sf**	**VPA Ant**
n	10	10	9	7
PP-DFU sonrası EPSP	80,8 ± 1,6[a]	88,28 ± 2,7[d]	93,02 ± 3,9	96,85 ± 6,31
İdame dönemi EPSP	89,5 ± 2,3[b]	107,81 ± 3,97	111,72 ± 10,34	116,88 ± 9,4
PP-DFU sonrası PS	72,6 ± 7,17[c]	95,45 ± 5,7	85,56 ± 11,22	105,79 ± 13,7
İdame dönemi PS	146,1 ± 24,67	194,41±20,25[e]	188,59± 30,32[f]	230,49±42,8[g]

Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

Değerler 1 saatlik madde infüzyonu sonucunda elde edilen elde edilen potansiyellerin % olarak değişimini gösterir,

a: kontrol Sf grubunda ilk 5 dakikada fEPSP eğiminde bazal değere göre baskılanma, (P < 0,001),

b: kontrol Sf grubunda idame dönemi, fEPSP eğiminde bazal değere göre baskılanma (P = 0,002),

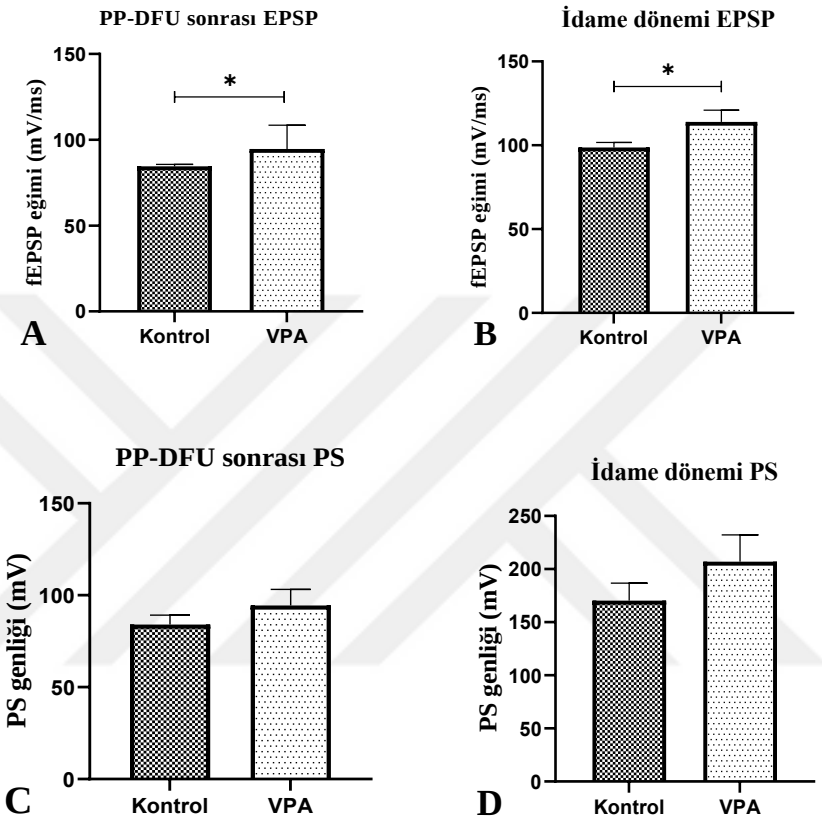
c: kontrol Sf grubunda ilk 5 dakikada PS genliğinde bazal değere göre baskılanma (P = 0,004),

d: kontrol Ant grubunda ilk 5 dakikada, fEPSP eğiminde bazal değere göre baskılanma (P = 0,02),

e: kontrol Ant grubunda idame döneminde, PS genliğinde bazal değere göre artış (P < 0,001),

f: VPA Sf grubunda idame döneminde, PS genliğinde bazal değere göre artış (P = 0,021),

g: VPA Ant grubunda idame döneminde, PS genliğinde bazal değere göre artış (P = 0,023) anlamına gelmektedir.



Şekil 4.20. Kontrol grupları ve VPA gruplarının fEPSP eğimi ve PS genliği bulguları. **(A)** PP-DFU sonrası VPA grubunda fEPSP eğimi kontrole göre yüksek bulundu (P = 0,009), **(B)** İdame döneminde VPA gruplarında fEPSP eğimi Kontrol grubuna kıyasla yüksek bulundu (P = 0,037), **(C)** PP-DFU sonrası PS genliğinde gruplar arası anlamlı bir fark görülmedi (P > 0,05), **(D** İdame dönemi PS genliğinde gruplar arası fark görülmedi (P > 0,05). Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

Grup etkileşimleri bağımsız örneklem t-testi kullanılarak analiz edildi. Şekil 4.20 **(A)** PP-DFU uyarımı sonrası EPSP eğimi VPA gruplarında, Kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak yüksek bulundu (t_{34} = 2,772; P = 0,009). **(B)** VPA gruplarının İdame dönemi fEPSP eğimi Kontrol gruplarına kıyasla yüksek bulundu (t_{34} = 2,166; P = 0,037). **(C)** Gruplar arasında PP-DFU sonrası PS genliğinde fark bulunmadı (t_{34} = 1,062; P > 0,05). **(D)** İdame dönemi PS genliğinde gruplar arasında istatistiksel

olarak anlamlı fark görülmedi (t_{34} = 1,261; P > 0,05). Ortalamalar Tablo 4.17'de verilmiştir.

Grup karşılaştırmaları, VPA uygulanan gruplarda PP-DFU sonrası ve idame döneminde fEPSP eğiminin kontrol gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek olduğunu göstermektedir. Buna karşın, PS genliği açısından PP-DFU sonrası dönem ve idame döneminde gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu bulgular, VPA uygulamasının sinaptik düzeyde ölçülen iletim etkinliğini olan EPSP eğimini etkilediğini, ancak nöronal PS genliği üzerinde belirgin bir grup farkı oluşturmadığını göstermektedir.

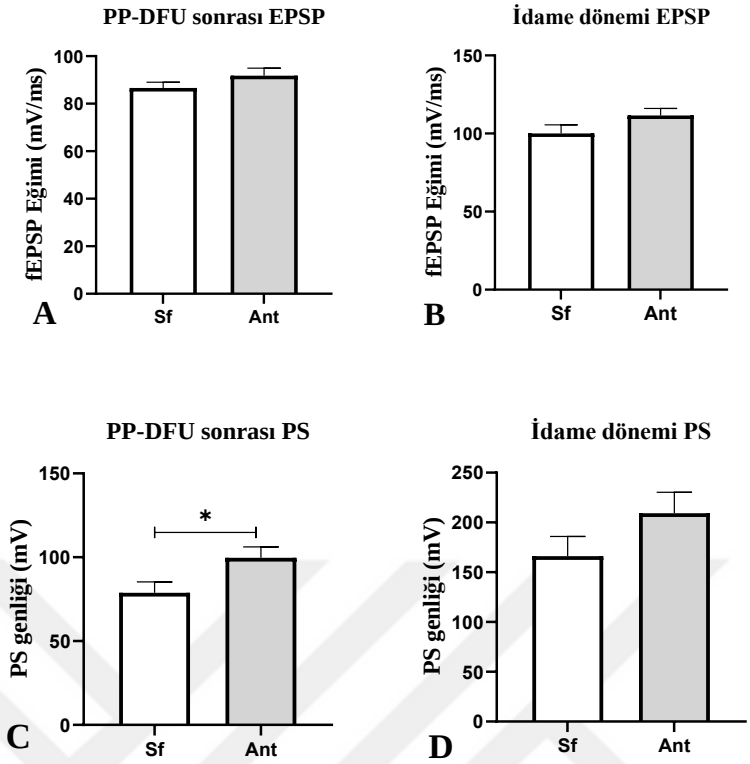
Tablo 4.17. Kontrol grupları ve VPA gruplarının fEPSP eğimi ve PS genliği bulguları.

	Kontrol	**VPA**	P değeri
n	20	16	
PP-DFU sonrası EPSP	84,5350 ± 1,178	94,7000 ± 13,80*	P = 0,009
İdame dönemi EPSP	98,6550 ± 3,08	113,9813 ± 0,037**	P = 0,037
PP-DFU sonrası PS	84,0562 ± 5,1674	94,4160 ± 8,8005	P > 0,05
PP-DFU sonrası dönem	170,2674 ± 16,4858	206,9280 ± 25,1905	P > 0,05

Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

** P = 0,009, VPA gruplarının PP-DFU sonrası EPSP eğiminin Kontrol gruplarından yüksek olduğunu ifade eder.*

*** P = 0,037, VPA gruplarının İdame dönemi EPSP eğiminin Kontrol gruplarından yüksek olduğunu ifade eder.*



Şekil 4.21. Sf ve Antagonist gruplarının fEPSP eğimi ve PS genliği bulguları. **(A)** Gruplar arasında PP-DFU sonrası dönem fEPSP eğiminde fark bulunmadı (P > 0,05), **(B)** Gruplar arası İdame dönemi fEPSP eğiminde fark bulunmadı (P > 0,05), **(C)** Antagonist grubunda PP-DFU sonrası PS genliği Sf grubuna göre daha yüksek bulundu (P = 0,029), **(D)** İdame dönemi PS genliğinde fark bulunmadı (P > 0,05). Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

Sf uygulanan gruplar ve mGluR1/5 antagonistleri uygulanan gruplar fEPSP eğimi ve PS genliği bakımından bağımsız örneklem t testi ile kıyaslandı. Şekil 4.21 **(A)** Sf ve Antagonist grupları arasında PP-DFU sonrası fEPSP eğiminde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($t_{(34)}$ = 1,326; P > 0,05), **(B)** Sf ve Antagonist grupları arasında İdame dönemi fEPSP eğiminde anlamlı bir fark bulunmadı ($t_{(34)}$ = 1,589; P > 0,05), **(C)** PP-DFU sonrası PS genliği Antagonist grubunda Sf grubuna göre yüksek bulundu ($t_{(34)}$ = 2,278; P = 0,029), **(D)** İdame dönemi PS genliğinde gruplar arası anlamlı bir fark bulunmamıştır ($t_{(34)}$ = 1,500; P > 0,05). Ortalamalar Tablo 4.18'de verilmiştir.

Bu bulgular, mGluR1/5 antagonist uygulamasının fEPSP eğimi üzerinde belirgin bir etkisi olmadığını, ancak PP-DFU sonrası erken dönemde PS genliği üzerinde geçici bir etki oluşturduğunu göstermektedir.

Tablo 4.18. Sf ve Antagonist gruplarının fEPSP eğimi ve PS genliği ortalamaları.

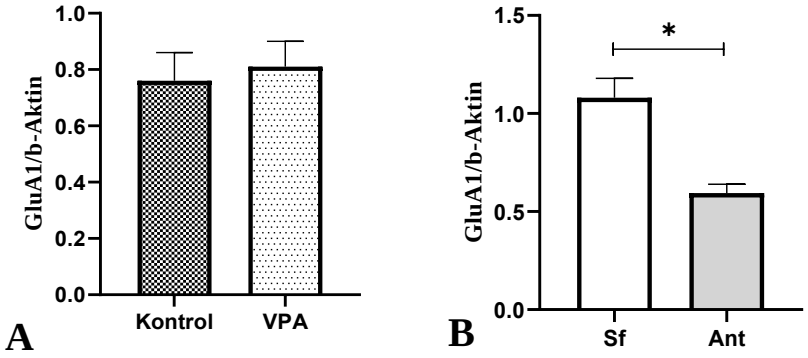
	Sf	Ant	P değeri
n	19	17	
PP-DFU sonrası EPSP	86,5842 ± 2,4616	91,8118 ± 3,1321	P > 0,05
İdame dönemi EPSP	100,0263 ± 5,555	111,5471 ± 4,4855	P > 0,05
PP-DFU sonrası PS	78,7756 ± 6,509	99,7084 ± 6,436*	P = 0,029
PP-DFU sonrası dönem PS	166,2436 ± 19,61	209,2686 ± 20,9398	P > 0,05

Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

**P = 0,029, Antagonist uygulanan gruplarda PP-DFU sonrası PS genliğinin yüksek olduğunu ifade eder.*

4.4. Sf VE ANTAGONİST İNFÜZYONU YAPILARAK UDB İNDÜKLENEN GRUPLARIN HİPOKAMPAL DOKULARINDA PROTEİN EKSPRESYON SEVİYELERİ

PP-UDB indüklenmiş Kontrol Sf, Kontrol Ant, VPA Sf ve VPA Ant gruplarında elektrofizyolojik kaydın ardından her bir gruptan 6 adet sıçanın hipokampüs dokuları alınmıştır. Bu dokularda GluR1, GluA2, PSD95, sinapsin, p-sinapsin proteinlerinin ekpresyon seviyeleri ölçülmüştür.



Şekil 4.22. PP-UDB indüklenen grupların hipokampal dokularında GluA1 protein ekspresyon seviyeleri. **(A)** Kontrol ve VPA gruplarında GluA1 ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı (P > 0,05), **(B)** Sf uygulanan grupların GluA1/b-Aktin oranı VPA gruplarına göre yüksek bulundu (* P < 0,001). Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

PP-UDB indüklenmiş, Kontrol Sf, Kontrol Ant, VPA Sf ve VPA Ant uygulanan hipokampal dokularda VPA ve antagonist uygulamalarının metabotropik Glutamat reseptörü GluA1 protein ekspresyon seviyesine etkileri 2x2 ANOVA ile analiz edildi. Antagonist uygulamasının GluA1 ekspresyon seviyesini etkilediği bulundu

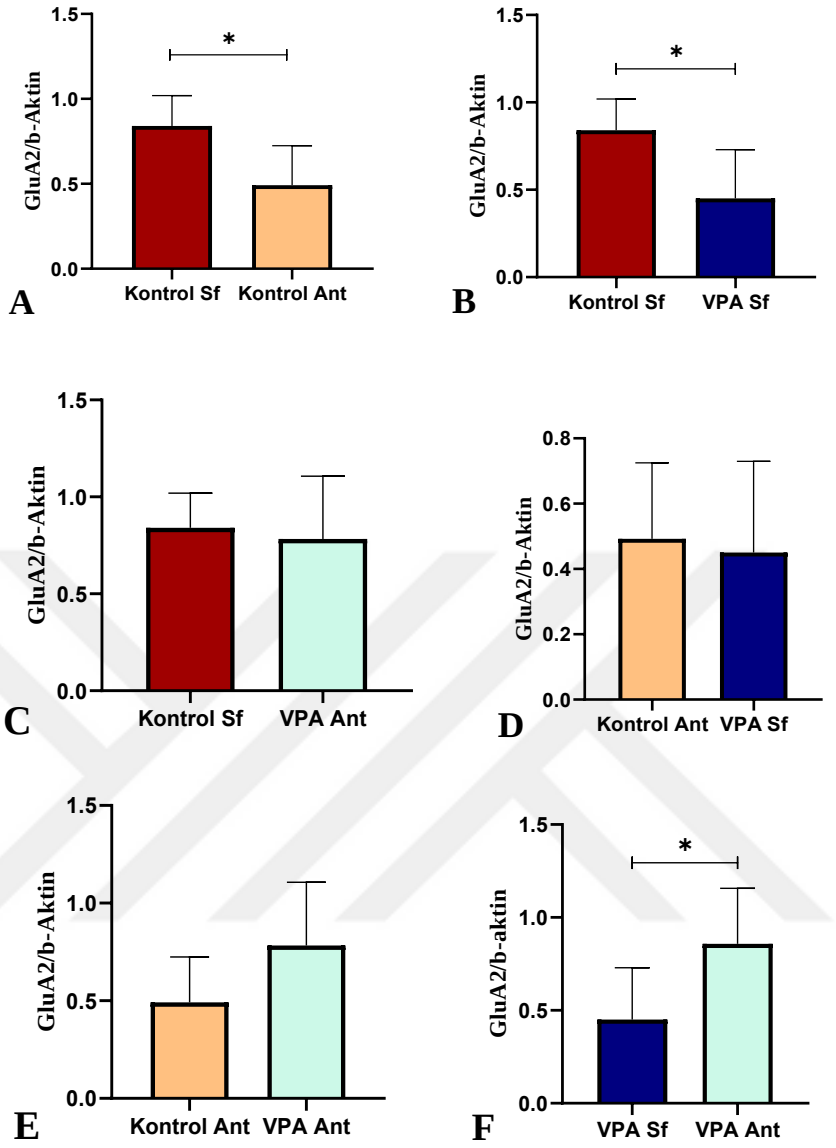
($F_{1,18}$ = 16,040; P < 0,001). Gruplar arasındaki etki bağımsız örneklem t-testi ile analiz edildi. Şekil 4.22 **(A)** Kontrol ve VPA grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($t_{(20)}$ = 0,328; P > 0,05), **(B)** Antagonist uygulamasının GluA1 ekspresyon seviyesini düşürdüğü bulundu ($t_{(20)}$ = 4,126; * P < 0,001). Ortalamalar Tablo 4.19'da verilmiştir.

