



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI



**VALPROİK ASİT İLE OTİZM MODELİ OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA EMPATİ BENZERİ DAVRANIŞIN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Süeda TUNÇAK

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

DANIŞMAN:

Doç. Dr. Bülent GÖREN

Dr. Öğr. Üyesi Pınar ÖZ

BURSA-2019

**T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ETİK BEYANI




Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum “Valproik Asit ile Otizm Modeli Oluşturulan Sıçanlarda Empati Benzeri Davranışın Değerlendirilmesi” adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

Süeda TUNÇAK

21.05.2019

SAGLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Tıp- Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Süeda TUNÇAK tarafından hazırlanan “Valproik Asit ile Otizm Modeli Oluşturulan Sıçanlarda Empati Benzeri Davranışın Değerlendirilmesi” konulu Yüksek Lisans tezi 14/06/2019 günü, 11:00-12.00 saatleri arasında yapılan tez savunma sınavında jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

	<u>Adı-Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Tez Danışmanı	Doç. Dr. Bülent Gören	
Üye	Prof. Dr. Tülin Alkan	
Üye	Prof. Dr. Lutfiye Kanıt	

Bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı toplantısında alınan numaralı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Gülşah ÇEÇENER
Enstitü Müdürü

TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

21/05/2019

Adı Soyadı: Süeda TUNÇAK

Anabilim Dalı: Tıp- Fizyoloji

Tez Konusu: Valproik Asit ile Otizm Modeli Oluşturulan Sıçanlarda Empati Benzeri Davranışın Değerlendirilmesi

<u>ÖZELLİKLER</u>	<u>UYGUNDUR</u>	<u>UYGUN</u> <u>DEĞİLDİR</u>	<u>ACIKLAMA</u>
Tezin Boyutları	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dış Kapak Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İç Kapak Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kabul Onay Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Düzeni	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İçindekiler Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yazı Karakteri	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Satır Aralıkları	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Başlıklar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Numaraları	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Eklerin Yerleştirilmesi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tabloların Yerleştirilmesi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kaynaklar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

DANIŞMAN ONAYI

Unvanı Adı Soyadı: Doç. Dr. Bülent GÖREN

İmza:

DANIŞMAN ONAYI

Unvanı Adı Soyadı: Dr. Öğr. Üyesi
Pınar ÖZ

İmza:

İÇİNDEKİLER

Dış Kapak	
İç Kapak	
ETİK BEYANI.....	II
KABUL ONAY.....	III
TEZ KONTROL BEYAN FORMU.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
TÜRKÇE ÖZET.....	VII
İNGİLİZCE ÖZET.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Otizm Spektrum Bozuklukları.....	2
2.1.1. Tanım.....	2
2.1.2. Tarihçe.....	3
2.1.3. Epidemiyoloji.....	3
2.1.4. Tanı.....	4
2.1.5. Etiyoloji.....	6
2.1.6. Patogenez.....	7
2.1.7. Deneysel Modeller.....	10
2.2. Valproik Asit.....	11
2.2.1. Moleküler Özellikler.....	12
2.2.2. Farmakolojik Özellikler.....	12
2.2.3. Etki Mekanizması.....	12
2.2.3.1. VPA'in İnhibitör Nörötransmisyon Üzerine Etkisi	12
2.2.3.2. VPA'in Ekstimator Nörötransmisyon Üzerine Etkisi.....	12
2.2.3.3. VPA'in Monoaminler Üzerine Etkisi.....	13
2.2.3.4. VPA'in İyon Kanalları Üzerine Etkisi.....	13
2.2.3.5. VPA'in Otizm İlgili Mekanizmalar Üzerine Etkisi.....	13
2.2.4. Deneysel Modeller.....	14
2.3. Empati.....	16
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER.....	19
3.1. Hayvanlar.....	19
3.1.1 Çiftleştirme ve Gebelik Takibi.....	19
3.1.2. Valproik Asit Enjeksiyonu.....	20
3.1.3. Doğum ve Yavruların Takibi.....	20
3.2. Davranış Deneyleri.....	21
3.2.1. Olfaktör Diskriminasyon.....	22
3.2.2. Sosyal Performans.....	24
3.2.2.1. Sosyal Tanıma.....	25
3.2.2.2. Sosyal Tercih.....	26
3.2.3. Empati Benzeri Sosyal Davranış Testi.....	27
3.3. Fizyolojik Deneyler.....	28
3.3.1. Ön Uyaran Aracılı İnhibisyon ve İrkilme.....	28

3.3.2. Lokomotor Aktivite.....	31
3.4. İstatistiksel Analiz.....	31
4. BULGULAR.....	33
4.1. Demografik Veriler.....	33
4.2. Gözleme Dayalı Malformasyonlar.....	34
4.3. Davranış Deneyleri.....	35
4.3.1. Olfaktör Diskriminasyon.....	35
4.3.2. Sosyal Performans.....	39
4.3.3. Empati Benzeri Sosyal Davranış.....	43
4.4. Fizyolojik Deneyler.....	47
4.4.1. Ön Uyarıcı Aracılı İnhibisyon.....	47
4.4.2. İrkilme Yanıtı.....	52
4.4.3. Lokomotor Aktivite.....	54
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	61
6. KAYNAKLAR.....	75
7. SİMGELER VE KISALTMALAR.....	88
8. TEŞEKKÜR.....	89
9. ÖZGEÇMİŞ.....	90

TÜRKÇE ÖZET

Otizm Spektrum Bozuklukları, sosyal etkileşimde güçlük, iletişim yetersizliği ve tekrarlayıcı davranış gibi semptomlar gösteren genetik ve çevresel kökenlere sahip nörogelişimsel bozukluklardır. Prenatal VPA maruziyeti insanlarda otizm riskini arttırmakta ve deneysel olarak otizmi modelleyebilmektedir.

Çalışmada kullanılan 5 gebe Wistar Albino sıçandan 3'ü embriyonik gün 12,5'de 400mg/kg/ml *i.p.* VPA enjeksiyona, 2'si aynı volümde serum fizyolojiğe maruz kalmıştır. Postnatal gün 20'de (P20) annelerinden ayrılan yavrular P22 itibariyle davranışsal ve fizyolojik testlere tabii tutulmuştur ($n_{VPA}=26$, $n_{Kontrol}=23$). P30 ve P60'da gerçekleştirilen empati testlerinde 25x60x30 cm pleksi-cam kabin ve kısıtlayıcılar kullanılmıştır. Düzeneğin orta kısmına kısıtlanmış kardeş sıçan yerleştirilmiş ve serbest sıçanın aktivitesi 10 dk kayıt altına alınmıştır. Serbest sıçan test öncesi herhangi bir eğitim fazından geçmemiş ve sıçana pekiştirici verilmemiştir. Empati testi dışında sıçanlar fiziksel malformasyonlar, olfaktör diskriminasyon, sosyal performans, ön uyaran aracılı inhibisyon ve lokomotor aktivite açısından değerlendirilmiştir.

Empatiyi değerlendirmek için serbest sıçanın kısıtlanmış sıçan etrafında geçirdiği süre ve kabin kapısını açma denemesi frekansı kullanılmıştır. VPA grubu kontrol grubuna göre P30 ve P60'da kısıtlanmış kardeşleriyle daha az ilgili zaman geçirmiştir ($p<0,05$; $p<0,001$). Kabin kapısını açma denemesi frekansı VPA grubunda kontrol grubuna göre P30'da anlamlı olarak fark göstermezken, P60'da daha anlamlı olarak daha düşüktür ($p<0,001$).

OSB modellerinde empati benzeri davranış literatürde ilk kez gösterilmiştir. Diğer test sonuçlarının da literatürle uyumlu olması embriyonik dönemde VPA maruziyetinin, sıçanlarda OSB benzeri semptomatik bulgulara neden olduğunu doğrular niteliktedir. Çalışmamızda semptomların spektrum halinde görüldüğü ve VPA'in sosyal ve nörolojik gelişim açısından etkileri olduğu gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: VPA, otizm, empati, sıçan.

İNGİLİZCE ÖZET

Assesing Empathy Like Social Behavior in Valproic Acid Induced Autism Model of Rats

Autism Spectrum Disorders are neurodevelopmental disorders with repetitive behaviors, social interaction and communication deficits which have genetic and environmental roots. Prenatal VPA exposure increases autism risk in humans and used in experimental models.

Wistar Albino pregnant females received either 400mg/kg/ml VPA (n=3) or same volume of saline (n=2) *i.p.* on embryonic day 12.5. On postnatal day 20 (P20) rats were separated from mother and testing began on P22 (n_{VPA}=26, n_{control}=23). Rats were tested for empathy on P30 and P60 in a 25x60x30cm Plexiglas box and restrainer. Restrained sibling rat was placed at the centre of the box and subject rat's behavior was recorded for 10 minutes. Subject rats were not trained before test and were not given any reinforcements. Besides testing for empathy, rats were assessed for malformations and tested for olfactory discrimination, social performance, pre-pulse inhibition and locomotor activity.

To assess empathy, attentive time of subject rat with sibling and subject's frequency of attempt to open restrainer's door were measured. VPA group spent less attentive time with sibling on P30 and P60 compared to controls (p<0,05; p<0,001). Although there were no differences between groups on P30 for frequency of attempt to open restrainer's door, VPA group scored less on P60 (p<0,001).

For the first time in literature assessment of empathy in autism models has been showed. Other tests' results confirm autism like symptomatic effects of prenatal VPA exposure. Our study shows VPA's effects on neurologic and social development.

Key Words: VPA, autism, empathy, rat.

1. GİRİŞ

Genetik ve çevresel nedenlere sahip olan otizm davranışsal ve gelişimsel bir bozukluktur. Spektrum bozukluğu olması nedeniyle her bireyde farklı semptomlar görülebilmekte ve semptomların ciddiyeti de farklı olabilmektedir. Ana semptomlardan olan sosyal etkileşimde görülen sorunlar, yetersiz iletişim becerileri ve tekrarlayan ve basmakalıp davranışlar yaşamın erken evrelerinde ortaya çıkar (APA, 2013). Empati davranışındaki bozulmalar, otizmlili bireylerin günlük yaşamlarında karşılaştıkları temel sorunlardan biridir (Goldenfeld ve ark., 2005). Böylece bu semptomlara eşlik eden sorunlar bireyin spektrumdaki konumunu belirler. Otizm araştırmalarında kullanılan sıçan modelleri, hastalığın mekanizmalarını anlamada ve potansiyel tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde önemli bir role sahiptir. VPA enjeksiyonu ile oluşturulan otizm modelleri, VPA'nin insanlarda da otizm riskini arttırması ve patogenezdaki benzerlikleri yönünden tercih edilmektedir (Schneider ve Przewlocki, 2005). Empati, otizmlili bireylerin sıkça karşılaştığı bir sorun olmasına rağmen VPA ile oluşturulmuş modellerde test edilmemiştir. Araştırmamızın cevap bulmak istediği soru, sıçanlarda prenatal VPA maruziyetiyle oluşturulan otizm modellemesinin, otizmin temel sorunlarından olan empatiyi ölçümleyebilme kapasitesidir. VPA ile indüklenmiş otizm modeli oluşturulan sıçanlarda gözlemlenebilecek empatik davranışlar, otizmlili bireylerdeki empatik sorunları anlayabilme ve tedavi edebilme anlamında yeni yaklaşımlar sunabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Otizm Spektrum Bozuklukları

2.1.1. Tanım

Otizm Spektrum Bozuklukları (OSB), semptomatik olarak heterojen, genetik ve çevresel etmenlere bağlı olarak oluşan nörogelişimsel ve davranışsal bozukluklardır (APA, 2013). Görülme sıklığı gittikçe artan OSB, erkek çocuklarda kız çocuklara göre 4 kat fazla görülmektedir (Fombonne, 2003). Objektif bir tanı testi olmaması nedeniyle, konulan tanıları davranış belirteçleriyle *American Psychiatry Association* (APA)'nın oluşturduğu “*Diagnostic And Statistical Manual Of Mental Disorders, Fifth Edition*” (DSM-5)'e göre yapılmaktadır. DSM-5'e göre OSB başlığı altında “Otizm Bozukluğu”, “Çocukluğun Disentegratif Bozukluğu”, “Asperger Sendromu” ve “Yaygın Gelişimsel Bozukluk- Başka Türü Adlandırılmayan Tip” olarak 4 bozukluk grubu bulunmaktadır. Semptomların çeşitliliği ve ciddiyeti bireyden bireye farklılık gösterdiği için spektrum olarak değerlendirilir. Tanı, biyolojik herhangi bir belirtecin olmaması nedeniyle sadece davranışsal kriterlere göre yapılabilmektedir (Yates ve Le Couteur, 2016). Tanı için üç ana semptom gereklidir, bunlar; sosyal etkileşimde yetersizlik, iletişim becerilerinin kısıtlılığı ve tekrarlayan ve basmakalıp davranışlarda ısrar olarak belirtilmektedir. OSB tanısında bir diğer ölçüt, bozukluğun yaşamın ilk yıllarında gözlemlenmesi gerektiğidir (APA, 2013). OSB bir hastalıktan çok beyin gelişimi sırasında meydana gelen bir olumsuzluğun semptomu olarak değerlendirilmedi (Rapin ve Tuchman, 2008).

2.1.2. Tarihçe

Otizm terimi ilk kez İsviçreli psikiyatrist Eugene Bleuler tarafından, 1916 yılında yazmış olduğu “*Lehrbuch der Psychiatrie*” adlı kitabında kullanılmıştır. Şizofreni üzerine çalışan Bleuler otizm terimini, hastalarda gördüğü içe dönüklüğü

tanımlamak için Yunanca “ben” anlamındaki “*autos*” kelimesinden türetmiştir (Bleuler, 1916). Bu terim 1943 yılında Leo Kanner tarafından sosyal becerilerde uyumsuzluk gösteren, iletişim ve dil kullanımında sorunlar yaşayan, kısıtlı ilgi alanları ve tekrarlayan davranışlara sahip bir grup olguyu tanımlamak için kullanılmıştır (Kanner, 1943). Bulguları karıştırılmasına karşın, bu olguları şizofreniden ayıran en önemli özellik patolojinin doğumdan itibaren ilerleyen gelişimsel bir bozukluk olmasıdır (APA, 2013). Günümüzde de OSB’nin tanısında kullanılan bu kriterler, Kanner tarafından otizm terimiyle bağdaştırılmıştır (APA, 2013; Volkmar ve ark., 2004).

2.1.3. Epidemiyoloji

Tanımlandığı ilk yıllarda nadir görüldüğü düşünülse de “*Centre for Disease Control and Prevention*” (CDC) verilerine göre OSB görülme sıklığı oldukça yüksektir ve yıllar içerisinde artmaktadır (Baio ve ark., 2018). Bu artışın nedenlerinden biri tanı kriterlerindeki gelişmeler olarak gösterilebilir. DSM-5 ile birlikte nörogelişimsel bozukluklar altında ele alınan OSB, kategorik değerlendirmeden çok boyutsal olarak değerlendirilmiştir. Böylelikle kendini gösterme şekilleri ve şiddetinin farklılıkları spektrum terimine uygun olarak ele alınmıştır. OSB görülme sıklığı, tanı kriterlerindeki genişlemeler, ailelerin, sağlık ve eğitim kurumlarının farkındalıklarının artması ile birlikte yıllar içerisinde artmıştır (Rey, 2006). OSB, araştırmacılar için de ilgi duyulan bir alan olmuştur, görülme sıklığı ve yıl içinde çıkan makalelerin artışları birbiriyle ilişkilidir. Bu alanda en çok araştırmayı yapan ülke Amerika Birleşik Devletleri’dir, bu nedenle CDC verileri önemlidir (Sweileh ve ark., 2016).

OSB prevalansı CDC’nin 2014 verilerine göre her 59 çocukta 1 şeklindedir. Ayrıca tüm ırk, etnik ve sosyoekonomik gruplarda görülmektedir (Baio ve ark., 2018). OSB’nin erkek çocuklarda kız çocuklarına göre 4 kat fazla görülmesi (Fombonne, 2003) patolojinin maskülen tarafını sorgulatmış ve bu bozukluk anne karnında maruz kalınan testosteron hormonu ile ilişkilendirilmiştir (Auyeung ve ark., 2009). Tek yumurta ikizlerinde yapılan çalışmaların sonuçlarına göre ikizlerden birinde otizm görülüyorsa, diğer ikizde de otizmin herhangi bir türünün görülme

olasılığı %36-95'dir (Rosenberg ve ark., 2009). Çift yumurta ikizlerinde yapılan çalışmada ise ikizlerden birinde otizm görülüyorsa diğer ikizin de otizme sahip olması ihtimali %0-31 olarak belirtilmektedir (Taniai ve ark., 2008). OSB tanısı almış bir çocuğa sahip bir ailenin ikinci çocuklarının da OSB tanısı alma ihtimali %2-18'dir (Ozonoff ve ark., 2011). Yaşça büyük ebeveynlerin çocukları (Durkin ve ark., 2008) ve prematüre ya da düşük doğum ağırlığıyla doğmuş çocuklar OSB için risk grubundadır (Schendel ve Bhasin, 2008). OSB tanısı almış çocuklarda başka genetik, psikiyatrik, gelişimsel, nörolojik, metabolik rahatsızlıkların birlikte görülme olasılığı yüksektir. Örneğin OSB tanısı almış çocukların %10'u Down Sendromu, tüberoskleroz gibi genetik veya kromozomal rahatsızlıklara da sahip olduğu belirtilmektedir (DiGuseppi ve ark., 2010).

2.1.4. Tanı

Sosyal hayal gücü, sosyal iletişim ve sosyal etkileşim, OSB'li bireylerin günlük hayatta zorlandıkları 3 ana konudur. Bu konularda ortak bir zorlanma yaşanırken, bireysel farklılıklar da görülebilir (Wing, 1988).

OSB'li bireyler sözlü ve sözsüz iletişim sorunu yaşarlar. Çoğu düz bir dil anlayışına sahiptir, söylenenlerle kastedilenlerin aynı olduğuna inanırlar. Yüz ifadelerini okumakta, şaka ve imaları anlamakta zorlanırlar. Karşısındakilerin hislerini anlamakta ve kendi hislerini belli etmekte problem yaşamaları nedeniyle ikili ilişkiler zorlu bir süreçtir (Happe, 1993; Norbury, 2005). Bu karmaşık davranışsal bozukluk, sosyal ilişkilerde yetersizlik, iletişim ve empati problemleriyle birlikte alışılmışın dışında kısıtlanmış ve tekrar eden davranışlar gibi geniş bir semptom çeşitliliğine sahiptir (APA, 2013). OSB'li bireylerde görülen empati problemi, onların sosyal ve çevresel uyumlarını azaltmaktadır (Goldenfeld ve ark., 2005).

OSB patogenezinde bireysel olarak tanıya yardımcı olacak biyolojik bir belirteç bulunamamıştır. Buna rağmen hormonlar, peptitler gibi çeşitli biyolojik belirteçlerin yaş ve cinsiyet karşılaştırmalarına göre OSB'li bireylerde farklılık gösterebildiği belirtilmektedir (Stigler ve ark., 2009; Werling ve Geschwind 2013).

OSB’li bireylerde yapılan çalışmaların parametrelerindeki farklılıklar tam olarak aydınlatılmamış olsa da bazı nörotransmitterlerin ve bunların reseptörlerinin patolojide önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Bunların arasında serotonin, gama-aminobütrik asit (GABA), dopamin, glutamat sayılabilir (Volkmar ve Klin, 2005).

Önceki sınıflandırmalardan farklı olarak DSM-5, OSB’yi boyutsal olarak incelemiştir. Böylelikle ‘var-yok’ şeklinde kesin bir yaklaşım yerine, bozukluk düzeyi, görülme özgüllüğü ve sürekliliğinin incelenmesiyle birlikte bireyler daha doğru tanılarına sahip olmuştur. DSM-5’e göre OSB tanı ölçütleri Tablo-1’de gösterilmiştir (APA, 2013).

Tablo 1: DSM-5’e göre OSB tanı kriterleri.

<p>A. O sırada ya da öyküden alınan bilgilere (ayrıntılılamaktan çok örnekleyen) göre, aşağıdakilerle kendini gösteren, değişik biçimleriyle toplumsal iletişim ve toplumsal etkileşimde süregelen eksiklikler:</p> <ol style="list-style-type: none">1. Sözelimi, olağandışı toplumsal yaklaşım ve karşılıklı konuşamamadan, ilgilerini, duygularını ya da duygulanımını paylaşamamaya, toplumsal etkileşimi başlatamamaya ya da toplumsal etkileşime girememeye dek değişen aralıkta, toplumsal-duygusal karşıtlık eksikliği.2. Sözelimi, sözel ve sözel olmayan tümleşik iletişim yetersizliğinden, göz iletişimi ve beden dilinde olağandışlıklara ya da el-kol devinimlerini anlama ve kullanma eksikliklerine, yüz ifadesinin ve sözel olmayan iletişimin hiç olmamasına dek değişen aralıkta, toplumsal etkileşim için kullanılan sözel olmayan iletişim davranışlarında eksiklikler.3. Sözelimi, değişik toplumsal ortamlara göre davranışlarını ayarlama güçlüklerinden, imgesel oyunu paylaşma ya da arkadaş edinme güçlüklerine, yaşlılarına ilgi göstermemeye dek değişen aralıkta, ilişkiler kurma, ilişkilerini sürdürme ve ilişkileri anlama eksiklikleri. <p>B. O sırada ya da öyküden alınan bilgilere (ayrıntılılamaktan çok örnekleyen) göre, aşağıdakilerden en az ikisi ile kendini gösteren, sınırlı, yineleyici davranış örüntüleri, ilgiler ya da etkinlikler:</p> <ol style="list-style-type: none">1. Basmakalıp ya da yineleyici devinsel (motor) eylemler, nesne kullanımları ya da konuşma (örn. yalın devinsel basmakalıp davranış örnekleri, oyuncakları ya da oynar nesnelere sıraya dizme, yankılama [ekolali], kendine özgü deyişler).2. Aynılık konusunda direnme, sıradanlık dışına esneklik göstermeme ya da törensel sözel ya da sözel olmayan davranışlar (örn. Küçük değişiklikler karşısında aşırı sıkıntı duyma, geçişlerde güçlükler yaşama, katı düşünce örüntüleri, törensel selamlama davranışları, her gün aynı yoldan gitmek ve aynı yemeği yemek isteme).3. Yoğunluğu ve odağı olağandışı olan, ileri derece kısıtlı, değişkenlik göstermeyen ilgi alanları (örn. alışılmadık nesnelere aşırı bağlanma ya da bunlarla uğraşıp durma, ileri derecede sınırlı ya da saplantılı ilgi alanları).4. Duygusal girdilere karşı çok yüksek ya da düşük düzeyde tepki gösterme ya da çevrenin duygusal yanlarına olağandışı bir ilgi gösterme (örn. Ağrı/ısıya karşı aldırıışsızlık, özgül birtakım seslere ya da dokulara karşı ters tepki gösterme, nesnelere aşırı koklama ya da nesnelere aşırı dokunma, ışıklarda ya da devinimlerden görsel büyülenme). <p>C. Belirtiler erken gelişim evresinde başlamış olmalıdır (toplumsal gerekler sınırlı yeterliğin üzerine çıkana dek tam olarak kendini göstermeyebilir ya da daha sonraki yıllarda öğrenilen yöntemle maskelenebilir).</p> <p>D. Belirtiler, toplumsal, işle ilgili alanlarda ya da önemli diğer işlevsellik alanlarında klinik açıdan belirgin bir bozulmaya neden olur.</p> <p>E. Bu bozukluklar anlıksal yeti yitimi (anlıksal gelişimsel bozukluk) ya da genel gelişimsel gecikme ile daha iyi açıklanamaz. Anlıksal yeti yitimi ve otizm açılımı kapsamında bozukluk sıklıkla bir arada ortaya çıkar. Otizm açılımı kapsamında bozukluk ve anlıksal yeti yitimi eş tanı tanısı koymak için, toplumsal iletişim, genel gelişim düzeyine göre beklenenin altında olmalıdır.</p>

2.1.5. Etiyoloji

Otizm semptomatik açıdan olduğu gibi, etiyolojik açıdan da geniş bir spektruma sahiptir. Bozukluğa neden olan tek bir gen veya tek bir çevresel etmeden bahsetmek mümkün değildir (Volkmar ve ark., 2004). Çeşitli genlerin ve çevresel etmenlerin kombinasyonu ile oluşabilen ve gidişatı bireyler arasında farklılık gösteren otizm halen birçok bilim dalı tarafından araştırılmaktadır.

Otizm, tanımlandığı ilk yıllarda çocuklarına gerekli ilgiyi gösteremeyen “buzdolabı anneler”in neden olduğu bir bozukluk olarak düşünülüyordu (Fombonne, 2003). Artan görülme sıklığı ve bilimsel gelişmeler otizmin oluşumu için gerekli etmenlerin sayısının artmasına neden olmuştur (Weintraub, 2011).

