

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YAPAY TATLANDIRICILARIN BAZI OMURGALI CANLILAR
ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

DOKTORA

AYŞEN KARDEŞLER

DENİZLİ, 2016

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**



**YAPAY TATLANDIRICILARIN BAZI OMURGALI CANLILAR
ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

DOKTORA

AYŞEN KARDEŞLER

DENİZLİ, 2016

KABUL VE ONAY SAYFASI

AYŞEN KARDEŞLER tarafından hazırlanan "YAPAY TATLANDIRICILARIN BAZI OMURGALI CANLILAR ÜZERİNDEKİ ETKİSİ" adlı tez çalışmasının savunma sınavı 30.12.2016 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü BİYOLOJİ ANABİLİM DALI/DOKTORA PROGRAMI olarak kabul edilmiştir.

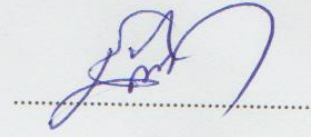
Jüri Üyeleri

İmza

Danışman

Doç. Dr. Eyup BAŞKALE

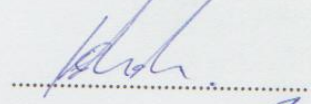
Pamukkale Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



Üye

Prof. Dr. Ferah SAYIM ÖZKAN

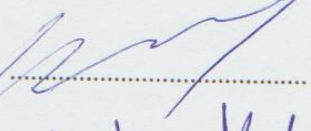
Ege Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



Üye

Prof. Dr. Nagihan YALÇIN

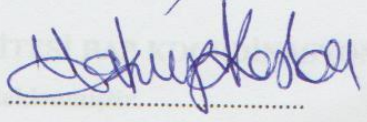
Pamukkale Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı



Üye

Prof. Dr. Yakup KASKA

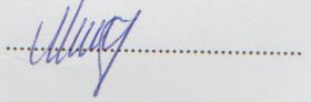
Pamukkale Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



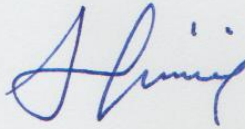
Üye

Yrd. Doç. Dr. Müge GİDİŞ

Dumlupınar Üniversitesi Sağlık Yüksek Okulu



Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 02.02.17... tarih ve ...05/17... sayılı kararıyla onaylanmıştır.



Prof. Dr. Uğur YÜCEL

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

**Bu tez çalışması PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ BAP KOORDİNASYON
BİRİMİ tarafından 2014FBE021 nolu proje ile desteklenmiştir.**

ÖZET

YAPAY ZEHLANIMLİ İLLARIN RAZI OMURGALI CANLIKLAR ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

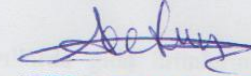
DOKTORA PROGRAMI

AYŞEN KARDEŞLER

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

İPEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. EYLÜP BAŞKALE

DENİZLİ, 2016



AYŞEN KARDEŞLER

Yapay zehli ilaçlar (MSG) ve aspartam (ASP), son yıllarda giderek artan şekilde yaygın olarak kullanılan yapay tatlandırıcılardan biridir. Son yıllarda MSG ve ASP'nin davranışsal, nörokimyasal ve histopatolojik etkilerinin olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada, neonatal dönemdeki *Wistar* erkek sıçanlara ve *Ballb-c* balıkları için farklı dozlarla uygulanan MSG ve ASP'nin sıçanlar ve balıkların davranışsal, nörokimyasal ve histolojik parametreleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla 2 tip davranış testi uygulanarak (8 kolu ışıklı labirent ve açık alan testi) açık alan testi ile lokomotor aktivite ve ışıklı labirentte davranışsal ve beşerik ölçümler yapılmıştır. Ayrıca, biyokimyasal olarak dopamin, serotonin, histamin ve aspartam düzeyleri, immünohistokimya (IHK) yöntemiyle de ölçülmüştür. Hayvanlardaki beyin histopatolojisini incelemek amacı ile glial fibriller asetat protein (GFAP) ve mikrotübül ilişkili protein (MAP-2) kullanılmıştır. 8 kolu ışıklı labirent ve açık alan testi sonuçlarına göre, davranışsal olarak MSG ve ASP'nin bazı doz gruplarında, kontrol grubu sıçanları ve balıkları ile karşılaştırıldığında, istatistiksel açıdan önemli fark bulunmuştur.

SÖZLÜK KULLANIMLARI: MSG, ASP, 8 kolu ışıklı labirent, açık alan testi, davranışsal parametreler, nörokimyasal parametreler, histolojik parametreler

ÖZET

YAPAY TATLANDIRICILARIN BAZI OMURGALI CANLILAR ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

DOKTORA PROGRAMI

AYŞEN KARDEŞLER

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. EYUP BAŞKALE)

DENİZLİ, 2016

Monosodyum glutamat (MSG) ve aspartam (ASP), son yıllarda gıda ürünlerinde oldukça fazla kullanılan yapay tatlandırıcılardan biridir. Son yıllardaki çalışmalar, MSG ve ASP'nin davranışsal, nörokimyasal ve histopatolojik etkilerinin olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada, neonatal dönemdeki *Wistar* erkek sıçanlara ve *Balb-c* farelere farklı ve tekrarlayan dozlarda uygulanan MSG ve ASP'nin sıçanlar ve farelerdeki davranışsal, nörokimyasal ve histolojik parametreleri arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla 2 tip davranış testi uygulanarak (8 kollu ışınsal labirent testi ile öğrenme ve bellek ölçümü, açık alan testi ile lokomotor aktivitenin ölçümü) hayvanlardaki davranış değişiklikleri belirlenmiştir. Ayrıca, biyokimyasal olarak GABA, glutamat, katekolamin ve dopamin düzeyleri, immunosorbent ELISA assay metodu ile ölçülmüştür. Hayvanlardaki beyin histopatolojisini incelemek amacı ile glial fibriler asidik protein (GFAP) ve mikrotübül ilişkili protein (MAP-2) kullanılmıştır. 8 kollu ışınsal labirent ve açık alan testi sonuçlarına göre, davranışsal olarak ASP ve MSG'nin bazı doz gruplarında, kontrol grubu sıçanları ve fareleri ile karşılaştırıldığında, istatistiksel açıdan önemli fark bulunmuştur.

ANAHTAR KELİMELER: MSG, ASP, 8 kollu ışınsal labirent, açık alan testi, davranış parametreleri, nörokimyasal parametreler, histolojik parametreler.

ABSTRACT

EFFECTS ON SOME VERTEBRATE ANIMALS OF ARTIFICIAL SWEETENERS

PH.D. PROGRAM

AYŞEN KARDEŞLER

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

DEPARTMENT OF BIOLOGY

(SUPERVISOR: DOÇ. DR. EYUP BAŞKALE)

DENİZLİ, 2016

Monosodium glutamate (MSG) and aspartame (ASP) are one of the quite widely used artificial sweetener in food products over the last decade. Previous studies showed that MSG and ASP have behavioural, neurochemical and histological effects on different organs.

The main objective of this study is to investigate and analyze the correlation between the MSG and ASP applied at various dosages on the *Wistar* rats and *Balb-c* mice and their behaviours, neurochemical and histological parameters, during their neonatal period. To achieve this objective, we have performed 2 different types of behavioral tests: Learning abilities and memorial capacities were examined using an 8 arm radial maze; locomotor activity was tested by the open field test. Additionally, GABA, glutamate, catecholamine and dopamine levels were also measured biochemically via immunosorbent ELISA assay method. GFAP and MAP-2 immunohistochemical stains were used to examine the brain immunohistochemical pathology in animals. Considering the results obtained through 8 arm radial maze test and the open field test, we determined significantly different statistical results in terms of rats' and mice' behaviours, comparing the control group's values and the values of the rats and mice subject to MSG and ASP dosages.

KEYWORDS: MSG, ASP, 8 arm radial maze, open field test, behavioural parameters, neurochemical parameters, histological parameters.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ	vi
TABLO LİSTESİ	viii
SEMBOL LİSTESİ	xii
ÖNSÖZ	xiv
1.GİRİŞ	1
1.1. MSG İle İlgili Genel Bilgiler	1
1.1.1. Glutamatın Merkezi Sinir Sistemindeki Etkileri.....	4
1.1.2. Fare ve Sıçanlar Üzerine Çalışmalar.....	5
1.2. ASP İle İlgili Genel Bilgiler	7
1.2.1. Kan Beyin Bariyerinde Aspartamın Etkisi	10
1.2.2. Beyin Kimyası	10
1.2.3. Fare ve Sıçanlar Üzerine Çalışmalar.....	12
1.3. Amaç	15
2. YÖNTEM	16
2.1. Fare ve Sıçanların Elde Edilmesi ve Genel İşlemler	16
2.2. Deney Grupları	16
2.2.1. Fare ve Sıçan Deney Grupları	16
2.3. Enjeksiyon Yöntemi	17
2.4. Fare ve Sıçanlarda Öğrenme ve Bellek Deneyleri	18
2.4.1. Sekiz Kollu Işınsal Labirent Testi Özellikleri	18
2.5. Fare ve Sıçanlarda Lokomotor Aktivite Deneyleri	21
2.5.1. Açık Alan Testi.....	21
2.6. Fare ve Sıçanlarda Biyokimyasal Deneyler	22
2.6.1. Dopamin Konsantrasyonu	23
2.6.2. Glutamat Konsantrasyonu	23
2.6.3. GABA Konsantrasyonu	24
2.6.4. Katekolamin Konsantrasyonu.....	24
2.6.5. SOD Konsantrasyonu	25
2.6.6. GSH Konsantrasyonu	25
2.6.7. MDA Konsantrasyonu	25

2.7. Fare ve Sıçanlarda Histopatolojik Değerlendirme	26
2.7.1. Hematoksilen & Eosin (H&E) Boyama	26
2.7.2. GFAP (Gilyal Fibriler Asidik Protein) ve MAP-2 (Mikrotübül İlişkili Protein) İmmunohistokimyasal Boyamalar	27
2.8. İstatistiksel Değerlendirmeler	29
3. BULGULAR.....	30
3.1. Fare ve Sıçanlarda Öğrenme ve Bellek Bulguları	30
3.1.1. ASP dozları uygulanan Sıçanlarda öğrenme ve bellek sonuçları	30
3.1.2. MSG dozları uygulanan Sıçanlarda öğrenme ve bellek sonuçları.....	39
3.1.3. ASP dozları uygulanan Farelerde öğrenme ve bellek sonuçları.....	45
3.1.4. MSG dozları uygulanan Farelerde öğrenme ve bellek sonuçları	53
3.2. Fare ve Sıçanlarda Lokomotor Aktivite Bulguları.....	58
3.2.1. ASP dozları uygulanan Sıçanlarda Açık Alan Testi Sonuçları	58
3.2.2. MSG uygulanan Sıçanlarda Açık Alan Testi Sonuçları	63
3.2.3. ASP uygulanan Farelerde Açık Alan Testi Sonuçları	69
3.2.4. MSG uygulanan Farelerde Açık Alan Testi Sonuçları	75
3.3. Fare ve Sıçanlarda Biyokimyasal Bulgular	81
3.3.1 ASP dozları uygulanan Sıçanlarda dopamin, glutamat, GABA ve katekolamin değerleri	82
3.3.2. MSG dozları uygulanan Sıçanlarda dopamin, glutamat, GABA ve katekolamin değerleri	86
3.3.3. ASP dozları uygulanan Sıçanlarda MDA, GSH ve SOD değerleri.....	90
3.3.4. MSG dozları uygulanan Sıçanlarda MDA, GSH ve SOD değerleri.....	94
3.3.5. ASP dozları uygulanan Farelerde dopamin, glutamat, GABA ve katekolamin değerleri	98
3.3.6. MSG dozları uygulanan Farelerde dopamin, glutamat, GABA ve katekolamin değerleri	100
3.3.7. ASP dozları uygulanan Farelerde MDA, GSH ve SOD değerleri.....	101
3.3.8. MSG dozları uygulanan Farelerde MDA, GSH ve SOD değerleri	105
3.4. Fare ve Sıçanlarda Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal Bulgular.....	109
3.4.1 Sıçanlarda Histopatolojik ve İmmunohistopatolojik Bulgular	109
3.4.2. Farelerin Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal Bulguları	121
4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	134
4.1 Sıçanlarda ASP ve MSG Uygulama Dozunun Sonuçların Değerlendirilmesi....	135
4.1.1. Sıçanlarda Öğrenme ve Bellek Bulgularının Değerlendirilmesi	135
4.1.2. Sıçanlarda Lokomotor Aktivite Bulgularının Değerlendirilmesi	137
4.1.3. Sıçanlarda Biyokimyasal Bulguların Değerlendirilmesi	140

4.1.4. Sıçanlarda Histopatolojik ve İmmunohistolojik Bulgularının Değerlendirilmesi	144
4.2. Farelerde ASP ve MSG Uygulama Dozunun Sonuçların Değerlendirilmesi	145
4.2.1. Farelerde Öğrenme ve Bellek Bulgularının Değerlendirilmesi	146
4.2.2. Farelerde Lokomotor Aktivite Bulgularının Değerlendirilmesi	148
4.2.3. Farelerde Biyokimyasal Bulguların Değerlendirilmesi	151
4.2.4. Farelerde Histopatolojik Bulguların Değerlendirilmesi	155
5. GENEL DEĞERLENDİRME	158
6. KAYNAKLAR	161
7. ÖZGEÇMİŞ.....	175

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: Monosodyum glutamatın kimyasal yapısı.....	2
Şekil 1.2: Glutamat metabolizması.....	3
Şekil 1.3: Glutamat salınımı ve geri alınımı.....	5
Şekil 1.4: Aspartamın kimyasal yapısı.....	8
Şekil 1.5: Aspartamın barsak lümeninde, mukoza hücrelerinde ve organizmanın diğer kısımlarındaki biyolojik dönüşümü.....	9
Şekil 2.1: 8 Kollu ışınal labirent testi.....	19
Şekil 2.2: Açık alan testi, deney hayvanının açık alanda gezinme durumu.....	22
Şekil 2.3: ELISA yöntemi uygulanışı.....	23
Şekil 3.1: Sıçanlarda uygulanan ASP dozları için elde edilen hata sayısı değerlerinin grafiksel gösterimi.....	33
Şekil 3.2: Sıçanlarda uygulanan ASP dozları için elde edilen cevap gecikmesi değerlerinin grafiksel gösterimi.....	38
Şekil 3.3: Sıçanlarda uygulanan MSG dozları için elde edilen cevap gecikmesi değerlerinin grafiksel gösterimi.....	44
Şekil 3.4: Farelerde uygulanan ASP dozları için elde edilen hata sayısı değerlerinin grafiksel gösterimi.....	48
Şekil 3.5: Farelerde uygulanan ASP dozları için elde edilen cevap gecikmesi değerlerinin grafiksel gösterimi.....	52
Şekil 3.6: Farelerde uygulanan MSG dozları için elde edilen cevap gecikmesi değerlerinin grafiksel gösterimi.....	57
Şekil 3.7: Sıçanlarda uygulanan ASP dozları için elde edilen gezinme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi. GSeo: enjeksiyon öncesi gezinme süresi ...	59
Şekil 3.8: Sıçanlarda uygulanan ASP dozları için elde edilen temizlenme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi.....	61
Şekil 3.9: Sıçanlarda uygulanan ASP dozları için elde edilen doğrulma sayısı değerlerinin grafiksel gösterimi.....	63
Şekil 3.10: Sıçanlarda uygulanan MSG dozları için elde edilen gezinme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi.....	65
Şekil 3.11: Sıçanlarda uygulanan MSG dozları için elde edilen temizlenme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi.....	67
Şekil 3.12: Sıçanlarda uygulanan MSG dozları için elde edilen doğrulma sayısı değerlerinin grafiksel gösterimi.....	69
Şekil 3.13: Farelerde uygulanan ASP dozları için elde edilen gezinme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi.....	71
Şekil 3.14: Farelerde uygulanan ASP dozları için elde edilen temizlenme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi.....	73
Şekil 3.15: Farelerde uygulanan ASP dozları için elde edilen doğrulma sayısı değerlerinin grafiksel gösterimi.....	75
Şekil 3.16: Farelerde uygulanan MSG dozları için elde edilen gezinme süresi	

değerlerinin grafiksel gösterimi.....	77
Şekil 3.17: Farelerde uygulanan MSG dozları için elde edilen temizlenme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi.....	79
Şekil 3.18: Farelerde uygulanan MSG dozları için elde edilen doğrulma sayısı değerlerinin grafiksel gösterimi.....	81
Şekil 3.19: ASP dozları uygulanan sıçanlarda beyinde ölçülen dopamin, glutamat ve katekolamin değerlerinin grafiksel gösterimi.....	85
Şekil 3.20: MSG dozları uygulanan sıçanlarda beyinde ölçülen dopamin, glutamat, katekolamin değerlerinin grafiksel gösterimi.....	89
Şekil 3.21: ASP dozları uygulanan sıçanlarda beyinde ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerinin grafiksel gösterimi.....	93
Şekil 3.22: MSG dozları uygulanan sıçanlarda beyinde ölçülen MDA, SOD değerlerinin grafiksel gösterimi.....	97
Şekil 3.23: ASP dozları uygulanan farelerde beyinde ölçülen GABA değerlerinin grafiksel gösterimi.....	99
Şekil 3.24: MSG dozları uygulanan farelerde beyinde ölçülen glutamat değerlerinin grafiksel gösterimi.....	101
Şekil 3.25: ASP dozları uygulanan farelerde beyinde ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerinin grafiksel gösterimi.....	104
Şekil 3.26: MSG dozları uygulanan farelerde beyinde ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerinin grafiksel gösterimi.....	108
Şekil 3.27: A: Sıçan beyinde kontrol grubunda hipokampal bölgenin görünümü.....	110
Şekil 3.28: ASP2500 mg/kg dozu uygulaması yapılan sıçan beyindeki hipokampal bölgenin görünümü	119
Şekil 3.29: MSG2500 mg/kg dozu uygulaması yapılan sıçan beyindeki hipokampal bölgenin görünümü.....	120
Şekil 3.30: Fare beyinde kontrol grubunda hipokampal bölgenin görünümü.....	122
Şekil 3.31: ASP2500 mg/kg dozu uygulaması yapılan fare beyindeki hipokampal bölgenin görünümü	125
Şekil 3.32: MSG2500 mg/kg dozu uygulaması yapılan fare beyindeki hipokampal bölgenin görünümü.....	130

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1: Sıçanlarda ASP dozları için uygulanan 8 Kollu ışınsal labirent testinde Hata Sayısı değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.	31
Tablo 3.2: Sıçanlarda ASP dozları için uygulanan 8 Kollu ışınsal labirent testinde Hata Sayısı değerlerine aitMann-Whitney U testi sonuçları.	32
Tablo 3.3: Sıçanlarda ASP dozları için uygulanan 8 Kollu ışınsal labirent testinde Cevap Gecikmesi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.	35
Tablo 3.4: Sıçanlarda ASP dozları için uygulanan 8 Kollu ışınsal labirent testinde Cevap Gecikmesi değerlerine aitMann-Whitney U testi sonuçları.	36
Tablo 3.5: Sıçanlarda MSG dozları için uygulanan 8 Kollu ışınsal labirent testinde Hata Sayısı değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.	40
Tablo 3.6: Sıçanlarda MSG dozları için uygulanan 8 Kollu ışınsal labirent testinde Cevap Gecikmesi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.	42
Tablo 3.7: Sıçanlarda MSG dozları için uygulanan 8 Kollu ışınsal labirent testinde Cevap Gecikmesi değerlerine aitMann-Whitney U testi sonuçları.	43
Tablo 3.8: Farelerde ASP dozları için uygulanan 8 Kollu ışınsal labirent testinde Hata Sayısı değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.	45
Tablo 3.9: Farelerde ASP dozları için uygulanan 8 Kollu ışınsal labirent testinde Hata Sayısı değerlerine aitMann-Whitney U testi sonuçları.	46
Tablo 3.10: Farelerde ASP dozları için uygulanan 8 Kollu ışınsal labirent testinde Cevap Gecikmesi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.	50
Tablo 3.11: Farelerde ASP dozları için uygulanan 8 Kollu ışınsal labirent testinde Cevap Gecikmesi değerlerine aitMann-Whitney U testi sonuçları.	51
Tablo 3.12: Farelerde MSG dozları için uygulanan 8 Kollu ışınsal labirent testinde Hata Sayısı değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.	53
Tablo 3.13: Farelerde MSG dozları için uygulanan 8 Kollu ışınsal labirent testinde Cevap Gecikmesi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.	55
Tablo 3.14: Farelerde MSG dozları için uygulanan 8 Kollu ışınsal labirent testinde Cevap Gecikmesi değerlerine aitMann-Whitney U testi sonuçları.	56
Tablo 3.15: Sıçanlarda ASP dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Gezinme Süresi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.	58
Tablo 3.16: Sıçanlarda ASP dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Temizlenme Süresi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon	

eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.	60
Tablo 3.17: Sıçanlarda ASP dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Doğrulma Sayısı değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.	62
Tablo 3.18: Sıçanlarda MSG dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Gezinme Süresi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.	64
Tablo 3.19: Sıçanlarda MSG dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Temizlenme Süresi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.	65
Tablo 3.20: Sıçanlarda MSG dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Doğrulma Sayısı değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.	67
Tablo 3.21: Farelerde ASP dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Gezinme Süresi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.	70
Tablo 3.22: Farelerde ASP dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Temizlenme Süresi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.	72
Tablo 3.23: Farelerde ASP dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Doğrulma Sayısı değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.	74
Tablo 3.24: Farelerde MSG dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Gezinme Süresi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.	76
Tablo 3.25: Farelerde MSG dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Temizlenme Süresi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.	78
Tablo 3.26: Farelerde MSG dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Doğrulma Sayısı değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.	80
Tablo 3.27: Sıçanlarda ASP dozları için ölçülen GABA, dopamin, glutamat, katekolamin değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.	83
Tablo 3.28: Sıçanlarda ASP dozları için ölçülen dopamin, glutamat, katekolamin değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.	84
Tablo 3.29: Sıçanlarda MSG dozları için ölçülen GABA, dopamin, katekolamin, glutamat değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.	87
Tablo 3.30: Sıçanlarda MSG dozları için ölçülen dopamin, glutamat, katekolamin değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.	88
Tablo 3.31: Sıçanlarda ASP dozları için ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.	91

Tablo 3.32: Sıçanlarda ASP dozları için ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.	92
Tablo 3.33: Sıçanlarda MSG dozları için ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.....	95
Tablo 3.34: Sıçanlarda MSG dozları için ölçülen MDA, SOD değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.	96
Tablo 3.35: Farelerde ASP dozları için ölçülen GABA, dopamin, katekolamin, glutamat değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.....	98
Tablo 3.36: Farelerde ASP dozları için ölçülen GABA değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.	99
Tablo 3.37: Farelerde MSG dozları için ölçülen GABA, dopamin, katekolamin, glutamat değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.	100
Tablo 3.38: Farelerde MSG dozları için ölçülen glutamat değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.	101
Tablo 3.39: Farelerde ASP dozları için ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.....	102
Tablo 3.40: Farelerde ASP dozları için ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.	103
Tablo 3.41: Farelerde MSG dozları için ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.....	106
Tablo 3.42: Farelerde MSG dozları için ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.	107
Tablo 3.43: Sıçanlarda ASP dozları için HE histokimyasal, GFAP ve MAP-2 immünohistokimyasal boyamalarına ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.	115
Tablo 3.44: Sıçanlarda ASP dozları için HE histokimyasal, GFAP ve MAP-2 immünohistokimyasal boyamalarına ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.	115
Tablo 3.45: Sıçanlarda MSG dozları için HE histokimyasal, GFAP ve MAP-2 immünohistokimyasal boyamalarına ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.	120
Tablo 3.46: Sıçanlarda MSG dozları için HE histokimyasal, GFAP ve MAP-2 immünohistokimyasal boyamalarına ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.	121
Tablo 3.47: Farelerde ASP dozları için HE histokimyasal, GFAP ve MAP-2 immünohistokimyasal boyamalarına ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.	127
Tablo 3.48: Farelerde ASP dozları için HE histokimyasal, GFAP ve MAP-2 immünohistokimyasal boyamalarına ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.	127
Tablo 3.49: Farelerde MSG dozları için HE histokimyasal, GFAP ve MAP-2	

	immünohistokimyasal boyamalarına ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.	131
Tablo 3.50:	Farelerde MSG dozları için HE histokimyasal, GFAP ve MAP-2 immünohistokimyasal boyamalarına ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.	133

SEMBOL LİSTESİ

ALP: Alkalın fosfataz.

ALT: Alanin aminotransferaz.

ASP: Aspartam.

AST: Aspartat aminotransferaz.

CG (Response Latency): Cevap Gecikmesi.

DEHAM: Pamukkale Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi.

DTNB: 5,5-dithio-bis-2-nitrobenzoik asit.

EEG: Elektroensefalogram.

ELISA: Enzim bağımlı immunosorbent yöntemi.

EÖ: Enjeksiyon öncesi.

EPM: Yükseltilmiş Artı Testi.

ES: Enjeksiyon sonrası.

F: Varyans analizi (F testi).

FDA: Besin ve ilaç birliği.

GABA: Gamma bütirik asit.

GFAP: Gilial fibriler asidik protein.

GPx: Glutasyon peroksidaz.

GR: Glutasyon redüktaz.

GSH: Glutasyon.

H&E: Hematoksilen eosin.

KCl: Potasyum klorür.

LD50: Medyan letal doz.

LNA: Büyük nötral aminoasit.

Maks: Maksimum.

MAP-2: Mikrotübül ilişkili protein.

MDA: Malondialdehit.

MIT: Massachusetts teknoloji enstitüsü.

Min: Minimum.

MSG: Monosodyum glutamat.

MSS: Merkezi sinir sistemi.

N: Örnek sayısı.

NAAT: N-asetil aspartil glutamat.

NaCN: Sodyum siyanür.

NBT: Nitroblue tetrazolium.

NMDA: N-metil-D-aspartat reseptörü.

Ort±ss: Ortalama±standart sapma.

p: istatistiksel sonuçlar için önem derecesi.

PBS: Fosfat buffer salin tamponu.

RCF: Rölatif santrifüj kuvveti.

SD (Choice Accuracy): Seçim Doğruluğu.

Sd: Serbestlik derecesi.

Std. H. : Ortalamanın standart hatası.

SDS: Sodyum dodesil sülfat.

SOD: Süper oksit dismutaz.

TBA: Thiobarbitürik asit.

WHO: Dünya sağlık örgütü.

z değeri: Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testinde z değeri.

ÖNSÖZ

Tezimin hazırlanmasında desteklerini esirgemeyen başta tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Eyup BAŞKALE Hocama, Tez İzleme Komitesi üyeleri Sayın Hocalarım Prof. Dr. S. Simin ROTA, Prof. Dr. Yakup KASKA, Prof. Dr. Nagihan YALÇIN, Doç. Dr. Erdoğan KOCAMAZ ve Doç. Dr. Yusuf KATILMIŞ'a teşekkür ederim.

Ayrıca, Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinasyon Birimi'ne tezi gerçekleştirmem için sağladıkları destekten dolayı (2014FBE021) teşekkür ederim.

Bu Çalışma Deney Hayvanları Araştırma Birimi'nin Etik Kurul İzni ile gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, deney hayvanlarının elde edilmesi, bakımı, beslenmesi ve araştırılmalarına hazırlanması konusunda Öğr. Gör. Barbaros ŞAHİN ve Biyolog Yağmur ÖZYILMAZ'a teşekkürlerimi borç bilirim.

Bu tezin hayata geçmesindeki süreçte beni yalnız bırakmayan canım aileme ve sevgili dostlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

1.GİRİŞ

Gelişen teknoloji ile birlikte yapay tatlandırıcıların kullanımı son yıllarda oldukça artmıştır. Bunun en önemli sebepleri arasında; doğal kaynakların giderek tükenmesi, raf ömrü uzun olan ürünlerin ekonomik maliyetleri düşürerek kazancı artırması, yapay ürünlerin hemen hemen her AR-GE laboratuvarında kolaylıkla oluşturularak elde edilmesi sayılabilir.

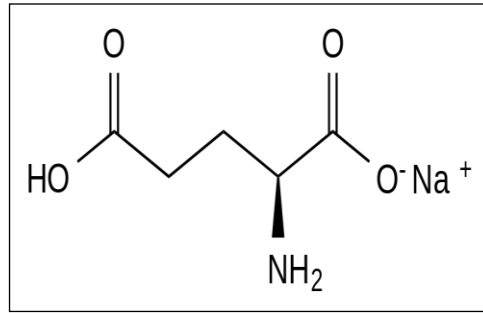
Yapay tatlandırıcıların başlıcaları arasında aspartam (ASP), monosodyum glutamat (MSG), asesülfam potasyum, alitam, siklamat, sakarin, süklaro, sükroz, fruktoz, sorbitol, mannitol, ksilitol bulunmaktadır. Bunların içinde en dikkat çeken ASP ve Çin tuzu olarak bilinen MSG'dir. Bu iki yapay tatlandırıcı ülkemizde sıklıkla kullanılan tatlandırıcılar olarak bilinmektedir. Bahsi geçen bu iki yapay tatlandırıcı ülkemizde, bebek maması, hazır gıda ürünleri (çikolata, cipsler, gazlı içecekler, bisküviler vb.), kozmetik ürünler (el ve vücut kremleri, losyonlar, makyaj ürünleri vb.), sentetik ilaçlar (analjezikler, parasetamol grubu ilaçlar, öksürük şurupları vb.), diyet ürünleri vb. gibi doğal şekerin yerini tutan hemen hemen her üründe kullanılmaktadır. Ancak bu tatlandırıcıların olumlu veya olumsuz etkileri henüz tam olarak açık değildir.

1.1. MSG İle İlgili Genel Bilgiler

MSG ilk kez 1866 yılında Alman kimyager Karl Heinrich Leopold Ritthausen ile tanınmıştır. 1907 yılında, Kikunae Ikeda isimli bilim adamı MSG'yi bileşenlerine ayırmıştır. Bunu takiben MSG gıda sektörüne giriş yaparak doğal olarak bulunan tatlandırıcıların yerini ucuz maliyeti nedeniyle almıştır. 1990'lı yıllarda ise tamamen yapay tatlandırıcı olarak kullanılmaya başlanmıştır. MSG, gıdalara "umami" diye adlandırılan farklı bir tat katmaktadır ve bilimsel açıdan, acı, tatlı, tuzlu ve ekşinin yanında beşinci tat olarak kabul edilmektedir (Niijima ve diğ. 1980). Bir lezzet artırıcı olan MSG, dilde tat alma reseptörlerini stimüle ederek alınan besinin tadını artırır. Böylelikle metabolizmada sık yemek yeme isteğini uyarır. Tatlandırıcı olarak kullanılma

sebeplerinden biri glutamik asitten daha çabuk ve daha iyi çözünmesidir (Bellisle ve diğ. 1991, Chevassus ve diğ. 2002).

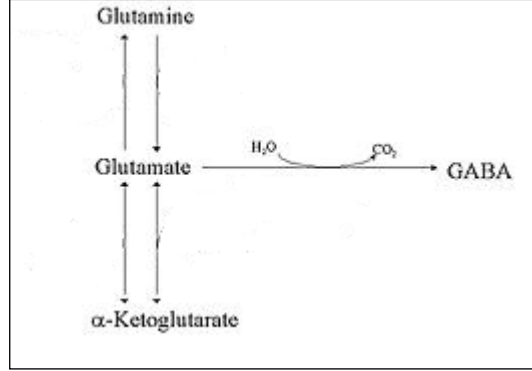
MSG, glutamatın γ karbon atomuna, bir hidrojen atomu yerine bir sodyum atomunun bağlanması ile meydana gelir (Şekil 1.1). MSG de sadece L-formunda aktiftir, D-formunun ise aktivitesi yoktur. Ayrıca ısı sonucu yapısı bozulur ve yapısından bir mol su kaybetmesi sonucu laktan formunu geçer (Şekil 1.1). Maksimum reaksiyon gösterdiği pH aralığı 5,5-8 arasındadır (Rogers ve Blundell 1990).



Şekil 1. 1: Monosodyum glutamatın kimyasal yapısı (Rogers ve Blundell 1990).

Aslında glutamat doğada doğal olarak bulunmaktadır. Birçok gıda maddesinde ve canlı metabolizmasında, protein ve peptidlerin aminoasit içeriği olarak veya serbest halde bulunabilir. Proteine bağlı olarak bulunan glutamat, lezzet verici özelliğe sahip değildir. Sadece lizomer şekli lezzet verici aktiviteye sahiptir. Proteince zengin olan gıdalar yüksek miktarda glutamat (protein ve peptidlerin aminoasit içeriği olarak) içerirken çoğu sebzeler düşük miktarlarda glutamat içermektedir. Bunun yanında glutamatın yapay formu olan MSG ise, vücuda girdiğinde glutamat ve sodyum iyonuna ayrışır. Emilimin büyük kısmı bağırsak lümeninde gerçekleşir. Vücudumuz, doğal glutamat ile tatlandırıcı MSG’de bulunan glutamati ayırt edemediğinden aynı mekanizma ile metabolize eder. Örneğin vücudumuz domatesten bulunan doğal glutamatla domates sosuna eklenmiş MSG arasındaki farkı algılayamaz (Rogers ve Blundell 1990). Gıdalara ilave edilen MSG, proteine bağlı glutamat ile karşılaştırıldığında daha az absorbe edilmektedir. Glutamat absorbe edildikten sonra, sitrik asit siklusu ile metabolize edilmektedir. Serbest veya bağlı glutamat da aynı yolla metabolize olmaktadır.

Beyinde glutamat, glutaminden glutaminaz enzimi ile veya α -ketoglutarattan, glutamat dehidrogenaz ve glutamat oksalat transaminaz enzimleri ile meydana gelir. Glutamatın degradasyonu ile α -ketoglutarat, GABA ve glutamin oluşur (Şekil 1.2).



Şekil 1. 2: Glutamat metabolizması (Newsholme ve diğ. 2003).

MSG, birçok ülkede ve bizim ülkemizde de mevzuatlara uygun bir gıda katkı maddesi olmasına rağmen, gıdalarda kullanım miktarı binde 1-8 arasındadır. On iki haftadan küçük bebekler için hazırlanmış gıdalarda kullanılmaması önerilen bu ürünün yan etkileri hakkındaki tartışmalar halen devam etmektedir (Bhattacharya ve diğ. 2011, Hellen ve diğ. 2013). Besin ve İlaç Birliği-FDA (Food and Drug Administration), MSG'nin düşük dozda alındığında insanlar için güvenli olduğunu bildirmiştir.

FDA aynı zamanda astım, migren, epilepsi gibi bazı hastalıklara duyarlı olan insanlarda MSG'nin yan etkilerinin görülebileceğini vurgulamıştır. MSG metabolizmada "Çin Restoranı Sendromu" olarak tanımlanan etkilere sebep olabilir. MSG'nin aşırı kullanımı bazı insanlarda göğüs ağrısı, baş ağrısı, yüzde kızarıklık, nefes darlığı, ödem, terleme gibi yan etkilere sebep olabilmektedir (Hashem ve diğ. 2012). MSG'nin daha çok ve daha sık yeme isteği uyandırması, insanlarda obezite, diyabet ve Alzheimer gibi birtakım hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olabilmektedir (Madhavadas ve diğ. 2014, Špolcová ve diğ. 2015). MSG'nin ayrıca yapılan hayvan deneylerinde bir takım yapısal, davranışsal bozukluklara yol açtığı ortaya atılmıştır (Kiss ve diğ. 2005). Örneğin 1970 yılında John Olney'in neonatal farelerde oral uygulanan MSG'nin beyin arkuat nukleusta nöronal dejenerasyonuna neden olduğunu ortaya koymuştur (Olney 1970). Yine yapılan bir çalışmada, MSG merkezi endokrin axis bölgesini etkileyerek öğrenme güçlüğüne ve

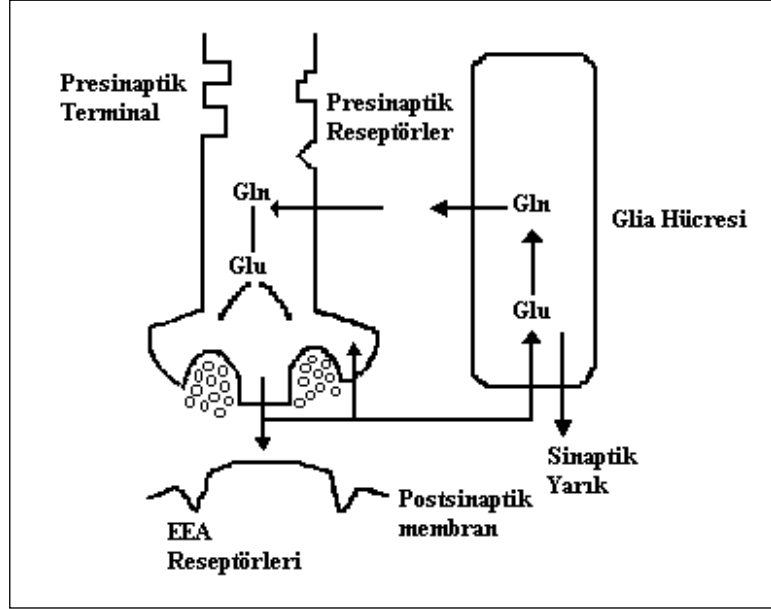
aynı zamanda, obeziteye ve gonadal fonksiyon bozukluğu gibi rahatsızlıklara sebep olduğu gösterilmiştir (Bhattacharya ve diğ. 2011).

1.1.1. Glutamatın Merkezi Sinir Sistemindeki Etkileri

Serebellum duyuşsal algı ve motor verimin (motor output) bütünleşmesinde önemli rol oynayan bir beyin bölgesidir ve istemli hareketlerin kontrolü ve koordinasyonuna katılmaktadır (Standring ve diğ. 2005). İlk kez merkezi sinir sisteminde (MSS) keşfedilen glutamat sinyal sisteminin, kemikler, karaciğer, pankreas ve deri gibi nöronal olmayan dokulardaki fonksiyonları henüz net değildir. Glutamat memeli merkezi sisteminin temel eksitator nörotransmitterlerinden biridir ve glutamat reseptörlerini stimüle ederek patolojik ve fizyolojik süreçlerde önemli bir rol oynar (Ganong 2005, Mattson 2008).

Glutamat ve aspartat gibi aminoasitler, santral sinir sisteminin temel nörotransmitterlerindedir (Gallo ve diğ. 1982). Beyinde çok yüksek konsantrasyonlarda bulunurlar (glutamat 10 mmol/L ve aspartat 4 mmol/L) ve sinir sonlarındaki sinaptik iletimi yönlendirirerek nöron içine iyon geçişini kontrol ederler. Glutamatın, nöronal yaşam, sinaptogenesis, nöronal plastisite, öğrenme ve hafıza üzerinde etkili olduğu saptanmıştır (Beal 1992, Choi 1988, Coyle ve diğ. 1981, Dempsey 1996, Farooqui ve Horrocks 1991, Koek ve diğ. 1988, Nishizawa 2001). Ekstraselüler aminoasitler, sinir iletiminden sorumlu olmalarının yanı sıra, nörotoksisitenin de önemli kaynağıdır. Glutamatın azalması normal eksitasyonun bozulmasına, artması ise kalsiyum dengesini bozarak eksitotoksisiteye ve hücre ölümüne neden olur. Glutamat ve buna benzer aminoasitlerin nöronun gövdesinde, dendridlerde, glialarda akut şişmeye ve sonuç olarak daha yavaş nöronal dejenerasyona yol açtıkları gösterilmiştir (Beal 1992, Choi 1988, Limbrick ve diğ. 2003, Siesjö 1990, Siesjö ve Smith 1991, Siesjö 1992). Normal koşullarda sinaptik aralıktaki glutamat seviyelerini düzenleyen dengeli bir mekanizma mevcuttur. Bu mekanizma, sinir sonlanmasının presinaptik ucundaki reseptörler ve glia hücreleri ile hücre dışı fazla glutamatın sinaptik aralıktan hücre içine geri kazanılmasına dayanmaktadır (Şekil 1.3) (Beal 1992, Choi 1988). Diğer yandan, glutamat kuvvetli ve hızlı etki gösteren bir aminoasit olmasına rağmen glutamatın beyne direkt uygulanması beyinde hasar yaratmamaktadır (Coyle ve diğ. 1981). Ancak metabolik yetersizliğe yol açan veya çok yüksek glutamat salınımına neden olan patolojik durumlar ise nöron

ölümüne neden olmaktadır (Albin ve Greenamyre 1992, Choi 1988, McGeer 1991, Meldrum 1985, Rothman ve Olney 1986, Rothman ve Olney 1987).



Şekil 1. 3: Glutamat salınımı ve geri alınımı (Beal 1992, Choi 1988).

Glutamat, serebellumun majör nörotransmitterlerinden biridir (Gallo ve diğ. 1982). Glutamat aktivasyonunun artışı infant farelerde nörolojik akımın geniş bir sinaptik aralığı etkilemesine katkıda bulunur (Goldsmith 2000). Sıçanlarda ise uzun süreli depresyonun oluşmasını tetikler (Calabresi ve diğ. 1999). Aynı zamanda (Bojanic ve diğ. 2004)'e göre yüksek doz MSG'nin sinir hücrelerinin aşırı uyarılarak hücre hasar görmesine ve hatta ölümüne neden olduğunu açıklamışlardır ve bu da MSG'nin eksitotoksik bir etkisi olduğunu kanıtlar. Diğer yandan, MSG'nin düşük dozları sıçanlarda epileptik atakları tetiklemek için kullanılmış, ölüm oranı ve atak şiddetinin sıçanın yaşı ile doğru orantılı olarak arttığı gözlenmiştir (Arauz-Contreras ve Feria 1984).

1.1.2. Fare ve Sıçanlar Üzerine Çalışmalar

MSG üzerine yapılan ilk araştırmalardan birinde, Bunyan (1976) farelere doğumdan sonraki 1., 2., 3., 6., 7. ve 8. günlerde karın içi, deri altı ve oral yollar ile bir gram vücut ağırlığı başına 3 mg MSG vermiş, deneklerin %16'sının süten kesilerek

öldüğü, hayatta kalanların %90'ının ise fark edilir derecede obez olduğunu bulmuştur. Ayrıca, neonatal farelere düzenli olarak yapılan enjeksiyonların vücut yağlanmasını arttırmada oldukça güvenilir bir yöntem olduğu saptanmıştır (Bunyan ve diğ. 1976).

MSG'nin fare ve sıçanlarda serbest radikallerin oluşmasına, proteazların, fosfolipazların ve endonükleazların aktivasyonuna, apoptotik programların transkripsiyonel aktivasyonuna ve genotoksisiteye yol açtığı kanıtlanmıştır (Farombi ve Onyema 2006, Goldsmith 2000). Ayrıca, metabolizmada glutamat düzeyleri arttığı zaman kalsiyum düzeyleri de artmakta ve serbest radikallerin oluşması ile internal oksidatif stres ve bunun sonucunda mitokondriyel hasar ve apoptozis meydana gelmektedir (Daniels ve Brown 2001, Goldsmith 2000, Jiang ve diğ. 2005).

MSG, farelerde seçici nörodejenerasyona neden olmaktadır (Rogers ve diğ. 1990). Hu ve diğerlerine (1998) göre MSG, hipotalamusta yer alan arkuat çekirdekte ileri seviyede nekroz meydana getirmektedir. Ayrıca MSG, göz hücrelerindeki birçok yapıda hasara neden olabilmektedir (Lakk ve diğ. 2015, Szabadfi ve diğ. 2014). Bu hasar iki aşamada meydana gelmektedir. İlk aşama, ileri derecede hücre hacmi artışı ikinci aşama ise nekroz ve sonuçta hücre kaybının meydana gelmesidir.

Narayanan (2010)'ın yaptığı çalışmada, neonatal dönemde günde vücut ağırlığı başına 4 mg/kg MSG enjekte edilen 8 sıçan deney grubu olarak, 8 sıçan ise kontrol grubu olarak kullanmıştır. Her iki gruba, doğumdan sonrası dördüncü ayda, dokuz gün süren yer öğrenme testi uygulanmıştır. Deney sonuçlarına göre araştırmacı çalışma grubunun uzamsal hafızasının zarar gördüğünü saptamış ve yer öğrenme ile hafıza fonksiyonlarının da MSG'ye bağlı olarak zarar gördüğünü ileri sürmüştür. Aynı çalışmanın içerisindeki diğer bir deneyde ise sıçanlar 4 gruba ayrılmıştır; ilk grup MSG ile beslenmiş, ikinci grup serum fizyolojik su ile beslenmiş, üçüncü grup MSG ve yanında askorbik asit ile beslenmiştir. Dördüncü grup ise sham grubu (herhangi bir müdahale yapılmayan) olarak kullanılmış ve bu sıçanlar Yükseltilmiş Artı Testi-EPM (Elevated Plus Maze)- testine sokulmuştur. Test sonucuna göre MSG ile beslenen sıçanlarda nörodavranışsal parametreler oldukça azalmıştır. MSG ile birlikte askorbik asitle beslenen çalışma grubunda, yer öğrenme ve hatırlama fonksiyonlarındaki bozukluk düzelmiştir. Hatta ilk üç gruptaki denekler, oldukça iyi sonuç vermişlerdir (Narayanan ve diğ. 2010).

Yine bir çalışmada ise vitamin C, vitamin E ve quercetin'in sıçanların karaciğerinde, böbreklerinde ve beyinlerinde MSG nedeniyle meydana gelen oksidatif hasar incelenmiştir (Farombi ve Onyema 2006). Sıçanlar üzerine yapılan bu çalışmada, vücut ağırlığı başına 4 mg/g MSG intraperitoneal yolla vücuda verilmiş ve karaciğer, böbrek ve beyinde malondialdehit (MDA) artışına neden olduğu gözlenmiştir. Yine aynı çalışmada, MSG dozu uygulanan sıçanlara, vit. C, vit. E ve quercetin birlikte uygulanmış ve bu uygulama sonucunda daha önce artan MDA oranı düşmüştür. Ayrıca vit. E, karaciğerdeki lipid peroksidasyonunu da düşürmüştür. Birlikte uygulanan vit. C ve quercetin'in ise beyni, membran hasarından korumada etkili olduğu saptanmıştır.

Dubovicky et al. (1996) postnatal 21. ve 65. günlerde neonatal sıçanlara uygulanan MSG'nin davranışsal olarak motor davranışı artırdığını saptamıştır. Ayrıca, neonatal dönemde uygulanan MSG'nin hipokampal CA1 piramidal hücrelerinde spesifik dejenerasyona sebep olduğu ve bu dejenerasyonun öğrenme bozukluğu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Ishikawa 1997). Kiss ve diğerleri (2007) ise postnatal 1., 3., 5., 7., ve 9. günlerde MSG ile muamele edilen sıçanlarda, uygulamadan sonraki 7. günde lokomotor aktivite artışı ve ardından hipoaktivite ve davranış bozuklukları saptamışlardır.

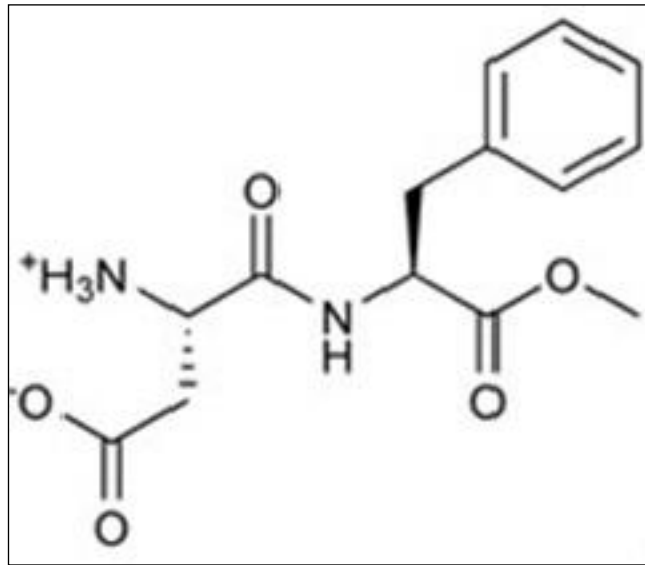
Neonatal sıçanlarda, MSG uygulaması sonucunda, preoptik çekirdekte, arkuat çekirdekte, ventriküler organlarda ve retinada lezyonlar meydana gelmektedir (Lucas ve Newhouse 1957, Olney 1969, Olney ve Ho 1970, Reynolds ve diğ. 1976). Keza birçok çalışma, MSG'nin oral olarak uygulandığı zaman, zararlı olduğunu göstermiştir (Olney ve Ho 1970, Reynolds ve diğ. 1976).

1.2. ASP İle İlgili Genel Bilgiler

ASP, uzun zamandan beri kullanılan bir yapay tatlandırıcıdır. 1965 yılında keşfedildikten sonra 1971 yılında merkezi Amerika'da bulunan FDA'ya güvenilirliği konusunda başvuruda bulunulmuştur. 1981 yılında FDA tarafından kuru gıdalarda, 1983 yılında da karbonatlı alkolsüz içeceklerde kullanımına izin verilmiştir.

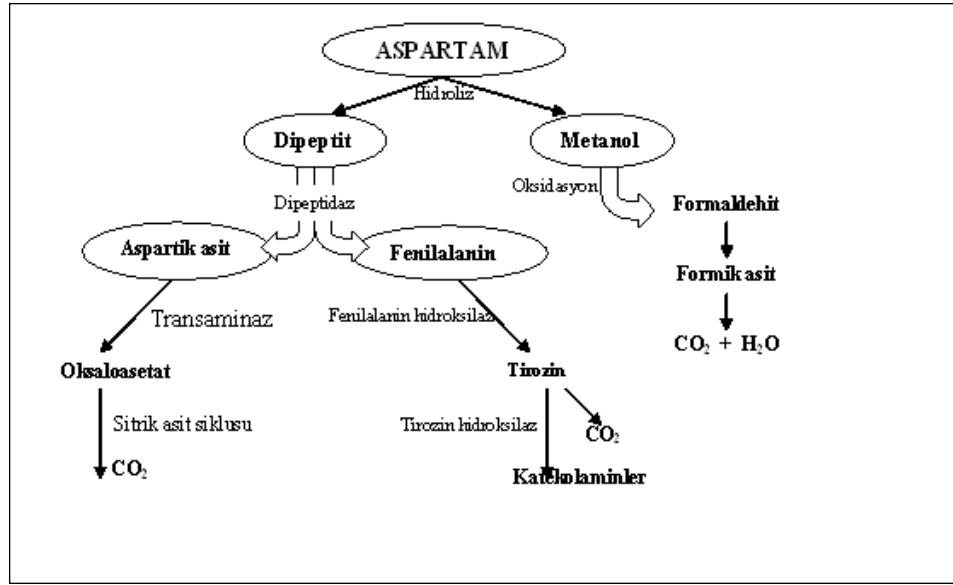
Aspartamın, FDA'ya göre günlük alım miktarı 50 mg/kg iken Dünya Sağlık Örgütüne (World Health Organisation-WHO) göre ise günlük alım miktarı 40 mg/kg'dır. Minimum letal doz kemiricilerde 5000 mg/kg'dan daha fazla olduğu bildirilmiştir (Molinary 1984). Sükrozdan 180-200 kez daha tatlı olması, aspartamı daha popüler hale getirmiştir. ASP'nin sulu ortamlardaki stabilitesinde 3 faktör rol oynar. Bu faktörler süre, sıcaklık ve pH değeridir (Baydar ve Şahin 1997). Örneğin, ASP uzun süre pişirme sırasında tatlılığını kaybederken, sıcaklık yükselmesi ve pH'nın normal sınırlar dışındaki artışı veya azalışı aspartamı, a ASP ve b ASP ile siklo-ASP izomerlerine ve metanole dönüştürür (Baydar ve Şahin 1997). Sonuçta aspartamı oluşturan kimyasallar açığa çıktığı için genel ASP yapısı bozulmaktadır.

ASP aslında kimyasal olarak, fenilalanin (%50), aspartik asit (%40) ve metanolden (%10) oluşmaktadır. Bunlardan fenilalanin ve aspartik asit, vücutta eksitatör aminoasit olarak görev yapmaktadır (Baydar ve Şahin 1997). Normalde bu iki aminoasit metabolizmada serbest halde dolaşmamaktadır. Bu yüzden fizyolojik olarak herhangi bir olumsuz etkisi yoktur. Ancak dışarıdan yapay olarak alımlarında, aynı etki söz konusu değildir. Metanol ise bilindiği üzere bir alkoldür ve vücutta yıkılarak formaldehite dönüşmektedir. Metabolik olarak ASP, L-aspartik asit ve L-fenilalanin olmak üzere iki aminoasitten oluşmuş bir aspartil fenilalanin metil esteridir, kimyasal yapısı Şekil 1. 4'de verilmiştir.



Şekil 1. 4: Aspartamın kimyasal yapısı (Baydar ve Şahin 1997).

ASP, gastrointestinal sistemde hidroliz ile aspartat, fenilalanin ve metanole ayrılır. Aspartil-fenilalanin dipeptidi mukoza hücrelerinde aspartat ve fenilalanin metabolize edilmektedir. Mukoza hücrelerine transportu ile intestinal lümeninde metanole hidroliz olmakta (Butchko ve diğ. 2002) ve oluşan metabolitler sistemik dolaşıma geçerek absorblanmaktadır (Şekil 1. 5).



Şekil 1. 5: Aspartamın barsak lümeninde, mukoza hücrelerinde ve organizmanın diğer kısımlarındaki biyolojik dönüşümü (Baydar ve Şahin 1997).

Bir yapay dipeptit tatlandırıcı olan aspartamın, metabolik bileşenlerinin, nörolojik ve davranış etkileri vardır (Ekong 2009). Literatürde ASP'nin insanlardaki baş ağrısı, epilepsi, panik atak veya felç gibi pek çok hastalığa neden olabileceğini bildiren pek çok çalışma mevcuttur (Abdel-Salam ve diğ. 2012, Collison ve diğ. 2012, Swithers 2013). Ayrıca, ASP'nin bu hastalıklara neden olabileceği FDA tarafından da belirtilmiştir. Aspartamın yapısında bulunan fenilalanin büyük bir nötral aminoasittir ve yüksek dozda uygulandıktan sonra deney hayvanlarında serotonin ve katekolamini inhibe etme özelliği vardır. ASP, canlı sistemlerde pek çok mekanizmaya etki etmektedir. ASP ve nöral fonksiyon arasında potansiyel bir ilişki bulunmuşsa da sadece birkaç çalışma ile sistematik olarak nörodavranışsal fonksiyonu test edebilme imkanı sağlanmıştır. Örneğin, MIT (Massachusetts Institute of Technology)'den Spiers (1998), ASP ve felç olasılığı hakkında çalışmalar geliştirirken, nörodavranışsal, bilişsel ya da nörofizyolojik reaksiyonlar hakkında bir model geliştirmişlerdir. Nörodavranışsal ve nörofizyolojik değişiklikler başka araştırmacılar tarafından da ortaya konmuştur (Humphries ve diğ.

2008, Spiers ve diğ. 1998).

Aspartamın yapısında bulunan fenilalanin nörotransmitter regulasyonunda önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Aynı zamanda aspartik asit de merkezi sinir sisteminde ekstatör nörotransmitter gibi davranmaktadır. Glutamat, asparajin ve glutamin bunların prekürsörlerinden formulanmaktadır. Daha önce yapılan araştırmalarda, fenilalaninin kan-beyin bariyerini geçerek, çok önemli nörotransmitterlerin üretimini değışmesine neden olduğu bildirilmiştir (Ekong 2009). Ayrıca, fenilalaninden başka ASP'nin yapısında bulunan metanolün de hücrel yıkıma sebep olarak sitotoksisite ve körlüğe sebep olabileceğı ortaya konmuştur (Ekong 2009).

1.2.1. Kan Beyin Bariyerinde Aspartamın Etkisi

Kan beyin bariyerinin tehlikesi, kan beyin bariyeri üzerinden eksitotoksinlerin (aspartam) geçişinin gerçekleşmesidir. Geçiş gerçekleştiğinde, serebrospinal sıvı çeşitli ters reaksiyonlara sebep olabilir. Bunlar arasında; sinirlerin, eksitotoksinlerin varlığı neticesinde aşırı yangıyı stimüle etmesi, dengesiz uyarım, tekrarlanmış yangı, azalan intraselüler ATP depoları, artan formaldehit varlığı, intraselüler kalsiyum alım değışimi, hücrel mitokondriyel hasar, hücre duvarının yıkımı, serbest radikallerin salınımı ve nörodejenerasyon sayılabilir (Ekong 2009).

1.2.2. Beyin Kimyası

Yapay tatlandırıcı aspartamın, nöronal etkileri mevcuttur ve insanlar için güvenli kullanım miktarı günlük alımda 50 mg/kg'ı geçmemelidir (Maher ve Wurtmant 1987). Kafein ve ASP vücuda alındığı zaman; beyin, karaciğer, böbrek, pankreas, endokrin bezler ve diğere organların hücre fizyolojisini uyarıcı etkisi ortaya çıkar. ASP, metabolik ürün olarak fenilalanin ve aspartata çevrilir. Her ikisi de beyinde direkt stimülatör etkiye sahiptir. Kafein ve aspartamın beyindeki aktivitelerinin toplam etkisi test edilerek, dengeli bir fizyoloji oluşturacak olan ölçüler 300 mg olarak belirlenmiştir (Maher ve Wurtmant 1987).