Bu bulgular, PP-UDB indüklenmiş koşullarda VPA uygulamasının GluA1 protein ekspresyon düzeyini anlamlı olarak etkilemediğini, buna karşılık mGluR1/5 antagonist uygulamasının GluA1 ekspresyonunda belirgin bir azalmaya yol açtığını göstermektedir.

Tablo 4.19. PP-UDB indüklenen grupların hipokampal dokularında GluA1 protein ekspresyon seviyeleri.

	Kontrol	**VPA**	**Sf**	**Ant**
n	11	11	10	12
GluR1/b-Aktin	0,7645 ± 0,102	0,8100 ± 0,307	1,0180 ± 0,099	0,5950 ± 0,044

Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.



Şekil 4.23. PP-UDB indüksiyonu uygulanan grupların hipokampal dokularında GluA2 protein ekspresyon seviyeleri. **(A)** Kontrol Sf grubu GluA2/b-Aktin protein düzeyi Kontrol Ant grubuna göre yüksek bulundu (* P = 0,036), **(B)** Kontrol Sf grubunda GluA2/b-Aktin oranı VPA Sf grubuna göre yüksek bulundu (* P = 0,036), **(C)** Kontrol Sf ve VPA Ant grubu arasında fark görülmedi (P > 0,05), **(D)** Kontrol Ant ve VPA Sf grubu arasında anlamlı bir fark bulunmadı (P > 0,05), **(E)** Kontrol Ant ve VPA Ant grubu arasında fark bulunmadı (P > 0,05), **(F)** VPA Ant grubunda GluA2/b-Aktin oranı VPA Sf grubuna göre yüksek bulundu (* P = 0,028). Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

PP-UDB indüklenmiş, Kontrol Sf, Kontrol Ant, VPA Sf ve VPA Ant gruplarının hipokampal dokularında AMPA reseptörü alt ünitesi GluA2/b-Aktin oranları 2X2 ANOVA ile analiz edildiğinde VPA*Antagonist etkileşimi istatiksel olarak anlamlı

bulundu ($F_{1,20}$= 10,413, P = 0,004). Gruplar arası kıyaslamalar Mann Whitney U testi ile analiz edildi.

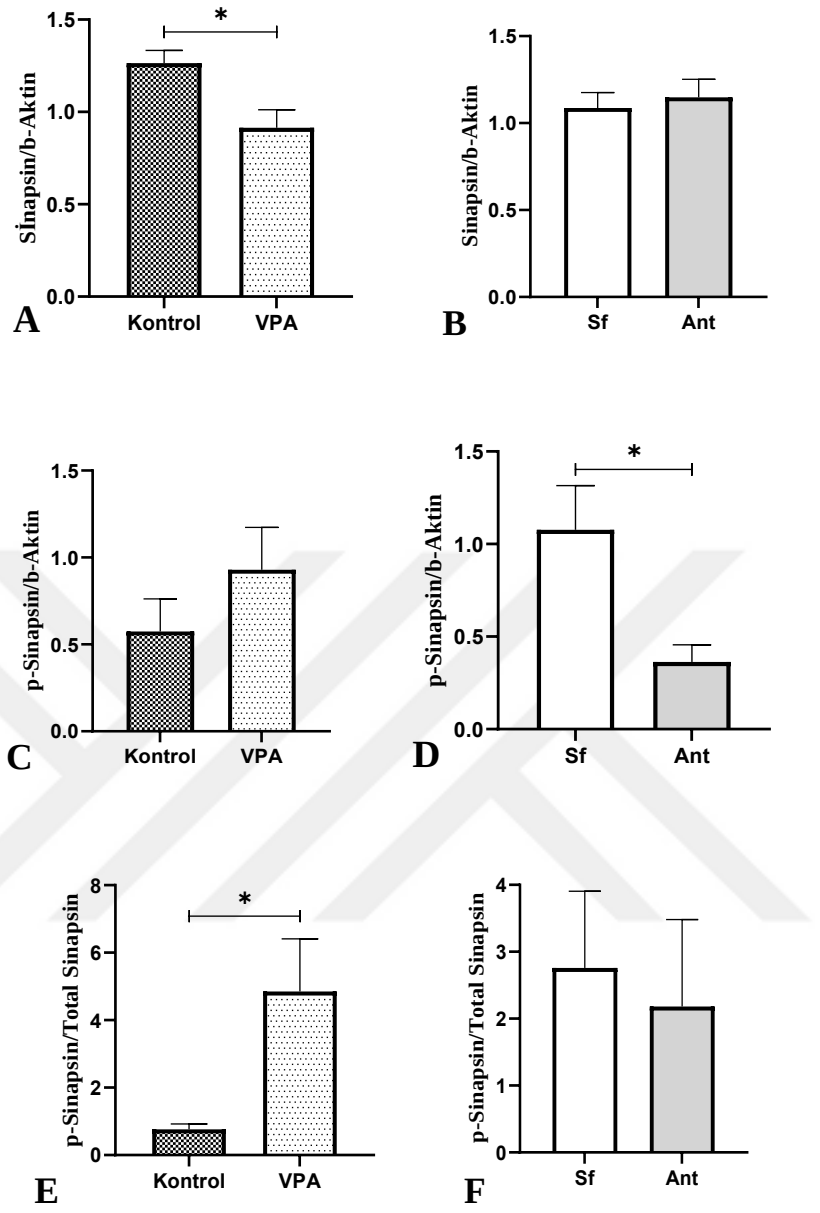
GluA2 protein ekspresyon seviyeleri (Şekil 4.23), **(A)** Kontrol Sf grubunda GluA2 protein ekspresyonu Kontrol Ant grubuna göre yüksek bulundu (U= 5,000; z= -2.096, * P = 0,036). **(B)** Kontrol Sf grubunda GluA2/b-aktin oranı VPA Sf grubuna yüksek bulundu (U = 5,000; z= 2,096; * P = 0,036), **(C)** Kontrol Sf ve VPA Ant grubu arasında anlamlı bir fark bulunmadı (U=14,000; z = 0,183; P > 0,05), **(D)** Kontrol Ant ve VPA SF grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı (U = 16,000; z= 0,320; P > 0,05), **(E)** Kontrol Ant ve VPA Ant arasında istatistiksel bir fark bulunmadı (U= 8,000; z = 1,601; P > 0,05), **(F)** VPA Sf ve VPA Ant grubu kıyalandığında VPA Ant grubunda GluA2 protein ekspresyonu VPA Sf grubuna göre yüksek bulundu (U= 3.000, z= -2.191, *p= 0,028). Ortalamalar Tablo 4.20'de verilmiştir.

Bu sonuçlar, GluA2 protein ekspresyonunun özellikle Kontrol Sf grubunda antagonist uygulamasına ve VPA uygulamasına kıyasla daha yüksek olduğunu, VPA koşullarında ise antagonist uygulamasının GluA2 düzeylerinde artışa yol açtığını göstermektedir. Buna karşılık, bazı grup karşılaştırmalarında anlamlı fark saptanmaması, GluA2 ekspresyonundaki değişimlerin belirli deneysel koşullarla sınırlı olduğunu düşündürmektedir.

Tablo 4.20. PP-UDB indüksiyonu uygulanan grupların hipokampal dokularında GluA2 protein ekspresyon seviyeleri.

	Kontrol Sf	**Kontrol Ant**	**VPA Sf**	**VPA Ant**
n	6	6	6	5
GluA2/b-Aktin	0,8737	0,4820	0,5139	0,8135

Değerler non-parametrik dağıldığı için median değerler verilmiştir.



Şekil 4.24. PP-UDB indüklenen grupların hipokampal dokularında sinapsin ve p-sinapsin ekspresyon seviyeleri. **(A)** Kontrol gruplarında VPA gruplarına göre Sinapsin/b-Aktin oranı daha yüksek bulundu (* P = 0,024), **(B)** Sf ve Ant uygulanan gruplarda sinapsin/b-Aktin oranında anlamlı bir fark yoktu (P > 0,05), **(C)** Kontrol ve VPA'lı gruplarda p-Sinapsin/b-Aktin oranında anlamlı bir fark görülmedi (P > 0,05), **(D)** Sf uygulanan gruplarda p-Sinapsin/b-Aktin oranı Antagonist gruplarına göre yüksek bulundu (* P = 0,018), **(E)** VPA grpuplarında p-Sinapsin/Total Sinapsin oranı Kontrol gruplarına göre yüksek bulundu (* P = 0,011), **(F)** Sf ve Antagonist uygulanan gruplarda p-Sinapsin/Total sinapsin oranında fark görülmedi (P > 0,05). Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

PP-UDB indüklenmiş gruplarda VPA ve antagonist uygulamasının sinapsin ekspresyonu üzerine etkisi 2x2 ANOVA ile analiz edildi. VPA'nın sinapsin ekspresyonu üzerinde etkili olduğu bulundu ($F_{1,20}$ = 5,426; P = 0,020). Gruplar arası

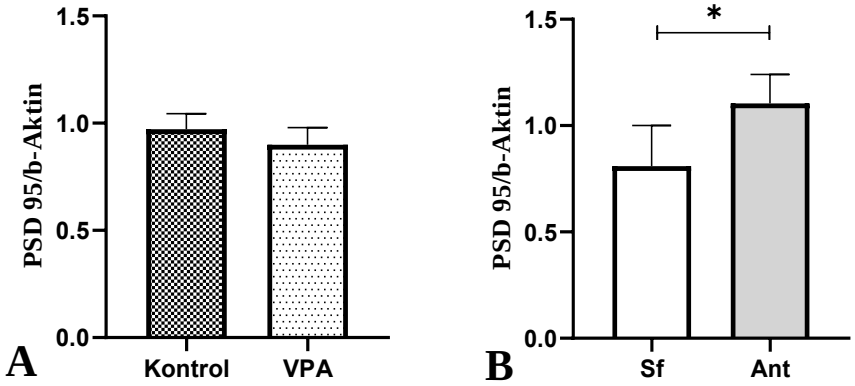
etki bağımsız örneklem t-testi ile analiz edildi. Şekil 4.24 **(A)** Sinapsin/b-Aktin düzeyi, Kontrol gruplarının Sinapsin/b-Aktin oranı VPA gruplarına göre yüksek bulundu ($t_{(22)}$ = 2,428; * P = 0,024). **(B)** Sf ve Antagonist uygulanan grupların sinapsin/b-aktin düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($t_{(22)}$ = 0,451; P > 0,05). p-Sinapsin verileri 2x2 ANOVA ile test edildi ve VPA ile etkileşim bulunmadı ancak Antagonist uygulamasının p-Sinapsin protein seviyesi üzerinde anlamlı bir değişikliğe sebep olduğu bulundu ($F_{1,18}$ = 6,574, P = 0,020). Gruplar arası etki bağımsız örneklem t-testi ile analiz edildi. p-Sinapsin/b-Aktin düzeyleri; **(C)** Kontrol grupları ve VPA grupları kıyaslandığında p-sinapsin/b-Aktin oarnında anlamlı bir fark bulunmadı ($t_{(20)}$ = 1,151; P > 0,05), **(D)** Sf uygulanan gruplarda p-sinapsin/b-Aktin oranı Antagonist uygulanan gruplara göre daha yüksek bulundu (t_{20} = 2,588, * P = 0,018). p-Sinapsin, total sinapsine oranlandığında yapılan 2x2 ANOVA analizinde VPA'nın etkili olduğu bulundu ($F_{1,12}$ =6,921, * P = 0,030). Bağımsız örneklem t-testi ile gruplar karşılaştırıldı. (E) VPA gruplarında kıyasla p-Sinapsin/Sinapsin oranı Kontrol gruplarına göre yüksek bulundu (* $t_{(14)}$ = 2,947, P = 0,011), **(F)** Antagonist uygulamasının p-sinapsin/sinapsin oranına bir etkisi bulunmadı ($t_{(14)}$ = 0,322; P > 0,05). Ortalamalar Tablo 4.21'de verilmiştir.

Bu bulgular, PP-UDB indüklenmiş koşullarda VPA'nın total sinapsin ekspresyonunu azalttığını, buna karşılık p-Sinapsin/total Sinapsin oranını artırdığını göstermektedir. Antagonist uygulaması total sinapsin düzeyleri üzerinde anlamlı bir etki oluşturmazken, p-Sinapsin düzeylerinde ve Sf gruplarına kıyasla antagonist uygulanan gruplarda p-Sinapsin/b-Aktin oranında azalma ile ilişkili bulunmuştur. Bu sonuçlar, VPA ve mGluR1/5 antagonistlerinin presinaptik proteinlerin düzeyleri ve fosforilasyon durumu üzerinde farklı etkiler oluşturduğunu düşündürmektedir.

Tablo 4.21. PP-UDB indüklenen grupların hipokampal dokularında sinapsin ve p-sinapsin ekspresyon seviyeleri.

	Kontrol	**VPA**	**Sf**	**Ant**
n	12	12	12	12
Sinapsin/b-Aktin	1,26 ± 0,06	0,91 ± 0,09	1,08 ± 0,08	1,14 ± 0,10
p-Sinapsin/b-Aktin	0,57 ± 0,18	0.92 ± 0,24	1,07 ± 0,23	0,36 ± 0,09
p-Sinapsin/Sinapsin	0,76 ± 0,16	4,85 ± 1,56	2,75 ± 1,14	2,18 ±1,30

Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.



Şekil 4.25. PP-UDB indüksiyonu uygulanan grupların hipokampal dokularında PSD 95 protein ekspresyon seviyeleri. **(A)** Kontrol ve VPA gruplarında PSD 95/b-Aktin oranları arasında anlamlı bir fark bulunmadı (P > 0,05). **(B)** Sf ve Antagonist grupları kıyaslandığında Ant grubundaPSD 95/b-Aktin oranının Sf grubundan fazla olduğu bulundu (P = 0,002). Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

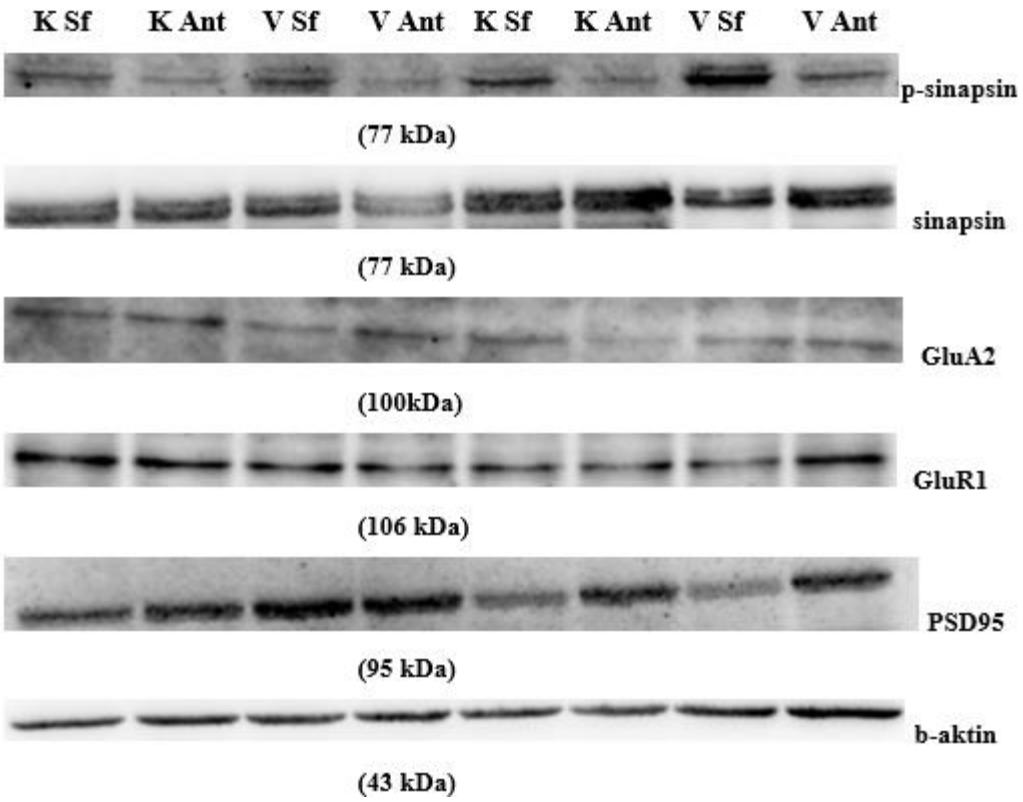
PP-UDB indüklenmiş, Kontrol Sf, Kontrol Ant, VPA Sf ve VPA Ant uygulanan hipokampal dokularda VPA ve antagonist uygulamalarının Glutamatın AMPA reseptörü alt birimi olan PSD95 protein ekspresyon seviyesine etkileri 2x2 ANOVA ile analiz edildi. Antagonist etkileşimi olduğu bulundu ($F_{1,14}$ = 13,935; P = 0,002). Gruplar arası analizler bağımsız örneklem t testi ile yapıldı. Şekil 4.25 **(A)** Kontrol ve VPA grupları kıyaslandığında PSD 95/b-Aktin oranında gruplar arası anlamlı bir fark bulunmadı ($t_{(16)}$ = 0,82; P > 0,05), **(B)** Sf ve Ant gruplar kıyaslandığında Ant grubunda PSD 95/b-Aktin oranı yüksek bulundu ($t_{(16)}$ = 3,675; P = 0,002). Ortalamalar Tablo 4.22'de verilmiştir.