Otizmin karmaşık etiyolojisinde, genetik yatkınlık ve çevresel faktörler olmak üzere başlıca iki ana grup bulunmaktadır (Trottier ve ark., 1999). İkizlerde yapılan çalışmalar bozukluğun nedeni hakkında bilgi veremese de kalıtsal yönünü göstermiştir. Semptomların görülebildiği Down sendromu (DiGuseppi ve ark., 2010), Tuberosklerozis ve Frajil X sendromu gibi genetik rahatsızlıklar otizmle ilişkilendirilmiştir (Zecavati ve ark., 2009). Gelişim sırasında genomda meydana gelen silinme, duplikasyon ve translokasyon gibi de-novo mutasyonlar sonucu ortaya çıkan kopya sayısı varyasyonları (*Copy Number Variations*, CNV) ve kromozomal bozukluklar semptomların oluşmasında etkisi olan yolaklar ve ürünler üzerine etki ederek bozukluğu meydana getirebilirler (Rapin ve Tuchman, 2008). 1q21, 15q13.3, 22q11 gibi kromozom bölgelerindeki maternal kalıtılmış mutasyonlar veya CNV, birçok otistik semptomun görülmesine zemin oluşturmaktadır (Geschwind, 2011). Dendritik uzantıların oluşumu ve olgunlaşmasında görev alan *SHANK3* geni (Kelleher ve Bear, 2008) ve beyin gelişiminde önemli bir transkripsiyon faktörünü kodlayan *FOXP1* gibi genler ilişkilendirme çalışmaları sonucu aday gen olarak anılmaktadır (Hamdan ve ark., 2010).

Çevresel etkiler ise; doğum öncesi, doğum sırası ve doğum sonrası olmak üzere incelenebilir. Annenin gebe kalma yaşının büyüklüğü (Durkin ve ark., 2008), doğum öncesinde valproik asit (VPA) (Ornoy, 2009), talidomid gibi teratojenlere

maruz kalınması (Strömland ve ark., 1994), alkol kullanımı (Nanson, 1992) ve geçirilen rubella enfeksiyonu sonrasında doğan çocukların ilerleyen yıllarda otizm tanısı alma riski yüksek olduğu bildirilmektedir (Chess, 1971). Özellikle bu faktörlere ilk trimesterde maruz kalmak, nöral tüp gelişiminin bu dönemde olması nedeniyle riski arttırmaktadır (Arndt ve ark., 2005). Doğumla ilgili hipoksik iskemik hasar gibi sonrasında serebral palsiye neden olabilen komplikasyonlar (Kolevzon ve ark., 2007), erken doğum ve düşük ağırlıklı doğum gibi sebepler de çocuğun ilerleyen yıllarında otizm tanısı alması için risk oluşturmaktadır (Schendel ve Bhasin, 2008). Doğum sonrasında yaşamın ilk yıllarında maruz kalınacak ağır metal zehirlenmeleri (Davidson ve ark., 2004); oksidatif stres (Kern ve Jones, 2006), otoimmün hastalıklar (Ashwood ve Van de Water, 2004), D vitamini eksikliği (Cannel, 2008), amigdala gelişimindeki bozukluklar (Schultz, 2005) ve hatta diyetin otizm oluşunda etkili olabileceği bildirilmektedir (Kawicka ve Regulska-Ilow, 2013). Tüm bu çevresel etkiler beraberindeki çeşitli epigenetik ve biyolojik mekanizmalarla bozukluğun etiolojisinde rol oynayabilmektedir.

2.1.6. Patogenez

Otizme zemin hazırlayan etiyolojik faktörler patogenezi anlayabilmek adına yol gösterici olabilmektedir. Etiyolojiden yola çıkarak sistemde oluşabilecek bozuklukları araştırmak ve yorumlamak otizm mekanizmasını anlamamıza yardımcı olur. Halen devam eden araştırmalar belirli birkaç mekanizmanın otizm patogenezinde etkili olduğunu göstermiştir. Bunlardan bazıları; nöral bağlantılar, dendritik morfoloji, nöron göçü, nöroimmün mekanizmalar, eksitatör-inhibitör nöronal denge, amigdala gelişimi, ayna nöron mekanizması ve hatta bazı durumlarda gastrointestinal sistem etkisidir.

Otizm patogenezinde etkisi en fazla olduğu düşünülen etmenler nöral bağlantılarda ve sinaptogenezde oluşan uyumsuzluklardır . Otizmlili bireylerden elde edilen veriler artmış nöronal yoğunluğu göstermektedir. Bu artış nöral yapı ve bağlantılarının düzenlenmesini zorlaştırmaktadır (Courchesne ve ark., 2011). Sağlıklı çalışan bir sistemdeki düzenlenme kullanılmayan nöronların temizlenmesi, dendritlerin

budanması ve daha çok kullanılan nöronlar arası bağlantıların güçlendirilmesi şeklindedir (Courchesne ve ark., 2007). Otizmlili çocuklarda bu düzenlenmenin bozulduğu çeşitli çalışmalar sonucu gösterilmiştir (Courchesne ve ark., 2007; Persico ve Bourgeron, 2006).

Bu teoriden yola çıkarak hemisfer içi iletişimin de etkilendiği düşünülmektedir (Minshew ve Williams, 2007). Radyal olarak düzenlenmiş piramidal nöronlar, internöronlar akson ve dendritlerden oluşan minikolonlar algı alanını oluşturan makrokolonları oluşturur. Minikolonlarda görülen artmış yoğunluk ve çoklu bağlantılar algı devresindeki gürültüyü arttırarak bilginin işlenmesinde hatalara neden olacaktır (Casanova ve ark., 2006). Nöronlar arasındaki iletişim fazlalığı sinyalizasyon yollarını değiştirerek bireyin adapte olmasını zorlaştırmaktadır. Otizmde ortak semptomlardan biri olan kısıtlı ilgi ve tekrarlayan davranışların altında duyuşal işlelimdeki fazla girdinin olduğu düşünülmektedir (Opris ve Casanova, 2014).

Otizmlili bireylerde dendritik morfolojinin bozulduğu bildirilmektedir. Yapılan çalışmalarda dendritik yapıların ince, uzun ve sayıca artmış olduğu gösterilmiştir. (Minshew ve Williams, 2007; Xu ve ark., 2014). Dendritik uzantıların oluşması ve olgunlaşmasında görev alan başlıca proteinlerden biri olan *SHANK* proteinini kodlayan *SHANK3* genindeki mutasyonlarının görülebildiği bildirilmektedir (Boeckers ve ark., 2002). Yapılan bir çalışmada otizm tanısı almış kişilerde postmortem temporal lob incelenmesinde 5. tabakadaki piramidal nöronlarda artmış dendritik uzantılar ve azalmış budanma olduğu gösterilmiştir. Bu nöronlar kortiko-kortikal ve kortiko-subkortikal bağlantıları sağlayan ana uyarıcı nöronlardır ve otizmde görülen bağlantısal sorunlar bu nöronlardaki dendritik deformitelerle ilişkilendirilebilmektedir (Tang ve ark., 2013).

Konsepsiyon sonrası nöron göçünün gerçekleştiği ilk 6 ay serebral korteks malformasyonlarının oluşumu için oldukça riskli bir zaman dilimidir. Beyin gelişimi sırasında nöronların yanlış göçü ve yerleşiminin sorunlara neden olduğu bildirilmektedir (Barth, 1987). Otizmli bireylerde görülen kalınlaşmış korteks, beyaz-

gri cevher arasındaki sınır belirsizliği ve artmış nöronal yoğunluk bozukluğun patogenezinde önemli bir yer tutmaktadır (Schmitz ve Rezaie, 2008). Otizmlili bireylerin serebral dokularında yapılan post mortem çalışmalar nöron göçünde ve doğru yerleşiminde görevli oldukça önemli bir ekstrasellüler matriks proteini olan *REELIN* proteininin sağlıklı kontrollere göre daha düşük oranda eksprese edildiğini göstermiştir. Bu malformasyonlardan en çok etkilenen bölgeler olan frontal ve temporal loblar, ilerleyen dönemlerde görülmesi muhtemel semptomlar için de önemli beyin bölgeleridir (Wang ve ark., 2014). Otizm patogenezinde genlerin etkisine örnek olarak reelini kodlayan *RELN* geni ve benzer genlerdeki mutasyonlar verilebilir (Kelleher ve Bear, 2008).

Nöroimmün mekanizmalar otizm patogenezinin anlamak için çokça çalışılan bir alandır. Nöral gelişim açısından daha korunmasız zamanlarda yaşanabilecek orantısız bir immün yanıt nöral fonksiyon bozukluklarına neden olarak otizm görülme riskini arttırabilmektedir (Bjorklund ve ark., 2016).

Eksitatör- inhibitör (E/I) nöronal denge, duysal ve bilişsel süreçlerin oluşumu ve düzenlenmesi sırasında birçok beyin bölgesinin fonksiyonlarının yerine gelmesinde görev alan homeostatik bir mekanizmadır (Turriano ve Nelson, 2004). E/I dengenin kurulabilmesi için canlıda gen ekspresyonunda düzenlemeler, protein sentezinde artış ve azalışlar, hücre iskeletinin biçimsel değişlikleri gibi mekanizmalar devreye girmektedir. Böylelikle gerekli nörotransmitterler, iyon kanalları, reseptörler ve haberciler oluşmakta ve ilgili bölgelere gerektiği miktarlarda iletilmektedir (Pizzarelli ve Cherubini, 2011). Sayılan bu mekanizmaların otizmin fizyopatolojisinde rolü olduğu düşünölmektedir (Schmitz ve Rezaie, 2008). Otizmlili bireylerdeki GABA/ Glutamat dengesindeki bozukluklar bu teoriyi güçlendirmektedir (El- Ansary ve Al- Ayadini, 2014).

Amigdalanın fonksiyonel etkisi sosyal etkileşim, empati ve anksiyete üzerinedir ve otizm fizyopatolojisi bu semptomatik profile sahiptir (Schultz, 2005). Otizm patogenezinde; amigdalanın boyutsal olarak fazla gelişim, nöral bağlantılarda eksik budanmaya bağlı olarak artmış yoğunluk, nöron sayısında ve dendritik

yapılarda azalma gibi farklı görüşler mevcuttur (Baron- Cohen ve ark., 2000; Bauman ve Kemper, 1994).

Ayna nöron mekanizması otizm patogenezinde daha semptomatik bir bakış açısı getirmektedir. Ayna nöronlar; bir hareket yapıldığında aktivasyonlarının yanısıra aynı hareketi yapan bir başka kişi gözlemlendiğinde de aktive olurlar. Bu nöronlar temelde başkalarının hareketlerini yansıtırlar ve bu özellikleri nedeniyle taklit, modelleme, dil becerisi, empati gibi sosyal davranışların fizyolojisinde rolleri olduğu düşünülmektedir (Rizzolatti ve ark., 2009). Otizm semptomlarının “kırık ayna teorisi” ile yani ayna nöron mekanizmasındaki bir bozulmayla ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Iacoboni ve Dapretto, 2006).

2.1.7. Deneysel Modeller

İncelenen hastalık veya bozukluğun modellenebilmesi ve bu modelin kabul görmesi için geçerli kriterler; yapısal kriterler, semptomatik kriterler ve öngörüsül kriterler olarak üçe ayrılmaktadır. Yapısal kriterler, modelin temel aldığı hastalık veya bozuklukla benzer etiyolojik faktörlere sahip olmasıdır. Semptomatik kriterler, oluşturulan model ve incelenen hastalık veya bozukluğun semptomatik olarak benzer ve ortak etkilere sahip olmasıdır. Öngörüsül kriterler ise deneysel modelin tedaviye verdiği yanıt ve bu yanıtın insanlarda kullanılabilme derecesidir (Willner, 1984).

OSB etiyolojisinin altında yatan mekanizmaların anlaşılabilmesi için deneysel çalışmalar gerekmektedir. Deneysel OSB modelleri bu nedenle sıkça tercih edilir. Modeli oluşturmak üzere kullanılan tetikleyiciler genelde erken gelişim zamanlarında uygulanır. Bu çalışmalara amigdala (Wolterink ve ark., 2001) ve serebellum lezyonları (Bobe ve ark., 2000), embriyonik dönemde VPA gibi teratojeniklere maruziyet (Schneider ve ark., 2007), genetik manipülasyonlar (Nakatini ve ark., 2009), “Born Hastalığı Virüsü” gibi viral ajanlara prenatal maruziyet örnek olarak verilebilir (Lancaster ve ark., 2007). Tetikleyiciler sonucu oluşan modelde görülen semptomlara düşük ön uyaran aracılı inhibisyon (ÖUAİ), artmış anksiyete, sosyal etkileşimden kaçınma, tekrarlayan davranışlar ve iletişim becerilerinde bozulmalar örnek olarak gösterilebilir (Schneider ve Przewlocki, 2005).

Bu semptomların değerlendirilmesi için geliştirilmiş metodlar Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2: OSB semptomlarının değerlendirilmesi için geliştirilmiş metodlar.

Semptomlar	Testler	Referans
Ana Semptomlar		
Sosyal Etkileşim Bozuklukları	Üç Çemberli Sosyal Etkileşim	Yang ve ark., 2011
	Reciprocal Sosyal Etkileşim	Bolivar ve ark., 2007
İletişim Sorunları	Ultrasonik Vokalizasyon	Brudzynski, 2013
	Olfaktör Diskriminasyon	Favre ve ark., 2013
Tekrarlayan ve Steorotipik Hareket	Tersinir Öğrenme	Bissonette ve ark. 2008
	Kendini Temizleme	Pearson ve ark., 2011
İlgili Semptomlar		
Anksiyete ve Hiperaktivite	Lokomotor Aktivite	Schneider ve Przewlocki, 2005
Algısal Bozukluklar	Ağrılı uyarana karşı duyarlılık	Schneider ve Przewlocki, 2005
	Sensorimotor Kapılama	Schneider ve Przewlocki, 2005
Öğrenme- Bellek Bozuklukları	Korku Koşullanması	Markram et al., 2008
	Morris Su Tankı	Gao et al. 2016

2.2. Valproik Asit

Otizm etiolojisinde çevresel risk faktörü olan VPA hem anatomik hem de davranışsal olarak otizm semptomlarını taklit edebildiği için deneysel modellerde sıkça kullanılan bir ajandır (Schneider ve Przewlocki, 2005). VPA aracılı OSB modeli ilk olarak 1996 yılında Rodier ve ark. tarafından sıçanlara *i.p.* enjeksiyon uygulanarak oluşturulmuştur. Schneider ve Przewlocki (2005) embriyonik gün 12.5’de (E12.5) VPA enjeksiyonunu gerçekleştirerek sıçanların davranışlarını değerlendirmişlerdir. Bu ve benzer çalışmalarda *in utero* VPA maruziyetinin sosyal etkileşim ve iletişim yetersizlikleri, tekrarlayan davranışlar, düşük ÖUAİ oranları, fiziksel ve motor gelişimde gerilemeler şeklinde etkileri olduğu gösterilmiştir (Kim ve ark., 2011; Melancia ve ark., 2018). Günümüzde VPA ‘D’ sınıfı bir antiepileptik

ilaç olarak kullanılmakta olup plasenta ve süt ile bebeğe geçebildiği gösterilmiştir (Ornoy, 2009).

2.2.1. Moleküler özellikler

VPA bileşeni valerik asit analogu olarak sentezlenen basit zincirli bir yağ asididir. Doğada bulunan formu *Valeriana officinalis* organik bir çözücü olarak kullanılabilir (Burton, 1882). Antiepileptik etkileri 40 yıl öncesinde Fransız araştırmacı Pierre Eymard tarafından çözücü madde olarak kullanılan bir çalışmada yanlışlıkla bulunmuştur. O günden beri epilepsi, migren ve bipolar bozukluk tedavilerinde kullanılmaktadır (Meunier ve ark., 1963).

2.2.2. Farmakokinetik Özellikleri

VPA biyoyararlanımı %96-100 arasında olmasına rağmen emilim oranı kullanılan formülasyona göre değişir. Normalde serum proteinlerine bağlanması %80 iken bu oran yüksek konsantrasyonlara ulaşıldığında, yaşlılık ve gebelikte düşmektedir. Yarı ömrü yaklaşık 15 saattir ve karaciğerden metabolize edilir (Davis ve ark., 1994).

2.2.3. Etki Mekanizması

2.2.3.1. VPA'in inhibitör nörotransmisyon üzerine etkisi

VPA'in merkezi sinir sisteminde GABA transaminazı inhibe ederek GABA seviyelerini arttırdığı ve bu şekilde inhibitör nörotransmisyonu arttırdığı bilinmektedir. Uygulama sonrası GABA seviyelerinin akut olarak arttığı ve klinikte nöbetlerin önlenmesinde daha faydalı şekilde kullanıldığı bildirilmektedir. VPA klinikte, E/I dengesini etkileyerek GABA aracılı inhibisyon sayesinde migren tedavisinde kullanılmaktadır (Cutrer, 2001).

2.2.3.2. VPA'in ekstatör nörotransmisyon üzerine etkisi

VPA, N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerini bloke eder ve uyarılmayı azaltarak NMDA aracılı nöbetleri engeller. Aynı zamanda glutamat sentezini azaltır ve böylelikle ekstatör nörotransmisyonu azaltmış olur. Kullanımı sırasında arttırdığı GABA ile birlikte E/I dengesini inhibisyon tarafına çekmiş olur (Czuczwar ve ark.,

1985). Bu özellikleri nöbetler üzerine etkili olduğu gibi bipolar bozuklukta manik atakların azaltılmasında da etkili olduğu bildirilmektedir (Dixon ve Hokin, 1997).

2.2.3.3. VPA'in monoaminler üzerine etkisi

VPA kullanılan deney hayvanları modellerinde artmış serotonin ve dopamin seviyeleri gösterilmiştir (Meshki- Baf ve ark., 1994). Bu monoaminler depresyonda önemli rollere sahiptir ve seviyelerinin VPA aracılığı ile artması VPA'in klinik etkilerini arttıracak niteliktedir (Silberstein, 1999).

2.2.3.4. VPA'in iyon kanalları üzerine etkisi

Terapötik dozlardan farklı olarak deneysel dozlarda VPA'in kalsiyum ve potasyum kanalları üzerine etkisi gösterilmiştir. Lipofilik bir molekül olan VPA hücre zarını etkileyerek hücre içine kalsiyum ve potasyum girişini artırır ve uyarılmayı azaltır (Franceschetti ve ark., 1986).

2.2.3.5. VPA'in otizm ilgili mekanizmalar üzerine etkisi

Gebelik sırasında maruz kalınan VPA embriyoda fiziksel ve davranışsal bozukluklara neden olabilmektedir. H3 ve H4 histon proteinlerinin fazla asetilasyonu ile birlikte histon deasetilaz mekanizmasının inhibe olması prenatal dönemde beyin gelişimi üzerinde epigenetik değişikliklere neden olarak postnatal etkilere sebep olabilmektedir (Dufour- Rainfray ve ark., 2011). VPA'in "Glikojen Sentaz Kinaz 3 b-Beta"yı (GSK3 β) inhibe ederek "*Wingless Integrated*" (Wnt) sinyal yolağını etkilediği ve embriyonik beyin gelişimi bozabileceği bildirilmiştir. Wnt iletim yolağı embriyonik dönemde nöron göçü, nöronal farklılaşma, gelişim ve yerleşme üzerine etkilidir ve bu yolaktaki bozulmalar aksonal modellemeyi ve dolayısıyla normal sinir ağının oluşmasını engelleyerek otistik özelliklerin görülmesine neden olabilir (Caracci ve ark., 2016). GSK3 β inhibisyonu ile Wnt yolağının etkilenmesi aynı zamanda bu yolakta mediatör olarak kullanılan β -katenin'in de aktivasyon artışına neden olur. Bu aktivasyon Ras yolağı üzerinden ve "*Extracellular Signal Regulated Kinase*" (ERK) fosforilasyonunu artırır. Artmış ERK protein seviyesi p21 proteini üzerinden sinir progenitör hücrelerin farklılaşmasını uyarırken ve çoğalmalarını da

inhibe etmektedir. Böylelikle normal sinir ağı oluşumları engellenerek ve postnatal dönemde otizm benzeri semptomlar görülebilmektedir (Jung ve ark., 2008).

VPA'in yetişkinlerdeki GABA seviyeleri üzerindeki etkisi embriyo için de geçerlidir. GABA trasnaminazı inhibe ederek GABA seviyelerini arttıran VPA nöral ağların gelişimi ve düzenlenmesini olumsuz yönde etkileyebileceği bildirilmektedir (Van der Laan ve ark., 1979).

VPA aynı zamanda embriyonik folat metabolizması üzerinde de yıkıcı bir etkiye sahiptir. Folik asit miktarlarını azaltarak embriyoda antioksidan dengesizliğine neden olur ve embriyoyu oksidatif strese karşı daha savunmasız hale getirdiği bildirilmiştir (Wegner ve Nau, 1992). Embriyonik dönemde VPA'e maruz kalan çocukların otizm tanısı alma ihtimali %4.22 oranında artmaktadır.

2.2.4. Deneysel Modellerde VPA

VPA ile indüklenmiş otizm modeli ilk olarak Rodier ve ark. (1996) tarafından oluşturulmuştur. Modelin kabul görmesiyle birlikte davranışsal, fizyolojik ve moleküler çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. VPA otizm etiyojisinde çevresel bir faktör olmasının yanısıra epigenetik mekanizmalar üzerindeki etkileriyle farklı açılardan da halen çalışılmaktadır (Nicolini ve Fahnestock, 2018).

Objektif bir test olmaması nedeniyle otizm tanısı davranışsal semptomlara göre konmaktadır (APA, 2013). Bu nedenle deney modelleri de davranışsal semptomlar gösterebilmesine bağlı olarak kabul görmektedir. Karakteristik semptomların yanısıra anksiyete, algısal ve sirkadyen bozukluklar da modellenebilmektedir. Schneider ve Przewlocki (2005)'nin yapmış olduğu kapsamlı çalışma halen otizm sıçan modelleri için örnek alınmaktadır. E12.5'da enjekte ettikleri 600mg/kg VPA sonrası hayvanlarda davranışsal ve fizyolojik deneyler yapmış ve otizmle olan benzerlikleri yorumlamışlardır. Sosyal etkileşimde sorunlar, sosyal davranışlara karşı artmış latans, artmış lokomotor aktiviteyi takip eden tekrarlayan ve basmakalıp davranışlar, duysal algılamadaki bozuklukları gösteren ağırlı uyarana karşı azalmış cevap, dikkat ve bilgi işleme ve ayrıca duysal kapılama mekanizmasında bozukluklara işaret eden düşük ÖUAİ oranları

bildirdikleri davranışsal ve fizyolojik parametrelerdir. Bunların yanında gözlemsel olarak bildirdikleri düşük vücut ağırlığı, gelişme geriliği gibi bulgular da önemlidir. Farklı tür, doz ve maruziyet zamanı ile ilgili deneysel modeller Tablo 3'de belirtilmektedir.

Tablo 3: VPA ile indüklenmiş farklı deneysel modellerde görülen semptomlar.

Tür	VPA Dozu	Maruziyet Zamanı	Semptomlar	Referans
Wistar Albino Sıçan	600 mg/kg <i>i.p.</i> , Tek doz	E12.5	↓ Sosyal keşif, ↓ÖUAI, ↓ Ağrılı uyaran cevabı, ↑ Anksiyete, Gerilemiş motor gelişim	Schneider ve Przewlocki, 2005
Wistar Albino Sıçan	500 mg/kg <i>i.p.</i> , Tek doz	E12.5	↓ Oyun davranışı, ↓ Sosyal keşif, ↓ÖUAI, ↑ Anksiyete	Markram ve ark, 2008
C57BL/6Hsd Fare	600 mg/kg <i>s.c.</i> , Tek doz	E13	↓ Stres çağırısı, ↓ ÖUAI, ↑ Anksiyete, ↑ Kendini temizleme davranışı	Gandal ve ark., 2010
Sprague Dawley Sıçan	400 mg/kg <i>i.p.</i> , Tek doz	E12	↓ Sosyalleşme, ↓ ÖUAI	Kim ve ark. 2011
ICR (CD-1) Fare	500 mg/kg <i>i.p.</i> , Tek doz	E12.5	↓ Sosyal etkileşim, ↓ Lokomotor aktivite, ↓ Keşif davranışı, ↑ Anksiyete	Kataoka ve ark., 2013

İnsanlarda gebelik sırasında maruz kalınan VPA etkileri, prenatal dönemde VPA maruziyetiyle kemirgenlerde çalışılabilmektedir. VPA'in prenatal dönemde uygulanması histon deasetilaz mekanizmasının inhibisyonu, E/I dengenin bozulması ve hiperserotoninemi ile otizmin insanlardaki etiyolojisine benzer şekilde etkiler göstererek ve modelin yapısal kriterini güçlendirmektedir. VPA ile indüklenmiş otizm benzeri semptomatik modellerde, insanlarda görülen ana semptomlardan olan sosyal etkileşimden kaçınma, iletişim becerilerinde bozukluk ve tekrarlayan davranışlar ve fiziksel malformasyonlar gözlemlenebilmesiyle model semptomatik kriterleri de sağlamaktadır. Öngörülen kriterler için ise VPA ile indüklenmiş otizm benzeri semptomatik modellerde donepezil gibi ilaçların veya çevresel zenginleştirmenin etkileri klinik çalışmalar için umut vaat etmektedir (Mabunga ve ark., 2015).

2.3. Empati

Empati kelimesi etimolojik olarak Eski Yunancadaki “*empathia*” kelimesinden gelmektedir (Arkonaç, 1999). Tarihte ilk kez Aristo tarafından *Rhetoric* adlı eserinde tanımlanmıştır (Sharma, 1992). Empati en genel tanımıyla; bir kişinin kendisini bir başkasının yerine koyabilmesi ve bu yolla onun duygu, düşünce, tutumları ve yaşantısını anlayabilmesidir (Basch, 1983).