Tirozin, triptofan gibi aminoasitler aspartamın büyük miktarda alımından sonra NAAT (n-asetil aspartil glutamat) pozisyonu üzerinden yarışmalı (kompetetiv) olarak alınmaktadır. Bu şekilde alım, beyin kimyasında oldukça önemlidir. Örneğin, vücuda alınan aspartamın, kan-beyin bariyerinde fenilalaninine dönüşmesi ve bu fenilalaninin, tirozin ve triptofan prekürsörlerinin yerine geçerek dopamin ve serotonin gibi önemli nörotransmitterlerin üretilmesinde değişikliklere sebep olduğu belirlenmiştir (Humphries ve diğ. 2008). Bununla birlikte, fenilalaninin, tirozin prekürsörlerinin yerine geçmesi ile birlikte tirozin düzeyleri azalmakta ve beyinde dopaminin konsantrasyonunun düşmesine neden olmaktadır. Dopamin seviyesinin azalması da Parkinson gibi nörolojik hastalıkları tetiklemektedir (Humphries ve diğ. 2008). Triptofan ise serotonin üretiminde, önemli bir prekürsördür. Kan-beyin bariyerinde fenilalaninin, triptofan prekürsörlerinin yerine geçmesi, triptofan düzeylerini azaltmakta ve bu da beyinde serotoninin azalmasına neden olmaktadır. Sonuçta azalan serotonin seviyesi ile depresyon insidansı artmaktadır (Humphries ve diğ. 2008). Yapılan bir çalışmada, aspartik asitin eksitatör bir aminoasit olduğu belirtilmiştir (Vences-Mejia ve diğ. 2006). Eksitatör aminoasit olarak ASP, beyinde metabolize olan bazı enzimlerin artışına yol açar. Bu enzimlerden biri sitokrom P450'dir. Sitokrom P450, androjeninin östrojene aromatisasyonunda önemli rol oynar. Aynı zamanda sitokrom P450, katekol formasyonu ve diğer nörotransmitterlerin metabolizmasında da görev almaktadır (Vences-Mejia ve diğ. 2006).

Birçok nörotransmitter, bir ya da birkaç aminoasitin ikincil ürünleridir fakat, aspartat tek bir aminoasitin iki parçasından biridir ve beyinde bir etkiye neden olması için ikinci bir ürüne dönüşmesine gerek yoktur. Çünkü belli sinir hücrelerinde, aspartat ve glutamatı algılayan, reseptörler mevcuttur. Bu reseptörler, vücut fizyolojisini önemli oranda etkilemektedir.

Aspartamın insanda majör biyokimyasal etkisi, kanda ve muhtemelen beyinde fenilalanin düzeylerini yükseltmekte iken kemirgenlerde ana etkisi beyinde ve kanda tirozin düzeylerini yükseltmektir. Tirozin genellikle beyinde fenilalaninin etkisine antidottur. Dopaminerjik nigrostriatal hücrelerde, belli nörotransmitterlerin artışı bazı enzimleri de etkilemektedir. Örneğin fenilalaninin artışı, tirozin hidrosilaz gibi enzimleri inhibe eder ve sonuçta nörotransmitter sentezine ihtiyaç duyulur (Maher ve Wurtmant

1987). Nöronlarda fenilalaninin artışı ayrıca, beyin katekolaminlerinin ve serotoninin üretimini azaltır ve bu bölgedeki prekürsör aminoasitler kan-beyin bariyerine karşı geçiş için birbirleri ile yarışır. Bundan dolayı, fizyolojik işlemler bu transmitterlerin etkilenmesinin yeterli miktarının sürekli salınmasına bağlıdır (Maher ve Wurtmant 1987).

1.2.3. Fare ve Sıçanlar Üzerine Çalışmalar

Aspartamin ve metabolik bileşenlerinin güvenilirliği, laboratuvar hayvanlarında, insanların tüketebileceğinden çok daha yüksek dozlar kullanılarak kapsamlı toksikolojik araştırmalar ile değerlendirilmiştir. Örneğin, oral LD50 (medyan letal doz) değerinin tespiti için fare ve sıçanlarda yapılan akut toksisite çalışmalarında aspartamin toksik olmadığı bulunmuştur (Janssen ve Heijden 1988, Klingberg ve diğ. 1996). Ancak, sıçan ve farelerde 10 g/kg dozunda yapılan subkronik toksisite çalışmalarında ise sadece kemiricilerde kilo kaybına neden olduğu bildirilmiştir (Klingberg ve diğ. 1996). Diğer yandan, ASP kullanımıyla karaciğerde fenilalanin hidroksilaz enzim aktivitesinde de önemli artış görülmüştür (Janssen ve Heijden 1988, Klingberg ve diğ. 1996). Ayrıca, yapılan bir çalışmada 25 adet, 7 haftalık *Wistar* erkek sıçana, 250 mg/kg ile 1000 mg/kg arasında değişen ASP uygulanmış ve sonuçta uzun süreli ASP uygulamasının karaciğerde hepatik dokuda toksikolojik etkilerinin görüldüğü saptanmıştır (Alkafafy ve diğ. 2015).

Farelerde aspartamin, beyinde oksidatif stres parametreleri ve monoaminlere olan etkisi, Morris su labirenti testi kullanılarak incelenmiştir (Abdel-Salam ve diğ. 2012). Bu çalışmaya göre, ASP yüksek dozda uygulandığı zaman, Morris su labirenti testinde kaçış platformunu bulma süresi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde artmıştır. Ayrıca, ASP uygulamasından sonra beyin dokusunda oksidatif parametrelerden olan malondialdehit (MDA) düzeyinde anlamlı artış (%16,5), redükte glutatyon (GSH) düzeyinde ise anlamlı bir azalma (%25,1) görülmüştür.

Diğer bir çalışma ise, uzun süreli ASP kullanımının sıçan beyinde antioksidan savunma durumu üzerinde değişikliklere yol açtığını göstermiştir (Abhilash ve diğ. 2013). Bu çalışmaya göre, rastgele 3 gruba ayrılan sıçanlara kilogram başına 500 mg/kg

ve 1000 mg/kg ASP verilmiş, kontrol grubuna ise 3 ml distile su verilmiştir. Ardından beyinde GSH aktivitesi ölçülmüş ve GSH düzeyinin her iki doz uygulanan ASP dozu için önemli derecede azaldığı görülmüştür. Ayrıca histopatolojik olarak, 1000 mg/kg ASP uygulanan sıçanlarda beyinde hafif damar tıkanıklığı saptanmıştır. Bu sonuçlar doğrultusunda, uzun süreli ASP kullanımının sıçan beyinde glutasyon bağımlı sistem üzerinden antioksidan/pro-oksidan düzeyini dengesizleştirdiği belirlenmiştir (Abhilash ve diğ. 2013).

Aspartamın uzun süreli kullanımının, hayvan modellerinde karaciğerde antioksidan sistem ve hepatoselüler yaralanma üzerine olan etkisi ile alakalı bir çalışmada, ALT (alanin aminotransferaz), AST (aspartat aminotransferaz), ALP (alkalin fosfataz) düzeylerinin önemli oranda arttığı, GSH, GPx (glutasyon peroksidaz) ve GR (glutasyon redüktaz) düzeylerinin ise sıçan karaciğerinde önemli derecede azaldığı belirlenmiştir (Abhilash ve diğ. 2013). Histopatolojik olarak, uzun süreli ASP kullanımında, hepatoselüler yaralanma ve karaciğer antioksidan düzeylerinde değişikliklere yol açtığı görülmüştür (Abhilash ve diğ. 2013).

Aspartamın içerdiği aspartat ve fenilalanin aminoasitlerinin nörolojik sisteme ve davranış üzerine etkileri yapılan çalışmalara rağmen halen tartışmalıdır. Deney hayvanlarında yüksek dozlarda ASP ve glutamat aminoasitlerinin, beyinde nöronal hasara neden olduğu gösterilmiştir (Klingberg ve diğ. 1996). ASP için şimdiye kadar bildirilen en önemli toksik etkisi yüksek konsantrasyonlarda, hipotalamusta nöronal nekroz oluşturmaktır. Farelerde hipotalamik lezyonları oluşturan ASP ve glutamat kombinasyonunun plazma düzeyi eşik değeri 50-70mmol/100 ml olarak bildirilmiştir (Klingberg ve diğ. 1996). Farelerde, tek doz uygulanan ASP ve glutamatın, hayvanların %30'unda hipotalamusta hücre ölümüne neden olduğu, ayrıca tek başına glutamatın da hayvanların %17'sinde hipotalamik nekroza yol açtığı görülmüştür (Klingberg ve diğ. 1996). Ancak, ASP plazma konsantrasyonu 100 mmol/100 ml'den daha düşük olduğunda, yeni doğan farelerde hipotalamik neonatal nekroz görülmemiştir (Butchko ve diğ. 2002). Primatlarda ise, tek doz 2 g/kg ASP uygulanması ve yine aynı dozda ASP ile 1 g/kg glutamatın birlikte uygulamasının ardından yapılan histopatolojik incelemeler sonucu, hipotalamusta nöronal nekroz saptanmamıştır (Reynolds ve diğ. 1980).

Deney hayvanlarına yüksek dozlarda uygulanan aspartamın, nörotransmitterlerin salınımına veya reseptör kinetiklerine etkisinin olmadığı görülmüştür. Ayrıca aspartamın beyinde, glutamat, GABA (gama-aminobütirik asit) konsantrasyonlarını veya glutamat reseptörü olan N-metil-D-aspartat reseptörüne (NMDA) bağlanmayı etkilemediği bildirilmiştir (Butchko ve diğ. 2002). Fenilalanin ve tirozin gibi LNAA'ların (büyük nötral aminoasit) kan-beyin engelini geçişleri, ortak bir taşıyıcıyla gerçekleşmektedir. Bu gruptaki çeşitli aminoasitler bu ortak taşıyıcıyla transport için kendi aralarında yarışmaktadırlar. Aspartamdan elde edilen fenilalanin ve tirozinin yüksek plazma düzeyleri, triptofan ve dallanmış zincirli aminoasitler valin, lösin ve izolösin gibi ortak taşıyıcı için yarışan aminoasitlerin kan beyin engelinden geçişlerini inhibe ederler. Bu durum merkezi sinir sisteminde (MSS) bu aminoasitlerin eksikliğiyle sonuçlanabilir (Klingberg ve diğ. 1996, La Buda ve Hale 2000). Bu nedenle, ASP kullanımının beyinde aminoasitlerin konsantrasyonlarını değiştirme ve MSS'nin fonksiyonlarını etkileme olasılığı vardır. Bu hipotezler deney hayvanlarında test edilmiş ve görülen bu değişimlerin ASP kullanılmasının ardından bildirilen nörolojik şikayetler ile bağlantılı olabileceği düşünülmüştür (Klingberg ve diğ. 1996). Glukoz ve aspartamın kombine kullanımının MSS'nde fenilalaninin dramatik yükselişine neden olduğu sıçanlarda gösterilmiştir (Abdel-Salam ve diğ. 2012).

ASP tüketiminin beyinde fenilalanin düzeyini arttırmasına bağlı olarak katekolaminlerin veya serotonin sentezlerini etkileyebileceği ve kimyasal maddelerle indüklenen epileptik tutarıklara neden olabileceği bildirilmiştir (Rowan ve diğ. 1995). Ancak bu bulgular, birçok araştırma sonucu ile de uyumlu değildir. ASP verilen yeni doğan sıçanlarda, uygulamadan 218 gün sonra epileptik tutarıklar bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmaların sonucunda, ortalama günlük ASP alımının 10 katından yüksek dozlarda aspartamın epilepside elektroensefalogram (EEG) sonuçlarına etkisi olmadığı, nöbet hassasiyetini etkilemediği ve prokonvülsan olmadığı bildirilmiştir (Butchko ve diğ. 2002).

1.3. Amaç

Bu çalışmada, günümüzde ticari olarak gıdalarda oldukça yaygın şekilde kullanılan iki önemli yapay tatlandırıcı olan ASP ve MSG'nin deneysel model sistemi kullanılarak sıçan ve fare üzerindeki etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda;

- ASP ve MSG, canlılarda embriyonal gelişim sırasında teratojenik özelliğe sahip olmamasına rağmen, embriyonal gelişim sonrasında nörolojik ve davranış özellikleri açısından değerlendirilmesi gereken bir kimyasaldır. Bu nedenle farklı dozlarda uygulanan ASP ve MSG'nin sıçan ve farelerde açık alan testi ve 8 kollu ışınsal labirent testi ile, nörolojik ve davranış özellikleri belirlenmesi,
- Farklı dozlarda uygulanan ASP ve MSG' nin fare ve sıçan beynindeki toksik etkilerinin araştırılması için malondialdehit (MDA), redükte glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD) düzeylerinin belirlenmesi,
- ELISA yöntemi ile fare ve sıçanların beyin dokusundan glutamat, GABA, katekolaminler ve dopamin düzeylerine bakılarak bu önemli nörotransmitterlerin varlığının ASP ve MSG uygulamasından sonraki anlamlılığının belirlenmesi,
- ASP ve MSG'nin histolojik ve immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak fare ve sıçanların beyin hipokampus bölgesindeki histopatolojik değişikliklerin incelenmesi amaçlanmıştır.

Sonuç olarak, ASP ve MSG'nin fare ve sıçanlar üzerindeki davranışsal, biyokimyasal ve histopatolojik etkilerinin bir bütün olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. YÖNTEM

2.1. Fare ve Sıçanların Elde Edilmesi ve Genel İşlemler

Pamukkale Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Araştırma Merkezi (DEHAM)'nden elde edilen 54 adet erkek *Balb-c* fare ve 54 adet erkek *Wistar* sıçan çalışma kapsamına alınmıştır. Hayvanlar, laktasyondan sonra annelerinden ayrılarak çalışmanın yürütüleceği araştırma laboratuvarına getirilmiştir. Araştırma laboratuvarında oda sıcaklığı $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de sabit tutulmuş ve hayvanların gece-gündüz periyoduna uygun şekilde besin ihtiyaçları karşılanmıştır. Hayvanlar laboratuvara getirildikten 24 saat sonra açık alan testine alınmıştır. Açık alan testini takip eden gün (24 saat sonra), 8 kollu ışınal labirent testi için eğitimin ilk günü başlatılmıştır. Hayvanlara 8 kollu ışınal labirent testi öncesi ağırlıklarının %85'inden aşağı inmeyecek şekilde besin kısıtlaması yapılmıştır. Ardından, biyokimyasal ve histopatolojik araştırmalar yapılmıştır. Deneyin planlanmasına ait ayrıntılar ilgili bölümlerde verilmektedir.

2.2. Deneysel Grupları

Çalışmamızda, deneysel grubu olarak seçilen omurgalı hayvanlar sıçan ve fare olarak seçilmiştir. Deneysel grubunun planlanması şu şekildedir:

1. Sıçanlar için: (Kontrol grubu, ASP grubu, MSG grubu).
2. Fareler için: (Kontrol grubu, ASP grubu, MSG grubu).

2.2.1. Fare ve Sıçan Deneysel Grupları

1. KONTROL GRUBU

Neonatal dönemdeki hayvanlara; davranış testi eğitimlerinden sonra 1., 3., 5., 7., 9., 11., 13. ve 15. günlerde serum fizyolojik uygulanmıştır. Serum fizyolojik dozu, çalışma grubuna uygulanacak ASP ve MSG dozları ile aynı dozda olacak şekilde ayarlanmıştır. Enjeksiyonlar, intraperitoneal olarak uygulanmıştır.

2. ASPARTAM GRUBU

Neonatal dönemdeki hayvanlara; davranış testi eğitimlerinden sonra 1., 3., 5., 7., 9., 11., 13. ve 15. günlerde intraperitoneal olarak ASP uygulanmıştır. Uygulanan ASP dozları şu şekildedir:

1. grup: 50 mg/kg 6 adet.
2. grup: 100 mg/kg 6 adet.
3. grup: 200 mg/kg 6 adet.
4. grup: 2500 mg/kg 6 adet.

3. MSG GRUBU

Neonatal dönemdeki hayvanlara; davranış testi eğitimlerinden sonra 1., 3., 5., 7., 9., 11., 13. ve 15. günlerde intraperitoneal olarak MSG uygulanmıştır. Uygulanan MSG dozları şu şekildedir:

1. grup: 50 mg/kg 6 adet.
2. grup: 100 mg/kg 6 adet.
3. grup: 200 mg/kg 6 adet.
4. grup: 2500 mg/kg 6 adet.

2.3. Enjeksiyon Yöntemi

Enjeksiyonlar (kontrol için serum fizyolojik, ASP ve MSG için 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg) fare ve sıçanlar için intraperitoneal olarak yapılmıştır. MSG ve ASP dozlarından sadece 2500 mg/kg dozu, hayvanların içme sularına karıştırılmıştır. Hayvan deney gruplarında MSG ve ASP için doz enjeksiyonları; 1. grup: 50 mg/kg, 2. grup: 100 mg/kg, 3. grup: 200 mg/kg, 4. grup: 2500 mg/kg şeklinde uygulanmıştır.

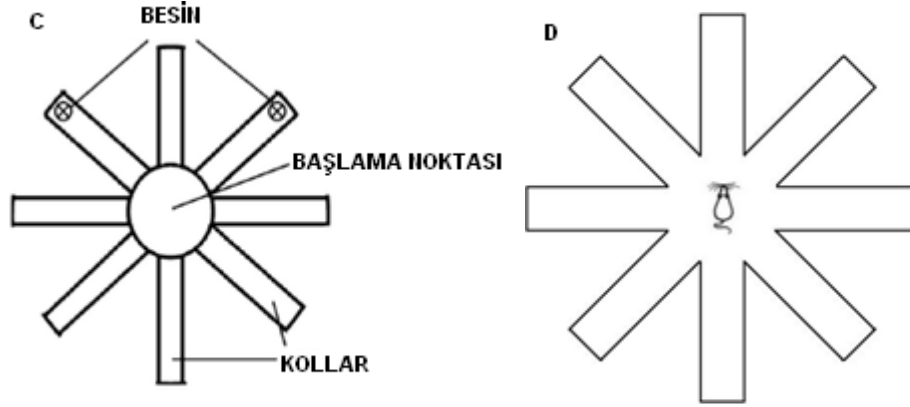
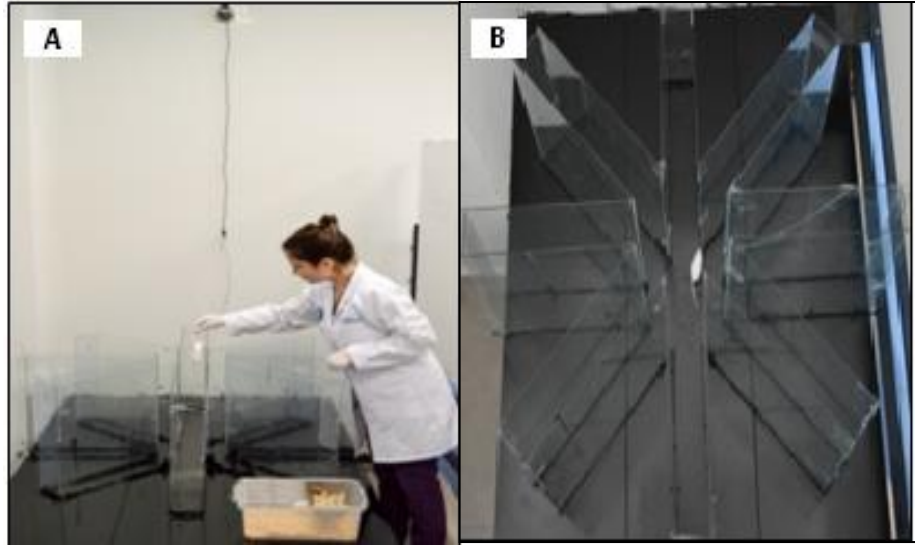
2.4. Fare ve Sıçanlarda Öğrenme ve Bellek Deneyleri

Fare ve sıçanlarda öğrenme ve bellek deneyleri olarak 8 kollu ışınsal labirent testi uygulanmıştır.

2.4.1. Sekiz Kollu Işınsal Labirent Testi Özellikleri

Fare ve sıçanların öğrenme ve bellek fonksiyonlarını test etmek amacı ile 8 kollu ışınsal labirent testi uygulanmıştır. Labirent 8 adet ışınsal koldan oluşmaktadır. Kolların her biri 50 cm uzunluğunda, 10 cm genişliğindedir. Her bir kolun etrafı cam malzeme ile kapatılmıştır. Orta kısımda tüm kollara geçişi sağlayan merkezi bir alan oluşturulmuştur. Hayvanlar bu merkezi alandan bırakılarak teste tabi tutulmuşlardır. 8 kollu ışınsal labirent, yerden 80 cm yüksekliktedir ve 3 adet ayağı bulunmaktadır. Labirentin bulunduğu oda beyaz boyalıdır (Şekil 2.1).

Labirentin etrafına, hayvanların yön bulmalarına yardımcı olmak amacı ile görseller (renkli posterler) yerleştirilmiştir. Deney sessiz bir ortamda gerçekleştirilmiştir. Labirent üstten 3 adet ışık kaynağı ile aydınlatılmıştır. Her bir kolun distal ucuna besin ödülü yerleştirilmiştir. Deney sırasında, hayvanlar besini yedikten sonra tekrar besin yerleştirilmemiş ve deney bitiminde her bir kol alkol ile temizlenmiştir. Kolların alkol ile temizlenmesinin sebebi deneye tabi tutulan hayvanın bir önceki hayvanın dışkı ve idrarından etkilenmemesi ve yiyeceğin kokusunu daha rahat alabilmesidir. Labirentte öğrenme, besin arama güdüsü ile sağlandığı için, hayvanlar teste başlamadan önce normal kilolarının %85'inden aşağı inmeyecek şekilde besin kısıtlamasına tabi tutulmuştur. Deney, 14 gün boyunca her bir hayvan için günde 3 deneme olacak şekilde tasarlanmıştır.



Şekil 2 1: 8 Kollu ışnsal labirent testi, A: Deney prosedürünün yapılışı, B: Deney hayvanının labirentte gezinme durumu, C-D: Labirentin şematik gösterimi.

2.4.1.1. Sekiz Kollu Işnsal Labirent Testi için Eğitim

Sekiz kollu ışnsal labirent testi için gerekli enjeksiyonlar başlamadan önce hayvanların eğitimleri yapılmıştır. Eğitimler, 3 günlük ön alıştırma ve ardından 14 günlük eğitim şeklinde bir programdan oluşmaktadır. Eğitimin toplam süresi 10 dakika olarak belirlenmiştir. Hayvanlar her denemede 10 dakika dolmadan 8 kola girdiğinde eğitim sonlandırılmıştır. Eğitimlerin ardından enjeksiyonları gerçekleştirilen hayvanlara enjeksiyon sonrası da 1., 7., 14., 21. ve 28. günlerde de 8 kollu ışnsal labirent testi yaptırılmıştır (Şekil 2.1).

2.4.1.2. Sekiz Kollu Işınsal Labirent Testinin Uygulanması

Laktasyondan sonra çalışma kapsamına alınan hayvanlar, 12 adet kontrol (MSG için 6 kontrol, ASP için 6 kontrol), 48 adet MSG doz enjeksiyonu uygulanan grup ve 48 adet ASP doz enjeksiyonu uygulanan grup olacak şekilde gruplara ayrılmıştır. 3 günlük ön alıştırma ve ardından 14 günlük eğitim testi aşamasından sonra her bir grup için belirlenen MSG ve ASP dozları uygulanmıştır. Uygulanan MSG ve ASP dozu toplam 8 günlük (0. gün, 1. gün, 7. gün, 14. gün, 21. gün ve 28. gün) bir doz uygulamasından oluşmaktadır. MSG ve ASP dozları uygulanmadan önce her bir hayvanın ağırlıkları tartılmıştır. Ardından, eğitim ile benzer şekilde 14 gün boyunca günde 3 sefer olacak şekilde sekiz kollu ışınsal labirent testi uygulanmıştır Işınsal kollu labirent ölçümleri dikkate alınarak 2 türlü hesaplama yapılmıştır:

1. *Seçim Doğruluğu:* Hayvanın 10 dakika boyunca, doğru giriş yapılarına kadar girilen kol sayısını ifade etmektedir. Her bir kola besin konur ve hayvanın hatasız davranarak her kola bir kez girerek besini bulması beklenir. Seçim Doğruluğu için maksimum süre 10 dakikadır. Hayvanın 10 dakika süresince 7 kola birer kez girip 8. kola girmemesi 1 hata sayısı şeklinde skorlanmıştır. Aynı zamanda 10 dakika boyunca hayvanın hiçbir kola girmemesi 8 hata sayısı skoru olarak değerlendirilmiştir. Örneğin, birinci kola besini koyduğumuz zaman hayvan ikinci kola 1 defa, üçüncü kola 2 defa, altıncı kola 2 defa, yedinci kola 1 defa girip, geri kalan 1., 4., 5. ve de 8. kola girmemesi durumunda, hayvanın girmediği kollar da dahil olmak üzere toplamda hata sayısı, 6 olarak skorlanmıştır. Bu skor, hayvanın 2 defa aynı kola iki kez girmesi (3. ve 6. kol; $1+1=2$ hata skoru), 4 kola ise hiç girmemesi (1., 4., 5., 8. Kol; $1+1+1+1=4$ hata skoru) sonucunda belirlenmiştir.

2. *Cevap Gecikmesi:* Labirentte geçirilen Toplam süre/Toplam girilen kol sayısını ifade etmektedir.

- *Labirentte geçirilen toplam süre tanımı:*

a) Hayvanın, sekiz kolun hepsine 10 dakikadan daha az sürede girdiyse, tüm kollara girmek için geçirdiği süre saniye olarak alınmıştır.

b) Hayvan, 10 dakika dolduğu halde tüm kollara girmemişse deney sonlandırılmıştır. Bu durumda toplam süre 10 dakika (600 sn) olarak alınmıştır. MSG ve ASP dozu uygulandıktan sonra hayvanlara 1., 7., 14., 21. ve 28. günlerde davranış testi yapılmıştır.

Örneğin, hayvan 10 dakika süresinde toplam 6 kola girmiş ise cevap gecikmesi; $600/6=100$ olarak belirlenmiştir. Öte yandan, sekiz kolun hepsine toplam 480 saniyede giren hayvanın cevap gecikmesi; $480/8= 60$ olarak belirlenmiştir. Üçüncü bir örnek olarak, hayvan toplam 8 kolu hatalı girişler de dahil olmak üzere toplamda 20 giriş sayısı ile tamamlamış ve tüm girişleri 400 saniye sonlandırmış ise, cevap gecikmesi, $400/20=20$ olarak belirlenmiştir.

2.5. Fare ve Sıçanlarda Lokomotor Aktivite Deneyleri

Fare ve sıçanlarda lokomotor aktivite ve anksiyete testleri için, açık alan testi uygulanmıştır.

2.5.1. Açık Alan Testi

Fare ve sıçanların lokomotor aktivite fonksiyonlarını test etmek amacı ile aktivitemetre testi yapılmıştır. Bir floresan lamba ile aydınlatılan aktivitemetre, siyah zeminden oluşmakta olup 45×45 cm²'lik kare üstü açık bir alandır. Bu alan 50 cm yüksekliğinde mdf ile çevrilmiştir. Deneye başlarken her bir hayvanın platformun orta noktasından deney alanına bırakılmıştır. Deney esnasında her bir hayvanın 3 dakika boyunca aktiviteleri gözlenmiştir. 3 dakikalık gözlem periyodunda, *gezinerek geçirilen süre* (hayvanın kare alanda gezindiği süre), *doğrulma sıklığı* (hayvanın 2 ayağı üstünde durarak yaptığı doğrulma), *temizlenme süresi* (hayvanın öz bakımını yaptığı süre)

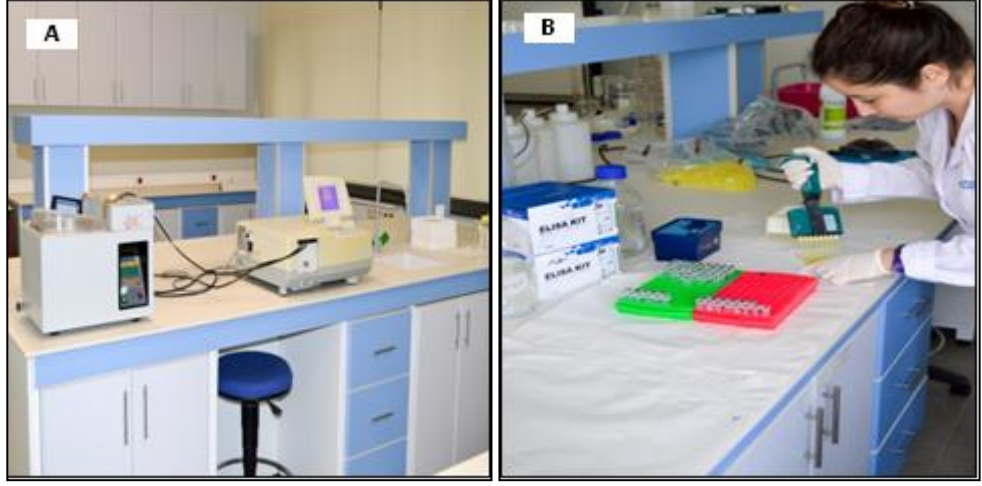
kaydedilmiştir. Fare ve sıçanlar için aktivitemetre ile ilgili kayıtlar, enjeksiyon öncesi ve enjeksiyon sonrası alınmıştır (Şekil 2.2).



Şekil 2 2: Açık alan testi, deney hayvanının açık alanda gezinme durumu.

2.6. Fare ve Sıçanlarda Biyokimyasal Deneyler

Çalışma grubundaki fare ve sıçanlar dekapite edildikten sonra beyinleri ve karaciğerleri çıkarılarak $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır. Derin dondurucudan alınan örnekler çalışma yapılacağı zaman, doku homojenizasyonuna kadar geçen sürede buz aküsünün üzerinde muhafaza edilmiş ve sonra doku homojenizasyonu yapılmıştır. Doku homojenizasyonu, 100 mg doku için $1\times$ PBS ile homojenizatör (WTW, Germany) kullanılarak yapılmıştır. Dopamin, glutamat, GABA ve katekolamin düzeyleri ELISA (Enzim Bağımlı İmmünosorbent Yöntemi, Cusabio, China) yöntemi ile çalışılmıştır (Şekil 2.3).



Şekil 2 3: ELISA yöntemi uygulanişı A: ELISA cihazı, B: ELISA yönteminin yapılışı.

2.6.1. Dopamin Konsantrasyonu

Beynin serebrum bölgesi için dopamin konsantrasyonlarının belirlenmesinde, *Cusabio Sıçan Dopamine ELISA Kit* kullanılmıştır. 100 mg doku için 1×PBS ile homojenizasyon yapılmıştır. Homojenizasyonun ardından dokular bir gece (overnight) - 20 °C’de saklanmıştır. Ertesi gün 2-8 °C’de 5000 RCF’de 5 dakika santrifügasyon yapılmıştır. 100 µl süpernatant çalışmada kullanılmıştır. 2 saat 37 °C’de inkübe edilen standart, kontrol ve örnekler 1 saat 37 °C’de biotin antibody ile inkübe edilmiştir. Wash buffer ile yıkama yapıldıktan sonra, 1 saat 37 °C’de HRP avidin ile inkübe edilmiştir. TMB substrat ile 37 °C’de 15-30 dakika inkübasyon sağlandıktan sonra stop solusyon ile reaksiyon durdurulmuş ve 450 nm’de Rayto RT-2100C Microplate Reader ELISA cihazı ile kolorimetrik olarak konsantrasyonları belirlenmiştir.

2.6.2. Glutamat Konsantrasyonu

Beynin serebellum bölgesi için glutamat konsantrasyonlarının belirlenmesinde, *BioVision Glutamate Colorimetric Assay Kit* kullanılmıştır. Dokular, 1×10^6 hücre için 100 µl assay buffer kullanılacak şekilde homojenize edilmiştir. 13.000 RCF’de 10 dakika santrifüj edilen dokuların süpernatant kısmı (50 µl) çalışmada kullanılmıştır. Reaksiyon

karişımı 90 µl assay buffer, 8 µl glutamat developer, 2 µl enzim karişımı olacak şekilde belirlenmiştir. Kontrol karişımına ise enzim karişımı konmamıştır. Kontrol, standartlar ve örnekler için hazırlanan reaksiyon karişımı 37 °C’de 30 dakika inkübe edildikten sonra 450 nm’de Rayto RT-2100C Microplate Reader ELISA cihazı ile kolorimetrik olarak konsantrasyonları belirlenmiştir.

2.6.3. GABA Konsantrasyonu

Beynin serebrum bölgesi için GABA konsantrasyonlarının belirlenmesinde *Cusabio Sıçan Gamma-aminobutyric acid (GABA) ELISA Kit* kullanılmıştır. 100 mg doku için 1×PBS ile homojenizasyon yapılmıştır. Homojenizasyonun ardından dokular bir gece (overnight) -20 °C’de saklanmıştır. Ertesi gün 2-8 °C’de 5000 RCF’de 5 dakika santrifügasyon yapılmıştır. ELISA testi için santrifügasyonu tamamlanan dokunun süpernatant kısmı (50 µl) çalışmaya dahil edilmiştir. Standart ve örneklere HRP konjugat eklenerek 37 °C’de 40 dakika inkübe edilmiştir. Wash buffer ile yıkama yapıldıktan sonra, TMB substrat ile 37 °C’de 20 dakika inkübasyon sağlanmıştır. Stop solusyon ile reaksiyon durdurulmuş ve 450 nm’de Rayto RT-2100C Microplate Reader ELISA cihazı ile kolorimetrik olarak konsantrasyonları belirlenmiştir.

2.6.4. Katekolamin Konsantrasyonu

Beynin serebrum bölgesi için katekolamin konsantrasyonlarının belirlenmesinde, *Cusabio Sıçan Catecholamine (CA) ELISA Kit* kullanılmıştır. 100 mg doku için 1×PBS ile homojenizasyon yapılmıştır. Homojenizasyonun ardından dokular bir gece (overnight) -20 °C’de saklanmıştır. Ertesi gün 2-8 °C’de 5000 RCF’de 5 dakika santrifügasyon yapılmıştır. ELISA testi için santrifügasyonu tamamlanan dokunun süpernatant kısmı (100µl) çalışmaya dahil edilmiştir. 2 saat 37 °C’de inkübe edilen standart, kontrol ve örnekler 1 saat 37 °C’de Biotin antibody ile inkübe edilmiştir. Wash buffer ile yıkama yapıldıktan sonra, 1 saat 37 °C’de HRP avidin ile inkübe edilmiştir. TMB substrat ile 37 °C’de 15-30 dakika inkübasyon sağlandıktan sonra stop solusyon ile reaksiyon durdurulmuş ve 450 nm’de Rayto RT-2100C Microplate Reader ELISA cihazı ile kolorimetrik olarak konsantrasyonları belirlenmiştir.

2.6.5. SOD Konsantrasyonu

Karaciğer dokusundan SOD konsantrasyonunun belirlenmesinde, homojenizasyon işleminde 1 gram doku için 10 ml fosfat tamponu kullanılmıştır. 0,02 M fosfat tamponu pH: 7,8 olacak şekilde ayarlanmıştır. Riboflavin solüsyonu, NBT ve EDTA+NaCN hazırlanmıştır. Bu tampon içerisinde karaciğer dokusu homojenize edildikten sonra, sırasıyla EDTA+NaCN, NBT ve riboflavin solüsyonları eklenmiştir. Standart, kör ve örnekler, santirfüj edilmeden 15 dakika floresan ışık altında bekletilmiştir. 560 nm'de örnek ve standartların köre karşı Shimadzu UV-1601 cihazı ile spektrofotometrik olarak absorbansları ölçülmüştür.

2.6.6. GSH Konsantrasyonu

Karaciğer dokusundan GSH konsantrasyonunun belirlenmesinde, KCI tamponu içerisinde 1 gram dokuya 10 ml tampon kullanılacak şekilde homojenizasyon yapılmıştır. Protein çöktürme solüsyonu, DTNB solüsyonu 0,3 M'lık fosfat tamponu, 0,15 N'lik KCI tamponu hazırlanmıştır. Standart, kör ve örneklerin protein çöktürmesi yapıldıktan sonra, 1000 RCF'de 10 dakika santrifügasyon yapılmıştır. DTNB ile renklendirme aşamasından sonra, örnek ve standartların köre karşı Shimadzu UV-1601 cihazı ile spektrofotometrik olarak absorbansları ölçülmüştür.

2.6.7. MDA Konsantrasyonu

Karaciğer dokusundan MDA konsantrasyonunun belirlenmesinde KCI tamponu içerisinde 1 gram dokuya 10 ml. tampon kullanılacak şekilde homojenizasyon yapılmıştır. SDS, asetat tamponu, thiobarbitürik asit (TBA), 0,15 N KCI solüsyonu hazırlanmıştır. Standart, kör ve örnekler 1 saat kaynar suda bekletilmiştir. Reaksiyonun gerçekleştiği, kaynar suda bekleyen tüplerin renk değiştirmesinden anlaşılmıştır. Ardından, tüpler 4000 RCF'de 10 dakika santirfüj edilmiştir. Standart, kör ve örneklerin

süpernatant kısımları (1,5 µl) ayrılarak 532 nm’de köre karşı Shimadzu UV-1601 cihazı ile spektrofotometrik olarak absorbansları ölçülmüştür.

2.7. Fare ve Sıçanlarda Histopatolojik Değerlendirme

Deney ve kontrol grubundaki sıçan ve farelerin beyin dokularındaki farklılıkları histopatolojik yöntemlerle görmek amacıyla, histokimyasal ve immünohistokimyasal boyalar (Hematoksilen&Eosin- H&E boyama ve immünohistokimyasal boyalar MAP-2: Mikrotübül ilişkili protein-2, GFAP: Glial fibriler asidik protein) kullanılarak değerlendirmeler yapılmıştır. Doku değerlendirmelerinde, genel olarak hücresel nekroz, nöronal tabakada incelleme ve reaktif gliosis varlığı belirlenmeye çalışılmıştır. Histopatolojik değerlendirmeler, her bir hayvanın beyin dokusundan H&E boyası için 2 lam, GFAP ve MAP-2 immünohistolojik boyamaları için ise 1'er lam olacak şekilde alınan kesitler değerlendirilmiştir.

2.7.1. Hematoksilen & Eosin (H&E) Boyama

- 1. Deparafinizasyon:** Beyin doku kesitleri, 65 °C’de 25 dakika bekletilir (parafini eritmek için). 2 farklı ksilende 10’ar dakika bekletilir.
- 2. Dehidrasyon:** Deparafinize edilmiş beyin dokuları sırasıyla Absolut alkol 5 dakika, % 95’lik alkolde 5 dakika, % 80’lik alkolde 10 dakika ve % 70’lik alkolde 10 dakika süreyle geçirilmiştir.
- 3.** Dokular, çeşme suyunda 2 dakika yıkanır.
- 4. Hematoksilen aşaması:** Beyin dokuları hematoksilene alınıp 4 dakika boyunca tutulmuştur.
- 5.** Hematoksilenden çıkarılan dokular çeşme suyunda 2 dakika boyunca yıkanmıştır.
- 6. Asit alkol aşaması:** Yıkanan dokular asit alkole daldırılıp 10 saniye soluk mavi renk alana kadar tutulur.
- 7.** Dokular, çeşme suyunda 1,5 dakika yıkanır.
- 8.** Dokular, amonyaklı suda 5 saniye bekletilir.

9. Dokular, çeşme suyunda 1,5 dakika yıkanır.

10. **Eozin aşaması:** Yıkamaya tabi tutulan dokular eozine daldırılıp 1 dakika boyunca tutulmuştur.

11. Dokular, çeşme suyunda 30 saniye yıkanır.

12. **Çıkış alkolü aşaması:** Dehidrasyonda olduğu gibidir ancak alkollerin sırası terstir. Dokulardaki fazla eozini uzaklaştırmak için sırasıyla % 70, % 80, % 95 ve absolut alkolden geçirilir. İlk 3 alkole dokular daldırılıp çıkarılırken absolut alkolde 10 dakika tutulmuştur.

13. **Çıkış ksilen aşaması:** Dokular çıkış alkolünden alınır. Birkaç dakika dışarıda kurumaya bırakılır ve eşit miktarda karıştırılmış alkol-ksilen solüsyonunda 1 dakika bekletilir.

14. 1. Ksilende 5 dakika, 2. Ksilende 20 dakika bekletilir ve kapatılır.

15. **Yapıştırma:** Çıkış ksilenindeki dokular yapıştırma ksilenine alınmıştır. Burada teker teker çıkarılıp sentetik reçine (Entellan) ile yapıştırılıp kurumaya bırakılmıştır.

Kesitler 5 mikronluk olacak şekilde, tam otomatik A550 rotary mikrotom cihazı ile alınmıştır. Histolojik skorlama 0-3 arasında yapılmıştır. Buna göre H&E histolojik boyanma açısından skorlama aşağıdaki şekilde yapılmıştır:

H&E histolojik skorlama:

Skor 0= Normal görünüm.

Skor 1= Normal nöronlar içinde birkaç dejenere nöron.

Skor 2= Dağınık normal nöronlar içerisinde orta sayıda dejenere nöron.

Skor 3= Dağınık normal nöronlar içerisinde çok sayıda dejenere nöron.

2.7.2. GFAP (Gial Fibriler Asidik Protein) ve MAP-2 (Mikrotübül İlişkili Protein) İmmunohistokimyasal Boyamalar

GFAP ve MAP-2 boyanacak poly-L-lizinli pozitif yüklü lamlara alınan doku örnekleri avitin-biotin peroksidaz tekniği kullanılarak boyanmıştır. Bir gece etüvde

deparafinizasyon için 50 °C'de bekletilen kesitler, ksilende berraklaştırılıp, alkol içerisinde rehidrate edilmiştir. Antijeni açığa çıkarmak için, 10 mM sitratlı tampon (pH: 6) içerisinde mikrodalga fırında 400 watta 20 dakika ısıtılmıştır. Aynı tampon içerisinde 30 dakika oda ısısında soğumaya bırakılmıştır. Dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için kesitlere % 3'lük hidrojen peroksit çözeltisi damlatılıp 15 dakika bekletilmiştir. Daha sonra kesitlerin immünohistokimyasal olarak boyanması ile tüm boyama basamaklarını sabit ısı ve koşullarda gerçekleştiren tam otomatik immünohistokimya cihazında (VENTANA, Benchmark/I.T., Ventana Medical Systems, USA) gerçekleştirilmiştir. Otomatik boyama yapılan kesitlere primer antikor olarak GFAP monoklonal antikor (Roche, Klon adı EP672Y, kullanıma hazır, dilüsyon 1/100), MAP-2 monoklonal antikor (Roche, Klon adı AP20, kullanıma hazır, dilüsyon 1/100) kullanılarak hedeflenen proteinler görünür hale getirilmiştir. Antikorlar ile inkübasyon süreleri 2 saat olarak uygulanmıştır. Sonra sırasıyla % 70'lik alkolde 2 dakika, % 80'lik alkolde 2 dakika, % 95'lik alkolde 2 dakika ve absölu alkolde 2 dakika bekletilmiştir. Oda sıcaklığında kuruduktan sonra ksilolde, 15 dakika bekletilen kesitler entellan ile kapatılmıştır.

İmmünohistokimyasal boyanma değerlendirilirken her olguda her bir antikor için kesitin tamamı ışık mikroskobunun (Olympus BX51) ×4, ×10, ×20, ×40 büyütmesinde incelenmiştir. Boyanmanın en yoğun olduğu alanlarda mikroskobun ×40 büyütmesinde, nöronlardaki nekroz dikkate alınarak her bir antikor için uygun skorlama yapılmıştır. İmmünohistolojik skorlama 0-3 arasında yapılmıştır. Buna göre GFAP ve MAP-2 ekspresyonları açısından skorlamalar aşağıdaki şekilde yapılmıştır.

GFAP immünohistokimyasal boyasında skorlama:

Skor 0= Normal görünüm.

Skor 1= Reaktif gliozis hafif artmış.

Skor 2= Reaktif gliozis orta düzeyde artmış.

Skor 3= Reaktif gliozis şiddetli düzeyde artmış.

MAP-2 immünohistokimyasal boyasında skorlama:

Skor 0= Normal görünüm.

Skor 1= Normale göre hafif azalmış, nöronal tabakada incelme yok.

Skor 2= Normale göre orta düzeyde azalmış, nöronal tabakada incelme mevcut.

Skor 3= Normale göre belirgin azalmış, nöronal tabakada incelme mevcut.

2.8. İstatistiksel Değerlendirmeler

İstatistiksel verilerin değerlendirilmesinde, SPSS 21.0 software kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler, ortalama±standart sapma, ortanca (minimum-maksimum değerler) olarak ifade edilmiştir. 8 kollu ışınsal labirent testi, açık alan testi, biyokimyasal parametreler ve histopatolojik verilerin hesaplanmasında gruplar arası karşılaştırmada, one way ANOVA Testi ve Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Açık alan testinde, ek olarak Wilcoxon Eşleştirilmiş İki Örnek Testi kullanılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Fare ve Sıçanlarda Öğrenme ve Bellek Bulguları

Fare ve sıçanlarda öğrenme ve bellek testi kapsamında, toplam 54 fare ve 54 sıçan olmak üzere 108 hayvanda 8 kollu ışınsal labirent testi uygulanmıştır. Sekiz Kollu Işınsal Labirent Testi kapsamında fare ve sıçanlara uygulanan ASP ve MSG dozları kapsamında **hata sayısı** ve **cevap gecikme süreleri** kaydedilmiş ve elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri yapılmıştır.

3.1.1. ASP dozları uygulanan Sıçanlarda öğrenme ve bellek sonuçları

Hata Sayısı değerleri: Sıçanlarda ASP dozları için uygulanan 8 kollu ışınsal labirent testinde **hata sayısı** değerlerine bakıldığı zaman, enjeksiyon öncesi ve 1. gün uygulamaları arasında istatistiksel bakımdan anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$ Tablo 3.1). Ancak, 7. gün, 14. gün, 21. gün ve 28. günde ASP dozları arasında istatistiksel bakımdan önemli farklar bulunmuştur ($p<0,05$ Tablo 3.1). İstatistiksel bakımdan önemli fark bulunan ASP dozları Mann Whitney U testine tabi tutulmuş ve istatistiksel bakımdan önemli farkın tespit edildiği uygulama günlerindeki bu farkın, hangi dozlar arasında olduğu tespit edilmiştir. İstatistiksel bakımdan önemli farkın tespit edildiği uygulama günlerindeki kontrol grubu ve doz grupları arasındaki istatistiksel karşılaştırmalar Tablo 3.2’de verilmiştir. Sıçanlarda uygulanan ASP dozları için istatistiksel bakımdan fark elde edilen hata sayısı değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3. 1: Sıçanlarda ASP dozları için uygulanan 8 kollu ışımsal labirent testinde Hata Sayısı değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.

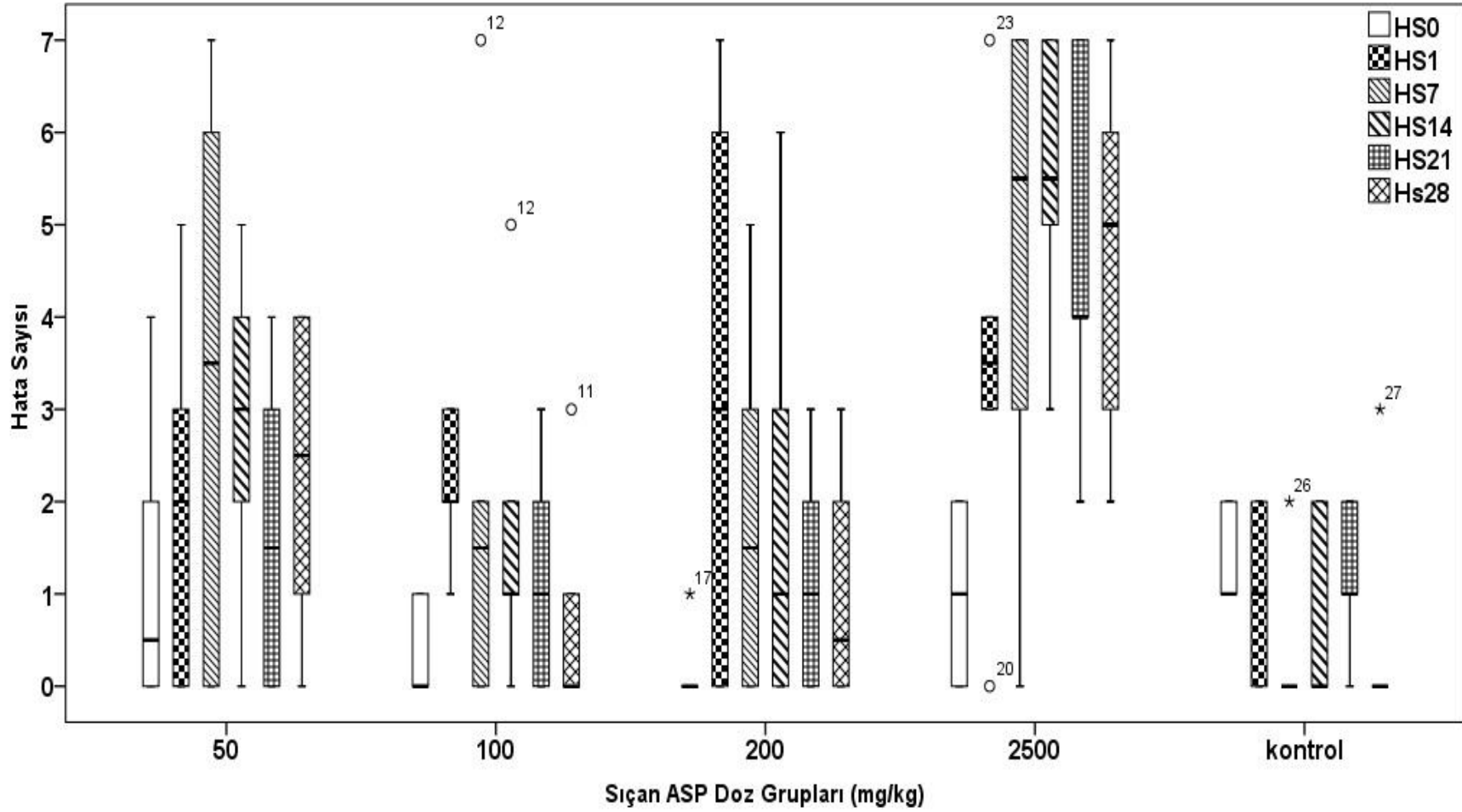
SIÇAN ASP		N	Min	Maks	Ort	Std. H.	Sd	F	Önem
0.gün	Kontrol	6	1	2	1,33	0,211	4	1,988	0,127
	50	6	0	4	1,17	0,654			
	100	6	0	1	0,33	0,211			
	200	6	0	1	0,17	0,167			
	2500	6	0	2	1,00	0,365			
1.gün	Kontrol	6	0	2	1,00	0,447	4	1,531	0,224
	50	6	0	5	2,00	0,775			
	100	6	1	3	2,17	0,307			
	200	6	0	7	3,17	1,222			
	2500	6	0	7	3,50	0,922			
7.gün	Kontrol	6	0	2	0,33	0,333	4	2,948	0,040*
	50	6	0	7	3,33	1,202			
	100	6	0	7	2,00	1,065			
	200	6	0	5	1,83	0,792			
	2500	6	0	7	4,67	1,116			
14.gün	Kontrol	6	0	2	0,67	0,422	4	6,558	0,001**
	50	6	0	5	2,83	0,749			
	100	6	0	5	1,67	0,715			
	200	6	0	6	1,83	0,980			
	2500	6	3	7	5,50	0,619			
21.gün	Kontrol	6	0	2	1,17	0,307	4	6,816	0,001**
	50	6	0	4	1,67	0,667			
	100	6	0	3	1,17	0,543			
	200	6	0	3	1,17	0,477			
	2500	6	2	7	4,67	0,803			
28.gün	Kontrol	6	0	3	0,50	0,500	4	8,183	0,000**
	50	6	0	4	2,33	0,667			
	100	6	0	3	0,67	0,494			
	200	6	0	3	1,00	0,516			
	2500	6	2	7	4,67	0,803			

*p<0,05 **p<0,001

Tablo 3. 2: Sıçanlarda ASP dozları için uygulanan 8 kollu ışınsal labirent testinde Hata Sayısı değerlerine ait Mann-Whitney U testi sonuçları.

Günler	Grup		Mann-Whitney U	p	Günler	Grup		Mann-Whitney U	p
7.gün	Kontrol	50	7,00	0,093	21.gün	Kontrol	50	15,50	0,699
	Kontrol	100	9,00	0,180		Kontrol	100	17,50	0,937
	Kontrol	200	8,50	0,132		Kontrol	200	17,00	0,937
	Kontrol	2500	3,50	0,015*		Kontrol	2500	1,00	0,004*
	50	100	13,50	0,485		50	100	14,50	0,589
	50	200	12,50	0,394		50	200	15,00	0,699
	50	2500	13,00	0,485		50	2500	4,00	0,026*
	100	200	17,50	0,937		100	200	17,50	0,937
	100	2500	9,00	0,180		100	2500	2,00	0,009*
	200	2500	7,00	0,093		200	2500	1,50	0,004*
14.gün	Kontrol	50	6,00	0,065	28.gün	Kontrol	50	6,00	0,065
	Kontrol	100	11,00	0,310		Kontrol	100	15,50	0,699
	Kontrol	200	13,00	0,485		Kontrol	200	13,00	0,485
	Kontrol	2500	0,00	0,002*		Kontrol	2500	1,50	0,004*
	50	100	11,00	0,310		50	100	7,00	0,093
	50	200	12,50	0,394		50	200	9,00	0,180
	50	2500	4,00	0,026*		50	2500	7,00	0,093
	100	200	17,00	0,937		100	200	15,00	0,699
	100	2500	2,00	0,009*		100	2500	1,50	0,004*
	200	2500	4,00	0,026*		200	2500	2,00	0,009*

*p<0,05



Şekil 3. 1: Sıçanlarda uygulanan ASP dozları için elde edilen hata sayısı değerlerinin grafiksel gösterimi. HS0: hata sayısı 0. gün, HS1: hata sayısı 1. gün, HS7: hata sayısı 7. gün, HS14: hata sayısı 14. gün, HS21: hata sayısı 21. gün, HS28: hata sayısı 28. gün.

Cevap Gecikmesi Değerleri: Sıçanlarda ASP dozları için uygulanan 8 kollu ışımsal labirent testinde **cevap gecikmesi** değerlerine bakıldığı zaman, ASP'nin uygulandığı tüm günlerde istatistiksel bakımdan önemli farklar bulunmuştur (Tablo 3.3). İstatistiksel bakımdan önemli fark bulunan ASP dozları Mann Whitney U testine tabi tutulmuş ve istatistiksel bakımdan önemli farkın tespit edildiği uygulama günlerindeki bu farkın hangi dozlar arasında olduğu tespit edilmiştir. İstatistiksel bakımdan önemli farkın tespit edildiği uygulama günlerindeki kontrol grubu ve doz grupları arasındaki istatistiksel karşılaştırmalar Tablo 3.4'de verilmiştir. Sıçanlarda uygulanan ASP dozları için istatistiksel bakımdan fark elde edilen cevap gecikmesi değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3. 3: Sıçanlarda ASP dozları için uygulanan 8 kollu ışınsal labirent testinde Cevap Gecikmesi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.

SIÇAN ASP	N	Min	Maks	Ort	Std. H.	Sd	F	Önem	
0.gün	Kontrol	6	12	30	19,33	2,512	4	8,267	0,000**
	50	6	16	43	31,50	3,914			
	100	6	12	36	21,83	3,745			
	200	6	10	23	16,83	2,301			
	2500	6	5	13	8,33	1,256			
1.gün	Kontrol	6	13	29	19,17	2,496	4	13,691	0,000**
	50	6	30	75	47,00	7,367			
	100	6	19	75	47,83	9,079			
	200	6	14	31	23,00	2,620			
	2500	6	50	110	84,33	9,871			
7.gün	Kontrol	6	10	51	21,17	6,600	4	12,017	0,000**
	50	6	12	67	31,33	8,102			
	100	6	18	39	28,83	2,937			
	200	6	5	16	10,83	1,641			
	2500	6	40	100	72,83	10,597			
14.gün	Kontrol	6	11	28	16,33	2,418	4	19,379	0,000**
	50	6	14	56	31,67	6,381			
	100	6	31	49	39,00	2,840			
	200	6	8	17	12,00	1,291			
	2500	6	40	100	68,83	8,673			
21.gün	Kontrol	6	14	41	20,50	4,185	4	21,542	0,000**
	50	6	11	36	18,00	3,812			
	100	6	27	68	43,00	6,377			
	200	6	9	32	16,33	3,313			
	2500	6	60	100	70,33	6,412			
28.gün	Kontrol	6	6	18	11,67	1,764	4	5,589	0,002*
	50	6	21	47	31,50	3,964			
	100	6	10	67	29,67	9,120			
	200	6	7	16	10,67	1,453			
	2500	6	5	16	9,83	1,579			

*p<0,05 **p<0,001

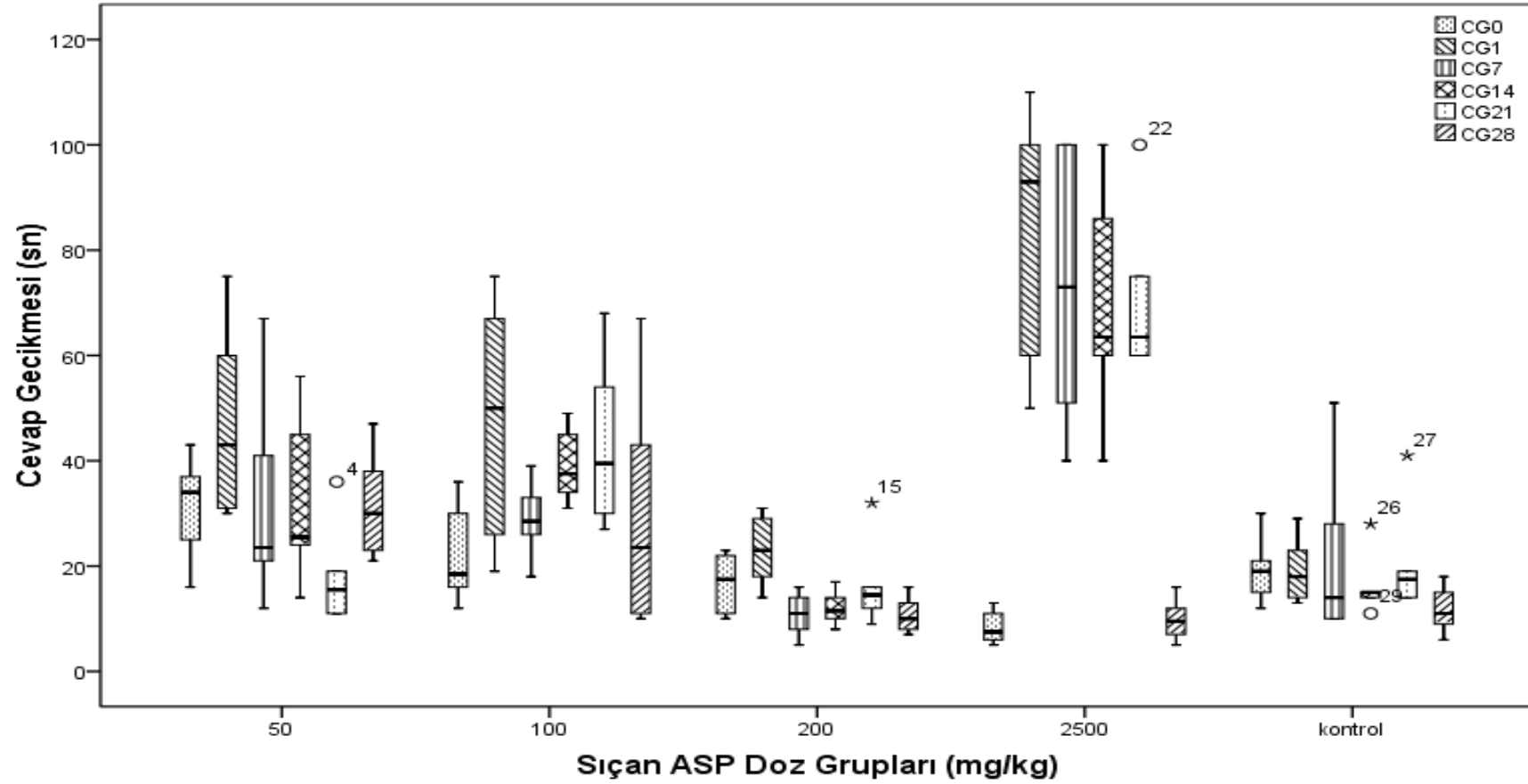
Tablo 3. 4: Sıçanlarda ASP dozları için uygulanan 8 kollu ışınal labirent testinde Cevap Gecikmesi değerlerine ait Mann-Whitney U testi sonuçları.