Bu bulgular, PP-UDB indüklenmiş koşullarda VPA uygulamasının PSD-95 ilişkili protein düzeyleri üzerinde belirgin bir etkisi olmadığını, buna karşılık mGluR1/5 antagonist uygulamasının PSD-95/b-Aktin oranında artışa yol açtığını göstermektedir. Bu durum, antagonist uygulamasının postsinaptik yoğunluk bileşenleri üzerinde düzenleyici bir etki oluşturabileceğini düşündürmektedir.

Tablo 4.22. PP-UDB indüksiyonu uygulanan grupların hipokampal dokularında PSD 95 protein ekspresyon seviyeleri.

	Kontrol	**VPA**	**Sf**	**Ant**
n	10	8	10	8
PSD 95/b-Aktin	0,9720 ± 0,07	0,8984 ± 0,07	0,8076 ± 0,60	1,1040 ± 0,48

Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.



Şekil 4.26. PP-UDB indüksiyonu uygulanan grupların hipokampal dokularından elde edilen proteinlere ait membran bant görüntüleri.

5. TARTIŞMA

OSB'nin nedenleri arasında erken gelişim döneminde etkileşim gösteren hem genetik hem de çevresel faktörlerin önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir. Otizmin klinik belirtileri genellikle erken çocukluk döneminde fark edilebilir olmasına karşın, tanı çoğu zaman daha ileri yaşlarda konulmaktadır. Erken tanı ve müdahale, OSB'ye eşlik eden sosyal, bilişsel ve davranışsal yetersizliklerin azaltılmasında kritik bir öneme sahiptir. Multidisipliner değerlendirme süreçleri ve hedefe yönelik davranışsal yaklaşımlar ile farmakolojik tedaviler, sosyal işlevsizlik ve duygusal dengesizliğe bağlı saldırganlık gibi semptomları hafifletebilmekte; ancak bu yöntemlerin hastalığın temel nöropatolojik süreçlerini ortadan kaldırmadığı bildirilmektedir (L. Wang ve ark., 2023). OSB'ye özgü davranışsal anormallikler, beyin devrelerinin işelevsel organizasyonundaki bozulmalar sinaptik düzeydeki nörofizyolojik farklılıklarla ilişkilendirilmiş olsa da nöropatolojik belirteçler tam olarak tanımlanmamıştır (Faust ve ark., 2021).

Bu çalışmada, prenatal dönemde intraperitoneal VPA uygulanmasıyla oluşturulan otizm modeli sıçanlarda, hipokampal plastisitede Grup I mGluR (mGluR1/5) reseptörlerinin Uzun Dönem Baskılanma (UDB) sürecindeki rolü elektrofizyolojik düzeyde incelenmiştir. Ayrıca VPA'ya maruz kalan hayvanlarda mGluR1/5 antagonistleri (MTEP ve JNJ) uygulanarak UDB yanıtlarının değişimi değerlendirilmiştir. Bunun yanı sıra OSB'de gözlenen sinaptik ve yapısal plastisite bozuklukları moleküler düzeyde değerlendirilmiştir.

VPA, yaygın olarak epilepsi ve bipolar bozukluk tedavisinde kullanılan bir antikonvülsan olmasına rağmen, güçlü teratojenik özellikleri nedeniyle prenatal dönemde maruz kalındığında ciddi nörogelişimsel anomalilere yol açabilmektedir. VPA, embriyonik dönemde nöronal farklılaşma, aksonal yönelim ve sinaptogenez

süreçlerini olumsuz etkiler (Schneider ve Przewłocki, 2005). Ayrıca VPA, folat metabolizmasını baskılayarak nöral tüp defektleri gibi morfolojik bozukluklara da zemin hazırlar. Bu değişiklikler, prenatal dönemde gelişen beyinde hipokampus, prefrontal korteks ve serebellum gibi bölgelerde Purkinje hücre kaybı, sinaptik plastisite bozuklukları ve eksitatör-inhibitör (E/I) dengenin bozulması ile sonuçlanır (Han ve ark., 2014; Ingram ve ark., 2000). VPA'nın bu klinik bulguları, OSB'nin altında yatan nörolojik mekanizmaları aydınlatmak amacıyla hayvan modellerinin geliştirilmesine yol açmıştır. Sıaçanlarda, nöral tüp kapanması döneminde denk gelen erken embriyonik dönemde VPA maruziyeti, yavrularda otizme benzer anatomik ve davranışsal anormalliklere neden olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışmada Wistar Albino dişi sıçanlara; gebeliğin 12,5. gününde tek doz olarak 500 mg/kg intraperitoneal VPA enjeksiyonu (Favre ve ark., 2013) ve SF enjeksiyonu uygulanmıştır. Her bir anneden 4 erkek yavru rastgele alınarak gruplar oluşturulmuştur. Aynı anneden alınan 2 yavru davranış deneylerinde, 2 yavru ise elektrofizyoljik deneylerde kullanılmıştır. Yavrularda gelişimsel parametreler takip edilmiştir.

5.1. GELİŞİMSEL PARAMETRELERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışmamızda VPA grubunun boy ve ağırlık ölçümleri kontrol grubuna göre daha iyi olduğu görülmüştür. Literatürde ise prenatal VPA uygulanan yavruların gelişimine ilişkin bulgular tutarlılık göstermemektedir. Bazı çalışmalar, VPA'ya maruz kalan gruplarda boy ve vücut ağırlığı artışının kontrollere kıyasla daha yavaş seyrettiğini ve gelişimsel bir gecikmeye işaret ettiğini bildirmiştir (Fereshetyan ve ark., 2021; Zhang ve ark., 2023). Buna karşın, diğer araştırmalar prenatal VPA maruziyetinin büyüme parametreleri üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığını ve VPA ile kontrol grupları arasında boy ve ağırlık açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığını göstermektedir (Liu ve ark., 2022; Mirza ve Sharma, 2019). Bizim çalışmamızda, deney gruplarımız incelendiğinde, kontrol grubundaki annelerin yavru sayısının VPA gruplarına göre daha fazla olduğu görülmüştür. Bu durum, kontrol grubundaki yavruların hem intrauterin gelişim sürecinde hem de postnatal dönemde anne sütüne erişim açısından dezavantajlı bir konumda olmasına yol açmış olabilir. Bu görüşü destekleyecek şekilde, kontrol grubundaki yavruların doğum ağırlıklarının daha

düşük olduğu ve bazı bireylerin belirgin şekilde daha küçük boyutlara sahip olduğu gözlemlenmiştir. Artan yavru sayısına bağlı olarak anne sütünün birey başına düşen miktarının azalması, kontrol grubundaki yavruların erken gelişim döneminde VPA grubundaki yavrulara kıyasla daha düşük vücut ağırlığına ve daha kısa boya sahip olmasını açıklayabilecek bir faktör olarak değerlendirilmektedir. VPA grubundaki hayvanların kontrol grubuna kıyasla daha iyi bir gelişim göstermesi, doğrudan VPA etkisinden ziyade, yavru sayısına bağlı beslenme ve erken gelişim koşullarındaki farklılıklardan kaynaklanmış olabileceğini düşündürmektedir.

Gelecek çalışmalarda, yavru sayısının gruplar arasında dengelendiği veya istatistiksel olarak kontrol edildiği deneysel tasarımlar kullanılması, VPA'nın büyüme ve gelişim parametreleri üzerindeki doğrudan etkilerinin daha net bir biçimde ortaya konmasına katkı sağlayacaktır. Ayrıca doğum ağırlığı, erken postnatal beslenme durumu ve anne davranışları gibi değişkenlerin ayrı ayrı değerlendirilmesi, elde edilen bulguların literatürle daha sağlıklı bir şekilde karşılaştırılmasına olanak tanıyabilir.

VPA folat reseptörlerini rekabetçi olmayan biçimde inhibe eder ve bu nedenle prenatal VPA maruziyeti gelişimsel süreçleri bozar, aksiyel yapıları ve nöral tüp gelişimini etkiler. Prenatal VPA uygulanan sıçan yavrularının kuyruklarında tek kırıklı kuyruk, çift kırıklı kuyruk veya kısa kuyruk gibi malformasyonlar gözlemlenmiştir (Ruhela ve ark., 2017; Saft ve ark., 2014). Çalışmamızda prenatal VPA maruziyeti alan yavrularda sıklıkla çarpık kuyruk gözlemlenmiştir. Bu bulgu, VPA'nın doğru kritik dönemde uygulandığını ve modelin başarıyla oluşturulduğunu desteklemektedir. Çarpık kuyruk, VPA modelinin klasik bir morfolojik göstergesi olarak kabul edilmekte olup, özellikle nöral tüp ve somatik gelişim süreçlerinin etkilendiği prenatal maruziyeti doğrular. Dolayısıyla bu bulgu, modelin sadece davranışsal değişiklikler değil, aynı zamanda embriyonik gelişim üzerindeki doğrudan etkilerini de yansıttığını göstermektedir. Ayrıca, gözlemlenen fenotipik değişikliklerin tutarlılığı, çalışmada kullanılan VPA dozu ve zamanlamasının literatürde önerilen protokollerle uyumlu olduğunu ortaya koymaktadır. Bu durum, deneysel modelin geçerliliğini ve bulguların güvenilirliğini güçlendirmektedir.

Prenatal VPA'ya maruz kalan sıçan yavrularında sinir refleks gelişiminde gecikme, motor koordinasyonda bozulma, duyu gelişiminde gecikme, otizm ve aksiyete

benzeri davranışlar bildirilmiştir (Hou ve ark., 2018). Negatif jeotaksi, nörogelişimsel ve nörolojik bozuklukların erken dönemde değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan, güvenilir bir davranışsal testtir. Literatürde negatif jeotaksinin beyin hasarı, hidrosefali ve çeşitli merkezi sinir sistemi bozukluklarının değerlendirilmesinde önemli bir gösterge olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, farklı farmakolojik müdahalelerin etkinliğini değerlendirmede ve nörodavranışsal fonksiyonlardaki değişimleri ortaya koymada da sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak literatürde negatif jeotaksi testine ilişkin farklı bulguların olduğu görülmektedir. Ruhela ve ark. 2019 da negatif jeotaksi testinde VPA ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılıklar saptayarak negatif jeotaksinin ilgili nörogelişimsel bozukluğun erken dönemde davranışsal bir göstergesi olabileceğini öne sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda negatif jeotaksi testinde gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu bulgu, Schneider ve ark. (2005), Fereshetyan ve ark. (2021) ve Mehra ve ark. (2023)'de yaptıkları çalışmalarının sonuçlarıyla uyumludur ve negatif jeotaksinin her koşulda ayırt edici bir belirteç olmayabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda, erken dönemde gelişen motor reflekslerin VPA uygulamasının etkilerinden tam olarak etkilenmemiş olabileceği veya örneklem büyüklüğünün istatistiksel olarak küçük etkileri tespit etmeye yetersiz kalmış olabileceği de olasılıklar arasında yer almaktadır. Bu nedenle, bazı çalışmalarda anlamlı farklar rapor edilirken, bazılarında –bizim çalışmamızda olduğu gibi– fark saptanamaması beklenen ve literatürle uyumlu bir durumdur. Bu sonuçlar, negatif jeotaksi bulgularının tek başına yorumlanması yerine diğer motor ve davranış testleriyle birlikte değerlendirilmesi, VPA modelinin motor gelişim üzerindeki etkilerinin daha güvenilir bir şekilde ortaya konmasını sağlayacaktır.

Göz açma testi, VPA'nın gelişimsel etkilerini erken ve objektif bir biçimde ortaya koyabilen, kolay uygulanabilir ve tekrarlanabilir bir ölçüt olarak öne çıkmaktadır. Bu testin uygulanması, deneysel grubun yalnızca ileri dönem davranışsal fenotip açısından değil, aynı zamanda temel nörogelişimsel zaman çizelgesi bakımından da kontrol grubundan ayrışıp ayrışmadığını göstermesi açısından gereklidir. Ayrıca göz açma testi, daha ileri postnatal dönemlerde uygulanan motor ve davranış testlerinin doğru şekilde yorumlanabilmesi için önemli bir referans noktası sunmaktadır. Göz açılmasının gecikmesi, sonraki süreçte gözlenen motor performans farklılıklarının

yalnızca geçici bir davranış değişikliği olmadığını, daha erken dönemde başlayan ve süreklilik gösteren bir gelişimsel sürecin parçası olduğunu düşündürmektedir. Bu yönüyle göz açma testinin çalışmaya dahil edilmesi, elde edilen tüm davranışsal bulguların gelişimsel bir çerçeve içinde değerlendirilmesine olanak sağlamıştır.

Çalışmamızda VPA grubu, kontrol grubuna göre daha geç göz açmıştır. Ruhela ve ark (2019) da yaptıkları çalışmada bizim çalışmamıza benzer şekilde VPA'ya maruz kalan yavrularda geç göz açılması rapor etmişlerdir. Singla ve ark. (2021) ve Elnahas ve ark. (2021) yaptıkları çaışmalarda bizim sonuçlarımızı desteklemektedir. Elde ettiğimiz bulgular, literatürde tanımlanan VPA modeline ait gelişimsel özelliklerle yüksek düzeyde uyum sergilemektedir. Dolayısıyla göz açma testinden elde edilen bulgular, çalışmada kullanılan VPA maruziyet protokolünün etkinliğini doğrulayan ve ileri dönem davranış testlerinden elde edilen sonuçların gelişimsel bir çerçevede yorumlanmasını sağlayarak, oluşturulan VPA modelinin biyolojik geçerliliğini güçlü biçimde desteklemektedir.

Izgara yürüme testi, motor koordinasyon, postüral kontrol ve sensorimotor entegrasyonun değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan duyarlı bir testtir. Bu testte hayvanların hareket sırasında ayaklarını ızgara telleri üzerine doğru ve kontrollü bir şekilde yerleştirmeleri beklenir; ayağın ızgara boşluğundan kayması ise "ayak basma hatası" olarak değerlendirilir. Ayak basma hata sayısındaki artış, motor koordinasyon bozukluğu ve gecikmiş motor gelişimin güvenilir bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Otizm spektrum bozukluğunda motor gecikmeler ve koordinasyon bozuklukları hem klinik hem de deneysel çalışmalarda yaygın olarak rapor edilmiştir. Literatürde, VPA ile indüklenen otizm modellerinde motor gelişim basamaklarının geciktiği ve ince motor kontrolün bozulduğu gösterilmiştir (Mehra ve ark., 2023; Ruhela ve ark., 2019). Çalışmamızda PN20. günde uygulanan ızgara yürüme testinde VPA'ya maruz kalan yavrularda ayak basma hata sayısının kontrol grubuna kıyasla anlamlı biçimde arttığı saptanmıştır. Kontrol grubundaki hayvanların ızgara üzerinde patilerini doğru ve koordineli bir şekilde yerleştirdiği gözlenirken, VPA grubunda yürüyüş paterni bozulmuş ve sık patinaj hataları ortaya çıkmıştır. Bu bulgu, VPA modelinin yalnızca sosyal veya tekrarlayıcı davranışları değil, aynı zamanda motor gelişim süreçlerini de güvenilir biçimde değerlendirmeye olanak

sağladığını göstermektedir. Dolayısıyla, VPA grubunda gözlenen artmış ayak basma hataları, motor gelişim ve koordinasyon süreçlerinde meydana gelen gecikmelerle tutarlı olup, oluşturulan VPA modelinin otizmle ilişkili motor fenotipi başarıyla yansıttığını göstermektedir. Izgara yürüme testinden elde edilen bu bulgular, çalışmamızda uygulanan diğer motor ve nörogelişimsel testlerle birlikte değerlendirildiğinde, VPA maruziyetinin erken dönemde kalıcı motor bozukluklara yol açtığını desteklemekte ve modelin geçerliliğini güçlendirmektedir.