İnsanın yaşama mücadelesinde başarılı olması karmaşık sosyal durumlarla nasıl başa çıktığı ile ilgilidir. Başkalarının duygu durumunu algılama ve anlama yeteneği, sosyal bağlarımızı oluşturmada ve geliştirmede kritik bir role sahiptir. İnsanlarda böyle bir empati benzeri süreç gözlenirken diğer türlerde de benzer bir süreç olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Church, 1959; Rizzolatti ve Craighero, 2005).

Başkalarının hissettiklerini hissetme durumunun, bilinci ve beyni olmayan canlılar üzerinde bile olabileceğini gösteren ve bitkiler üzerinde yapılan çalışmalar da mevcuttur (Backster, 1968).

Rizzolatti ve ark. 1996 yılında makak maymunlarında yaptıkları elektrofizyolojik çalışmada motor ve duysal bilgiyi yorumlayan frontal 5 bölgesinin aktivitesinin kayıtlanmasını gerçekleştirmiştir. İnsanlarda Broca bölgesine tekabül eden bu bölgenin, maymun bir objeyi kavradığında aktive olduğunu göstermişlerdir. Kayıt altına alınan maymundaki bu aktivasyon, başka bir maymunun objeyi kavraması gözlemlendiğinde de gerçekleşmiş ve bu bölgedeki nöronlar ayna nöron olarak adlandırılmaya başlanmıştır. Sonuç olarak ayna nöron mekanizmasının, dil gelişimi, taklit ve başkasının hareketini veya duygu durumunu anlayabilmeyi sağlayan ve empati benzeri davranışları oluşturan süreçlerde rolü olduğu düşünülmektedir.

Kemirgenlerde de empati benzeri davranışın ölçümlenebilmesi için çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Church (1959) geliştirdiği gözleme dayalı düzeneğinde bir yiyecek ödülüyle kola basma davranışı öğretilen sıçanlar kullanılmıştır. Öğrenme fazı sonrasında kola her basıldığında yan kabinde bulunan sıçana elektriksel uyarı

verilmiş ve kola basma davranışındaki değişiklikler gözlenmiştir. Daha önceden elektriksel uyarana maruz kalmış sıçanların, yan kabinde bulunan sıçana elektriksel uyarı verildiğinde kola basma davranışında azalma gösterdiğini bildirmişlerdir. Başka bir grup ise iki bölmeden oluşan kabinde bölmelerden birine su doldurmuş ve herhangi bir platform olmadan sıçanın yüzmesi sağlanmıştır. Su bulunmayan diğer bölmede ise serbest sıçan bulunmaktadır ve bu sıçanın su dolu bölme kapısını açma davranışı değerlendirilmiştir. Sonuç olarak serbest sıçanların bölme kapısını açarak stres altında olan akranlarını kurtardıkları bildirilmektedir (Sato ve ark., 2015). Somut bir ödül olmayan bu çalışmaların yanısıra Bartal ve ark. (2011) üç bölmeli bir deney düzeneğinde bölmelere sırasıyla kısıtlanmış kabinde bulunan sıçan, serbest sıçan ve çikolata yerleştirmiş ve serbest sıçanın davranışını kayıt altına almıştır. Serbest sıçanın çikolataların hepsini bitirmemesi ve kısıtlanmış sıçanı kurtararak ona da bırakması empati benzeri davranışın sosyal çevredeki önemini göstermektedir. Kola basma ya da kapı açma davranışı gibi bilişsel fonksiyonlardan bağımsız olarak yapılan bir başka çalışma ağırlı bir uyarın alan fareyi gözlemleyen farelerde artmış ağırlı algısını göstermektedir. Böylelikle olumsuz bir durumun sosyal olarak yayılabildiği sonucuna varılmıştır (Langford ve ark., 2006).

İnsanlarda görülen empati 2006 yılında dört fonksiyonel gruba ayrılmıştır ve OSB, Kognitif Empati Eksikliği Bozukluğu altında değerlendirilmiştir (Smith, 2006). Belirli gruplar altında değerlendirme kolaylaştırıcı gibi görünse de bu sosyal ve bilişsel durum karmaşıklığını tam olarak yansıtmak mümkün değildir. Bu bağlamda deneysel modeller önemli yer tutmaktadır. Sosyal canlılar olan sıçanlarda ilk empati çalışması Church tarafından yapılmıştır (Church, 1959). İlerleyen yıllarda düzeneklerin gelişmesiyle birlikte empati benzeri süreçler aydınlatılmaya başlanmıştır. Günümüzde genetik ve çevresel koşullara bağlı olarak tetiklenen empati benzeri davranış bozukluklarının çalışılmasında kemirgen modelleri önemli yer tutmaktadır (Decety ve ark., 2016). Etiyolojisi net olmamakla birlikte örneğin farelerde 15q13 gen bölgesinde gerçekleştirilen çeşitli manipülasyonlar empati benzeri davranışlarda bozulmaya neden olmakta ve otizm benzeri model oluşturmak

için kullanılabilir (Nakatini ve ark., 2009). Empati bozukluklarını modellemek için anatomik yapılarda değişiklikler de kullanılabilir. Örneğin amigdala hacminin Williams Sendromunda arttığı (Martens ve ark., 2009), anti-sosyal kişilik bozukluğunda azaldığı (Tiihonen ve ark., 2017), OSB gibi bozukluklarda ise hücresel bağlantılarının ve hücre yoğunluğunun değiştiği bildirilmiştir (Baron- Cohen ve ark., 2000). Genetik veya lezyon gibi çevresel müdahalelerle amigdala yapısının etkilenmesi empati davranışını modellemede kullanılabilir.

Empati basamakları emosyonel yayılım ve taklit, şefkat ve sempati, prososyal davranış, perspektif alma ve son olarak empatiden oluşur. İnsanlarda bu basamakların hepsi görülebilirken, çalışılan deneysel modelde basamakların hepsi görülemeyebiliyor belirli bir seviyede kalınabilir (Sivaselvachandran ve ark., 2018). Bu nedenle deney planı ve model organizma özenle seçilmeli ve terminoloji dikkatli kullanılmalıdır. Empati benzeri davranışların modellenmesinde daha faydalı sonuçlar alınabilmesi için tür içi ve cinsiyete bağlı farklılıklar da dikkate alınmalıdır. Örneğin BALB/cJ fare soyu daha düşük sosyal motivasyon gösterirken C57BL/6J soyu daha sosyal olarak bildirilmektedir (Chen ve ark., 2009). Aynı şekilde dişilerde östrus döngüsüne bağlı olarak hormon seviyelerinin oluşturabileceği farklılıkların önüne geçmek amacıyla erkek organizma kullanımı empati benzeri davranış dışı etkenlerden arındırılmış bir şekilde gözlemek adına daha faydalı olabilir. Empati birçok bileşeni olan karmaşık ve gizemli aynı zamanda tür için faydalı bir davranıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvanlar ve Laboratuvar

Çalışmamızda Wistar Albino sıçanlar kullanıldı. Yavru sıçan elde edebilmek için yetişkin (4 aylık) 8 dişi ve 8 erkek sıçan çiftleştirildi. Kontrol grubunda 23, deney grubunda 26 olmak üzere toplamda 49 yavru sıçan ile deney yapıldı. Sıçanlar su ve yem alımları serbest bırakılarak tutuldu.

Çalışmalar İstanbul, Üsküdar Üniversitesi, Nöropsikofarmakoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (NPFUAM) yürütüldü ve tamamlandı. Deneylerin gerçekleştirildiği NPFUAM Laboratuvarları, 12 saat aydınlık-12 saat karanlık periyodunun sağlandığı (07:00-19:00, aydınlık), sıcaklığın $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$, bağıl nemin ise $\%60 \pm 5$ 'te sabit tutulduğu, dış etkenlere karşı izole laboratuvarlardır.

Yapılan tüm uygulamalar Helsinki Bildirgesi ve Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü'nün 1996 yılında yayınlanmış olan etik kurallar çerçevesinde ve Üsküdar Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Etik Kurulundan onay alınarak gerçekleştirilmiştir (2018-01).

3.1.1. Çiftleştirme ve Gebelik Takibi

Vajinal smear yöntemiyle östrus takibi yapılan yetişkin dişi sıçanlardan östrusta olduğu tespit edilen 8 dişi sıçan çiftleştirilmek üzere 1 dişiye 1 erkek oranıyla 24 saat aynı kafese bırakıldı. 24 saatin sonunda dişilerin vajinal smear örnekleri alındı ve plak oluşumları gözlemlendi. Sonuçlara göre örneklerinde spermatozoa görülen dişiler gebeliklerinin 0.5'inci gününde (E0.5) kabul edildi. Ayrıca çiftleştirilen dişilerin gebelikleri veteriner hekim kontrolünde gerçekleştirilen ağırlık artışı ile teyit edildi. Gebe olmadığı belirlenen 3 dişi sıçan deney dışı bırakıldı.

3.1.2. Valproik Asit Enjeksiyonu

Gebe olduğu belirlenen 5 sıçan rastgele kontrol ve VPA grubu olarak ayrıldı. Literatüre ve laboratuvarın daha önceki deneyimlerine göre semptomatik otizm modeli oluşturmak için E12.5'te olan 3 gebe sıçan, 400mg/kg/ml olacak şekilde tek doz *i.p.* sodyum valproat (Depakin, liyofilize toz solusyon, Sanofi, Aventis) enjeksiyonuna maruz bırakıldı (Kim ve ark., 2011). Kontrol grubu olarak belirlenen 2 sıçana ise yine aynı gün, aynı volümde tek doz *i.p.* serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı. Sıçanlar enjeksiyon sonrası takip edilerek sersemlik, uyku hali, burun ucunda duruş (klasik ağrı davranışı), derin ve hızlı soluk alıp-verme, gözlerde kısılma gibi olası yan etkiler gözlemlendi. Tekli kafeslere alınan sıçanlar doğuma kadar gözlem altında tutuldu.

3.1.3. Doğum ve Yavruların Takibi

Dişi sıçanlar E22'de doğum yaptı ve o gün yavru sıçanlar için postnatal gün 0 (P0) olarak kabul edildi. Anne sıçanların strese girmemesi ve yavruların etkilenmemesi için yavrular P20'ye kadar yalnızca gözlemlendi. P20'de annelerinden ayrılan yavrular dişi ve erkek olarak ayrılarak kardeşleriyle kafeslere yerleştirildi. Yavruların anneleri, hangi gruba ait oldukları ve cinsiyete göre sayıları Tablo 4'deki gibidir.

Tablo 4: Çalışmada kullanılan hayvanlar, grupları ve doğurdıkları yavru sayıları.

Anne	Grup	Yavrular	
		Dişi	Erkek
1	Kontrol	7	4
2	Kontrol	9	3
3	VPA	1	6
4	VPA	6	6
5	VPA	2	5

3.2. Davranış Deneyleri

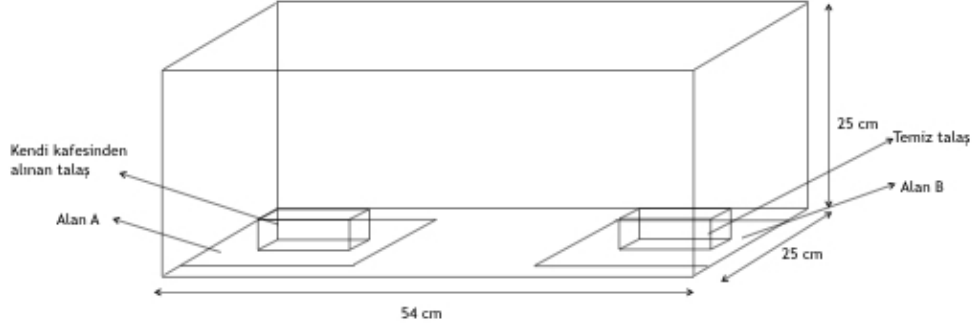
Deneş akış Őeması Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil1: Deneş Akış Őeması

3.2.1. Olfaktör Diskriminasyon Testi

P20’de annelerinden ayrıлып aynı cinsiyetli kardeşleriyle farklı kafeslere konan yavrulara P22’de olfaktör diskriminasyon testi uygulandı. Test düzeneği büyük bir plastik hazne ve iki küçük plastik kaptan oluşmaktadır. Hazne hayvanların takibi için alanlara ayrılmıştır (Şekil 2).



Şekil 2: Olfaktör diskriminasyon testinde kullanılan düzenek. Aşama 1’de Alan A’daki hazneye anne talaşı konulurken, Aşama 2’de ev talaşı konmuştur.

Test birbirini takip eden iki aşamadan oluşmaktadır. Aşama 1’de iki küçük kaptan biri yavruların anneleriyle yaşamış oldukları kafeste bulunan talaş ile doldurulmuştur (Anne). Diğer küçük kap ise, daha önce kullanılmamış temiz talaş ile doldurulmuştur (Temiz). Aşama 2’de kullanılan küçük kaplardan biri yavruların anneden ayrıldıktan sonraki iki gün boyunca vakit geçirdikleri kafesin talaşıyla (Ev), diğer küçük kap ise hiçbir kokunun bulunmadığı temiz talaş (Temiz) ile doldurulmuştur. Aşamaların sırası ve temiz talaşın hazne içinde bulunduğu alan her sıçan için randomize olarak değiştirilmiştir. Kaplar ve hazne her test sonrası koku izi kalmaması için alkolle temizlenmiştir. Sıçanlar test aşaması öncesi herhangi bir alıştırma işlemine maruz bırakılmamıştır. Test aşamasında, haznenin orta kısmına bırakılan sıçan 5 dakika boyunca kamera (Nikon D5100) ile kayıt altına alınmış, ve sıçanın aktivitesi gözlemlenmiştir. Aşama 1 verileri “Genel Olfaktör Diskriminasyon İndeksi Anne” (GODİ-A) ve “İlgili Olfaktör Diskriminasyon İndeksi- Anne” (İODİ-A) skorlarına göre değerlendirilmiştir. Aşama 2 verileri “Genel Olfaktör Diskriminasyon İndeksi- Ev” (GODİ-E) ve “İlgili Olfaktör Diskriminasyon İndeksi-

Ev” (İODİ-E) skorlarına göre değerlendirilmiştir. İndekslerin formülizasyonları aşağıdaki gibidir. Aynı zamanda iki aşamada da talaşlara ulaşma latansı ölçülmüştür.

$$\text{GODİ-A} = (t_a - t_{ai}) / (t_a + t_{t1} - t_{ai} - t_{ti1})$$

$$\text{İODİ-A} = t_{ia} / (t_{ia} + t_{it1})$$

t_a: Anne talaşının olduğu alanda geçirilen süre (s)

t_{t1}: Temiz talaşın olduğu alanda Aşama 1’de geçirilen süre (s)

t_{ai}: Anne talaşının olduğu alanda immobilize geçirilen süre (s)

t_{ti1}: Temiz talaşın olduğu alanda Aşama- 1’de immobilize geçirilen süre (s)

t_{ia}: Anne talaşıyla ilgili olduğu süre (s)

t_{it1}: Temiz talaşla Aşama- 1’de ilgili olduğu süre (s)

$$\text{GODİ-E} = (t_e - t_{ei}) / (t_e + t_{t2} - t_{ei} - t_{ti2})$$

$$\text{İODİ-E} = t_{ie} / (t_{ie} + t_{it2})$$

t_e: Ev talaşının olduğu alanda geçirilen süre (s)

t_{t2}: Temiz talaşın olduğu alanda Aşama- 2’de geçirilen süre (s)

t_{ei}: Ev talaşının olduğu alanda immobilize geçirilen süre (s)

t_{ti2}: Temiz talaşın olduğu alanda Aşama- 2’de immobilize geçirilen süre (s)

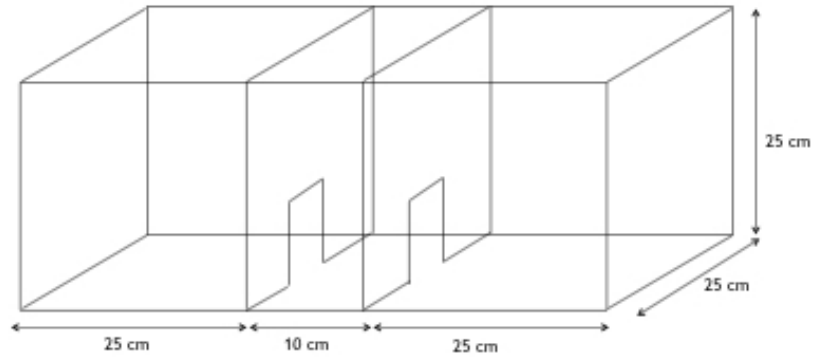
t_{ie}: Ev talaşıyla ilgili olduğu süre (s)

t_{it2}: Temiz talaşla Aşama- 2’de ilgili olduğu süre (s)

3.2.2. Sosyal Performans Testleri

Sosyal performans testleri aynı cinsiyette olan, kısıtlanmış ve serbest sıçanlar ile yapılmıştır. Kısıtlanmış sıçanlar deney öncesi 3 dakika boyunca kısıtlayıcı kabine, serbest sıçanlar ise deney öncesi 3 dakika boyunca boş bölmelere alıştırılmışlardır. Bu sayede sıçanlarda oluşabilecek yabancı alan stresi azaltılarak sosyal etkileşimin artırılması amaçlanmıştır.

Üç hazneli sosyal performans düzeneği P25'deki sıçanlarda sosyal etkileşimi test etmek için kullanılmıştır (Şekil 3). Düzenek birbirleri arasında geçişe müsade eden üç bölmeye ayrılmış üstü açık pleksi cam haznedan ve pleksi cam kısıtlayıcı kabinlerden oluşmaktadır. Haznenin orta bölümüne hiçbir testte kısıtlayıcı konulmamıştır, bu bölme test başlangıcında sıçanın konduğu bölmedir. Birbiriyle eşit boyutta olan sağ ve sol bölmelere orta bölmede yer alan açıklıklardan ulaşılabilir, serbest sıçan rahatlıkla bölmeler arasında geçiş yapabilmektedir. Sıçanların boyutlarına göre ayarlanabilen kısıtlayıcılar, boyutça daha büyük olan sağ ve sol bölmelere yerleştirilmiştir. Tüm bölmeler ve kısıtlayıcılar koku işareti kalmaması için her test öncesinde alkol ile temizlenmiştir.



Şekil 3: Sosyal performans testlerinde kullanılan düzenek

İki aşamada yapılan sosyal performans testinin ilk aşaması olan sosyal tanımayı takiben 3 dakika sonra yapılan ikinci aşaması ise sosyal tercihtir. Testlerde kullanılan 'Tanıdık' terimi serbest sıçan ile aynı kafeste yaşayan kardeş sıçanı temsil ederken, 'Yabancı' terimi ise serbest sıçandan farklı bir kafesten alınan sıçanı temsil etmektedir.

3.2.2.1. Sosyal Tanıma

Kısıtlayıcı kabindeki yabancı sıçan rastgele olarak büyük bölmelerden birine yerleştirilmiş ve diğer bölme boş bırakılmıştır (Şekil 4). Serbest sıçanın orta bölmeye bırakılmasıyla başlayan testte sıçanın aktivitesi 5 dakika boyunca kayıt altına alınmıştır. Test sonrası serbest sıçan düzenekten uzaklaştırılmış ve sosyal tercih testi öncesi 3 dakika temiz bir kafeste bekletilmiştir. Tüm bölmeler bir sonraki testten önce alkolle temizlenmiştir.

Kayıt altına alınan görüntülerin analizleri "Genel Sosyal Tanıma İndeksi" (GSTİ) ve "İlgili Sosyal Tanıma İndeksi" (İSTİ) skorunun hesaplanmasında kullanılmıştır.

$$GSTİ = (t_k - t_i) / t$$

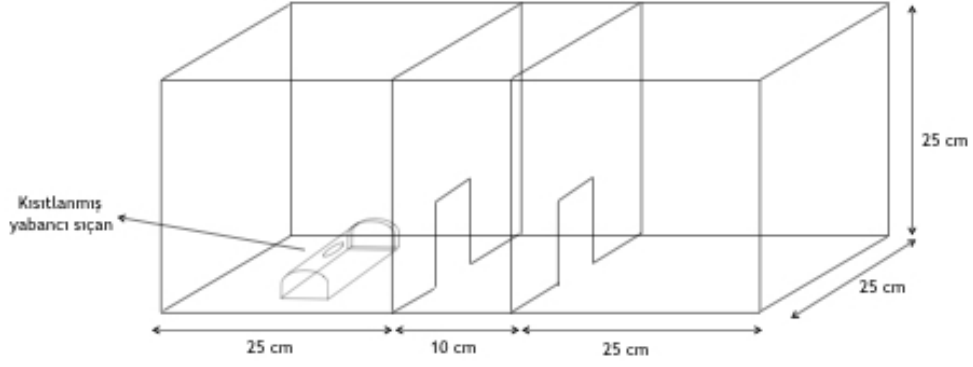
$$İSTİ = t_s / t$$

t: Toplam deney süresi (s)

t_k: Toplam keşifte geçirilen süre (gezindiği süre) (s)

t_i: İmmobilize geçirilen süre (s)

t_s: Sosyalleştiği süre (s)



Şekil 4: Sosyal tanıma testinde kullanılan düzenek.

3.2.2.2. Sosyal Tercih

Sosyal tanıma testinde kullanılan kısıtlanmış yabancı sıçan, sosyal tercih testi için boş olan diğer büyük bölmeye taşınmıştır. Tanıdık sıçan ise yabancı sıçanın olmadığı diğer büyük bölmeye yerleştirilmiştir (Şekil 5). Orta bölmeye bırakılan serbest sıçanın aktivitesi 5 dakika boyunca kayıt altına alınmıştır. Tüm bölmeler ve kısıtlayıcılar bir sonraki sosyal performans testi için alkolle temizlenmiştir. Kayıt altına alınan görüntülerin analizleri “Toplam Tanıdık Tercih” (TTT) ve “Toplam Yabancı Tercih” (TYT) skorunun hesaplanmasında kullanılmıştır.

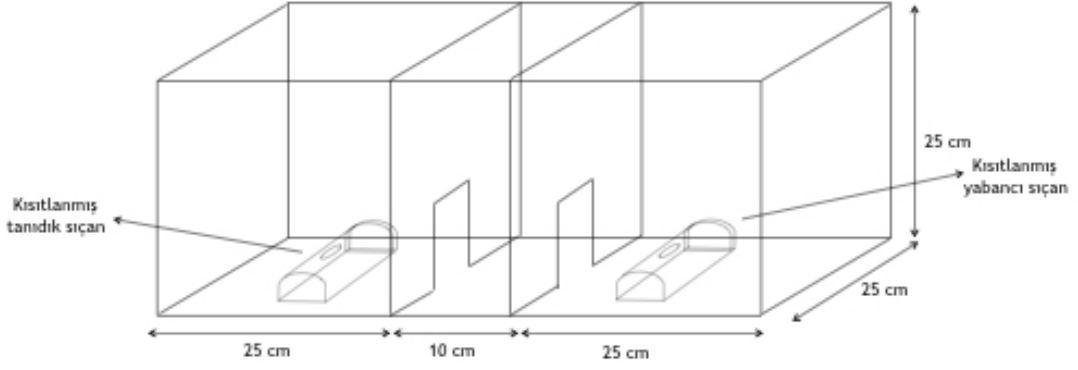
$$TTT = t_f / t^* \cdot 100$$

$$TYT = t_y / t^* \cdot 100$$

t: Toplam deney süresi (s)

t_f: Kardeşinin olduğu alanda toplam hareketli geçirdiği süre (s)

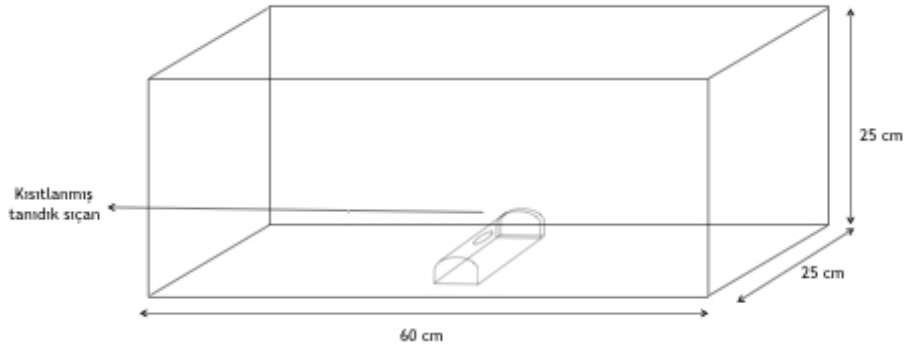
t_y: Yabancı sıçanın olduğu alanda toplam hareketli geçirdiği süre (s)



Şekil 5: Sosyal tercih testinde kullanılan düzenek.

3.2.3. Empati Benzeri Sosyal Davranış Testi

P30 ve P60'da yapılan empati benzeri sosyal davranış deneyi, üstü açık pleksi camdan bir hazne ve hayvanların büyüklüklerine göre ayarlanabilen kısıtlayıcı kabinlerden oluşan bir düzenede yapılmıştır (Şekil 6). Düzeneğin orta kısmına kısıtlanmış sıçan yerleştirilmiş, serbest sıçan ise herhangi bir noktasına bırakılmıştır. Testler aynı cinsiyetten ve aynı kafesten alınan kardeş hayvanlarla yapılmıştır. Deney düzeneği her alıştırma fazı ve test sonrası alkolle temizlenmiştir.