Günler	Grup		Mann-Whitney U	p	Günler	Grup		Mann-Whitney U	p
0.gün	Kontrol	50	5,00	0,041*	7.gün	Kontrol	50	10,00	0,240
	Kontrol	100	17,00	0,937		Kontrol	100	9,00	0,180
	Kontrol	200	15,50	0,699		Kontrol	200	10,00	0,240
	Kontrol	2500	1,00	0,004*		Kontrol	2500	1,50	0,004*
	50	100	8,50	0,132		50	100	15,00	0,699
	50	200	3,00	0,015*		50	200	2,50	0,009*
	50	2500	0,00	0,002*		50	2500	4,00	0,026*
	100	200	13,00	0,485		100	200	0,00	0,002*
	100	2500	1,00	0,004*		100	2500	0,00	0,002*
	200	2500	3,50	0,015*		200	2500	0,00	0,002*
1.gün	Kontrol	50	0,00	0,002*	14.gün	Kontrol	50	7,50	0,093
	Kontrol	100	4,00	0,026*		Kontrol	100	0,00	0,002*
	Kontrol	200	11,00	0,310		Kontrol	200	8,00	0,132
	Kontrol	2500	0,00	0,002*		Kontrol	2500	0,00	0,002*
	50	100	17,50	0,937		50	100	10,50	0,240
	50	200	1,50	0,004*		50	200	1,50	0,004*
	50	2500	4,00	0,026*		50	2500	2,00	0,009
	100	200	6,00	0,065		100	200	0,00	0,002*
	100	2500	5,00	0,041*		100	2500	2,50	0,009*
	200	2500	0,00	0,002*		200	2500	0,00	0,002*

Tablo 3. 4 (devam): Sıçanlarda ASP dozları için uygulanan 8 kollu ışınsal labirent testinde Cevap Gecikmesi değerlerine ait Mann-Whitney U testi sonuçları.

Günler	Grup		Mann-Whitney U	p	Günler	Grup		Mann-Whitney U	p
21.gün	Kontrol	50	13,50	0,485	28.gün	Kontrol	50	0,00	0,002*
	Kontrol	100	3,00	0,015*		Kontrol	100	7,50	0,093
	Kontrol	200	9,00	0,180		Kontrol	200	15,50	0,699
	Kontrol	2500	0,00	0,002*		Kontrol	2500	13,50	0,485
	50	100	2,50	0,009*		50	100	14,50	0,589
	50	200	16,00	0,818		50	200	0,00	0,002*
	50	2500	0,00	0,002*		50	2500	0,00	0,002*
	100	200	2,00	0,009*		100	200	6,50	0,065
	100	2500	4,00	0,026*		100	2500	5,00	0,041*
	200	2500	0,00	0,002*		200	2500	15,50	0,699

*p<0,05 **p<0,001



Şekil 3. 2: Sıçanlarda uygulanan ASP dozları için elde edilen cevap gecikmesi değerlerinin grafiksel gösterimi. CG0: cevap gecikmesi 0. gün, CG1: cevap gecikmesi 1. gün, CG7: cevap gecikmesi 7. gün, CG14: cevap gecikmesi 14. gün, CG21: cevap gecikmesi 21. gün, CG28: cevap gecikmesi 28. gün.

3.1.2. MSG dozları uygulanan Sıçanlarda öğrenme ve bellek sonuçları

Hata Sayısı değerleri: Sıçanlarda **MSG dozları** için uygulanan 8 kollu ışınsal labirent testinde **Hata Sayısı** değerlerine bakıldığı zaman enjeksiyon öncesi ve sonrasındaki günlerde (1., 7., 14., 21. ve 28. günlerde) hemen hemen aynı hata sayısı gözlenmiştir. Dolayısıyla gruplar kendi aralarında ve günler bakımından karşılaştırıldığında istatistiksel bakımdan önemli bir fark saptanamamıştır ($p>0,05$ Tablo 3.5).

Tablo 3. 5: Sıçanlarda MSG dozları için uygulanan 8 kollu ışımsal labirent testinde Hata Sayısı değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.

SIÇAN MSG		N	Min	Maks	Ort	Std. H.	Sd	F	Önem
0.gün	Kontrol	6	1	2	1,33	0,211	4	0,997	0,427
	50	6	0	2	0,50	0,342			
	100	6	0	2	0,50	0,342			
	200	6	0	2	0,33	0,333			
	2500	6	0	5	1,17	0,792			
1.gün	Kontrol	6	0	2	1,00	0,447	4	0,607	0,661
	50	6	0	4	2,00	0,683			
	100	6	0	6	1,50	0,957			
	200	6	0	7	2,33	1,202			
	2500	6	0	6	2,83	1,078			
7.gün	Kontrol	6	0	2	0,33	0,333	4	1,662	0,190
	50	6	0	1	0,33	0,211			
	100	6	0	3	1,33	0,494			
	200	6	0	3	1,50	0,428			
	2500	6	0	4	1,17	0,601			
14.gün	Kontrol	6	0	2	0,67	0,422	4	1,465	0,243
	50	6	0	2	0,83	0,307			
	100	6	1	4	2,17	0,401			
	200	6	0	6	1,50	0,957			
	2500	6	1	7	2,50	0,922			
21.gün	Kontrol	6	0	2	1,17	0,307	4	1,380	0,269
	50	6	0	5	2,00	0,775			
	100	6	0	3	1,17	0,477			
	200	6	0	3	1,33	0,494			
	2500	6	0	2	0,33	0,333			
28.gün	Kontrol	6	0	3	0,50	0,500	4	2,264	0,091
	50	6	0	4	1,33	0,558			
	100	6	0	3	0,83	0,477			
	200	6	0	4	2,67	0,715			
	2500	6	0	5	2,33	0,803			

Cevap Gecikmesi Değerleri: Sıçanlarda **MSG dozları** için uygulanan 8 kollu ışımsal labirent testinde **cevap gecikmesi** değerlerine bakıldığı zaman, 7. ve 21. gün uygulanan doz grupları arasında istatistiksel bakımdan anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$ Tablo 3.6). Ancak, MSG'nin uygulandığı 0. gün, 14. gün ve 28. günlerde cevap

gecikmesi bakımından doz grupları arasında istatistiksel bakımdan önemli farklılıklar saptanmıştır (Tablo 3.6). İstatistiksel bakımdan önemli fark bulunan MSG dozları Mann Whitney U testine tabi tutulmuş ve istatistiksel bakımdan önemli farkın tespit edildiği uygulama günlerindeki bu farkın hangi dozlar arasında olduğu tespit edilmiştir. İstatistiksel bakımdan önemli farkın tespit edildiği uygulama günlerindeki kontrol grubu ve doz grupları arasındaki istatistiksel karşılaştırmalar Tablo 3.7’de verilmiştir. Sıçanlarda uygulanan MSG dozları için istatistiksel bakımdan fark elde edilen cevap gecikmesi değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.3’de verilmiştir.

Tablo 3. 6: Sıçanlarda MSG dozları için uygulanan 8 kollu ışımsal labirent testinde Cevap Gecikmesi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.

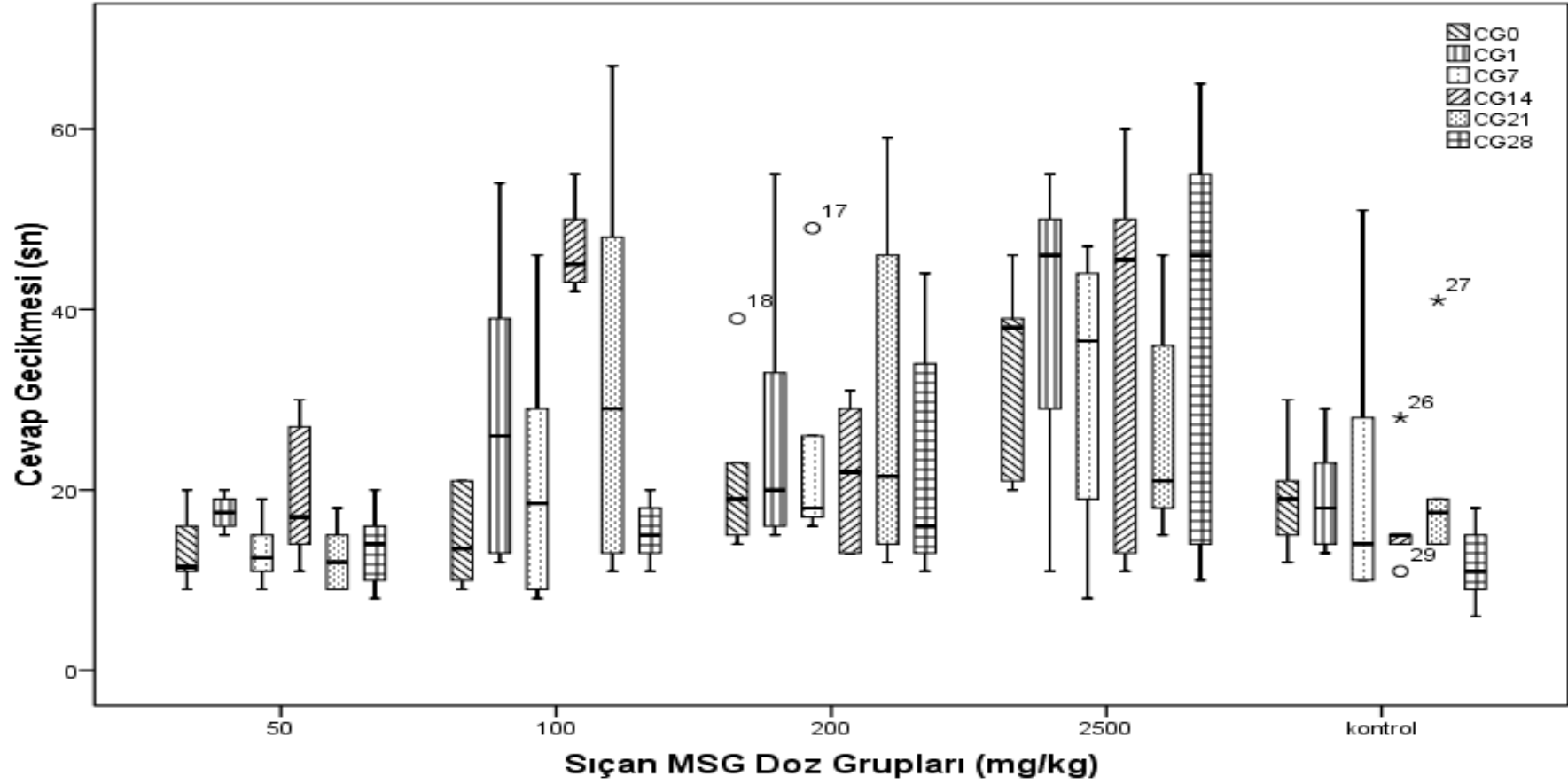
SIÇAN MSG	N	Min	Maks	Ort	Std. H.	Sd	F	Önem	
0.gün	Kontrol	6	12	30	19,33	2,512	4	6,977	0,001**
	50	6	9	20	13,17	1,662			
	100	6	9	21	14,67	2,231			
	200	6	14	39	21,50	3,775			
	2500	6	20	46	33,67	4,349			
1.gün	Kontrol	6	13	29	19,17	2,496	4	2,832	0,046*
	50	6	15	20	17,50	0,764			
	100	6	12	54	28,33	6,627			
	200	6	15	55	26,50	6,276			
	2500	6	11	55	39,50	6,727			
7.gün	Kontrol	6	10	51	21,17	6,600	4	1,544	0,220
	50	6	9	19	13,17	1,424			
	100	6	8	46	21,50	5,812			
	200	6	16	49	24,00	5,209			
	2500	6	8	47	31,83	6,204			
14.gün	Kontrol	6	11	28	16,33	2,418	4	8,555	0,000**
	50	6	11	30	19,33	3,106			
	100	6	42	55	46,67	2,028			
	200	6	13	31	21,67	3,373			
	2500	6	11	60	37,50	8,354			
21.gün	Kontrol	6	14	41	20,50	4,185	4	1,670	0,188
	50	6	9	18	12,50	1,522			
	100	6	11	67	32,83	9,123			
	200	6	12	59	29,00	7,780			
	2500	6	15	46	26,17	5,009			
28.gün	Kontrol	6	6	18	11,67	1,764	4	5,251	0,003*
	50	6	8	20	13,67	1,764			
	100	6	11	20	15,33	1,333			
	200	6	11	44	22,33	5,487			
	2500	6	10	65	39,33	9,120			

*p<0,05 **p<0,001

Tablo 3. 7: Sıçanlarda MSG dozları için uygulanan 8 kollu ışınal labirent testinde Cevap Gecikmesi değerlerine ait Mann-Whitney U testi sonuçları.

Günler	Grup		Mann-Whitney U	p	Günler	Grup		Mann-Whitney U	p
0.gün	Kontrol	50	6.50	0.065	14.gün	Kontrol	50	14.50	0.589
	Kontrol	100	11.00	0.310		Kontrol	100	0.00	0.002*
	Kontrol	200	16.00	0.818		Kontrol	200	12.00	0.394
	Kontrol	2500	3.50	0.015*		Kontrol	2500	10.50	0.240
	50	100	16.00	0.818		50	100	0.00	0.002*
	50	200	5.00	0.041*		50	200	15.50	0.699
	50	2500	0.50	0.002*		50	2500	10.50	0.240
	100	200	9.00	0.180		100	200	0.00	0.002*
	100	2500	3.00	0.015*		100	2500	17.00	0.937
	200	2500	7.50	0.093		200	2500	11.00	0.310
1.gün	Kontrol	50	17.00	0.937	28.gün	Kontrol	50	13.00	0.485
	Kontrol	100	13.50	0.485		Kontrol	100	8.50	0.132
	Kontrol	200	12.50	0.394		Kontrol	200	7.50	0.093
	Kontrol	2500	6.50	0.065		Kontrol	2500	5.50	0.041*
	50	100	12.00	0.394		50	100	14.00	0.589
	50	200	11.00	0.310		50	200	11.00	0.310
	50	2500	6.00	0.065		50	2500	7.50	0.093
	100	200	18.00	1.000		100	200	15.00	0.699
	100	2500	12.00	0.394		100	2500	10.00	0.240
	200	2500	11.50	0.310		200	2500	10.00	0.240

*p<0,05



Şekil 3. 3: Sıçanlarda uygulanan MSG dozları için elde edilen cevap gecikmesi değerlerinin grafiksel gösterimi. CG0: cevap gecikmesi 0. gün, CG1: cevap gecikmesi 1. gün, CG7: cevap gecikmesi 7. gün, CG14: cevap gecikmesi 14. gün, CG21: cevap gecikmesi 21. gün, CG28: cevap gecikmesi 28. gün.

3.1.3. ASP dozları uygulanan Farelerde öğrenme ve bellek sonuçları

Hata Sayısı değerleri: Farelerde ASP dozları için uygulanan 8 kollu ışınsal labirent testinde hata sayısı değerlerine bakıldığı zaman enjeksiyon öncesi ve sonrasındaki günlerde (1., 7., 14. ve 21. günlerde) hemen hemen aynı hata sayısı gözlenmiştir. Dolayısıyla gruplar kendi aralarında ve günler bakımından karşılaştırıldığında istatistiksel bakımdan önemli bir fark saptanamamıştır ($p>0,05$ Tablo 3.8). Ancak, 28. günde ASP dozları arasında istatistiksel bakımdan önemli farklar bulunmuştur ($p<0,05$ Tablo 3.8). İstatistiksel bakımdan önemli fark bulunan ASP dozları Mann Whitney U testine tabi tutulmuş ve istatistiksel bakımdan önemli farkın tespit edildiği uygulama günlerindeki bu farkın, hangi dozlar arasında olduğu tespit edilmiştir. İstatistiksel bakımdan önemli farkın tespit edildiği uygulama günlerindeki kontrol grubu ve doz grupları arasındaki istatistiksel karşılaştırmalar Tablo 3.9’da verilmiştir. Sıçanlarda uygulanan ASP dozları için istatistiksel bakımdan fark elde edilen hata sayısı değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.4’de verilmiştir.

Tablo 3. 8: Farelerde ASP dozları için uygulanan 8 kollu ışınsal labirent testinde Hata Sayısı değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.

FARE ASP		N	Min	Maks	Ort	Std. H.	Sd	F	Önem
0.gün	Kontrol	6	0	5	2,00	0,775	4	0,934	0,460
	50	6	1	7	3,17	1,108			
	100	6	0	6	3,00	0,894			
	200	6	0	7	3,67	1,116			
	2500	6	3	5	4,33	0,333			
1.gün	Kontrol	6	1	3	2,17	0,307	4	1,734	0,174
	50	6	1	7	4,00	1,033			
	100	6	0	7	4,83	1,014			
	200	6	2	7	4,17	0,703			
	2500	6	1	5	3,17	0,601			
7.gün	Kontrol	6	2	5	3,50	0,428	4	0,901	0,478
	50	6	1	6	3,50	0,847			
	100	6	0	5	2,33	0,715			
	200	6	2	7	4,33	0,919			
	2500	6	2	7	3,17	0,792			
14.gün	Kontrol	6	0	5	1,67	0,715	4	2,508	0,067
	50	6	2	7	3,83	0,749			
	100	6	0	7	2,67	1,054			
	200	6	1	6	2,17	0,792			
	2500	6	3	7	4,83	0,703			
21.gün	Kontrol	6	1	6	2,83	0,792	4	1,312	0,293
	50	6	1	7	3,50	0,847			
	100	6	1	7	3,83	1,167			
	200	6	0	5	3,17	0,792			
	2500	6	4	7	5,33	0,494			
28.gün	Kontrol	6	0	3	1,00	0,632	4	3,484	0,022*
	50	6	2	8	4,33	0,843			
	100	6	2	6	3,67	0,760			
	200	6	0	7	4,50	0,992			
	2500	6	2	7	4,67	0,803			

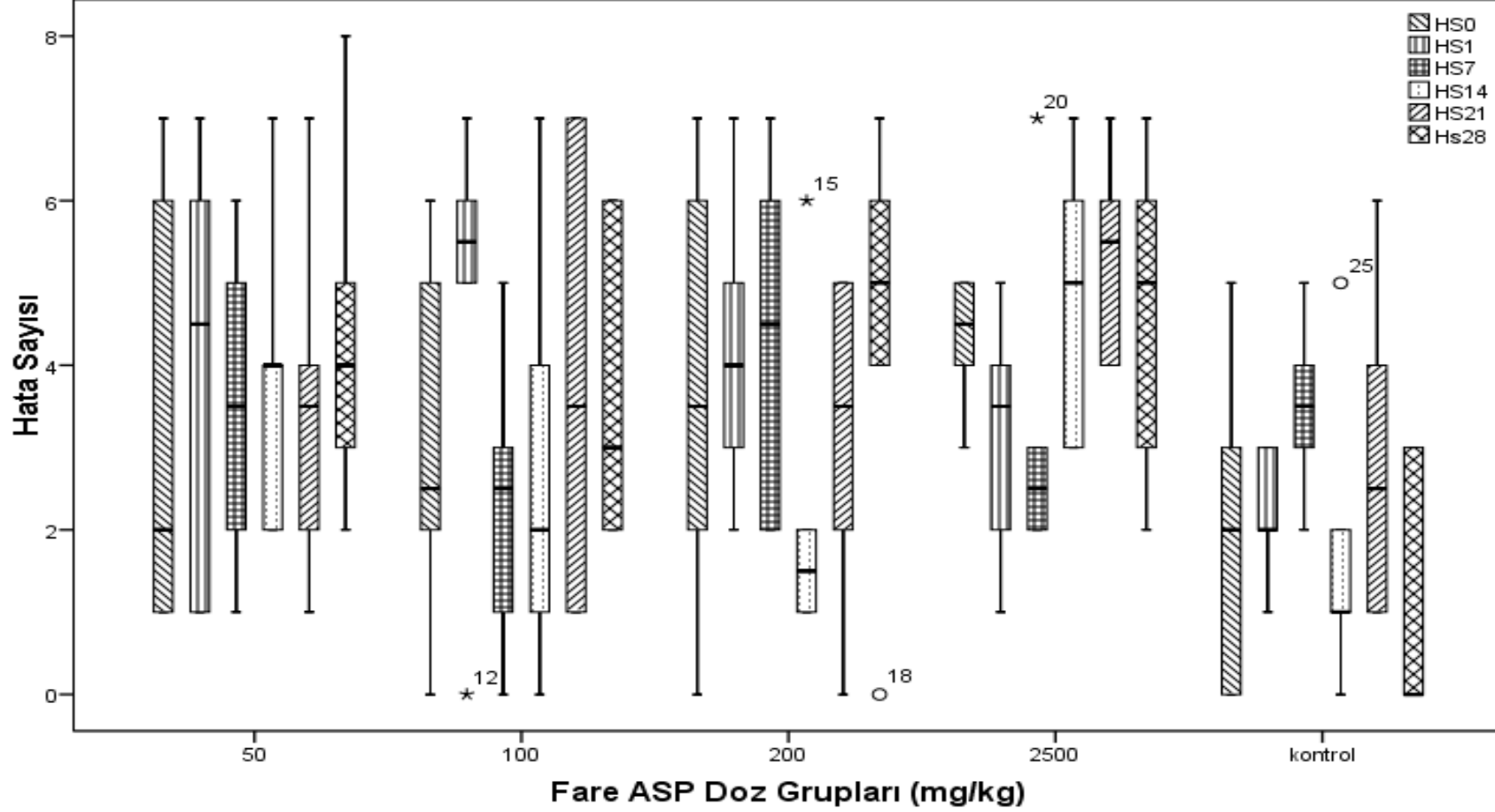
*p<0,05

Tablo 3. 9: Farelerde ASP dozları için uygulanan 8 kollu ışınal labirent testinde Hata Sayısı değerlerine ait Mann-Whitney U testi sonuçları.

	Grup	Mann-Whitney U	p
--	------	----------------	---

Hs28	Kontrol	50	3,00	0,015*
	Kontrol	100	6,00	0,065
	Kontrol	200	4,00	0,026*
	Kontrol	2500	3,00	0,015*
	50	100	14,00	0,589
	50	200	14,00	0,589
	50	2500	16,00	0,818
	100	200	13,00	0,485
	100	2500	12,00	0,394
	200	2500	18,00	1,000

*p<0,05



Şekil 3. 4: Farelerde uygulanan ASP dozları için elde edilen hata sayısı değerlerinin grafiksel gösterimi. HS0: hata sayısı 0. gün, HS1: hata sayısı 1. gün, HS7: hata sayısı 7. gün, HS14: hata sayısı 14. gün, HS21: hata sayısı 21. gün, HS28: hata sayısı 28. gün.

Cevap Gecikmesi Değerleri: Farelerde ASP dozları için uygulanan 8 kollu ışımsal labirent testinde **cevap gecikmesi** değerlerine bakıldığı zaman, ASP'nin uygulandığı 1., 14., 21. ve 28. günlerde istatistiksel bakımdan önemli farklar bulunmuştur (Tablo 3.10). İstatistiksel bakımdan önemli fark bulunan ASP dozları Mann Whitney U testine tabi tutulmuş ve istatistiksel bakımdan önemli farkın tespit edildiği uygulama günlerindeki bu farkın hangi dozlar arasında olduğu tespit edilmiştir. İstatistiksel bakımdan önemli farkın tespit edildiği uygulama günlerindeki kontrol grubu ve doz grupları arasındaki istatistiksel karşılaştırmalar Tablo 3.11'de verilmiştir. Farelerde uygulanan ASP dozları için istatistiksel bakımdan fark elde edilen cevap gecikmesi değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.5'de verilmiştir.

Tablo 3. 10: Farelerde ASP dozları için uygulanan 8 kollu ışınsal labirent testinde Cevap Gecikmesi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.

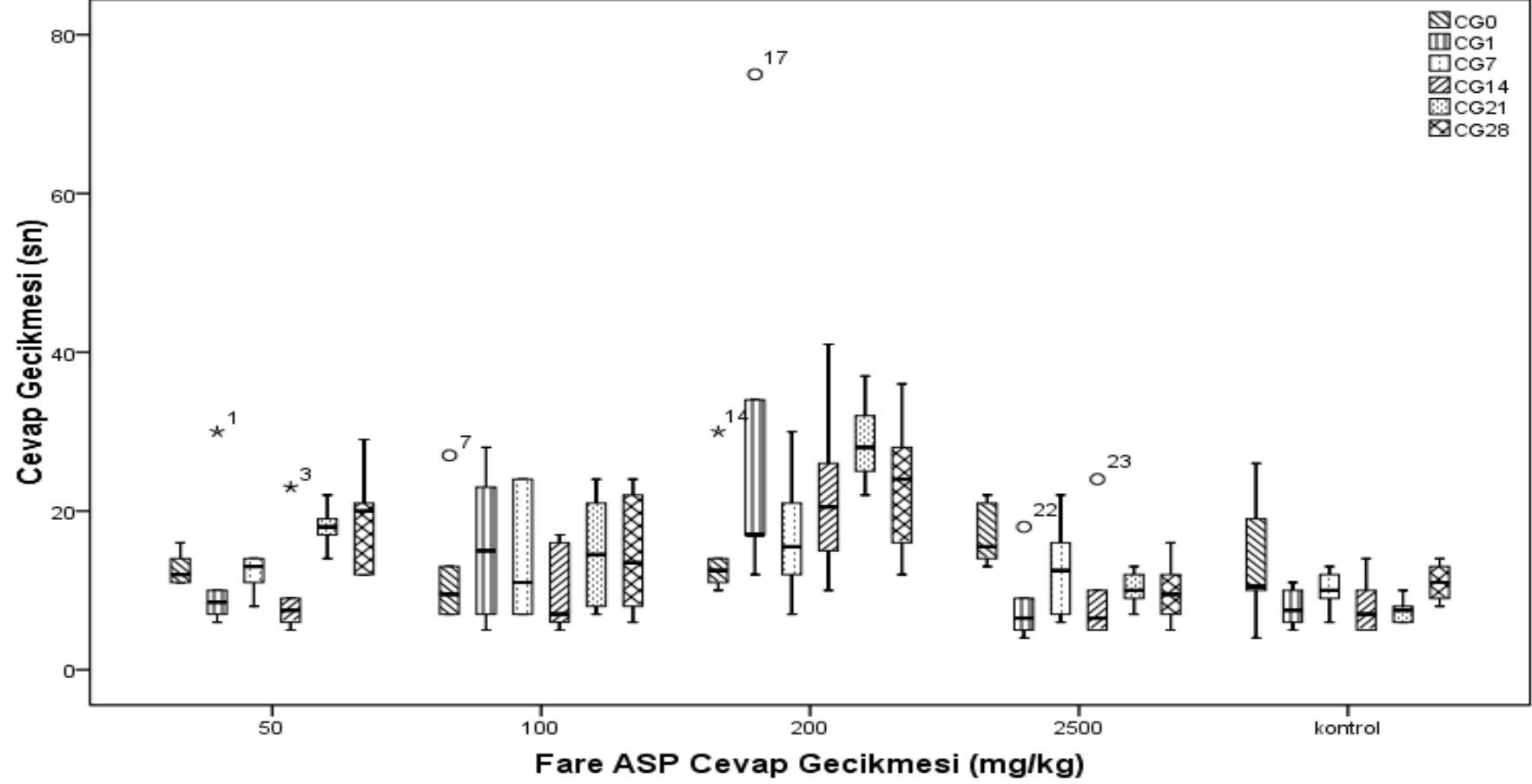
FARE ASP	N	Min	Maks	Ort	Std. H.	Sd	F	Önem	
0.gün	Kontrol	6	4	26	13,33	3,201	4	0,565	0,691
	50	6	11	16	12,67	0,803			
	100	6	7	27	12,17	3,124			
	200	6	10	30	15,00	3,055			
	2500	6	13	22	16,83	1,537			
1.gün	Kontrol	6	5	11	7,83	0,946	4	2,826	0,046*
	50	6	6	30	11,67	3,712			
	100	6	5	28	15,50	3,948			
	200	6	12	75	28,67	9,766			
	2500	6	4	18	8,17	2,120			
7.gün	Kontrol	6	6	13	10,00	1,033	4	1,069	0,392
	50	6	8	14	12,17	0,946			
	100	6	7	24	14,00	3,337			
	200	6	7	30	16,83	3,260			
	2500	6	6	22	12,67	2,445			
14.gün	Kontrol	6	5	14	8,00	1,438	4	3,941	0,013*
	50	6	5	23	9,67	2,728			
	100	6	5	17	9,67	2,186			
	200	6	10	41	22,17	4,468			
	2500	6	5	24	9,50	2,997			
21.gün	Kontrol	6	6	10	7,50	0,619	4	21,860	0,000**
	50	6	14	22	18,00	1,065			
	100	6	7	24	14,83	2,915			
	200	6	22	37	28,67	2,171			
	2500	6	7	13	10,17	0,910			
28.gün	Kontrol	6	8	14	11,00	0,966	4	4,880	0,005*
	50	6	12	29	19,00	2,608			
	100	6	6	24	14,50	3,181			
	200	6	12	36	23,33	3,490			
	2500	6	5	16	9,83	1,579			

*p<0,05 **p<0,001

Tablo 3. 11: Farelerde ASP dozları için uygulanan 8 kollu ışınsal labirent testinde Cevap Gecikmesi değerlerine ait Mann-Whitney U testi sonuçları.

Günler	Grup		Mann-Whitney U	p	Günler	Grup		Mann-Whitney U	p
1.gün	Kontrol	50	14,00	0,589	21.gün	Kontrol	50	0,00	0,002*
	Kontrol	100	11,00	0,310		Kontrol	100	5,50	0,041*
	Kontrol	200	0,00	0,002*		Kontrol	200	0,00	0,002*
	Kontrol	2500	14,50	0,589		Kontrol	2500	5,50	0,041*
	50	100	16,00	0,818		50	100	14,00	0,589
	50	200	4,00	0,026*		50	200	0,50	0,002*
	50	2500	11,00	0,310		50	2500	0,00	0,002*
	100	200	12,00	0,394		100	200	1,00	0,004*
	100	2500	8,50	0,132		100	2500	13,00	0,485
	200	2500	4,00	0,026*		200	2500	0,00	0,002*
14.gün	Kontrol	50	16,00	0,818	28.gün	Kontrol	50	5,00	0,041*
	Kontrol	100	14,50	0,589		Kontrol	100	16,00	0,818
	Kontrol	200	1,50	0,004*		Kontrol	200	2,50	0,009*
	Kontrol	2500	18,00	1,000		Kontrol	2500	13,50	0,485
	50	100	17,00	0,937		50	100	12,00	0,394
	50	200	3,00	0,015*		50	200	12,00	0,394
	50	2500	16,00	0,818		50	2500	3,00	0,015*
	100	200	4,50	0,026*		100	200	7,00	0,093
	100	2500	15,50	0,699		100	2500	12,50	0,394
	200	2500	4,00	0,026*		200	2500	2,00	0,009*

*p<0,05



Şekil 3. 5: Farelerde uygulanan ASP dozları için elde edilen cevap gecikmesi değerlerinin grafiksel gösterimi. CG0: cevap gecikmesi 0. gün, CG1: cevap gecikmesi 1. gün, CG7: cevap gecikmesi 7. gün, CG14: cevap gecikmesi 14. gün, CG21: cevap gecikmesi 21. gün, CG28: cevap gecikmesi 28. gün.

3.1.4. MSG dozları uygulanan Farelerde öğrenme ve bellek sonuçları

Hata Sayısı değerleri: Farelerde MSG dozları için uygulanan 8 kollu ışınal labirent testinde hata sayısı değerlerine bakıldığı zaman enjeksiyon öncesi ve sonrasındaki günler (1, 7, 14, 21 ve 28. günlerde) karşılaştırıldığında istatistiksel bakımdan anlamlı bir fark saptanamamıştır ($p>0,05$ Tablo 3. 12).

Tablo 3. 12: Farelerde MSG dozları için uygulanan 8 kollu ışınal labirent testinde Hata Sayısı değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.

FARE MSG	N	Min	Maks	Ort	Std. H.	Sd	F	Önem	
0.gün	Kontrol	6	0	5	2,00	0,775	4	1,156	0,354
	50	6	0	6	2,50	0,957			
	100	6	0	5	2,50	0,764			
	200	6	1	4	2,67	0,494			
	2500	6	0	2	0,83	0,307			
1.gün	Kontrol	6	1	3	2,17	0,307	4	0,869	0,496
	50	6	0	5	3,00	0,775			
	100	6	0	4	2,50	0,563			
	200	6	0	7	3,67	1,054			
	2500	6	1	4	2,17	0,477			
7.gün	Kontrol	6	2	5	3,50	0,428	4	0,478	0,752
	50	6	0	5	3,17	0,792			
	100	6	3	6	4,17	0,401			
	200	6	1	7	3,17	0,910			
	2500	6	0	5	3,00	0,683			
14.gün	Kontrol	6	0	5	1,67	0,715	4	1,758	0,169
	50	6	0	4	2,00	0,683			
	100	6	2	6	3,83	0,601			
	200	6	2	6	3,67	0,558			
	2500	6	0	6	3,33	1,085			
21.gün	Kontrol	6	1	6	2,83	0,792	4	0,474	0,754
	50	6	0	3	1,67	0,422			
	100	6	1	6	3,00	0,730			
	200	6	0	4	2,50	0,563			
	2500	6	0	6	2,83	1,167			
28.gün	Kontrol	6	0	3	1,00	0,632	4	1,924	0,138
	50	6	1	5	3,17	0,543			
	100	6	2	4	2,67	0,333			
	200	6	1	5	2,33	0,615			
	2500	6	0	7	3,50	1,118			

Cevap Gecikmesi Değerleri: Farelerde MSG dozları için uygulanan 8 kollu ışımsal labirent testinde **cevap gecikmesi** değerlerine bakıldığı zaman, MSG'nin uygulandığı enjeksiyon öncesi ve sonrasındaki günlerde (1., 7., 14., 21. günlerde) istatistiksel bakımdan önemli farklar bulunmuştur (Tablo 3.13). İstatistiksel bakımdan önemli fark bulunan MSG dozları Mann Whitney U testine tabi tutulmuş ve istatistiksel bakımdan önemli farkın tespit edildiği uygulama günlerindeki bu farkın hangi dozlar arasında olduğu tespit edilmiştir. İstatistiksel bakımdan önemli farkın tespit edildiği uygulama günlerindeki kontrol grubu ve doz grupları arasındaki istatistiksel karşılaştırmalar Tablo 3.14' de verilmiştir. Farelerde uygulanan MSG dozları için istatistiksel bakımdan fark elde edilen cevap gecikmesi değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.6'da verilmiştir.

Tablo 3. 13: Farelerde MSG dozları için uygulanan 8 kollu ışınal labirent testinde Cevap Gecikmesi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.

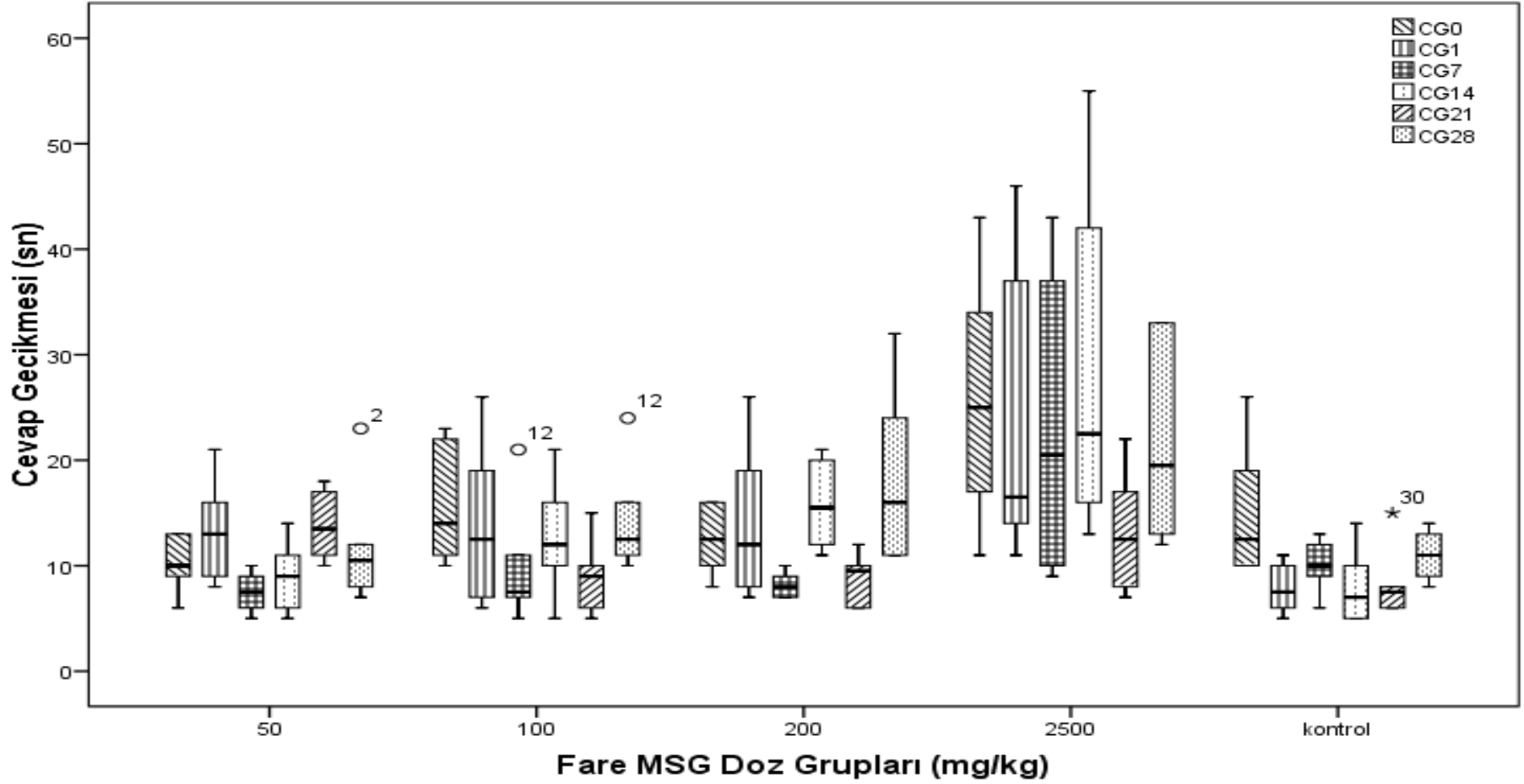
FARE MSG	N	Min	Maks	Ort	Std. H.	Sd	F	Önem	
0.gün	Kontrol	6	10	26	15,00	2,608	4	4,775	0,005*
	50	6	6	13	10,17	1,108			
	100	6	10	23	15,67	2,275			
	200	6	8	16	12,50	1,360			
	2500	6	11	43	25,83	4,757			
1.gün	Kontrol	6	5	11	7,83	0,946	4	2,704	0,053*
	50	6	8	21	13,33	1,961			
	100	6	6	26	13,83	3,301			
	200	6	7	26	14,00	2,955			
	2500	6	11	46	23,50	5,881			
7.gün	Kontrol	6	6	13	10,00	1,033	4	5,245	0,003*
	50	6	5	10	7,50	0,847			
	100	6	5	21	9,83	2,372			
	200	6	7	10	8,17	0,543			
	2500	6	9	43	23,33	5,766			
14.gün	Kontrol	6	5	14	8,00	1,438	4	5,964	0,002*
	50	6	5	14	9,00	1,438			
	100	6	5	21	12,67	2,231			
	200	6	11	21	15,83	1,701			
	2500	6	13	55	28,50	6,727			
21.gün	Kontrol	6	6	15	8,33	1,382	4	2,887	0,043*
	50	6	10	18	13,83	1,302			
	100	6	5	15	9,00	1,438			
	200	6	6	12	8,83	0,980			
	2500	6	7	22	13,17	2,330			
28.gün	Kontrol	6	8	14	11,00	0,966	4	2,602	0,060
	50	6	7	23	11,83	2,358			
	100	6	10	24	14,33	2,108			
	200	6	11	32	18,33	3,393			
	2500	6	12	33	21,67	4,063			

*p<0,05

Tablo 3. 14: Farelerde MSG dozları için uygulanan 8 kollu ışınal labirent testinde Cevap Gecikmesi değerlerine ait Mann-Whitney U testi sonuçları.

Günler	Grup		Mann-Whitney U	p	Günler	Grup		Mann-Whitney U	p
0.gün	Kontrol	50	8,50	0,132	14.gün	Kontrol	50	14,00	0,589
	Kontrol	100	15,50	0,699		Kontrol	100	8,50	0,132
	Kontrol	200	15,00	0,699		Kontrol	200	2,50	0,009*
	Kontrol	2500	6,50	0,065		Kontrol	2500	1,00	0,004*
	50	100	6,50	0,065		50	100	11,50	0,310
	50	200	10,50	0,240		50	200	3,50	0,015*
	50	2500	2,50	0,009*		50	2500	1,00	0,004*
	100	200	13,00	0,485		100	200	11,00	0,310
	100	2500	8,00	0,132		100	2500	4,50	0,026*
	200	2500	3,50	0,015*		200	2500	7,50	0,093
1.gün	Kontrol	50	4,50	0,026*	21.gün	Kontrol	50	4,000	0,026*
	Kontrol	100	10,50	0,240		Kontrol	100	14,500	0,589
	Kontrol	200	6,00	0,065		Kontrol	200	14,000	0,589
	Kontrol	2500	0,50	0,002*		Kontrol	2500	7,500	0,093
	50	100	16,50	0,818		50	100	4,500	0,026*
	50	200	16,50	0,818		50	200	3,000	0,015*
	50	2500	9,50	0,180		50	2500	15,500	0,699
	100	200	16,00	0,818		100	200	16,000	0,818
	100	2500	11,00	0,310		100	2500	10,000	0,240
	200	2500	10,00	0,240		200	2500	9,000	0,180
7.gün	Kontrol	50	8,00	0,132					
	Kontrol	100	12,50	0,394					
	Kontrol	200	10,00	0,240					
	Kontrol	2500	7,00	0,093					
	50	100	14,50	0,589					
	50	200	13,50	0,485					
	50	2500	2,50	0,009*					
	100	200	18,00	1,000					
	100	2500	5,00	0,041*					
	200	2500	2,50	0,009*					

*p<0,05



Şekil 3. 6: Farelerde uygulanan MSG dozları için elde edilen cevap gecikmesi değerlerinin grafiksel gösterimi. CG0: cevap gecikmesi 0. gün, CG1: cevap gecikmesi 1. gün, CG7: cevap gecikmesi 7. gün, CG14: cevap gecikmesi 14. gün, CG21: cevap gecikmesi 21. gün, CG28: cevap gecikmesi 28. gün.

3.2. Fare ve Sıçanlarda Lokomotor Aktivite Bulguları

Laktasyondan sonra annelerinden ayrılan hayvanlara, 1 gün sonra açık alan testi uygulanmıştır. Açık alan testinde hayvanların 3 dakika boyunca, kare üstü açık bir alanda toplam *gezinme süreleri*, *doğrulma sıklıkları* ve *temizlenme süreleri* hesaplamaları, aspartam ve monosodyum glutamat için Enjeksiyon Öncesi (EÖ) ve Enjeksiyon Sonrası (ES) belirlenmiştir.

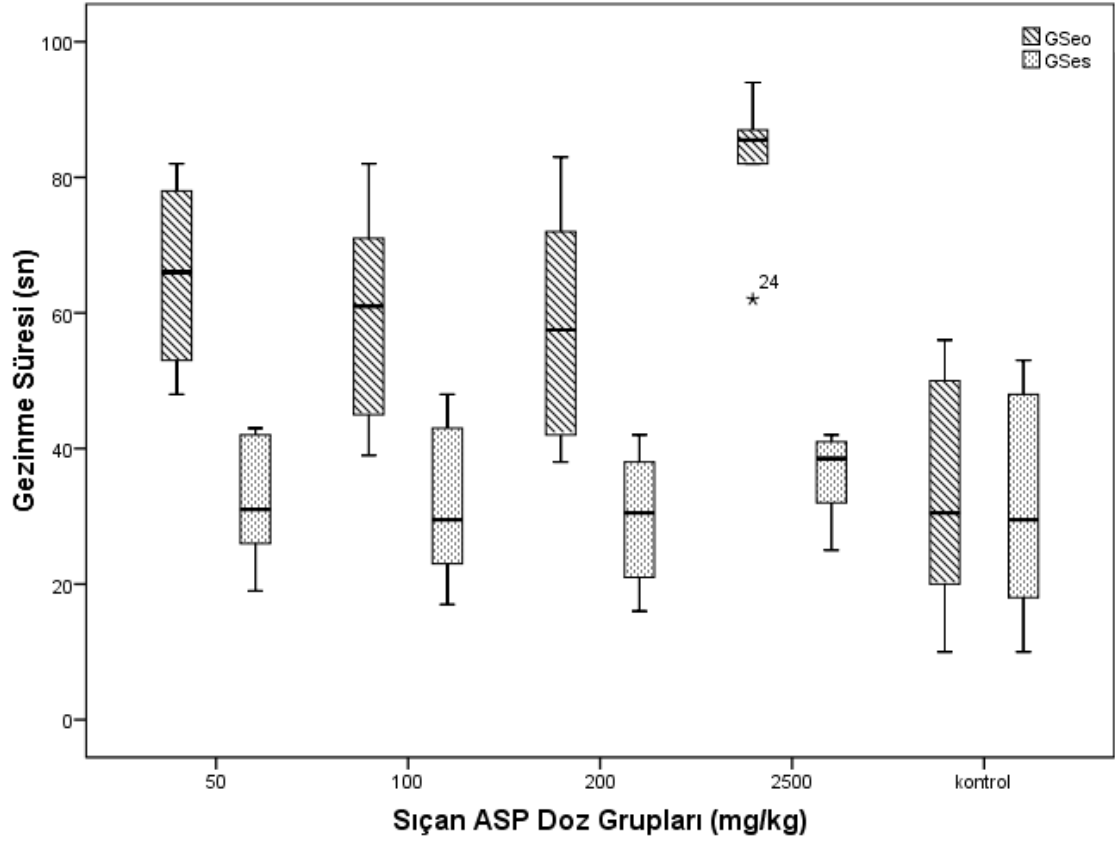
3.2.1. ASP dozları uygulanan Sıçanlarda Açık Alan Testi Sonuçları

Gezinme Süresi: ASP dozları uygulanan sıçanlarda Enjeksiyon öncesi gezinme süresi ile Enjeksiyon yapıldıktan sonra gezinme süresi arasındaki farklılıkları test edebilmek için Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi uygulanmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.15’de verilmiştir. Sıçanlarda uygulanan ASP dozları için istatistiksel bakımdan fark elde edilen gezinme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.7’de verilmiştir.

Tablo 3. 15: Sıçanlarda ASP dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Gezinme Süresi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.

Doz grupları	Enjeksiyon Öncesi			Enjeksiyon Sonrası			Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi		
	Min	Maks	Ort±ss	Min	Maks	Ort±ss	Sd	z değeri	Önem
Kontrol	10	56	32,83±17,826	10	53	31,33±16,896	1	-1,89	0,059
ASP50	48	82	65,50±13,368	19	43	32,00±9,252	1	-2,21	0,027*
ASP100	39	82	59,83±16,266	17	48	31,67±11,827	1	-2,20	0,028*
ASP200	38	83	58,33±17,338	16	42	29,67±10,093	1	-2,20	0,028*
ASP2500	62	94	82,67±10875	25	42	36,17±6,494	1	-2,20	0,028*

*p<0,05



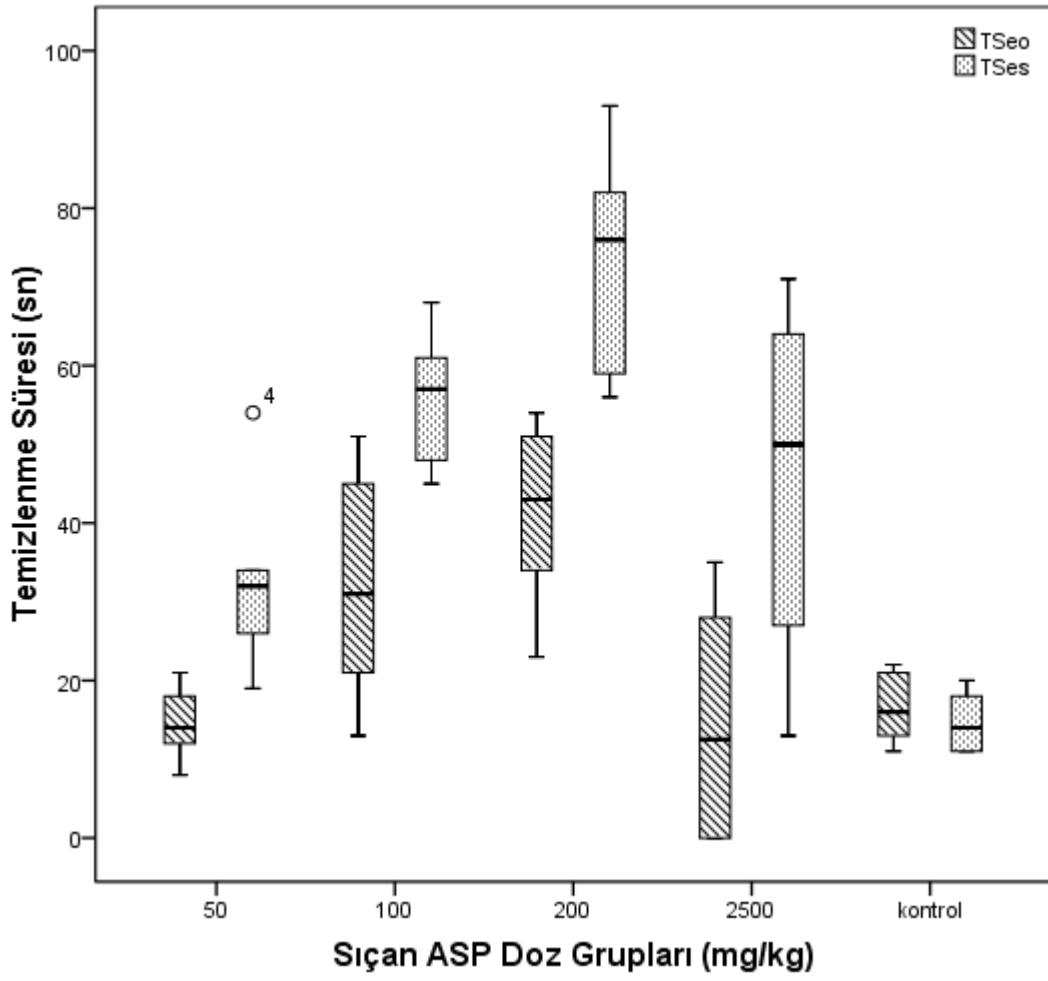
Şekil 3. 7: Sıçanlarda uygulanan ASP dozları için elde edilen gezinme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi. GSeo: enjeksiyon öncesi gezinme süresi. GSes: enjeksiyon sonrası gezinme süresi.

Temizlenme Süresi: ASP dozları uygulanan sıçanlarda Enjeksiyon öncesi temizlenme süresi ile Enjeksiyon yapıldıktan sonra temizlenme süresi arasındaki farklılıkları test edebilmek için Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi uygulanmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.16'da verilmiştir. Sıçanlarda uygulanan ASP dozları için istatistiksel bakımdan fark elde edilen temizlenme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.8'de verilmiştir.

Tablo 3. 16: Sıçanlarda ASP dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Temizlenme Süresi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.

Doz grupları	Enjeksiyon Öncesi			Enjeksiyon Sonrası			Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi		
	Min	Maks	Ort±ss	Min	Maks	Ort±ss	Sd	z değeri	Önem
Kontrol	11	22	16,50±4,370	11	20	14,66±3.723	1	-1,84	0.066
ASP50	8	21	14,50±4,593	19	54	32,83±11,737	1	-2,20	0,027*
ASP100	13	51	32,00±14,366	45	68	56,00±8,461	1	-2,20	0,027*
ASP200	23	54	41,33±11,826	56	93	73,66±14,000	1	-2,20	0,027*
ASP2500	0	35	14,66±16,391	13	71	45,83±22,489	1	-2,20	0,027*

*p<0,05



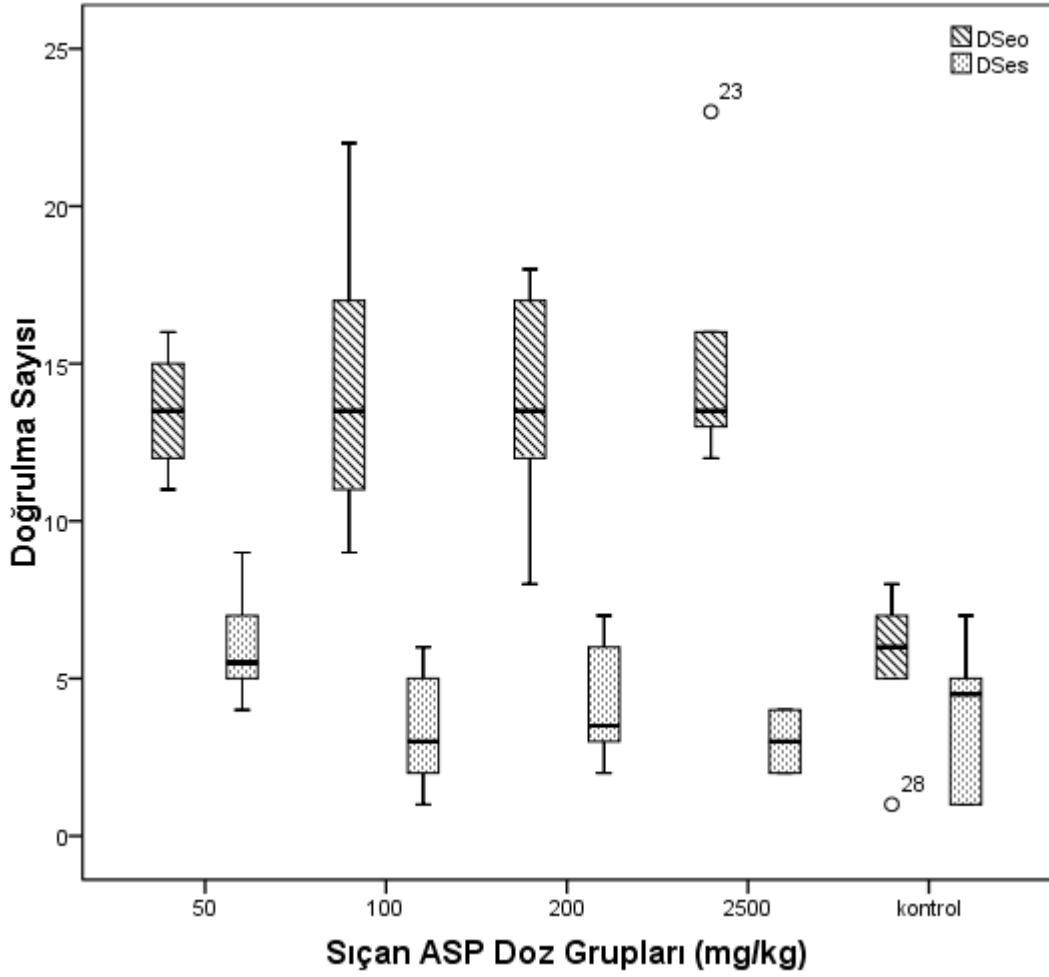
Şekil 3. 8: Sıçanlarda uygulanan ASP dozları için elde edilen temizlenme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi. TSeo: enjeksiyon öncesi temizlenme süresi. TSes: enjeksiyon sonrası temizlenme süresi.