5.2. DAVRANIŞ DENEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu çalışmada üç bölmeli sosyal etkileşim testi, VPA ile indüklenen OSB modelinin davranışsal geçerliliğini doğrulamak amacıyla kullanılmıştır. OSB'nin ana belirtilerinden biri olan sosyal etkileşim ve sosyal yenilik tercihindeki bozulma, deneysel modelin davranışsal ve yapısal geçerliliğini destekleyen temel parametrelerden biridir (Crawley, 2004; Roullet ve ark., 2010; Schneider ve Przewłocki, 2005). Literatürde, VPA ile indüklenen OSB modellerinde sosyal davranış bozukluklarının şiddeti ve niteliğinin, maruziyet zamanı, doz, tür ve test protokolüne bağlı olarak değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir (Mehra ve ark., 2023). Bazı çalışmalarda genel sosyallik davranışında azalma rapor edilirken, bazı çalışmalarda ise çalışmamızda olduğu gibi özellikle sosyal yenilik tercihi ve sosyal bellek süreçlerinde seçici bozulmalar ön plana çıkmaktadır (Elnahas ve ark., 2021; Fereshetyan ve ark., 2021; Hou ve ark., 2018; Singla ve ark., 2021).

Çalışmamızda elde edilen bulgular, VPA ile indüklenen OSB modelinin sosyal davranış fenotipinin tam bir sosyallik kaybından ziyade, sosyal yenilik tercihine özgü bir bozulma sergilediğini göstermektedir. Deneyin sosyal etkileşim fazında, hem kontrol hem de VPA gruplarında yabancı hayvanın koklaşma alanına giriş frekansının ve bu alanda geçirilen sürenin boş kafese kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu bulgu, VPA grubunda temel sosyal yaklaşım davranışının tamamen ortadan kalkmadığını, sosyal uyarana yönelik motivasyonun korunduğunu göstermektedir. Hız ve kat edilen mesafe açısından gruplar arasında fark bulunmaması, gözlenen davranışların motor aktivite ya da genel lokomotor kapasiteye bağlı olmadığını göstermektedir. Benzer şekilde, sosyallik indeksinin hem süre hem de frekans parametrelerinde gruplar arasında fark saptanmamış olması,

VPA maruziyetinin bu deneysel koşullarda genel sosyallik davranışını değil, daha karmaşık sosyal biliş süreçlerini etkilediğine işaret etmektedir. Sosyal tercih testinde kontrol grubunun yabancı hayvanın koklaşma alanına giriş frekansı ve bu alanda geçirdiği sürenin, tanıdık hayvana kıyasla anlamlı derecede yüksek olması, beklenen fizyolojik sosyal yenilik tercihini yansıtmaktadır. Buna karşın, VPA grubunda yabancı ve tanıdık hayvanlar arasında ne giriş frekansı ne de geçirilen süre açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Bu bulgu, VPA maruziyetinin sosyal yenilik tercihini ve sosyal bellek oluşumunu bozduğunu, dolayısıyla OSB'ye özgü sosyal ayırt etme ve sosyal tanıma yetersizliğini yansıttığını göstermektedir. Kontrol grubunda gözlenen yabancı hayvana yönelik tercih, VPA grubunda ortadan kalkmış; VPA hayvanları sosyal uyaranlar arasında ayırt edici bir tercih sergilememiştir.

Bölmelere giriş sayılarında anlamlı fark saptanmamış olması, VPA grubunda gözlenen sosyal tercih bozukluğunun genel keşif davranışındaki değişikliklerden bağımsız olduğunu desteklemektedir. Ayrıca hız ve kat edilen mesafe gibi lokomotor parametrelerde fark bulunmaması, bu bozulmanın motor yetersizlikten kaynaklanmadığını göstermektedir. Bu bağlamda, çalışmamızda elde edilen bulgular, VPA ile oluşturulan otizm modelinde sosyal davranış bozukluklarının tek tip olmadığını; bazı sosyal davranışların korunduğunu, daha karmaşık sosyal süreçlerin seçici olarak etkilendiğini göstermektedir.

Otizm spektrum bozuklukları, sosyal etkileşim ve iletişim bozuklukları ile tekrarlayıcı davranışlarla karakterize, çok faktörlü genetik ve çevresel etiyolojiye sahip nörogelişimsel bozukluklardır. Klinik olarak bellek bozuklukları OSB'nin temel tanı kriterleri arasında yer almamakla birlikte, çeşitli hayvan modellerinde tanıma belleğine ilişkin farklı derecelerde bozulmalar bildirilmiştir (Banker ve ark., 2021). Yeni nesne tanıma testinde elde edilen sonuçlar, kullanılan modele, genetik altyapıya, çevresel maruziyete ve test protokolüne bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Bu durum, OSB fenotipinin bellek bileşenleri açısından karmaşık doğasını yansıtmaktadır (Wang, ve ark., 2023). Her ne kadar yeni nesne tanıma testinin OSB modellerinde bellek bozukluklarını tanımlamadaki duyarlılığı sınırlı olsa da bu testler etkilenen nöronal devreler ve sinaptik mekanizmalar hakkında

önemli bilgiler sunmakta ve potansiyel terapötik hedeflerin belirlenmesine katkı sağlamaktadır (Grayson ve ark., 2015).

Bu çalışmada, 24 saatlik gecikme içeren yeni nesne tanıma testi ile uzun dönem tanıma belleği değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda, hayvanların yeni nesnenin bulunduğu koklama alanına giriş sayısının ve bu alanda geçirdikleri sürenin, tanıdık nesneye kıyasla anlamlı derecede fazla olması, beklenen fizyolojik tanıma belleği performansını yansıtmaktadır. Bu bulgu, kontrol grubunda nesneye özgü öğrenme ve uzun dönem bellek süreçlerinin korunduğunu göstermektedir. Buna karşılık, VPA grubunda yeni ve tanıdık nesneler arasında ne giriş frekansı ne de geçirilen süre açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu durum, VPA maruziyetinin uzun dönem tanıma belleğini bozduğunu ve hayvanların yeni nesne ile tanıdık nesne arasında ayırt edici bir tercih sergileyemediğini göstermektedir. Özellikle 24 saatlik gecikme aralığı, kısa süreli bellekten ziyade hipokampusa ve protein sentezine bağımlı bellek mekanizmalarını değerlendirdiğinden, gözlenen bozulma VPA'nin hipokampal öğrenme ve bellek süreçleri üzerindeki olumsuz etkisine işaret etmektedir.

Literatürde, OSB'nin temel tanı kriterleri arasında bellek bozuklukları yer almamakla birlikte, çeşitli genetik ve çevresel OSB modellerinde tanıma belleğine ilişkin defisitlerin bildirildiği bilinmektedir. Prenatal valproik asit maruziyeti ile oluşturulan modellerde, özellikle uzun gecikme süreleri kullanıldığında, tanıma belleğinde bozulmaların daha belirgin hale geldiği rapor edilmiştir (Abbasalipour ve ark., 2022; Wang ve ark., 2025).

Çalışmamızda VPA grubunda yeni nesneye yönelik tercih davranışının ortadan kalkması, genel keşif veya lokomotor aktiviteden bağımsız olarak, tanıma belleğine özgü bir bozulmaya işaret etmektedir. Bu bulgu, OSB'de rapor edilen bilişsel heterojenlik ile uyumlu olup, VPA modelinde bazı bilişsel alanların korunurken, hipokampal plastisiteye bağımlı uzun dönem bellek süreçlerinin seçici olarak etkilendiğini düşündürmektedir.

Dolayısıyla, yeni nesne tanıma testinin bu çalışmadaki önemi, OSB fenotipinin tanımlanmasından çok, mGluR1/5-bağımlı PP-UDB ve yapısal plastisite

bozukluklarının davranışsal karşılığını ortaya koymasıdır. Bu bağlamda yeni nesne tanıma sonuçları, elektrofizyolojik ve moleküler bulgularla birlikte değerlendirildiğinde, VPA modelinde gözlenen sinaptik plastisite bozukluklarının fonksiyonel sonuçlarını destekleyen tamamlayıcı bir ölçüm aracı olarak değerlendirilebilir.

Y labirent testi, sıçanlarda mekânsal yönelim, kısa süreli bellek, dikkat ve tekrarlayıcı davranışların değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan bir davranışsal ölçüttür (Merali ve ark., 2014). Test Y şeklinde üç kola sahip bir aparatta gerçekleştirilir ve hayvanın ardışık olarak farklı kollara yaptığı girişler kaydedilir. Bu girişlerin "spontan alternatif davranış" yüzdesi, hayvanın doğal keşif ve davranış esnekliğinin bir göstergesidir; spontan alternatif davranışta azalma, hayvanın aynı davranışı sürdürme eğiliminin artması ve yeni seçeneklere uyum sağlamakta zorlanması şeklinde değerlendirilmektedir. (Kumar ve ark., 2015). Bizim çalışmamızda, prenatal VPA maruziyetine sahip hayvanlar, kontrol gruplarına kıyasla spontan alternatif davranış ve maksimum alternasyon oranlarında belirgin düşüş göstermiştir. Bu bulgu, prenatal dönemde VPA uygulamasının davranışsal esneklik üzerinde olumsuz etkiler oluşturabileceğini düşündürmektedir. Bunu destekler şekilde, literatürde prenatal VPA'ya maruz kalan hayvan modellerinde tekrarlayıcı davranışların arttığı ve yürütücü işlevlerle ilişkili bilişsel süreçlerin bozulduğu birçok çalışmada rapor edilmiştir (DeCoteau ve Fox, 2022; Ishola ve ark., 2020; Mamali ve ark., 2025; Mirza ve Sharma, 2019). Bu etkilerin özellikle hipokampus ve prefrontal korteks aracılı mekânsal hafıza ve karar verme süreçlerindeki işlevsel değişikliklerle ilişkili olabileceği ileri sürülmektedir (Edalatmanesh ve ark., 2013). Yeni kola giriş sayısının gruplar arasında benzer olması, hayvanların genel keşif motivasyonunun korunmuş olduğunu gösterirken; kontrol grubundaki hayvanların yeni kollarda daha uzun süre kalması, mekânsal hafıza ve uygun seçim davranışlarının sağlıklı biçimde işlediğine işaret etmektedir. Buna karşılık, VPA grubunda yeni kollarda geçirilen sürenin azalması, bu bilişsel süreçlerde bir bozulma olabileceğini düşündürmektedir. Bu bulgular, gözlenen davranışsal farklılıkların lokomotor aktivite değişikliklerinden ziyade bilişsel esneklik ve çalışma belleğiyle ilişkili olabileceğini desteklemektedir.

Çalışmamızda prenatal VPA maruziyeti, sosyal etkileşim, tanıma belleği ve davranış esnekliği üzerinde belirgin bozulmalara yol açmıştır. Sosyal testlerde VPA grubu sosyal tercih ve keşif davranışlarında eksiklik göstermiş; yeni nesne tanıma testinde uzun dönem bellek bozukluğu sergilemiş; Y Labirent testinde ise tekrarlayıcı davranışlar artmış ve alternatif davranış oranları azalmıştır. Bu sonuçlar, davranışsal bozuklukların motor aktiviteye bağlı olmadığını, VPA'nın hipokampal plastisiteyi bozmasıyla ilişkili olduğunu göstermektedir. Böylece elde edilen bulgular, VPA modelinin OSB'ye özgü fenotipi yeniden ürettiğini ve davranışsal çıktılar ile sinaptik düzeydeki değişimler arasında doğrudan bir bağlantı bulunduğunu ortaya koyarak, modelin mekanistik geçerliliğine dair güçlü kanıtlar sunmaktadır.

5.3. ELEKTROFİZYOLOJİK BULGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Hipokampal sinaptik iletimin ve nöronal uyarılabilirliğin değerlendirilmesinde input/output (I/O) eğrileri, uygulanan uyarım şiddeti ile oluşan sinaptik ve hücresel yanıtlar arasındaki ilişkinin ortaya konulması açısından temel bir ölçüt olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada I/O kayıtları, prenatal VPA maruziyetinin hipokampal devrelerde bazal sinaptik iletim gücü ve popülasyon yanıtları üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla alınmıştır. Artan uyarım şiddetine karşılık ölçülen EPSP eğimi, sinaptik girişin etkinliğini yansıtırken; PS genliği, bu sinaptik girdinin nöronal ateşlemeye dönüşme kapasitesini ve ağ düzeyindeki uyarılabilirliği değerlendirmeye olanak sağlamaktadır. Bu yaklaşım, olası plastisite farklılıklarının temel sinaptik iletimden mi yoksa sinaptik sonrası hücresel mekanizmalardan mı kaynaklandığının ayırt edilmesine katkı sağlamaktadır.

Çalışmamızda Kontrol ve VPA grubunun bazal kayıt öncesi I/O eğrisi analizlerinde, artan uyarım şiddetine (mV artışı) bağlı olarak EPSP eğiminde her iki grupta da anlamlı artış gözlenmesi, kayıt koşullarının güvenilir olduğunu ve hipokampal sinaptik iletimin temel özelliklerinin korunduğunu göstermektedir. EPSP eğimi açısından kontrol ve prenatal VPA maruziyetine sahip gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamış olması, prenatal VPA maruziyetinin bazal sinaptik iletim gücü üzerinde belirgin bir değişikliğe yol açmadığını düşündürmektedir. Bu bulgu, VPA modelinde bildirilen plastisite bozukluklarının, temel sinaptik iletimden ziyade

aktiviteye bağımlı sinaptik modifikasyon mekanizmalarına özgü olabileceğine işaret etmektedir.

Buna karşılık, PS genliğinde uyarım şiddetine bağlı artışın yanı sıra gruplar arasında anlamlı bir farklılığın bulunması, prenatal VPA maruziyeti bu hayvanlarda aynı eşik uyarana karşı daha fazla sinaptik etinliğin olduğunu, inhibitör mekanizmaların yeterince çalışmadığını destekliyor.

Bu bağlamda, elde edilen I/O eğrisi bulguları, prenatal VPA maruziyetinin bazal sinaptik iletimi büyük ölçüde korurken, hipokampal nöronal ağların uyarılabilirlik özelliklerinde değişikliklere yol açtığını ve bu değişikliklerin ilerleyen bölümlerde değerlendirilen mGluR1/5 aktivasyonuna özgü PP-UDB protokolü ile mGluR bağımlı UDB'nin sonuçlarını etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Perforan yol uyarımı ile dentat girustan kaydedilen fEPSP ve PS yanıtları, hipokampal sinaptik plastisite ile nöronal ağ uyarılabilirliğinin değerlendirilmesinde yaygın ve güvenilir göstergeler olarak kullanılmaktadır (Phane ve ark., 1997). Çalışmamızda, PP-UDB sonrası yapılan elektrofizyolojik analizler, prenatal VPA maruziyeti ve mGluR1/5 antagonizmasının hipokampal sinaptik plastisiteyi farklı biçimlerde etkilediğine işaret etmektedir.

Kontrol Sf grubunda PP-UDB protokolü sonrasında hem erken dönemde hem de idame fazında fEPSP eğiminde bazale göre anlamlı baskılanma gözlenmesi, beklenen UDB yanıtının başarıyla oluşturulduğunu göstermektedir. Benzer şekilde PS genliğindeki azalma, fizyolojik koşullarda dentat girus devresinde aktiviteye bağımlı baskılanma mekanizmalarının normal biçimde işlediğini doğrulamaktadır. Literatürde, düşük frekanslı uygulanan uyarım protokollerinin dentat girus granül hücrelerinde sinaptik iletimin uzun süreli baskılanmasına yol açtığı ve bunun fizyolojik plastisite mekanizmalarının bir yansıması olduğu bildirilmektedir (Kemp ve Manahan-Vaughan, 2004; H.-H. Kim ve ark., 2019; Zhu ve ark., 2018). Bu bağlamda çalışmamızdaki fEPSP baskılanması, aktiviteye bağımlı sinaptik depresyon süreçlerinin sağlıklı biçimde devreye girdiğini desteklemektedir. Dolayısıyla elde edilen bulgular, PP-UDB protokolünün sağlam hayvanlarda

literatürde tanımlanan dentat girus plastisite özellikleriyle uyumlu bir yanıt oluşturduğunu ortaya koymaktadır.