Şekil 6: Empati benzeri davranış testinde kullanılan düzenek.

Test fazı öncesi hayvanlar ortama alıştırmıştır. Serbest sıçan test öncesi 3 dakika süreyle kısıtlayıcı kabinde bekletilerek sıçanın kısıtlanmış sıçana empati duyabilmesi amaçlanmıştır, ardından hazneye 3 dakika süreyle serbest olarak bırakılmış ve ortam stresi engellenmiştir. Bu sırada kısıtlayıcı kabine yerleştirilen sıçan da test öncesi 3 dakika düzenek dışında bekletilmiştir. Deney öncesi hiçbir hayvan kısıtlayıcı kabinin açılması için öğrenme fazına tabii tutulmamıştır. Alıştırma fazı sonrası serbest sıçan haznedeki çıkarılmış, alan alkolle temizlenmiş ve kısıtlanmış sıçan haznenin ortasına yerleştirilmiştir. Serbest sıçanın hazneye yerleştirilmesiyle 10 dakikalık deney süresi başlatılmıştır. Bu süre boyunca sıçanların hareketleri kayıt altına alınmıştır. Testin hiçbir aşamasında sıçanlara herhangi bir ödül veya ceza verilmemiştir.

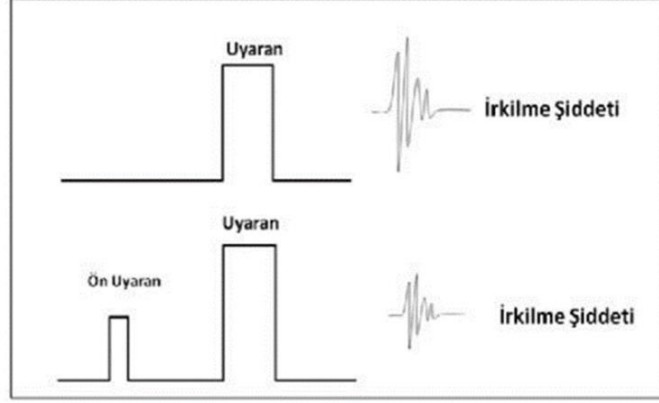
Serbest sıçanın daha önceden öğrenmediği ve bir ödül/ceza etkisiyle yapmadığı akut empati benzeri sosyal davranışın ölçülmesi amaçlanmıştır. Serbest sıçanın 10 dakikalık süre boyunca kısıtlayıcı kabin ve içindeki sıçana dokunarak, sıçanı koklayarak iletişim halinde olduğu toplam süre ve kabinin kapısıyla ilgilendiği toplam girişim sayısı hesaplanmış ve empati benzeri sosyal davranışı ayırt edebilmek için kullanılmıştır.

3.3. Fizyolojik Deneyler

3.3.1. Ön Uyarıcı Aracılı İnhibisyon ve İrkilme

Canlıların beklenmedik uyarılara karşı verdikleri irkilme tepkileri omurgalılarda evrimsel olarak korunmuş bir savunma tepkisidir ve iskelet kaslarında kasılma şeklinde kendini gösterir. Beklenmedik sesli uyarılara verilen irkilme yanıtı ise akustik irkilme olarak adlandırılır. Ön Uyarıcı Aracılı İnhibisyon (ÖUAI), asıl uyarıcı öncesi verilen daha düşük şiddetli bir uyarıcının, asıl uyarıcıya verilen irkilme şiddetinde neden olduğu inhibisyon (Şekil 7). Bir başka ifadeyle irkilmenin adaptasyon becerisidir. Sağlıklı deneklerde inhibisyon görülürken, duysal kapılama bozukluklarında asıl uyarıcıya verilen irkilme şiddetinde yeterli bir inhibisyon görülmediği bildirilmektedir. ÖUAI, canlıda irkilme refleksi oluşturmaya yeterli bir

uyaran verilmesinden belirli bir süre önce asıl uyarandan daha düşük kuvvette bir uyaran verilmesi sonrası görülen irkilme yanıtındaki azalmadır (Braff ve ark., 2001).



Şekil 7: Akustik irkilme refleksi ve bu refleks şiddetinin ön uyaran sonrası kısmi inhibisyonu (Oral ve Göktalay (2012)'den alınmıştır.)

ÖUAİ testinde kullanılan cihaz (SR-LAB, San Diego Instruments, San Diego, CA, ABD) bir bilgisayardan ve ses yalıtımlı bir kutu içine yerleştirilmiş hassas hoparlörler ve piyezoelektrik sensörler üzerinde bulunan özel bir kafesten oluşmaktadır (Şekil 8).



Şekil 8 : ÖUAİ testinde kullanılan düzenek (SR-LAB, San Diego Instruments'dan alınmıştır).

Ölçümler P35, P65 ve P95’de yapılmıştır. Ölçüm öncesi sıçanlar üç gün süreyle dokunularak (handling) çalışmayı yapacak kişilere alıştırmıştır. Dördüncü günde ise cihazda ölçüm yapılmadan 15 dakika tutularak sıçanların cihaza alışması sağlanmıştır. Bu alıştırmaya aşamaları hayvanın testin hemen öncesinde ve test sırasında strese girmemesini sağlamaya yöneliktir.

ÖUAİ protokolü (Öz ve ark., 2018):

- 1) 5 dakika alıştırma (çevre gürültüsü)
- 2) 5 adet 120 desibel (dB) şiddetinde sesli uyarı (40ms)
- 3) 10 kere rastgele aralıklarla (10-30 sn) tekrarlanan uyarı blokları- Her bir blok sırası denemeden denemeye gelişigüzel değişen beş farklı sesli uyarı içerir:

- 40 ms süreli- 120 dB şiddetinde sesli uyarı
- 20 ms süreli- bazal + 4 dB (örn. 70 dB bazal için 74 dB) şiddetinde bir ön uyarıdan 100 ms sonra 40 ms süreli 120 dB şiddetinde sesli uyarı
- 20 ms süreli- bazal + 8 dB (örn. 70 dB bazal için 78 dB) şiddetinde bir ön uyarıdan 100 ms sonra 40 ms süreli 120 dB şiddetinde sesli uyarı
- 20 ms süreli- bazal + 16 dB (örn. 70 dB bazal için 86 dB) şiddetinde bir ön uyarıdan 100 ms sonra 40 ms süreli 120 dB şiddetinde sesi uyarı
- Sadece arka-alan sesi (Bu aşama uyarının kafes içindeki hareketlerinden doğan yanıtlarının kontrol edilmesi içindir.

- 4) Son olarak ölçümün başında verilen 5 adet irkilme uyarısı (120dB) rastgele aralıklarla (10-30 sn) verilir ve irkilme yanıtı ÖUAİ yazılımı tarafından dönüştürülen birim ile değerlendirilir.

Protokol yaklaşık olarak 25 dakika sürmektedir. Denemelerin sonunda, üç farklı ön uyarı şiddetinin her biri için irkilme şiddetindeki yüzde azalma “ön uyarı şiddetine bağlı ÖUAİ” olarak adlandırılır ve aşağıdaki formülle hesaplanır:

$$\%ÖUAİ = (1 - p^{+}_{ort} / p^{-}_{ort}) * 100$$

p^{+}_{ort} = ön uyarı ile denemelerdeki irkilme şiddetinin ortalaması,

p^{-}_{ort} = ön uyarı olmadan denemelerdeki irkilme şiddetinin ortalaması.

3.3.2. Lokomotor Aktivite

P35 ve P65'daki sıçanlar ÖUAİ testi sonrası lokomotor aktivite açısından değerlendirilmiştir. Lokomotor aktivite ölçümleri her biri bağımsız havalandırma ve aydınlatma sistemine sahip ses yalıtımlı kabinlere yerleştirilmiş 40 X 40 X 40 cm ölçülerinde, siyah zeminli, şeffaf pleksiglas duvarlı kafeslerde yapılmıştır. Her bir kabinin tavanına kamera yerleştirilerek sıçanların hareketleri 30 dakika kaydedilmiştir. Sıçanların hareketleri videolu takip cihazı (Noldus, EthoVision v3.1, Hollanda) ile sayısal verilere dönüştürülerek analiz edilmiştir.

Testlerde kullanılan temel parametreler;

- Toplam yürüme mesafesi,
- Toplam yürüme süresi,
- Hareketlilik süresi,
- Hareketsizlik süresi,
- Yürüme hızıdır.

3.4. İstatistiksel Analiz

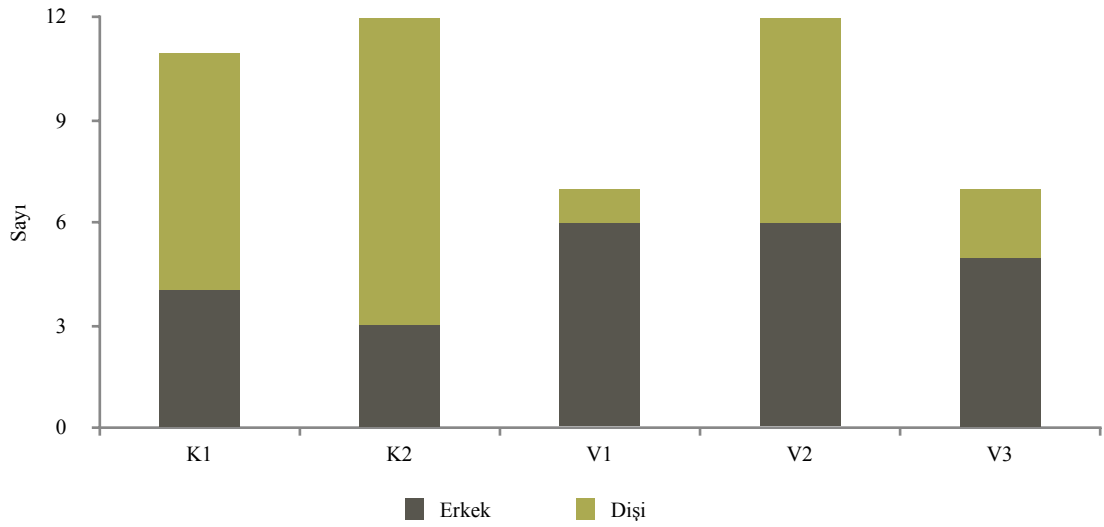
İstatistiksel analiz Sigma Plot programı 12.5 versiyonu kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar ortalama değerler ve görülme yüzdeleri olarak değerlendirilmiştir. Kategorik veriler dağılımlarına göre Pearson Ki Kare veya Fisher Kesin Ki Kare testi ile değerlendirilmiştir. İki grup arasındaki sürekli değişkenler dağılımlarına göre Student t testi veya Mann-Whitney U testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Birden fazla grubun değerlendirildiği durumlarda ise sonuçların normal dağılıma uygunluğu ve varyansların eşit olup olmama durumuna göre Tek yönlü ANOVA veya Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Bonferroni, Dunn metodu, Holm Sidak ve Tukey ile post hoc analizi yapılarak olası farkların hangi gruplardan kaynaklandığı gösterilmiştir. İki kez tekrarlayan ölçümlerin analizi, dağılımlarına göre eşleştirilmiş t testi veya Wilcoxon eşleştirilmiş testi ile yapılmıştır. İki den fazla tekrarlı ölçümlerin analizi için ise dağılımlarına göre Tekrarlı Ölçüm ANOVA ya da

Friedman Tekrarlı Ölçüm testi kullanılmıştır. Tüm testler için anlamlılık değeri $p<0,05$ olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Demografik Veriler

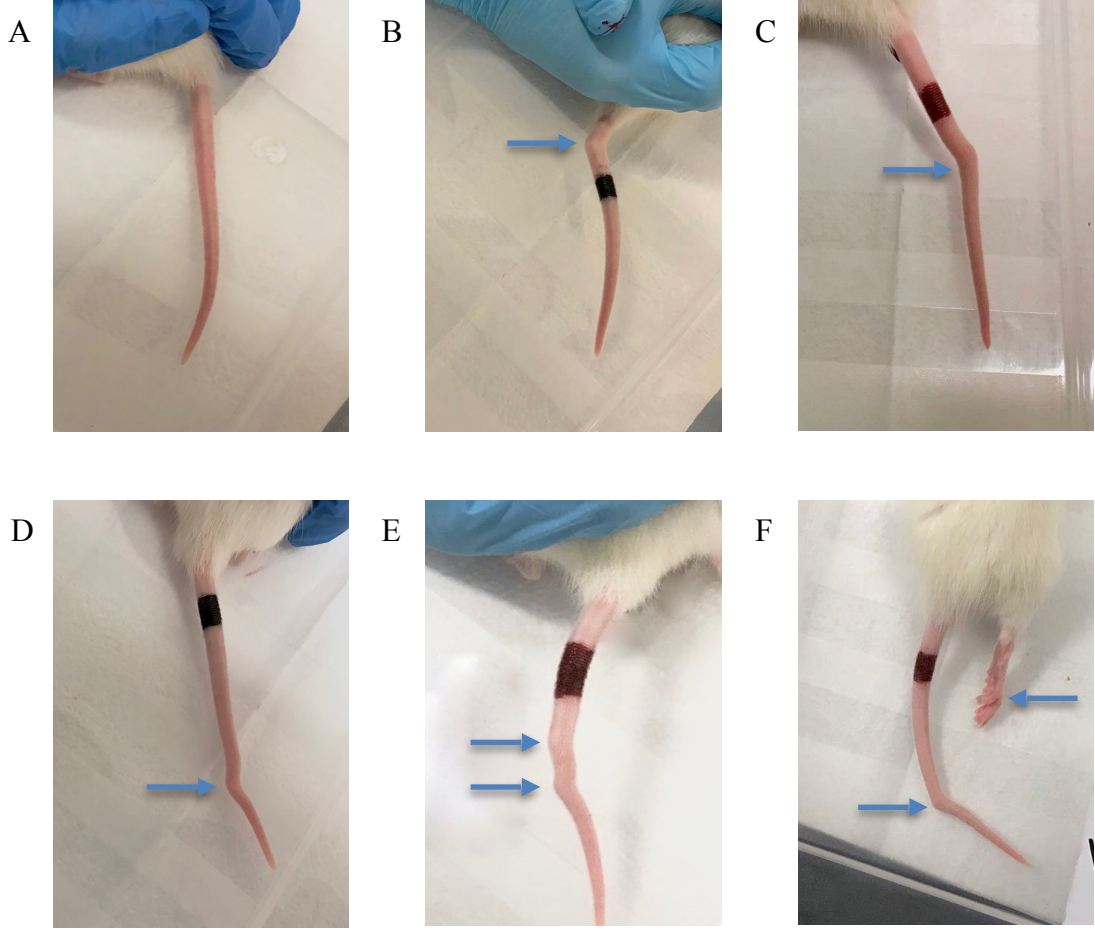
Toplam 5 annelle yaptığımız çalışmamızda doğan 49 yavrudan embriyonik dönemde VPA'ye maruz kalarak deney grubunu oluşturan 26 yavru, serum fizyolojiğe maruz kalarak kontrol grubunu oluşturan 23 yavru bulunmaktadır. Kontrol grubunda 7 erkek 16 dişi, deney grubunda ise 17 erkek 9 dişi bulunmaktadır (Şekil 9). Deney grubundan ve kontrol grubundan doğan yavru sayısı karşılaştırıldığında gruplar arası anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 9: Kullanılan anneler ve cinsiyetlerine göre yavru sayıları (K1; Kontrol 1. anne, K2; Kontrol 2. anne, V1; VPA'li 1. anne, V2; VPA'li 2. anne, V3; VPA'li 3. anne).

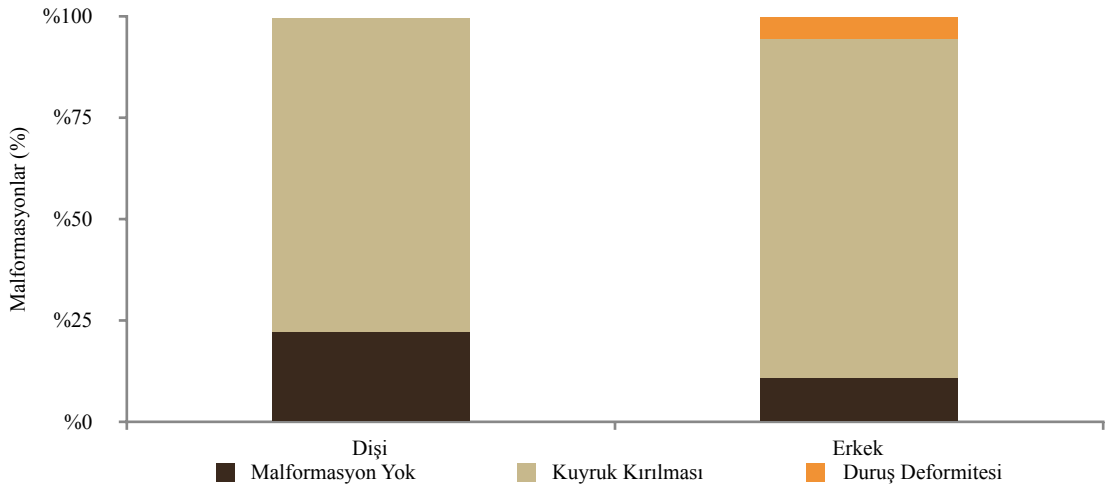
4.2. Gözleme Dayalı Malformasyonlar

VPA grubundaki 26 yavru sıçanın 22'sinde (%84,61) doğumsal iskelet malformasyonları gözlemlenmiştir, kontrol grubunda ise herhangi bir malformasyon görülmemiştir. Gözlenen malformasyonlar kuyruk kırılması ve arka ayak duruş deformitesiyle birlikte motor kuvvet kaybıdır (Şekil 10).



Şekil 10: Gözlemlenen kuyruk malformasyonları ve lokasyonları. A) Kuyruk malformasyonu görülmeyen kontrol grubu sıçan, B) Kuyruğun baş kısmında görülen kırılma, C) Kuyruğun orta kısmında görülen kırılma, D) Kuyruğun son kısmında görülen kırılma, E) Kuyruğun iki bölgesinde görülen kırılma, F) Kuyruğun sonunda görülen kırılma ve arka ayakta görülen duruş deformitesi.

Malformasyonlar cinsiyete göre incelendiğinde VPA'e maruz kalmış 17 erkekten 15'i (%88,23), 9 dişiden 7'si (%77,77) kuyruk kırılmasına, 17 erkekten 1'inde (%5,88) arka ayak duruş deformitesiyle birlikte motor kuvvet kaybı görülmüştür. Dişilerde ise arka ayak duruş deformitesi ve motor kuvvet kaybı görülmemiştir (Şekil 11).



Şekil 11: VPA grubu yavrularda görülen malformasyonların cinsiyete göre oranı.

4.3. Davranış Deneyleri

4.3.1. Olfaktör Diskriminasyon

P20'de süttten kesilen yavrular P22'de olfaktör diskriminasyon testine tabii tutulmuştur. Anne talaşının temiz talaşa oranla tercih edilme derecesini belirlemek için GODİ-A ve İODİ-A indeksleri, ev talaşının temiz talaşa oranla tercih edilme derecesini belirlemek için ise GODİ-E ve İODİ-E indeksleri kullanılmıştır. Değerler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir (Tablo 5).

Tablo 5: Olfaktör diskriminasyon skor ortalamaları± standart hata. (GODİ-A; Genel Olfaktör Diskriminasyon İndeksi- Anne, İODİ-A; İlgili Olfaktör Diskriminasyon İndeksi- Anne, GODİ-E; Genel Olfaktör Diskriminasyon İndeksi- Ev, İODİ-E; İlgili Olfaktör Diskriminasyon İndeksi- Ev)

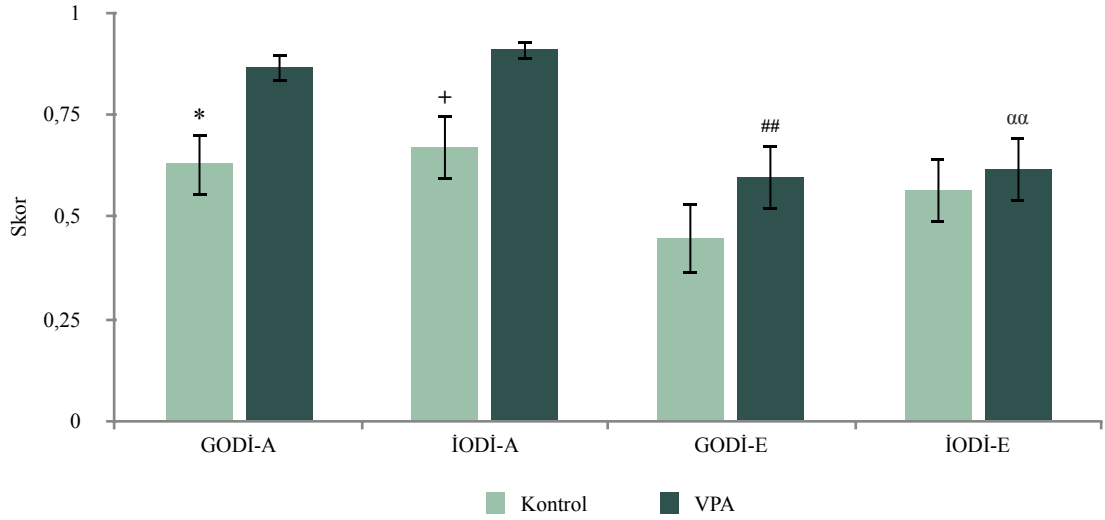
Skor	Kontrol			VPA		
	Genel	Dişi	Erkek	Genel	Dişi	Erkek
GODİ-A	0,63 ± 0,08	0,62 ± 0,10	0,65 ± 0,14	0,86 ± 0,03	0,83 ± 0,07	0,89 ± 0,03
GODİ-E	0,67 ± 0,08	0,65 ± 0,10	0,69 ± 0,14	0,91 ± 0,02	0,89 ± 0,05	0,92 ± 0,02
İODİ-A	0,45 ± 0,08	0,38 ± 0,10	0,59 ± 0,13	0,60 ± 0,08	0,56 ± 0,15	0,61 ± 0,09
İODİ-E	0,56 ± 0,08	0,50 ± 0,09	0,71 ± 0,14	0,61 ± 0,08	0,58 ± 0,15	0,63 ± 0,09

Kontrol ve VPA grupları için GODİ-A skor ortalaması GODİ-E skor ortalamasına göre daha fazladır. GODİ-A ve GODİ-E arasındaki bu fark VPA grubu için istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,01$) (Şekil 12). Değerler cinsiyetlere göre incelendiğinde yalnızca VPA erkek grubundaki GODİ-A skor ortalaması GODİ-E skor ortalamasına göre anlamlı bir şekilde yüksektir ($p < 0,05$) (Şekil 13).

Kontrol ve VPA grupları için İODİ-A skor ortalaması İODİ-E skor ortalamasına göre daha fazladır. İODİ-A ve İODİ-E arasındaki bu fark VPA grubu için istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,01$) (Şekil 12). Değerler cinsiyetlere göre incelendiğinde yalnızca VPA erkek grubunun İODİ-A skor ortalaması İODİ-E skor ortalamasına göre anlamlı bir şekilde yüksek olduğu görülmüştür ($p < 0,05$) (Şekil 13).

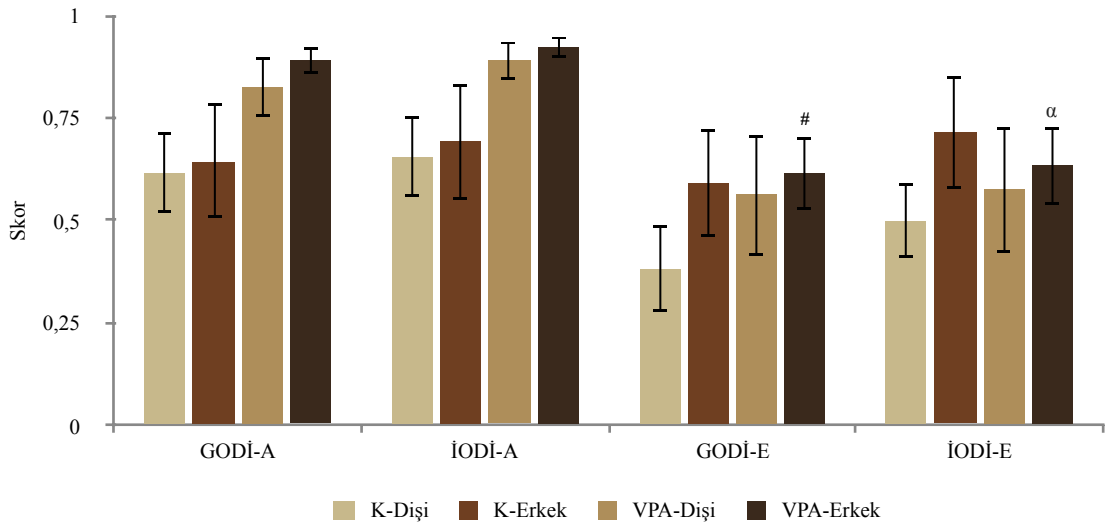
İndeksler kendi aralarında incelendiğinde GODİ-A ve İODİ-A skorları kontrol grubunda VPA grubuna göre istatistiksel olarak daha düşüktür ($p < 0,05$) (Şekil 12). Değerler cinsiyetlerine göre ayrıldığında GODİ-A ve İODİ-A skorları için kontrol dişi ve kontrol erkek, VPA dişi ve VPA erkek arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0,05$) (Şekil 13).