Doğrulma Sayısı: ASP dozları uygulanan sıçanlarda Enjeksiyon öncesi doğrulma sayısı ile Enjeksiyon yapıldıktan sonra doğrulma sayısı arasındaki farklılıkları test edebilmek için Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi uygulanmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.17’de verilmiştir. Sıçanlarda uygulanan ASP dozları için istatistiksel bakımdan fark elde edilen gezinme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.9’da verilmiştir.

Tablo 3. 17: Sıçanlarda ASP dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Doğrulma Sayısı değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları

Doz grupları	Enjeksiyon Öncesi			Enjeksiyon Sonrası			Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi		
	Min	Maks	Ort±ss	Min	Maks	Ort±ss	Sd	z değeri	Önem
Kontrol	1	8	5,50±2,509	1	7	3,83±2,401	1	-1,60	0.109
ASP50	11	16	13,50±1,870	4	9	6,00±1,788	1	-2,20	0,027*
ASP100	9	22	14,33±4,633	1	6	3,33±1,861	1	-2,20	0,027*
ASP200	8	18	13,66±3,614	2	7	4,16±1,940	1	-2,20	0,028*
ASP2500	12	23	15,16±4,070	2	4	3,00±0,894	1	-2,20	0,027*

*p<0,05



Şekil 3. 9: Sıçanlarda uygulanan ASP dozları için elde edilen doğrulma sayısı değerlerinin grafiksel gösterimi. DSeo: enjeksiyon öncesi doğrulma sayısı DSes: enjeksiyon sonrası doğrulma sayısı.

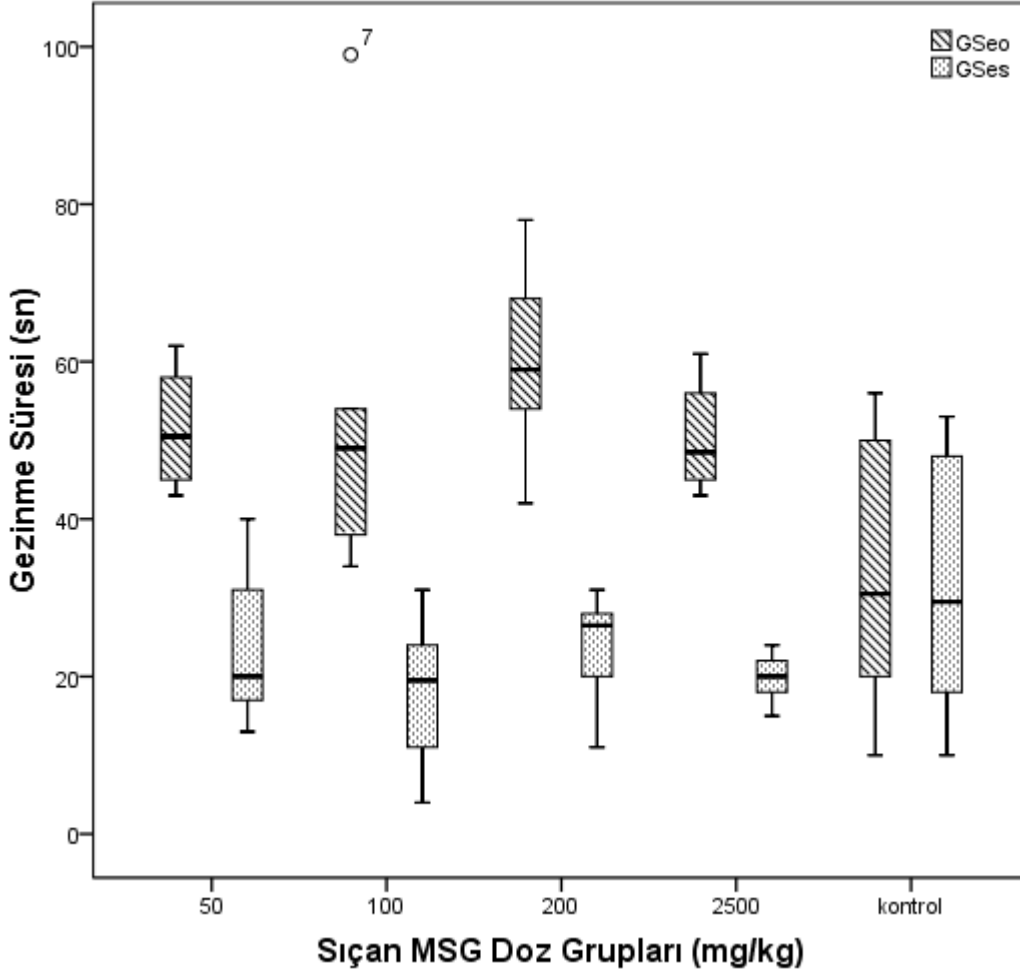
3.2.2. MSG uygulanan Sıçanlarda Açık Alan Testi Sonuçları

Gezinme Süresi: MSG dozları uygulanan sıçanlarda Enjeksiyon öncesi gezinme süresi ile Enjeksiyon yapıldıktan sonra gezinme süresi arasındaki farklılıkları test edebilmek için Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi uygulanmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.18’de verilmiştir. Sıçanlarda uygulanan MSG dozları için istatistiksel bakımdan fark elde edilen gezinme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.10’da verilmiştir.

Tablo 3. 18: Sıçanlarda MSG dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Gezinme Süresi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.

Doz grupları	Enjeksiyon Öncesi			Enjeksiyon Sonrası			Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi		
	Min	Maks	Ort±ss	Min	Maks	Ort±ss	Sd	z değeri	Önem
Kontrol	10	56	32,83±17,826	10	53	31,33±16,896	1	-1,89	0,059
MSG50	43	62	51,50±7,867	13	40	23,50±10,074	1	-2,20	0,027*
MSG100	34	99	53,83±23,378	4	31	18,16±9,786	1	-2,20	0,028*
MSG200	42	78	60,00±12,393	11	31	23,83±7,250	1	-2,20	0,028*
MSG2500	43	61	50,33±7,033	15	24	19,83±3,188	1	-2,20	0,027*

*p<0,05



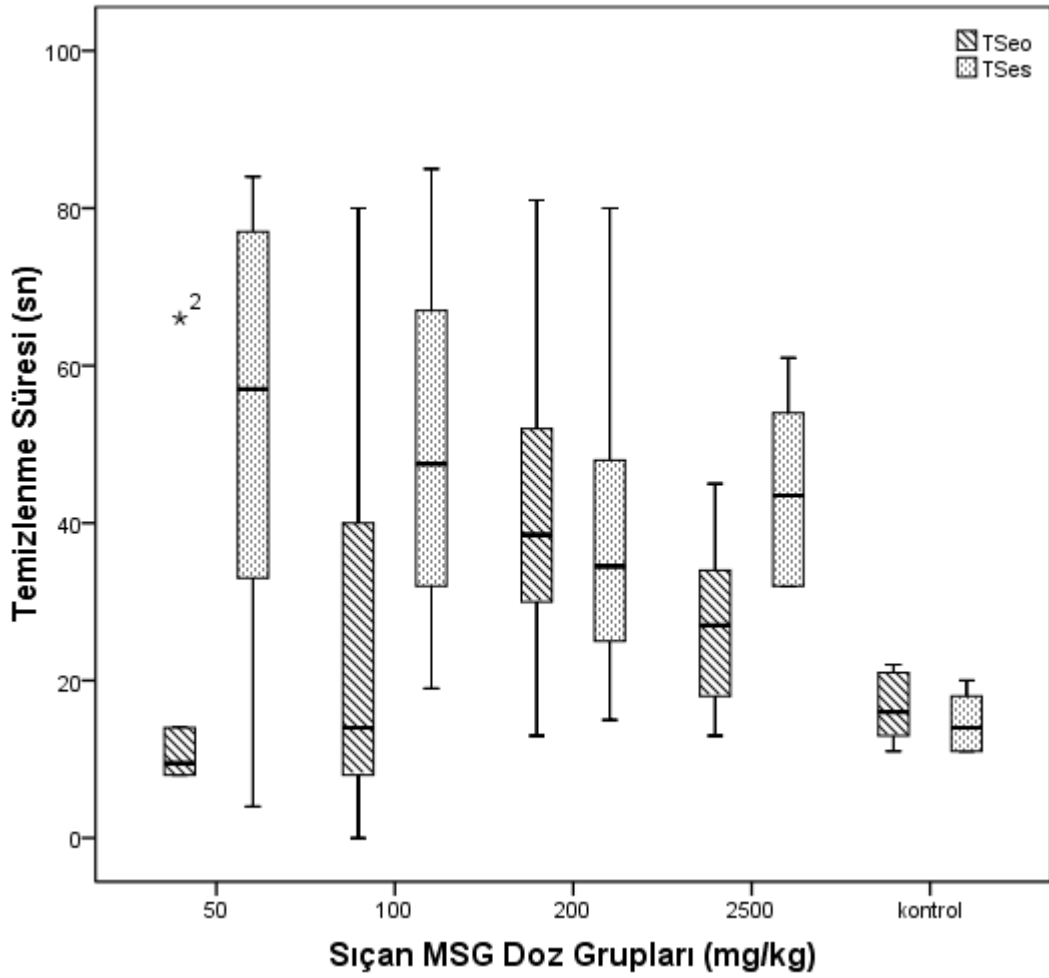
Şekil 3. 10: Sıçanlarda uygulanan MSG dozları için elde edilen gezinme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi. GSeo: enjeksiyon öncesi gezinme süresi. GSes: enjeksiyon sonrası gezinme süresi.

Temizlenme Süresi: MSG dozları uygulanan sıçanlarda Enjeksiyon öncesi temizlenme süresi ile Enjeksiyon yapıldıktan sonra temizlenme süresi arasındaki farklılıkları test edebilmek için Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi uygulanmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.19’da verilmiştir. Sıçanlarda uygulanan MSG dozları için istatistiksel bakımdan fark elde edilen temizlenme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.11’de verilmiştir.

Tablo 3. 19: Sıçanlarda MSG dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Temizlenme Süresi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.

Doz grupları	Enjeksiyon Öncesi			Enjeksiyon Sonrası			Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi		
	Min	Maks	Ort±ss	Min	Maks	Ort±ss	Sd	z değeri	Önem
Kontrol	11	22	16,50±4,370	11	20	14,66±3,723	1	-1,84	0,066
MSG50	8	66	19,16±23,051	4	84	52,00±29,570	1	-1,57	0,116
MSG100	0	80	26,00±29,671	19	85	49,66±24,063	1	-1,57	0,116
MSG200	13	81	42,16±23,301	15	80	39,50±22,739	1	-0,105	0,917
MSG2500	13	45	27,33±11,673	32	61	44,33±11,673	1	-2,20	0,028*

*p<0,05



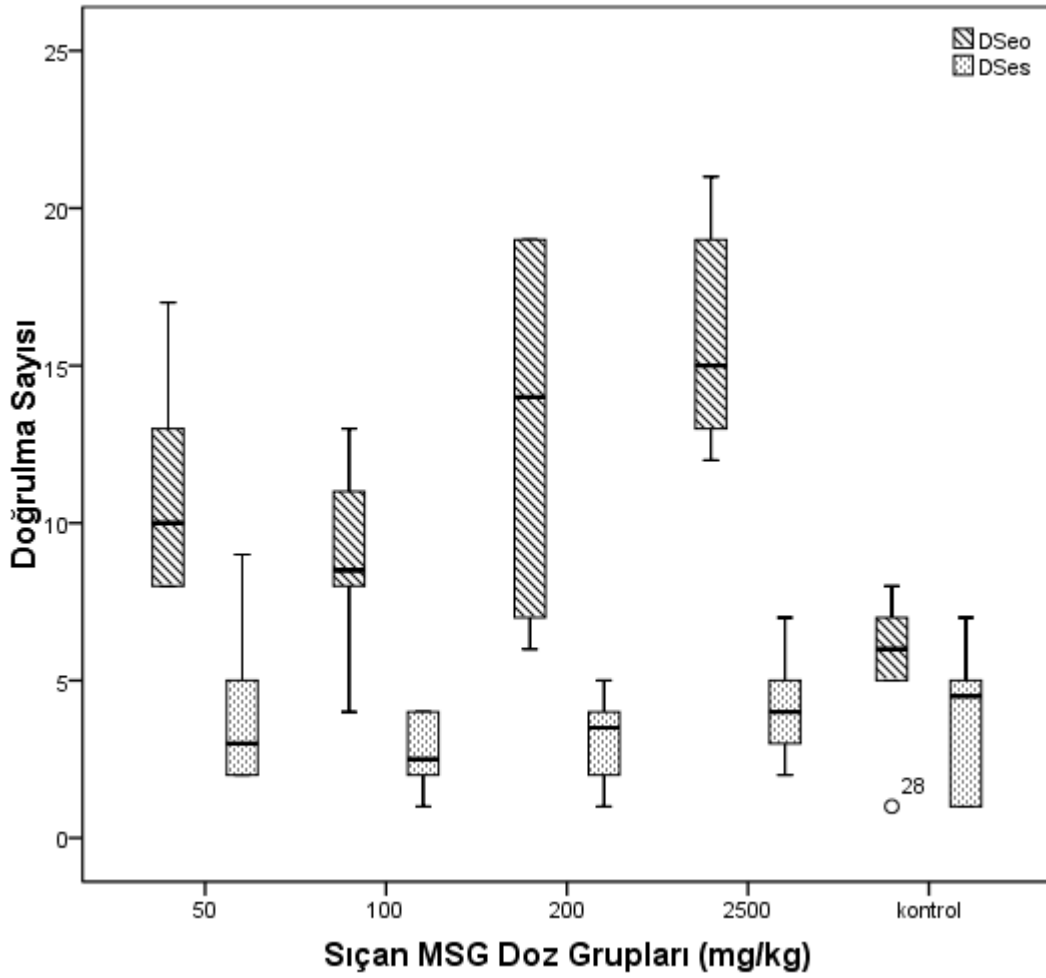
Şekil 3. 11: Sıçanlarda uygulanan MSG dozları için elde edilen temizlenme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi. TSeo: enjeksiyon öncesi temizlenme süresi. TSes: enjeksiyon sonrası temizlenme süresi.

Doğrulma Sayısı: MSG dozları uygulanan sıçanlarda Enjeksiyon öncesi doğrulma sayısı ile Enjeksiyon yapıldıktan sonra doğrulma sayısı arasındaki farklılıkları test edebilmek için Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi uygulanmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.20’de verilmiştir. Sıçanlarda uygulanan MSG dozları için istatistiksel bakımdan fark elde edilen doğrulma sayısı değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.12’de verilmiştir.

Tablo 3. 20: Sıçanlarda MSG dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Doğrulma Sayısı değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.

Doz grupları	Enjeksiyon Öncesi			Enjeksiyon Sonrası			Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi		
	Min	Maks	Ort±ss	Min	Maks	Ort±ss	Sd	z değeri	Önem
Kontrol	1	8	5,50±2,509	1	7	3,83±2,401	1	-1,60	0.109
MSG50	8	17	11,00±3.521	2	9	4,00±2,683	1	-2,22	0,026*
MSG100	4	13	8,83±3,060	1	4	2,66±1,211	1	-2,20	0,027*
MSG200	6	19	13,16±5,946	1	5	3,16±1,471	1	-2,20	0,028*
MSG2500	12	21	15,83±3,544	2	7	4,16±1,722	1	-2,20	0,027*

*p<0,05



Şekil 3. 12: Sıçanlarda uygulanan MSG dozları için elde edilen doğrulma sayısı değerlerinin grafiksel gösterimi. DSeo: enjeksiyon öncesi doğrulma sayısı. DSes: enjeksiyon sonrası doğrulma sayısı.

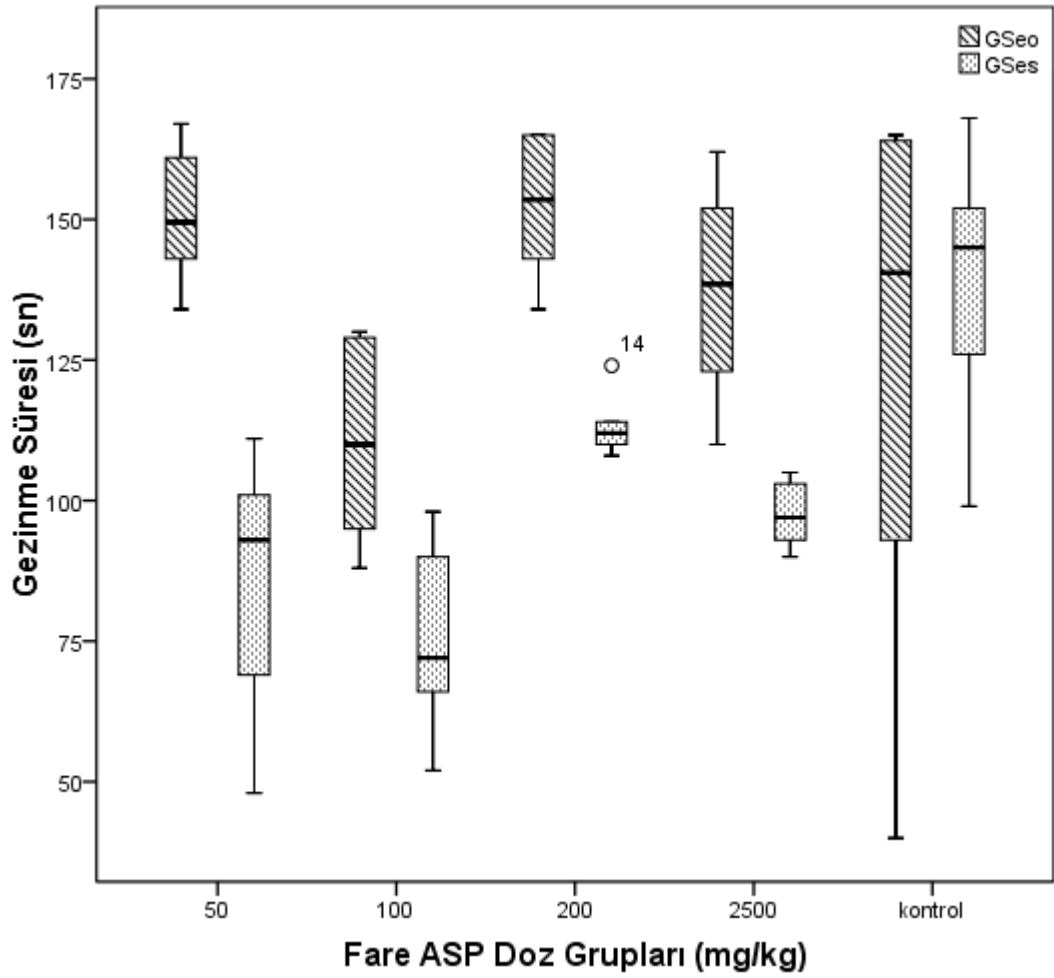
3.2.3. ASP uygulanan Farelerde Açık Alan Testi Sonuçları

Gezinme Süresi: ASP dozları uygulanan farelerde Enjeksiyon öncesi gezinme süresi ile Enjeksiyon yapıldıktan sonra gezinme süresi arasındaki farklılıkları test edebilmek için Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi uygulanmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 21’de verilmiştir. Farelerde uygulanan ASP dozları için istatistiksel bakımdan fark elde edilen gezinme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.13’de verilmiştir.

Tablo 3. 21: Farelerde ASP dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Gezinme Süresi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.

Doz grupları	Enjeksiyon Öncesi			Enjeksiyon Sonrası			Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi		
	Min	Maks	Ort±ss	Min	Maks	Ort±ss	Sd	z değeri	Önem
Kontrol	40	165	123,83±49,909	99	168	139,16±24,177	1	-0,314	0.753
ASP50	134	167	150,66±12,274	48	111	85,83±23,155	1	-2,20	0,028*
ASP100	88	130	110,33±17,873	52	98	75,00±16,816	1	-1,99	0,046*
ASP200	134	165	152,33±12,225	108	124	113,33±5,645	1	-2,20	0,028*
ASP2500	110	162	137,33±18,991	90	105	97,50±6,024	1	-2,20	0,028*

*p<0,05



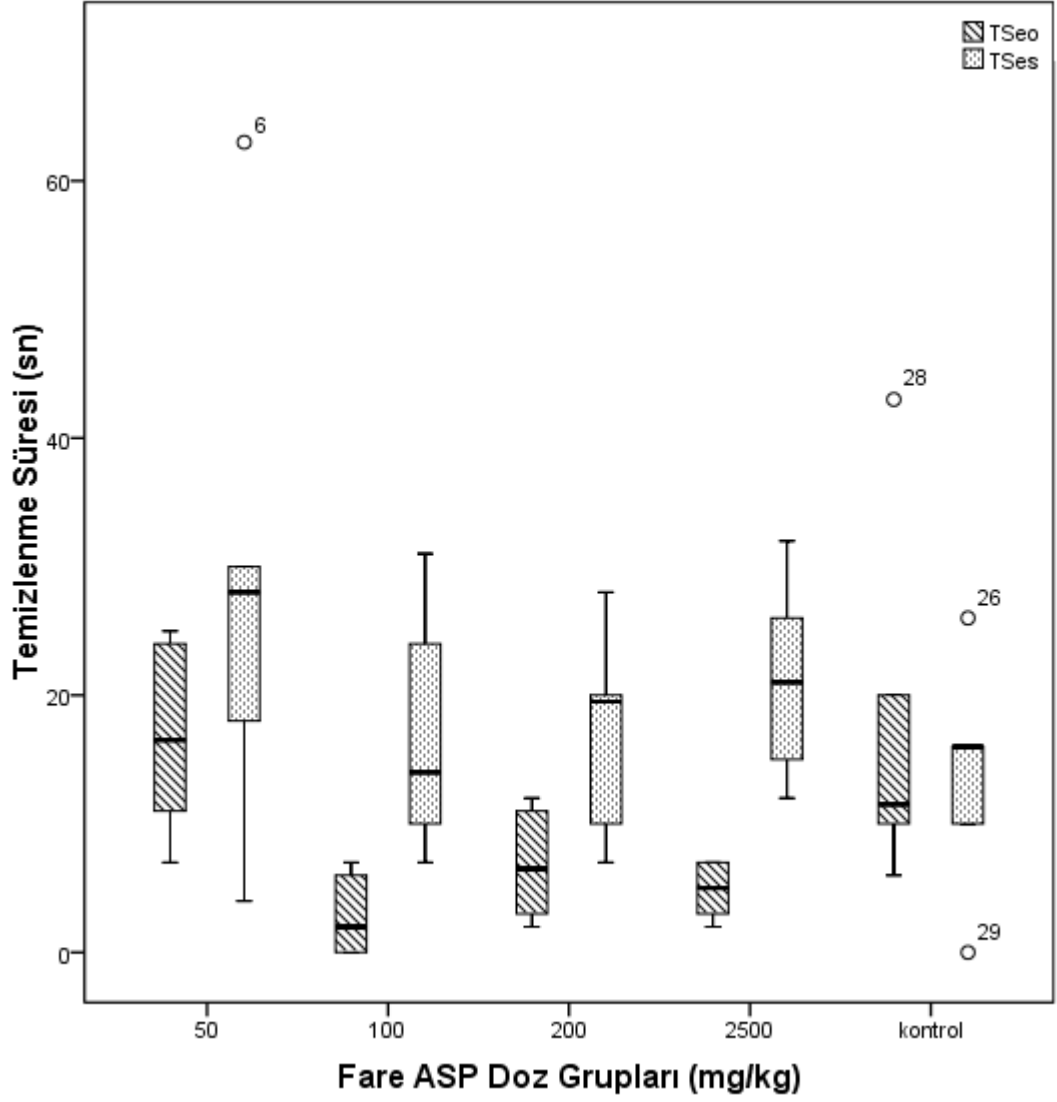
Şekil 3. 13: Farelerde uygulanan ASP dozları için elde edilen gezinme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi. GSeo: enjeksiyon öncesi gezinme süresi, GSes: enjeksiyon sonrası gezinme süresi.

Temizlenme Süresi: ASP dozları uygulanan farelerde Enjeksiyon öncesi temizlenme süresi ile Enjeksiyon yapıldıktan sonra temizlenme süresi arasındaki farklılıkları test edebilmek için Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi uygulanmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.22’de verilmiştir. Farelerde uygulanan ASP dozları için istatistiksel bakımdan fark elde edilen temizlenme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.14’de verilmiştir.

Tablo 3. 22: Farelerde ASP dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Temizlenme Süresi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.

Doz grupları	Enjeksiyon Öncesi			Enjeksiyon Sonrası			Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi		
	Min	Maks	Ort±ss	Min	Maks	Ort±ss	Sd	z değeri	Önem
Kontrol	6	43	17,00±13,535	0	26	14,00±8,579	1	-0,314	0,753
ASP50	7	25	16,66±7,607	4	63	28,50±19,521	1	-1,26	0,207
ASP100	0	7	2,83±2,994	7	31	16,66±9,416	1	-2,20	0,028*
ASP200	2	12	6,83±4,167	7	28	17,33±7,633	1	-2,20	0,028*
ASP2500	2	7	4,83±2,136	12	32	21,16±7,277	1	-2,20	0,027*

*p<0,05



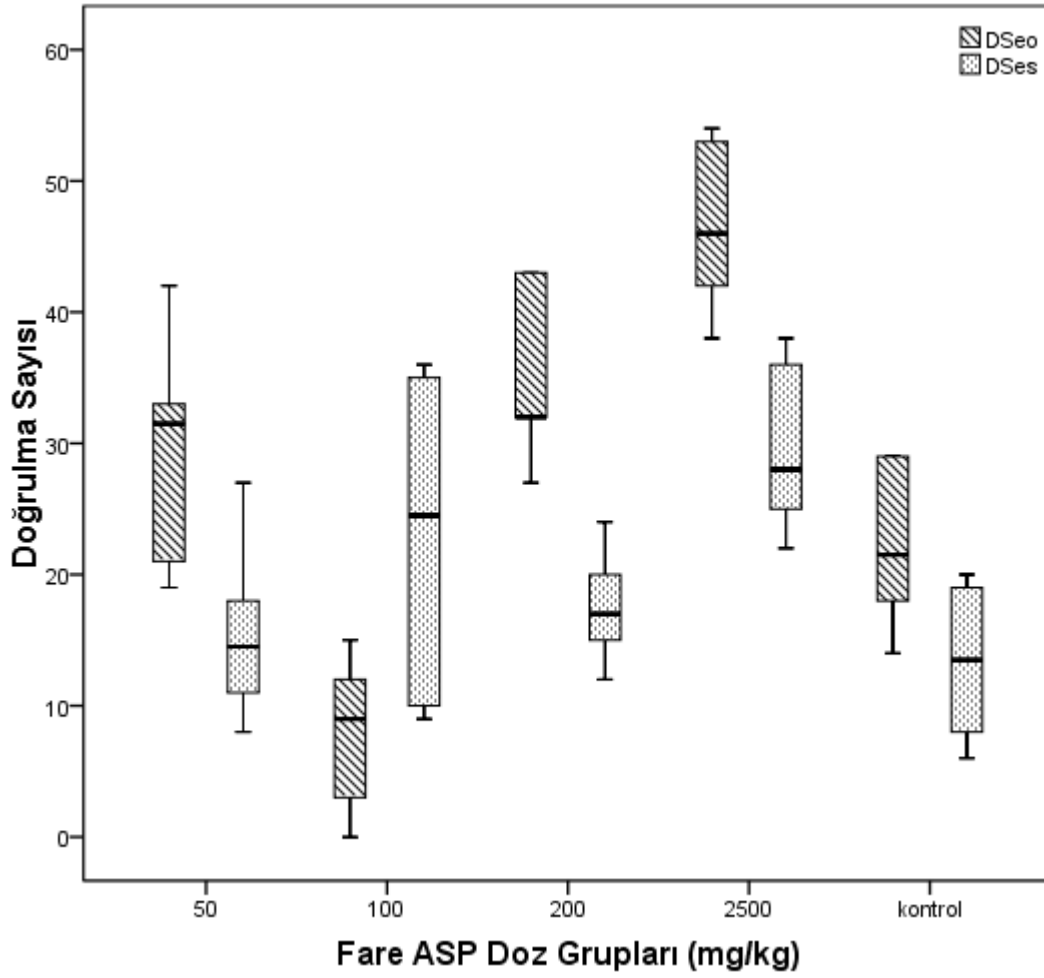
Şekil 3. 14: Farelerde uygulanan ASP dozları için elde edilen temizlenme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi. TSeo: enjeksiyon öncesi temizlenme süresi, TSes: enjeksiyon sonrası temizlenme süresi.

Doğrulma Sayısı: ASP dozları uygulanan farelerde Enjeksiyon öncesi doğrulma sayısı ile Enjeksiyon yapıldıktan sonra doğrulma sayısı arasındaki farklılıkları test edebilmek için Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi uygulanmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.23’de verilmiştir. Farelerde uygulanan ASP dozları için istatistiksel bakımdan fark elde edilen doğrulma sayısı değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.15’de verilmiştir.

Tablo 3. 23: Farelerde ASP dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Doğrulma Sayısı değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.

Doz grupları	Enjeksiyon Öncesi			Enjeksiyon Sonrası			Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi		
	Min	Maks	Ort±ss	Min	Maks	Ort±ss	Sd	z değeri	Önem
Kontrol	14	29	22,16±6,177	6	20	13,33±5,853	1	-1,58	0,114
ASP50	19	42	29,66±8,477	8	27	15,50±6,774	1	-2,22	0,026*
ASP100	0	15	8,00±5,899	9	36	23,16±11,686	1	-2,20	0,027*
ASP200	27	43	34,83±6,615	12	24	17,50±4,183	1	-2,20	0,028*
ASP2500	38	54	46,50±6,220	22	38	29,50±6,284	1	-2,20	0,027*

*p<0,05



Şekil 3. 15: Farelerde uygulanan ASP dozları için elde edilen doğrulma sayısı değerlerinin grafiksel gösterimi. DSeo: enjeksiyon öncesi doğrulma sayısı, DSes: enjeksiyon sonrası doğrulma sayısı.

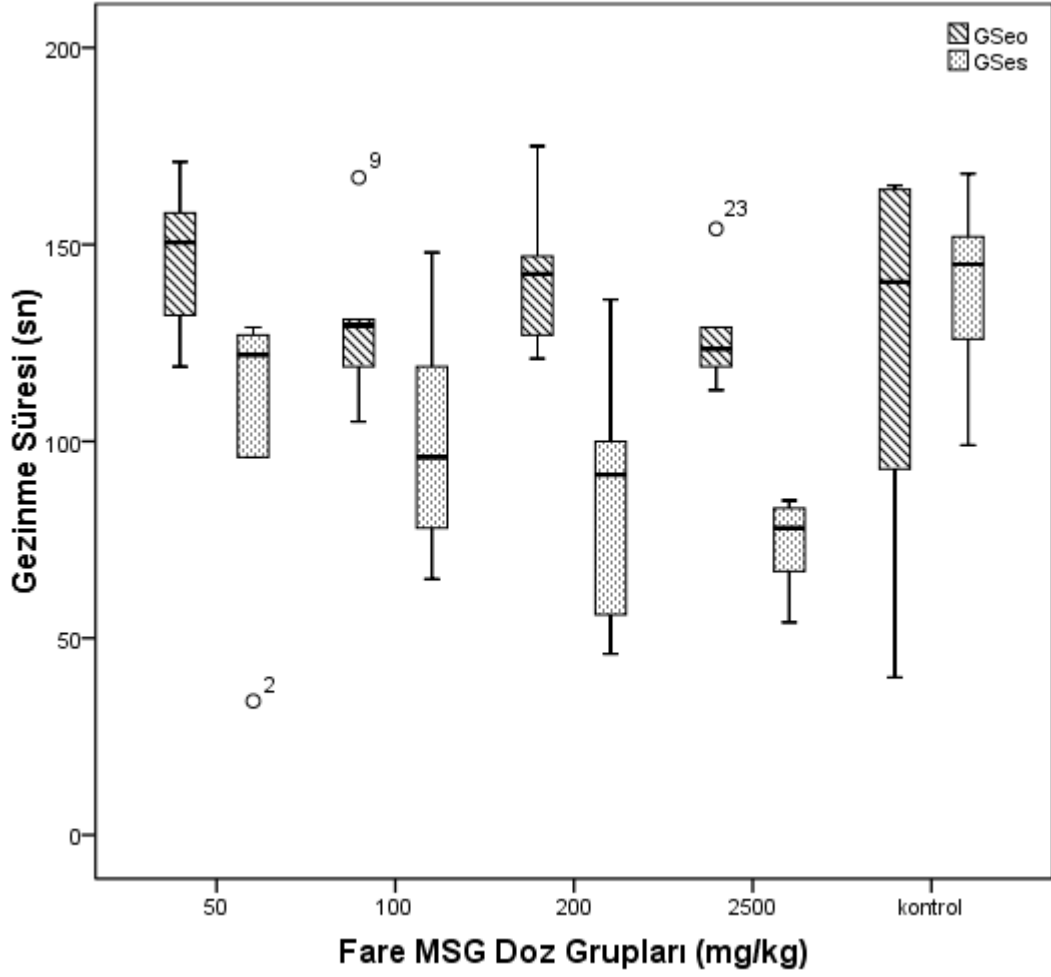
3.2.4. MSG uygulanan Farelerde Açık Alan Testi Sonuçları

Gezinme Süresi: MSG dozları uygulanan farelerde Enjeksiyon öncesi gezinme süresi ile Enjeksiyon yapıldıktan sonra gezinme süresi arasındaki farklılıkları test edebilmek için Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi uygulanmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.24’de verilmiştir. Farelerde uygulanan MSG dozları için istatistiksel bakımdan fark elde edilen gezinme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.16’da verilmiştir.

Tablo 3. 24: Farelerde MSG dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Gezinme Süresi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.

Doz grupları	Enjeksiyon Öncesi			Enjeksiyon Sonrası			Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi		
	Min	Maks	Ort±ss	Min	Maks	Ort±ss	Sd	z değeri	Önem
Kontrol	40	165	123,83±49,909	99	168	139,16±24,177	1	-0,314	0,753
MSG50	119	171	146,83±18,627	34	129	105,00±36,791	1	-1,78	0,075
MSG100	105	167	130,16±20,595	65	148	100,33±30,487	1	-1,47	0,140
MSG200	121	175	142,50±18,886	46	136	86,83±32,449	1	-2,20	0,028*
MSG2500	113	154	127,00±14,352	54	85	74,16±11,754	1	-2,20	0,028*

*p<0,05



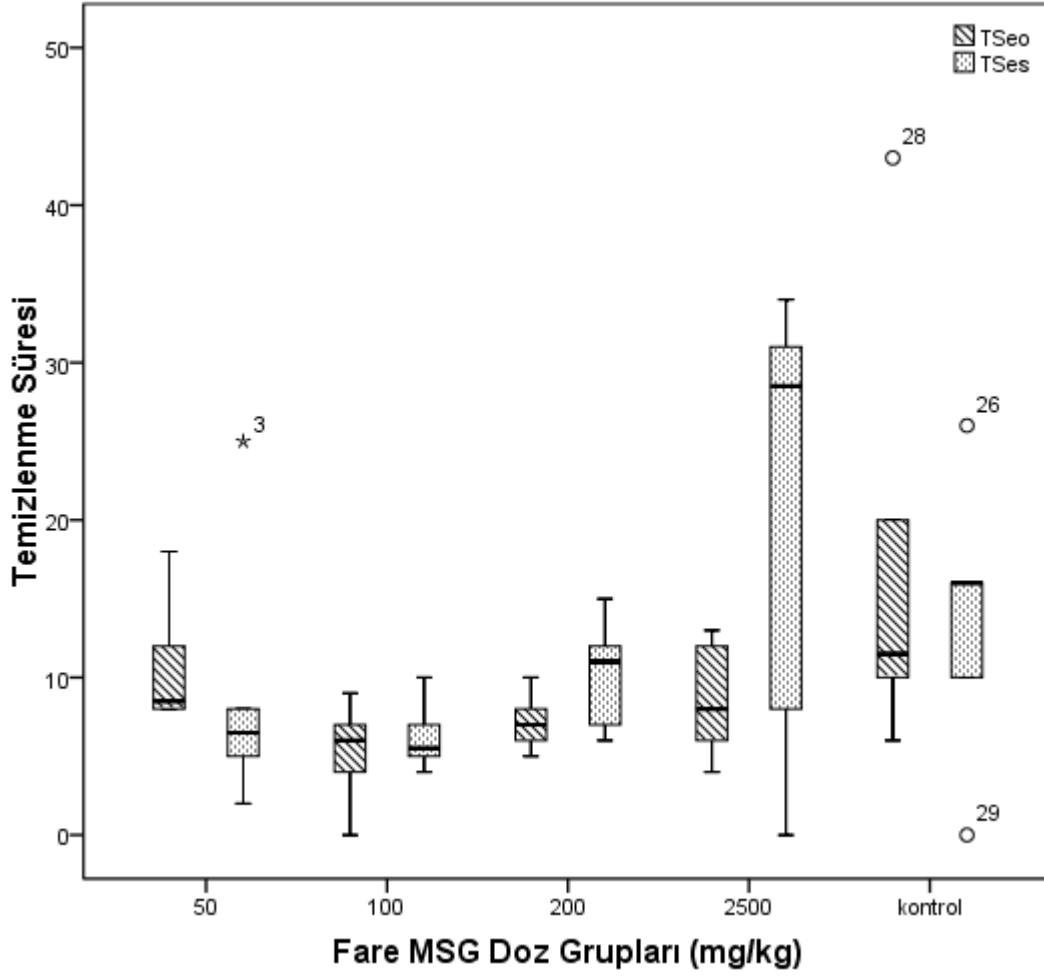
Şekil 3. 16: Farelerde uygulanan MSG dozları için elde edilen gezinme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi. GSeo: enjeksiyon öncesi gezinme süresi, GSes: enjeksiyon sonrası gezinme süresi.

Temizlenme Süresi: MSG dozları uygulanan farelerde Enjeksiyon öncesi temizlenme süresi ile Enjeksiyon yapıldıktan sonra temizlenme süresi arasındaki farklılıkları test edebilmek için Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi uygulanmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.25’de verilmiştir. Farelerde uygulanan MSG dozları için istatistiksel bakımdan fark elde edilen temizlenme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.17’de verilmiştir.

Tablo 3. 25: Farelerde MSG dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Temizlenme Süresi değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.

Doz grupları	Enjeksiyon Öncesi			Enjeksiyon Sonrası			Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi		
	Min	Maks	Ort±ss	Min	Maks	Ort±ss	Sd	z değeri	Önem
Kontrol	6	43	17,00±13,535	0	26	14,00±8,579	1	-0,314	0,753
MSG50	8	18	10,50±3,987	2	25	8,83±8,183	1	-0,67	0,500
MSG100	0	9	5,33±3,076	4	10	6,16±2,136	1	-0,36	0,715
MSG200	5	10	7,16±1,834	6	15	10,33±3,386	1	-2,04	0,041*
MSG2500	4	13	8,50±3,449	0	34	21,66±14,066	1	-1,753	0,080

*p<0,05



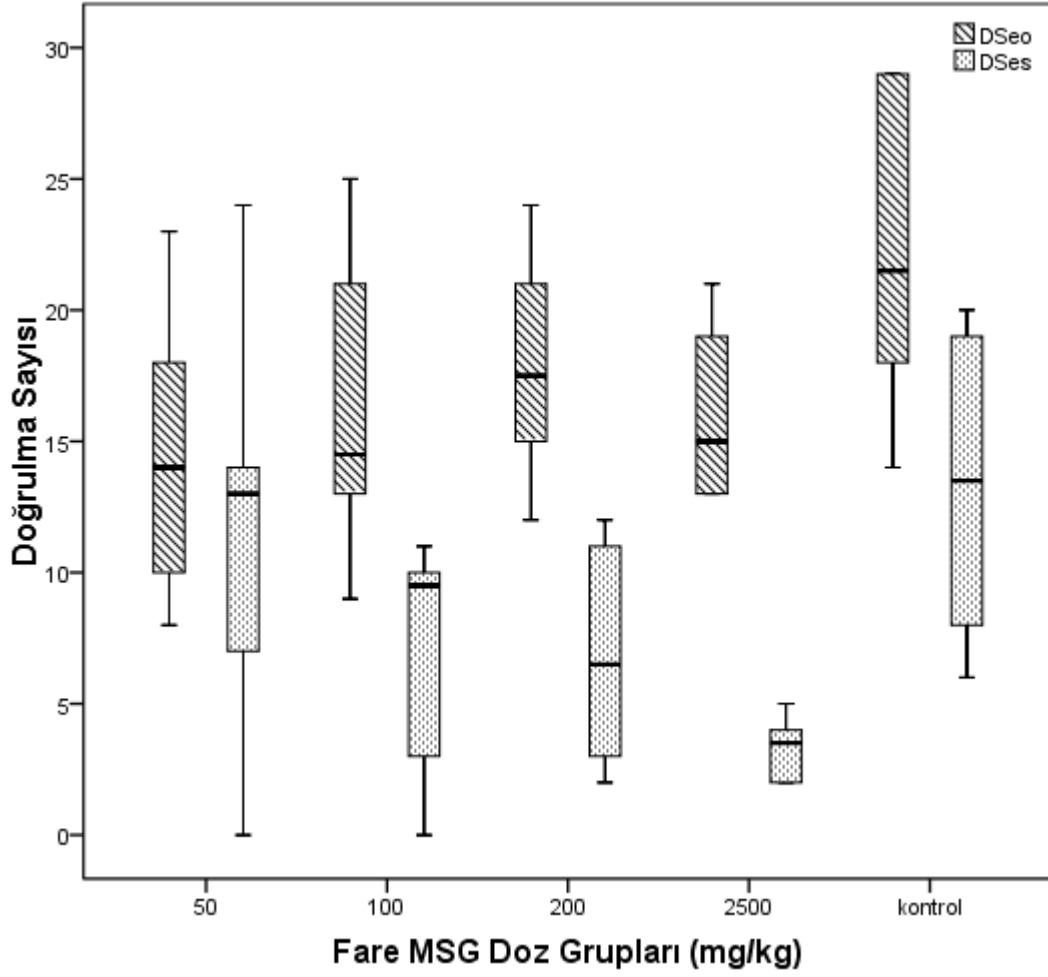
Şekil 3. 17: Farelerde uygulanan MSG dozları için elde edilen temizlenme süresi değerlerinin grafiksel gösterimi. TSeo: enjeksiyon öncesi temizlenme süresi, TSes: enjeksiyon sonrası temizlenme süresi.

Doğrulma Sayısı: MSG dozları uygulanan farelerde Enjeksiyon öncesi doğrulma sayısı ile Enjeksiyon yapıldıktan sonra doğrulma sayısı arasındaki farklılıkları test edebilmek için Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi uygulanmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.26'da verilmiştir. Farelerde uygulanan MSG dozları için istatistiksel bakımdan fark elde edilen doğrulma sayısı değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.18'de verilmiştir.

Tablo 3. 26: Farelerde MSG dozları için uygulanan açık alan testinde toplam Doğrulma Sayısı değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi sonuçları.

Doz grupları	Enjeksiyon Öncesi			Enjeksiyon Sonrası			Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi		
	Min	Maks	Ort±ss	Min	Maks	Ort±ss	Sd	z değeri	Önem
Kontrol	14	29	22,16±6,177	6	20	13,33±5,853	1	-1,58	0,114
MSG50	8	23	14,50±5,576	0	24	11,83±7,985	1	-1,26	0,207
MSG100	9	25	16,16±5,879	0	11	7,16±4,535	1	-2,20	0,028*
MSG200	12	24	17,83±4,535	2	12	6,83±4,355	1	-2,02	0,043*
MSG2500	13	21	16,00±3,286	2	5	3,33±1,211	1	-2,20	0,027*

*p<0,05



Şekil 3. 18: Farelerde uygulanan MSG dozları için elde edilen doğrulma sayısı değerlerinin grafiksel gösterimi. DSeo: enjeksiyon öncesi doğrulma sayısı, DSes: enjeksiyon sonrası doğrulma sayısı.

3.3. Fare ve Sıçanlarda Biyokimyasal Bulgular

Bu bölümde, ASP ve MSG doz uygulamaları yapılan sıçan ve fare bireylerinin beyin ve karaciğer dokularındaki dopamin, glutamat, GABA, katekolamin, MDA, GSH ve SOD düzeyleri ELISA (Cusabio, China) yöntemi ile belirlenmiştir. Dopamin, GABA, katekolamin düzeyleri beyin serebrum bölgesinde, glutamat serebellum bölgesinde, oksidatif stres parametreleri olarak MDA, GSH ve SOD düzeyleri ise, karaciğer dokusunda incelenmiştir.

3.3.1 ASP dozları uygulanan Sıçanlarda dopamin, glutamat, GABA ve katekolamin değerleri

Sıçanlarda ASP dozları için ölçülen dopamin, glutamat, GABA ve katekolamin değerlerine bakıldığı zaman, istatistiksel bakımdan anlamlı fark saptanmıştır (Tablo 3.27). İstatistiksel bakımdan anlamlı bulunan parametreler Tablo 3.28’de belirtilmiştir. Dopamin, glutamat ve katekolamin değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.19’da verilmiştir.

Tablo 3. 27: Sıçanlarda ASP dozları için ölçülen GABA, dopamin, glutamat, katekolamin değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.

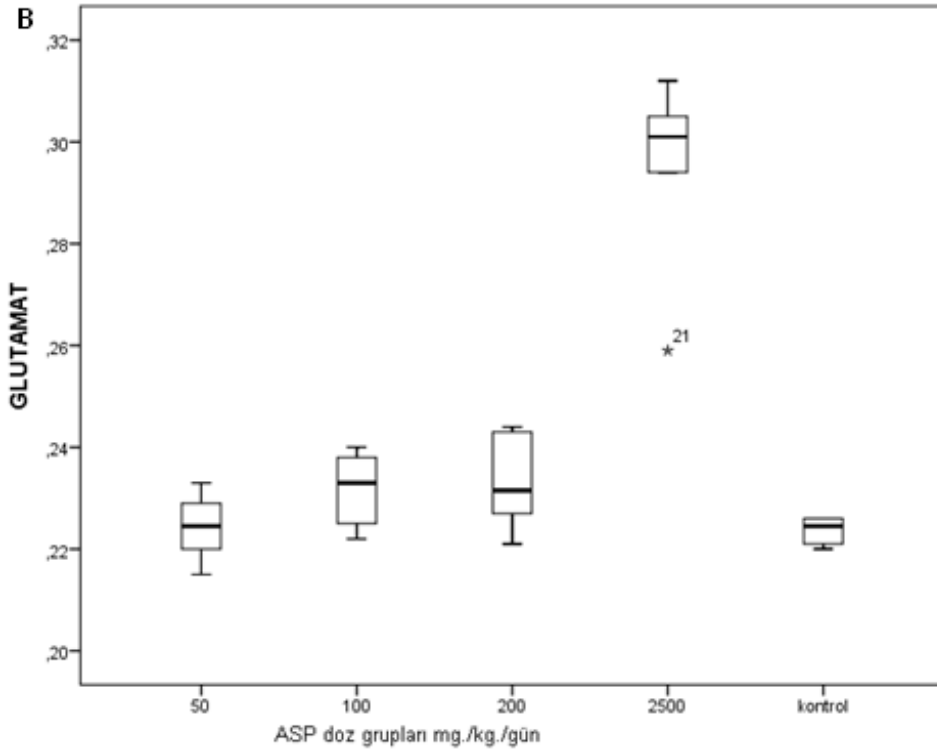
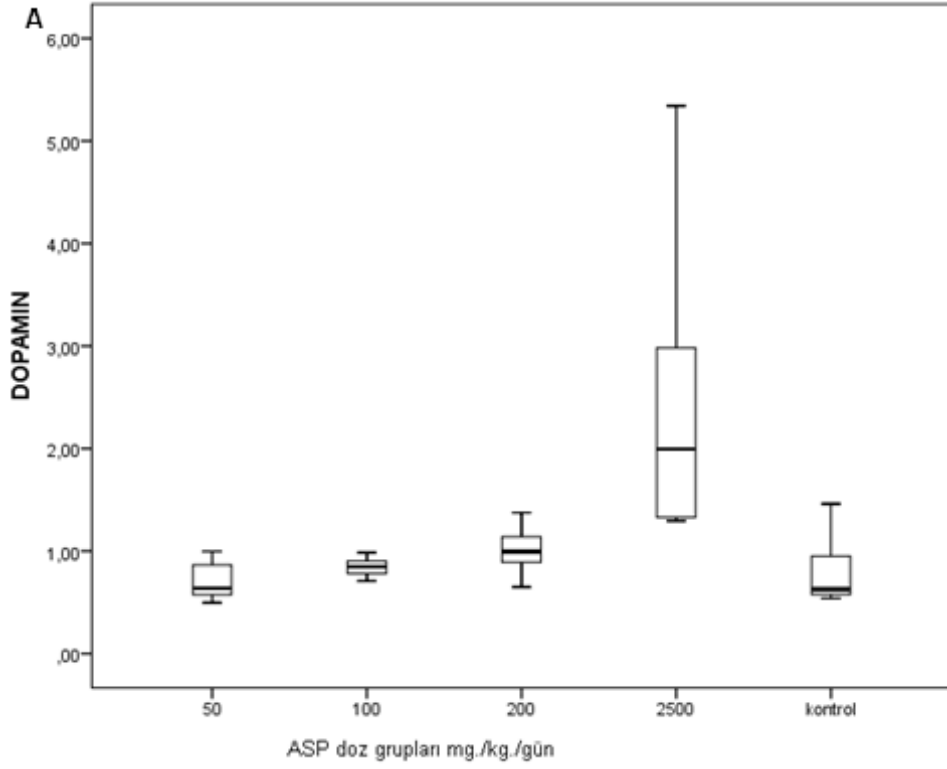
SIÇAN ASP		N	Min	Maks	Ort	Std. H.	Sd	F	Önem
GABA	Kontrol	6	1	1	1,13	0,123	4	2,650	0,057
	50	6	1	1	1,05	0,066			
	100	6	1	1	0,93	0,033			
	200	6	1	1	0,93	0,024			
	2500	6	0	1	0,71	0,159			
DOPAMİN	Kontrol	6	1	1	0,80	0,146	4	6,496	0,001*
	50	6	0	1	0,70	0,078			
	100	6	1	1	0,85	0,041			
	200	6	1	1	1,01	0,099			
	2500	6	1	5	2,49	0,625			
GLUTAMAT	Kontrol	6	0	0	0,22	0,001	4	51,387	0,000*
	50	6	0	0	0,22	0,003			
	100	6	0	0	0,23	0,003			
	200	6	0	0	0,23	0,004			
	2500	6	0	0	0,30	0,008			
KATEKOLAMİN	Kontrol	6	27	42	32,83	2,167	4	28,417	0,000*
	50	6	36	53	46,76	2,759			
	100	6	35	42	38,24	1,047			
	200	6	31	42	34,64	1,614			
	2500	6	10	23	17,75	1,907			

*p<0,001

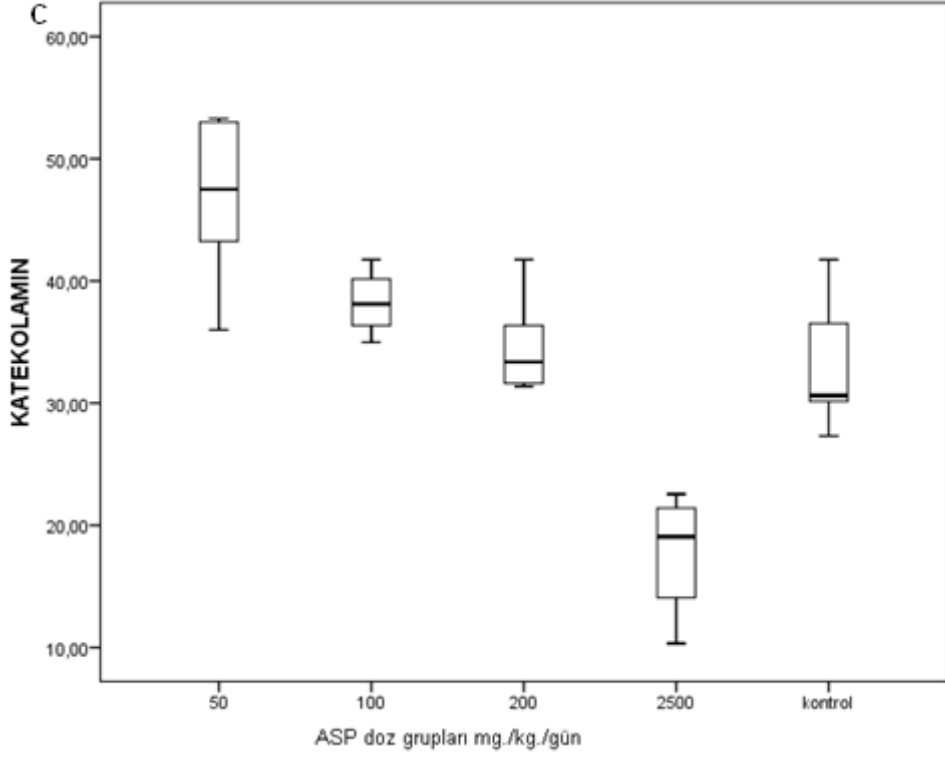
Tablo 3. 28: Sıçanlarda ASP dozları için ölçülen dopamin, glutamat, katekolamin değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.

	Grup		Mann-Whitney U	p
	Kontrol	Doz		
DOPAMİN	Kontrol	50	16,00	0,818
	Kontrol	100	11,00	0,310
	Kontrol	200	9,00	0,180
	Kontrol	2500	2,00	0,009*
	50	100	9,00	0,180
	50	200	5,00	0,041*
	50	2500	0,00	0,002*
	100	200	9,50	0,180
	100	2500	0,00	0,002*
	200	2500	2,00	0,009*
GLUTAMAT	Kontrol	50	15,50	0,699
	Kontrol	100	6,50	0,065
	Kontrol	200	4,50	0,026*
	Kontrol	2500	0,00	0,002*
	50	100	7,50	0,093
	50	200	8,00	0,132
	50	2500	0,00	0,002*
	100	200	16,00	0,818
	100	2500	0,00	0,002*
	200	2500	0,00	0,002*
KATEKOLAMİN	Kontrol	50	2,00	0,009*
	Kontrol	100	7,50	0,093
	Kontrol	200	10,50	0,240
	Kontrol	2500	0,00	0,002*
	50	100	5,00	0,041*
	50	200	2,00	0,009*
	50	2500	0,00	0,002*
	100	200	7,00	0,093
	100	2500	0,00	0,002*
	200	2500	0,00	0,002*

*p<0,05



Şekil 3. 19: ASP dozları uygulanan sıçanlarda beyinde ölçülen dopamin, glutamat ve katekolamin değerlerinin grafiksel gösterimi. A: Dopamin düzeyi, B: Glutamat düzeyi.



Şekil 3. 19 (devam): ASP dozları uygulanan sıçanlarda beyinde ölçülen dopamin, glutamat ve katekolamin değerlerinin grafiksel gösterimi. C: Katekolamin düzeyi.

3.3.2. MSG dozları uygulanan Sıçanlarda dopamin, glutamat, GABA ve katekolamin değerleri

Sıçanlarda MSG dozları için ölçülen dopamin, glutamat, GABA ve katekolamin değerlerine bakıldığı zaman, istatistiksel bakımdan anlamlı fark saptanmıştır ($p < 0,05$ Tablo 3.29). İstatistiksel bakımdan anlamlı bulunan parametreler Tablo 3.30'da belirtilmiştir. Dopamin, glutamat ve katekolamin değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.20'de verilmiştir.

Tablo 3. 29: Sıçanlarda MSG dozları için ölçülen GABA, dopamin, katekolamin, glutamat değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.