Literatürde mGluR1/5 reseptörlerinin UDB oluşumunda kritik rol oynadığı ve bu reseptörlerin antagonize edilmesinin sinaptik depresyonu engelleyerek sinaptik etkinliği artırdığı bildirilmektedir (Naie ve ark., 2007; Neyman ve ark., 2019). Çalışmamızda kontrol Ant grubunda mGluR1/5 antagonisti uygulamasını takiben PP-UDB'ye rağmen fEPSP eğiminin idame fazında bazal düzeyin üzerine çıkması ve PS genliğinin artması, mGluR1/5 blokajının UDB indüksiyonunu ve sürdürülmesini bozduğunu açıkça göstermektedir.

Bu bulgular önceki çalışmalarla uyumlu olup, mGluR1/5 aracılı sinyal yollarının dentat girus plastisitesinde belirleyici bir role sahip olduğunu desteklemektedir. Ayrıca PP-UDB protokolünün kontrol koşullarında güvenilir biçimde UDB benzeri plastisite oluşturduğu, antagonistin ise bu süreci etkili şekilde ortadan kaldırdığı ortaya konmuştur.

VPA Sf ve VPA Ant gruplarında, fEPSP eğiminde baskılanma istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken, PS genliği yalnızca idame döneminde kısmen artmıştır. Literatürde VPA modelinde plastisite bozuklukları çoğunlukla UDG üzerinden ele alınmış, UDB mekanizmalarına ilişkin veriler ise görece sınırlı kalmıştır. Bununla birlikte mevcut çalışmalar, VPA'nın plastisiteyi beyin bölgesine ve ilgili sinyal yoluna özgü biçimde modüle edebildiğini göstermektedir. Martin ve Manzoni (2014) VPA modelinde medial prefrontal kortekste erken dönemde artmış UDG ve NMDA akımları ile sonuçlanan plastisite değişimlerinin, yetişkinlikte azalmış UDG ve sinaptik işlev bozukluğuna dönüştüğünü göstermiştir. Bizim çalışmamızda, UDB benzeri baskılanmanın oluşmaması ve PS genliğinde sınırlı iyileşme yalnızca basit bir depresyon bozukluğu değil, plastisite mekanizmalarının seçici olarak değiştiğini düşündürmektedir. Rinaldi ve ark. (2007) prenatal VPA maruziyetinin NMDA reseptör alt birimleri (NR2A/NR2B) ve postsinaptik CaMKII düzeylerini artırarak glutamaterjik iletimi ve UDG'yi güçlendirdiğini göstermiştir. Bu moleküler değişimler, postsinaptik kalsiyum sinyallemesini ve kinaz aktivitesini yükselterek sinaptik güçlenmeyi kolaylaştırmaktadır. Bizim hipokampal verilerimizde ise VPA gruplarında PP-UDB protokolü ile uyarılan mGluR1/5-bağımlı sinaptik depresyonun

zayıf veya yok denecek kadar az olması, postsinaptik NMDA aktivitesinin ve genel uyarılabilirliğin artmış olmasıyla açıklanabilir. Yani prenatal VPA maruziyeti, DG granül hücrelerinde mGluR1/5 sinyal yolunun tetiklenmesini görece zorlaştırarak, mGluR-UDB benzeri plastisitenin oluşumunu engellemektedir. Bu bulgular, VPA'nın yalnızca UDG mekanizmalarını değil, mGluR-UDB yollarını da seçici olarak bozduğunu ve hipokampal plastisite dengesini moleküler düzeyde kaydırdığını göstermektedir.

Çalışmamızda prenatal VPA gruplarında PP-UDB protokolü sonrası fEPSP eğiminin anlamlı biçimde baskılanmaması ve PP-UDB'nin oluşturulamaması, VPA maruziyetinin dentat girus granül hücrelerinde mGluR-aracılı UDB benzeri plastisite mekanizmalarını bozduğunu düşündürmektedir. Literatürde UDB'ye dair doğrudan verilerin sınırlı olması, bulgularımızın VPA modelinde hipokampal sinaptik depresyon süreçlerine yönelik önemli ve tamamlayıcı bir katkı sunduğunu göstermektedir.

5.4. PROTEİN ANALİZLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

AMPAR'lar GluA1 ve GluA2 gibi alt birimlerden oluşan tetramerik kanallar olup sinaptik plastisitenin moleküler temelini oluşturur. Sinaptik gücün belirlenmesinde membrana eklenen veya membrandan uzaklaştırılan AMPAR sayısının aktiviteye bağlı dinamik düzenlemesi kritik öneme sahiptir (Diering ve Huganir, 2018). Penn ve ark. (2017) ilk defa AMPAR yüzey hareketlerini immobolize ettiği çalışmada AMPAR trafiğinin sinaptik plastisite ve öğrenme için gerekli olduğunu gösterdiler (Penn ve ark., 2017). Literatürde de GluA1 alt birimi ağırlıklı olarak UDG süreçleriyle ilişkilendirilmiştir; sinaptik GluA1 ve GluA2'nin yüzeye eklenmesi UDG'nin moleküler belirteci olarak kabul edilirken, UDB sırasında internalize edilen AMPAR'ların büyük oranda GluA2 içerdiği bildirilmektedir (Lee ve ark., 2010; Selcher ve ark., 2012). Bununla birlikte GluA1, postsinaptik AMPAR havuzunun ana düzenleyici alt birimlerinden biri olup bazal membran yerleşimi, alt birim kompozisyonu ve reseptör dönüşümü açısından kritik bir rol oynar (Sathler ve ark., 2021). Dolayısıyla GluA1'in analizi, UDB'nin "spesifik" bir GluA2-bağımlı süreç olup olmadığını veya daha genel bir AMPAR sisteminin etkilenip etkilenmediğini ayırt etmek açısından önemlidir.

Çalışmamızda VPA grubu ve kontrol grubu arasında GluA1 protein düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Selcher ve ark. (2012)'nın GluA1 alt birimi genetik olarak eksik olan farelerde yaptıkları çalışmada; UDG indüklenemezken UDB'nin korunduğunu gözlemlemiştir. Bu bulgu GluA1 alt biriminin hipokampusta UDG için zorunlu olduğunu, ancak UDB oluşumu için gerekli olmadığını göstermiştir. Lee ve ark. (2010) UDB sırasında internalize edilen AMPAR'ların büyük oranda GluA2 içeren reseptörler olduğu bildirmektedir. Bu durum, UDB'nin daha çok GluA2-bağımlı bir süreç olabileceğini düşündürmektedir. Selcher ve ark.'nın GluA1'in UDB için zorunlu olmadığını göstermesi, bizim bulgularımızla birlikte değerlendirildiğinde, VPA modelinde plastisite bozukluğunun GluA1 kaynaklı bir defektten ziyade AMPAR trafiğinin genel düzenlenmesindeki bir disfonksiyondan kaynaklanabileceğini desteklemektedir. Ayrıca Kontrol Sf ve VPA Sf gruplarında GluA1 düzeyinin antagonist uygulanan Kontrol Ant ve VPA Ant gruplarına göre daha yüksek bulunması, bazal koşullarda mGluR1/5 aktivitesinin GluA1 ekspresyonunun sürdürülmesinde rol oynadığını düşündürmektedir. Grup 1 mGluR'ların PI3K-Akt-mTOR ve MAPK-ERK yolakları aracılığı ile protein translasyonunu düzenlediği göz önüne alındığında, reseptör blokajının GluA1 sentezi ya da stabilitesini azaltmış olması olasıdır. mGluR1/5 blokajının oluşturduğu UDB'ye dirençli sinaptik durum, GluA1 sentezindeki azalmadan ziyade reseptör mobilitesi ve internalizasyon kapasitesindeki değişimlerle ilişkili olabilir.

UDB'nin klasik moleküler mekanizması GluA2 içeren AMPAR'ların sinaptik membrandan internalize edilmesine dayanır; bu süreç PKC aracılı GluA2 fosforilasyonu ve klatrin-bağımlı endositoz ile gerçekleşir (Sathler ve ark., 2021). Fox ve ark. 2007'de in vivo elektrofizyolojik kayıtlarda hipokampüsün CA1 bölgesinde UDB'nin indüksiyonunun AMPAR endositozuna bağımlı olduğunu göstermiş ve özellikle GluA2 tirozin fosforilasyonunun kritik rolünü vurgulamıştır. Bu veriler UDB'nin oluşumunda postsinaptik uçta GluA2 alt biriminin dinamik değişikliklerine dayandığını desteklemektedir.

GluA2 protein seviyeleri incelendiğinde Kontrol Sf grubunda GluA2 düzeyi mGluR1/5 antagonisti uygulanan Kontrol Ant grubuna göre yüksek bulunması bazal koşullarda mGluR1/5 aktivitesinin AMPA reseptör alt birimlerinin ekspresyonunun

sürdürülmesinde rol oynadğını düşündürmektedir. Edfawy ve ark (2019) mGluR1/5'in hücre içi taşınması ve geri dönüşümünü düzenleyen Gprasp2 proteinini sentezleyen genleri silinmiş farelerde yaptıkaları çalışmada aşırı artmış mGluR aktivitesi ve azalmış GluA2 protein seviyesi göstermiştir. Bu bulgular bizim bulgularımızı desteklemektedir. mGluR1/5 antogonisti uygulaması translayonel sinyal yolaklarını baskılayarak GluA2 protein düzeyinde azalmaya neden olmuş olabilir. Ayrıca mGluR aracılı sinyalizasyon AMPA reseptörlerinin membran stabilitesinde ve protein döngüsünün düzenlenmesinde rol oynadığı göz önünde bulundurulduğunda, GluA2'nin azalması reseptör bloklanmasının olası sonucu olarak görülmektedir.

Kontrol Sf ve VPA Sf gruplarında GluA2 protein ekspresyonu karşılaştırıldığında ise VPA Sf grubunda GluA2'nin Kontrol Sf göre daha düşük bulunmuştur. Bu bulgu, prenatal VPA maruziyetinin hipokampüste AMPA reseptör alt birim kompozisyonunu değiştirebileceğini düşündürmüştür. Salpietro ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada zihinsel yetersizlik, OSB ve epileptik ensefelopati gibi klinik fenotiplere sahip 28 hastada GluA2 alt birimini kodlayan GRIA2 geninde mutasyonlar tanımlamışlardır. Daha sonra bu reseptörlerin fonksiyonel özelliklerini incelemek amacıyla elektrofizyolojik analizler yapılmış ve mutasyonların AMPA reseptör aracılı akım amplitüdünü azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca bazı mutasyonların reseptörlerin voltaj bağımlı iletim özelliklerini ve iyon geçirgenliğini değiştirdiği bulunmuştur. Bu bulgular, GluA2 alt biriminin glutamaterjik sinaptik iletimin düzenlenmesinde kritik bir rol oynadığını ve bu alt birimdeki bozuklukların nörogelişimsel bozuklukların patogenezine katkıda bulunabileceğini göstermektedir (Salpietro ve ark., 2019). GluA2 alt birimi AMPA reseptörlerinin kalsiyum geçirgenliğini belirleyen kritik bir alt birimdir. GluA2 içermeyen reseptörler kalsiyum geçirgen özelliktedir. GluA2 düzeyindeki azalma Ca^{+2} geçirgen AMPA reseptörlerinin artmasına ve eksitatör sinaptik iletimde artışa yol açabilir. Bu durum Qi ve ark. (2022) tarafından VPA maruziyetli farelerde gösterilen ve OSB'de sıkça tartışılan eksitasyon/inhibisyon dengesizliği ile uyumlu olabilir (Qi ve ark., 2022).

VPA Sf ve VPA Ant grupları karşılaştırıldığında ise VPA Ant grubunun GluA2 protein seviyesinin fazla olduğu görüldü. Normal koşullarda mGluR1/5

AKTİVASYONU Arc proteini aracılığı ile özellikle GluA2 içeren AMPA resptörlerinin postsinaptik zar yüzeyünden endositozunu artırarak mGluR-UDB mekanizmasını tetikler (Mikuni ve ark., 2013; Waung ve ark., 2008). VPA'ya maruz kalan hayvanlarda bu yolak aşırı aktiflendiği için GluA2 düzeylerinde azalma görülmüş, mGluR1/5 antagonist uygulaması GluA2 internalizasyonunu azaltarak protein seviyesinin artmasına neden olmuş olabilir (Bellone ve ark., 2008; Bhattacharyya, 2016). Bu bulgular GluA2 alt birimindeki bu değişimlerin, AMPA reseptör alt birim kompozisyonu ve sinaptik güç dengesini etkileyerek OSB'ye özgü hiperplastisite ve dendritik spin fazlalığı ile ilişkilendirilebilir (Kleijer ve ark., 2014; Pagani ve ark., 2021).

Bulguarımız VPA ile oluşturulan OSB modelinde sinaptik plastisite mekanizmalarının AMPAR alt birimleri ve mGluR1/5 aracılı sinyal yolakları üzerinden değişebileceğini göstermektedir.

Sinapsin, presinaptik terminalde sinaptik veziküllerin aktin iskeletine bağlanmasını sağlayarak vezikül havuzlarının organizasyonu, nörotransmitter salınımı ve presinaptik plastisitenin düzenlenmesinde temel rol oynayan bir proteindir. Fizyolojik koşullarda sinapsin fosforilasyonu, veziküllerin rezerv havuzdan salıma hazır havuza geçişini kolaylaştırarak kısa ve uzun dönemli sinaptik modifikasyonlara katkı sağlar ve özellikle mGluR-bağımlı UDB süreçlerinde dinamik bir kontrol noktası olarak görev yapar (Bykhovskaia, 2011). Bu bağlamda sinaptik plastisitedeki sinapsin katkısı hem yapısal (vezikül organizasyonu) hem de işlevsel (nörotransmitter salınım dinamikleri) düzeyde gerçekleşmektedir.

Çalışmamızda kontrol gruplarında mGlu1/5 antagonistlerinin UDB indüksiyonunu engellemesi ve buna eşlik eden p-sinapsin düzeylerindeki azalma, mGlu1/5 reseptör aktivasyonunun sinapsin fosforilasyonunu düzenleyerek presinaptik plastisiteyi modüle ettiğini göstermektedir. mGlu1/5 reseptörlerinin aktivasyonu hücre içi kinaz yollarını tetikleyerek sinapsin fosforilasyonunu artırabilir; bu süreç presinaptik veziküllerin rezerv havuzdan mobilizasyonunu kolaylaştırarak nörotransmitter salınımını destekler. Bu nedenle sinapsin fosforilasyonundaki azalmanın UDB indüksiyonunun ortadan kalkmasıyla birlikte görülmesi, sinapsin fosforilasyonunun

UDB'nin presinaptik bileşeninin ortaya çıkmasında işlevsel bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Prenatal VPA maruziyeti uygulanan gruplarda total sinapsin düzeylerinin azalması ise presinaptik terminalin yapısal bütünlüğünün bozulmuş olabileceğine işaret etmektedir. Sinapsinin sinaptik veziküllerin rezerv havuzda tutulmasını ve aktin iskeleti ile etkileşimini düzenlediği göz önünde bulundurulursa; VPA, vezikül organizasyonunun bozulmasına ve presinaptik terminalde nörotransmitter salınım kapasitesinin azalmasına yol açarak presinaptik plastisiteyi zayıflatmış olabilir.

VPA gruplarında dikkat çeken bir diğer bulgu p-sinapsin/total sinapsin oranının artmış olmasıdır. Bu durum, sinapsin fosforilasyonunun mutlak protein miktarından bağımsız olarak göreceli biçimde arttığını göstermektedir. Ancak bu artışın fizyolojik bir iyileşmeden ziyade, azalmış total sinapsin düzeyinin yol açtığı presinaptik işlev bozukluğunu dengelemeye yönelik kompansatuar bir yanıtı yansıtıyor olabileceği düşünülmektedir. Nitekim p-sinapsin/total sinapsin oranındaki artışa rağmen VPA grubunda UDB'nin indüklenememesi, presinaptik düzeyde ortaya çıkan bu kompansatuar değişikliğin postsinaptik plastisite için gerekli olan bütüncül mGluR-bağımlı sinyal akışını yeniden kurmak için yeterli olmadığını göstermektedir.

Prenatal VPA maruziyetinin p-sinapsin/total sinapsin oranı üzerinde anlamlı bir etkisi saptanmamıştır. Benzer şekilde mGlu1/5 antagonist uygulaması da bu oranı anlamlı biçimde değiştirmemiştir. Dolayısıyla VPA modelinde gözlenen sinaptik plastisite bozukluklarının p-sinapsin/total sinapsin oranındaki değişimlerden ziyade, total sinapsin düzeyindeki azalma veya presinaptik vezikül organizasyonundaki yapısal değişikliklerle ilişkili olabileceği değerlendirilmektedir.