GODİ-E ve İODİ-E skorları kontrol grubu ve VPA grubu arasında bir farklılık göstermemiştir ($p > 0,05$) (Şekil 12). Değerler cinsiyetlere göre incelendiğinde GODİ-E ve İODİ-E skorları için kontrol dişi ve kontrol erkek, VPA dişi ve VPA erkek arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0,05$) (Şekil 13).



Şekil 12: Olfaktör diskriminasyon indekslerine göre grupların aldığı skorlar (ortalama değer ± standart hata; GODİ-A: Genel Olfaktör Diskriminasyon İndeksi- Anne, İODİ-A: İlgili Olfaktör Diskriminasyon İndeksi- Anne, GODİ-E: Genel Olfaktör Diskriminasyon İndeksi- Ev, İODİ-E: İlgili Olfaktör Diskriminasyon İndeksi- Ev).

* $p < 0,05$ GODİ-A, kontrol grubu VPA grubuna göre,
 + $p < 0,05$ İODİ-A, kontrol grubu VPA grubuna göre,
 ## $p < 0,01$ VPA grubu, GODİ-E GODİ-A'ya göre,
 αα $p < 0,01$ VPA grubu, İODİ-E İODİ-A'ya göre.



Şekil 13: Olfaktör diskriminasyon indekslerine göre cinsiyetlerin aldığı skorlar (ortalama değer ± standart hata; GODİ-A: Genel Olfaktör Diskriminasyon İndeksi- Anne, İODİ-A: İlgili Olfaktör Diskriminasyon İndeksi- Anne, GODİ-E: Genel Olfaktör Diskriminasyon İndeksi- Ev, İODİ-E: İlgili Olfaktör Diskriminasyon İndeksi- Ev).

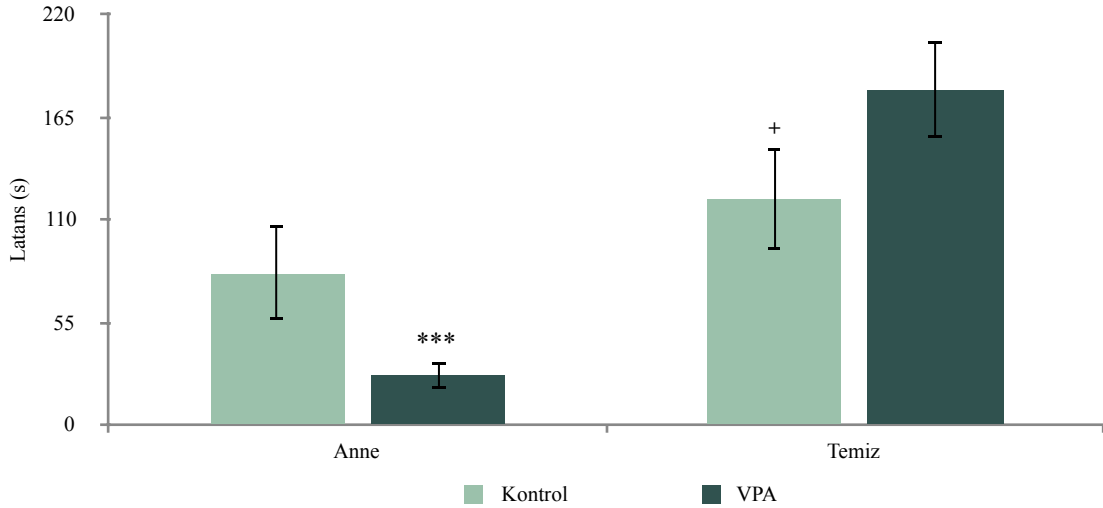
$p < 0,05$ VPA erkek grubu, GODİ-E GODİ-A'ya göre,
 α $p < 0,05$ VPA erkek grubu, İODİ-E İODİ-A'ya göre.

Olfaktör diskriminasyon testinde her aşama için talaşlara ulaşma latansı ölçülmüştür. Süreler Tablo 6'daki gibidir.

Tablo 6: Olfaktör diskriminasyon latans ortalamaları± standart hata.

Latans (s)	Kontrol			VPA		
	Genel	Dişi	Erkek	Genel	Dişi	Erkek
Anne Talaşı	81,3 ± 25,1	87,2 ± 31,7	67,7 ± 42,9	27,2 ± 7,0	37,2 ± 16,4	21,1 ± 6,0
Temiz Talaş-1	121,1 ± 26,9	111,8 ± 31,5	142,4 ± 54,3	180,2 ± 25,9	158,3 ± 50,6	193,6 ± 29,8
Ev Talaşı	78,0 ± 21,7	93,1 ± 28,6	43,4 ± 26,9	91,9 ± 23,4	116,1 ± 46,4	79,1 ± 26,7
Temiz Talaş-2	93,7 ± 23,4	87,1 ± 26,4	108,8 ± 50,7	139,0 ± 25,4	136,2 ± 44,9	140,5 ± 31,7

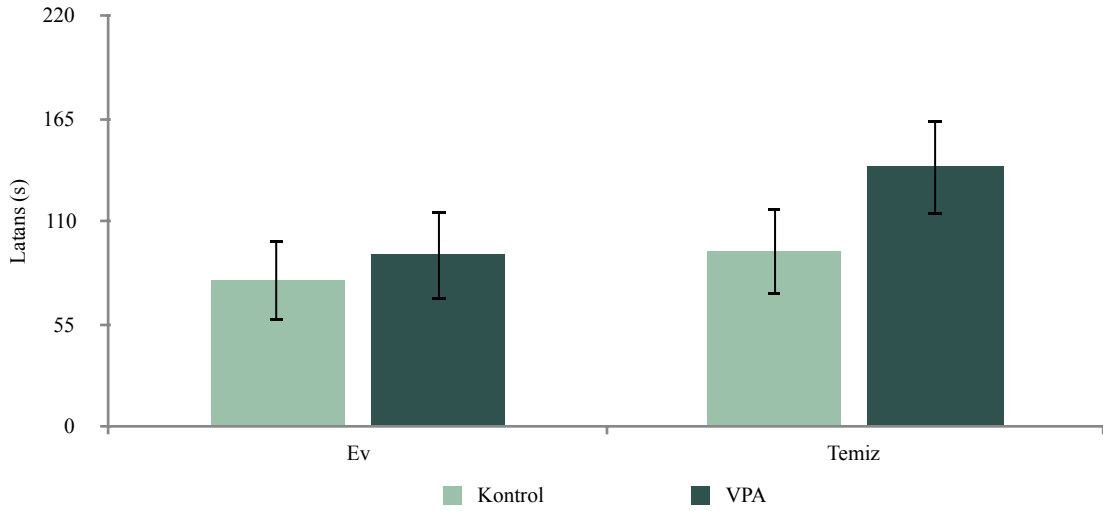
Aşama 1'de anne talaşına ulaşma süreleri için kontrol ve VPA grupları arasında anlamlı bir fark görülmezken, temiz talaşa ulaşma süreleri açısından kontrol grubu daha düşük süreye sahiptir ($p > 0,05$; $p < 0,05$) (Şekil 14). VPA grubunda temiz talaşa ulaşma süresi anne talaşına ulaşma süresine göre daha uzun olup bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,001$). Aşama 2'de ev talaşına ve temiz talaşa ulaşma süreleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (Şekil 15).



Şekil 14: Aşama-1 talaşlarına ulaşma latansının gruplar arasında değerlendirilmesi (ortalama değer ± standart hata).

*** $p < 0,001$ VPA, Anne talaşı temiz talaşa göre,

+ $p < 0,05$ Temiz Talaş, kontrol grubu VPA grubuna göre.



Şekil 15: Aşama-2 talaşlarına ulaşma latansının gruplar arasında değerlendirilmesi (ortalama değer \pm standart hata).

4.3.2. Sosyal Performans

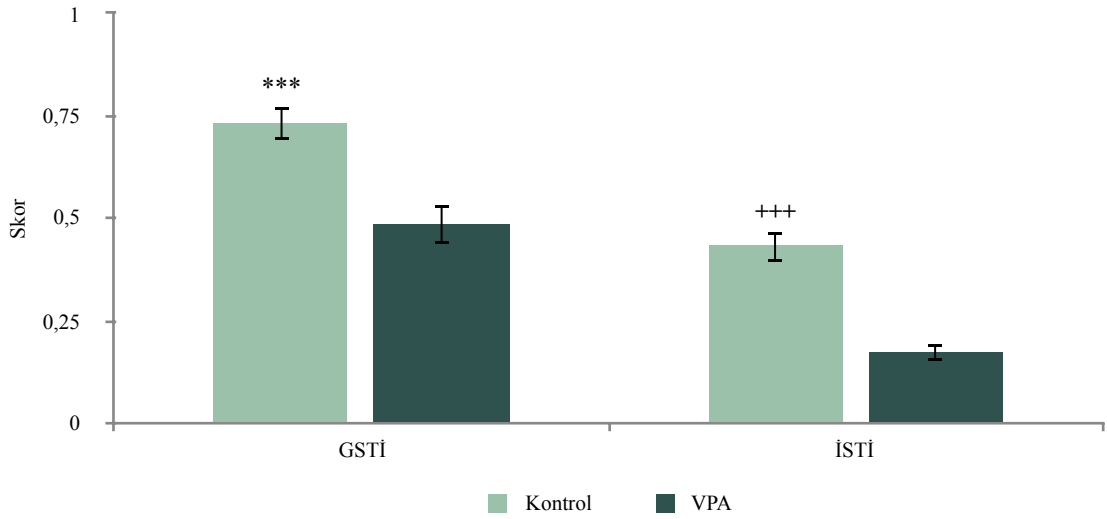
Sosyal tanıma ve sosyal tercih olarak iki aşamada incelediğimiz sosyal performans GSTİ, İSTİ, TTT ve TYT indekslerince skorlanmıştır. Değerler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir (Tablo 7).

Tablo 7: Sosyal performans skorları ortalaması \pm standart hata (GSTİ; Genel Sosyal Tanıma İndeksi, İSTİ; İlgili Sosyal Tanıma İndeksi, TTT; Toplam Tanıdık Tercih, TYT; Toplam Yabancı Tercih).

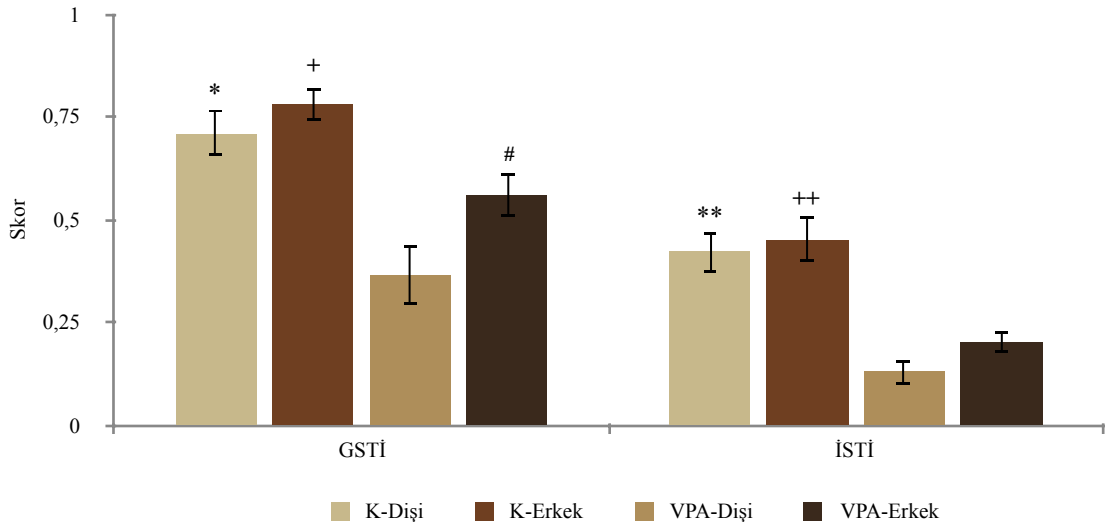
Skor	Kontrol			VPA		
	K- Genel	K- Dişi	K- Erkek	VPA- Genel	VPA- Dişi	VPA-Erkek
GSTİ	0,73 \pm 0,04	0,71 \pm 0,05	0,78 \pm 0,04	0,48 \pm 0,05	0,36 \pm 0,07	0,56 \pm 0,05
İSTİ	0,43 \pm 0,04	0,42 \pm 0,05	0,45 \pm 0,05	0,17 \pm 0,02	0,13 \pm 0,03	0,20 \pm 0,02
TTT (%)	23,71 \pm 3,77	27,03 \pm 5,42	17,54 \pm 2,05	9,40 \pm 1,75	7,33 \pm 3,07	10,49 \pm 2,14
TYT (%)	19,94 \pm 2,71	17,99 \pm 3,12	23,56 \pm 5,32	8,83 \pm 1,86	7,27 \pm 2,47	9,66 \pm 2,56

GSTİ skoruna göre kontrol grubu sıçanlar yabancı sıçan etrafında VPA grubuna göre anlamlı olarak daha çok süre geçirmiştir ($p < 0,001$) (Şekil 16). Gruplar cinsiyetlerine göre incelendiğinde VPA grubu dişi sıçanlar VPA grubu erkeklere göre anlamlı olarak daha az süre geçirmiştir ($p < 0,05$). Kontrol grubunda ise benzer bir fark gözlemlenmemiştir. Kontrol grubu dişiler VPA grubu dişilere göre ve kontrol grubu erkekler VPA grubu erkeklere göre yabancı sıçan etrafında daha çok süre geçirmiştir ($p < 0,05$; $p < 0,01$) (Şekil 17).

İSTİ skoruna göre kontrol grubu sıçanlar VPA grubu sıçanlara göre yabancı sıçan ile iletişim halinde daha uzun süre geçirmiştir ($p<0,001$) (Şekil 16). Gruplar cinsiyetlerine göre incelendiğinde ise VPA grubu dişi ve erkekler arasında fark görülmezken, kontrol grubu dişi ve erkekler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür ($p<0,01$). Aynı cinsiyetteki farklı gruplar karşılaştırıldığında yalnızca kontrol grubu dişiler VPA grubu dişilere göre yabancı sıçan ile iletişim halinde geçirilen süre bakımından anlamlı olarak daha yüksek skora sahip olmuşlardır ($p<0,01$) (Şekil 17).



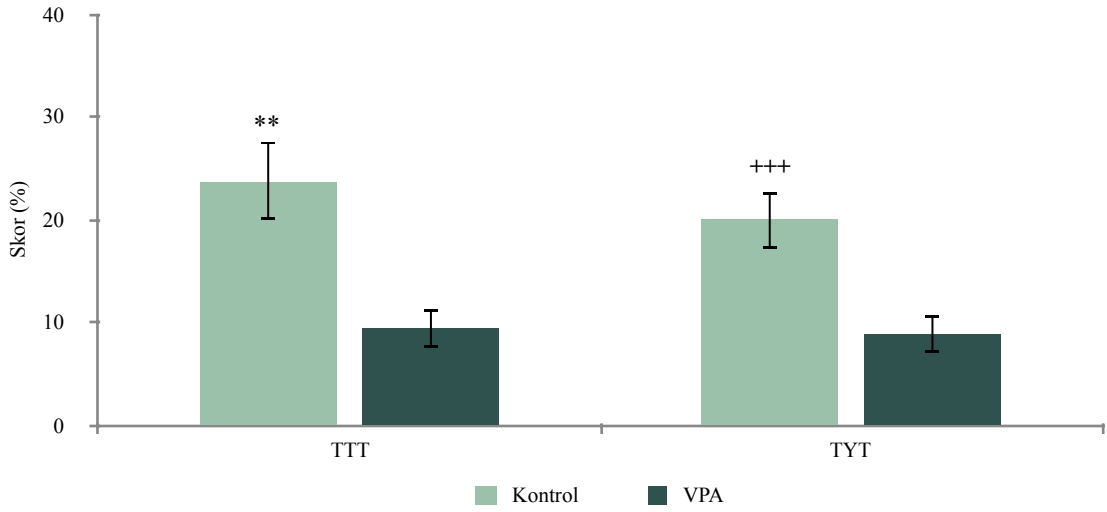
Şekil 16: Sosyal tanıma indeksine göre grupların aldığı skorlar (ortalama değer \pm standart hata; GSTİ: Genel Sosyal Tanıma İndeksi, İSTİ: İlgili Sosyal Tanıma İndeksi).
*** $p<0,001$ GSTİ, kontrol grubu VPA grubuna göre,
+++ $p<0,001$ İSTİ, kontrol grubu VPA grubuna göre.



Şekil 17: Sosyal tanıma indeksine göre cinsiyetlerin aldığı skorlar (ortalama değer ± standart hata; GSTİ: Genel Sosyal Tanıma İndeksi, İSTİ: İlgili Sosyal Tanıma İndeksi).
 * $p < 0,05$ GSTİ, kontrol grubu dişiler VPA grubu dişilere göre,
 + $p < 0,05$ GSTİ, kontrol grubu erkekler VPA grubu erkeklere göre,
 # $p < 0,05$ GSTİ, VPA grubu erkekler VPA grubu dişilere göre,
 ** $p < 0,01$ İSTİ, kontrol grubu dişiler VPA grubu dişilere göre,
 ++ $p < 0,01$ İSTİ, kontrol grubu erkekler VPA grubu erkeklere göre.

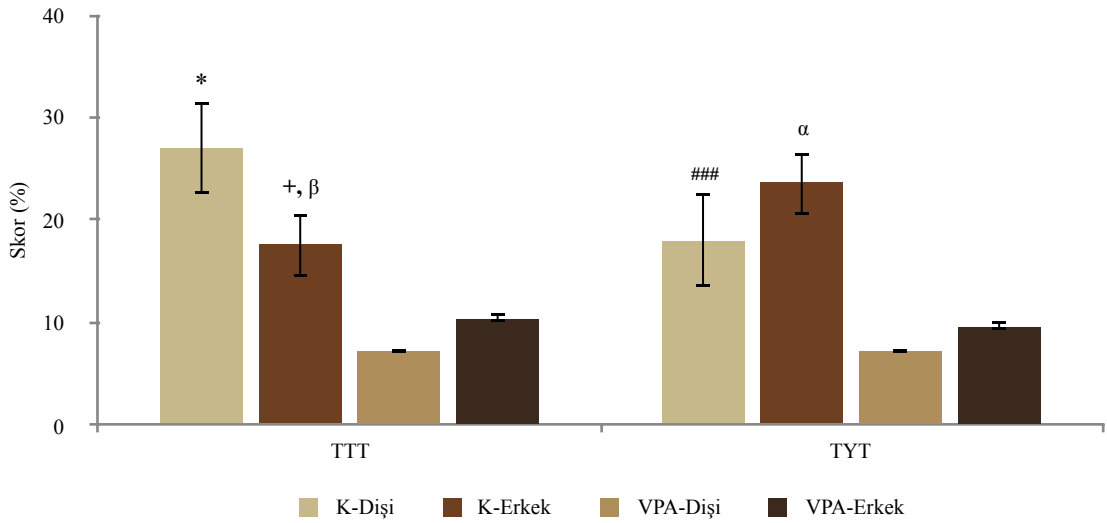
TTT skoruna göre kontrol grubu sıçanlar VPA grubu sıçanlara göre tanıdık sıçanı daha çok tercih etmişlerdir ve bu değer istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,01$) (Şekil 18). Gruplar cinsiyetlerine göre incelendiğinde her iki grup içinde cinsiyetler arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0,05$). Kontrol grubu dişiler VPA grubu dişilere, ve kontrol grubu erkek sıçanlar VPA grubu erkeklere göre daha yüksek TTT skoruna sahiptir ($p < 0,05$; $p < 0,05$) (Şekil 19).

TYT skoruna göre kontrol grubu sıçanlar VPA grubu sıçanlara göre yabancı sıçanı daha çok tercih etmişlerdir ve bu değer istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,001$) (Şekil 18). Gruplar cinsiyetlerine göre incelendiğinde kontrol grubu erkekler kontrol grubu dişilere göre daha yüksek TYT skoruna sahiptir ($p < 0,01$). Kontrol grubu dişiler VPA grubu dişilere ve kontrol grubu erkek sıçanlar VPA grubu erkeklere göre daha yüksek TYT skoruna sahiptir ($p < 0,001$; $p < 0,01$) (Şekil 19).



Şekil 18: Sosyal tercih indeksine göre grupların aldığı skorlar (ortalama değer ± standart hata; TTT: Toplam Tanıdık Tercih, TYT: Toplam Yabancı Tercih).

** p<0,01 TTT, kontrol grubu VPA grubuna göre,
+++ p<0,001 TYT kontrol grubu VPA grubuna göre.



Şekil 19: Sosyal tercih indeksine göre grupların aldığı skorlar (ortalama değer ± standart hata; TTT: Toplam Tanıdık Tercih, TYT: Toplam Yabancı Tercih).

* p<0,05 TTT, kontrol grubu dişiler VPA grubu dişilere göre,
+ p<0,05 TTT, kontrol grubu erkekler VPA erkeklerine göre,
p<0,001 TYT, kontrol grubu dişiler VPA grubu dişilere göre,
α p<0,05 TYT, kontrol grubu erkekler VPA grubu erkeklerine göre,
β p<0,05 Kontrol grubu erkekler, TTT TYT'e göre.

4.3.3. Empati Benzeri Sosyal Davranış

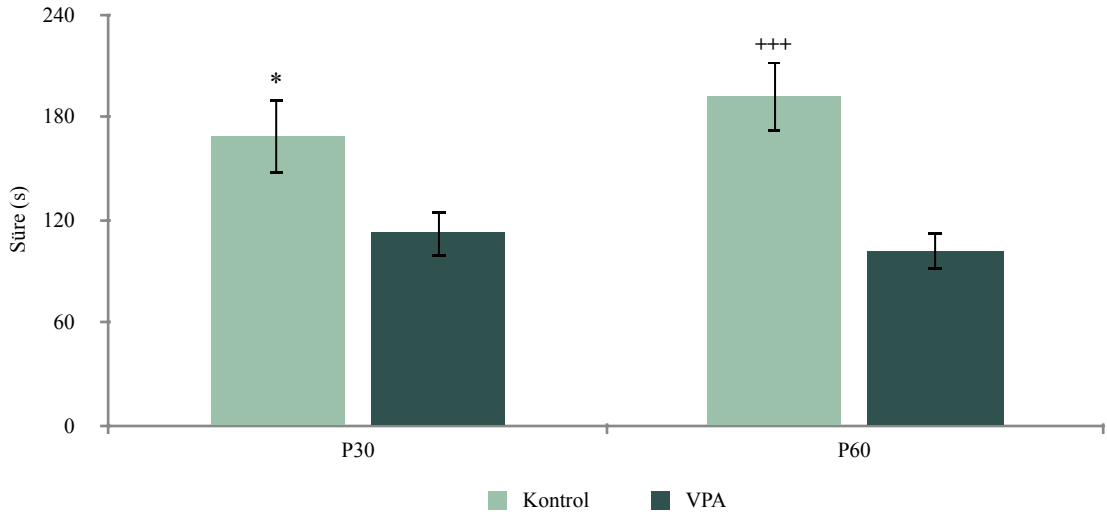
Daha önce eğitim aşamasından geçmemiş ve herhangi bir dış pekiştirici etkisinden bağımsız sıçanlarda empati benzeri sosyal davranış olarak kısıtlayıcı kabin içindeki sıçanla geçirilen ilgili zaman ve kabin kapısını açmayı deneme frekansı, P30 ve P60'ta ölçülmüştür. Değerler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir (Tablo 8).

Tablo 8: Empati benzeri sosyal davranış veri ortalamaları \pm standart hata.