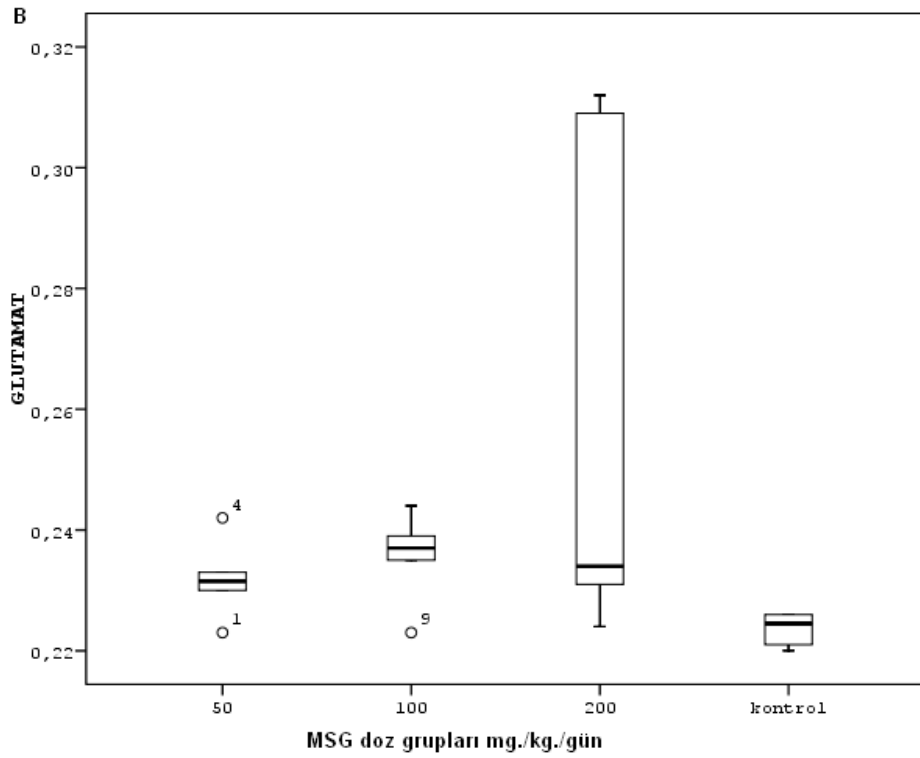
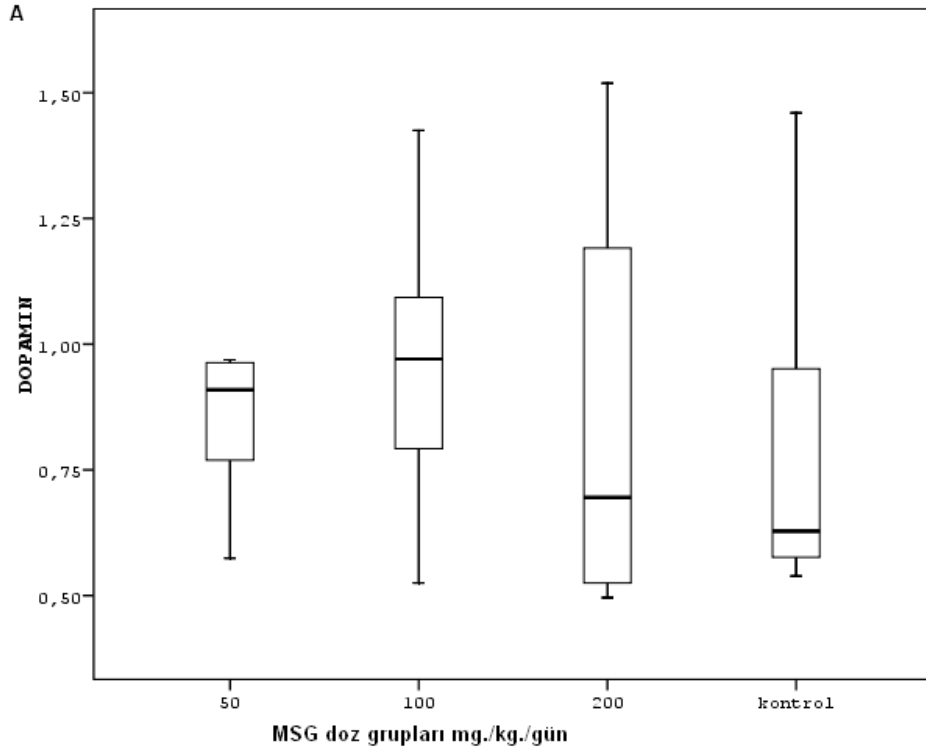
SIÇAN MSG		N	Min	Maks	Ort	Std. H.	Sd	F	Önem
GABA	Kontrol	6	0,61	1,46	1,13	0,123	4	1,255	0,314
	50	6	0,35	2,20	1,11	0,274			
	100	6	0,53	1,36	0,92	0,152			
	200	6	0,51	0,98	0,78	0,074			
	2500	6	0,47	1,02	0,74	0,098			
DOPAMİN	Kontrol	6	0,54	1,46	0,80	0,146	4	20,931	0,000*
	50	6	0,57	0,97	0,85	0,063			
	100	6	0,53	1,43	0,96	0,123			
	200	6	0,50	1,52	0,85	0,168			
	2500	6	2,10	6,98	4,14	0,667			
GLUTAMAT	Kontrol	6	0,22	0,23	0,22	0,001	4	16,511	0,000*
	50	6	0,22	0,24	0,23	0,002			
	100	6	0,22	0,24	0,24	0,003			
	200	6	0,22	0,31	0,26	0,017			
	2500	6	0,30	0,31	0,30	0,003			
KATEKOLAMİN	Kontrol	6	27,31	41,74	32,83	2,167	4	17,266	0,000*
	50	6	34,98	47,46	41,45	1,977			
	100	6	27,97	50,00	41,19	3,145			
	200	6	21,25	33,54	30,63	1,898			
	2500	6	10,72	27,15	17,74	2,278			

*p<0,001

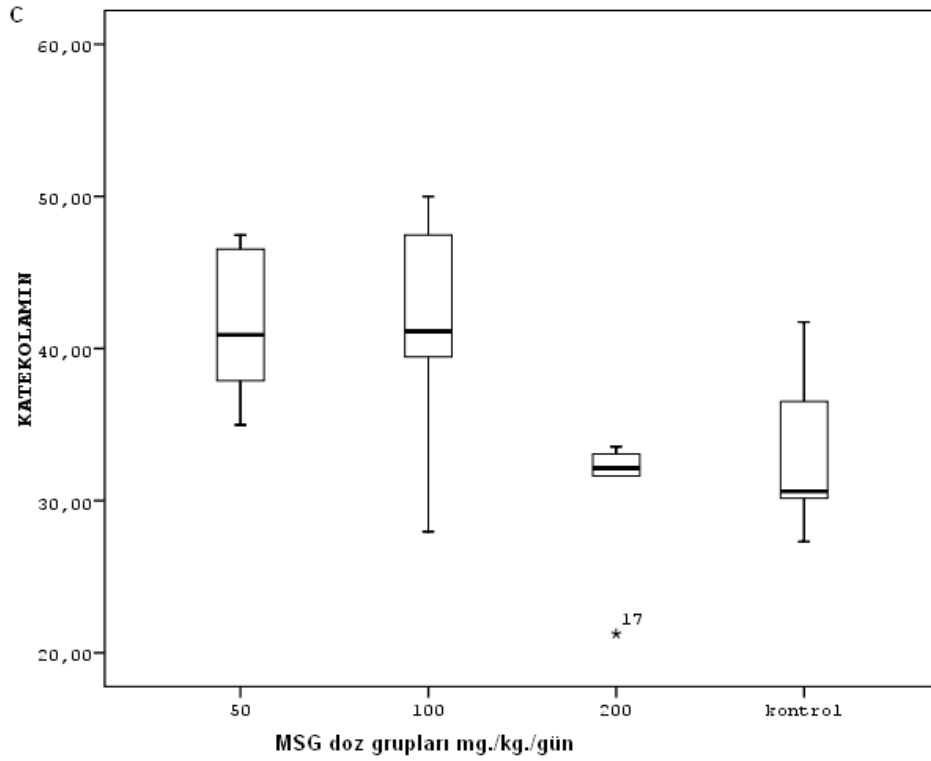
Tablo 3. 30: Sıçanlarda MSG dozları için ölçülen dopamin, glutamat, katekolamin değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.

	Grup		Mann-Whitney U	p
	Kontrol	Doz		
DOPAMİN	Kontrol	50	13,00	0,485
	Kontrol	100	12,00	0,394
	Kontrol	200	18,00	1,000
	Kontrol	2500	0,00	0,002*
	50	100	12,00	0,394
	50	200	14,00	0,589
	50	2500	0,00	0,002*
	100	200	13,50	0,485
	100	2500	0,00	0,002*
	200	2500	0,00	0,002*
GLUTAMAT	Kontrol	50	4,00	0,026*
	Kontrol	100	4,00	0,026*
	Kontrol	200	3,50	0,015*
	Kontrol	2500	0,00	0,002*
	50	100	9,50	0,180
	50	200	13,00	0,485
	50	2500	0,00	0,002*
	100	200	18,00	1,000
	100	2500	0,00	0,002*
	200	2500	11,00	0,310
KATEKOLAMİN	Kontrol	50	5,00	0,041*
	Kontrol	100	7,00	0,093
	Kontrol	200	16,00	0,818
	Kontrol	2500	0,00	0,002*
	50	100	16,50	0,818
	50	200	0,00	0,002*
	50	2500	0,00	0,002*
	100	200	5,00	0,041*
	100	2500	0,00	0,002*
	200	2500	1,00	0,004*

*p<0,05



Şekil 3. 20: MSG dozları uygulanan sıçanlarda beyinde ölçülen dopamin, glutamat, katekolamin değerlerinin grafiksel gösterimi. A: Dopamin düzeyi, B: Glutamat düzeyi, C: Katekolamin düzeyi.



Şekil 3. 20 (devam):MSG dozları uygulanan sıçanlarda beyinde ölçülen dopamin, glutamat, katekolamin değerlerinin grafiksel gösterimi. C: Katekolamin düzeyi.

3.3.3. ASP dozları uygulanan Sıçanlarda MDA, GSH ve SOD değerleri

Sıçanlarda ASP dozları için, oksidatif stres parametreleri olarak MDA, GSH ve SOD değerlerine bakıldığı zaman, istatistiksel bakımdan anlamlı fark saptanmıştır ($p < 0,05$ Tablo 3.31). İstatistiksel bakımdan anlamlı bulunan parametreler Tablo 3.32'de belirtilmiştir. MDA, GSH ve SOD değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.21'de verilmiştir.

Tablo 3. 31: Sıçanlarda ASP dozları için ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.

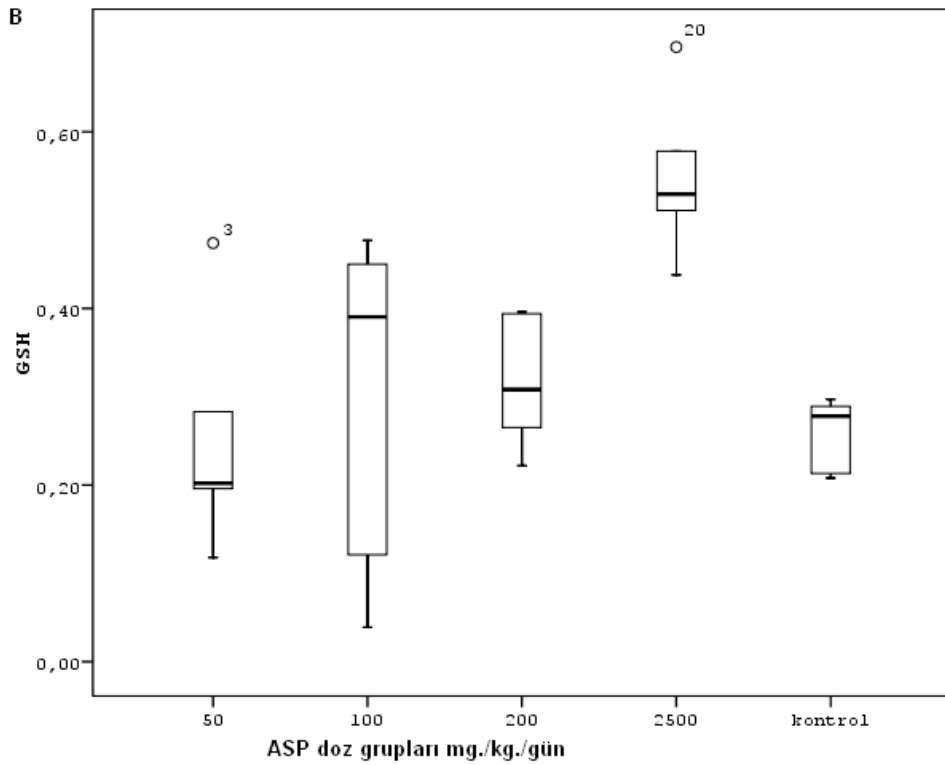
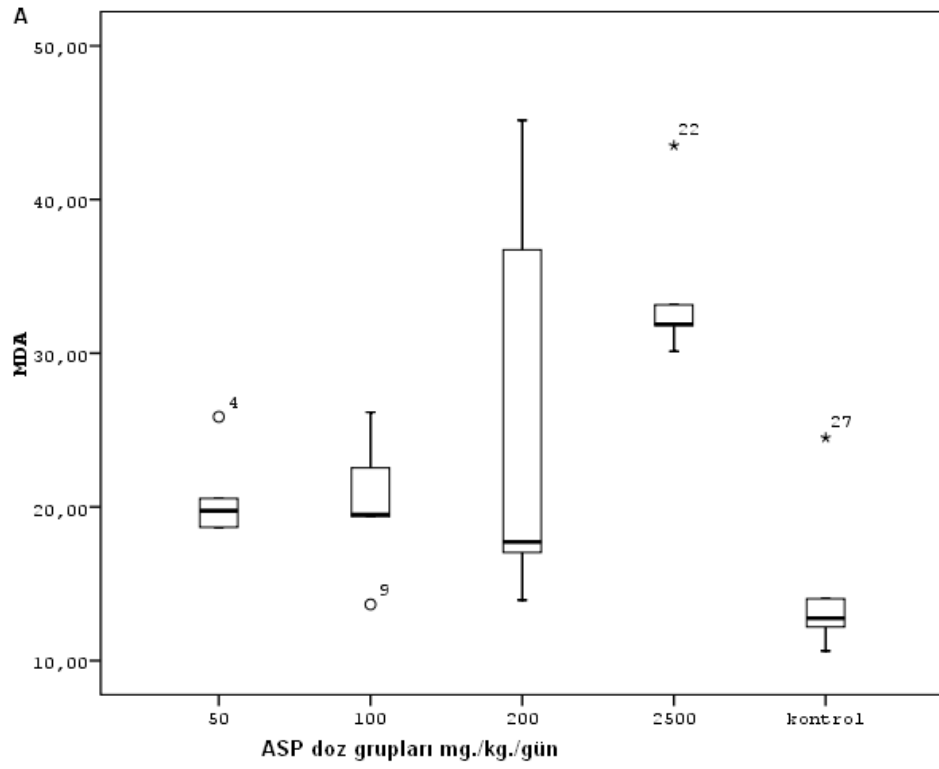
SIÇAN ASP	N	Min	Maks	Ort	Std. H.	Sd	F	Önem	
MDA	Kontrol	6	11	25	14,48	2,057	4	6,372	0,001*
	50	6	19	26	20,54	1,103			
	100	6	14	26	20,12	1,688			
	200	6	14	45	24,71	5,277			
	2500	6	30	44	33,73	1,996			
GSH	Kontrol	6	0	0	0,26	0,016	4	6,958	0,001*
	50	6	0	0	0,25	0,050			
	100	6	0	0	0,31	0,076			
	200	6	0	0	0,32	0,029			
	2500	6	0	1	0,55	0,035			
SOD	Kontrol	6	0	0	0,36	0,005	4	125,444	0,000*
	50	6	3	4	3,41	0,169			
	100	6	3	4	3,47	0,143			
	200	6	3	5	3,82	0,365			
	2500	6	7	10	8,71	0,421			

*p<0,001

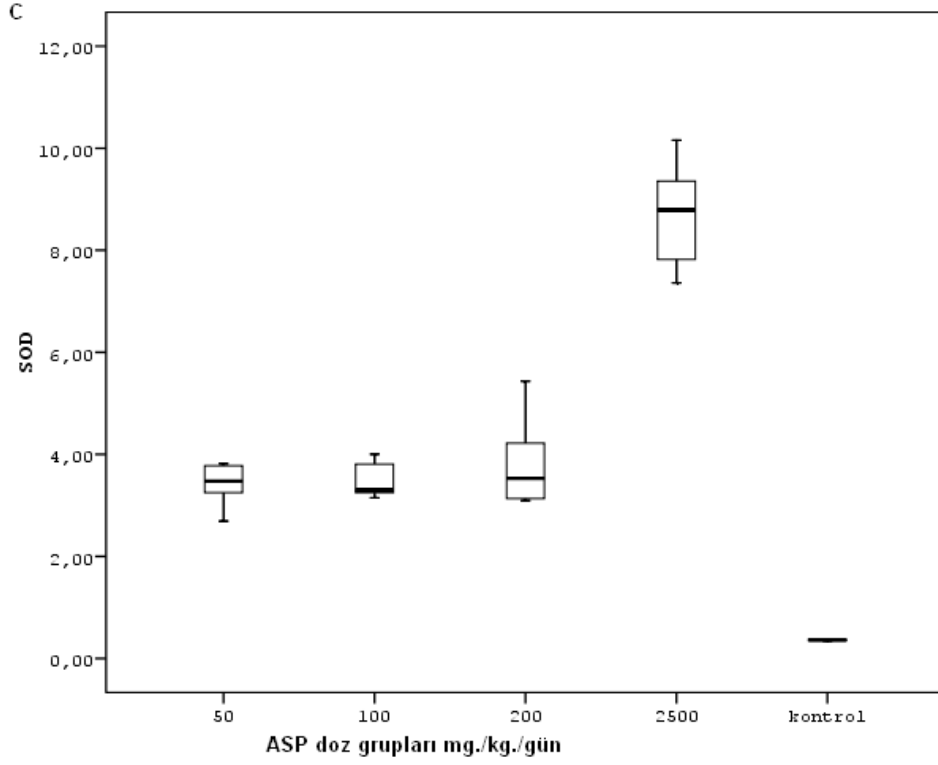
Tablo 3. 32: Sıçanlarda ASP dozları için ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.

	Grup		Mann-Whitney U	p
	Kontrol	Doz		
MDA	Kontrol	50	5,00	0,041*
	Kontrol	100	6,00	0,065
	Kontrol	200	5,00	0,041*
	Kontrol	2500	0,00	0,002*
	50	100	17,00	0,937
	50	200	12,00	0,394
	50	2500	0,00	0,002*
	100	200	16,00	0,818
	100	2500	0,00	0,002*
	200	2500	11,00	0,310
GSH	Kontrol	50	9,00	0,180
	Kontrol	100	12,00	0,394
	Kontrol	200	11,00	0,310
	Kontrol	2500	0,00	0,002*
	50	100	14,00	0,589
	50	200	9,00	0,180
	50	2500	1,00	0,004*
	100	200	14,00	0,589
	100	2500	2,00	0,009*
	200	2500	0,00	0,002*
SOD	Kontrol	50	0,00	0,002*
	Kontrol	100	0,00	0,002*
	Kontrol	200	0,000	0,002*
	Kontrol	2500	0,00	0,002*
	50	100	17,50	0,937
	50	200	16,00	0,818
	50	2500	0,00	0,002*
	100	200	16,00	0,818
	100	2500	0,00	0,002*
	200	2500	0,00	0,002*

*p<0,05



Şekil 3. 21: ASP dozları uygulanan sıçanlarda beyinde ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerinin grafiksel gösterimi. A: MDA düzeyi, B: GSH düzeyi.



Şekil 3. 21 (devam): ASP dozları uygulanan sıçanlarda beyinde ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerinin grafiksel gösterimi. C: SOD düzeyi.

3.3.4. MSG dozları uygulanan Sıçanlarda MDA, GSH ve SOD değerleri

Sıçanlarda MSG dozları için, oksidatif stres parametreleri olarak MDA, GSH ve SOD değerlerine bakıldığı zaman, MDA ve SOD değerlerinde istatistiksel bakımdan anlamlı fark saptanmıştır ($p < 0,05$ Tablo 3.33). İstatistiksel bakımdan anlamlı bulunan parametreler Tablo 3.34’de belirtilmiştir. MDA ve SOD değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.22’de verilmiştir.

Tablo 3. 33: Sıçanlarda MSG dozları için ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.

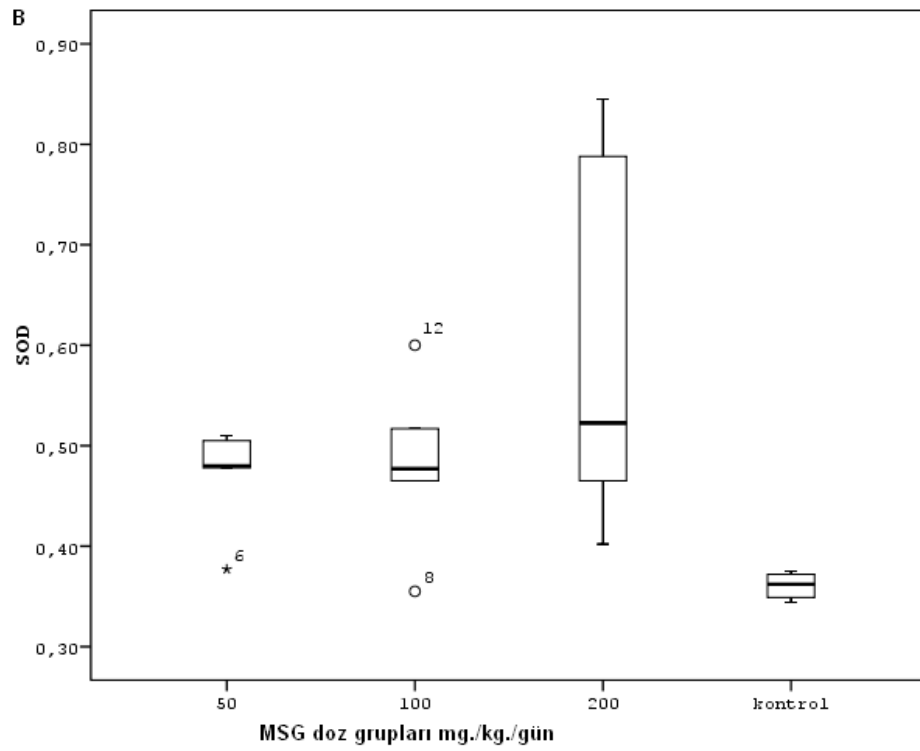
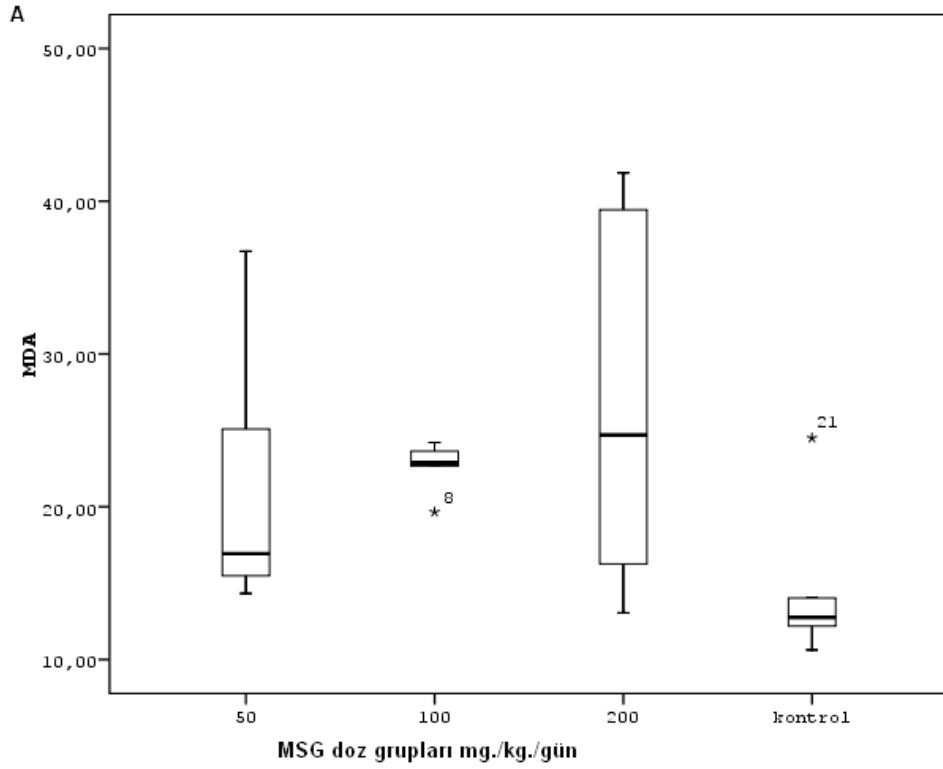
SIÇAN MSG	N	Min	Maks	Ort	Std. H.	Sd	F	Önem	
MDA	Kontrol	6	10,63	24,50	14,48	2,057	4	4,568	0,007*
	50	6	14,32	36,72	20,91	3,526			
	100	6	19,65	24,21	22,65	0,646			
	200	6	13,06	41,86	26,67	4,975			
	2500	6	25,28	43,42	32,81	2,992			
GSH	Kontrol	6	0,21	0,30	0,26	0,016	4	1,943	0,135
	50	6	0,12	0,29	0,21	0,025			
	100	6	0,10	0,44	0,27	0,051			
	200	6	0,15	0,38	0,27	0,041			
	2500	6	0,31	0,38	0,34	0,010			
SOD	Kontrol	6	0,34	0,38	0,36	0,005	4	23,957	0,000*
	50	6	0,38	0,51	0,47	0,020			
	100	6	0,36	0,60	0,48	0,032			
	200	6	0,40	0,85	0,59	0,074			
	2500	6	0,75	1,01	0,89	0,041			

*p<0,05

Tablo 3. 34: Sıçanlarda MSG dozları için ölçülen MDA, SOD değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.

	Grup		Mann-Whitney U	p
MDA	Kontrol	50	4,00	0,026*
	Kontrol	100	6,00	0,065
	Kontrol	200	5,00	0,041*
	Kontrol	2500	0,00	0,002*
	50	100	12,00	0,394
	50	200	12,50	0,394
	50	2500	4,00	0,026*
	100	200	17,00	0,937
	100	2500	0,00	0,002*
	200	2500	12,00	0,394
SOD	Kontrol	50	0,00	0,002*
	Kontrol	100	4,00	0,026*
	Kontrol	200	0,00	0,002*
	Kontrol	2500	0,00	0,002*
	50	100	18,00	1,000
	50	200	10,00	0,240
	50	2500	0,00	0,002*
	100	200	11,50	0,310
	100	2500	0,00	0,002*
	200	2500	3,00	0,015*

*p<0,05



Şekil 3. 22: MSG dozları uygulanan sıçanlarda beyinde ölçülen MDA, SOD değerlerinin grafiksel gösterimi. A: MDA düzeyi, B: SOD düzeyi.

3.3.5. ASP dozları uygulanan Farelerde dopamin, glutamat, GABA ve katekolamin değerleri

Farelerde ASP dozları için ölçülen dopamin, glutamat, GABA ve katekolamin değerlerine bakıldığı zaman, istatistiksel bakımdan anlamlı fark saptanmıştır ($p < 0,05$ Tablo 3.35). İstatistiksel bakımdan anlamlı bulunan parametreler Tablo 3.36'da belirtilmiştir. GABA düzeyinin grafiksel gösterimi Şekil 3.23'de verilmiştir.

Tablo 3. 35: Farelerde ASP dozları için ölçülen GABA, dopamin, katekolamin, glutamat değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.

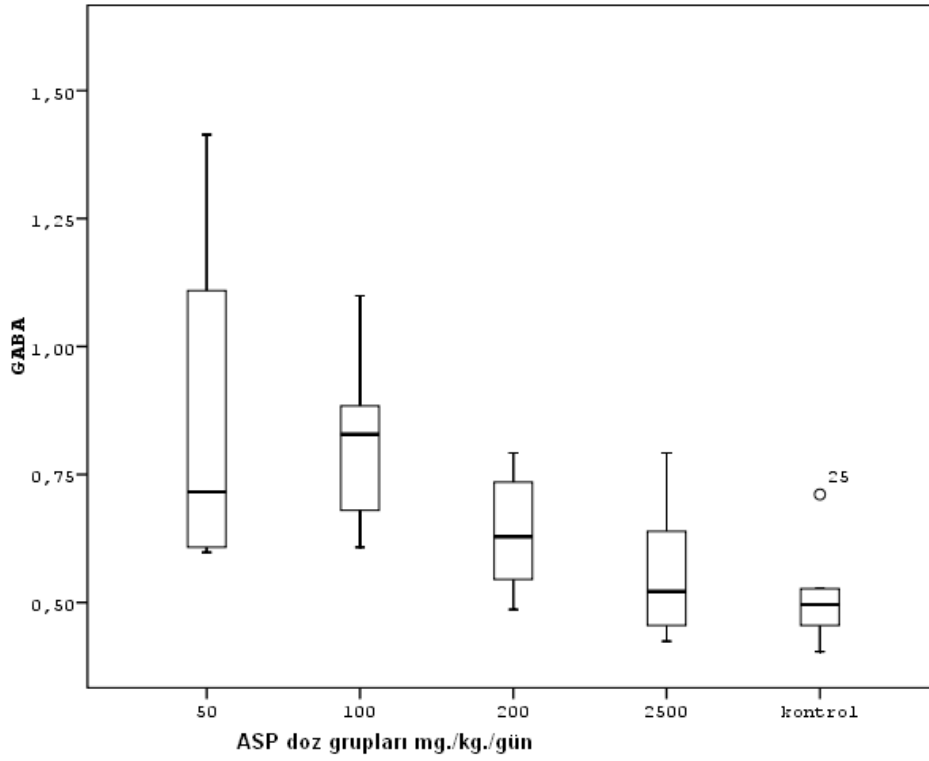
FARE ASP		N	Min	Maks	Ort	Std. H.	Sd	F	Önem
GABA	Kontrol	6	0,4	0,71	0,51	0,043	4	3,883	0,014*
	50	6	0,6	1,41	0,86	0,137			
	100	6	0,61	1,1	0,82	0,070			
	200	6	0,49	0,79	0,64	0,047			
	2500	6	0,42	0,79	0,56	0,058			
DOPAMİN	Kontrol	6	1,6	2,08	1,78	0,069	4	0,115	0,976
	50	6	1,36	1,95	1,69	0,093			
	100	6	0,52	2,62	1,70	0,295			
	200	6	1,41	1,97	1,75	0,081			
	2500	6	1,22	2,09	1,81	0,128			
GLUTAMAT	Kontrol	6	0,2	0,29	0,26	0,012	4	0,481	0,749
	50	6	0,24	0,28	0,26	0,006			
	100	6	0,24	0,3	0,27	0,008			
	200	6	0,23	0,29	0,27	0,008			
	2500	6	0,26	0,28	0,27	0,003			
KATEKOLAMİN	Kontrol	6	11,98	28,54	20,64	2,567	4	2,599	0,061
	50	6	10,15	40,11	16,74	4,692			
	100	6	13,26	20,03	15,40	1,001			
	200	6	5,29	18,79	11,04	2,116			
	2500	6	4,89	16,98	9,85	1,700			

* $p < 0,05$

Tablo 3. 36: Farelerde ASP dozları için ölçülen GABA değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.

	Grup		Mann-Whitney U	p
	Kontrol	Doz		
GABA	Kontrol	50	3,00	0,015*
	Kontrol	100	2,00	0,009*
	Kontrol	200	6,50	0,065
	Kontrol	2500	16,00	0,818
	50	100	16,00	0,818
	50	200	12,00	0,394
	50	2500	6,00	0,065
	100	200	6,00	0,065
	100	2500	3,00	0,015*
	200	2500	11,50	0,310

*p<0,05



Şekil 3. 23: ASP dozları uygulanan farelerde beyinde ölçülen GABA değerlerinin grafiksel gösterimi.

3.3.6. MSG dozları uygulanan Farelerde dopamin, glutamat, GABA ve katekolamin değerleri

Farelerde MSG dozları için ölçülen dopamin, glutamat, GABA ve katekolamin değerlerine bakıldığı zaman, istatistiksel bakımdan anlamlı fark saptanmıştır ($p < 0,05$ Tablo 3.37). İstatistiksel bakımdan anlamlı bulunan parametreler Tablo 3.38’de belirtilmiştir. Glutamat düzeyinin grafiksel gösterimi Şekil 3.24’de verilmiştir.

Tablo 3. 37: Farelerde MSG dozları için ölçülen GABA, dopamin, katekolamin, glutamat değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.

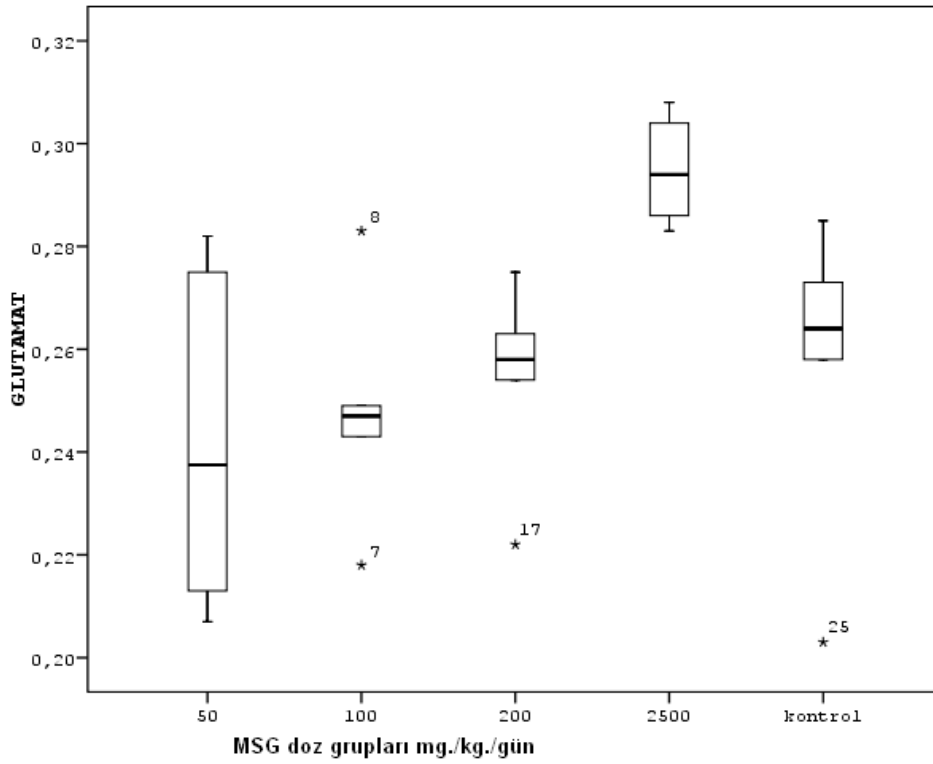
FARE MSG		N	Min	Maks	Ort	Std. H.	Sd	F	Önem
GABA	Kontrol	6	0	1	0,51	0,043	4	1,858	0,149
	50	6	1	1	0,71	0,082			
	100	6	0	1	0,66	0,127			
	200	6	0	1	0,63	0,080			
	2500	6	0	1	0,44	0,043			
DOPAMIN	Kontrol	6	2	2	1,78	0,069	4	2,555	0,064
	50	6	1	2	1,72	0,122			
	100	6	2	2	2,02	0,142			
	200	6	2	2	2,11	0,071			
	2500	6	1	3	2,12	0,155			
GLUTAMAT	Kontrol	6	0	0	0,26	0,012	4	4,815	0,005*
	50	6	0	0	0,24	0,013			
	100	6	0	0	0,25	0,008			
	200	6	0	0	0,26	0,007			
	2500	6	0	0	0,29	0,004			
KATEKOLAMIN	Kontrol	6	11	30	19,98	3,383	4	1,452	0,246
	50	6	21	50	28,86	4,511			
	100	6	10	52	33,16	7,080			
	200	6	20	30	24,32	1,613			
	2500	6	20	30	24,32	1,613			

* $p < 0,05$

Tablo 3. 38: Farelerde MSG dozları için ölçülen glutamat değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.

	Grup		Mann-Whitney U	p
	Kontrol	Doz		
GLUTAMAT	Kontrol	50	14,00	0,589
	Kontrol	100	10,00	0,240
	Kontrol	200	13,00	0,485
	Kontrol	2500	1,00	0,004*
	50	100	15,50	0,699
	50	200	13,50	0,485
	50	2500	0,00	0,002*
	100	200	10,00	0,240
	100	2500	0,50	0,002*
	200	2500	0,00	0,002*

*p<0,05



Şekil 3. 24: MSG dozları uygulanan farelerde beyinde ölçülen glutamat değerlerinin grafiksel gösterimi.

3.3.7. ASP dozları uygulanan Farelerde MDA, GSH ve SOD değerleri

Farelerde ASP dozları için, oksidatif stres parametreleri olarak MDA, GSH ve SOD değerlerine bakıldığı zaman, istatistiksel bakımdan anlamlı fark saptanmıştır ($p < 0,05$ Tablo 3.39). İstatistiksel bakımdan anlamlı bulunan parametreler Tablo 3.40'da belirtilmiştir. MDA, GSH ve SOD değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.25'de verilmiştir.

Tablo 3. 39: Farelerde ASP dozları için ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.

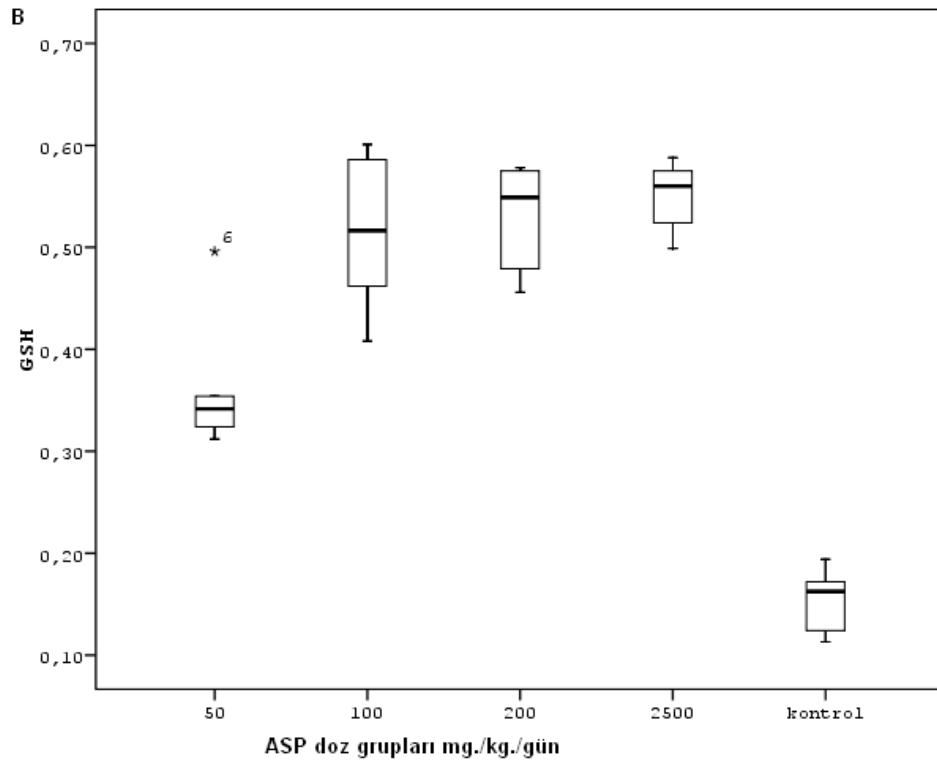
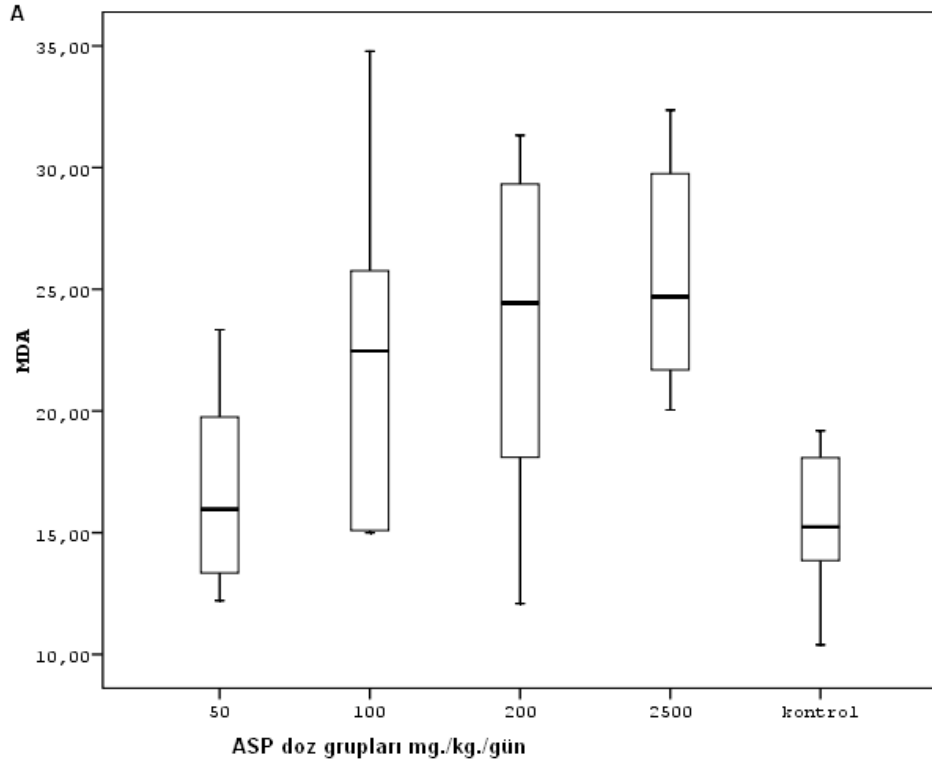
FARE ASP	N	Min	Maks	Ort	Std. H.	Sd	F	Önem	
MDA	Kontrol	6	10,39	19,18	15,33	1,296	4	3,484	0,022*
	50	6	12,21	23,34	16,76	1,795			
	100	6	15	34,78	22,59	3,126			
	200	6	12,09	31,32	23,28	3,090			
	2500	6	20,04	32,36	25,54	1,937			
GSH	Kontrol	6	0,11	0,19	0,15	0,012	4	55,764	0,000**
	50	6	0,31	0,5	0,36	0,028			
	100	6	0,41	0,6	0,52	0,031			
	200	6	0,46	0,58	0,53	0,022			
	2500	6	0,5	0,59	0,55	0,014			
SOD	Kontrol	6	7,66	11,35	9,30	0,523	4	4,716	0,006*
	50	6	3,78	8,07	5,78	0,596			
	100	6	5,94	8,37	6,69	0,364			
	200	6	6,92	9,56	8,31	0,369			
	2500	6	6,01	13,6	8,70	1,176			

* $p < 0,05$ ** $p < 0,001$

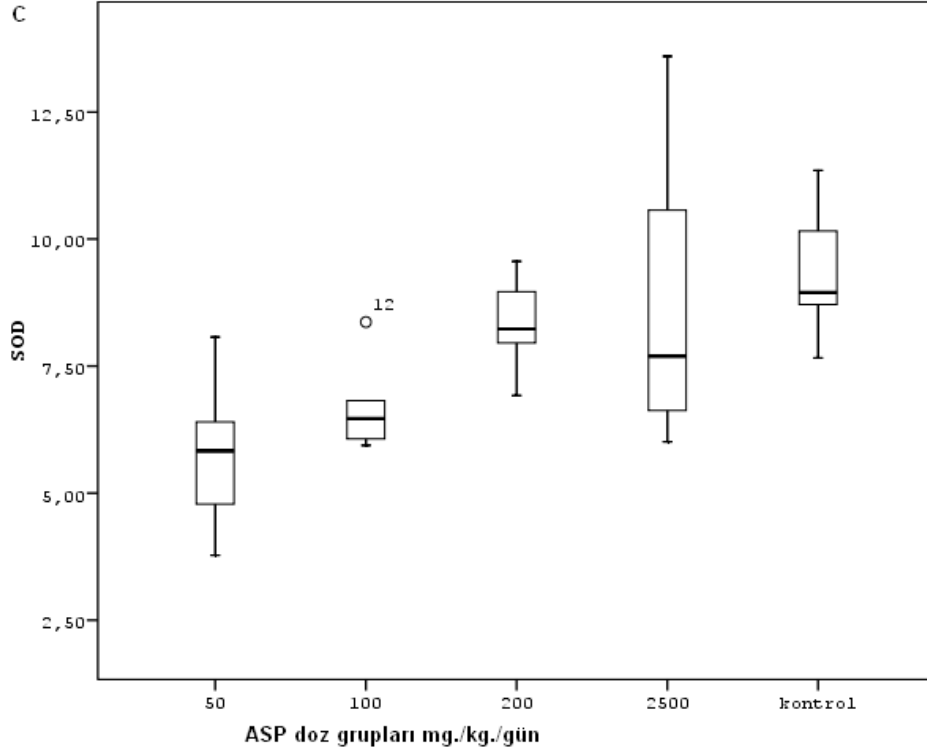
Tablo 3. 40: Farelerde ASP dozları için ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.

	Grup		Mann-Whitney U	p
	Kontrol	Doz		
MDA	Kontrol	50	16,00	0,818
	Kontrol	100	6,00	0,065
	Kontrol	200	6,00	0,065
	Kontrol	2500	0,00	0,002*
	50	100	8,00	0,132
	50	200	10,00	0,240
	50	2500	2,00	0,009*
	100	200	16,00	0,818
	100	2500	13,50	0,485
	200	2500	14,00	0,589
GSH	Kontrol	50	0,00	0,002*
	Kontrol	100	0,00	0,002*
	Kontrol	200	0,00	0,002*
	Kontrol	2500	0,00	0,002*
	50	100	3,00	0,015*
	50	200	2,00	0,009*
	50	2500	0,00	0,002*
	100	200	18,00	1,000
	100	2500	13,00	0,485
	200	2500	15,50	0,699
SOD	Kontrol	50	1,00	0,004*
	Kontrol	100	1,00	0,004*
	Kontrol	200	11,00	0,310
	Kontrol	2500	12,00	0,394
	50	100	8,00	0,132
	50	200	2,00	0,009*
	50	2500	4,00	0,026*
	100	200	4,00	0,026*
	100	2500	10,00	0,240
	200	2500	16,00	0,818

*p<0,05



Şekil 3. 25: ASP dozları uygulanan farelerde beyinde ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerinin grafiksel gösterimi. A: MDA düzeyi, B: GSH düzeyi.



Şekil 3. 25 (devam): ASP dozları uygulanan farelerde beyinde ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerinin grafiksel gösterimi. C: SOD düzeyi.

3.3.8. MSG dozları uygulanan Farelerde MDA, GSH ve SOD değerleri

Farelerde MSG dozları için, oksidatif stres parametreleri olarak MDA, GSH ve SOD değerlerine bakıldığı zaman, istatistiksel bakımdan anlamlı fark saptanmıştır ($p < 0,05$ Tablo 3.41). İstatistiksel bakımdan anlamlı bulunan parametreler Tablo 3.42’de belirtilmiştir. MDA, GSH ve SOD değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 3.26’da verilmiştir.

Tablo 3. 41: Farelerde MSG dozları için ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.

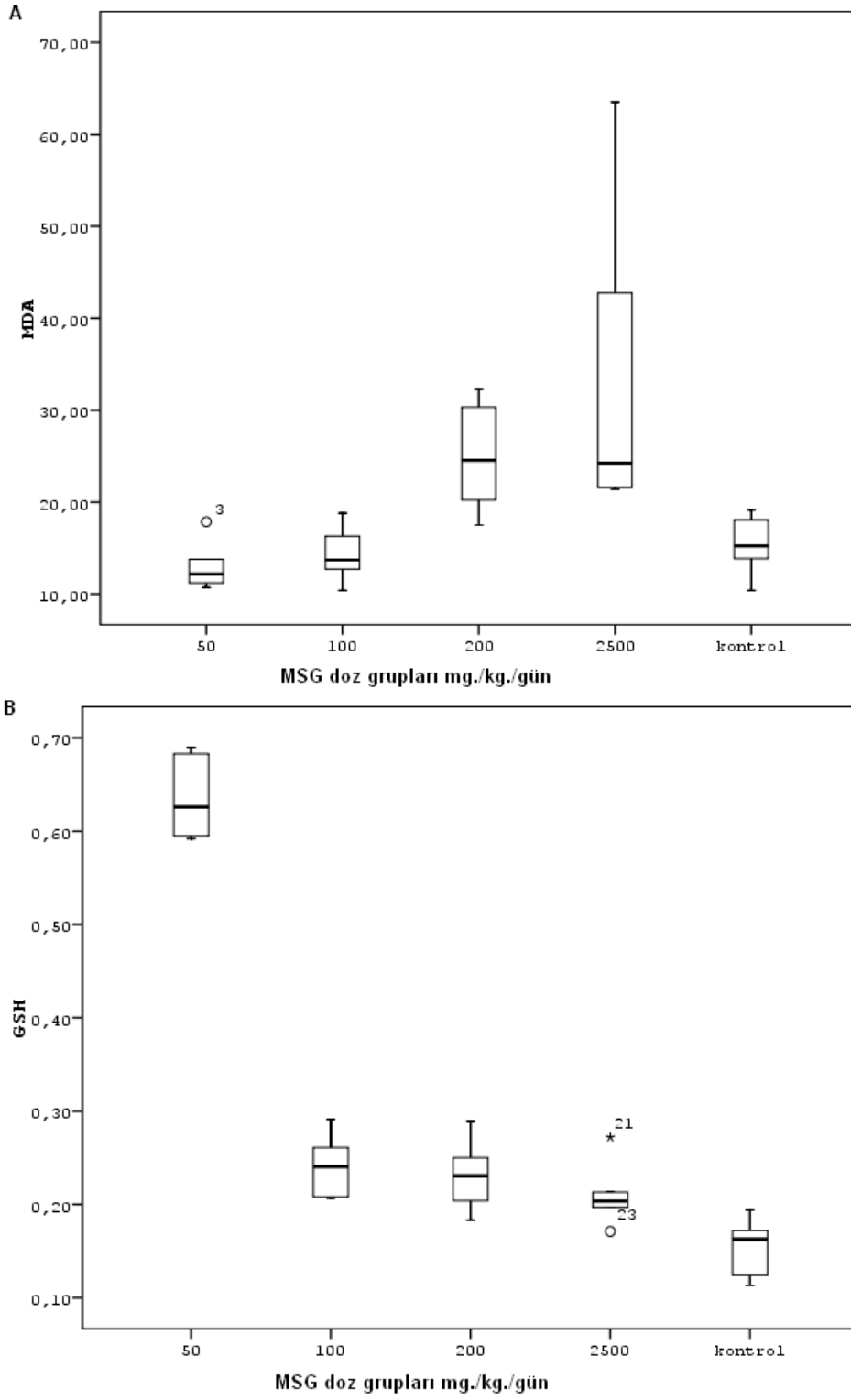
FARE MSG	N	Min	Maks	Ort	Std. H.	Sd	F	Önem	
MDA	Kontrol	6	10	19	15,33	1,296	4	6,374	0,001**
	50	6	11	18	12,99	1,066			
	100	6	10	19	14,27	1,197			
	200	6	18	32	24,90	2,342			
	2500	6	21	64	32,94	6,941			
GSH	Kontrol	6	0	0	0,15	0,012	4	169,851	0,000**
	50	6	1	1	0,64	0,018			
	100	6	0	0	0,24	0,014			
	200	6	0	0	0,23	0,015			
	2500	6	0	0	0,21	0,014			
SOD	Kontrol	6	8	11	9,30	0,523	4	3,576	0,019*
	50	6	8	12	9,58	0,548			
	100	6	8	12	9,10	0,524			
	200	6	7	9	7,86	0,351			
	2500	6	7	9	7,63	0,359			

*p<0,05 **p<0,001

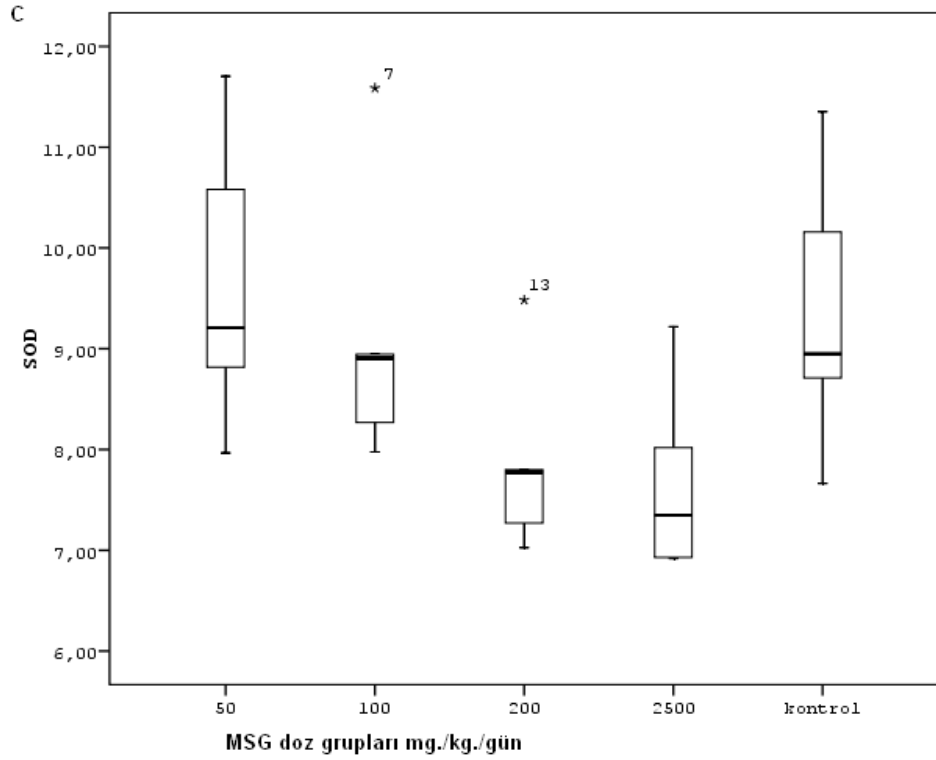
Tablo 3. 42: Farelerde MSG dozları için ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.

	Grup		Mann-Whitney U	p
	Kontrol	Doz		
MDA	Kontrol	50	9,00	0,180
	Kontrol	100	12,50	0,394
	Kontrol	200	2,00	0,009*
	Kontrol	2500	0,00	0,002*
	50	100	12,00	0,394
	50	200	1,00	0,004*
	50	2500	0,00	0,002*
	100	200	1,00	0,004*
	100	2500	0,00	0,002*
	200	2500	14,00	0,589
GSH	Kontrol	50	0,00	0,002*
	Kontrol	100	0,00	0,002*
	Kontrol	200	1,00	0,004*
	Kontrol	2500	2,00	0,009*
	50	100	0,00	0,002*
	50	200	0,00	0,002*
	50	2500	0,00	0,002*
	100	200	14,00	0,589
	100	2500	9,00	0,180
	200	2500	11,00	0,310
SOD	Kontrol	50	14,00	0,589
	Kontrol	100	15,00	0,699
	Kontrol	200	7,00	0,093
	Kontrol	2500	5,00	0,041*
	50	100	13,00	0,485
	50	200	4,00	0,026*
	50	2500	4,00	0,026*
	100	200	5,00	0,041*
	100	2500	6,00	0,065
	200	2500	13,00	0,485

*p<0,05



Şekil 3. 26: MSG dozları uygulanan farelerde beyinde ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerinin grafiksel gösterimi. A: MDA düzeyi, B: GSH düzeyi.



Şekil 3. 26 (devam): MSG dozları uygulanan farelerde beyinde ölçülen MDA, GSH, SOD değerlerinin grafiksel gösterimi. C: SOD düzeyi.

3.4. Fare ve Sıçanlarda Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Bulgular

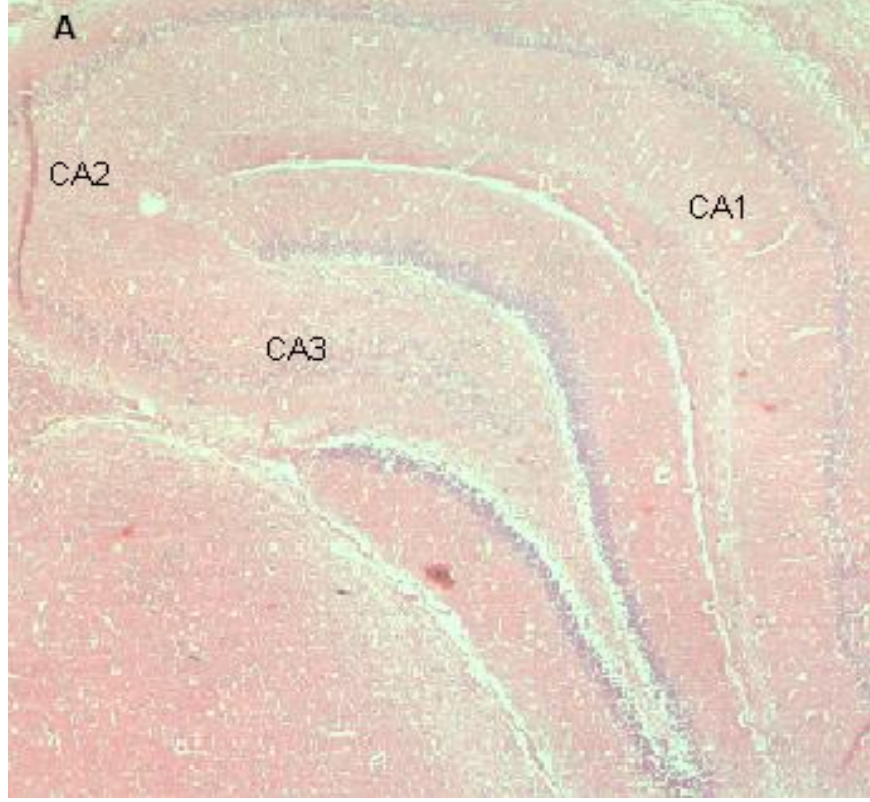
Fare ve sıçanlarda histopatolojik ve immünohistokimyasal yöntemler ile beyin dokusunda nöronal nekroz ve MAP-2 ve GFAP ekspresyonları belirlenmiştir.