Sinapsin presinaptik vezikül organizasyonu ve nörotransmitter salınımındaki kritik rolü, nörogelişimsel davranış devreleri üzerindeki etkileriyle de desteklenmektedir. Örneğin Greco ve ark. (2013), sinapsin izoformlarının yokluğunun otizm spektrum bozukluğunu andıran sosyal iletişim eksiklikleri ve tekrarlayıcı davranışlarla sonuçlandığını göstermiştir (Greco ve ark., 2013). Bu bulgu, sinapsinin yalnızca presinaptik fonksiyonları değil, aynı zamanda davranışsal çıktıları da etkileyen önemli bir moleküler bileşen olduğunu düşündürmektedir. Benzer şekilde

Gąssowska-Dobrowolska ve ark. (2020) prenatal VPA maruziyeti uygulanan sıçanlarda total sinapsin düzeylerinin arttığını, buna karşın p-sinapsin seviyelerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmediğini rapor etmiştir (Gąssowska-Dobrowolska ve ark., 2020). Bu durum, VPA modelinde presinaptik protein ekspresyonunun miktarsal olarak değişebileceğini, ancak fosforilasyon düzeylerinin farklı niteliksel düzenlemeler gösterebileceğini düşündürmektedir. Bizim bulgularımız ise prenatal VPA maruziyetinin total sinapsin düzeylerini azalttığını, buna karşın p-sinapsin/total sinapsin oranında anlamlı bir değişim olmadığını göstermektedir. Bu sonuç, VPA etkisinin sinapsin fosforilasyonundan ziyade presinaptik protein miktarı ve vezikül organizasyonu üzerinde şekillendiğini düşündürmektedir. Dolayısıyla VPA modelinde gözlenen hipokampal plastisite bozuklukları, sinapsin fosforilasyon dinamiklerinden çok presinaptik yapısal bütünlükteki değişikliklerle açıklanabilir.

PSD95, postsinaptik yoğunluğun temel iskelet proteinlerinden biridir ve AMPA reseptörlerinin, özellikle GluA1 ve GluA2 altbirimlerinin postsinaptik membrana stabilizasyonu, immobilizasyonu ve sinaptik güçlenmenin sürdürülmesi açısından kritik bir düzenleyicidir (Coley ve Gao, 2018). Dolayısıyla PSD95 düzeylerindeki değişiklikler, uyarılmış plastisite protokollerinin postsinaptik yapısal bütünlük üzerindeki etkilerini değerlendirmek için uygun bir biyobelirteçtir. Literatürde prenatal VPA maruziyetinin sinaptik plastisiteyi modüle ettiği ve çeşitli düzeylerde bozduğu gösterilmiştir. Örneğin Wu ve ark. (2017) amigdalada glutamaterjik sinapslarda NMDA-bağımlı UDB'nin VPA ile zayıfladığını raporlamış ve bunun klasik postsinaptik plastisite mekanizmalarının bozulduğuna işaret ettiğini belirtmiştir (H.-F. Wu ve ark., 2017). Bu tür plastisite bozuklukları yalnızca presinaptik süreçlerle değil, postsinaptik reseptör trafiği, sinyalizasyon ve iskele proteinlerinin stabilizasyonu gibi yapısal bileşenlerle de ilişkilidir; bu bağlamda PSD95 hem AMPAR kümelenmesi hem de uzun süreli plastisite süreçlerinin konsolidasyonu için kritik konumdadır.

Bizim çalışmamızda kontrol ve VPA grupları arasında total hipokampal dokuda ölçülen PSD95 düzeylerinde anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bu bulgu, prenatal VPA maruziyetinin hipokampal postsinaptik iskelet bütünlüğünü total doku düzeyinde belirgin şekilde bozmadığını ve postsinaptik yoğunluğun temel

mimarisinin korunduğunu düşündürmektedir. Bununla birlikte Sf ve antagonist uygulanan grupların karşılaştırılmasında antagonist grubunda PSD95 düzeylerinin anlamlı biçimde daha yüksek olması, mGlu1/5 reseptör blokajının postsinaptik spin stabilitesini veya AMPAR kümelenmesini artırıcı yönde etkili olabileceğini işaret etmektedir.

Prenatal VPA maruziyetinin PSD95 seviyeleri üzerindeki etkilerine ilişkin literatürde farklı sonuçar göze çarpmaktadır. Edfawy ve ark. (2019), mGluR-bağımlı plastisite bozukluklarının AMPAR yüzey dağılımını ve postsinaptik protein organizasyonunu etkileyerek OSB-benzeri davranışl ara yol açtığını göstermiştir (Edfawy ve ark., 2019). Gąssowska-Dobrowolska ve ark. (2020) genç-yetişkin sıçanlarda hipokampus ve kortekste PSD95 protein düzeylerinin azaldığını göstermiştir, bu da VPA'nın postsinaptik organizasyonu zayıflatabileceğini düşündürmektedir. Buna karşın diğer çalışmalar gelişimsel dönem, beyin bölgesi ve değerlendirme yaşına bağlı olarak PSD95 ekspresyonunda artış bildirmiştir (Choi ve ark., 2016) ve anterior singulat kortekste PSD95 azalması sinaptik yapısal bozulmayla ilişkilendirilmiştir (Qi ve ark., 2022). Bu çeşitlilik, VPA'nın postsinaptik iskelet proteinlerine etkisinin beyin bölgesi, gelişimsel zamanlama, doz ve yaş gibi faktörlere bağlı olarak değiştiğini düşündürmektedir. Bu çerçevede, çalışmamızda total hipokampal dokuda PSD95 düzeylerinde anlamlı değişiklik gözlenmemiş olması, VPA'nın postsinaptik iskelet bütünlüğü üzerindeki etkilerinin bölge- ve zaman-özgül olabileceği ve her koşulda yapısal düzeyde bozulmaya yol açmadığı yönündeki görüşle uyumludur.

Bu çalışmada GluA1, GluA2, sinapsin ve PSD95 sinapsin düzeyleri total hipokampal doku üzerinden analiz edilmiştir. Total doku düzeyinde yapılan ölçümler CA1, CA3 ve dentat girus gibi farklı hipokampal alt alanların yanı sıra farklı nöronal popülasyonların katkılarını aynı yapısal havuz içinde birleştirmektedir. Bu durum verilerimizin, hücre veya devre düzeyine özgü değil, hipokampus genelindeki bütünleşik plastisite yanıtını yansıttığı anlamına gelmektedir. Buna karşın PP-UDB'nin hipokampal devrede çoklu istasyonlar üzerinden işlendiği göz önünde bulundurulduğunda, total doku düzeyi protein analizleri mGlu1/5-bağımlı plastisite mekanizmalarının sistemsel çıktısını değerlendirmek için uygun bir yaklaşım sunmaktadır.

Çalışmanın presinaptik (sinapsin/p-sinapsin), postsinaptik reseptör düzeyleri (GluA1/A2) ve postsinaptik iskele proteini (PSD-95) verileri birlikte değerlendirildiğinde prenatal VPA maruziyetinin hipokampal sinaptik plastisiteyi çok katmanlı ancak özgül bir biçimde etkilediği görülmektedir. Presinaptik düzeyde sinapsin ekspresyonundaki azalma ve p-sinapsin/total sinapsin oranındaki artış, vezikül mobilizasyonunda fonksiyonel bir stres veya kompansatuvar yanıtı işaret ederken, postsinaptik düzeyde GluA2'deki değişiklikler ve VPA grubunda UDB'nin indüklenememesi, AMPAR trafiği ve mGluR-bağımlı UDB mekanizmasında bozulmayı desteklemektedir. Buna karşın PSD95 düzeylerinin korunmuş olması, VPA'nın postsinaptik yapısal bütünlüğü bozmadığını; aksine plastisite fenotipinin daha çok reseptör içselleştirme, fosforilasyon döngüleri, mGluR sinyal iletimi veya protein degradasyonu (Kallergi ve ark., 2022) gibi dinamik süreçlerde ortaya çıktığını düşündürmektedir. Bu profile bakıldığında VPA modelinde görülen plastisite kusuru "yapısal sinaps kaybından" ziyade "plastisite uyaranlarına doğru biçimde yanıt veremeyen fonksiyonel bir sinaps" fenotipine işaret etmektedir. Dolayısıyla bulgularımız, VPA ile indüklenen OSB fenotipinin sinaptik düzeyde mGluR-bağımlı plastisitenin bozulması, AMPAR internalizasyonunun hatalı regülasyonu ve presinaptik vezikül dinamiklerinin dengesizliği ile karakterize edilen özgün bir sinaptik durum yarattığını göstermektedir.

6. SONUÇ

Bu çalışmada; prenatal VPA maruziyeti ile oluşturulan otizm modeli sıçanlarda, Grup I mGluR'lerin UDB'deki rolü elektrofizyolojik olarak incelenmiş ve mGluR1/5 antagonistlerinin etkisi ile sinaptik ve yapısal plastisite değişiklikleri moleküler düzeyde değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen veriler üç ana eksende özetlenebilir:

Birincisi, prenatal VPA maruziyetinin literatürle uyumlu biçimde gelişimsel reflekslerde gecikme, morfolojik anormallikler ve motor koordinasyon bozuklukları oluşturduğu görülmüştür. Negatif jeotaksi gibi bazı refleksler etkilenmemiş olsa da göz açma gecikmesi ve ızgara yürüme testindeki hata artışı VPA'nın nörogelişimsel süreçleri bozduğunu desteklemiştir. Sosyal davranış testlerinde sosyallik korunurken sosyal yenilik tercihinin bozulmuş olması, OSB'ye özgü ileri düzey sosyal bilişsel bileşenlerin seçici olarak etkilendiğini göstermiştir. Bu sonuçlar, çalışmada kullanılan VPA protokolünün davranışsal geçerliliğini doğrulamış ve modelin uygunluğunu güçlendirmiştir.

İkincisi; Prenatal VPA maruziyeti ile oluşturulan otizm modeli sıçanlarda, hipokampal dentat girus granül hücrelerinde mGluR1/5-bağımlı PP-UDB protokolü ile uyarılan sinaptik depresyon zayıf veya yok denecek kadar az gözlenmiştir. Bazal I/O eğrisi analizleri, EPSP eğiminde VPA ve kontrol grupları arasında anlamlı fark olmadığını, dolayısıyla temel sinaptik iletimin büyük ölçüde korunduğunu göstermiştir. Buna karşın PS genliği artışı, VPA gruplarında nöronal ağ uyarılabilirliğinin artmış olabileceğine ve inhibitör mekanizmaların yeterince etkin çalışmadığına işaret etmektedir. Kontrol gruplarında mGluR1/5 antagonisti uygulaması, UDB indüksiyonunu bozduğunu ve bunda da mGluR1/5 sinyal yolağının hipokampal plastisitede belirleyici rol oynadığını doğrulamıştır. VPA

gruplarında UDB'nin oluşmaması mGluR-bağımlı presinaptik ve postsinaptik plastisite mekanizmalarını seçici olarak bozduğunu göstermektedir. Bu bulgular, VPA'nın yalnızca UDG değil, aynı zamanda mGluR1/5-bağımlı UDB yollarını da etkileyerek hipokampal plastisite dengesini moleküler düzeyde değiştirdiğini ortaya koymaktadır.

Üçncüsü; prenatal VPA maruziyeti ile oluşturulan OSB modeli sıçanlarda hipokampal sinaptik plastisite çok katmanlı ancak özgül bir şekilde etkilenmiştir. Presinaptik düzeyde, VPA gruplarında total sinapsin düzeyleri azalırken, p-sinapsin/total sinapsin oranı artmış olup, bu durum vezikül mobilizasyonunda kompansatuvar bir yanıt veya fonksiyonel stres göstergesidir; buna karşın UDB indüklenememiştir. Postsinaptik düzeyde, GluA1 düzeyleri korunurken GluA2 proteininde azalma gözlenmiş, bu da AMPAR trafiği ve mGluR1/5-bağımlı UDB mekanizmasının bozulduğunu düşündürmektedir. PSD95 düzeylerinin total hipokampal dokuda değişmemesi, postsinaptik yapısal bütünlüğün korunduğunu ve plastisite bozukluğunun daha çok reseptör içselleştirme, fosforilasyon döngüleri, mGluR sinyal iletimi ve protein degradasyonu gibi dinamik süreçlerden kaynaklandığını göstermektedir. Bu sonuçlara göre, VPA modeli hipokampal plastisiteyi "yapısal sinaps kaybı" yerine, uyarılara doğru yanıt veremeyen fonksiyonel bir sinaps fenotipi ile karakterize etmekte; yani prenatal VPA maruziyeti mGluR-bağımlı plastisite, AMPAR alt birim düzenlemesi ve presinaptik vezikül dinamiklerinde özgün bir fonksiyon bozukluğuna neden olmaktadır.

Bu tez çalışmasının sınırlılıkları arasında yavru sayısındaki farklılıkların gelişimsel parametreleri etkileme potansiyeli, total hipokampal dokuda protein analizlerinin yapılması, ancak uyarılan bölgeye özgü postsinaptik protein analizlerinin yapılmamış olması sayılabilir. Gelecek çalışmalarda farklı beyin bölgelerinin ayrı ayrı incelenmesi, gelişimsel olarak yaşa bağlı karşılaştırmaların yapılması, davranış deneyleri ve elektrofizyolojinin eşleştirildiği tasarımların uygulanması önerilebilir.

Sonuç olarak bu çalışma; prenatal VPA modelinin geçerliliğini desteklemiş, glutamaterjik sistemin, özellikle mGlu1/5 aracılığı ile sinaptik plastisitenin önemli bir modülatörü olabileceğini göstermiş ve OSB de görülen nörobiyolojik değişiklikleri moleküler düzeyde ortaya koymuştur.

7. KAYNAKLAR

Abbasalipour H, Hajizadeh Moghaddam A, Ranjbar M. Sumac and gallic acid-loaded nanophytosomes ameliorate hippocampal oxidative stress via Nrf2/Keap1 pathway. J Biochem Mol Toxicol, 2022:36(6): 41-49.

Ağar E. İnsan fizyolojisi. İstanbul Tıp Kitabevleri, 2021.

Ahnaou A, White E, Biermans R, Manyakov NV, Drinkenburg WHIM. In vivo plasticity at hippocampal synapses. Neural Plast, 2020:2020:1-24.

Antion MD, Hou L, Wong H, Hoeffer CA, Klann E. mGluR-dependent long-term depression and phosphorylation mechanisms. Mol Cell Biol, 2008:28(9):2996-3007.

Asrar S, Jia Z. Molecular mechanisms of synaptic plasticity via GluA2/N-cadherin signaling. Cell Signal, 2013:25(2):397-402.

Auerbach BD, Osterweil EK, Bear MF. Mutations causing syndromic autism define synaptic pathophysiology. Nature, 2011:480(7375):63-68.

Banker SM, Gu X, Schiller D, Foss-Feig JH. Hippocampal contributions to autism deficits. Trends Neurosci, 2021:44(10):793-807.

Bellone C, Lüscher C, Mameli M. Mechanisms of synaptic depression. Cell Mol Life Sci, 2008:65(18):2913-2923.

Bhattacharyya S. Group I mGlu receptors overview. Int J Biochem Cell Biol, 2016:77:205-212.

Blanpied TA, Kerr JM, Ehlers MD, Huganir RL. Structural plasticity in postsynaptic networks. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008.

Bonilla-Quintana M, Rangamani P. Biophysical models of dendritic spines. Phys Biol, 2022:19(4):041001.

Bosch M, Hayashi Y. Structural plasticity of dendritic spines. Curr Opin Neurobiol, 2012:22(3):383-388.

Brazil DP, Hemmings BA. Protein kinase B signalling. Trends Biochem Sci, 2001:26(11):657-664.

Bykhovskaia M. Synapsin regulation of vesicle organization. Semin Cell Dev Biol, 2011:22(4):387-392.

Chaki S, Fukumoto K. mGlu receptors as antidepressant targets. Curr Opin Pharmacol, 2018:38:24-30.

Chauhan P, Jethwa K, Rathawa A, Chauhan G, Mehra S. Anatomy of the hippocampus. In: Cerebral Ischemia, 2021:17-30.

Cheyne JE, Montgomery JM. mGlu receptor expression changes. Mol Cell Neurosci, 2008:37(3):432-439.

Choi CS, Gonzales EL, Kim KC, Yang SM, Kim JW, Mabunga DF. Transgenerational autism-like phenotypes. Sci Rep, 2016:6:36250.

Chomiak T, Karnik V, Block E, Hu B. Early cortical development alterations. BMC Neurosci, 2010:11(1):102-110.

Choquet D, Opazo P, Zhang H. AMPA receptor therapeutic targets. Transl Neurodegener, 2025:14(1): 32-39

Chuhma N, Mingote S, Yetnikoff L, Kalmbach A, Ma T, Ztaou S. Dopamine neuron glutamate cotransmission. Elife, 2018:7:1-29.