		Kontrol			VPA		
		Genel	Dişi	Erkek	Genel	Dişi	Erkek
P30	Zaman (s)	168,89 \pm 21,78	160,99 \pm 26,32	186,97 \pm 40,94	111,78 \pm 13,05	103,23 \pm 25,88	116,31 \pm 15,03
	Deneme Sayısı	6,74 \pm 0,82	6,75 \pm 1,05	6,71 \pm 1,32	4,96 \pm 0,53	4,67 \pm 1,22	5,12 \pm 0,52
P60	Zaman (s)	191,62 \pm 20,04	187,02 \pm 25,33	201,46 \pm 34,27	101,02 \pm 10,94	83,95 \pm 20,56	110,06 \pm 12,63
	Deneme Sayısı	10,50 \pm 1,23	10,07 \pm 1,56	11,43 \pm 2,08	4,85 \pm 0,59	4,33 \pm 1,20	5,12 \pm 0,66

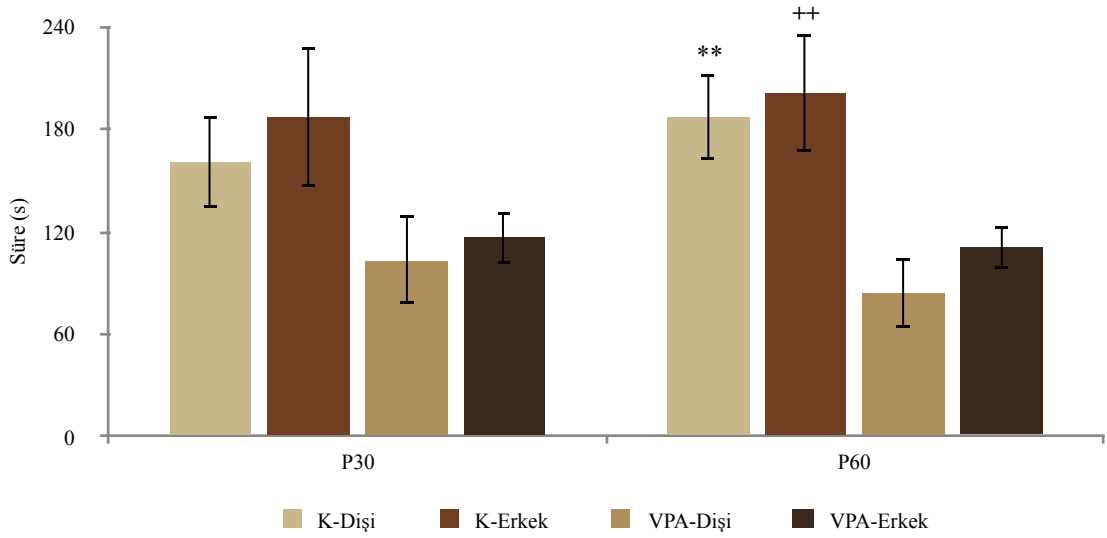
P30'da kısıtlanmış sıçanla geçen süre bakımından kontrol grubu sıçanlar VPA grubu sıçanlara göre daha yüksek skora sahiptir ($p < 0,05$) (Şekil 20). Gruplar cinsiyetlere göre ayrıldığında cinsiyet bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0,05$). Kontrol grubu dişi sıçanlar VPA grubu dişilere ve kontrol grubu erkek sıçanlar VPA grubu erkeklere göre ortalama olarak daha yüksek skorlara sahip olsalar da bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$) (Şekil 21).

P60'da kısıtlanmış sıçanla geçen süre bakımından kontrol grubu sıçanlar VPA grubu sıçanlara göre daha yüksek skora sahiptir ($p < 0,001$) (Şekil 20). Gruplar cinsiyetlere göre ayrıldığında ise cinsiyet bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0,05$). Kontrol grubu dişi sıçanlar VPA grubu dişilere ve kontrol grubu erkek sıçanlar VPA grubu erkeklere göre anlamlı olarak daha yüksek skorlara sahiptir ($p < 0,01$; $p < 0,01$) (Şekil 21).



Şekil 20: Kısıtlanmış kardeşle geçen süre bakımından grupların karşılaştırılması (ortalama değer ± standart hata).

* $p < 0,05$ P30, Kontrol grubu VPA grubuna göre,
 +++ $p < 0,001$ P60, Kontrol grubu VPA grubuna göre.



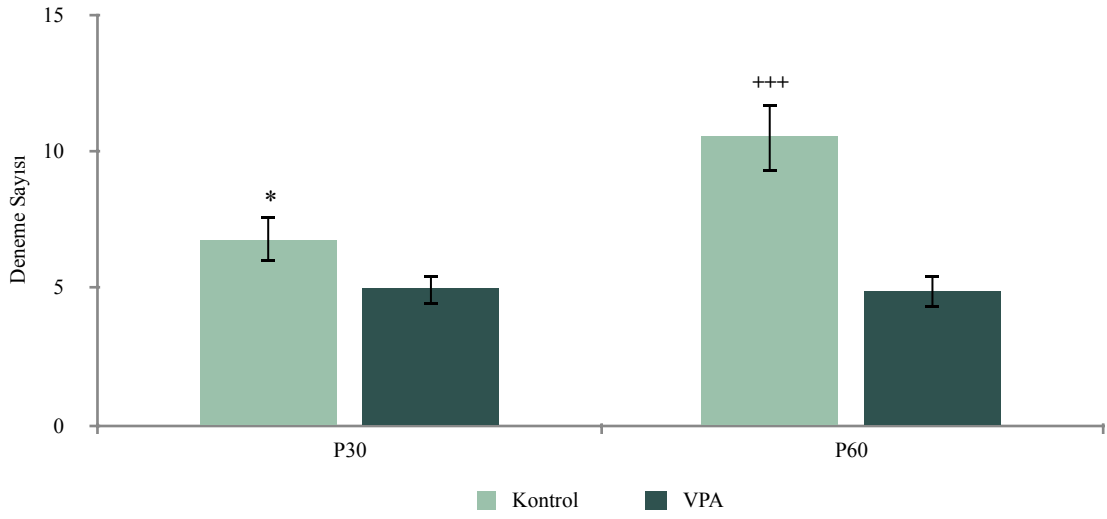
Şekil 21: Kısıtlanmış kardeşle geçen süre bakımından cinsiyetlerin karşılaştırılması (ortalama değer ± standart hata).

** $p < 0,01$ P60, Kontrol grubu dişiler VPA grubu dişilere göre,
 ++ $p < 0,01$ P60, Kontrol grubu erkekler VPA grubu erkekler göre.

P30'da kabin kapısını açmayı deneme frekansı kontrol grubu sıçanlarda VPA grubu sıçanlara göre ortalama olarak daha yüksek olmasına rağmen bu fark anlamlı değildir ($p>0,05$) (Şekil 22). Gruplar cinsiyetlere göre incelendiğinde de bir fark gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Şekil 23). VPA ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark görülememiş olsa da kontrol grubu dişilerden bir sıçan herhangi bir eğitim aşamasından geçmemiş olmasına rağmen kabin kapısını açmayı ve kısıtlanmış kardeşini kurtarmayı başarmıştır.

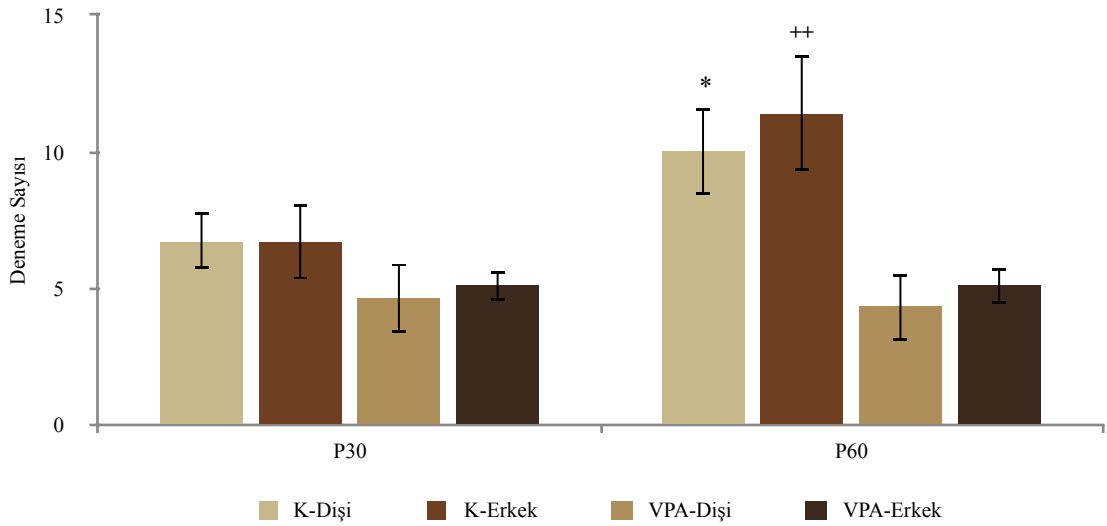
P60'da kabin kapısını açmayı deneme frekansı kontrol grubu sıçanlarda VPA grubu sıçanlara göre anlamlı olarak daha yüksektir ($p<0,001$) (Şekil 22). Gruplar cinsiyetlere göre incelendiğinde cinsiyetler arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0,05$). Kontrol grubu dişi sıçanlar VPA grubu dişilere, kontrol grubu erkek sıçanlar da VPA grubu erkeklere göre anlamlı olarak daha yüksek deneme frekansına sahiptir ($p<0,05$; $p<0,01$) (Şekil 23). P30'da kısıtlanmış kardeşini kurtaran sıçandan farklı olarak yine bir kontrol dişi sıçan kabin kapısını açmayı başarmış ve kısıtlanmış kardeşini kurtarmıştır.

Kabin kapısını açma frekansı P30 ve P60 arasında kıyaslandığında VPA grubu sıçanlar iki deneme arasında anlamlı bir fark göstermemiştir ($p<0,05$). Kontrol grubu sıçanlar genel olarak değerlendirildiğinde P60'da P30'a göre istatistiksel olarak daha yüksek frekansa sahiptir ($p<0,05$), fakat bu fark cinsiyet açısından incelendiğinde görülmemektedir ($p>0,05$).



Şekil 22: Kısıtlayıcının kapısını açma denemesi (ortalama değer ± standart hata).

* $p < 0,05$ Kontrol grubu, P30 P60'a göre,
 +++ $p < 0,001$ P60, Kontrol grubu VPA grubuna göre.



Şekil 23: Kısıtlayıcının kapısını açma denemesi (ortalama değer ± standart hata).

* $p < 0,05$ P60, Kontrol grubu dişiler VPA grubu dişilere göre,
 ++ $p < 0,01$ P60, Kontrol grubu erkekler VPA grubu erkeklere göre.

4.4. Fizyolojik Deneyler

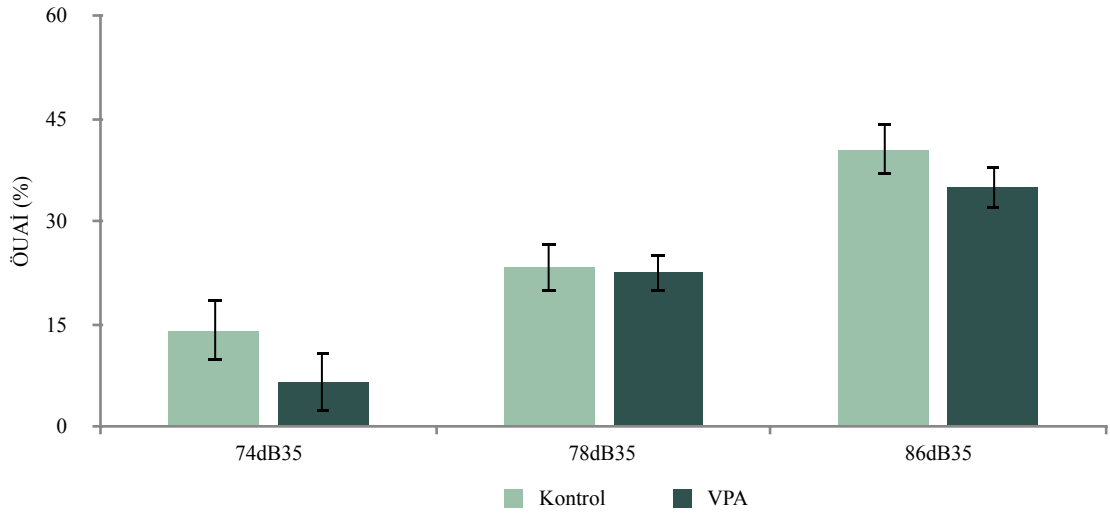
4.4.1. Ön Uyarıcı Aracılı İnhibisyon

Dış bilgiyi algılama, işleme ve yanıt becerisini ölçen ÖUAİ, P35, P65 ve P95’de ölçülmüştür. Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir (Tablo 9).

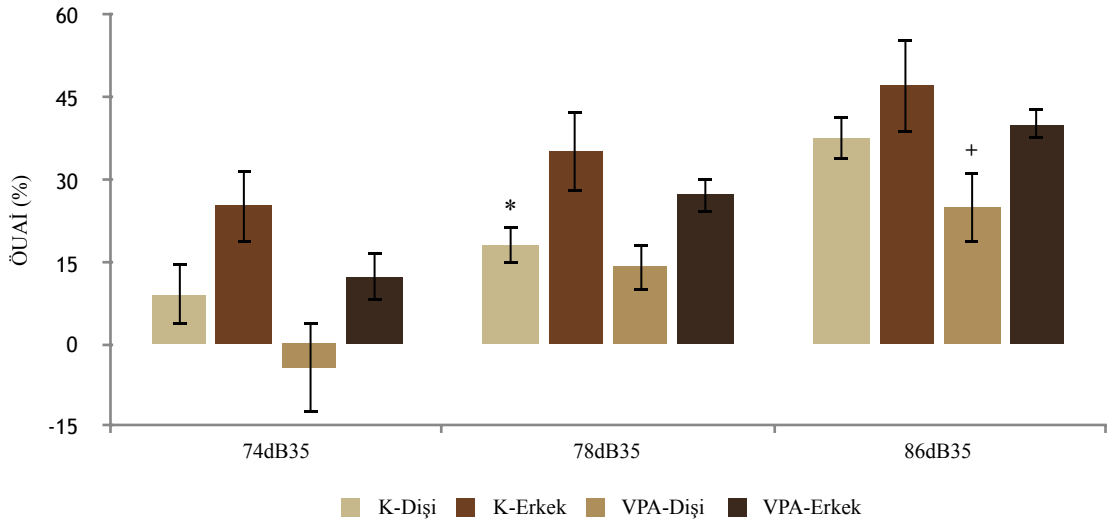
Tablo 9: P35, P65 ve P95 için 74 dB, 78 dB ve 86 dB ön uyarılara verilen ÖUAİ cevaplarının ortalaması± standart hata.

Gün	Ön Uyarıcı (%)	Kontrol			VPA		
		Genel	Dişi	Erkek	Genel	Dişi	Erkek
P35	74dB	13,95 ± 4,49	9,04 ± 5,43	25,17 ± 6,65	6,59 ± 4,20	-4,32 ± 8,09	12,36 ± 4,34
	78dB	23,26 ± 3,64	18,06 ± 3,59	35,16 ± 7,23	22,57 ± 2,76	13,92 ± 3,97	27,16 ± 3,21
	86dB	40,54 ± 3,75	37,67 ± 3,91	47,09 ± 8,46	34,88 ± 3,10	25,02 ± 6,42	40,10 ± 2,68
P65	74dB	35,37 ± 4,62	35,52 ± 6,18	35,03 ± 6,43	34,93 ± 4,02	28,41 ± 6,20	38,38 ± 5,14
	78dB	46,23 ± 4,31	43,09 ± 5,48	54,22 ± 6,23	39,92 ± 4,11	39,74 ± 8,46	40,02 ± 4,62
	86dB	65,38 ± 3,00	65,88 ± 4,17	64,30 ± 3,17	54,79 ± 4,93	53,13 ± 8,93	55,66 ± 6,07
P95	74dB	43,90 ± 4,97	46,01 ± 5,87	39,37 ± 9,74	27,79 ± 4,72	23,60 ± 6,35	30,00 ± 6,45
	78dB	55,44 ± 4,87	55,91 ± 6,44	54,43 ± 7,11	43,66 ± 3,44	38,93 ± 3,08	46,16 ± 4,97
	86dB	73,24 ± 2,80	74,22 ± 3,47	71,14 ± 5,02	55,03 ± 5,71	56,72 ± 5,98	54,13 ± 8,27

P35’de kontrol grubu sıçanlarda gelen 3 ayrı seviyedeki sesli ön uyarılara karşı oluşturulan inhibisyon oranı VPA grubuna göre daha fazla olmasına rağmen, bu fark istatistiksel olarak anlamlı görülmemiştir ($p>0,05$) (Şekil 24). Gruplar cinsiyetlere göre incelendiğinde 78 dB’lik uyarıda kontrol grubu erkekler kontrol grubu dişilere oranla, 86 dB’lik uyarıda ise VPA grubu erkekler VPA grubu dişilere oranla anlamlı olarak daha yüksek inhibisyona sahiptir ($p<0,05$; $p<0,01$) (Şekil 25).



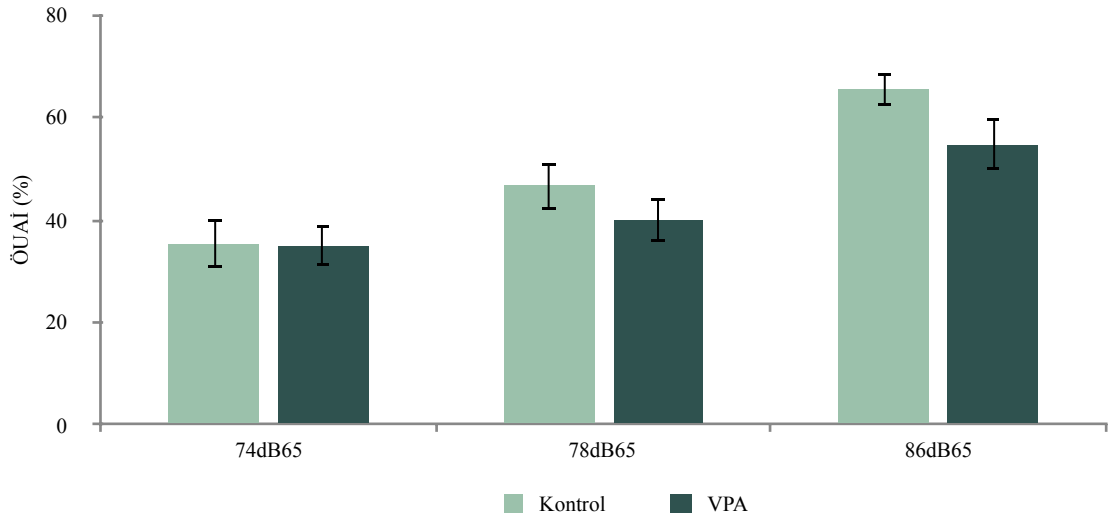
Şekil 24: P35'de 74, 78 ve 86dB'lik ön uyarana karşı verilen ÖUAI oranının gruplar arasında karşılaştırılması (ortalama değer ± standart hata).



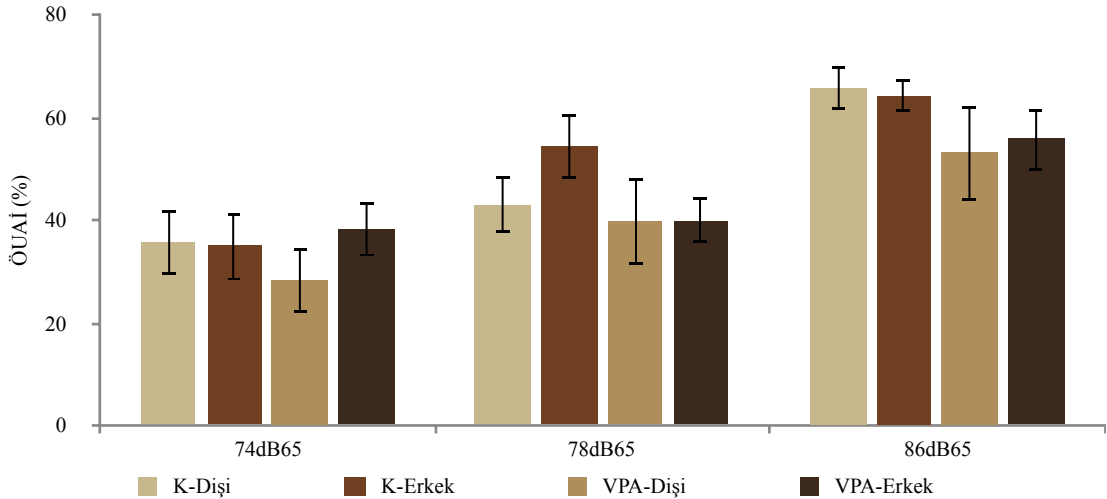
Şekil 25: P35'de 74, 78 ve 86dB'lik ön uyarana karşı verilen ÖUAI oranının cinsiyetler arasında karşılaştırılması (ortalama değer ± standart hata).

* $p < 0,05$ 78 dB, Kontrol grubu dişiler kontrol grubu erkeklere göre,
 + $p < 0,05$ 86 dB, VPA grubu dişiler VPA grubu erkeklere göre.

P65’de her üç seviyedeki ses uyarana karşı geliştirilen inhibisyon oranı kontrol grubunda VPA grubuna göre daha yüksek olsa da, bu farklar istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$) (Şekil 26). Gruplar cinsiyetlere göre ayrıldığında kontrol grubu erkekler kontrol grubu dişilere göre, VPA grubu erkekler de VPA grubu dişilere göre daha yüksek oranda inhibisyon gösterebilirler de bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$) (Şekil 27).

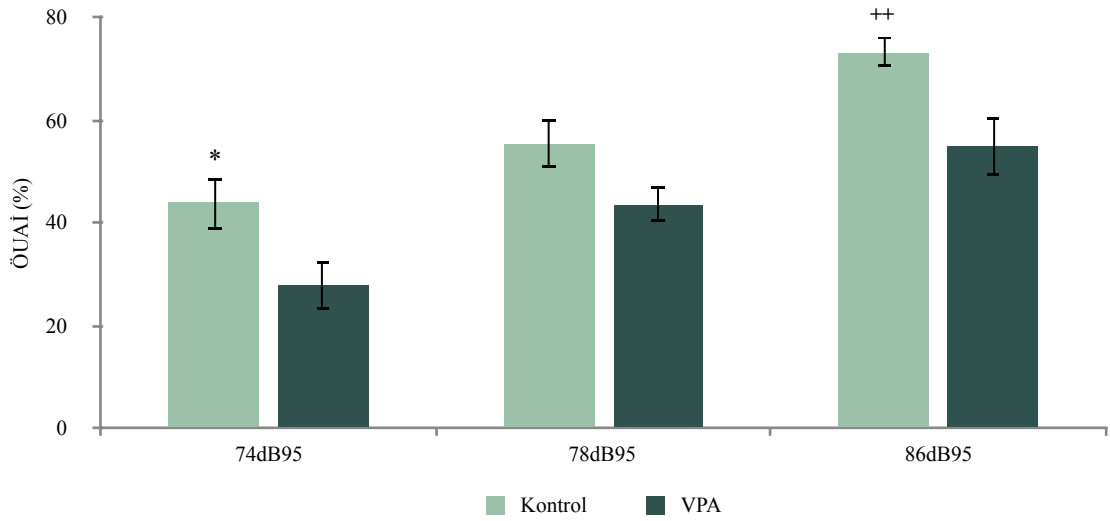


Şekil 26: P65’de 74, 78 ve 86dB’lik ön uyarana karşı verilen ÖUAI oranının gruplar arasında karşılaştırılması (ortalama değer ± standart hata).

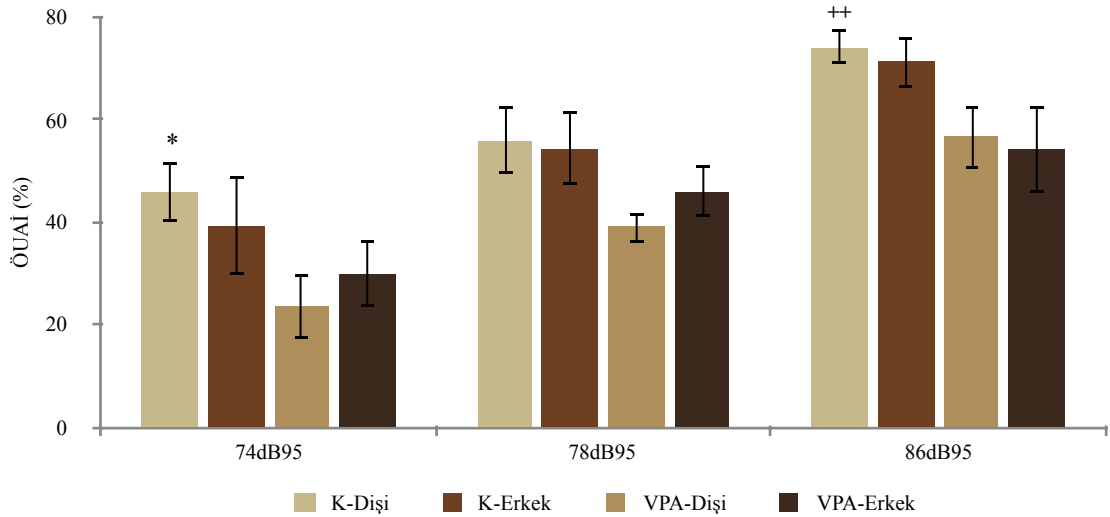


Şekil 27: P65’de 74, 78 ve 86dB’lik ön uyarana karşı verilen ÖUAI oranının cinsiyetler arasında karşılaştırılması (ortalama değer ± standart hata).

P95’de 74 dB ve 86 dB uyarılara karşı kontrol grubunun oluşturduğu inhibisyon oranı VPA grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksektir ($p<0,05$; $p<0,01$) (Şekil 28). Gruplar cinsiyetlere göre incelendiğinde her üç ön uyarın seviyesinde de cinsiyetlere göre anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0,05$). Kontrol grubu dişiler VPA grubu dişilere göre 74 dB ve 86 dB’de anlamlı bir şekilde daha yüksek inhibisyon oranına sahiptir ($p<0,05$; $p<0,05$) (Şekil 29).