3.4.1 Sıçanlarda Histopatolojik ve İmmünohistopatolojik Bulgular

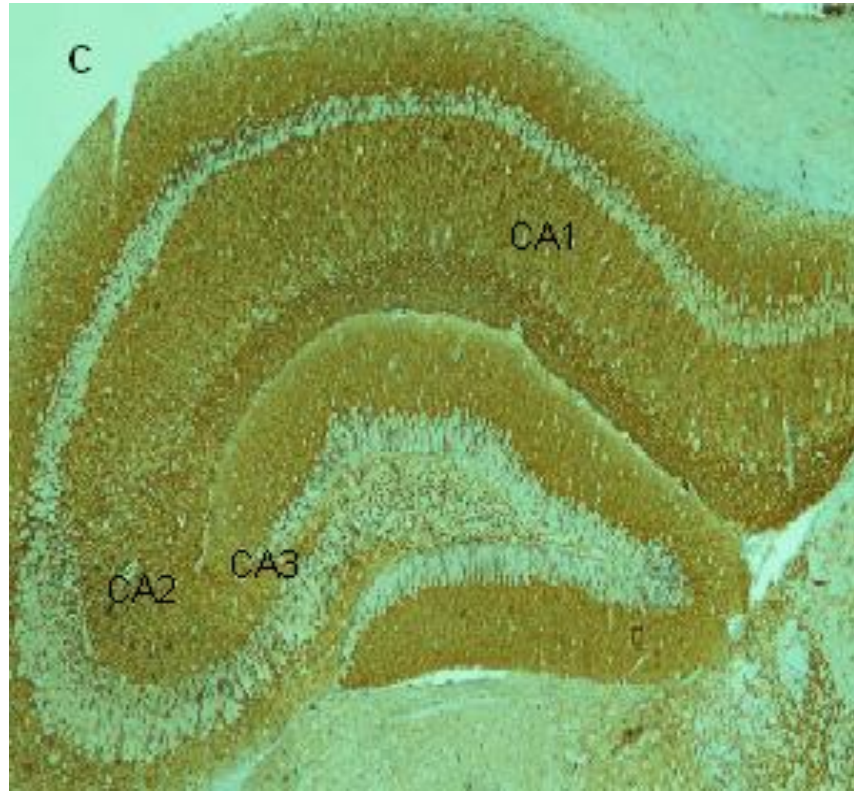
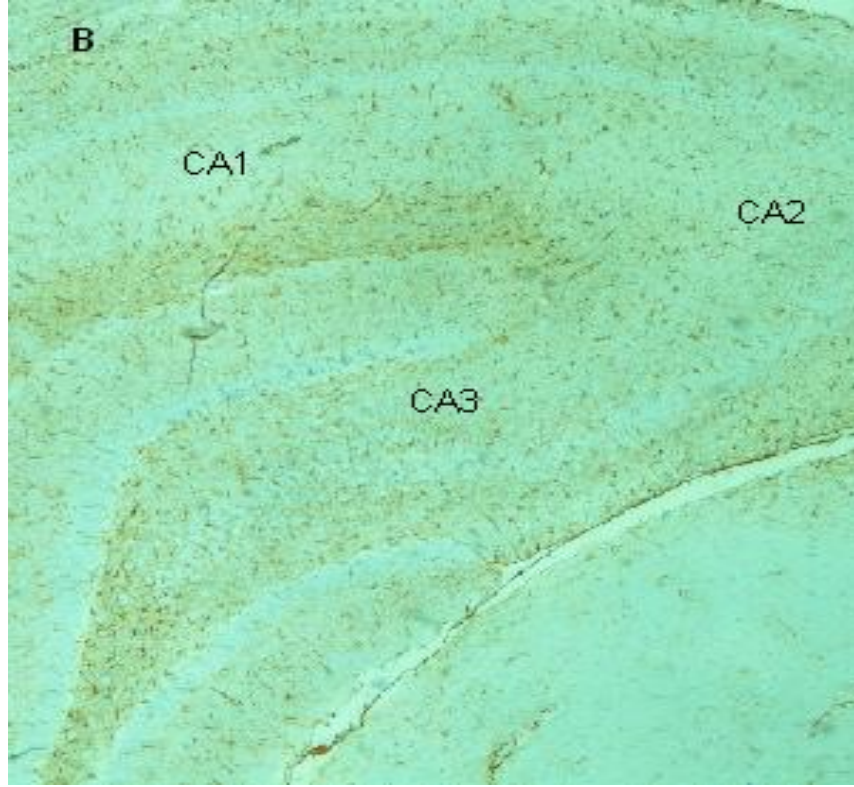
Çalışmamızda, sıçanların beyin histopatolojik bulgularını değerlendirirken ASP ve MSG dozları için en yüksek ve en düşük dozlar arasındaki farklar 0-3 arasında skorlanmıştır. Buna göre hiç bulgu görülmeyen olgular 0 olarak belirlenmiş ve bulguların şiddetine göre skorlama yapılmıştır. Histopatolojik değerlendirmeler Hematoksilen&Eosin (H&E) ve MAP-2, GFAP immünohistokimyasal boyaları ile yapılmıştır.

Kontrol grubunda; Histopatolojik değerlendirmede (H&E) beyin kortekste, hipokampuste, histopatolojik düzeyde bir farklılık görülmemiştir. Aynı şekilde

immünohistopatolojik olarak MAP-2 ve GFAP immünohistokimyasal boyalarında histolojik düzeyde bir farklılık görülmemiştir (Şekil 3.27).



Şekil 3. 27: A: Sıçan beyinde kontrol grubunda hipokampal bölgenin görünümü, (H&E×40).

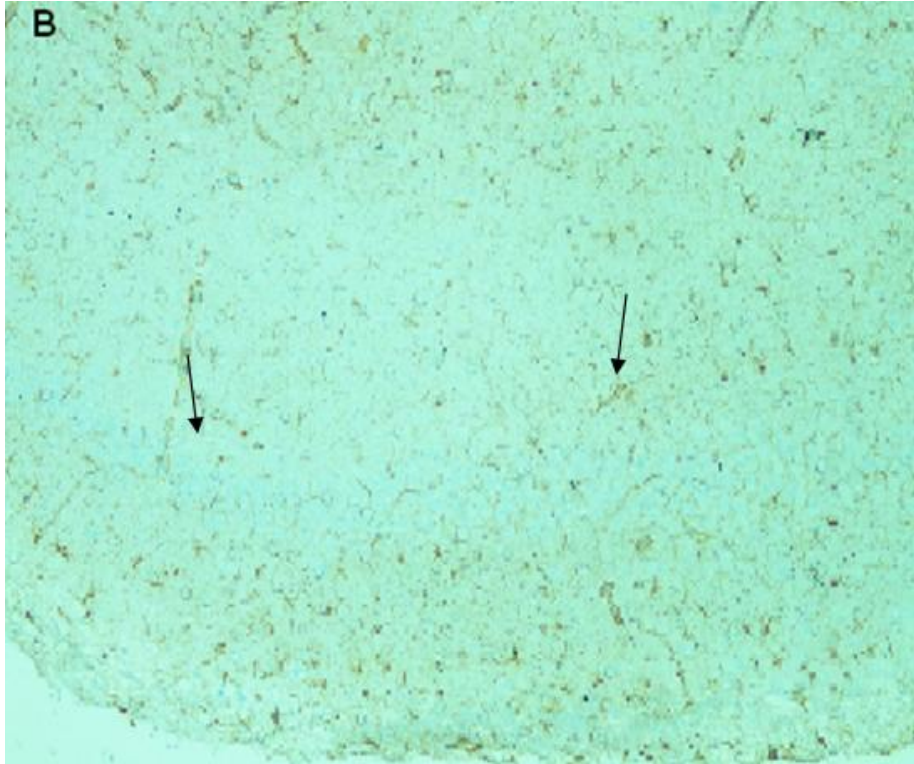
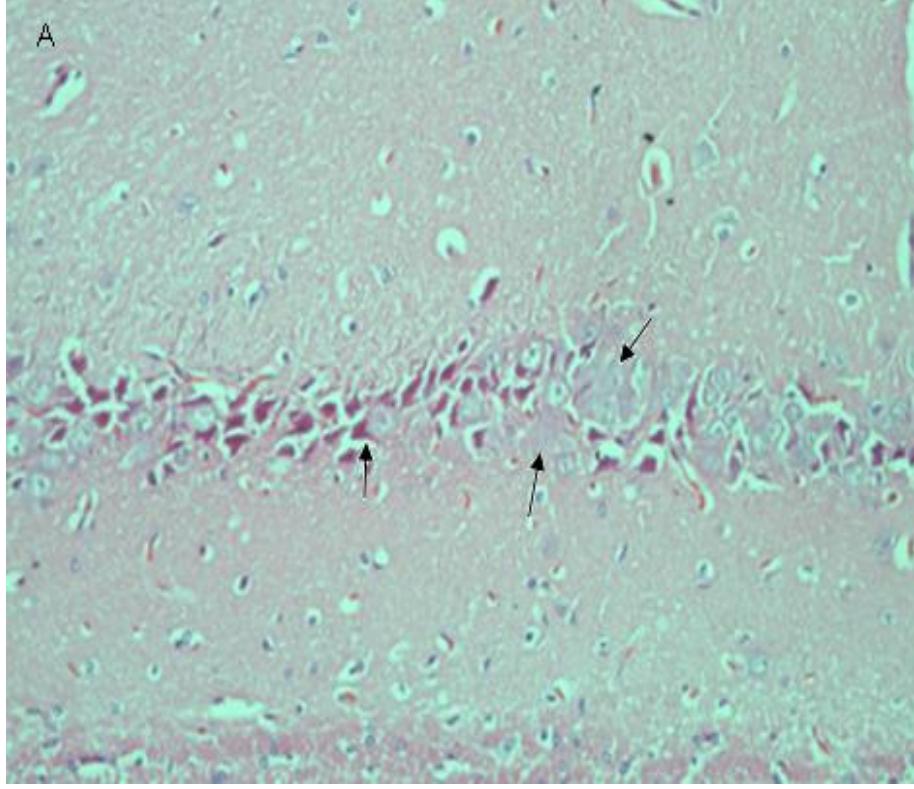


Şekil 3. 27 (devam): B: (*GFAP*×40). C: (*MAP-2*×40). CA1: Hipokampus CA1 bölgesini, CA2: Hipokampus CA2 bölgesini ve CA3: Hipokampus CA3 bölgesini göstermektedir.

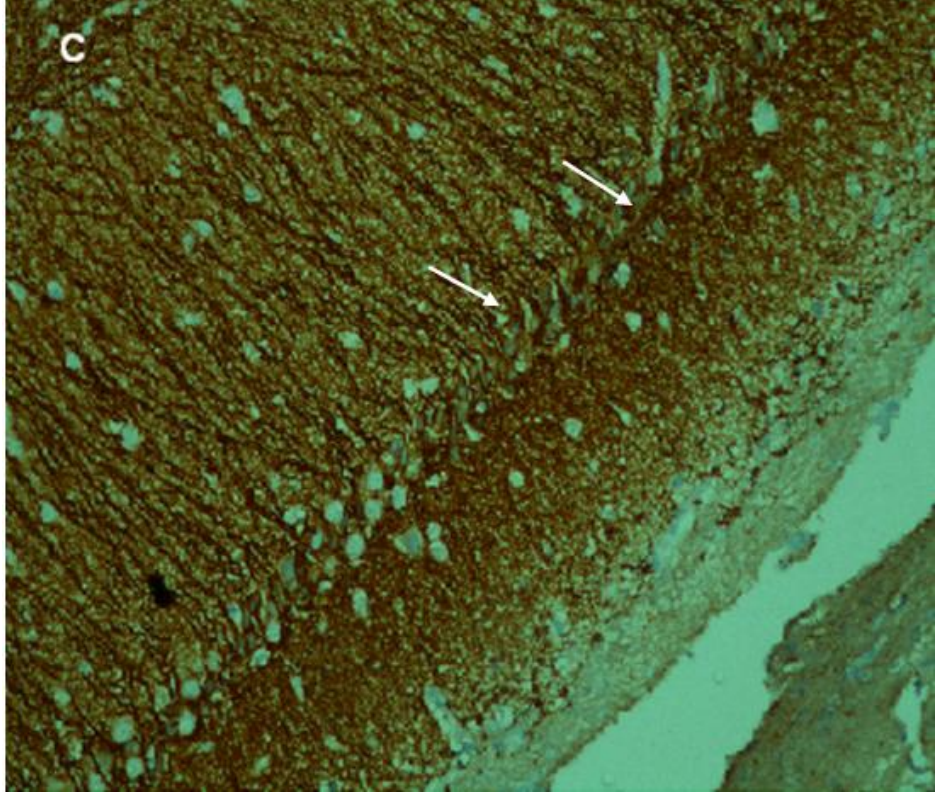
3.4.1.1. Sıçanlarda Uygulanan ASP Dozları İçin Histopatolojik ve İmmunohistopatolojik Bulgular

Sıçanlarda, beyin hipokampal alanda H&E, GFAP ve MAP-2 boyları ile histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmeler sonucunda, kontrol grubu ile bazı ASP doz grupları arasında istatistiksel bakımdan anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 3.43).

Histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmeler sonucunda, istatistiksel bakımdan önemli fark bulunan kontrol grubu ve ASP dozları Mann Whitney U testine tabi tutulmuş ve istatistiksel bakımdan önemli farkın tespit edildiği farklı boyama yöntemlerindeki bu farkın, hangi dozlar arasında olduğu tespit edilmiştir. H&E, GFAP ve MAP-2 boyamaları yapılan gruplardaki kontrol grubu ve doz grupları arasındaki istatistiksel karşılaştırmalar Tablo 3.44’de verilmiştir. Ayrıca, ASP2500 dozu uygulanan sıçanlardaki hipokampal alan görünümü Şekil 3.28’de gösterilmiştir. Şekillerde, CA1: Hipokampüsün CA1 bölgesini, CA2: Hipokampusun CA2 bölgesini ve CA3: Hipokampusun CA3 bölgesini göstermektedir.



Şekil 3. 28: ASP2500 mg/kg dozu uygulaması yapılan sıçan beynindeki hipokampal bölgenin görünümü A: (*H&E*×400, skor 3) (oklar nöronal tabakada incelme, dizilim bozukluğu ve hüresel nekrozu göstermektedir). B: (*GFAP*×400, skor 2) (oklar reaktif gliozisi göstermektedir). C: (*MAP-2*×400, skor 3) (oklar nöronal tabakada incelmeyi göstermektedir).



Şekil 3. 28 (devam): ASP2500 mg/kg dozu uygulaması yapılan sıçan beynindeki hipokampal bölgenin görünümü A: (*H&E*×400, skor 3) (oklar nöronal tabakada incelme, dizilim bozukluğu ve hücresel nekrozu göstermektedir). B: (*GFAP*×400, skor 2) (oklar reaktif gliozisi göstermektedir). C: (*MAP-2*×400, skor 3) (oklar nöronal tabakada incelmeyi göstermektedir).

Tablo 3. 43: Sıçanlarda ASP dozları için H&E histokimyasal, GFAP ve MAP-2 immünohistokimyasal boyamalarına ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.

SIÇAN ASP	N	Ort	Std. H.	Min	Maks	Sd	F	Önem	
H&E	Kontrol	6	1,17	0,167	1	2	4	24,244	0,000*
	50	6	1,83	0,307	1	3			
	100	6	3,17	0,167	3	4			
	200	6	3,33	0,211	3	4			
	2500	6	3,67	0,211	3	4			
GFAP	Kontrol	6	1,83	0,167	1	2	4	4,485	0,007**
	50	6	2,00	0,365	1	3			
	100	6	1,83	0,401	1	3			
	200	6	3,00	0,447	1	4			
	2500	6	3,33	0,211	3	4			
MAP-2	Kontrol	6	1,33	0,211	1	2	4	4,637	0,006**
	50	6	1,50	0,224	1	2			
	100	6	2,33	0,211	2	3			
	200	6	2,67	0,422	1	4			
	2500	6	2,17	0,167	2	3			

*p<0,001 **p<0,05

Tablo 3. 44: Sıçanlarda ASP dozları için H&E histokimyasal, GFAP ve MAP-2 immünohistokimyasal boyamalarına ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.

Grup			Mann-Whitney U	p
H&E	Kontrol	50	8,50	0,132
	Kontrol	100	0,00	0,002*
	Kontrol	200	0,00	0,002*
	Kontrol	2500	0,00	0,002*
	50	100	2,50	0,009*
	50	200	2,00	0,009*
	50	2500	1,00	0,004*
	100	200	15,00	0,699
	100	2500	9,00	0,180
	200	2500	12,00	0,394
GFAP	Kontrol	50	16,00	0,818
	Kontrol	100	17,00	0,937
	Kontrol	200	5,50	0,041*
	Kontrol	2500	0,00	0,002*
	50	100	16,00	0,818
	50	200	8,00	0,132
	50	2500	4,00	0,026*
	100	200	7,50	0,093
	100	2500	4,00	0,026*
	200	2500	16,00	0,818
MAP-2	Kontrol	50	15,00	0,699
	Kontrol	100	4,00	0,026*
	Kontrol	200	5,00	0,041*
	Kontrol	2500	5,00	0,041*
	50	100	6,00	0,065
	50	200	6,00	0,065
	50	2500	7,50	0,093
	100	200	13,00	0,485
	100	2500	15,00	0,699
	200	2500	11,00	0,310

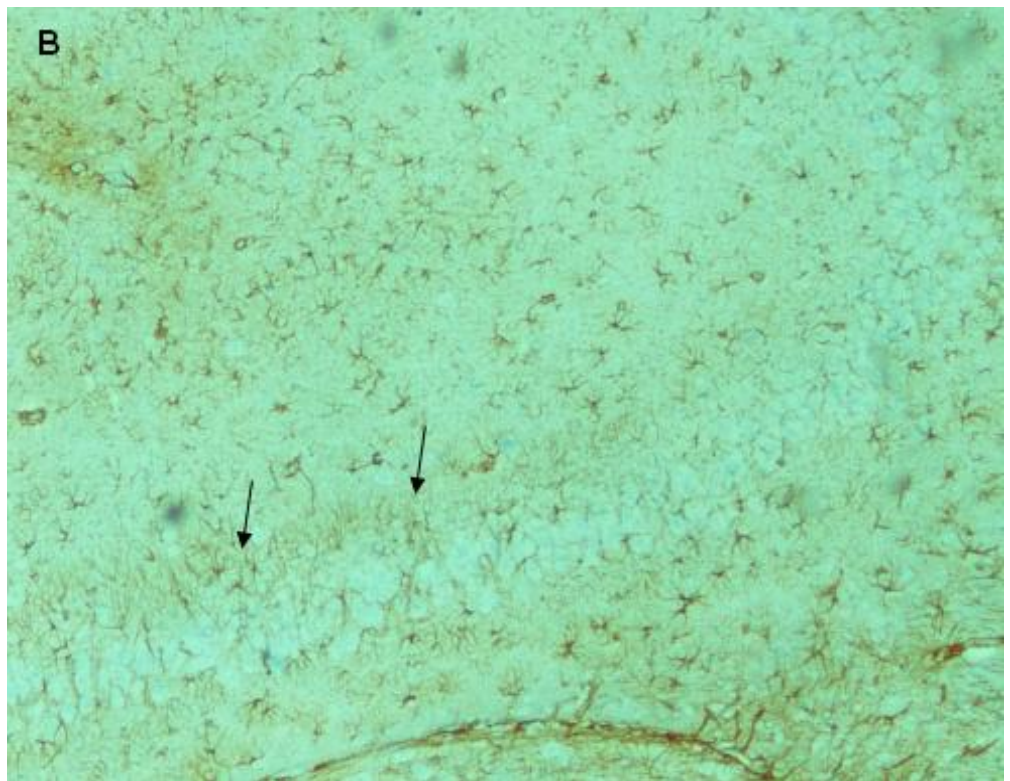
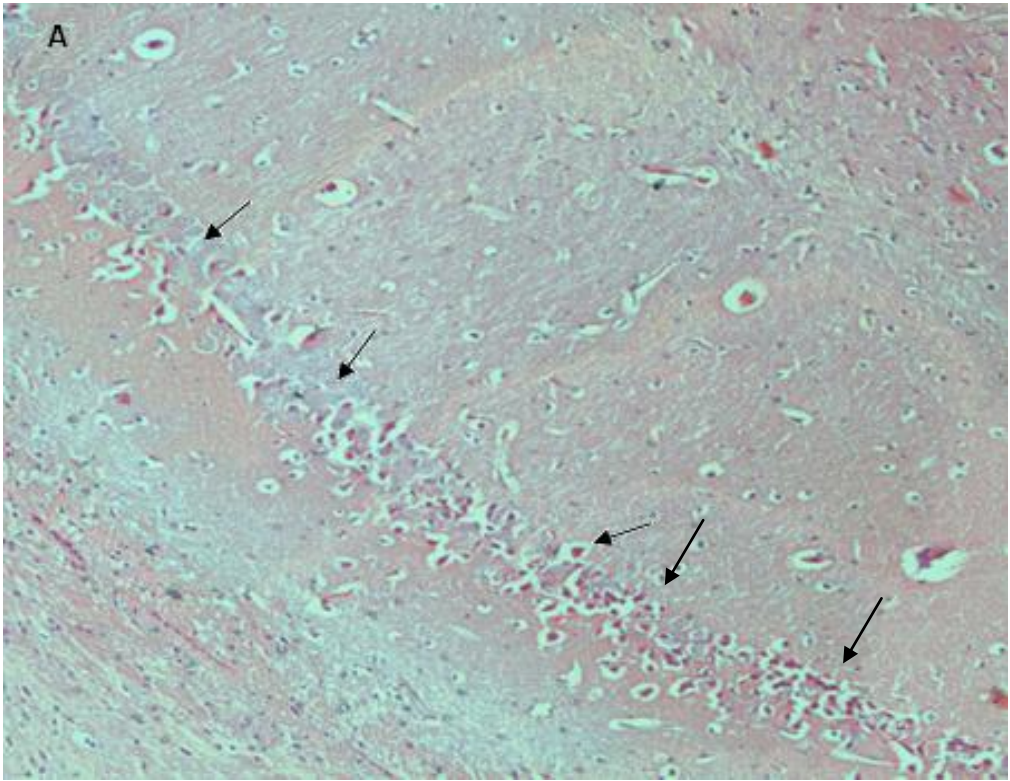
*p<0,05

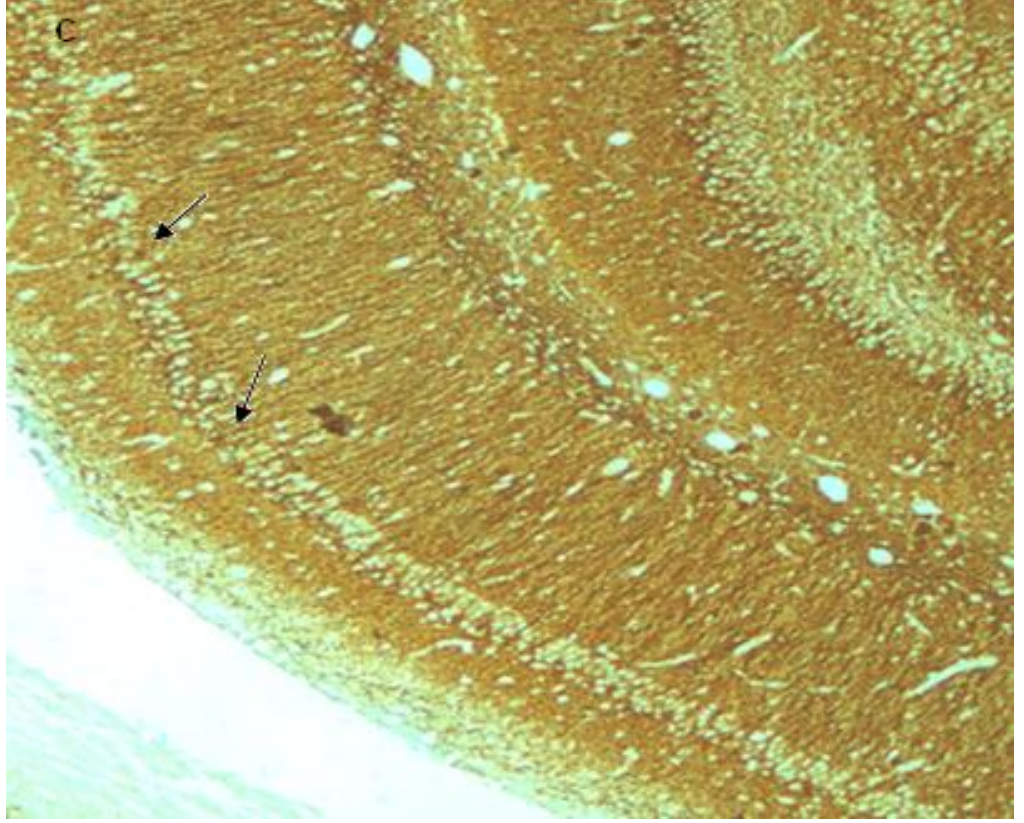
3.4.1.2 Sıçanlarda Uygulanan MSG Dozları İçin Histopatolojik ve İmmünohistopatolojik Bulgular

Sıçanlarda, beyin hipokampal alanda H&E, GFAP ve MAP-2 boyaları ile histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmeler sonucunda, kontrol grubu

ile bazı MSG doz grupları arasında istatistiksel bakımdan anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 3.45).

Histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmeler sonucunda, istatistiksel bakımdan önemli fark bulunan kontrol grubu ve MSG dozları Mann Whitney U testine tabi tutulmuş ve istatistiksel bakımdan önemli farkın tespit edildiği farklı boyama yöntemlerindeki bu farkın, hangi dozlar arasında olduğu tespit edilmiştir. H&E, GFAP ve MAP-2 boyamaları yapılan gruplardaki kontrol grubu ve doz grupları arasındaki istatistiksel karşılaştırmalar Tablo 3. 46'da verilmiştir. Ayrıca, MSG2500 dozu uygulanan sıçanlardaki hipokampal alan görünümü Şekil 3. 29'da gösterilmiştir. Şekillerde, CA1: Hipokampusun CA1 bölgesini, CA2: Hipokampusun CA2 bölgesini ve CA3: Hipokampusun CA3 bölgesini göstermektedir.





Şekil 3. 29: MSG2500 mg/kg dozu uygulaması yapılan sıçan beynindeki hipokampal bölgenin görünümü A: (*H&E*×200, skor 3) (oklar nöronal tabakada incelme, dizilim bozukluğu ve hüresel nekrozu göstermektedir). B: (*GFAP*×200, skor 3) (oklar reaktif gliozisi göstermektedir). C: (*MAP-2*×200, skor 3) (oklar nöronal tabakada incelmeyi göstermektedir).

Tablo 3. 45: Sıçanlarda MSG dozları için H&E histokimyasal, GFAP ve MAP-2 immünohistokimyasal boyamalarına ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.

SIÇAN MSG	N	Ort	Std. H.	Min	Maks	Sd	F	Önem	
H&E	Kontrol	6	1,33	0,333	1	3	4	10,588	0,000*
	50	6	1,17	0,167	1	2			
	100	6	2,33	0,422	1	3			
	200	6	3,67	0,333	2	4			
	2500	6	2,33	0,211	2	3			
GFAP	Kontrol	6	1,17	0,167	1	2	4	11,167	0,000*
	50	6	1,33	0,211	1	2			
	100	6	1,50	0,224	1	2			
	200	6	2,50	0,342	2	4			
	2500	6	3,17	0,307	2	4			
MAP-2	Kontrol	6	1,00	0,000	1	1	4	13,141	0,000*
	50	6	1,17	0,167	1	2			
	100	6	2,00	0,365	1	3			
	200	6	2,17	0,167	2	3			
	2500	6	2,83	0,167	2	3			

*p<0,001

Tablo 3. 46: Sıçanlarda MSG dozları için H&E histokimyasal, GFAP ve MAP-2 immünohistokimyasal boyamalarına ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.

	Grup		Mann-Whitney U	p
	Kontrol	Doz		
H&E	Kontrol	50	17,50	0,937
	Kontrol	100	9,00	0,180
	Kontrol	200	1,00	0,004*
	Kontrol	2500	5,00	0,041*
	50	100	7,00	0,093
	50	200	0,50	0,002*
	50	2500	2,00	0,009*
	100	200	4,00	0,026*
	100	2500	16,00	0,818
	200	2500	4,00	0,026*
GFAP	Kontrol	50	15,00	0,699
	Kontrol	100	12,00	0,394
	Kontrol	200	2,00	0,009*
	Kontrol	2500	0,50	0,002*
	50	100	15,00	0,699
	50	200	4,00	0,026*
	50	2500	1,00	0,004*
	100	200	6,00	0,065
	100	2500	1,50	0,004*
	200	2500	9,50	0,180
MAP-2	Kontrol	50	15,00	0,699
	Kontrol	100	6,00	0,065
	Kontrol	200	0,00	0,002*
	Kontrol	2500	0,00	0,002*
	50	100	8,00	0,132
	50	200	2,50	0,009*
	50	2500	0,50	0,002*
	100	200	16,00	0,818
	100	2500	8,00	0,132
	200	2500	6,00	0,065

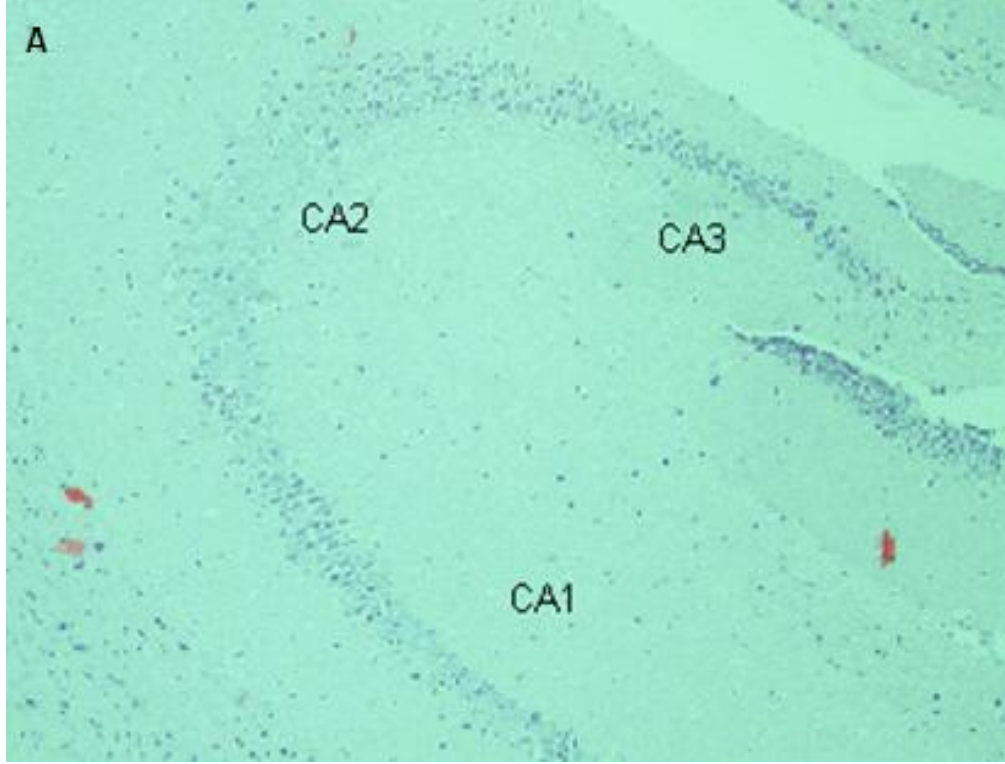
*p<0,05

3.4.2. Farelerin Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Bulguları

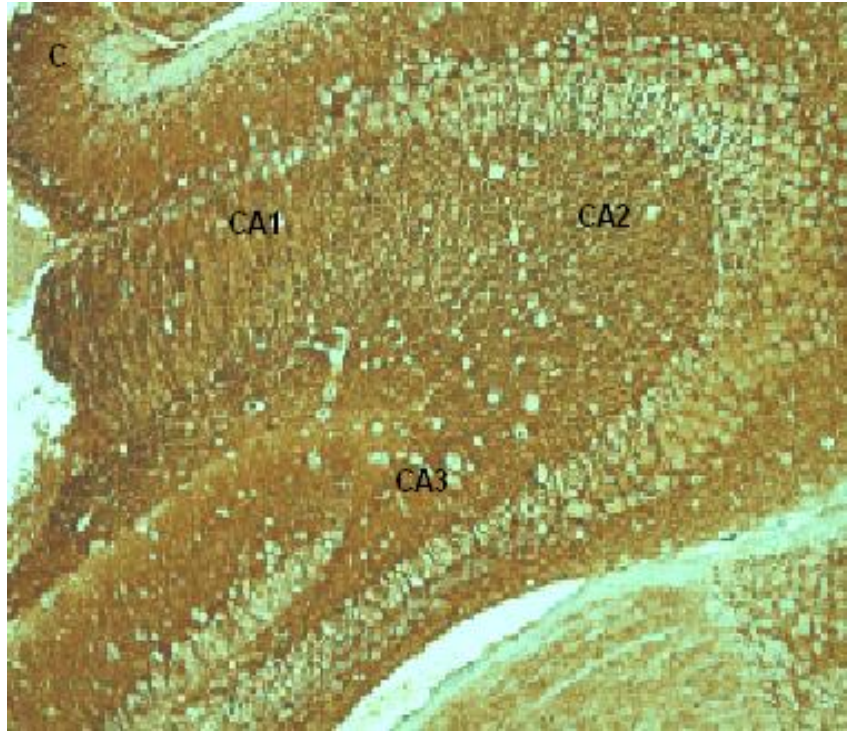
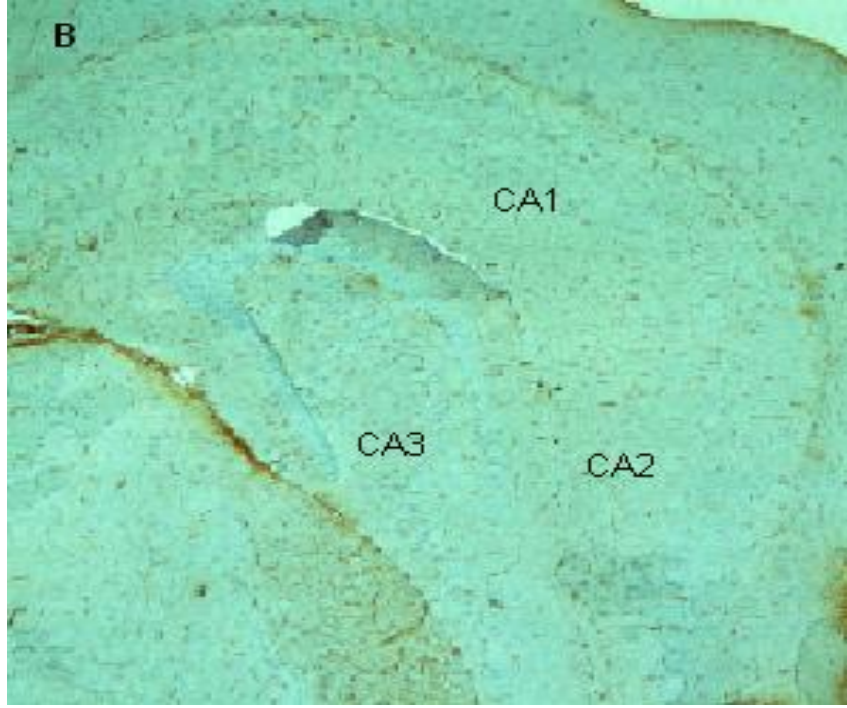
Çalışmamızda, farelerin beyin histopatolojik bulgularını değerlendirirken ASP ve MSG dozları için en yüksek ve en düşük dozlar arasındaki farklar 0-3 arasında skorlanmıştır. Buna göre hiç bulgu görülmeyen olgular 0 olarak belirlenmiş ve

bulguların şiddetine göre skorlama yapılmıştır. Histopatolojik değerlendirmeler H&E düzeyinde belirlenmiştir. İmmünohistopatolojik değerlendirmeler ise, MAP-2 ve GFAP immünohistokimyasal boyaları ile yapılmıştır.

Kontrol grubunda; Histopatolojik değerlendirmede (H&E), hipokampüste, histolojik düzeyde bir farklılık görülmemiştir. Ayrıca, immünohistopatolojik olarak MAP-2 ve GFAP'da da histolojik düzeyde bir farklılık görülmemiştir (Şekil 3.30).



Şekil 3. 30: Fare beyinde kontrol grubunda hipokampal bölgenin görünümü: A: (H&E×40).

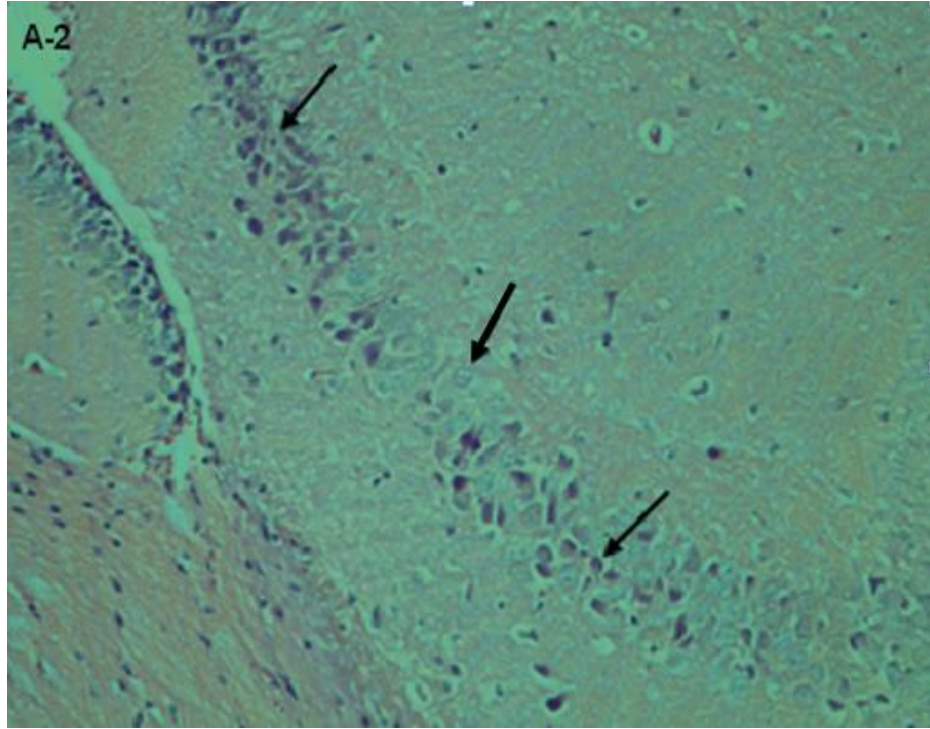
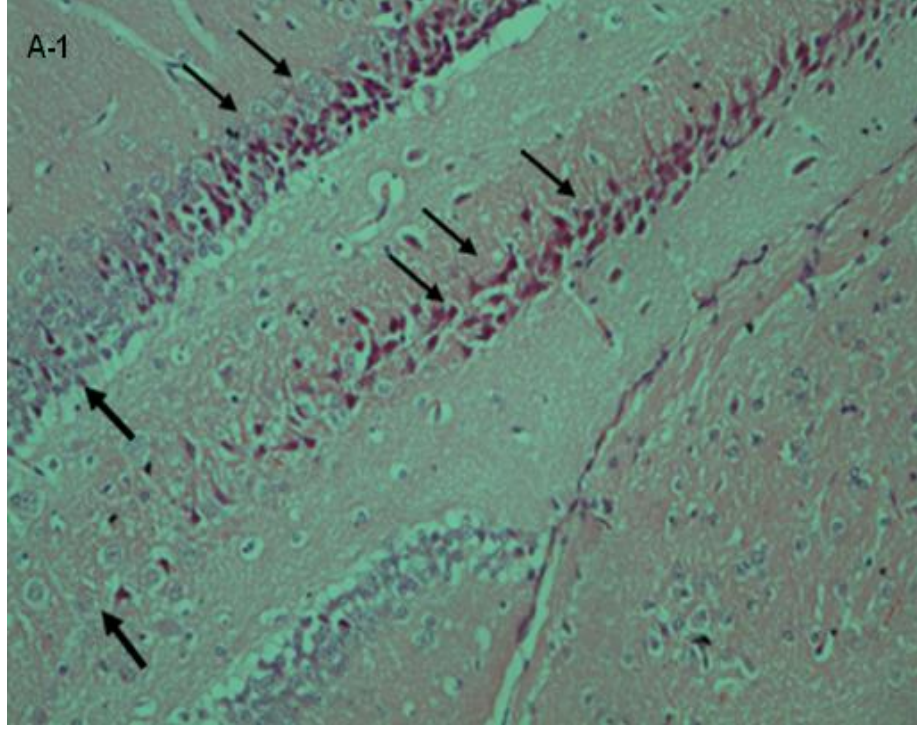


Şekil 3. 30 (devam) B: (*GFAP*×100). C: (*MAP-2*×100). CA1: Hipokampusun CA1 bölgesini, CA2: Hipokampusun CA2 bölgesini ve CA3: Hipokampusun CA3 bölgesini göstermektedir.

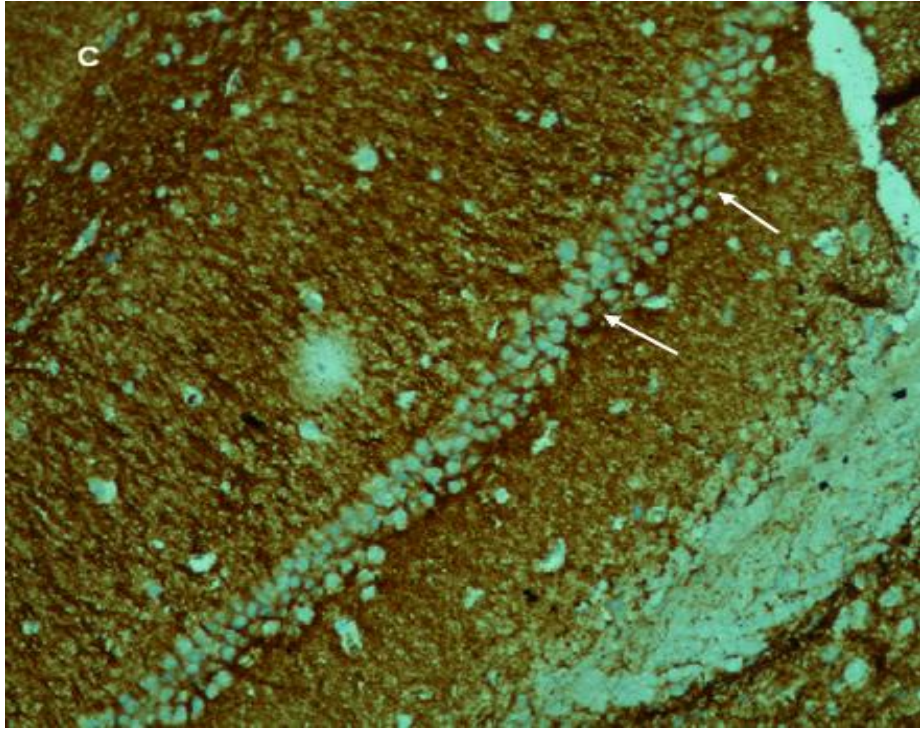
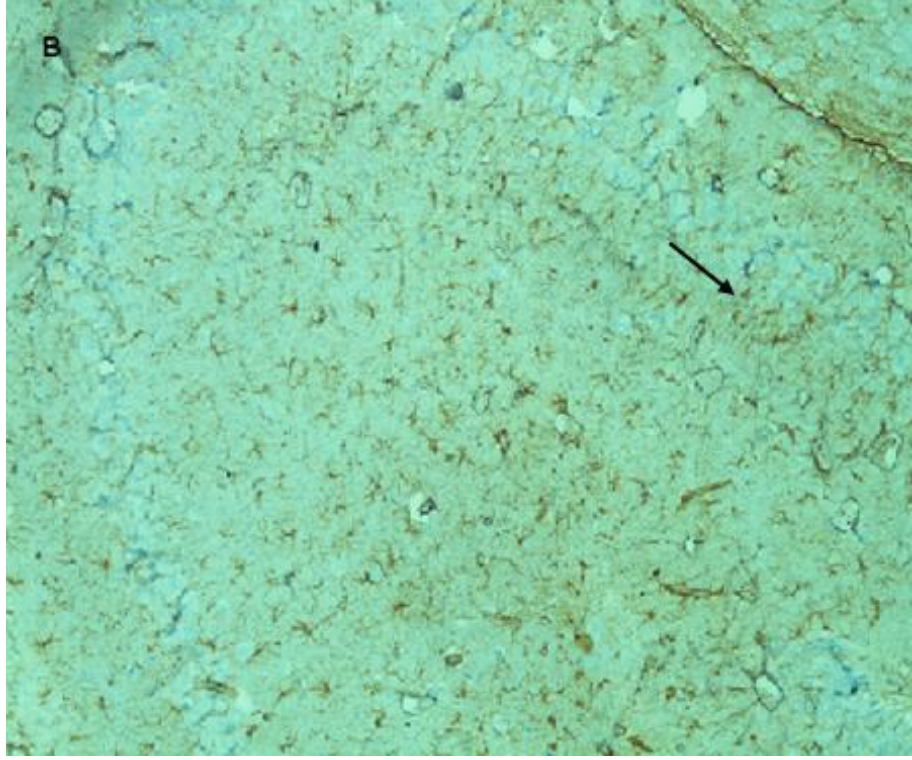
3.4.2.1. Farelerde Uygulanan ASP Dozları İçin Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Bulgular

Farelerde, beyin hipokampal alanda H&E, GFAP ve MAP-2 boyları ile histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmeler sonucunda, kontrol grubu ile bazı ASP doz grupları arasında istatistiksel bakımdan anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 3.47).

Histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmeler sonucunda, istatistiksel bakımdan önemli fark bulunan kontrol grubu ve ASP dozları Mann Whitney U testine tabi tutulmuş ve istatistiksel bakımdan önemli farkın tespit edildiği farklı boyama yöntemlerindeki bu farkın, hangi dozlar arasında olduğu tespit edilmiştir. H&E, GFAP ve MAP-2 boyamaları yapılan gruplardaki kontrol grubu ve doz grupları arasındaki istatistiksel karşılaştırmalar Tablo 3.48’de verilmiştir. Ayrıca, ASP2500 dozu uygulanan farelerdeki hipokampal alan görünümü Şekil 3.31’de gösterilmiştir. Şekillerde, CA1: Hipokampusun CA1 bölgesini, CA2: Hipokampusun CA2 bölgesini ve CA3: Hipokampusun CA3 bölgesini göstermektedir.



Şekil 3. 31: ASP2500 mg/kg dozu uygulaması yapılan fare beyindeki hipokampal bölgenin görünümü A-1: (*H&E*×400, skor 3) (ince oklar hücresel nekroz ve nöronal tabakada incelmeyi, kalın oklar normal nöronal alanı göstermektedir). A-2: (*H&E*×400, skor 3) (ince oklar hücresel nekroz ve nöronal tabakada incelmeyi, kalın ok ise normal nöronal alanı göstermektedir).



Şekil 3.31 (devam): ASP2500 mg/kg dozu uygulaması yapılan fare beyindeki hipokampal bölgenin görünümü B: (*GFAP*×400, skor 3) (ok reaktif gliozisi göstermektedir). C: (*MAP-2*×400, skor 3) (oklar nöronal tabakada incelmeyi göstermektedir).

Tablo 3. 47: Farelerde ASP dozları için H&E histokimyasal, GFAP ve MAP-2 immünohistokimyasal boyamalarına ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.

FARE ASP	N	Ort	Std. H.	Min	Maks	Sd	F	Önem	
H&E	Kontrol	6	1,33	0,333	1	3	4	11,364	0,000*
	50	6	2,33	0,422	1	4			
	100	6	3,33	0,211	3	4			
	200	6	3,50	0,224	3	4			
	2500	6	3,67	0,211	3	4			
GFAP	Kontrol	6	1,17	0,167	1	2	4	7,372	0,000*
	50	6	2,17	0,307	1	3			
	100	6	2,00	0,000	2	2			
	200	6	2,50	0,224	2	3			
	2500	6	1,33	0,211	1	2			
MAP-2	Kontrol	6	1,00	0,000	1	1	4	12,108	0,000*
	50	6	2,33	0,211	2	3			
	100	6	3,17	0,401	2	4			
	200	6	2,17	0,167	2	3			
	2500	6	1,50	0,224	1	2			

*p<0,001

Tablo 3. 48: Farelerde ASP dozları için H&E histokimyasal, GFAP ve MAP-2 immünohistokimyasal boyamalarına ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.

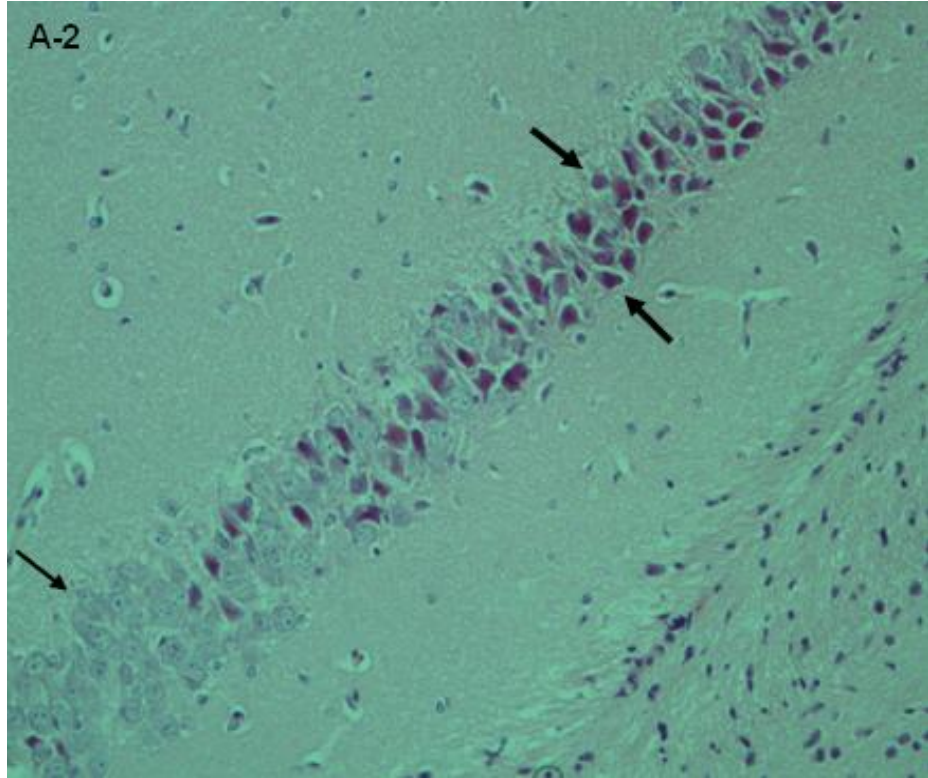
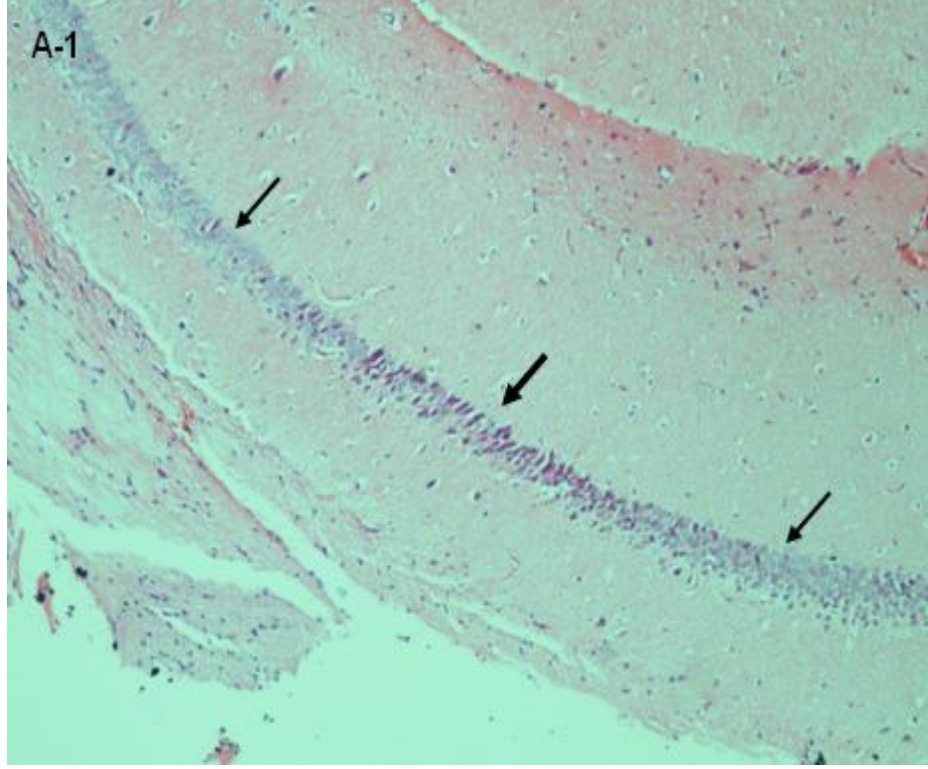
	Grup		Mann-Whitney U	p
	Kontrol	Doz		
H&E	Kontrol	50	7,00	0,093
	Kontrol	100	2,00	0,009*
	Kontrol	200	1,50	0,004*
	Kontrol	2500	1,00	0,004*
	50	100	7,00	0,093
	50	200	6,00	0,065
	50	2500	5,00	0,041*
	100	200	15,00	0,699
	100	2500	12,00	0,394
	200	2500	15,00	0,699
GFAP	Kontrol	50	5,00	0,041*
	Kontrol	100	3,00	0,015*
	Kontrol	200	1,50	0,004*
	Kontrol	2500	15,00	0,699
	50	100	15,00	0,699
	50	200	13,50	0,485
	50	2500	7,00	0,093
	100	200	9,00	0,180
	100	2500	6,00	0,065
	200	2500	3,00	0,015*
MAP	Kontrol	50	0,00	0,002*
	Kontrol	100	0,00	0,002*
	Kontrol	200	0,00	0,002*
	Kontrol	2500	9,00	0,180
	50	100	9,00	0,180
	50	200	15,00	0,699
	50	2500	6,00	0,065
	100	200	7,50	0,093
	100	2500	3,00	0,015*
	200	2500	7,50	0,093

*p<0,05

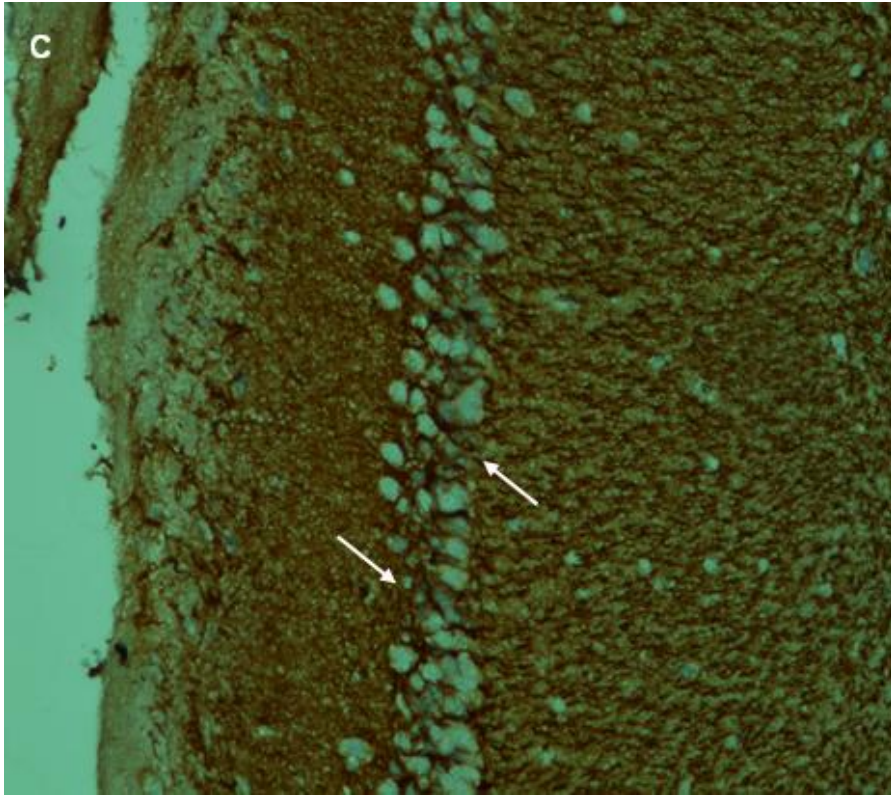
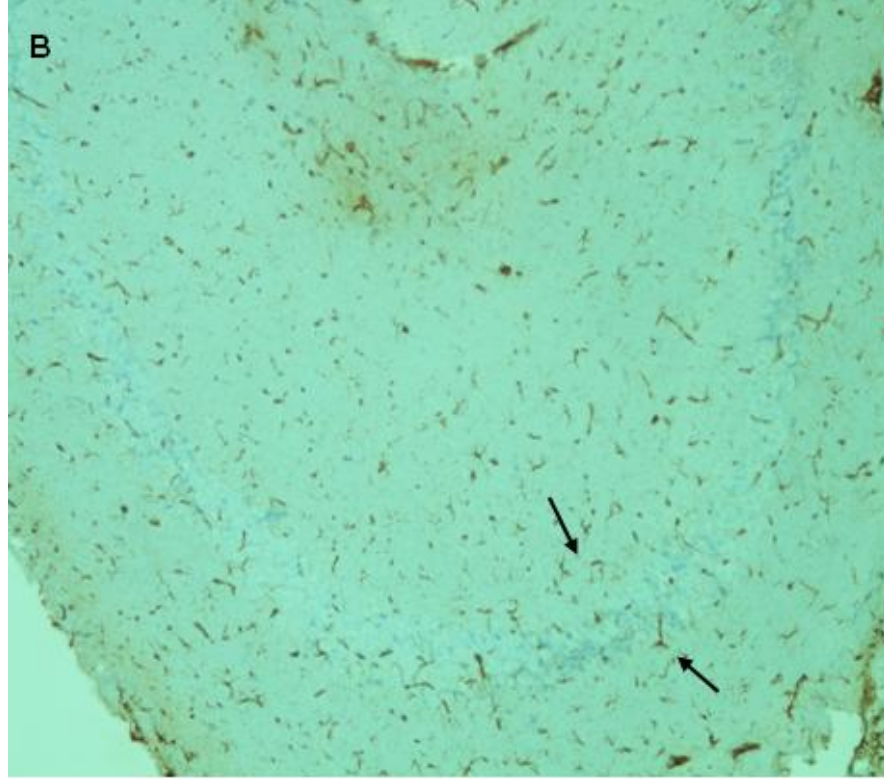
3.4.2.2. Farelerde Uygulanan MSG Dozları İçin Histopatolojik ve İmmunohistopatolojik Bulgular

Farelerde, beyin hipokampal alanda H&E, GFAP ve MAP-2 boyları ile histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmeler sonucunda, kontrol grubu ile bazı MSG doz grupları arasında istatistiksel bakımdan anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 3.49).

Histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmeler sonucunda, istatistiksel bakımdan önemli fark bulunan kontrol grubu ve MSG dozları Mann Whitney U testine tabi tutulmuş ve istatistiksel bakımdan önemli farkın tespit edildiği farklı boyama yöntemlerindeki bu farkın, hangi dozlar arasında olduğu tespit edilmiştir. H&E, GFAP ve MAP-2 boyamaları yapılan gruplardaki kontrol grubu ve doz grupları arasındaki istatistiksel karşılaştırmalar Tablo 3.50’de verilmiştir. Ayrıca, MSG2500 dozu uygulanan farelerdeki hipokampal alan görünümü Şekil 3.32’de gösterilmiştir. Şekillerde, CA1: Hipokampusun CA1 bölgesini, CA2: Hipokampusun CA2 bölgesini ve CA3: Hipokampusun CA3 bölgesini göstermektedir.



Şekil 3. 32: MSG2500 mg/kg dozu uygulaması yapılan fare beyindeki hipokampal bölgenin görünümü A-1: (*H&E*×40, skor 3) (kalın ok nekrozlu alanı, ince oklar ise normal nöronal alanı göstermektedir). A-2: (*H&E*×40, skor 3) (ince ok normal nöronal alanı, kalın oklar ise nekrozlu alanı göstermektedir).



Şekil 3. 32 (devam): B: (*GFAP*×100, skor 2) (oklar reaktif gliozisi göstermektedir).
C: (*MAP-2*×400, skor 3) (oklar nöronal tabakada incelmeyi göstermektedir).

Tablo 3. 49: Farelerde MSG dozları için H&E histokimyasal, *GFAP* ve *MAP-2* immünohistokimyasal boyamalarına ait tanımlayıcı istatistikler ve ANOVA testi sonuçları.

FARE MSG	N	Ort	Std. H.	Min	Maks	Sd	F	Önem	
H&E	Kontrol	6	1,33	0,333	1	3	4	10,588	0,000*
	50	6	1,17	0,167	1	2			
	100	6	2,33	0,422	1	3			
	200	6	3,67	0,333	2	4			
	2500	6	2,33	0,211	2	3			
GFAP	Kontrol	6	1,17	0,167	1	2	4	11,167	0,000*
	50	6	1,33	0,211	1	2			
	100	6	1,50	0,224	1	2			
	200	6	2,50	0,342	2	4			
	2500	6	3,17	0,307	2	4			
MAP	Kontrol	6	1,00	0,000	1	1	4	13,141	0,000*
	50	6	1,17	0,167	1	2			
	100	6	2,00	0,365	1	3			
	200	6	2,17	0,167	2	3			
	2500	6	2,83	0,167	2	3			

*p<0,001

Tablo 3. 50: Farelerde MSG dozları için H&E histokimyasal, GFAP ve MAP-2 immünohistokimyasal boyamalarına ait tanımlayıcı istatistikler ve Mann-Whitney U ikili karşılaştırma sonuçları.

	Grup		Mann-Whitney U	p
	Kontrol	50		
H&E	Kontrol	50	17,50	0,937
	Kontrol	100	9,00	0,180
	Kontrol	200	1,00	0,004*
	Kontrol	2500	5,00	0,041*
	50	100	7,00	0,093
	50	200	0,50	0,002*
	50	2500	2,00	0,009*
	100	200	4,00	0,026*
	100	2500	16,00	0,818
	200	2500	4,00	0,026*
GFAP	Kontrol	50	15,00	0,699
	Kontrol	100	12,00	0,394
	Kontrol	200	2,00	0,009*
	Kontrol	2500	0,50	0,002*
	50	100	15,00	0,699
	50	200	4,00	0,026*
	50	2500	1,00	0,004*
	100	200	6,00	0,065
	100	2500	1,50	0,004*
	200	2500	9,50	0,180
MAP-2	Kontrol	50	15,00	0,699
	Kontrol	100	6,00	0,065
	Kontrol	200	0,00	0,002*
	Kontrol	2500	0,00	0,002*
	50	100	8,00	0,132
	50	200	2,50	0,009*
	50	2500	0,50	0,002*
	100	200	16,00	0,818
	100	2500	8,00	0,132
	200	2500	6,00	0,065

*p<0,05

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Son yıllarda yapay tatlandırıcıların insanlardaki nörokimyasal ve davranışsal etkileri üzerine yapılan tartışmalar ve bu tartışmalara ışık tutmak amacı ile hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalar devam etmektedir. Yapay tatlandırıcılar, günümüzde hemen hemen her alanda kullanılmaktadır (gıda, ilaç, tarım vs.). Bu çalışmada, yapay tatlandırıcılardan en çok bilinen monosodyum glutamat ve aspartaminin davranışsal, biyokimyasal ve histopatolojik etkileri incelenmiştir. Bunun için, laktasyondan sonra çalışma grubuna dahil edilen erkek fare ve sıçanlarda, ilk önce 8 kollu ışınsal labirent eğitimleri yaptırılmış, ardından ASP (50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg, 2500 mg/kg) ve MSG (50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg, 2500 mg/kg) doz enjeksiyonları uygulanmıştır. Enjeksiyonları yapıldıktan sonra 1., 7., 14., 21. ve 28. günlerde postoperatif olarak 8 kollu ışınsal labirent testi gerçekleştirilmiştir. Böylece enjeksiyon öncesi ve sonrası fare ve sıçanların öğrenme ve bellek fonksiyonları test edilmiştir. Her bir fare ve sıçanın enjeksiyon öncesi kilosu tartılarak belirtilen ASP ve MSG dozunu alması sağlanmıştır. Fare ve sıçanlar üzerindeki akut ve kronik etkiyi gözlemek açısından ASP ve MSG dozları, tekrarlayan dozlar şeklinde 8 dozdan oluşmaktadır. Açık alan testi, ASP ve MSG enjeksiyonu öncesi ve sonrası uygulanmıştır. Böylece ASP ve MSG uygulanan ve kontrol grubu fare ve sıçanlar arasındaki lokomotor aktivite fonksiyonlarını değerlendirilebilmiştir. Açık alan testinde toplam gezinme süresi, toplam temizlenme süresi ve doğrulma sıklığı değerlendirilmiştir.

Biyokimyasal parametrelerde, fare ve sıçanların beyin dokusundan GABA, dopamin, katekolamin ve glutamat düzeyleri immünosorbent ELISA yöntemi ile çalışılmıştır. ELISA yönteminde sadece glutamat için beyin serebellum bölgesi kullanılmıştır. Bunun nedeni glutamatın beyinde en çok serebellum bölgesinde bulunmasıdır. Karaciğer dokusunda ise MDA, GSH, SOD düzeyleri belirlenmiştir.

Fare ve sıçan beyninin özellikle orta bölgesinden kesit alınmaya dikkat edilmiş, hipokampal bölgedeki öğrenme ve hafıza ile alakası daha çok olan CA1, CA2 ve CA3 bölgesi, histokimyasal boya H&E ve immünohistokimyasal boyalar GFAP ve MAP-2 ile histopatolojik açıdan değerlendirilmiştir.

4.1 Sıçanlarda ASP ve MSG Uygulama Dozunun Sonuçların Değerlendirilmesi

Yapılan tez çalışmasında sıçanların doku olarak beyin ve karaciğerleri kullanılarak biyokimyasal ve histolojik parametrelerinin, hayvanların davranış parametreleri ile olan uyumluluğu değerlendirilmeye çalışılmıştır.

4.1.1. Sıçanlarda Öğrenme ve Bellek Bulgularının Değerlendirilmesi

4.1.1.1. ASP Dozları Uygulanan Sıçanlarda Öğrenme ve Bellek Bulgularının Değerlendirilmesi

Davranış testlerinden 8 kollu ışınal labirent testi, hipokampuste ve prefrontal kortekste beyin hasarına yönelik davranış değerlendirmelerinde son yıllarda kullanılabilen bir yöntemdir (Bayat ve diğ. 2015, Cai ve diğ. 2014, McDonald White 2013, Setkowicz ve diğ. 2015, Tao ve diğ. 2014).

Sıçanlarda ASP dozları için uygulanan 8 kollu ışınal labirent testinde hata sayısı değerlerine bakıldığı zaman, aspartamın sıçanlara uygulandığı 7., 14., 21. ve 28. günde kontrol grubu ile ASP2500 dozları arasında önemli bir farklılık tespit edilerek sıçanın doğru kolu seçme olasılığı azalmaktadır. Buna göre, ASP uygulamasının neonatal dönemde uzamsal öğrenmeye negatif etkisi olduğu söylenebilir. Ayrıca, ASP2500 dozu için, hata sayısı değerlerinde sıçanlarda enjeksiyon öncesinden 14. güne kadar sistematik bir artışın olduğu ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. Bu fark daha fazla detaylandırıldığında ASP2500 dozu uygulanan sıçanlarda hata sayısındaki en büyük farkın enjeksiyon öncesi ile 14. gün arasında olduğu belirlenmiştir. Hata sayısından elde edilen sonuçlar, ASP doz uygulamasından sonra geçen 14 günlük sürede, aspartamın davranış parametrelerine negatif etkisi olduğunu göstermektedir. Literatürde yapılan bir çalışmada ise, perinatal dönemdeki sıçanlara ASP uygulanmış ve uygulama sonucunda labirentte doğru kolu seçmede değişikliğin olmadığı belirtilmiştir (Holder 1989).

Tao ve diğ. (2014), terapötik hiperkapni edilen sıçanlarda nörolojik bozuklukların düzelmesi ve serebral iskemi-reperfüzyon hasarının histolojik hasarı azaltması ile alakalı yaptıkları bir çalışmada, davranış parametreleri sonuçları ile sıçanlardaki özellikle bozulmuş uzamsal bellek üzerindeki negatif etkileri göstermişlerdir. Uzamsal bellekteki benzer negatif etkiler, diğer araştırmacılar tarafından da ortaya konmuştur (Bayat ve diğ. 2015, Clark ve diğ. 2015, Setkowicz ve diğ. 2015).

Sıçanlarda, ASP dozları için uygulanan 8 kollu ışınsal labirent testinde cevap gecikmesi değerlerine bakıldığı zaman, hemen hemen tüm dozların kontrol ve doz grup değerleri arasında önemli farklılıkların olduğu gözlenmiştir. Bu da kontrol grubu ile birlikte ASP doz artışının hayvanlarda cevap gecikmesi süresinde artış veya azalış şeklinde kendini göstermesine neden olmuştur. Örneğin, farklı doz grupları için cevap gecikme süreleri 1. gün grubunda, 14-110 saniye arasında değişmiş ancak, bu süreler düzenli olmayan dalgalanmalar şeklindedir. Doz gruplarının cevap gecikmesi sürelerine etkisine detaylı bir şekilde bakıldığında, doz artışı ile birlikte 1., 7. ve 14. günlerde cevap gecikme ortalamalarının arttığı görülmüştür. Bu artış hayvanların, labirente geçirdiği sürenin arttığını, bunun yanında ise herhangi bir kola girip doğru ya da yanlış bir kol seçiminde bulunmadıklarını göstermektedir. Davranışsal olarak bu durum, hayvanların labirenti doğru bir şekilde öğrenmemeleri sonucunda, uzamsal hafızalarının da negatif olarak etkilendiğini ortaya koymaktadır. Literatürde Cai ve diğerleri (2014), yüksek doz ASP uygulamalarında genel olarak kronik dönemde cevap gecikmesi değerlerinin arttığını göstermişlerdir. Holder (1989) ise, 8 kollu ışınsal labirent testinde, aspartamın uzamsal bellek değerlerini etkilemediğini ortaya koymuştur.

4.1.1.2. MSG Dozları Uygulanan Sıçanlarda Öğrenme ve Bellek bulgularının Değerlendirilmesi

Davranış değerlendirmelerinde kullanılan ışınsal labirent modelleri genel olarak uzamsal hafıza ve öğrenmeyi test etmek amacıyla kullanılan bir yöntemdir. Bu çalışmada kullanılan yöntemde, hayvanın doğru kolu seçinceye kadar yaptığı hatalı kola giriş sayısı (hata sayısı) ve hayvanın bütün kollara giriş için kullandığı

sürenin, toplam girdiği kol sayısına bölünmesinden oluşan cevap gecikmesi parametreleri kullanılmıştır. Çalışmamızda, sıçanlarda MSG dozları için uygulanan 8 kollu ışınal labirent testinde hata sayısı değerlerine bakıldığı zaman herhangi bir MSG dozu için enjeksiyon öncesi ve sonrasına göre (1., 7., 14., 21. ve 28. gün) önemli bir fark saptanamamıştır. Ancak, değerler ayrıntılı bir şekilde incelendiği zaman, ortalama hata sayısının 0,5 ile 2,67 arasında olduğunu ve hata sayısı yoğunluğunun 1-2 hata sayısı arasında değiştiği gözlenmiştir. Bu kapsamda, hata sayısı değerleri, davranışsal bakımdan sıçanlarda önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. Benzer sonuçlar Cai ve diğerleri (2014) tarafından da ortaya konmuştur.

MSG uygulanan sıçanlarda cevap gecikmesi süresine bakıldığında, 7. ve 21. günlerde önemli bir fark tespit edilmemiştir. Ancak, enjeksiyon öncesi, 1., 14. ve 28. günlerde istatistiksel bakımdan önemli bir farklılıklar bulunmuştur. Bu farklılıklara detaylı bir şekilde bakıldığında MSG doz artışı ile birlikte cevap gecikmesi değerlerinin de arttığı görülmüştür. Bu artışın daha çok MSG dozunun uygulandığı 28. günde olması, hayvanların uzamsal hafıza mekanizmalarındaki defektleri ortaya koymaktadır (McDonald ve White 2013).

4.1.2. Sıçanlarda Lokomotor Aktivite Bulgularının Değerlendirilmesi

4.1.2.1. ASP Dozları Uygulanan Sıçanlarda Lokomotor Aktivite Bulgularının Değerlendirilmesi

Yapılan bu tez çalışmasında, sıçanlara farklı dozlarda ASP uygulanmış ve hayvanlar açık alan testine tabi tutularak, toplam gezinme süreleri belirlenmiştir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda, ASP uygulanmadan önce (enjeksiyon öncesi) elde edilen gezinme süresi değerleri istatistiksel bakımdan anlamlı bulunmuştur. ASP uygulama sonrası elde edilen gezinme süresi değerleri ise istatistiksel bakımdan anlamsızdır. Ayrıca, ASP enjeksiyonu öncesi gezinme süresi değerleri ile, enjeksiyon sonrası gezinme süresi değerleri arasında istatistiksel bakımdan anlamlı fark bulunmaktadır. Enjeksiyon sonrası, gezinme süresi değerlerinde bir azalış bulunmaktadır.

Sıçanlarda ASP dozları için uygulanan açık alan testinde toplam temizlenme süresi değerlerine bakıldığı zaman, enjeksiyon öncesi ve enjeksiyon sonrası değerler arasında istatistiksel bakımda fark olduğu görülmüştür. Özellikle enjeksiyon sonrası kontrol grubu ile yüksek doz ASP uygulanan grup arasında önemli fark olduğu görülmüştür. Bu sonuçlara göre, ASP'nin lokomotor aktiviteyi azaltarak hayvanı daha hipoaktif bir duruma getirip, hayvanın kendi öz bakımına daha fazla zaman ayırdığı belirlenmiştir. Yapılan bir araştırmada da buna benzer sonuçlar ortaya çıkmıştır. Örneğin Motaghinejad ve diğ. (2015) yaptıkları çalışmada, mekansal öğrenme ve hafızayı değerlendirmek için labirent testi kullanmışlar ve hayvanlarda anksiyete ve depresyon düzeyini belirlemişlerdir. Açık alan testi sonuçlarının, sıçanlarda motor aktiviteyi azaltarak, hayvanda anksiyete benzeri davranış özellikleri meydana geldiğini belirtmişlerdir.

Sıçanlarda ASP dozları için uygulanan açık alan testinde doğrulama sayısı değerlerine bakıldığı zaman, ASP dozu enjeksiyon öncesi, istatistiksel bakımdan anlamlı fark bulunmuştur. Enjeksiyon sonrası ise, önemli bir fark görülmemiştir. ASP dozu uygulama öncesi ve sonrası ise istatistiksel bakımdan anlamlı fark görülmüştür. ASP uygulama sonrası doğrulama sayısında azalma görülmüştür. Bu sonuçlar, hayvanların yeni karşılaştıkları açık alanda keşif becerilerinin azalarak daha az doğrulama yaptıklarını göstermektedir. Benzer bir sonucu, Mallick ve Khan (2016), beslenme alışkanlıkları ile anksiyetik ve antidepresan eylemlerin artışı arasındaki ilişkiyi gösteren deney hayvan modeli oluşturarak, lokomotor aktivite artışına bağlı olarak hayvanların keşif becerilerinin azaldığını ortaya koymuşlardır. Tchekalarova ve diğ. (2015), benzer bir çalışma ile epilepsi modeli oluşturdukları sıçanlarda, epilepsi nöbet aktivitesinin, davranışsal ve biyokimyasal değişikliklere yol açarak, hipokampus içindeki serotonin ve nöron kaybını ortaya koymuşlardır.

4.1.2.2. MSG Dozları Uygulanan Sıçanlarda Locomotor Aktivite Bulgularının Değerlendirilmesi

Yaptığımız çalışmada, sıçanlarda MSG dozları için uygulanan açık alan testinde toplam gezinme süresi değerleri, lokomotor aktivite düzeylerini göstermekle beraber, MSG dozu uygulanmasından önce ve sonra, herhangi bir grup için önemli

bir fark ortaya çıkmamıştır. Ancak, MSG uygulama öncesi ve sonrası değerler arasında, istatistiksel bakımdan önemli fark bulunmaktadır. Bu fark, enjeksiyon sonrası gezinme süresinde azalma şeklinde kendini göstermektedir. Benzer sonuçlar, yani motor aktivitedeki azalış, birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur (She ve diğ. 2015, Tyurenkov ve diğ. 2015, Zhu ve diğ. 2015).

Sıçanlarda lokomotor aktivite açısından yapılan bir çalışmada, Dubovickyet ve diğerleri (1996) postnatal 21. ve postnatal 65. günlerde uygulanan MSG'nin lokomotor davranışı artırdığını gözlemlemişlerdir. Bu lokomotor aktivite parametresi ile uyumlu olarak, Ishikawa (1997), neonatal dönemde uygulanan MSG'nin hipokampal CA1 piramidal hücrelerinde spesifik dejenerasyona sebep olduğunu ve bu dejenerasyonun öğrenme bozukluğu ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda, postnatal 1., 3., 5., 7., ve 9. günlerde MSG ile muamele edilen sıçanların, uygulamadan sonraki 7. günde lokomotor aktivitelerinde artış ve sonrasında hipoaktivite ve davranış bozuklukları belirlenmiştir (Ishikawa 1997, Kiss ve diğ. 2007).

Sıçanlarda MSG dozları için uygulanan açık alan testinde toplam temizlenme süresi değerlerine bakıldığı zaman, enjeksiyon sonrasında, önemli fark tespit edilmiştir. Bu fark, kontrol grubu ile yüksek doz MSG arasında istatistiksel bakımdan anlamlı fark olduğunu göstermektedir. Ayrıca, enjeksiyon öncesi ve enjeksiyon sonrasında temizlenme süresindeki artış istatistiksel bakımdan anlamlıdır. Benzer sonuçlar, yani hayvanın hipoaktif hale geçip daha çok özbakım yapması, Oliveira de Almeida ve diğerlerinin (2014) yaptıkları çalışmada ortaya atılmıştır. Yapılan çalışmaya göre, araştırmacılar dopamin D2 reseptör ekspresyonunu Western Blot analizi ile değerlendirmişler ve 57 gün sonra sıçanlara açık alan testi yapmışlardır. Sonuç olarak 57 gün sonra, sıçanlarda lokomotor aktivitede önemli bir azalmayı takiben, başlangıç değerlerine göre nispeten hareketsizlik artmış, ancak bu değerler 71 gün sonra başlangıç seviyelerine geri dönmüştür.

Sıçanlarda MSG dozları için doğrulma sayısı değerlerine bakıldığı zaman, enjeksiyon öncesi kontrol grubu ile MSG2500 dozu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Ayrıca, enjeksiyon öncesi doğrulma sayısı değerleri ile enjeksiyon sonrası doğrulma sayısı değerleri arasında da önemli fark bulunmuştur. Bu farklar, doğrulma sayısında enjeksiyon sonrası azalış şeklinde kendini

göstermiştir. Ortaya çıkan bu sonuçlar, lokomotor aktivitedeki azalış ile de uyumlu bulunmuştur. Literatür çalışmaları ile de sonuçlar desteklenmektedir. Örneğin, oksidan ajan olarak bilinen nikotinin sıçan modelinde kullanılması ile yapılan bir çalışmada, hayvanlara uygulanan açık alan testinin, hayvanların motor aktivitesini azaltarak, anksiyete düzeyini artırdığı belirtilmiştir (Motaghinejad ve diğ. 2015). Diğer yandan, epilepsi modeli oluşturulmuş sıçanlarda ise açık alan testi ile ölçülen lokomotor aktivite faaliyetinde önemli derecede artış saptanmıştır (Langberg ve diğ. 2016).

4.1.3. Sıçanlarda Biyokimyasal Bulguların Değerlendirilmesi

4.1.3.1. Sıçanlarda Karaciğer Oksidatif Stres Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Bu tez çalışmasında beyin dokusu dışında karaciğer dokusu da, özellikle oksidatif ve antioksidatif enzim parametreleri açısından değerlendirilmiştir. Karaciğerde oksidatif enzimlerin tayini, hücresel antioksidan-oksidatif hasarın belirlenmesinde en çok kullanılan yöntemlerden biridir (Botsoglou ve diğ. 1994, Ohkawa ve diğ. 1979). GSH ve SOD hücresel antioksidanlar olarak metabolizmada doğal olarak bulunmaktadır (Boyne ve Ellman 1972, Staal ve diğ. 1969, Misra ve Fridovich 1972). Farombi ve Onyema (2006)'nın yaptıkları çalışmada sıçanların karaciğerinde, böbreklerinde ve beyinlerinde meydana gelen MSG kaynaklı oksidatif hasarı araştırmış, intraperitoneal yolla verilen vücut ağırlığı başına 4 mg/g MSG'nin karaciğer, böbrek ve beyinde malondialdehit (MDA) artışına neden olduğu bildirmişlerdir. Ewees ve diğ. (2015)'e göre hepatotoksisite sonucunda karaciğer dokusunda MDA düzeyinin arttığı, SOD ve GSH düzeylerinin ise azaldığı bildirilmiştir. Dakrory ve diğ. (2015), oksidatif stresin karaciğer hasarının başlaması ve ilerlemesine neden olduğunu bildirmişler ve MDA düzeyinin arttığını, SOD ve GSH düzeylerinin ise azaldığını bulmuşlardır. Daha önce yapılan çalışmalarda sıçanlara uygulanan MSG'nin tek doz uygulaması yapılmış, tekrarlayan yüksek doz uygulaması (2500 mg/kg/8 gün) yapılmamıştır (Bhattacharya ve diğ. 2011, Bojanic ve diğ. 2004, Ciric ve diğ. 2009, Narayanan ve diğ. 2010). Karaciğerde hücresel

oksidatif hasarın anlamlı bulunması, yüksek dozda uygulanan MSG'nin hücrel stres ve doku hasarına neden olduğunu göstermektedir. Bizim çalışmamızda da, ASP ve MSG uygulanan sıçanlarda, MDA düzeylerinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede artma görülmüştür. Ayrıca, SOD düzeyleri de hem ASP hem de MSG uygulanan sıçanlarda anlamlı derecede artmıştır. MSG uygulanan sıçanlarda GSH düzeyinde bir artış görülmesine rağmen istatistiksel bakımdan anlamlı bir artış yoktur. ASP uygulanan sıçanlarda ise, GSH düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ASP2500 dozunda GSH düzeyinin arttığı gözlenmiştir.

Sıçanlarda biyokimyasal sonuçlara bakıldığında, MDA düzeyi ile birlikte, SOD ve GSH düzeylerinin de artması ASP ve MSG uygulamasından sonra hücrel anlamda antioksidan savunma mekanizmasının devreye girdiğini düşündürmektedir. Çünkü ASP ve MSG uygulamasından sonra, yaklaşık 4 hafta sonra hayvanlar dekapite edilmiş ve bu süreç içerisinde ASP ve MSG'nin oksidan etkisine karşı antioksidan enzimler olan SOD ve GSH düzeylerinde artış meydana gelmiştir.

4.1.3.2. Sıçanlarda Beyin Nörotransmitter Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Dopaminin de içinde bulunduğu katekolamin gibi monoaminler, merkezi sinir sisteminde bol bulunan nöroaktif maddelerdendir (Mishra ve Goel 2013). Katekolaminler, öğrenme ve bellek formasyonunda hayati önem taşımaktadır (Izquierdo ve Medina 1997). Dolayısıyla katekolaminlerin konsantrasyonlarındaki artış ve azalışları da önemlidir. Bu çalışmada, ASP ve MSG dozu arttıkça katekolamin düzeyinin istatistiksel bakımdan anlamlı derecede azaldığı belirlenmiştir. ASP ve MSG dozu arttıkça katekolamin düzeyindeki bu azalış, ratlardaki öğrenme ve bellek ile ilgili işlevlerin azalışını nörokimyasal olarak açıklamaktadır.

Literatürde dopaminerjik artışın, dopamin D2 reseptörünün ekspresyonu ile ilişkisi ve sıçanlarda lokomotor aktiviteye olan etkisi üzerine Oliveira de Almeida ve diğerlerinin (2014) yaptıkları çalışmada, dopamin reseptör D1'in, reseptör D2 ile karşılaştırıldığında artmış ekspresyonunun, hayvanlarda lokomotor aktiviteyi

azaltarak mobilizasyonu yani hareketsizliği artırdığı ileri sürmüşlerdir. Benzer bulgular, diğer araştırmacılar tarafından da ortaya konmuştur (Mallick ve Khan 2016, She ve diğer. 2015). Yaptığımız çalışmada dopamin değerlerine baktığımız zaman hem ASP hem de MSG dozu uygulanan sıçanlarda uygulama dozu arttıca dopamin değerinin de arttığı görülmüştür. Ayrıca ASP ve MSG dozu arttıca dopamin artışı, bunun yanında ise katekolamin değerlerinin azalışı beyinde her iki nörotransmitter değerlerinin birbiri ile uyumlu olduğunu göstermektedir.

Beyindeki önemli nörotransmitterlerden biri olan glutamat memeli merkezi sisteminin temel eksitatör nörotransmitterlerinden biri olarak glutamat reseptörlerini stimüle eder ve patolojik ve fizyolojik süreçlerin her ikisinde de önemli bir rol oynar (Ganong 2005, Mattson 2008). Glutamat serebellumun majör nörotransmitterlerinden biridir (Gallo ve diğer. 1982), Serebellum ise duyuşsal algı ve motor verimin bütünleşmesinde önemli rol oynayan bir beyin bölgesidir ve istemli hareketlerin kontrolü ve koordinasyonuna katılır (Standring ve diğer. 2005). Glutamat aktivasyonunun artışı, infant farelerde nörolojik akımın geniş bir aralığı etkilemesine katkıda bulunur (Goldsmith 2000) ve ratlarda uzun süreli depresyonu uyarır (Calabresi ve diğer. 1999). Yapılan bu tez çalışmasında da, sıçanlarda kontrol grubu ile MSG2500 grubu karşılaştırıldığında glutamat düzeyinde anlamlı bir artış görülmüştür. Aynı zamanda, kontrol grubu ile ASP2500 grubu karşılaştırıldığında glutamat düzeyinde anlamlı bir artış görülmüştür. Normalde beyinde, sinaptik aralığa salınan glutamat konsantrasyonu çok yüksek seviyelere çıkabilmekte ancak bu kadar yüksek konsantrasyon sadece birkaç milisaniye sürmektedir. Süre uzadığında ise nöronal glutamat reseptörlerinin aşırı uyarılması nöronları öldürücü bir eksitasyonla karşı karşıya bırakmaktadır. İskemi sırasında ekstraselluler yoğun glutamat birikimi glutamat reseptörlerini uyarmakta, bu da nöronal ölüme neden olan bir dizi reaksiyonun tetiğini çekmektedir. İskemi sonucu azalmış oksijen konsantrasyonunun enerji bağımlı glutamat geri alımını önleyerek ekstraselluler glutamat artışına yol açtığı düşünülmektedir (Kurul ve Gulmez 2007).

Çalışmamızda, sıçanlara uygulanan ASP ve MSG dozu arttıca GABA düzeyi azalmıştır. Glutamat/GABA oranının azalması, beyin korteks ve hipokampüste geri besleme inhibisyonu akla getirmektedir (Mishra ve Goel 2015). Bu nörokimyasal düzeydeki azalma şeklindeki değişiklikler Mishra ve Goel (2013, 2014) ve Singh ve diğerleri (2013) tarafından da bildirilmiştir. Bizim alışmamızda

da glutamat/GABA oranının azalması, yüksek ASP ve MSG dozu (2500 mg/kg) uygulanan hayvanlarda aynı mekanizmanın işlediği sonucunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, GABA reseptör yoğunluğu ve uzamsal öğrenme arasındaki pozitif korelasyonun olması Schmid ve diğerleri (1996) tarafından GABA düzeyindeki azalış ile 8 kollu ışınsal labirent sonuçlarındaki uzamsal öğrenme parametrelerindeki azalışı açıklar niteliktedir. Bunun yanında, eksitator nörotransmitter glutamat ve inhibitör nörotransmitter GABA arasında bir denge olduğu düşünülmektedir ve bu denge hipokampal dolaşım için temel öneme sahiptir ve sistemin birinin lehine doğru kayması işlev bozuklukları ile ilgili dengesizliğe yol açabilir (Schmid ve diğ. 1996). 8 kollu ışınsal labirentte uzamsal öğrenme ve reseptör yoğunluğu arasındaki korelasyon iki faktör ile açıklanabilir: birincisi, hipokampüsteki noradrenalinin salınımında GABA_A (GABA reseptör A)'nın kolaylaştırma etkisidir (artan ödül sisteminin artışı ve yemek motivasyonlu görev), İkincisi ise GABA_A reseptörlerinin AMPA reseptörleri ve kainat reseptörleri arasındaki güçlü pozitif korelasyondur (Schmid ve diğ. 1996).

Bizim sonuçlarımıza göre hem biyokimyasal açıdan (glutamat artışı, GABA azalışı, dopamin artışı, katekolamin azalışı, MDA artışı) hem de histopatolojik açıdan (hücrel nekroz, GFAP ekspresyon artışı, MAP-2 ekspresyon azalışı) elde edilen sonuçlar ışınsal labirentte hata sayısı değerleri ile uyumludur. Sonuçta hücrel anlamda glutamat/GABA oranı arasındaki denge, dopamin/katekolamin oranı arasındaki denge hayvanın labirentte kol seçiminde hata yapmamasını sağlamıştır. Beyin hipokampus CA1 bölgesi ve arkuat nükleus beyin korteksindeki nekroz ve immünohistokimyasal ekspresyon değişiklikleri hayvanların akut ve kronik dönemdeki cevap gecikmesi değerlerine etki etmiştir. Sonuçta serebral iskemi ve reperfüzyon, uzamsal bellek ve motor sensörleri olumsuz etkileyen bir mekanizmayı oluşturmaktadır (Tao ve diğ. 2014). Hipokampus, amigdala ve dorsal striatumun öğrenme ve hafıza ilgili rollerini araştıran bir çalışmada, 8 kollu ışınsal labirent kullanarak üç beyin bölgelerinde oluşturulan lezyonların davranışsal etkileri araştırılmıştır (McDonald ve White 2013). Araştırma sonuçlarına göre, hipokampusun sinir sistemi uyaranları ve olayları arasındaki ilişkilerden sorumlu olduğu, amigdalanın içerdiği sinir sistemi ile biyolojik olarak önemli olaylara dayanan davranışlar hakkında bilgi sağladığı, dorsal striatumun ise sinir sistemi

aracılığı ile güçlendirilmiş uyaran-tepki birlikteliklerinin kurulmasını katkı sağladığı belirtilmiştir (McDonald ve White 2013).

4.1.4. Sıçanlarda Histopatolojik ve İmmünohistolojik Bulgularının Değerlendirilmesi

Sıçanlar için histopatolojik ve immünohistopatolojik değerlendirmeler, ASP ve MSG doz uygulamalarından sonra beyin orta bölgesinde özellikle hipokampusun CA1, CA2 ve CA3 bölgesinde yapılmıştır. Histopatolojik olarak hematoxilen eosin boyası ile, immünohistopatolojik olarak ise GFAP ve MAP-2 boyaları ile doku değerlendirmeleri gerçekleştirilmiştir. Değerlendirmelerde, genel olarak hücresel nekroz, dizilim bozukluğu, nöronal tabakada incelme ve reaktif gliozis varlığı belirlenmiştir.

Hematoxilen eosin düzeyinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında MSG200 ve MSG2500 dozunda hipokampüste normal görünüm dışında çok sayıda dejenere nöron görülmüştür. İstatistiksel olarak da bu anormal görünüm özellikle kontrol grubu ile MSG200 ve MSG2500 dozu ile karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur. Benzer sonuçlar, immünohistopatolojik olarak, **MAP-2** ve **GFAP** boyamasında da kendini göstermektedir. Hem MSG200 hem de MSG2500 dozunda MAP-2 ve GFAP immünohistopatolojik değerlendirmelerinde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bir artış söz konusudur. Bu sonuçlara, hipokampüste MAP-2 immünohistopatolojik değerlendirme açısından baktığımızda MAP-2 ekspresyonunun normal görünüme göre belirgin olarak azaldığını ve nöronal tabakada ise belirgin incelme olduğunu söyleyebiliriz. GFAP ekspresyonu açısından bakıldığında yine MSG200 ve MSG2500 dozlarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında immünohistokimyasal boyalarla değerlendirme açısından istatistiksel bakımdan anlamlı bir artış söz konusudur. Reaktif gliozis, MSG200 ve MSG2500 doz gruplarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli artış göstermiştir.

Sıçanlara uygulanan ASP doz uygulamalarından sonra histopatolojik ve

immünohistopatolojik değerlendirmeler MSG doz uygulamaları ile istatistiksel açıdan benzerlik göstermektedir. Elde edilen sonuçlara göre, **hematoksilen eosin** boyamasında ASP 200 ve ASP2500 dozlarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak histopatolojik değerlendirmelerde anlamlı bir artış söz konusudur. Buna göre, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ASP200 ve ASP2500 dozunda, hipokampuste normal görünüm dışında çok sayıda dejenere nöron görülmüştür. Aynı şekilde hem MAP-2 hem de GFAP ekspresyonları açısından yine yüksek doz MSG (MSG200 ve MSG2500) uygulanan sıçanlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında immünohistopatolojik değerlendirmeler açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Bu farklar açısından değerlendirme yapıldığında, MAP-2 ekspresyonunun normal görünüme göre belirgin olarak azaldığı ve nöronal tabakada ise belirgin incelleme olduğu söylenebilmektedir. GFAP ekspresyonu açısından bakıldığında yine ASP200 ve ASP2500 dozlarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında immünohistokimyasal boyalarla değerlendirme açısından istatistiksel bakımdan anlamlı bir artış söz konusudur. Bu dozlarda da reaktif gliozis, ASP200 ve ASP2500 doz gruplarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli artış göstermiştir.

Literatüre bakıldığında, Coleman ve diğerleri (2010) yaptıkları çalışmada, deneysel olarak sıçanlarda oluşturulan tip 1 diabetesin merkezi sinir sisteminde, GFAP ekspresyonunu düşürdüğünü ancak insülin tedavisi sonucunda bu ekspresyonun arttığını ortaya koymuşlardır. Diğer yandan, glutamat MSG dozu uygulaması sonucunda artmış ve bu artış histopatolojik anlamda GFAP ve MAP-2 ekspresyon sonuçları ile anlamlı olduğu bulunmuştur. Han ve diğ. (2008) nöronal markır MAP-2 ve astroglial markır GFAP ekspresyonları ile yaptıkları bir çalışmada, hücre dışı glutamat artışına bağlı olarak MAP-2 ekspresyonunun düştüğü, GFAP ekspresyonunun ise arttığı görülmüştür.

4.2. Farelerde ASP ve MSG Uygulama Dozunun Sonuçların Değerlendirilmesi

ASP ve MSG dozlarının, farelerde davranış ve lokomotor aktiviteye olan etkisi açısından değerlendirilmesinde kullanılan yöntemler, sıçanlarda kullanılan yöntemler ile benzerdir. Tıpkı sıçanlarda olduğu gibi farelerin beyin ve karaciğerleri kullanılarak biyokimyasal ve histolojik parametrelerin, hayvanların davranış parametreleri ile olan uyumluluğu değerlendirilmiştir.

4.2.1. Farelerde Öğrenme ve Bellek Bulgularının Değerlendirilmesi

4.2.1.1. ASP dozları uygulanan Farelerde Öğrenme ve Bellek Bulgularının Değerlendirilmesi

Literatürde, fareler ile yapılan çalışmalarda davranış parametrelerinde kullanılan 8 kollu ışınsal labirent testi, Alzheimer gibi sinaptik fonksiyon bozukluğu ve ilerleyici bellek kaybı şeklinde kendini gösteren deney modellerinde kullanılmaktadır (Clark ve diğ. 2015). Bu modellerde kullanılmasının en önemli sebebi, Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklarda mekansal çalışma belleğini değerlendirme imkanı sunmasıdır. Bir diğer literatürde, hipokampal nöroanatomi farklılık gösteren farelerde, uzamsal öğrenme yeteneğinin test edilmesi için ışınsal labirent testi kullanılmıştır (Delprato ve diğ. 2015). Böylelikle hipokampal nöroanatomi ve bunun davranış üzerine olan etkilerine bakılmıştır. Elde edilen verilere göre, ışınsal labirent testinde 7 farklı hipokampal bölgenin uzamsal öğrenme ile alakalı olduğu ortaya konmuştur. Birçok hormonun veya nörotransmitterin davranışsal parametrelere olan etkisinin değerlendirilmesinde ışınsal labirent testi kullanılmaktadır.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre, hata sayısı bakımından aspartamin farelere uygulandığı 28. günde kontrol grubu ile ASP2500 dozu arasında istatistiksel bakımdan anlamlı fark bulunmuştur. Dolayısıyla ASP uygulamasından sonraki 28. günde farenin hata sayısı artmaktadır. Bu sonuca bakılarak, ASP uygulamasının hayvanın doğru kolu seçmesini etkileyerek, uzamsal öğrenmeye ve bellek mekanizmalarının işlemesine daha çok etkisi olduğu söylenebilir. Son yıllarda konu ile ilgili benzer çalışmalar yapılmaktadır. Örneğin, Onalapo ve diğerleri (2014), ağız yolu ile uygulanan melatoninin farelerde yeni uyarılmış davranışlar üzerindeki

etkisini açık alan, Y labirent ve ışınsal kollu labirent kullanılarak değerlendirdikleri bir çalışmada, açık alan testinde önemli bir değişiklik görülmemiş, Y labirent testinde kontrol grubu ile kıyaslandığında melatonin 5 mg/kg uygulanan farelerde uzamsal hafızada iyileşme görülmüştür ve ayrıca, ışınsal kollu labirent testinde ise labirentin keşfedilmesinde de önemli ölçüde azalma meydana gelmiştir. Yapılan başka bir çalışmada, çalışan belleğin yaşa bağlı olarak değişiklikleri araştırılmıştır (Stevens ve Brown 2015). Yapılan bu çalışmada, beta amiloid plakları hasara uğratılmış fare modeli ile nörofibriler yumaklar meydana getirilmif ve 6 aylıktan küçük farelerde nöro-patolojik bulgular incelenmiştir. Sonuç olarak, erken yaşlardan itibaren hafıza kaybı gibi semptomların bu plaklardaki hasar sonucu ortaya çıktığı yapılan davranış testi ile belirlenmiştir.

Farelerde ASP dozları için uygulanan 8 kollu ışınsal labirent testinde cevap gecikmesi değerlerine bakıldığı zaman, 1., 14. ve 21. ve 28. günlerde, istatistiksel bakımdan anlamlı fark bulunmuştur. Farelerde, ASP2500 dozu ve kontrol grubu arasında cevap gecikmesi değerlerinde, 21. günde, istatistiksel bakımdan anlamlı fark bulunmuştur. Diğer günlerde ise ASP200 dozu ile kontrol grubu arasında istatistiksel bakımdan anlamlı fark vardır. Sonuç olarak cevap gecikmesi değerleri ve hata sayısı değerleri arasında yüksek derecede uyum bulunmaktadır. Her ikisinde de uygulama sonrasındaki 28. günde cevap gecikme süresi ve hata sayısı artmaktadır. Cevap gecikmesi ve hata sayısındaki benzer sonuçlar Yang ve diğerlerinin (2015) yaşa bağlı bilişsel bozukluk ile alakalı olarak fareler üzerine yaptıkları bir çalışmada uzamsal öğrenme ve hafızada bozukluklar belirlemişlerdir.

4.2.1.2. MSG Dozları Uygulanan Farelerde Öğrenme ve Bellek Bulgularının Değerlendirilmesi

Farelerde son zamanlarda yapılan çalışmalardan birinde, serotonin gibi hormon reseptörlerinin ruh hali ve kognitif fonksiyonlar da önemli roller oynadıkları ve farelerde lokomasyonu bozmadan hareketsizliği azalttığı ortaya konmuştur

(Pereira ve diğ. 2015). Farelerde MSG dozları için uygulanan 8 kollu ışınsal labirent testinde cevap gecikmesi değerlerine bakıldığında, enjeksiyon öncesi, 1., 7., 14., 21. ve 28. günlerde istatistiksel bakımdan anlamlı fark bulunmamıştır. Bunun yanında, MSG dozları için cevap gecikmesi değerlerinde, enjeksiyon öncesi, 1., 7., 14. ve 21. günlerde istatistiksel bakımdan anlamlı fark bulunmuştur. Cevap gecikmesi değerlerinde 1. ve 14. günlerde kontrol grubu ile MSG2500 dozu arasında istatistiksel bakımdan anlamlı fark bulunmuştur. Fareler için hata sayısında MSG dozları ile karşılaştırıldığında kontrol grubu ile bir fark görülmemesi, bunun yanında cevap gecikmesi değerlerinde özellikle 14. günde bir fark olması hayvanın labirentte doğru ya da yanlış bir kol tercihinde bulunmadan sadece stabil olarak beklediği sonucunu ortaya çıkarmaktadır. Bu sonuçların MSG doz uygulamasından 2 hafta sonra (14. gün) gerçekleşmesi, hayvanlarda öğrenme ve bellek mekanizmalarının bu süre zarfında zarar gördüğünü ortaya çıkarmaktadır. Benzer sonuçlar, Igarashi ve diğerlerinin (2014) yaptıkları çalışma ile ortaya konmuştur. Bu çalışmaya göre, adrenomedüllin (AM) reseptörünün vasküler fonksiyonlardaki rolü üzerine bir çalışma farelerde planlanmış ve davranış parametresi olarak 8 kollu ışınsal labirent kullanılmıştır.

Ayrıca, hata sayısı parametreleri açısından değerlendirildiğinde ışınsal labirent testindeki uzamsal bellek için hata sayısındaki anlamlı olmayan sonuçlar. Furgerson ve diğerlerinin (2014), yeni geliştirdikleri bir fare modelinde uzamsal işleyen hafızayı değerlendirdikleri bir çalışma ile ortaya konmuştur. Sonuç olarak, kısa vadeli ve uzun vadeli plastisite açısından mekânsal çalışma belleği değerlendirilmekle birlikte, ventral ve dorsal hipokampüsteki sinaptik iletim, hipokampüsün CA1 bölgesinde ölçülmüştür.

4.2.2. Farelerde Lokomotor Aktivite Bulgularının Değerlendirilmesi

4.2.2.1. ASP Dozları Uygulanan Farelerde Lokomotor Aktivite Bulgularının Değerlendirilmesi

Günümüzde farelerin bazal lokomotor aktiviteleri ile ilgili ilaç çalışmalarında açık alan testi kullanılmaktadır. Bu çalışmalardan birinde verilen antidepresan ilaç, farenin hareketsizlik süresini azaltmış fakat, lokomotor aktivite ve motor koordinasyona etki etmemiştir (Amin ve diğ. 2015). Ayrıca, Dela ve diğerleri (2015), gece içilen sütün anksiyolitik etkileri ve psikofarmakolojik özelliklerini değerlendirmek amacı ile oral yoldan çeşitli konsantrasyonlarda (100, 200 ya da 300 mg/kg) farelere süt vermişlerdir. Çalışma sonucunda, gece süt içirilen hayvanların lokomotor aktivite (açık alan testi) ve bozulmuş motor denge ve koordinasyon (rotarod testi) düzensizliklerinin azaldığını saptamışlardır. Diğer yandan, günümüzde, anksiyetenin gen düzeyinde fare modellerinde gösterilerek, açık alan testi ile farelerin lokomotor aktivitenin belirlenmesine yönelik çalışmalar yapılmaktadır (Gudasheva ve diğ. 2015, Kulikova ve diğ. 2016). Yine anksiyete ile ilgili yapılan çalışmalardan birinde, Liu ve diğerleri (2015) probiyotiklerin, anksiyete gibi davranışsal ve psikiyatrik hastalıkların iyileştirilmesi de dahil olmak üzere sağlık alanı gibi pek çok alanda önemli yararı olduğunu belirtmiş ve bunu kanıtlamak amacı ile farelerde açık alan testi uygulamıştır. Çalışma sonucunda, farelerin probiyotikle tedavileri sonucu açık alan testinde kat ettikleri toplam mesafeleri artmakla birlikte, prefrontal korteks, hipokampus ve striatum gibi beyin bölgelerinde serotonin ve dopamin seviyeleri de artmıştır. Bu çalışma, davranış değişikliklerinin striatumun monoamin nörotransmitterlerindeki artış ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Yine yapılan bir çalışmada, serotonin ve reseptörlerinin, duyu durum ve kognitif fonksiyonların çeşitli yönlerinde önemli roller oynadığı gösterilmiştir (Pereira ve diğ. 2015). Bu amaçla farelerde duyu durum, anksiyete ve duygusal öğrenme açık alan testi ile test edilmiştir. Bizim çalışmamızda da ASP ve MSG'nin davranış üzerine olan etkisi beyin hipokampal bölgedeki monoaminlerin artış ve azalışı ile ilişkilendirilmiştir.

Görüldüğü üzere fareler üzerinde anksiyete ve depresyon modellerinin oluşturularak bunun açık alan testi ile test edilmesi oldukça popüler bir yöntemdir (Amin ve diğ. 2015, Cheng ve diğ. 2015, Dela ve diğ. 2015, Liu ve diğ. 2015, Pereira ve diğ. 2015). Bunun en önemli sebeplerinden biri davranış özelliklerinin beyin histopatolojisi ve nörotransmitter biyokimyası ile ilişkilendirilebilmesidir. Bu amaçla farelerde tıpkı sıçanlarda olduğu gibi açık alan testi ile ASP ve MSG'nin

hayvanlardaki lokomotor aktivite ve anksiyete fonksiyonları değerlendirilmiştir. Çıkan sonuçlara göre, enjeksiyon öncesi ve enjeksiyon sonrası toplam gezinme süresinde değerlerine bakıldığı zaman bir azalma söz konusudur ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlıdır. Özellikle enjeksiyon sonrası kontrol grubu ile ASP2500 dozu arasında anlamlı fark bulunmuştur. Benzer sonuçlar, Amin ve diğerleri (2015) tarafından da ortaya konmuştur. Diğer yandan toplam temizlenme süresi değerlerinde, enjeksiyon öncesi ve enjeksiyon sonrasına göre anlamlı bir artma görülmüştür. Benzer sonuçlar yapılan araştırmalar ile de ortaya konmuştur (Gudashevave diğ. 2015, Kulikova ve diğ. 2016).

Farelerde ASP dozları için uygulanan açık alan testinde doğrulma sayısı değerlerine bakıldığı zaman, enjeksiyon öncesi ve enjeksiyon sonrası doğrulma sayısı değerlerinde bir azalma görülmüştür. Özellikle enjeksiyon sonrası, kontrol grubu ile ASP2500 dozu arasında istatistiksel bakımdan anlamlı bir azalma söz konusudur. Bu azalma, hareketsizlik süresinin artarak, temizlenme süresinin artışı ile paralellik göstermektedir. Locomotor aktivitedeki bu artış ve azalışlar, Otsuka ve diğerleri (2015) tarafından da ortaya konmuştur.

4.2.2.2. MSG Dozları Uygulanan Farelerde Locomotor Aktivite Bulgularının Değerlendirilmesi

Farelerde MSG dozları için uygulanan açık alan testinde toplam gezinme süresi değerlerine bakıldığı zaman, enjeksiyon öncesi ve enjeksiyon sonrası değerlerde anlamlı bir azalma görülmüştür. Özellikle enjeksiyon sonrası, kontrol grubu ile MSG2500 dozu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır. Toplam gezinme süresi değerlerindeki bu etkiler, Zhen ve diğerleri (2015) tarafından da ortaya konmuştur.

Farelerde MSG dozları için uygulanan açık alan testinde toplam temizlenme süresi değerlerine bakıldığı zaman, sadece enjeksiyon sonrası bir artma görülmüştür. Farelerdeki toplam temizlenme süresindeki bu artış hayvanın daha çok anksiyolitik

tepkiler verdiğini göstermektedir. Bu anksiyolitik etkiler Cheng ve diğerleri (2015) yaptıkları çalışmada, farelerin beyin monoaminlerin ölçümlerinin sonuçları ile açık alan testi sonuçları anksiyolitik etkiler ile tutarlıdır. Bu çalışmada, aynı zamanda serotonin, dopamin, norepinefrin değerlerinde de düşüşler meydana gelmiştir. Farelerde MSG dozları için uygulanan açık alan testinde doğrulma sayısı değerlerine bakıldığı zaman, enjeksiyon öncesi ve enjeksiyon sonrası kontrol ve MSG50 grubu hariç her bir grup için azalma görülmüştür. Benzer etkiler Amiri ve diğerleri (2015) tarafından sosyal izolasyon stres parametrelerini çalıştıkları farelerde, anksiyolitik etkilerin ortaya çıkması şeklinde açıklanmıştır.

4.2.3. Farelerde Biyokimyasal Bulguların Değerlendirilmesi

4.2.3.1. Farelerde Karaciğer Oksidatif Stres Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Bu alışmada, ASP ve MSG uygulanan farelerde, MDA düzeylerinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede artma görülmüştür. Ayrıca SOD düzeyleri de ASP uygulanan farelerde artmış, MSG uygulanan farelerde ise anlamlı derecede azalmıştır. Benzer sonuçlar Ashok ve diğerleri (2015) yaptıkları çalışmada ortaya konmuştur.

ASP ve MSG uygulanan farelerde GSH düzeyinde bir artma görülmüştür. MDA düzeyi ile birlikte, GSH düzeylerinin artması ASP ve MSG uygulamasından sonra hücrenel anlamda antioksidan savunma mekanizmasının devreye girdiğini düşündürmektedir. Çünkü ASP ve MSG uygulamasından sonra, yaklaşık 4 hafta sonra hayvanlar dekapite edilmiş ve bu süreç içerisinde ASP ve MSG'nin oksidan etkisine karşı antioksidan enzimler olan GSH düzeylerinde artış meydana gelmiştir. Bu konu ile alakalı olarak, Zhao ve diğerleri (2015) yaptıkları çalışmada, MDA'nın hayvanlarda arttığını, GSH-Px ve SOD aktivitelerinin ise azaldığını ortaya koymuşlardır. Abu-Taweel ve diğerleri (2014) ise, MDA, GSH ve SOD

düzeylerindeki artış ve azalışlarda, MSG etkisinin nörotransmitter ve oksidatif stres endeksleri ile bilişsel işlev bozuklukları ile olan etkileşimini göstermişlerdir.

4.2.3.2. Farelerde Beyin Nörotransmitter Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Katekolamin sentezinin hız sınırlayıcı basamağında tirozinin DOPA'ya hidroksilasyonunu tirozin hidroksilaz kataliz eder (Korner ve diğ. 2015). Tirozin hidroksilazdaki mutasyonlar bu mekanizmayı bozmaktadır. Bu durumda farelerde, katekolaminlerin ve davranışsal motor bozukluklardaki önemini ortaya koymaktadır. Çünkü tirozin hidroksilaz eksikliğinde, patolojik mekanizmalardaki defektler sonucunda, striatum dopaminerjik giriş kaybı ile hareket bozuklukları meydana gelmektedir (Korner ve diğ. 2015).

Çalışmamızda, ASP ve MSG dozu arttıkça katekolamin düzeyinin azaldığı bulunmuştur. ASP ve MSG dozu arttıkça katekolamin düzeyindeki bu azalış, farelerdeki öğrenme ve bellek ile ilgili işlevlerin azalışını nörokimyasal olarak açıklamaktadır. Keza farelere amfetamin verilerek yapılan bir çalışmada, artan katekolamin düzeyinin, hayvanlarda motor aktivite ve amaca yönelik davranışları artırdığı belirtilmiştir (Minassian ve diğ. 2016). Bu nedenle, farelere akut uygulanan amfetaminin katekolamin/dopamin taşıyıcı inhibitörü olduğu ve dopamin yakalayıcısı olarak görev yaptığı söylenebilir. Zira, amfetamin farelerde motor aktiviteyi artırarak spesifik keşif oranını azaltmıştır.

Farelerde kronik gürültünün, bilişsel aktiviteleri bozduğu ve beyinde oksidatif stresi uyardığı ortaya konulmuş ve davranış değerlendirilmesi açısından, Morris su labirenti ile öğrenme ve bellek bozukluğu tespit edilmeye çalışılmıştır (Wang ve diğ. 2015). Fenolik bileşikli bir antioksidan ile farelerin beslenmesi sonucunda gürültü kaynaklı artan katekolamin düzeyleri düzelmiş ve oksidatif stres ortadan kalkmıştır (Wang ve diğ. 2015). Plazma katekolamin düzeylerindeki artışın fare modellerinde, oral karsinom hücrelerinin daha invazif büyümesine yol açtığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Xie ve diğ. 2015). Kronik stres altında oluşan bu durum neticesinde katekolamin ve glukokortikoid düzeylerindeki artış tümör oluşumu ve ilerlemesine neden olmaktadır. Sonuç olarak katekolaminlerin oksidatif stres ortamındaki düzey

değişiklikleri beyin başta olmak üzere pek çok doku ve organa etki etmektedir. Bununla birlikte, kronik stresin rolünü araştıran bir çalışmada, farelerde karaciğer metastaz modeli oluşturularak katekolamin düzeylerine bakılmış ve kronik stresin katekolamin düzeylerini yükselttiği ve karaciğer metastazını teşvik ettiği belirtilmiştir (Zhao ve diğ. 2015).

Dopaminerjik mekanizmalar fareler ile yapılan birçok deneysel modelde çalışılmaktadır. Örneğin, Parkinson hastalığının tedavisinde kullanılan bir ilaç, beyinde nigrostriatal nörodejenerasyonu ve frontostriatal dopamin düşüşüne karşı koruyucu etki göstererek, dopaminerjik nörotransmisyonun bilişsel durumu düzeltmesini sağlamıştır (Aguiar ve diğ. 2016). Sonuçta dopamin, beş G-protein bağlı reseptörler bağlanan bir katekolamin olup, hücrede pek çok mekanizmada rol oynamaktadır (Borcherding ve diğ. 2015). Örneğin, monoaminerjik vericiler olarak adlandırılan dopamin, noradrenalin ve serotonin, beyinde geniş bir alanı etkileyerek serebral fonksiyonları modüle ederler. Bu monoaminler, kognitif fonksiyonları düzenleyerek psikiyatrik hastalıkların patofizyolojisindeki tanımlayıcı rollerini anlamamızı sağlar (Isingrini ve diğ. 2015).

Çalışmamızda, ASP ve MSG dozu arttıkça dopamin düzeyinin arttığı bulunmuştur. Bu sonuçlar, öğrenme mekanizmasında, dopamin nöronlarının rolü ile ilgili teorileri akla getirmektedir. Bu teorilere göre, dopaminerjik nöronlarda NMDA/glutamat reseptör (NMDAR) ilişkili mekanizmaları içeren hücrelerin NMDA-bağımlı regülasyonu öğrenme süreçlerini etkilemektedir (James ve diğ. 2015). Ayrıca yapılan çalışmalardan birinde, yetişkin farelerde merkezi sinir sistemi içinde inhibitör moleküllerinin varlığı akson yaralanmasını takiben aksonun büyümesinde sınırlayıcı bir ortam oluşturmaktadır (Kauhausen ve diğ. 2015). Akson tamiri ve büyümesi ile alakalı olarak Parkinson hastalığında klinik çalışmalar hastaların belirtilerini hafifletmek ve aksonun hayatta kalmasını sağlamak için fetal kaynaklı dopamin nöronlarının önemine dikkat çekmiştir (Kauhausen ve diğ. 2015). Ayrıca, bütün bunların yanında oksidatif stres ve inflamasyon Parkinson hastalığında, dopaminerjik nörodejenerasyona sebep olan faktörlerden bazılarıdır (Sridharan ve diğ. 2015).

Yaptığımız tez çalışmasında farelerin glutamat düzeylerinde tıpkı sıçanlarda olduğu gibi, kontrol grubu ile MSG2500 mg/kg grubu karşılaştırıldığında, anlamlı bir artış görülmüştür. Glutamat direkt olarak presinaptik inhibitör internöronlarda NMDA reseptörlerini aktive ederek, GABA salınmasını hızlandırmaktadır. Nöronal akış içerisinde, eksitatör-inhibitör dengenin bozulması bu sonuca sebep olmaktadır (Dubois ve diğ. 2015).