Chung G, Kim SJ. Sustained activity of mGlu receptors. Neural Plast, 2017:2017:1-9.

Coley AA, Gao WJ. PSD95 and neuropsychiatric disorders. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2018:82:187-194.

Collingridge GL, Peineau S, Howland JG, Wang YT. Long-term depression in CNS. Nat Rev Neurosci, 2010:11(7):459-473.

Costa-Mattioli M, Sonenberg N, Richter JD. Translational regulatory mechanisms. In: Prog Mol Biol Transl Sci, 2009:90:293-311.

Crawley JN. Mouse behavioral tasks in autism. Ment Retard Dev Disabil Res Rev, 2004:10(4):248-258.

Dayas CV, Smith DW, Dunkley PR. mTOR role in addiction. Front Pharmacol, 2012:3.

DeCoteau WE, Fox AE. Intertemporal choice in autism model. J Autism Dev Disord, 2022:52(6):2414-2429.

Demaestri C, Pan T, Critz M, Ofray D, Gallo M, Bath KG. Early life adversity effects. Horm Behav, 2020:124:104763.

Deng Z, Zhou X, Lu JH, Yue Z. Autophagy deficiency in neurodevelopment. Cell Biosci, 2021:11(1):214-219.

Diering GH, Huganir RL. AMPA receptor code of synaptic plasticity. Neuron, 2018:100(2):314-329.

Edalatmanesh MA, Nikfarjam H, Vafaee F, Moghadas M. Increased hippocampal density in autism model. Brain Res, 2013:1526:15-25.

Edfawy M, Guedes JR, Pereira MI, Laranjo M, Carvalho MJ, Gao X. Abnormal mGluR plasticity and autism behaviours. Nat Commun, 2019:10(1):1431.

Elnahas EM, Abuelezz SA, Mohamad MI, Nabil MM, Abdelraouf SM, Bahaa N, Hassan GA, Ibrahim EA, Ahmed AI, Aboul-Fotouh S. Validation of prenatal versus postnatal valproic acid rat models of autism: a behavioral and neurobiological study. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2021:108:110185.

Faust TE, Gunner G, Schafer DP. Mechanisms governing activity-dependent synaptic pruning. Nat Rev Neurosci, 2021:22(11):657-673.

Favre MR, Barkat TR, LaMendola D, Khazen G, Markram H, Markram K. Developmental health in the VPA-rat model. Front Behav Neurosci, 2013:7: 33-41.

Fereshetyan K, Chavushyan V, Danielyan M, Yenkoyan K. Behavioral and electrophysiological changes in valproate rat models. Sci Rep, 2021:11(1):23471.

Foster KG, Fingar DC. Mammalian target of rapamycin signaling. J Biol Chem, 2010:285(19):14071-14077.

Fu W, Hall MN. Regulation of mTORC2 signaling. Genes, 2020:11(9):1045.

Gąssowska-Dobrowolska M, Cieślik M, Czapski GA, Jęśko H, Frontczak-Baniewicz M, Gewartowska M, Dominiak A, Polowy R, Filipkowski RK, Babiec L, Adamczyk A. Prenatal valproic acid exposure effects. Int J Mol Sci, 2020:21(10):3576-3582.

Gladding CM, Fitzjohn SM, Molnár E. mGluR-mediated long-term depression. Pharmacol Rev, 2009:61(4):395-412.

Grayson B, Leger M, Piercy C, Adamson L, Harte M, Neill JC. Novel object recognition task in rodents. Behav Brain Res, 2015:285:176-193.

Greco B, Managò F, Tucci V, Kao HT, Valtorta F, Benfenati F. Behavioral abnormalities in synapsin knockout mice. Behav Brain Res, 2013:251:65-74.

Guang S, Pang N, Deng X, Yang L, He F, Wu L, Chen C, Yin F, Peng J. Synaptopathology in autism spectrum disorder. Front Cell Neurosci, 2018:12.

Guo C, Ma YY. Calcium-permeable AMPA receptors and excitotoxicity. Front Neural Circuits, 2021:15.

Ham A, Chang AY, Li H, Bain JM, Goldman JE, Sulzer D, Veenstra-VanderWeele J, Tang G. Impaired macroautophagy and autism. Mol Psychiatry, 2025:30(2):810-824.

Han S, Tai C, Jones CJ, Scheuer T, Catterall WA. GABA receptor subunits and autism deficits. Neuron, 2014:81(6):1282-1296.

Hansel C. Synaptic plasticity deregulation in autism. Neurosci Lett, 2019:688:58-61.

Hoeffer CA, Klann E. mTOR signaling and plasticity. Trends Neurosci, 2010:33(2):67-75.

Hotulainen P, Hoogenraad CC. Actin in dendritic spines. J Cell Biol, 2010:189(4):619-629.

Hou L, Klann E. PI3K-Akt-mTOR pathway in LTD. J Neurosci, 2004:24(28):6352-6361.

Hou Q, Wang Y, Li Y, Chen D, Yang F, Wang S. GABAergic signaling in VPA autism model. Front Behav Neurosci, 2018:12: 33-42.

Huang L, Xiao W, Wang Y, Li J, Gong J, Tu E, Long L, Xiao B, Yan X, Wan L. mGluR signaling in epileptogenesis. Neural Regen Res, 2024:19(2):360-368.

Hwang JY, Yan J, Zukin RS. Autophagy and synaptic plasticity. Curr Opin Neurobiol, 2019:59:207-212.

Ingram JL, Peckham SM, Tisdale B, Rodier PM. Prenatal valproic acid exposure and autism. Neurotoxicol Teratol, 2000:22: 61-71.

Ishola IO, Balogun AO, Adeyemi OO. Metformin in autism rat model. Fundam Clin Pharmacol, 2020:34(6):650-661.

Ito M, Sakurai M, Tongroach P. Climbing fibre induced depression. J Physiol, 1982:324.

J M, Stachowicz K, Nowak G, Pilc A. Glutamate-GABA imbalance in anxiety. In: Anxiety Disorders, 2011.

Jabarin R, Netser S, Wagner S. Social behavior assessment in rodents. Mol Autism, 2022:13(1):41-50.

Jessy Presumey A. Complement system in synapse elimination. Adv Immunol, 2017:135:53-79.

Jonas P, Lisman J. Hippocampal microcircuits. Front Neural Circuits, 2014:8: 23-32.

Kallergi E, Daskalaki AD, Kolaxi A, Camus C, Ioannou E, Mercaldo V, Haberkant P, Stein F, Sidiropoulou K, Dalezios Y, Savitski MM, Bagni C, Choquet D, Hosy E, Nikoletopoulou V. Dendritic autophagy and LTD. Nat Commun, 2022:13(1):680.

Keary KM, Gu QH, Chen J, Li Z. Autophagosomes and LTD pathways. Cell Rep, 2023:42(8):112898.

Kemp A, Manahan-Vaughan D. LTD and novelty encoding. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004:101(21):8192-8197.

Kim HH, Park JM, Lee SH, Ho WK. mGluR-dependent LTD mechanisms. J Neurosci, 2019:39(2):224-237.

Kim YC, Guan KL. mTOR and autophagy. J Clin Invest, 2015:125(1):25-32.

Kleijer KTE, Schmeisser MJ, Krueger DD, Boeckers TM, Scheiffele P, Bourgeron T, Brose N, Burbach JPH. Neurobiology of autism gene products. Psychopharmacology, 2014:231(6):1037-1062.

Kon M, Cuervo AM. Chaperone-mediated autophagy. FEBS Lett, 2010:584(7):1399-1404.

Kostrouch Z. Valproic acid is a teratogenic agent in humans and animal models. Folia Biol, 2007:53:37-49.

Kumar H, Sharma BM, Sharma B. Benefits of agomelatine in prenatal valproic acid-induced autism. Neurochem Int, 2015:91:34-45.

Ledonne A, Mercuri NB. Functional interaction between mGluRI and ErbB receptors. Int J Mol Sci, 2020:21(21):7913-7925.

Leifeld J, Förster E, Reiss G, Hamad MIK. Role of extracellular matrix molecules in epilepsy. Front Cell Dev Biol, 2022:10.

Leuner B, Gould E. Structural plasticity and hippocampal function. Annu Rev Psychol, 2010:61:111-140.

Lieberman OJ, McGuirt AF, Tang G, Sulzer D. Autophagy in synaptic pruning. Neurobiol Dis, 2019:122:49-63.

Lin MG, Hurley JH. Structure and function of ULK1 complex. Curr Opin Cell Biol, 2016:39:61-68.

Lipton JO, Sahin M. Neurology of mTOR. Neuron, 2014:84(2):275-291.

Liu S, Yao S, Yang H, Liu S, Wang Y. Autophagy and cell death regulation. Cell Death Dis, 2023:14(10):648-652.

Lord C, Cook EH, Leventhal BL, Amaral DG. Autism spectrum disorders. Neuron, 2000:28(2):355-363.

Luján R, David J, Roberts B, Shigemoto R, Ohishi H, Somogyi P. Distribution of mGlu receptors. J Chem Neuroanat, 1997:13: 23-32.

Lüscher C, Huber KM. mGluR-dependent long-term depression. Neuron, 2010:65(4):445-459.

Ma H, Khaled HG, Wang X, Mandelberg NJ, Cohen SM, He X, Tsien RW. Excitation-transcription coupling. Nat Rev Neurosci, 2023:24(11):672-692.

Mabunga DFN, Gonzales ELT, Kim J, Kim KC, Shin CY. Valproic acid model of autism. Exp Neurobiol, 2015:24(4):285-300.

Magee JC, Grienberger C. Synaptic plasticity. Annu Rev Neurosci, 2020:43(1):95-117.

Mamali PM, Dignon C, Ngwenya A, Maseko BC. Behavioral features in VPA autism model. Brain Sci, 2025:15(4):388.

McMullan SM, Phanavanh B, Li GG, Barger SW. mGlu receptors and microglial glutamate. ASN Neuro, 2012:4(5):323-330.

Medical Neuroscience. Glutamate receptors. 2025.

Mehra S, Ahsan AU, Sharma M, Budhwar M, Chopra M. Fisetin in VPA-induced autism. J Mol Neurosci, 2023:73(6):403-422.

Merali Z, Presti-Torres J, MacKay JC, Johnstone J, Du L, St-Jean A. GRP receptor blockade and autism-like behavior. Behav Brain Res, 2014:263:60-69.

Mikuni T, Uesaka N, Okuno H, Hirai H, Deisseroth K, Bito H. Arc/Arg3.1 in synapse elimination. Neuron, 2013:78(6):1024-1035.

Milner B, Squire LR, Kandel ER. Study of memory. Neuron, 1998:20:445-468.

Mirza R, Sharma B. Fenofibrate in VPA autism model. Brain Res Bull, 2019:147:36-46.

Moepps B, Fagni L. GPCR signaling. EMBO Rep, 2003:s.41.

Nakanishi S. Metabotropic glutamate receptors. Neuron, 1994:13.

Nicolini C, Ahn Y, Michalski B, Rho JM, Fahnestock M. mTOR signaling in autism. Acta Neuropathol Commun, 2015:3(1):3.

Nicolini C, Fahnestock M. VPA rodent model of autism. Exp Neurol, 2018:299:217-227.

Niswender CM, Conn PJ. mGlu receptors in disease. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2010:50(1):295-322.

Onore C, Yang H, Van de Water J, Ashwood P. Akt/mTOR signaling in autism. Front Pediatr, 2017:5:98-107.

Ozonoff S, Young GS, Goldring S, Greiss-Hess L, Herrera AM, Steele J. Early autism detection. J Autism Dev Disord, 2008:38(4):644-656.

Pagani M, Barsotti N, Bertero A, Trakoshis S, Ulysse L, Locarno A. mTOR-related autism pathology. Nat Commun, 2021:12(1):6084.

Page G, Khidir FAL, Pain S, Barrier L, Fauconneau B, Guillard O. mTOR signaling pathways. Neurochem Int, 2006:49(4):413-421.

Pardo CA, Eberhart CG. Neurobiology of autism. Brain Pathol, 2007:17(4):434-447.

Penn AC, Zhang CL, Georges F, Royer L, Breillat C, Hosy E. AMPA receptors and learning. Nature, 2017:549(7672):384-388.

Phillips M, Pozzo-Miller L. Dendritic spine dysgenesis. Neurosci Lett, 2015:601:30-40.

Planas-Fontánez TM, Dreyfus CF, Saitta KS. Reactive astrocytes as therapeutic targets for brain degenerative diseases. Neurochem Res, 2020:45(3):541-550.

Qi C, Chen A, Mao H, Hu E, Ge J, Ma G, Ren K, Xue Q, Wang W, Wu S. Synaptic imbalance caused by BDNF deficits in autism model. Front Mol Neurosci, 2022:15.

Qi Z, Lyu M, Yang L, Yuan H, Cao Y, Zhai L, Dang W, Liu J, Yang F, Li Y. A novel rat model of autism. Front Psychiatry, 2021:12: 33-41.

Querfurth H, Lee HK. mTOR complexes in neurodegeneration. Mol Neurodegener, 2021:16(1):44:53.

Rampon C, Tsien JZ. Genetic analysis of structural plasticity. Hippocampus, 2000:10(5):605-609.

Randall-Demllo S, Chieppa M, Eri R. Intestinal epithelium and autophagy. Front Immunol, 2013:4:63-71.

Rong R, Ahn JY, Huang H, Nagata E, Kalman D, Kapp JA, Tu J, Worley PF, Snyder SH, Ye K. PI3 kinase enhancer–Homer complex in neurons. Nat Neurosci, 2003:6(11):1153-1161.

Roullet FI, Wollaston L, deCatanzaro D, Foster JA. Prenatal valproic acid effects in mice. Neuroscience, 2010:170(2):514-522.

Rubenstein JLR, Merzenich MM. Model of autism: excitation/inhibition imbalance. HHS Public Access, 2003:2(5):255-267.

Rudie JD, Brown JA, Beck-Pancer D, Hernandez LM, Dennis EL, Thompson PM, Bookheimer SY, Dapretto M. Brain network organization in autism. Neuroimage Clin, 2013:2(1):79-94.

Ruhela R, Sarma P, Soni S, Prakash A, Medhi B. Autism spectrum disorder rat model. Indian J Pharmacol, 2017:49(3):243.

Ruhela RK, Soni S, Sarma P, Prakash A, Medhi B. Negative geotaxis in autism model. Ann Neurosci, 2019:26(1):25-31.

Saft P, Toledo-Cardenas R, Corila-Avila GA, Perez-Pouchoulen B, Hernandez ME, Manzo J. Tail abnormalities in VPA rats. Rev ENeurobiol, 2014:5(9).

Salpietro V, Dixon CL, Guo H, Bello OD, Vandrovcova J, Efthymiou S, Maroofian R, Heimer G, Burglen L, Valence S, Torti E, Hacke M, Rankin J, Tariq H, Colin E, Procaccio V, Striano P, Mankad K, Lieb A, Houlden H. AMPA receptor defects in neurodevelopmental disorders. Nat Commun, 2019:10(1):3094-3105.

Santini E, Klann E. mTORC1-dependent translational control. Front Behav Neurosci, 2011:5.

Sathler MF, Khatri L, Roberts JP, Schmidt IG, Zaytseva A, Kubrusly RCC, Ziff EB, Kim S. AMPA receptor internalization. J Cell Sci, 2021:134(17).

Schneider T, Przewłocki R. Valproic acid autism model. Neuropsychopharmacology, 2005:30(1):80-89.

Sebastianutto I, Goyet E, Andreoli L, Font-Ingles J, Moreno-Delgado D, Bouquier N, Jahannault-Talignani C, Moutin E, Di Menna L, Maslava N, Pin JP, Fagni L, Nicoletti F, Ango F, Cenci MA, Perroy J. Dopamine signaling in Parkinson's disease. J Clin Invest, 2020:130(3):1168-1184.

Segal M. Dendritic spines and plasticity. Nat Rev Neurosci, 2005:6(4):277-284.

Shen H, Zhu H, Panja D, Gu Q, Li Z. Autophagy and synaptic plasticity. Nat Commun, 2020:11(1):2979.

Singla R, Mishra A, Joshi R, Kumar R, Sarma P, Sharma AR, Kaur G, Bhatia A, Medhi B. Dextromethorphan in autism model. ACS Chem Neurosci, 2021:12(10):1749-1767.

Spooren W, Ballard T, Gasparini F, Amalric M, Mutel V, Schreiber R. Insight into the function of group I and group II metabotropic glutamate receptors. Behav Pharmacol, 2003:14(4):257-277.

Stavoe AKH, Holzbaur ELF. Autophagy in neurons. Annu Rev Cell Dev Biol, 2019:35(1):477-500.