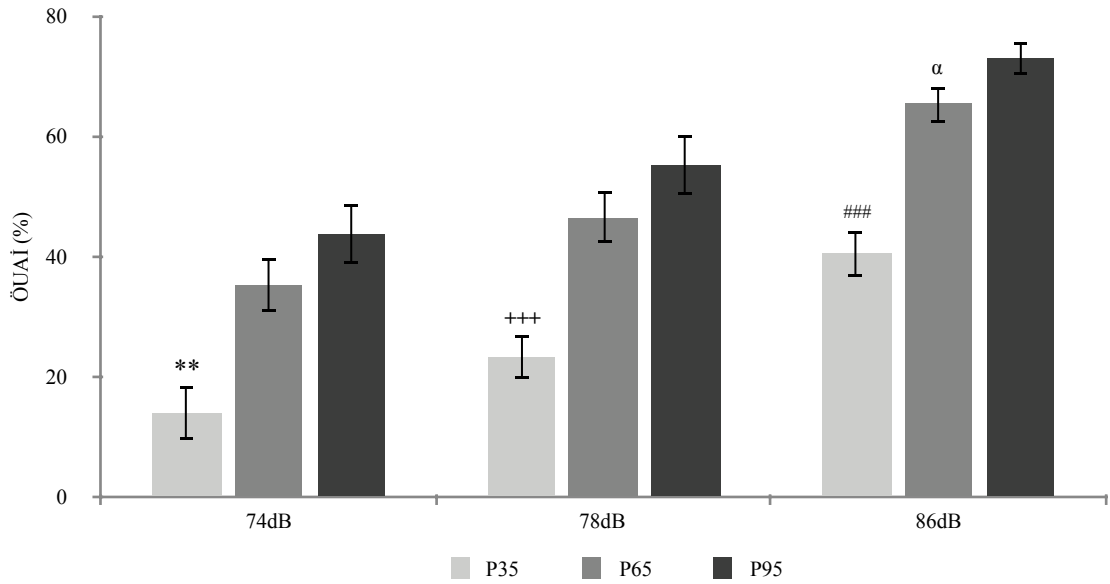


Şekil 28: P95’da 74, 78 ve 86dB’lik ön uyarana karşı verilen ÖUAI oranının gruplar arasında karşılaştırılması (ortalama değer ± standart hata).
 * $p<0,05$ 74 dB, Kontrol grubu VPA grubuna göre,
 ** $p<0,01$ 86 dB, Kontrol grubu VPA grubuna göre.



Şekil 29: P95’da 74, 78 ve 86dB’lik ön uyarana karşı verilen ÖUAI oranının cinsiyetler arasında karşılaştırılması (ortalama değer ± standart hata).
 * $p<0,05$ 74 dB, Kontrol grubu dişiler VPA grubu dişilere göre,
 ** $p<0,01$ 86 dB, Kontrol grubu dişiler VPA grubu dişilere göre.

Verilen ÖUAİ cevabı P35, P65 ve P95 arasında her üç dB için karşılaştırılmıştır. 74 dB'lik ön uyarı sonrası oluşan ÖUAİ oranı için kontrol ve VPA grupları yalnızca P35-P65 arasında anlamlı bir gelişim göstermiştir ($p<0,01$; $p<0,001$). P35-P65 ve P65-P95 arasında iki grup için de anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0,05$). 78 dB'lik ön uyarı sonucu oluşan ÖUAİ oranı kontrol ve VPA gruplarında yalnızca P35-P65 arasında anlamlı olarak artmıştır ($p<0,001$; $p<0,001$). 86 dB'lik ön uyarı sonucu oluşan ÖUAİ oranı VPA grubu için yalnızca P35-P65 arasında anlamlı bir artış gösterirken, kontrol grubu için hem P35-P65 hem de P65-P95 arasında anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0,001$; $p<0,001$; $p<0,05$) (Şekil 30, Şekil 31).



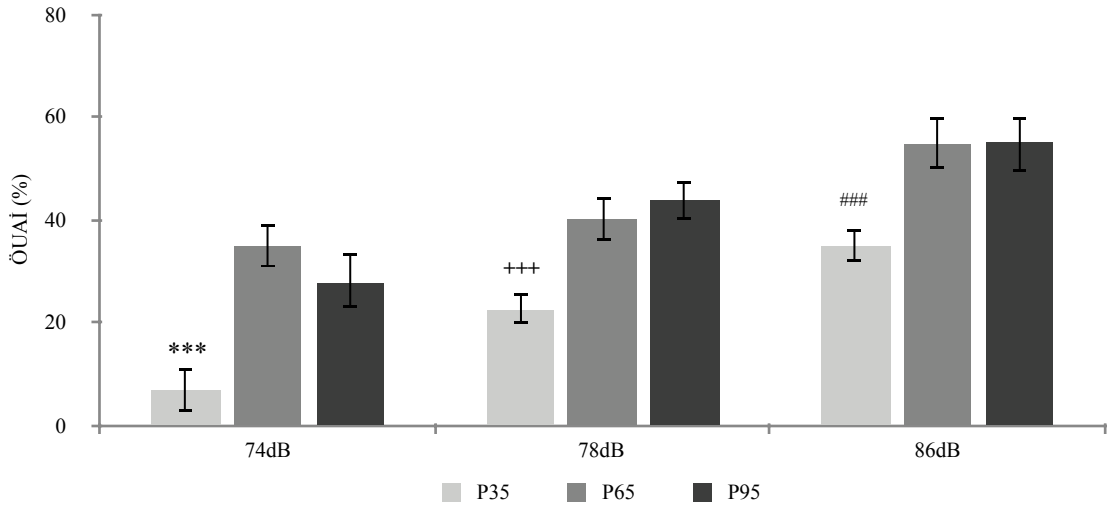
Şekil 30: Kontrol grubu için 74, 78 ve 86dB'lik ön uyarıya karşı verilen ÖUAİ oranının P35-P65-P95 arasında karşılaştırılması (ortalama değer ± standart hata).

** $p<0,01$ 74 dB, P35 P65'e göre,

+++ $p<0,001$ 78 dB, P35 P65'e göre,

$p<0,001$ 86 dB, P35 P65'e göre,

α $p<0,05$ 86 dB, P65 P95'e göre.



Şekil 31: VPA grubu için 74, 78 ve 86dB’lik ön uyarana karşı verilen ÖUAI oranının P35-P65-P95 arasında karşılaştırılması (ortalama değer \pm standart hata).

*** $p < 0,001$ 74dB, P35 P65’e göre,

+++ $p < 0,001$ 78 dB, P35 P65’e göre,

$p < 0,001$ 86 dB, P35 P65’e göre.

4.4.2. İrkilme Yanıtı

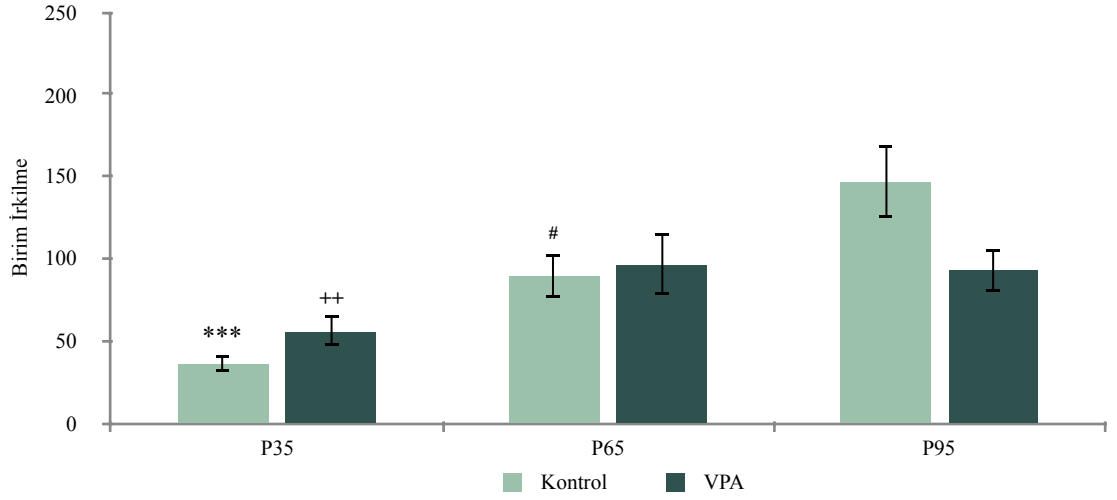
Ön uyarın aracılı inhibisyon ölçümleri sonrasında 120 dB’lik uyarana karşı verilen irkilme yanıtı P35, P65 ve P95’de ölçülmüştür. Değerler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir (Tablo 10).

Tablo 10: P30, P60 ve P90 için 120 dB’lik uyarana karşı verilen birim irkilme ortalamaları \pm standart hata.

	Kontrol			VPA		
	Genel	Dişi	Erkek	Genel	Dişi	Erkek
P35	36,40 \pm 4,99	27,21 \pm 3,90	57,39 \pm 10,38	55,70 \pm 8,91	35,09 \pm 5,41	66,61 \pm 12,67
P65	89,32 \pm 13,35	88,13 \pm 16,15	91,86 \pm 25,63	96,36 \pm 19,01	76,92 \pm 18,75	106,65 \pm 27,41
P95	146,97 \pm 22,48	141,11 \pm 23,09	159,51 \pm 54,13	92,66 \pm 13,75	77,46 \pm 20,00	103,20 \pm 18,78

Verilen irkilme yanıtı P35, P65 ve P95’de gruplar arasında anlamlı bir fark göstermemiştir (Şekil 32). Gruplar cinsiyetlere göre incelendiğinde P35’de kontrol grubu dişiler kontrol grubu erkeklere ve VPA grubu dişiler VPA grubu erkeklere göre istatistiksel olarak anlamlı bir farka sahiptir ($p < 0,05$; $p < 0,05$). P95’de ise bu fark kontrol grubu dişiler ve VPA grubu dişiler arasındadır ($p < 0,05$) (Şekil 33).

P35, P65 ve P95 ölçümleri gruplar içinde kıyaslandığında kontrol grubu P35-P65 ve P65- P95 arasında anlamlı bir artışa sahipken, VPA grubu yalnızca P35- P65 arası anlamlı bir artış göstermiştir ($p < 0,001$; $p < 0,05$; $p < 0,01$) (Şekil 32).

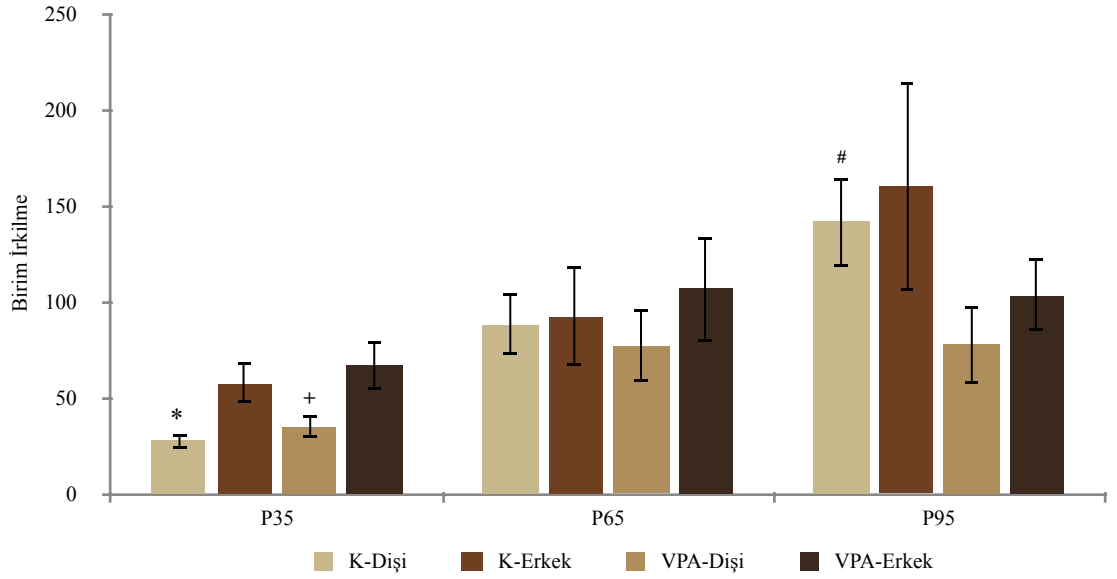


Şekil 32: P35, P65 ve P95 için 120 dB'lik uyarana karşı verilen birim irkilme cevabının gruplar arasında karşılaştırılması (ortalama değer \pm standart hata).

*** $p < 0,001$ Kontrol, P35 P65'e göre,

++ $p < 0,01$ VPA, P35 P65'e göre,

$p < 0,05$ Kontrol, P65 P95'e göre.



Şekil 33: P35, P65 ve P95 için 120 dB'lik uyarana karşı verilen birim irkilme cevabının cinsiyetler arasında karşılaştırılması (ortalama değer \pm standart hata).

* $p < 0,05$ P35, Kontrol grubu dişiler kontrol grubu erkeklere göre,

+ $p < 0,05$ P35, VPA grubu dişiler VPA grubu erkeklere göre,

$p < 0,05$ P95, Kontrol grubu dişiler VPA grubu dişilere göre.

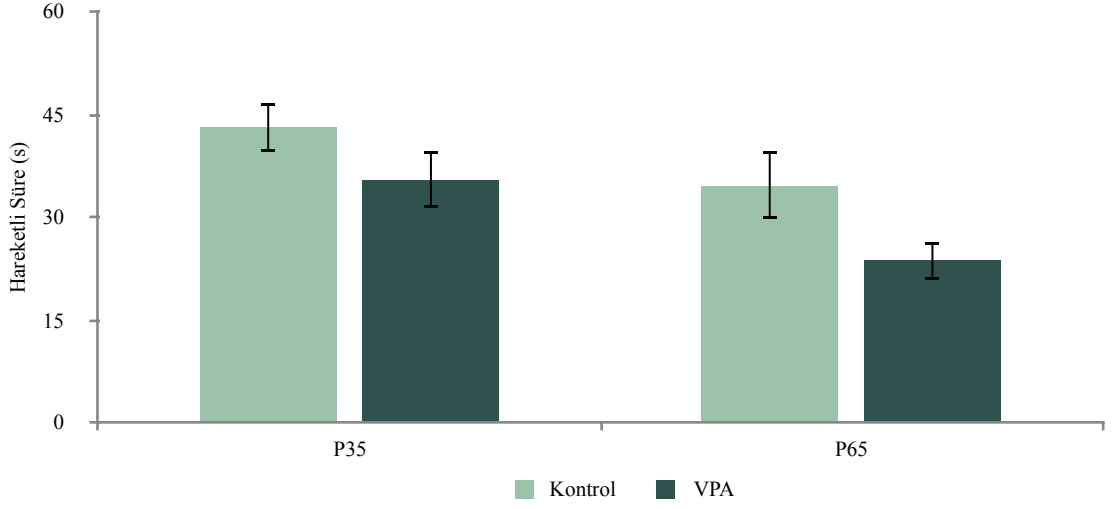
4.4.3. Lokomotor Aktivite

Sıçanlar hareketli süre, hareketsiz süre, yürüme mesafesi, yürüme süresi ve hızları açısından P35 ve P65’de değerlendirilmiştir. Değerler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir (Tablo 11).

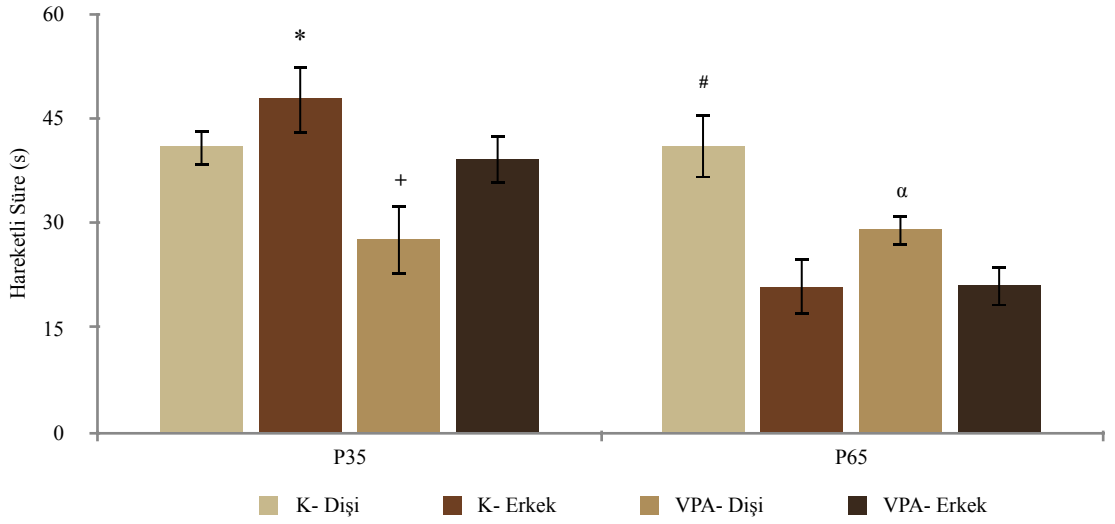
Tablo 11: Genel lokomotor aktivite verileri (ortalamaları \pm standart hata).

Gün	Veri	Kontrol			VPA		
		Genel	Dişi	Erkek	Genel	Dişi	Erkek
P35	Hareketli Süre (s)	43,04 \pm 3,51	40,90 \pm 2,41	47,80 \pm 4,79	35,46 \pm 4,19	27,56 \pm 5,04	39,18 \pm 3,54
	Hareketsiz Süre (s)	226,97 \pm 4,17	224,01 \pm 3,93	233,74 \pm 4,87	261,09 \pm 5,05	270,18 \pm 6,05	256,28 \pm 4,17
	Yürüme Mesafe (cm)	1036,24 \pm 55,9	998,47 \pm 36,25	1122,56 \pm 77,73	894,27 \pm 89,06	682,64 \pm 105,97	1006,31 \pm 67,17
	Yürüme Süresi (s)	144,32 \pm 6,82	142,78 \pm 6,07	147,82 \pm 8,20	117,47 \pm 11,83	85,65 \pm 15,02	134,31 \pm 7,40
	Hız (cm/s)	3,88 \pm 0,19	3,82 \pm 0,12	4,02 \pm 0,26	2,98 \pm 0,30	2,19 \pm 0,35	3,40 \pm 0,23
P65	Hareketli Süre (s)	34,69 \pm 4,85	41,12 \pm 4,48	20,91 \pm 4,04	23,78 \pm 2,70	29,02 \pm 2,11	21,01 \pm 2,76
	Hareketsiz Süre (s)	262,18 \pm 5,53	254,64 \pm 5,22	278,34 \pm 4,16	275,45 \pm 2,73	269,64 \pm 2,10	278,52 \pm 2,79
	Yürüme Mesafe (cm)	1000,5 \pm 98,95	1117,67 \pm 90,43	749,58 \pm 94,06	825,41 \pm 60,08	871,46 \pm 55,62	801,03 \pm 63,13
	Yürüme Süresi (s)	134,02 \pm 12,00	146,77 \pm 3,42	106,71 \pm 13,51	117,73 \pm 9,17	122,22 \pm 7,60	115,36 \pm 10,08
	Hız (cm/s)	3,37 \pm 0,34	3,78 \pm 0,31	2,50 \pm 0,31	2,75 \pm 0,20	2,91 \pm 0,19	2,67 \pm 0,21

Hareketli süre P35 ve P65’de VPA ve kontrol grupları arasında anlamlı olarak farklı değildir ($p > 0,05$) (Şekil 34). Gruplar cinsiyetlere göre incelendiğinde P35 ‘de VPA grubu dişi ve VPA grubu erkek ve VPA grubu dişi ve kontrol grubu dişi arasında anlamlı bir fark vardır ($p < 0,05$; $p < 0,05$). P65’de VPA grubu dişi- VPA grubu erkek ve kontrol grubu dişi- kontrol grubu erkek arasında anlamlı bir fark görülmektedir ($p < 0,05$; $p < 0,05$) (Şekil 35).



Şekil 34: P35 ve P65’de hareketli sürenin gruplar arasında karşılaştırması (ortalama değer ± standart hata).



Şekil 35: P35 ve P65’de hareketli sürenin cinsiyetler arasında karşılaştırması (ortalama değer ± standart hata).

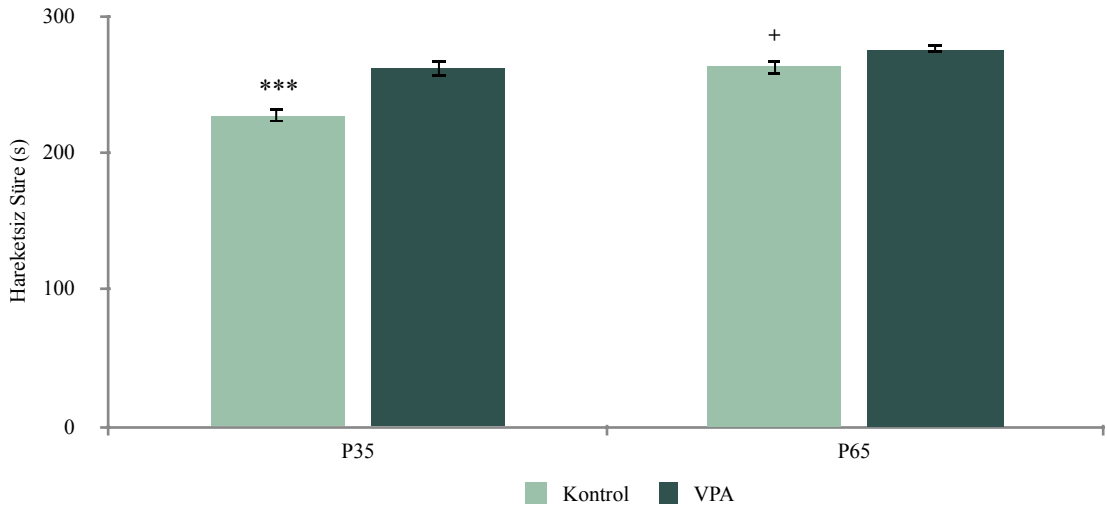
* $p < 0,05$ P35, Kontrol grubu erkekler VPA grubu erkeklere göre,

+ $p < 0,05$ P35, VPA grubu dişiler VPA grubu erkeklere göre.

$p < 0,05$ P65, Kontrol grubu dişiler kontrol grubu erkeklere göre,

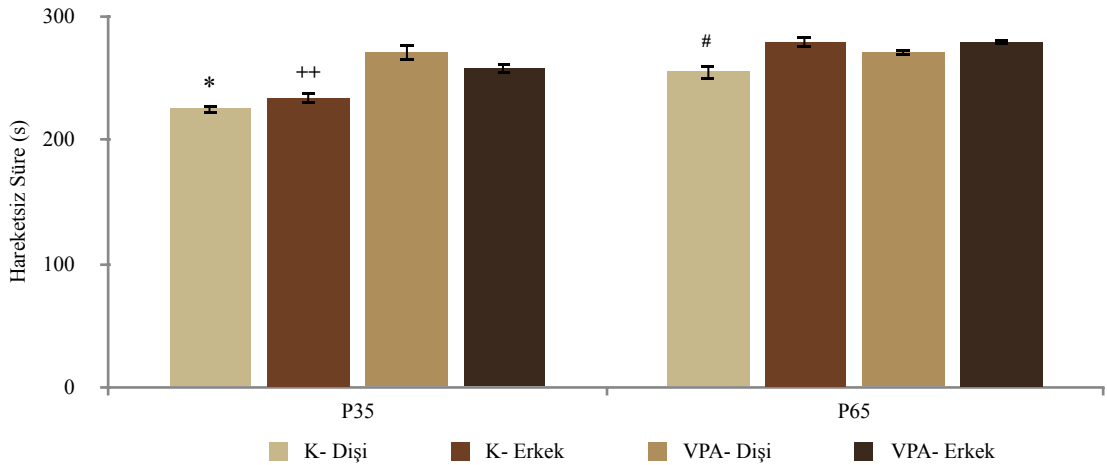
α $p < 0,05$ P65, VPA grubu dişiler VPA grubu erkeklere göre.

Hareketsiz süre P35 ve P65’de VPA ve kontrol grupları arasında anlamlı bir farka sahiptir ($p<0,001$; $p<0,05$) (Şekil 36). Gruplar cinsiyetlere göre incelendiğinde P35’de VPA grubu dişi- kontrol grubu dişi ve VPA grubu erkek- kontrol grubu erkek arasında anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,05$; $p<0,01$). P65’de ise kontrol grubu dişi ve kontrol grubu erkek arasında anlamlı bir fark vardır ($p<0,05$) (Şekil 37).



Şekil 36: P35 ve P65’de hareketsiz sürenin gruplar arasında karşılaştırması (ortalama değer \pm standart hata).