GABA reseptörleri davranış etkilerinin düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir. GABA, bazal lokomotor aktivitenin oluşmasında oldukça önemli bir rol oynamaktadır (Jacobson ve diğ. 2015). Ayrıca son on yıldaki çalışmalar nöronlar ile dinamik bir etkileşim içinde olan glial hücrelerden astrositlerin Ca^{2+} bağımlı glutamat yanıtındaki önemine dikkat çekmektedir. Astrositler benzer inhibitör nörotransmitterden GABA gibi diğer nörotransmitterler ile etkileşim içindedir (Mariotti ve diğ. 2016). Astrositik GABA beyinin birçok bölgesinde görülmekle birlikte, fizyolojik rolü henüz açıkça kanıtlanmamıştır (Yarishkin ve diğ. 2015). Yaptığımız çalışmada, farelerin GABA düzeyleri, kontrol grubu ile MSG dozları karşılaştırıldığında, azalmıştır. Aynı şekilde fareler için, kontrol grubu ile ASP dozları karşılaştırıldığında GABA düzeyinde anlamlı bir azalış görülmüştür.

Yapılan bir çalışmada, MSG ve ASP'nin vivo etkileri ayrı ayrı, bilişsel davranış açısından ve farelerin beyin dokusunda nörotransmitter ve oksidatif stres endeksleri gibi biyokimyasal parametreleri değerlendirilerek araştırılmıştır (Abu-Taweel ve diğ. 2014). MSG ve ASP ile muamele edilen hayvanlar, bilişsel davranış testinden sonra, nörotransmitter ve oksidatif stres endeksleri ön beyin dokusundan analiz edilmiştir. MSG ve ASP ayrı ayrı beyin nörotransmitter ve oksidatif stres endekslerini değiştirmiş, daha da önemlisi MSG ve ASP'nin kombinasyonu (MSG+ASP) nörotransmitterlerin düzeylerini (dopamin ve serotonin) anlamlı derecede azaltmış ve aynı zamanda lipid peroksidleri artırarak oksidatif stres nedeniyle tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) ve toplam glutatyon (GSH) düzeyinde azalma meydana gelmiştir (Abu-Taweel ve diğ. 2014). Bu amaçla, ileri

çalışmalarda nörotransmitterlerin, oksidatif stres endekslerinin ve bilişsel işlev bozukluklarının MSG ve ASP'nin sinerjistik etkilerini değerlendirmek için önemli olduğu söylenebilir.

4.2.4. Farelerde Histopatolojik Bulguların Değerlendirilmesi

Fareler için histopatolojik ve immünohistopatolojik değerlendirmeler, ASP ve MSG doz uygulamalarının beyin orta bölgesinde özellikle hipokampusun CA1, CA2 ve CA3 bölgesinde yapılmıştır. Bu beyin bölgelerindeki çalışmalar, literatürde GFAP ekspresyonlarının anlamlılığında farelerde oldukça fazla çalışılan bölgelerdir (Schreiner ve diğ. 2013). Bu tez çalışmasında **H&E** boyası, **GFAP** ve **MAP-2** immünohistokimyasal boyaları ile histopatolojik değerlendirmeler gerçekleştirilmiştir. Değerlendirmelerde, genel olarak hücresel nekroz, dizilim bozukluğu, nöronal tabakada incelme ve reaktif gliozis varlığı belirlenmiştir.

Hematoksilen eosin düzeyinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, MSG2500 dozunda hipokampüste normal görünüm dışında çok sayıda nekrotik nöron görülmüştür. İstatistiksel olarak da bu anormal görünüm özellikle kontrol grubu ile MSG200 ve MSG2500 dozu ile karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur. Benzer sonuçlar, immünohistopatolojik olarak, **MAP-2** ve **GFAP** immünohistokimyasal boyalarında da izlenmiştir. MSG2500 dozunda MAP-2 ve GFAP immünohistopatolojik değerlendirmelerinde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bir artış söz konusudur. Bu sonuçlara, hipokampüste MAP-2 immünohistopatolojik değerlendirme açısından baktığımızda MAP-2 ekspresyonunun normal görünüme göre belirgin olarak azaldığını, nöronal tabakada ise belirgin incelme olduğunu söyleyebiliriz. GFAP ekspresyonu açısından bakıldığında yine MSG2500 dozunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında immünohistokimyasal boyaları değerlendirme açısından istatistiksel bakımdan anlamlı bir artış söz konusudur. Reaktif gliozis, MSG200 ve MSG2500 doz gruplarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli artış göstermiştir.

Sıçanlara uygulanan ASP doz uygulamalarından sonra histopatolojik ve immünohistopatolojik değerlendirmeler MSG doz uygulamaları ile istatistiksel açıdan benzerlik göstermektedir. Elde edilen sonuçlara göre, **hematoksilen eosin** boyamasında ASP2500 dozunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak histopatolojik değerlendirmelerde anlamlı bir artış söz konusudur. Buna göre, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ASP200 ve ASP2500 dozunda, hipokampuste normal görünüm dışında çok sayıda dejenere nöron görülmüştür. Aynı şekilde hem MAP-2 hem de GFAP ekspresyonları açısından ASP200 uygulanan sıçanlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında immünohistopatolojik değerlendirmeler açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Bu farklar açısından değerlendirme yapıldığında, MAP-2 ekspresyonunun normal görünümüne göre belirgin olarak azaldığı ve nöronal tabakada ise belirgin incelleme olduğu söylenebilmektedir. GFAP ekspresyonu açısından bakıldığında yine ASP200 dozunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında immünohistokimyasal boyaları değerlendirme açısından istatistiksel bakımdan anlamlı bir artış söz konusudur. Bu dozda reaktif gliozis, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli artış göstermiştir.

Kawada ve diğerleri (2014) yaptıkları çalışmada, nöral kök hücrelerin merkezi sinir sistemi gelişiminde önemli bir rol oynadığını belirterek, nöronal endoplazmik retikulumdaki belirgin stresin, dendrit uzunluğu azaltarak, MAP-2 ekspresyon seviyelerini düşürdüğünü ortaya koymuşlardır. Yine yapılan bir çalışmada, Wang ve diğerleri (2015), glutaminazın önemli bir uyarıcı nörotransmitter ve hücre metabolizması için enerji sağlayıcılarından biri olarak hizmet eden enzim olduğunu ve böbrekteki glutaminaz ve glutaminaz C1'in, MAP-2 ifadesi ile korelasyonunun nöronal farklılaşma sırasında regüle edici özelliği olduğunu belirtmişlerdir. Sonuç olarak nöron için gerekli olan MAP-2 ekspresyonundaki azalışa dikkat çekmişlerdir.

Yang ve diğerlerinin (2015) depresyon hastaları üzerine yaptıkları bir çalışmada, hastaların beyin B-tubulin ekspresyonunda anlamlı bir artış ya da azalış görülmez iken, hipokampüste azalmış MAP-2 ifadesi olduğunu ortaya koymuşlardır.

Hashem ve diğeri (2012), sıçan serebellar korteksinde MSG'nin, histolojik ve glial etkileri üzerine yaptıkları çalışmada, fibriller asidik protein (GFAP) ile immünohistokimyasal olarak boyama yapmışlar ve GFAP'ın anlamlı immünreaksiyonu gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Kaur ve diğeri (2015) epilepsi modeli olarak kullandıkları sıçanlarda GFAP ekspresyonunun artış gösterdiğini belirtmişlerdir. Benzer sonuçlar aynı zamanda MAP-2 ve GFAP'ın beraber çalışıldığı bir araştırmada da ortaya konmuştur (Cui ve diğ. 2011).

5. GENEL DEĞERLENDİRME

Fare ve sıçanların beyin dokusundan GABA, dopamin, katekolamin ve glutamat düzeyleri immünosorbent ELISA yöntemi ile çalışılarak beyin bölgesindeki bu nörotransmitterlerin düzeyleri tespit edilmiştir. Genel olarak beyinde hayvanlarda nörotransmitterlerden glutamat da artış görülürken, katekolamin düzeyi azalmış, dopamin düzeyi ise artmıştır. GABA düzeyi ise glutamat/GABA dengesini korumak adına azalmıştır. Ayrıca, GABA reseptör yoğunluğu ve uzamsal öğrenme arasındaki pozitif korelasyonun olması GABA düzeyindeki azalış ile 8 kollu ışımsal labirent sonuçlarındaki uzamsal öğrenme parametrelerindeki azalışı açıklar niteliktedir.

Ayrıca karaciğer dokusunda da MDA, GSH, SOD düzeylerine bakılarak hayvanlardaki oksidatif hasar ortaya konmuştur. Karaciğerde hücrel oksidatif hasarın anlamlı bulunması, yüksek dozda uygulanan ASP ve MSG'nin hücrel stres ve doku hasarına neden olduğunu göstermektedir. MDA, GSH ve SOD düzeylerindeki artış ve azalışlarda, ASP ve MSG etkisinin nörotransmitter ve oksidatif stres endeksleri ile bilişsel işlev bozuklukları ile olan etkileşimi ortaya konmuştur. Fare ve sıçan beyninin özellikle orta bölgesinden yani hipokampal alandan kesit alınmaya dikkat edilerek, nörokimyasalların beyinde öğrenme ve bellek ile alakalı olan CA1, CA2 ve CA3 bölgesi, histokimyasal boya H&E ve immünohistokimyasal boyalar GFAP ve MAP-2 ile histopatolojik açıdan değerlendirilmiştir. Böylece davranış testleri ile histolojik parametrelerin birbirleri ile olan anlam ve uyumluluğu ortaya konmaya çalışılmıştır. Hem MAP-2 hem de GFAP ekspresyonları açısından yüksek doz MSG ve ASP uygulanan fare ve sıçanlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında immünohistopatolojik değerlendirmeler açısından fark bulunmuştur. Bu farklar açısından değerlendirme yapıldığında, MAP-2 ekspresyonunun normal görünümüne göre belirgin olarak azaldığı ve nöronal tabakada ise belirgin inceltme olduğu söylenebilmektedir. GFAP ekspresyonu açısından bakıldığında yine ASP ve MSG dozlarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında immünohistopatolojik değerlendirme açısından fark bulunmuştur.

Davranış testlerinden 8 kollu ışınsal labirent testi, hipokampuste ve prefrontal kortekste beyin hasarına yönelik davranış değerlendirmelerinde son yıllarda kullanılabilen bir yöntem olduğu için bu tez çalışmasında kullanılmıştır. Öğrenme-bellek ile alakalı olarak daha birçok hayvan davranış testi (Morris su tankı, Y labirent, yükseltilmiş artı labirent vs.) olmasına rağmen tezin bütçe imkanları doğrultusunda hareket edilmeye çalışılarak laboratuvar koşullarımıza en uygun olan 8 kollu ışınsal labirent testi çalışmamızda tercih edilmiştir. Genel olarak ASP ve MSG uygulanan fare ve sıçanlarda, öğrenme-bellek ile alakalı davranış bozukluklarına rastlanmıştır. Ayrıca, lokomotor aktivite testi olarak kullandığımız açık alan testinde ASP ve MSG uygulanan fare ve sıçanlarda, benzer olarak lokomotor aktivitelerde azalma, hayvanların daha hipoaktif duruma geçerek öz bakımlarına yönelmesi elde edilen sonuçlardır. Açık alan testinin, anksiyete gibi deneysel psikiyatrik çalışmalarda kullanılan bir yöntem olması sebebiyle, elde ettiğimiz sonuçların ASP ve MSG'nin hayvanlarda anksiyete ve depresyon benzeri davranış özelliklerini açıklamakta yol gösterici olacağı da düşünülmektedir.

Hem biyokimyasal açıdan (glutamat artışı, GABA azalışı, dopamin artışı, katekolamin azalışı, MDA artışı) hem de histopatolojik açıdan (hücrenel nekroz, GFAP ekspresyon artışı, MAP-2 ekspresyon azalışı) elde edilen sonuçlar ışınsal labirent ve açık alan testi değerleri ile uyumludur. Sonuçta hücrenel anlamda glutamat/GABA oranı arasındaki denge, dopamin/katekolamin oranı arasındaki denge hayvanın labirentte kol seçiminde hata yapmasından çok daha geç sürede doğru kolu bulmasına sebep olmuştur.

Dopamin, GABA ve katekolamin düzeyleri, hem farede hem de sıçanda beyin prefrontal ve frontal bölgeyi kapsayan alanda kısmen mezolimbik alanda ölçülmüştür. Glutamat düzeyi ise serebellumda ölçülmüştür. Bu bölgeler açısından değerlendirildiğinde, artmış bir dopamin düzeyi buna karşılık azalmış bir katekolamin ve GABA düzeyi bize davranış testlerinde hayvanın öğrenme, ödül motivasyon açısından istekli olduğunu ancak davranış platformunu gerçekleştirme açısından kendinde yeterli enerjiyi bulamadığını göstermektedir. Sonuçta hayvan

depresif ve anksiyatöz bir davranış içerisine girerek hipoaktifleşmektedir. Özellikle açık alan testindeki ASP ve MSG uygulaması sonrası, motor fonksiyonların artması ve daha sonrasında hayvanın kare açık alanın bir köşesine çekilip sedatif hale geçmesi bu tutumu açıklamaktadır. Ayrıca 8 kollu ışınal labirentteki davranış tutumları da açık alan testi ile paralellik göstermektedir. Keza burada da hayvan platforma bırakıldığı orta noktadan besin ödülünün olduğu kollara girmekte, fakat bir süre sonra girdiği kollara tekrar girerek hata yapmakta ve sonunda tıpkı kare açık alanda yaptığı gibi girdiği herhangi bir kolun içinde beklemektedir. Bu bekleme bazen testin tamamlanma süresi olan 10 dakikadan bile fazla sürmektedir. Bu durum hayvanın besin ödülünü bulmak için doğru kolu seçemediğini, hafıza problemi yaşadığını aynı zamanda besini aramak için kendinde gerekli enerjiyi bulamadığını ortaya koymaktadır. Öğrenme ve hafıza ile alakalı bölge olan beyin hipokampüsteki (CA1, CA2, CA3) nekroz ve nöronal tabakadaki incelmeler ve dizilim bozuklukları da bu sonuçları destekler niteliktedir. Beyin hipokampus CA1 bölgesi ve arkuat nükleus beyin korteksindeki nekroz ve immünopatolojik ekspresyon değişiklikleri hayvanların akut ve kronik dönemdeki cevap gecikmesi değerlerine etki etmiştir. Sonuçta serebral iskemi ve reperfüzyon, uzamsal bellek ve motor sensörleri olumsuz etkileyen bir mekanizmayı oluşturarak, nöronal hasar ile birlikte hayvanların uzun süreli hafızasına negatif etkide bulunmuştur. Bu negatif etkinin ortaya çıkmasında, ASP ve MSG'nin meydana getirdiği oksidatif hasarda etkilidir.

Ayrıca, özellikle MSG uygulanan sıçan ve farelerde, öğrenme ve bellek testi sonuçlarında, her iki hayvan grubunda hata sayısı değerleri bakımından kontrol grubu ile MSG doz grupları arasında herhangi bir fark görülmemiştir. Elde edilen bu sonuçlar, kontrol grubu ile ASP veya MSG doz uygulamaları açısından fark beklediğimiz parametrelerde hayvan sayısının daha fazla olması gerektiğini düşündürmektedir.

6. KAYNAKLAR

Abdel-Salam, O.M.E., Salem, N.A., El-Shamarka, M.E.S., Hussein, J.S., Ahmed, N.A.S., El-Nagar, M.E.S., “Studies on the effects of aspartame on memory and oxidative stress in brain of mice”, *European Review for Medical and Pharmacological Sciences.*, 16, 2092-2101, (2012).

Abhilash M., Sauganth Paul MV., Varghese MV., Nair RH., “Long-term consumption of aspartame and brain antioxidant defense status”, *Drug Chem Toxicol.*, 36(2), 135-40, (2013).

Abu-Taweel, GM., Ajarem, J.S., Ahmad, M., “Cognitive and biochemical effects of monosodium glutamate and aspartame, administered individually and in combination in male albino mice”, *Neurotoxicol Teratol.*, 42(3), 60-67, (2014).

Aguiar, A.S., Lopes, S.C., Trista, F.S.M., Rial, D., de Oliveira, G., da Cunha, C., Raisman-Vozari, R., Prediger, R.D., “Exercise Improves Cognitive Impairment and Dopamine Metabolism in MPTP-Treated Mice”, *Neurotox Res.*, 29(1), 118-125, (2016).

Albin, R.L., Greenamyre, J.T., “Alternative excitotoxic hypothesis”, *Neurology.*, 42, 733-738, (1992).

Alkafafy, M.E.S., Ibrahim, Z.S., Ahmed, M.M. and El-Shazly, S.A., “Impact of aspartame and saccharin on the rat liver: Biochemical, molecular, and histological approach”, *International Journal of Immunopathology and Pharmacology.*, 28(2), 247-255, (2015).

Amin, B., Nakhsaz, A., Hosseinzadeh, H., “Evaluation of the antidepressant-like effects of acute and sub-acute administration of crocin and crocetin in mice”, *Avicenna J Phytomed.*, 5(5), 458-468, (2015).

Amiri, S., Amini-Khoei, H., Haj-Mirzaian, A., Rahimi-Balaei, M., Naserzadeh, P., Dehpour, A., Mehr, S.E., Hosseini, M.J., “Tropisetron attenuated the anxiogenic effects of social isolation by modulating nitrenergic system and mitochondrial function”, *Biochim Biophys Acta.*, 1850(12), 2464-2475, (2015).

Arauz-Contreras, J., Feria., “Monosodium L-glutamate induced convulsions—1. Differences in seizure pattern and duration of effect as a function of age in rats”, *Gen Pharmacol.*, 15(5), 391-5, (1984).

Ashok, I., Sheeladevi, R., Wankhar, D., “Acute effect of aspartame-induced oxidative stress in Wistar albino rat brain”, *The Journal of Biomedical Research.*, 29(5), 390-396, (2015).

Bayat, M., Sharifi, M.D., Haghani, M., Shabani, M., “Enriched environment improves synaptic plasticity and cognitive deficiency in chronic cerebral hypoperfused rats”, *Behavioral Brain Research.*, 119, 34–40, (2015).

Baydar, T., Sahin, G., “Aspartame: Metabolism and Toxicity”, *T Klin J Med Sci.*, 17, 141-152, (1997).

Beal, M.F., “Does impairment of energy metabolism result in excitotoxic neuronal death in neurodegenerative illnesses”, *Ann Neurol.*, 31, 119-130, (1992).

Bellisle, F., Monneuse, M.O., Chabert, M., Larue-Achagiotis C., Lanteaume M.T., Louis-Sylvestre J., “Monosodium glutamate as a palatability enhancer in the European diet”, *Physiol Behav.*, 49(5), 869-73, (1991).

Bhattacharya, T., Bhakta, A., Ghosh, S.K., “Long term effect of monosodium glutamate in liver of albino mice after neo-natal exposure”, *Nepal Med Coll J.*, 13(1), 11-16, (2011).

Bojanic, V.V., Bojanic, Z., Najman, S., Ivanov-e`urlis, J., Tomin, J., Dinoic, B., Savic T., “Diltiazem prevention of monosodium glutamate toxicity on hypothalamus in Wistar Sıçans”, *Arch Oncol.*, 12, 19–20, (2004).

Borcherding, D.C., Tong, W., Hugo, E.R., Barnard, D.F., Fox, S., LaSance, K., Shaughnessy, E. and Ben-Jonathan, N., “Expression and therapeutic targeting of dopamine receptor-1 (D1R) in breast cancer”, *Nature.*, (in press) (2015).

Botsoglou, N.A., Fletouris, D.J., Papageorgiou, G.E., Vassilopoulos, V.N., Mantis, A.J., Trakatellis, A.G., “Rapid sensitive and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food and feedstuff samples”, *J Agric Food Chem.*, 42, 1931-1937, (1994).

Boyne, A.F. and Ellman, G.L., “A methodology for analysis of tissue sulfhydryl components”, *Anal. Biochem.*, 46, 639-653, (1972).

Bunyan, J., Murrell, E.A., Shah, P.P., “The induction of obesity in rodents by means of MSG”, *Br J Nutr.*, 35(1), 25-3, (1976).

Butchko, H.H., Stargel, W.W., Comer, C.P., Mayhew, D.A., Benninger, C., Blackburn, G.L., et al., "Aspartame: Review of safety", *Regul Toxicol Pharmacol.*, 35 (2), 91-93, (2002).

Cai, X.H., Li, X.C., Jin, S.W., Liang, D.S., Wen, Z.W., Cao, H.C., Mei, H.F., Wu, Y., Lin, Z.D., Wang, L.X., "Endoplasmic reticulum stress plays critical role in brain damage after chronic intermittent hypoxia in growing rats", *Exp Neurol.*, 257, 148-56, (2014).

Calabresi, P., Centonze, D., Paolo, G., Marfia, G.A., Bernardi, G., "Glutamate-triggered events inducing corticostriatal long-term depression", *J Neurosci.*, 19, 6102-6110, (1999).

Cheng, B.H., Sheen, L.Y., Chang, S.T., "Evaluation of anxiolytic potency of essential oil and S-(+)-linalool from *Cinnamomum osmophloeum* ct. linalool leaves in mice", *J Tradit Complement Med.*, 16, 5(1), 27-34, (2015).

Chevassus, H., Renard, E., Bertrand, G., Mourand, I., Puech, R., Molinier, N., Bockaert, J., Petit P. & Bringer, J., "Effects of oral monosodium (L)-glutamate on insulin secretion and glucose tolerance in healthy volunteers", *J Clin Pharmacol.*, 53, 641-643, (2002).

Choi, D.W., "Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system", *Neuron.*, 1, 623-634, (1988).

Cirić, M., Najman, S., Bojanić, V., Cekić, S., Nesić, M. and Puskas, N., "Neonatal influence of monosodium glutamate on the somatometric parameters of Rats", *Gen Physiol Biophys.*, 28, 155-61, (2009).

Clark, J.K., Furgerson, M., Crystal, J.D., Fechheimer, M., Furukawa, R., Wagner, J.J., "Alterations in synaptic plasticity coincide with deficits in spatial working memory in presymptomatic 3xTg-AD mice", *Neurobiology of Learning and Memory.*, 125, 152-162, (2015).

Coleman, E.S., Dennis, J.C. Braden, T.D., Judd, R.L. and Posner, P., "Insulin treatment prevents diabetes-induced alterations in astrocyte glutamate uptake and GFAP content in rats at 4 and 8 weeks of diabetes duration", *Brain Res.*, 1306(8), 131-141, (2010).

Collison, K.S., Makhoul, N.J., Zaidi, M.Z., Al-Rabiah, R., Inglis, A., Andres, B.L., Ubungen, R., Shoukri, M. and Al-Mohanna, F.A., "Interactive effects of neonatal exposure to monosodium glutamate and aspartame on glucose homeostasis", *Nutrition&Metabolism.*, 9(58), 1-13, (2012).

Coyle, I.T., Bird, S.I., Evans, R.H., Gulley, R.L., Nadler, J.V., Nicklas, W.J., Olney, J.W., “Excitatory amino acid neurotoxins: selectivity, specificity, and mechanism of action”, *Neurosci Res Prog Bull.*, 19, 331-427, (1981).

Cui, G., Yu, Z., Li, Z., Wang, W., Lu, T., Qian, C., Li, J., Ding, Y., “Increased Expression of Foxj1 after Traumatic Brain Injury”, *J Mol Neurosci.*, 45, 145-153, (2011).

Dakrory, A.I., Fahmy, S.R., Soliman, A.M., Mohamed, A., Sand Amer, S.A.M., “Protective and Curative Effects of the Sea Cucumber *Holothuria atra* Extract against DMBA-Induced Hepatorenal Diseases in Rats”, *BioMed Research International.*, doi: 10.1155/2015/563652(2015).

Daniels, M., Brown, D.R., “Astrocytes regulate N-methyl-aspartate receptor subunit composition increasing neuronal sensitivity to excitotoxicity”, *J Biol Chem.* 276, 22446-22452, (2001).

Dela Pena, I.J.I., Hong, E., Dela Pena, J.B., Kim, H.J., Botanas, C.J., Hong, Y.S., Hwang, Y.S., Moon, B.S. and Cheong, J.H., “Milk Collected at Night Induces Sedative and Anxiolytic-Like Effects and Augments Pentobarbital-Induced Sleeping Behavior in Mice”, *J Med Food.*, 18(11), 1255–1261, (2015).

Delprato, A., Bonheur, B., Algéo, M.P., Rosay, P., Lu, L., Williams, R.W. and Crusio, W.E., “Systems genetic analysis of hippocampal neuroanatomy and spatial learning in mice”, *Neuroscience.*, 14(8), 591-606, (2015).

Dempsey, R.J., “Pathophysiology of Cerebral Ischemia”, (eds Tindall, G.T., Cooper, P.R., Barrow, D.L.), *The Practice of Neurosurgery*, cilt 1, üçüncü baskı, Baltimore: Williams- Wilkins, 1765-1774, (1996).

Dubois, C.J., Lachamp, P.M., Sun, L., Mishina, M., Liu, S.J., “Presynaptic GluN2D receptors detect glutamate spillover and regulate cerebellar GABA release”, *J Neurophysiol.*, 115(1), 271-285, (2015).

Dubovicky, M., Tokarev, D., Skultetyova, I., Jezova, D., “Changes of exploratory behavior and its habituation in rats neonatally treated with monosodium glutamate”, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 56, 565–569, (1996).

Ekong, M., “Aspartame: Sweet or bitter”, *Internet Journal of Health.*, 9(1), 1-5, (2009).

Ewees, M.G., Abdelghany, T.M., Abdel-Aziz, H., Abdel-Bakk, M.S., “All-trans retinoic acid mitigates methotrexate-induced liver injury in Sığans; relevance of retinoic acid signaling pathway”, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.*, 388(9), 931-938, (2015).

Farombi, E.O., Onyema, O.O., “Monosodium glutamate-induced oxidative damage and genotoxicity in the Sığan: modulatory role of vitamin C. vitamin E and quercetin”, *Hum Exp Toxicol.*, 25, 251-259, (2006).

Farooqui, A.A., Horrocks, L.A., “Excitatory amino acid receptors, neural membrane phospholipid metabolism and neurological disorders”, *Brain Res Rev.*, 16, 171-191, (1991).

Furgerson, M., Clark, J.K., Crystal, J.D., Wagner, J.J., Fechheimer, M., Furukawa, R., “Hirano body expression impairs spatial working memory in a novel mouse model”, *Acta Neuropathol Commun.*, 131(2), 1-23, (2014).

Gallo, V., Ciotti, M.T., Coletti, A., Aloisi, F., Levi, G., “Selective release of glutamate from cerebellar granule cells differentiating in culture”, *Proc Natl Acad Sci USA.*, 79, 7919–7923, (1982).

Ganong, W.F., “Circulation through special organs. In: Review of medical physiology” NewYork: McGraw-Hill, 32, 611–630, (2005).

Goldsmith, P.C., “Neuroglial responses to elevated glutamate in the medial basal hypothalamus of the infant mouse”., *J Nutr.*, 130, 1032S-1038S, (2000).

Gudasheva, T.A., Deeva, O.A., Mokrov, G.V., Yarkov, S.A., Yarkova, M.A., “The First Dipeptide Ligand of Translocator Protein: Design and Anxiolytic Activity”, *Doklady Biochemistry and Biophysics.*, 464, 290–293, (2015).

Han, F., Shioda, N., Moriguchi, S., Qin, Z.H., Fukunaga, K., “Downregulation of glutamate transporters is associated with elevation in extracellular glutamate concentration following rat microsphere embolism”, *Neurosci Lett.*, 17, 430(3), 275-80, (2008).

Hashem, H.E., El-Din Safwat, M.D., Algaidi, S., “The effect of monosodium glutamate on the cerebellar cortex of male albino rats and the protective role of vitamin C (histological and immunohistochemical study)”, *J Mol Hist.*, 43, 179-186, (2012).

Hellen, D.B., Areas Miguel, A., Borelli, P., Reyes Felix, G.R., “Evaluation of Biochemical, Hematological and Histological Parameters in Non Diabetic and Diabetic Wistar Rats Fed with Monosodium Glutamate”, *Food and Nutrition Sciences.*, 4, 66-76, (2013).

Holder, M.D., “Effects of perinatal exposure to aspartame on rat pups”, *Neurotoxicol Teratol.*, 11(1), 1-6, (1989).

Hu, L., Fernstrom, J.D., Goldsmith, P.C., “Exogenous glutamate enhances glutamate receptor subunit expression during selective neuronal injury in the ventral arcuate nucleus of postnatal mice”, *Neuroendocrinology.*, 68(2), 77-88, (1998).

Humphries P., Pretorius E., Naude H., “Direct and indirect cellular effects of aspartame on the brain”, *European Journal of Clinical Nutrition.*, 62, 451-462, (2008).

Igarashi, K., Sakurai, T., Kamiyoshi, A., Ichikawa-Shindo, Y., Kawate, H., Yamauchi, A., Toriyama, Y., Tanaka, M., Liu, T., Xian, X., Imai, A., Zhai, L., Owa, S., Koyama, T., Uetake, R., Ihara, M., Shindo, T., “Pathophysiological roles of adrenomedullin-RAMP2 system in acute and chronic cerebral ischemia”, *Peptides.*, 62, 21-3, (2014).

Ishikawa, K., “Hippocampal degeneration inducing impairment of learning in rats: model of dementia”, *Behavioural Brain Research.*, 83, 39-44, (1997).

Isingrini, E., Perret, L., Rainer, Q., Sagueby, S., Moquin, L., Gratton, A., Giros, B., “Selective genetic disruption of dopaminergic, serotonergic and noradrenergic neurotransmission: insights into motor, emotional and addictive behaviour”, *J Psychiatry Neurosci.*, 41(1), 1500-28 (2015).

Izquierdo, I., Medina, J.H., “Memory formation: the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures”, *Neurobiol Learn Mem.*, 68, 285-316, (1997).

Jacobson, L.H., Sweeney, F.F., Kaupmann, K., O’Leary, O.F., Gassmann, M., Bettler, Bernhard. and Cryan, J.F., “Differential Roles of GABAB1 Subunit Isoforms on Locomotor Responses to Acute and Repeated Administration of Cocaine”, *Behavioural Brain Research.*, 298, 12-16, (2015).

James, A.S., Pennington, Z.T., Tran, P. and Jentsch, J.D., “Compromised NMDA/Glutamate Receptor Expression in Dopaminergic Neurons Impairs

Instrumental Learning, But Not Pavlovian Goal Tracking or Sign Tracking”, *Cognition and Behavior.*, 1-18, (2015).

Janssen, P.J.C.M., Heijden, CA., “Aspartame: Review of recent experimental and observational data”, *Toxicology.*, 50, 1-26, (1988).

Jiang, S.X., Lertvorachon, J., Hou, S.T., Konishi, Y., Webster, J., Mealing, G., Brunette, E., Tauskela, J., Preston, E., “Chlortetracycline and demeclocycline inhibit calpains and protect mouse neurons against glutamate toxicity and cerebral ischemia”, *J Biol. Chem.*, 280, 33811-33818, (2005).

Kamat, P.K., Kyles, P., Kalani, A., Tyagi, N., “Hydrogen Sulfide Ameliorates Homocysteine-Induced Alzheimer's Disease-Like Pathology, Blood-Brain Barrier Disruption, and Synaptic Disorder” *Mol Neurobiol.*, (2015)

Kauhausen, J.A., Thompson, L.H., Parish, C.L., “Chondroitinase improves midbrain pathway reconstruction by transplanted dopamine progenitors in Parkinsonian mice”, *Molecular and Cellular Neuroscience.*, 69, 22–29, (2015).

Kaur, H., Patro, I., Tikoo, K., Sandhir, R., “Curcumin attenuates inflammatory response and cognitive deficits in experimental model of chronic epilepsy”, *Neurochemistry International.*, 89, 40-50, (2015).

Kawada, K., Iekumo, T., Saito, R., Kaneko, M., Mimori, Seisuke., Nomura, Y. and Okuma Y., “Aberrant Neuronal Differentiation and Inhibition of Dendrite Outgrowth Resulting From Endoplasmic Reticulum Stress”, *Journal of Neuroscience Research.*, 92, 1122–1133, (2014).

Kiss, P., Hauser, D., Tamas, A., Lubics, A., Racz, B., Horvath, Z., Farkas, J., Zimmermann, F., Stepien, A., Lengvari, I., Reglodi, D., “Changes in open-field activity and novelty-seeking behavior in periadolescent Siçans neonatally treated with monosodium glutamate”, *Neurotox. Res.*, 12, 85-93, (2007).

Klingberg, H., Brankački, J., Klingberg, F., “Long-term effects on behaviour after postnatal treatment with monosodium-Lglutamate”, *Biomed.Biochem. Acta.*, 46, 705–711, (1996).

Koek, W., Woods, J.H., Winger, G.D., “MK-801, a proposed noncompetitive antagonists of excitatory amino acid neurotransmission, produces phencyclidine-like behavioral effects in pigeons, rats and rhesus monkeys”, *J Pharmacol Exp Ther.*, 245, 969-974, (1988).

Korner, G., Noain, D., Ying, M., Hole, M., Flydal, M.I., Scherer, T., Allegri, G., Rassi, A., Fingerhut, R., Becu-Villalobos, D., Pillai, S., Wueest, S., Konrad, D., Lauber-Biason, A., Baumann, C.R., Bindoff, L.A., Martinez, A., Thöny, B., “Brain catecholamine depletion and motor impairment in a Th knock-in mouse with type B tyrosine hydroxylase deficiency”, *Brain.*, 138(10), 2948-2963, (2015).

Kulikova, A.V., Korostina, V.S. Kulikova, E.A., Fursenko, D.V., Akulova, A.E., Moshkina, M.P., Prokhortchouk, E.B., “Knockout Zbtb33 gene results in an increased locomotion, exploration and pre-pulse inhibition in mice”, *Behavioural Brain Research.*, 297, 76–83, (2016).

Kurul, S., Gulmez, O., “Neuroprotection and neuroprotective agents” *DEÜ Tıp Fakültesi Dergisi.*, 21(2), 119-130, (2007).

La Buda, C.J., Hale, R.L., “Anxiety in mice following acute aspartame and ethanol exposure”, *Alcohol.*, 20(1), 69-74, (2000).

Langberg, T., Dashek, R., Mulvey, B., Miller, K.A., Osting, S., Stafstrom, C.E., Sutula, T.P., “Distinct behavioral phenotypes in novel "fast" kindling-susceptible and "slow" kindling-resistant rat strains selected by stimulation of the hippocampal perforant path”, *Neurobiol Dis.*, 85, 122-9,(2016).

Limbrick, D.D., Sombati, S., De Lorenzo, R.J., “Calcium influx constitutes the ionic basis for the maintenance of glutamate-induced extended neuronal depolarization associated with hippocampal neuronal death”, *Cell Calcium.*, 33(2), 69-91, (2003).

Liu, W.H., Chuang, H.L., Huang, Y.T., Wu, C.C., Chou, G.T., Wang, S., Tsai, Y.C., “Alteration of behavior and monoamine levels attributable to *Lactobacillus plantarum* PS128 in germ-free mice”, *Behavioural Brain Research.*, doi.org/doi:10.1016/j.bbr.2015.10.046 (2015).

López-Pérez S.J., Ureña-Guerrero M.E., Morales-Villagrán Alberto., “Monosodium glutamate neonatal treatment as a seizure and excitotoxic model”, *Brain Research.*, 1317, 246 – 256, (2010).

Lucas, D.R., Newhouse, J.P., “The toxic effect of sodium L-glutamate on the inner layers of the retina”, *AMA Arch Ophthalmol.*, 58(2), 193-201, (1957).

Madhavadas, S., Kutty, B.M., Subramanian, S., “Amyloid beta lowering and cognition enhancing effects of ghrelin receptor analog [D-Lys (3)] GHRP-6 in rat model of obesity”, *Indian J Biochem Biophys.* 51(4), 257-62, (2014).

Maher, T., Wurtman, R., "Possible neurologic effects of aspartame, a widely used food additive", *Environmental Health Perspectives.*, 75, 53-57, (1987).

Mallick, N., Khan, R.A., "Behavioral effects of citrus paradisi in rats", *Metab Brain Dis.*, 31(2), 329-35, (2016).

Mariotti, Letizia., Losi, G., Sessolo, M., Marcon, I. and Carmignoto, G., "The Inhibitory Neurotransmitter GABA Evokes Long-Lasting Ca²⁺ Oscillations in Cortical Astrocytes", *Glia.*, 64(3), 363–373, (2016).

Mattson, M.P., "Glutamate and neurotrophic factors in neuronal plasticity and disease", *Ann N Y Acad Sci.*, 1144, 97–112, (2008).

McDonald, R.J., White, N.M., "A triple dissociation of memory systems: Hippocampus, amygdala, and dorsal striatum", *Behav Neurosci.*, 127, 835-53, (2013).

McGeer, E., "Excitatory aminoacid neurotransmission and its disorders", *Curr Opin Neurol.*, 4, 548-554, (1991).

Meldrum, B., "Possible therapeutic applications of antagonists of excitatory amino acid neurotransmitters" *Clinical Sci.*, 68, 113-122, (1985).

Minassian, A., Young, J.W., Cope, Z.A., Henry, B.L., Geyer, M.A., Perry, W., "Amphetamine increases activity but not exploration in humans and mice", *Psychopharmacology (Berl.)*, 233, 225-233,(2016).

Mishra, A., Goel, R.K., "Psychoneurochemical investigations to reveal neurobiology of memory deficit in epilepsy", *Neurochem Res.*, 38, 2503–2515, (2013).

Mishra, A., Goel, R.K., "Adjuvant anticholinesterase therapy for the management of epilepsy-induced memory deficit: a critical preclinical study", *Basic Clin Pharmacol Toxicol.*, 115, 512-517, (2014).

Mishra, A. and Goel, R.K., "Comparative behavioral and neurochemical analysis of phenytoin and valproate treatment on epilepsy induced learning and memory deficit: Search for add on therapy", *Metab Brain Dis.*, 30(4), 951-958, (2015).

Misra, H.P., Fridovich, I., "The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase", *J. Biol. Chem.*, 247, 3170–3175, (1972).

Molinary, S.V., “Preclinical studies of aspartame in nonprimate animals”, In: Stegink LD, Filer LJ, eds. *Aspartame-Physiology and Biochemistry*, New York: Marcel Dekker Inc., 289-305, (1984).

Monika, L., Viktoria, D., Robert, G., “Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide Receptors Signal via Phospholipase C Pathway to Block Apoptosis in Newborn Rat Retina”, *Neurochem Res.*, 40, 1402–1409, (2015).

Motaghinejad, M., Fatima, S., Karimian, M., Ganji, S., “Protective effects of forced exercise against nicotine-induced anxiety, depression and cognition impairment in rat”, *J Basic Clin Physiol Pharmacol.*, 27, 19-27, (2015).

Narayanan, S.N., Kumar, R.S., Paval, J., Nayak, S., “Effect of ascorbic acid on the monosodium glutamate-induced neurobehavioral changes in periadolescent rats”, *Bratisl Lek Listy.*, 111(5), 247-252, (2010).

Newsholme, P., Procopio, J., Lima, M.M., Pithon-Curi, T.C., Curi, R., “Glutamine and glutamate--their central role in cell metabolism and function”, *Cell Biochem Funct.*, 21(1), 1-9, (2003).

Niijima, A., Togyama, T., Adachi, A., “Cephalic-phase insulin release induced by taste stimulus of monosodium glutamate (umami taste)”, *Experientia.* 15, 36(2), 232-4, (1980).

Nishizawa, Y., “Glutamate release and neuronal damage in ischemia”, *Life Sci.*, 69, 369-381, (2001).

Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., “Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction”, *Anal. Biochem.*, 95, 351-358, (1979).

Oliveira de Almeida, W.A., Esteves, A.M., Almeida Juniora, C.L., Lee, K.S., Frank, M.K., Mariano, M.O., Frussa-Filho, R., Tufika, S., Mello, M.T., “The effects of long-term dopaminergic treatment on locomotor behavior in rats”, *Sleep Science.*, 7, 203–208, (2014).

Olney JW., “Brain lesions. obesity and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate”, *Science.*, 164, 719-721, (1969).

Olney, J.W., Ho, O.L., “Brain Damage in Infant Mice Following Oral Intake of Glutamate, Aspartate or Cysteine”, *Nature.*, 227, 609-610, (1970).

Onaolapo, O.J., Onaolapo, A.Y., Abiola, A.A., Lillian, E.A., “Central depressant and nootropic effects of daytime melatonin in mice”, *Annals Res. Article.*, 21(3), 90-6, (2014).

Otsuka. T., Goda, R., Iwamoto, A., Kawai, M., Shibata, S., Oka, Y., Mizunoya, W., Furuse, M., Yasuo, S., “Dietary protein ingested before and during short photoperiods makes an impact on affect-related behaviours and plasma composition of amino acids in mice”, *Br J Nutr.*, 114(10), 1734-1743, (2015).

Pereira, M., Martynhak, B.J., Andreatini, R. and Svenningsson, P., “5-HT6 receptor agonism facilitates emotional learning”, *Frontiers in Pharmacology.*, 200(6), 1-9, (2015).

Reynolds, W.A., Butler, V., Lemkey-Johnston, N., “Hypothalamic morphology following ingestion of aspartame or MSG in the neonatal rodent and primate: a preliminary report”, *J Toxicol Environ Health.*, 2(2), 471-80, (1976).

Reynolds, W.A., Stegink, L.D., Filer, L.J. Jr, Renn, E., “Aspartame administration to the infant monkey: hypothalamic morphology and plasma amino acid levels”, *Anat Rec.*, 198(1), 73-85, (1980).

Rogers, P.J., Blundell, J.E., “Umami and appetite: Effects of monosodium glutamate on hunger and food intake in human subjects”, *Physiol Behav.*, 48(6), 801-4, (1990).

Rothman, S.M., Olney, J.W., “Excitotoxicity and the NMDA receptor”, *TINS.*, 10, 299-302, (1987).

Rothman, S.M., Olney, J.W., “Glutamate and the pathophysiology of hypoxic-ischemic brain damage”, *Ann Neurol.*, 19, 105-111, (1986).

Rowan, A.J., Shaywitz, B.A., Tuchman, L., French, J.A., Luciano, D., Sullivan, C.M., “Aspartame and seizure susceptibility: results of a clinical study in reportedly sensitive individuals”, *Epilepsia.*, 36(3), 270-5, (1995).

Schmid, G., Bonanno, G., Raiteri, M., “Functional evidence for two native GABA_A receptor subtypes in adult rat hippocampus and cerebellum”, *Neuroscience.*, 73, 697-704, (1996).

Schreiner, A.E., Berlinger, E., Langer, J., Kafitz, K.W. and Rose, C.R., “Lesion-Induced Alterations in Astrocyte Glutamate Transporter Expression and Function in the Hippocampus”, *ISRN Neurology.*, 27(6), 1-16, (2013).

Setkowicz, Z., Gaździńska, A., Osoba, J.J., Karwowska, K., Majka, P., Orzeł, J., Kossowski, B., Bogorodzki, Piotr., Janeczko, K., Wyleżoł, M., Gazdzinski, S.P., “Does Long-Term High Fat Diet Always Lead to Smaller Hippocampi Volumes, Metabolite Concentrations, and Worse Learning and Memory? A Magnetic Resonance and Behavioral Study in Wistar Rats”, *Plos One.*, 10(10), 1-15, (2015).

She, Y., Xu, J., Duan, Y., Su, N., Sun, Y., Cao, X., Lao, L., Zhang, R., Xu, S., “Possible antidepressant effects and mechanism of electroacupuncture in behaviors and hippocampal synaptic plasticity in a depression rat model”, *Brain Res.*, 1629, 291-297, (2015).

Siesjö, B.K., “Calcium in the brain under physiological and pathological conditions”, *Eur Neurol.*, 30, 3-9, (1990).

Siesjö, B.K., “Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia”, *I. Pathophysiology. J Neurosurg.*, 77, 169-184, (1992).

Siesjö, B.K., Smith, M.L., “The biochemical basis of ischemic brain lesions”, *Arzneim.-Forsch/ Drug Res.*, 41, 288-292, (1991).

Singh, D., Mishra, A., Goel, R.K., “Effect of saponin fraction from ficus religiosa on memory deficit behavioral and biochemical impairments in pentylenetetrazol kindled mice”, *Epilepsy Behav.*, 27, 206-211, (2013).

Spiers, P.A., Sabounjian, L.A., Reiner, A., Myers, D.K., Wurtman, J. and Schomer, D.L., “Aspartame: neuropsychologic and neurophysiologic evaluation of acute and chronic effects”, *Am J Clin Nutr.*, 68, 531–7, (1998).

Špolcová, A., Mikulášková, B., Holubová, M., Nagelová, V., Pirník, Z., Zemenová, J., Haluzík, M., Železná, B., Galas, M.C., Maletínská, L., “Anorexigenic Lipopeptides Ameliorate Central Insulin Signaling and Attenuate Tau Phosphorylation in Hippocampi of Mice with Monosodium Glutamate-Induced Obesity”, *Journal of Alzheimer's Disease.*, 45(3), 823-835, (2015).

Sridharan, S., Mohankumar, K., Praveen, S., Jeepipalli, K., Sankaramourthy D., Ronsard, L., Kavimani, L., Manivasagam, S., Kumar, T., Varshney, R., Chandra, K., Rani Sadras, S., “Neuroprotective effect of *Valeriana wallichii* rhizome extract against the neurotoxin MPTP in C57BL/6 mice”, *Neurotox.*, 51, 172-183, (2015).

Stevens L.M., Brown R.E., “Reference and working memory deficits in the 3xTg-AD mouse between 2 and 15-months of age: A cross-sectional study”, *Behavioural Brain Res.*, 278, 496-505, (2015).

Staal, G.E., Visser, J., Veeger, C., “Purification and properties of glutathione reductase of human erythrocytes”, *Biochim. Biophys. Acta.*, 185, 39-48, (1969).

Standring, S., Ellis, H., Healy, J.C., Johnson, D., Williams, A., *Gray's anatomy*, New York: Elsevier Churchill Livingstone, (2005).

Swithers, S.E., “Artificial sweeteners produce the counterintuitive effect of inducing metabolic derangements”, *Trends in Endocrinology and Metabolism.*, 24, 431-441, (2013).

Szabadfi, K., Kiss, P., Reglodi, D., Fekete, E., Tamas, A., Danyadi, B., Atlasz, T., Gabriel, R., “Urocortin 2 treatment is protective in excitotoxic retinal degeneration”, *Acta physiologica hungarica.*, 101, 67-76, (2014).

Tao, T., Zhao, M., Yang, W., Bo, Y., Li, W., “Neuroprotective effects of therapeutic hypercapnia on spatial memory and sensorimotor impairment via anti-apoptotic mechanisms after focal cerebral ischemia/reperfusion”, *Neurosci Lett.*, 573, 1-6, (2014).

Tchekalarova, J.D., Ivanova, N., Atanasova, D., Pechlivanova, D.M., Lazarov, N., Kortenska, L., Mitreva, R., Lozanov, V., Stoynev, A., “Long-Term Treatment with Losartan Attenuates Seizure Activity and Neuronal Damage Without Affecting Behavioral Changes in a Model of Co-morbid Hypertension and Epilepsy”, *Cell Mol Neurobiol.*, 36(6), 927-941, (2015).

Tyurenkov, I.N., Gumilevsky, B.Y., Filina, I.S., Bakulin, D.A., Volotova, E.V., Kurkin, D.V., “The influence of the immunity activation and suppression on the outcome of brain ischemia”, *Zh Nevrol Psikhiatr.*, 115, 23-29, (2015).

Vences-Mejía, A., Labra-Ruíz, N., Hernández-Martínez, N., Dorado-González, V., Gómez-Garduño, J., Pérez-López, I., Nosti-Palacios, R., Camacho Carranza, R. and Espinosa-Aguirre, J.J., “The Effect of Aspartame on Rat Brain Xenobiotic-Metabolizing Enzymes”, *Hum Exp Toxicol.*, 25, 453-459, (2006).

Wang, S., Yu, Y., Feng, Y., Zou, F., Zhang, X., Huang, J., Zhang, Y., Zheng, X., Huang, X.F., Zhu, Y., Liu, Y., “Protective effect of the orientin on noise-induced cognitive impairments in mice”, *Behav Brain Res.*, 21, (296), 290-300, (2015).

Xie, H., Li, C., He, Y., Griffin, R., Ye, Q., Li, L., “Chronic stress promotes oral cancer growth and angiogenesis with increased circulating catecholamine and glucocorticoid levels in a mouse model”, *Oral Oncol.*, 51(11), 991-997, (2015).

Yang, C.R., Bai, Y.Y., Ruan, C.S., Zhou, H.F., Liu, D., Wang, X.F., Shen, L.J., Zheng, H.Y., Zhou, X.F., “Enhanced aggressive behaviour in a mouse model of depression”, *Neurotox Res.*, 27(2),129-42, (2015).

Yarishkin O., Lee J., Jo S., Eun Mi Hwangand C., Lee J., “Disinhibitory Action of Astrocytic GABA at the Perforant Path to Dentate Gyrus Granule Neuron Synapse Reverses to Inhibitory in Alzheimer's Disease Model”, *Exp Neurobiol.*, 24(3),211-218 (2015).

Zhao, S.S., Yang, W.N., Jin, H., Ma, K.G., Feng, G.F., “Puerarin attenuates learning and memory impairments and inhibits oxidative stress in STZ-induced SAD mice”, *Neurotoxicology.*, 51, 166-71, (2015).

Zhen, X.H., Quan, Y.C., Jiang, H.Y.,Wen, Z.S., Qu, Y.L., Guan, L.P., “Fucosterol, a sterol extracted from *Sargassum fusiforme*, shows antidepressant and anticonvulsant effects”, *European Journal of Pharmacology.*, 5(768), 131-138, (2015).

Zhu, X.C., Huang, H.J., Han, Q.Q., Yue, N., Li, B., Yang, L., Liu, Q., Wu, G.C., Yu, J., “Effect of Electroacupuncture Stimulation of "Baihui" (GV 20) , etc. on Changes of Behavior and Plasma Ghrelin Content in Depression Rats”, *Zhen Ci Yan Jiu.*, 40(4), 283-9, (2015).

7. ÖZGEÇMİŞ

ADI, SOYADI: Ayşen KARDEŞLER

YAZIŞMA ADRESİ: Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ABD., Dekanlık Binası Zemin Kat Kınıklı, DENİZLİ

TELEFON: 0 544 741 741 6

E-MAIL: aysencetin@yahoo.com

KONGRE ve SEMPOZYUMLAR

- VI. Ulusal tıbbi biyoloji kongresi, 2-5 Kasım 2000, Denizli kongre ve kültür merkezi EGS Park, Denizli.
- Ege genetik sempozyumu, 15 Kasım 2005, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, İzmir.
- XXXII. Türk fizyolojik bilimler derneği ulusal kongresi (Uluslar arası katılımlı), 18-22 Eylül 2006, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Denizli.
- Ege genetik sempozyumu, 1 Aralık 2007, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Denizli.
- 1st International Symposium on secondary metabolites: Chemical, biological and biotechnological properties, Pamukkale University Departments of Biology&Chemistry, Denizli, Turkey, 12-15 September 2011.

KURSLAR ve SERTİFİKALAR

- Deney hayvanlarının biyolojik araştırmalarda kullanılması kursu-III, PAÜ Denizli-Türkiye, 2005.
- İş sağlığı ve güvenliği B sınıfı sertifikası, PAUSEM Denizli-Türkiye, 2015.

- PAU Girişimcilik akademisi sertifikası, PAU Teknokent, Denizli-Türkiye, 2015.

ÖDÜLLER

- Hepatit B virüsü X proteini varlığında ekspresyonunda artış gözlenen ve özgün yeni bir onkogen olan “Up-Regulated-Gene- 4” (URG4)`ün nükleer faktör kapa B üzerine etkisi, Bayındır Hastanesi 8, Tıp Ödülleri 2007, araştırma desteği.

BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ

- Çölyak Hastalarında Tedavi Öncesi ve Sonrası Resistin ve Adiponektin Düzeylerinin Karşılaştırılması, Yardımcı araştırmacı, 2016TPF.
- Madde bağımlılığı olan hastalarda oksitosin rs1488467 ve rs4564970 reseptör gen polimorfizmlerinin incelenmesi, Hızlı destek projesi, Yardımcı araştırmacı, 2016HZDP004.
- Madde bağımlılığı olan hastalarda oksitosin düzeyleri ile ebeveyne bağlanmanın incelenmesi, Hızlı destek projesi, Yardımcı araştırmacı, 2016HZDP005.
- Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu Tanılı Hastalarda İleri Glikasyon Son Ürünlerinin Endojen Salınlımlı Reseptörleri ve S100A9 Plazma Düzeyleri ve Etyopatogenezdaki Yeri, Yardımcı araştırmacı, 2015TPF031.
- Yeni Tanı Konulan Çölyak Hastalarında Tedavi Öncesi ve Sonrası Hepsidin Düzeylerinin Araştırılması, Yardımcı araştırmacı, 2015TPF030.
- Diyabetik ve Diyabetik Olmayan Kronik Böbrek Hastalarında Kalp-Bilek Vasküler İndeksi Ölçümüyle Belirlenen Arteriyel Sertlik ile Mineral Metabolizması İnflamasyon ve Oksidatif Stres ilişkisi, Yardımcı araştırmacı, 2015TPF025.
- Yapay Tatlandırıcıların Bazı Omurgalı Hayvanlardaki Etkilerinin İncelenmesi, Yardımcı araştırmacı, 2014FBE021.

YAYINLAR

Ayşen Çetin, Şermin Çoban, Neşe Çallı-Demirkan, N, Lale Şatıroğlu-Tufan, Çevik Tufan, Hüseyin Bağcı. Nevüs Olgularında BRAF V600E Mutasyonu Varlığı, Türkiye Klinikleri J Med Sci. 2010;30(2):494-501,2010.

POSTER BİLDİRİLER

Ayşen Çetin, N, Lale Şatıroğlu-Tufan, Neşe Çallı Demirkan, Şermin Çoban, Nevüs olgularında BRAF V599E mutasyonu varlığı, VII. Ulusal prenatal tanı ve tıbbi genetik kongresi, 17-20 Mayıs 2006, Kayseri-Turkey.

Neşe Çallı Demirkan, N, Lale Şatıroğlu-Tufan, Çiğdem Berna Ege, **Ayşen Çetin**, Signet-Ring Cell Carcinoma of the Small Intestine Around Crohn Disease: Analyse of BRAF Mutation, 21st European Congress of Pathology, September 8-13, 2007, İstanbul-Turkey.

Özay C., Ermiş A., Evgen E., **Kardeşler A.**, Çelik A.* , Antioxidant and Free radical Scavenging Activity of *Scilla Autumnalis* Bulbs and Leaves Ethanolic Extracts, Pamukkale University, Biology Department, Denizli, Turkey, International Conference Plant Cell Biology and Biotechnology, February 13-15, 2013.

S. Rota, E. Kavalci, **A.C. Kardesler** and V. Cobankara, Investigation of kapa B alpha inhibitor promoter polymorphisms in patients with primary Sjogren Syndrome,*FEBS Journal*., 280 (Suppl. 1) (2013) 613-617.

S. Simin Rota, Emine Kavalcı, **Ayşen Çetin Kardesler**, Veli Çobankara, Primer Sjögren sendromlu hastalarda inhibitör kapa B alfa promotor polimorfizmlerinin araştırılması, XIII, Ulusal klinik biyokimya kongresi, 25-28 Nisan 2013, Kaya Termal Otel, İzmir- Turkey.

A.C. Kardesler, E. Baskale, Y. Ozyilmaz, Effects of monosodium glutamate on MDA, GSH and SOD concentrations in liver tissue of neonatal rats, 40th FEBS Congress the biochemical basis of life July 4-9, 2015, Berlin, Germany.

A.C. Kardesler, E. Baskale, Behavioral and neurochemical effects of monosodium glutamate in neonatal rats, 40th FEBS Congress the biochemical basis of life July 4-9, 2015, Berlin, Germany.

Özen Dedeoğlu, Güzin Fidan Yaylalı, **Ayşen Kardeşler**, Hande Şenol, Duygu Herak, Hatice Fulya Akın, Şenay Topsakal, Mehmet Sercan Ertürk, Obezlerde vücut yağ dağılımı ile oksidatif stres belirteçleri arasındaki ilişki, 37. Türkiye endokrinoloji ve metabolizma hastalıkları kongresi, 6-10 Mayıs 2015, Susesi Hotel, Antalya- Turkey.

Aysen Cetin Kardesler, Investigation behavioural and neurochemical effects of monosodium glutamate in the neonatal rats, 4thInternational congress of the molecular biology association of the Turkey, November 27-29, 2015, ODTÜ, Ankara-Turkey.

Önder Öztürk, Ömer Başay, Bürge Kabukçu Başay, Hüseyin Alaçam, Ahmet Büber, Bünyamin Kaptanoğlu, Yaşar Enli, Mustafa Doğan, **Ayşen Çetin Kardeşler**, Hasan Herken. Nitrik Oksit-Arjinin Yolağı ve Ürotensin-II nin Otizm Spektrum Bozukluğunun Etiyopatogenezindeki Yeri, Prof. Dr.Selahattin Şenol 2. Bahar Okulları, 16-19 Mart, 2016, Club Sera Antalya, Türkiye.

Sehra Aksu, Gülşen Ünlü, **Ayşen Çetin Kardeşler**, Burcu Çakalöz, Hülya Aybek. Cinsel istismar sonrası posttravmatik stres bozukluğu gelişen hastalarda serum beyin kaynaklı nörotrofik faktör, pro-BDNF ve doku plazminojen aktivatörü düzeyleri, Prof. Dr. Selahattin Şenol 2. Bahar Okulları, 16-19 Mart, 2016, Club Sera Antalya, Türkiye.

Aysen Cetin Kardesler, Nagihan Yalçın, Sehra Aksu, Eyup Başkale, Anksiyete benzeri davranış özellikleri gösteren ratlarda serum pro-BDNF ve beyin hipokampal GFAP ekspresyonunun değerlendirilmesi, 4. Nörolojik Fizyoterapi Sempozyumu, Kas Tonusu Bozuklukları ve Rehabilitasyon, 31 Mart-2 Nisan, 2016, PAU, Denizli-Türkiye.