Su LD, Wang N, Han J, Shen Y. Group 1 metabotropic glutamate receptors in neurological and psychiatric diseases. Neuroscientist, 2022:28(5):453-468.

Şahin F. Öğrenme ve belleğin biyolojisi. 2023.

Tang G, Gudsnuk K, Kuo SH, Cotrina ML, Rosoklija G, Sosunov A, Sonders MS, Kanter E, Castagna C, Yamamoto A, Yue Z, Arancio O, Peterson BS, Champagne F, Dwork AJ, Goldman J, Sulzer D. Loss of mTOR-dependent macroautophagy causes autistic-like synaptic pruning deficits. Neuron, 2014:83(5):1131-1143.

Thomas SD, Jha NK, Ojha S, Sadek B. mTOR signaling disruption and autism spectrum disorder. Molecules, 2023:28(4):1889.

Turrigiano G. Homeostatic synaptic plasticity. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2012:4(1):a005736.

Urbanska M, Gozdz A, Swiech LJ, Jaworski J. mTORC1 and mTORC2 control dendritic arbor morphology. J Biol Chem, 2012:287(36):30240-30256.

Valdivia G, Ardiles AO, Idowu A, Salazar C, Lee HK, Gallagher M, Palacios AG, Kirkwood A. mGluR-dependent plasticity in Alzheimer's disease models. Front Synaptic Neurosci, 2023:15.

Wang C, Grohme MA, Mali B, Schill RO, Frohme M. Cryptobiosis and anhydrobiosis in tardigrade. PLoS One, 2014:9(3):e92663.

Wang J, Zhou XL, Ma ZH, Liu L, Zhou Q, Wen JW, Wen JH, Su H, Zhang YH, Xia XC. Cerebellar mechanisms in autism-like deficits. Toxics, 2025:13(10):833.

Wang L, Klionsky DJ, Shen HM. Mechanisms and functions of microautophagy. Nat Rev Mol Cell Biol, 2023:24(3):186-203.

Wang L, Wang B, Wu C, Wang J, Sun M. Autism spectrum disorder: Mechanisms and therapy. Int J Mol Sci, 2023:24(3):23-32.

Washington SD, Gordon EM, Brar J, Warburton S, Sawyer AT, Wolfe A, Mease-Ference ER, Girton L, Hailu A, Mbwana J, Gaillard WD, Kalbfleisch ML, VanMeter JW. Dysmaturation of the default mode network in autism. Hum Brain Mapp, 2014:35(4):1284-1296.

Waung MW, Pfeiffer BE, Nosyreva ED, Ronesi JA, Kimberly M. Rapid translation of Arc/Arc3.1 selectively mediates mGluR-dependent LTD. Neuron, 2008:59(1):84-97.

Weerasinghe-Mudiyanselage PDE, Ang MJ, Kang S, Kim JS, Moon C. Structural plasticity of the hippocampus in neurodegenerative diseases. Int J Mol Sci, 2022:23(6):3349.

Wilkerson JR, Tsai NP, Maksimova MA, Wu H, Cabalo NP, Loerwald KW, Dictenberg JB, Gibson JR, Huber KM. Dendritic mGluR5-mediated translation of Arc/Arg3.1 in synapse elimination. Cell Rep, 2014:7(5):1589-1600.

Wu HF, Chen PS, Chen YJ, Lee CW, Chen IT, Lin HC. NMDA receptor-dependent LTD regulation in autism model. Mol Neurobiol, 2017:54(7):5264-5276.

Wu PY, Ji L, De Sanctis C, Francesconi A, Inglebert Y, McKinney RA. Loss of synaptopodin impairs mGluR-LTD at CA3-CA1 synapses. PNAS Nexus, 2024:3(2): 23-32.

Yashiro K, Philpot BD. Regulation of NMDA receptor subunit expression. Neuropharmacology, 2008:55(7):1081-1094.

Zarrabi A, Perrin D, Kavoosi M, Sommer M, Sezen S, Mehrbod P, Bhushan B, Machaj F, Rosik J, Kawalec P, Afifi S, Bolandi SM, Koleini P, Taheri M, Madrakian T, Łos MJ, Lindsey B, Cakir N, Zarepour A, Ghavami S. Rhabdomyosarcoma: Current therapy and future approaches. Cancers, 2023:15(21):5269-5276.

Zhou H, Huang S. The complexes of mammalian target of rapamycin. Nat Inst Health Public Access, 2011:11(6):409-424.

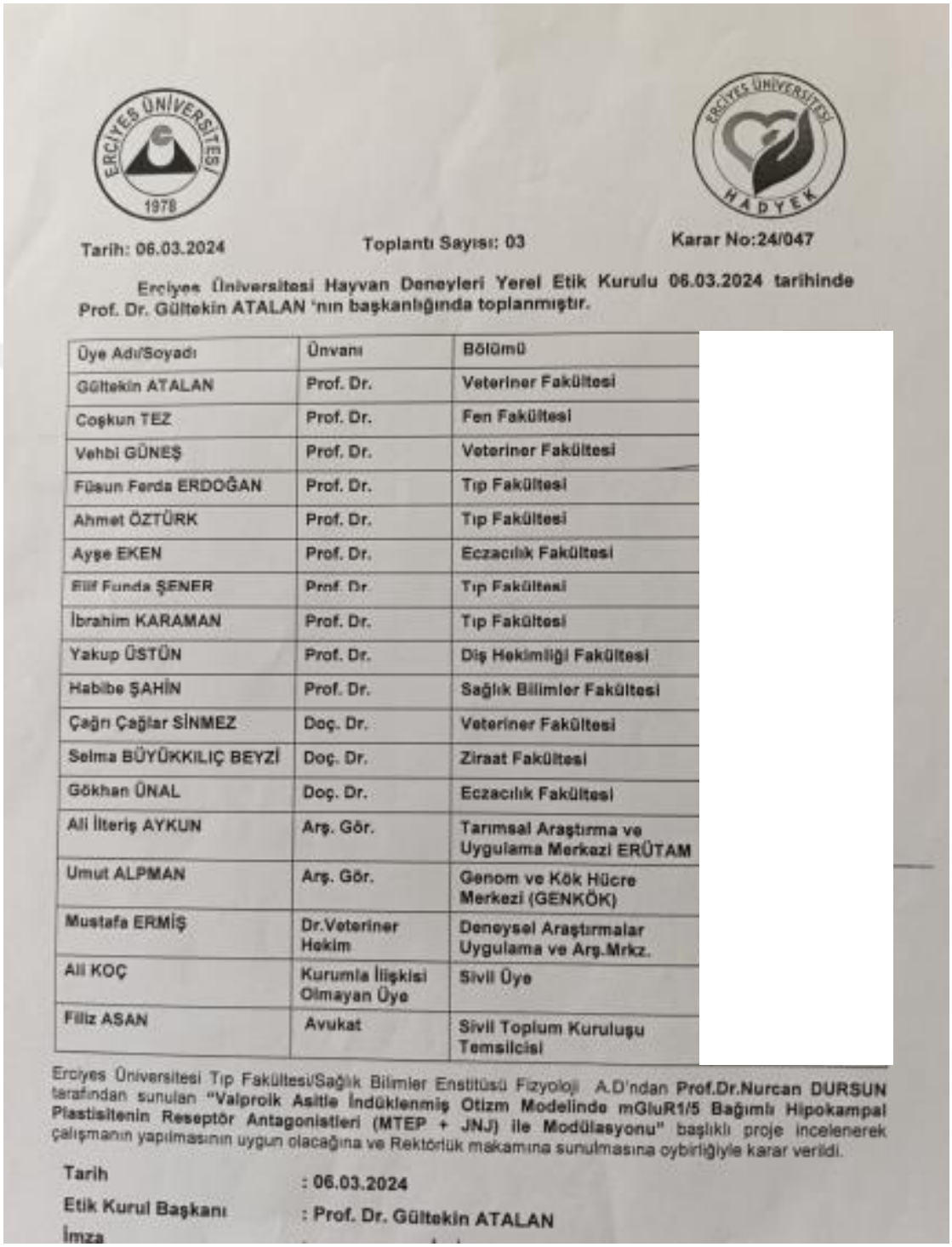
Zhou Q, Homma KJ, Poo M. Shrinkage of dendritic spines associated with long-term depression. Neuron, 2004:44(5):749-757.

Zhu PJ, Chen CJ, Mays J, Stoica L, Costa-Mattioli M. mTORC2 is required for hippocampal mGluR-LTD. Nat Neurosci, 2018:21(6):799-802.

Zoncu R, Efeyan A, Sabatini DM. mTOR in cancer, diabetes and ageing. Nat Rev Mol Cell Biol, 2011:12(1):21-35.

EKLER

Ek 1: ETİK KURUL ONAYI



Tarih: 06.03.2024 Toplantı Sayısı: 03 Karar No:24/047

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 06.03.2024 tarihinde Prof. Dr. Gültekin ATALAN 'nın başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü
Gültekin ATALAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fakültesi
Vehbi GÜNEŞ	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi
Füsun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
Ahmet ÖZTÜRK	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
Ayşe EKEN	Prof. Dr.	Eczacılık Fakültesi
Elif Funda ŞENER	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
İbrahim KARAMAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
Yakup ÜSTÜN	Prof. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi
Habibe ŞAHİN	Prof. Dr.	Sağlık Bilimler Fakültesi
Çağrı Çağlar SİNMEZ	Doç. Dr.	Veteriner Fakültesi
Selma BÜYÜKKILIÇ BEYZİ	Doç. Dr.	Ziraat Fakültesi
Gökhan ÜNAL	Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi
Ali İlteriş AYKUN	Arş. Gör.	Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi ERÜTAM
Umut ALPMAN	Arş. Gör.	Genom ve Kök Hücre Merkezi (GENKÖK)
Mustafa ERMİŞ	Dr.Veteriner Hekim	Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Arş.Mrkz.
Ali KOÇ	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	Sivil Üye
Filiz ASAN	Avukat	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi/Sağlık Bilimler Enstitüsü Fizyoloji A.D'ndan Prof.Dr.Nurcan DURSUN tarafından sunulan "Valproik Asitle İndüklenmiş Otizm Modelinde mGluR1/5 Bağımlı Hipokampal Plastisitenin Reseptör Antagonistleri (MTEP + JNJ) ile Modülasyonu" başlıklı proje incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih : 06.03.2024

Etik Kurul Başkanı : Prof. Dr. Gültekin ATALAN

İmza

Ek 2: İNTİHAL RAPORU

VALPROİK ASİTLE İNDÜKLENMİŞ OTİZM MODELİNDE mGluR1/5 BAĞIMLI HİPOKAMPAL PLASTİSİTENİN RESEPTÖR ANTAGONİSTLERİ (MTEP ve JNJ) İLE MODULASYONU

ORİJİNALLİK RAPORU

%6	%6	%3	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%1
2	abis-files.erciyes.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
3	www.int-e.net İnternet Kaynağı	%1
4	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	%1
5	"Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015 Yayın	<%1
6	www.sporbilim.com İnternet Kaynağı	<%1
7	acikerisim.akdeniz.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1
8	hdl.handle.net İnternet Kaynağı	<%1
9	www.readbag.com İnternet Kaynağı	<%1
10	www.selcukmedj.org İnternet Kaynağı	<%1
11	www.researchgate.net İnternet Kaynağı	<%1

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı: TUĞBA KIRBOĞA

Uyruğu: TC

Doğum Tarihi:

Doğum Yeri:

Medeni Durumu:

Cep Telefonu:

E-posta adresi:

Derece	**Alan**	**Üniversite**	**Yıl**
Lisans	Biyoloji (İngilizce)	Abant İzzet Baysal Üniversitesi	2005-2010
Yüksek Lisans	Fizyoloji	Abant İzzet Baysal Üniversitesi	2011-2013
Doktora	Fizyoloji	Erciyes Üniversitesi	2022-2026

YÜRÜTÜLEN TEZLER

Beyin ve Üreme Organlarının Nitrik Oksit Aktivitesinin Estrus Siklusu ile İlgisinin Araştırılması

Tez danışmanı: Prof. Dr. Fatma Töre

Valproik Asitle İndüklenmiş Otizm Modelinde mGluR1/5 Bağımlı Hipokampal Plastisitenin Reseptör Antagonistleri (MTEP ve JNJ) ile Modülasyonu

Tez danışmanı: Prof. Dr. Nurcan DURSUN

ULUSLARARASI DERGİLERDE KABUL ALINAN MAKALELER

İpek ÖY, **Kirboğa T**, Babur E, Dursun N, Süer C. Therapeutic timing limitations of postnatal darbepoetin in a valproic acid rat model of Autism Spectrum Disorder. **(2025)** PLoS One 20(11).

ULUSAL KONGRELERDE SUNULAN BİLDİRİLER

Effect of Smoking and Exposure Cigarette Smoke on Cardiac Autonomic Function of Healty Young Adults

B S Benek, Y Arpacık, F Erdem, **T Kırboga**

Turkish Society of Physiological Sciences 41 st National Physiological Congress (**2013**.08.01.637)

Superior Servical Gangliyonektomi ve 48/80 Uygulamasının Sıçanlarda Trigeminal Gangliyon cGRP ve Substans P Düzeylerine Etkisi (poster)

Erkan Kılınç, Neva Alasağ, **Tuğba Kırboğa**, Dilek Ak, Fatma Töre

39. Ulusal Fizyoloji Kongresi 10- 14 Eylül **2013**

Yüksek ve Düşük Ön Uyaran Aracılı İnhibisyon (ÖUAİ) Gösteren İki Grup Sıçanda Kognitif Fonksiyon Farklılıkları (Sözlü Sunum)

Arife Seyyar, Ercan Babur, **Tuğba Kırboğa**, Nurcan Dursun

22.Ulusal Sinirbilim Kongresi 3-6 Eylül **2024** İstanbul

Yaşlı Sıçanlarda Kalsiyum Kanal Blokörü Olan Gabapentinin Öğrenme ve Bellek Performansı Üzerine Etkisi (Sözlü Sunum)

Zeynep Büşra Uzuncan, Ercan Babur, **Tuğba Kırboğa**, Ceylan Taşyürek, Nurcan Dursun

22.Ulusal Sinirbilim Kongresi 3-6 Eylül **2024** İstanbul

Beyin ve Üreme Organlarının Nitrik Oksit Aktivitesinin Estrus Siklusu ile İlişkisinin Araştırılması (Poster)

Tuğba Kırboğa, Fatma Töre

TFBD 49. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 6-9 Kasım **2024** İzmir

Sıçanlarda Glutamat Eksitotoksisitesinde Öğrenme ve Bellek Performansına Akt Aktivatörü SC79'un Etkisinin Araştırılması (Sözlü Sunum)

Seza Nur SULUHAN, **Tuğba KIRBOĞA**, Ercan BABUR, Burak TAN

5.Bilsel Uluslararası Aspendos Bilimsel Araştırmalar Kongresi, 21-22 Haziran **2025** Antalya

Travma Sonrası Stres Bozukluğunda Pioglitazon ve İvabradinin Uzun Dönemli Güçlenme Üzerine Etkisi (Poster)

Seval Müsüroğlu, Ercan Babur, **Tuğba Kırboğa**, Hatice Kavak, Nurcan Dursun, Cem Süer

TFBD 50. Ulusal Fizyoloji Kongresi, **2025.**

ULUSAL DERGİLERDE YAYINLANAN ÖZETLER

Investigating the Relationship Between Nitric Oxide Activity in the Brain and Reproductive Organs During the Estrous Cycle

Tuğba Kırboğa, Fatma Töre

ACTA PHYSIOLOGICA, **2024**

BURSİYER OLARAK ÇALIŞTIĞI PROJELER

Yaşlanmayla Zayıflayan Öğrenme ve Bellek Performansında Kalsiyum Kanallarının Rolü ve Alzheimer Hastalığı İlgili Genler ile İlişkisi (2023-2024)

BAP Öncelikli Alan (Proje No: TOA-2023-12848)

Yürütücü Prof. Dr. Nurcan DURSUN

Travma Sonrası Stres Bozukluğu ile Oluşan Sinaptik Plastisite ve Nörogenez Defektinde PPAR-Y'nin HCN Kanalları ile İlişkisinin Araştırılması (2024-2025)

TÜBİTAK 1001 ÇABA (Proje No: 124S032)

Yürütücü: Doç. Dr. Seval MÜSÜROĞLU

Hipokampal Plastisitede mGlu1/5 Reseptörlerinin Rolünün Deneysel Otizm Modelinde Antagonistler Aracılığı ile Araştırılması (2025-2026)

TÜSEB 2024-A4-02 Acil ARGE (Proje No: 42554)

Yürütücü Prof. Dr. Nurcan DURSUN