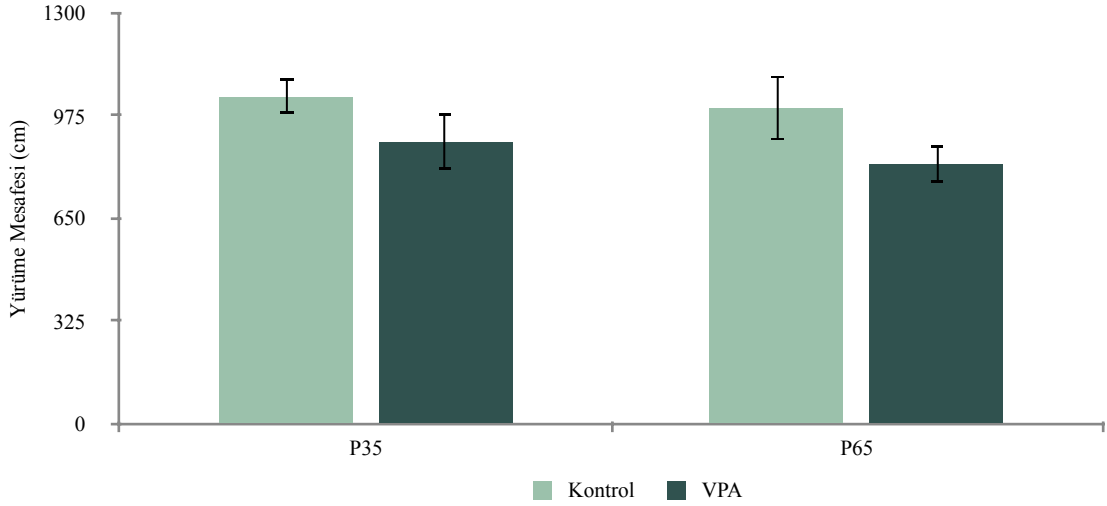
*** $p<0,001$ P35, Kontrol VPA grubuna göre,
+ $p<0,05$ P65, Kontrol VPA grubuna göre.



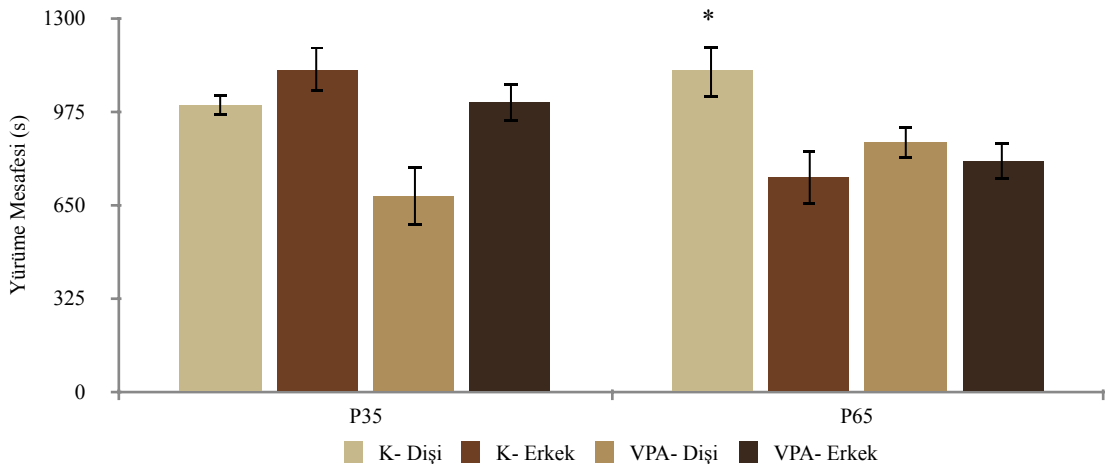
Şekil 37: P35 ve P65’de hareketsiz sürenin cinsiyetler arasında karşılaştırması (ortalama değer \pm standart hata).

* $p<0,05$ P35, Kontrol grubu dişiler VPA grubu dişilere göre,
++ $p<0,01$ P35, Kontrol grubu erkekler VPA grubu erkeklere göre,
$p<0,05$ P65, Kontrol grubu dişiler kontrol grubu erkeklere göre.

Yürüme mesafesi P35 ve P65’de VPA ve kontrol grupları için anlamlı bir fark göstermemiştir ($p>0,05$) (Şekil 38). Gruplar cinsiyetlere göre ayrıldığında P35’de anlamlı bir fark yokken, P65’de kontrol grubu dişi ve kontrol grubu erkek arasında anlamlı bir fark ortaya çıkmıştır ($p>0,05$; $p<0,05$) (Şekil 39).



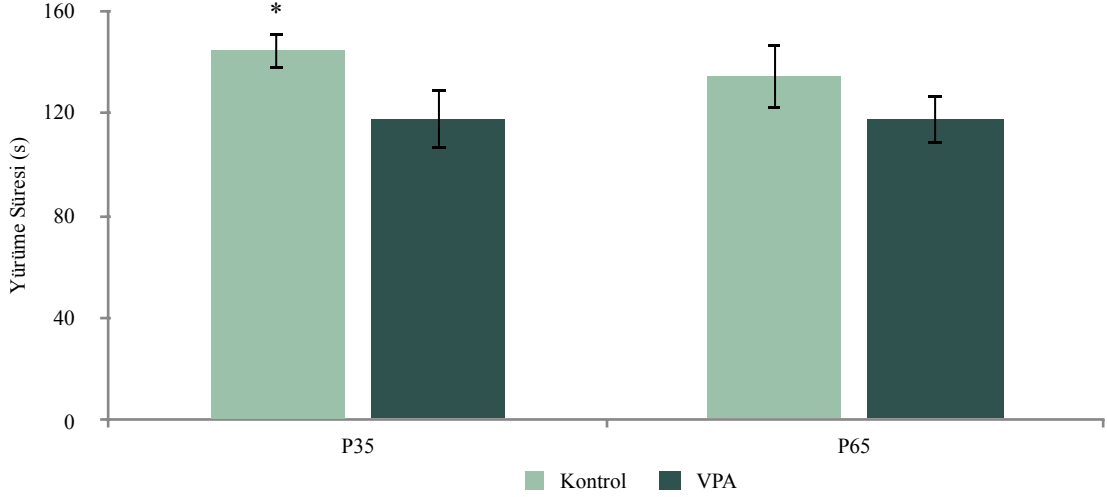
Şekil 38: P35 ve P65’de yürüme mesafesinin gruplar arasında karşılaştırması (ortalama değer \pm standart hata).



Şekil 39: P35 ve P65’de yürüme mesafesinin cinsiyetler arasında karşılaştırması (ortalama değer \pm standart hata).

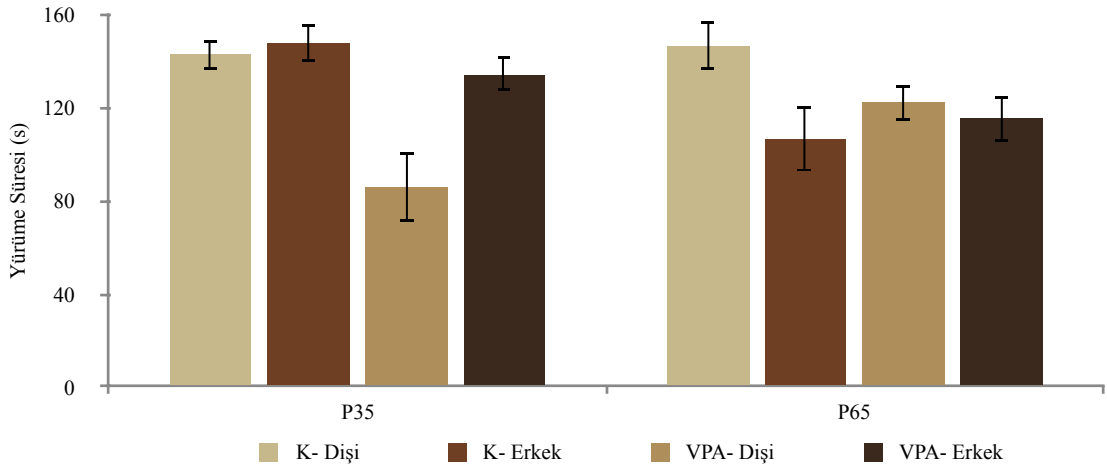
* $p<0,05$ P65, Kontrol grubu dişiler kontrol grubu erkeklere göre.

Yürüme süresi P35’de VPA ve kontrol grupları arasında anlamlı bir farka sahiptir fakat P65’de gruplar arası anlamlı bir fark görülmemiştir ($p < 0,05$; $p > 0,05$) (Şekil 40). Gruplar cinsiyetlere göre incelendiğinde ise hem P35’de hem de P65’de herhangi bir fark görülmemiştir ($p > 0,05$) (Şekil 41).



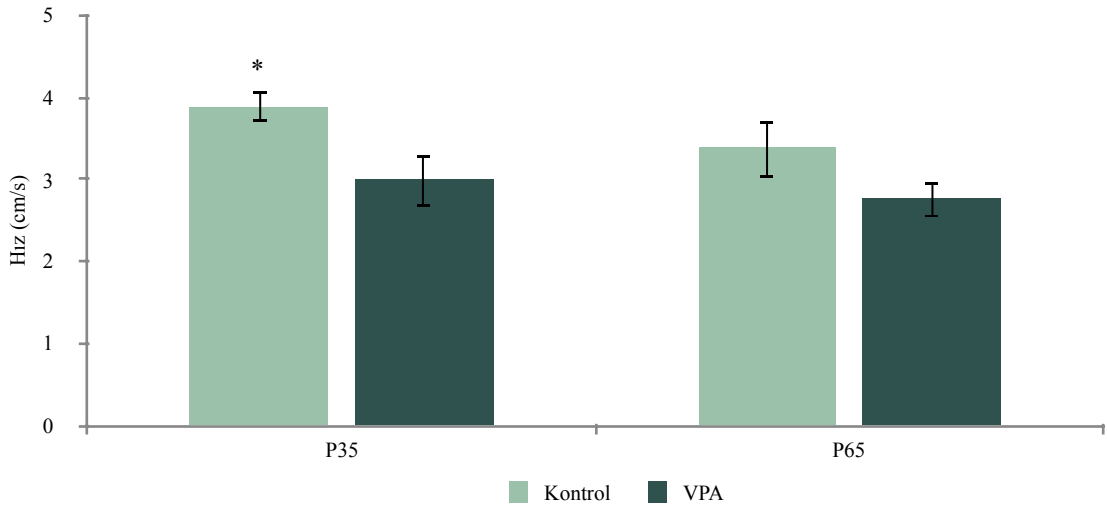
Şekil 40: P35 ve P65’de yürüme süresinin gruplar arasında karşılaştırması (ortalama değer \pm standart hata).

* $p < 0,05$ P35, Kontrol grubu VPA grubuna göre.

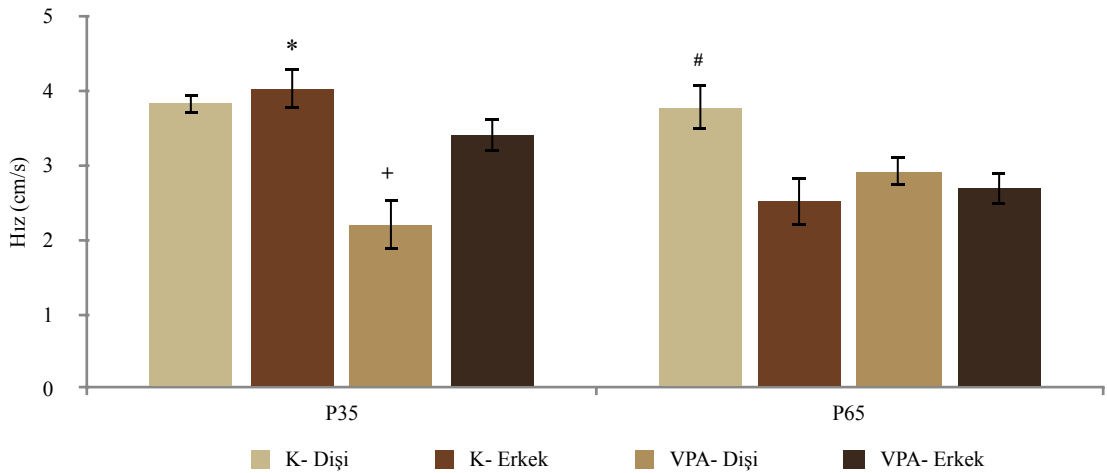


Şekil 41: P35 ve P65’de yürüme süresinin cinsiyet arasında karşılaştırması (ortalama değer \pm standart hata).

Hız P35’de VPA ve kontrol grupları arasında anlamlı bir farka sahip olmasına rağmen P65’de gruplar arası anlamlı bir fark görülmemiştir ($p < 0,05$; $p > 0,05$) (Şekil 42). Gruplar cinsiyetlere göre incelendiğinde P35 için VPA grubu dişi- VPA grubu erkek ve VPA grubu erkek- kontrol grubu erkek arasında anlamlı bir fark görülmüştür ($p < 0,05$; $p < 0,05$). P65’de ise kontrol grubu dişi ve kontrol grubu erkek arasında anlamlı bir fark vardır ($p < 0,05$) (Şekil 43).



Şekil 42: P35 ve P65’de hızın gruplar arasında karşılaştırması (ortalama değer \pm standart hata).
* $p < 0,05$ P35, Kontrol grubu VPA’ye göre.



Şekil 43: P35 ve P65’de hızın gruplar arasında karşılaştırması (ortalama değer \pm standart hata).
* $p < 0,05$ P35, Kontrol grubu erkekler VPA grubu erkekler göre,
+ $p < 0,05$ P35, VPA grubu dişiler VPA grubu erkekler göre,
$p < 0,05$ P65, Kontrol grubu dişiler kontrol grubu erkekler göre.

Kontrol grubu lokomotor aktivite değerleri P35 ve P65 için karşılaştırılmıştır. Hareketlilik süresi, yürüme mesafesi, yürüme süresi ve hız değerleri için iki ölçüm arasında anlamlı bir fark olmamasına rağmen hareketsizlik süresi değeri açısından anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,001$).

VPA grubu için de lokomotor aktivite değerleri P35 ve P65 için karşılaştırılmıştır. Yürüme mesafesi, yürüme süresi, ve hız değerleri iki ölçüm arasında anlamlı bir farka sahip değildir. Hareketlilik ve hareketsizlik süreleri ise iki ölçü arasını anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0,01$; $p<0,01$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çevresel faktörler doğum öncesi dönemde embriyoyu etkileyerek olumsuz sonuçlara neden olabilmektedir. VPA plasentaya geçebilen ve embriyo üstünde teratojenik etkilere sahip olan antiepileptik bir ilaçtır. Bu etkiler solunum ve kardiyovasküler sistem bozuklukları, iskelet ve organlarda malformasyonlar, bilişsel, davranışsal ve gelişimsel gerilikler ve yüz yapısında deformasyonlar olarak karşımıza çıkar (Dufour-Rainfray ve ark., 2011; Stadelmaier ve ark., 2017). Nöral tüp gelişimi sırasında maruz kalınan VPA, gapapentin, zonisamid ve karbamazepin gibi diğer antiepileptiklere oranla malformasyon riskini %11 oranla arttırırken postnatal dönemde otizm benzeri semptomların oluşma riskini de arttırmaktadır (Rice ve Barone, 2000; Tomson ve ark., 2011; Weston ve ark., 2016). Teratojenik etkilerin temelinde histon deasetilaz mekanizmasının inhibisyonu sonucu organ gelişiminin etkilenmesi (Dufour-Rainfray ve ark., 2011) ve embriyonik folik asit mekanizmasındaki bozukluklarla birlikte embriyonun oksidatif strese karşı daha savunmasız kalması gösterilmektedir (Wegner ve Nau, 1992).

İnsanlarda olduğu gibi kemirgen modellerinde de malformasyonların çeşidi ve ciddiyeti çeşitli faktörlere bağlıdır. Maruz kalınan dozun miktarı arttıkça görülen semptomların ciddiyeti ve çeşidi artmaktadır. VPA'in 200 mg/kg, 400 mg/kg ve 600 mg/kg dozlarıyla yapılan bir çalışmada 400 mg/kg'lık dozun 200 mg/kg'a göre malformasyon oluşturma riskinin daha fazla olduğu gösterilmiştir (Vorhees, 1987). 600 mg/kg doz ise görülen malformasyonlardaki ciddiyetin yanısıra embriyonik letalite açısından da en yüksek riske sahip doz olarak bildirilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda hem malformasyonların oluşması hem de davranışsal açıdan OSB'nin modellenebilmesi için 400 mg/kg doz kullanılmıştır (Kim ve ark., 2011; Vorhees, 1987).

Maruziyet zamanı da görülecek olası malformasyonlar açısından önemlidir. Etkilenen organ ve yapıların gelişim sürecine denk gelen günlerdeki maruziyet, ilgili organ ve yapıda malformasyonlara sebep olabilmektedir (Menagola ve ark., 2003). Aynı zamanda genetik yatkınlığın da rolü olduğu gösterilmiştir (Faiella ve ark., 2011).

Kemirgenlerde görülen malformasyonlardan iskelet malformasyonları oldukça sıktır ve bunlar kuyruk deformasyonları, ekstremitelerde bozukluklar ve omurgada birleşme veya azalma şeklinde olabilmektedir (Menagola ve ark., 2003). Kuyruk deformasyonları arasında normalden kısa kuyruk ve kuyruk kırılmaları bildirilmiştir (Saft ve ark., 2014). Kuyruk notokordunun E12-13 arasında oluşması nedeniyle, bu günler arasındaki maruziyet kuyruk kırılmalarına neden olabilir (Gajovic ve ark., 1989). Saft ve ark. (2014) malformasyonlar üzerine yaptıkları çalışmalarında 25 hayvanda kuyruk kırılmalarını bildirmiş, kırılmaları şekline göre sınıflandırmış ve kuyruklarda en sık görülen kırılmanın kuyruğun orta kısmında olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmacılar kuyruk malformasyonu dışında başka bir malformasyon gözlemediklerini bildirmiştir. Ruhela ve ark. (2017) ise kuyruk kırılmalarının yanısıra diş ve genital organlarda büyüme gözlediklerini ve yalnızca bir hayvanda ise arka ayakta motor kuvvet kaybı bildirmişlerdir. VPA grubu sıçanlarda gördüğümüz farklı lokasyon ve ciddiyetlerdeki kuyruk kırılmaları VPA'in teratojenik etkilerini doğrular şekildedir ve gözlemlerimiz literatürle uyumludur. Sadece bir hayvanda gözlemediğimiz arka ayak duruş deformitesi ve motor kuvvet kaybının ise VPA'in ekstremitte gelişimi üzerindeki etkisinden kaynaklanmış olabileceği gibi enjektörün embriyoya vermiş olduğu hasardan dolayı da kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

APA kriterlerine göre başlıca semptomlardan olan iletişim becerilerindeki bozuklukları deneysel modellerde gösterdiği düşünülen testlerden biri olfaktör diskriminasyon testidir. Özellikle kemirgenler için oldukça önemli bir iletişim aracı olan koku, bu testteki başlıca uyarandır. Çalışmamızda oluşturulan modelin

semptomatik geçerliliğini arttırmak adına olfaktör diskriminasyon testi uygulanmıştır.

Literatürde birçok grup bu testin Gregory ve Pfaff (1971)'den uyarlanmış versiyonunu kullanmıştır. Hayvanlar yalnızca anne ve temiz talaş arasındaki değişkenler açısından test edilmiş ve talaşlara ulaşma latansı karşılaştırılmıştır (Favre ve ark., 2013; Gregory ve Pfaff, 1971; Schneider ve Przewlocki, 2005). Çalışmamızda ise sıçanların anne, ev ve temiz talaş ve etrafında geçirdikleri zamanlar ölçülerek karşılaştırmaları yapılmıştır. Talaşlarda geçirilen süre göz önünde tutulduğunda çalışmamızdaki kontrol grubu sıçanlar VPA grubu sıçanlara göre keşif amacıyla daha fazla süre geçirmişlerdir. VPA grubu sıçanlar ise talaşlardan herhangi birine ulaştıklarında genel olarak o talaşta kalmayı tercih etmiş, buna bağlı olarak da ilgili talaşta daha uzun hareketsiz süre göstermiş ve daha az keşfedici davranışta bulunmuştur. APA'nın 2003 yılında yayınladığı kriterlere göre OSB'de görülen önemli semptomlardan biri de kısıtlı ilgi alanıdır (APA, 2013). OSB modeli oluşturduğumuz sıçanların bu kritere uygun olarak ilgi alanlarındaki azalmaya bağlı olarak keşfetme davranışında azalma göstermiş olabileceği düşünülmektedir. Sonuçlarımıza göre VPA grubunda GODİ-A ve İODİ-A skorları GODİ-E ve İODİ-E'ye göre daha fazladır. Bu sonuçlar anneye olan bağlılığı ve anne kokusunu ayırt etmenin daha kolay olduğunu düşündürücü niteliktedir. Ev talaşı sadece iki gün yaşanmış bir talaş olduğu için yeterli olfaktör ipucu oluşmaması ve dolayısıyla testin zorluk derecesine bağlı olarak ev talaşının anne talaşına göre daha az tercih edilmesi şeklinde yorumlanabilir.

Sağlıklı bir sosyal gelişim için erken dönemde anne ile kurulan olfaktör bağlar oldukça önemlidir, bu nedenle hayvanların temiz talaş yerine anne talaşını seçmesi beklenmektedir (Gregory ve Pfaff, 1971; Melo ve ark., 2006). Literatüre göre VPA'e maruz kalan sıçanlar anne ve temiz talaş arasında diskriminasyon yapmakta zorlanmaktadır (Schneider ve Przewlocki, 2005). Çalışmamızda anne/Ev ve temiz talaşa ulaşma latansları ölçülen sıçanlarda kontrol ve deney grupları arasında bir fark görülmemiştir. Hesaplanan diskriminasyon skorları açısından ise

VPA grubunun kontrol grubuna göre GODİ-A ve İODİ-A skorlarının daha yüksek olması izolasyon stresi sonucu anne talaşına karşı gösterilen bir yönelim olarak yorumlanabilir. Anksiyeteye daha yatkın olduğu düşünülen otizmlı sıçanlarda, annelerinden ayrıldıktan iki gün sonra test edilmesi sonucu izolasyon stresinin indüklenmiş olduğu ve VPA grubunda anne talaşıyla daha fazla vakit geçirmenin anksiyeteye bağlı bir sonuç olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir. Melancia ve ark. (2018) olfaktör diskriminasyon testi sonuçlarına göre embriyonik dönemde VPA'ye maruz kalmış erkek sıçanların sosyal becerilerde daha kötü olduğunu bildirmiştir (Melancia ve ark., 2018). Çalışmamızın sonuçlarına göre VPA ve kontrol grupları arasında anne ve ev talaşına karşı temiz talaş testlerinde cinsiyete bağlı bir fark görülmemiştir. Çalışmamızda VPA grubu erkeklerde GODİ-A ve İODİ-A skorlarının GODİ-E ve İODİ-E skorlarına göre daha yüksek olması, otizm modeli oluşturulmuş erkek sıçanlarda da yüksek maternal bağlılığın göstergesi olarak yorumlanabilir.

Servadio ve ark. (2018) farklı VPA dozlarının etkilerini araştırmak için yaptıkları doz belirleme çalışmalarında 350 mg/kg, 400 mg/kg ve 500 mg/kg VPA kullanmışlardır. Yalnızca 500 mg/kg doz alan sıçanlarda anne talaşına ulaşma latansının arttığını göstermişlerdir. Grubun çalışması ve kendi çalışmamız göz önüne alındığında olfaktör diskriminasyonun bozulması için 400 mg/kg VPA dozundan daha yüksek dozlar kullanılmasının gerekebileceği düşünülebilir (Servadio ve ark., 2018). Fakat yüksek dozların iskelet malformasyonları ve embriyonik letaliteyi arttırdığı gösterilmiş olması nedeniyle çalışmamızda 400 mg/kg VPA tercih edilmiştir.

Literatürde trigeminal sinirin motor çekirdeğinin, nervus abducens ve nervus hypoglossus'un oluşmaya başladığı gün olarak tarif edilen E12.5, çalışmamızda da enjeksiyon zamanı olarak belirlenmiştir (Altman ve Bayer, 1995). Hummel ve Livermore (2002), olfaktör sistem ve trigeminal sinirin ilişkisini incelemiş ve koku algısının regülasyonunda ortak çalıştıklarını öne sürmüştür (Hummel ve Livermore, 2002). Silver ve ark. (1985) trigeminal sinir uçlarının desensitizasyonu sonrasında artmış olfaktör cevap gözlemlemiş ve sonuç olarak trigeminal sinirin olfaktör

iletimde inhibitör etkiye sahip olabileceğini bildirmişlerdir (Silver ve ark., 1985). VPA grubunda kontrol grubuna göre anne talaşıyla daha fazla vakit geçirmenin sebebi olarak, trigeminal sinirlerde oluşabilecek malformasyonların artmış olfaktör yanıtı neden olabileceği düşünülmektedir.

Talaşlara ulaşma latansı açısından gruplar arasında fark görülmemişken diskriminasyon skorları VPA grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek gözlenmiştir. Bu sonuçlar olfaktör diskriminasyon açısından fark olmadığını ve hesaplanan skorlarda görülen farkların ise kontrol grubunda keşfedici davranıştan, VPA grubunda ise anksiyeteye bağlı olarak güvende hissedilme tercihidenden kaynaklandığını düşündürmektedir.

Otizmlili bireyler için sosyalleşme zor bir durumdur. Kısıtlı sözcük kapasitesi ve sözsüz iletişim ve metaforları anlamakta yaşadıkları zorluklar günlük iletişimi bir mücadele haline getirmektedir. Sınırlı ilgi alanları ve rutinlerindeki ısrarlı davranışları onları zorlayıcı birer oyun arkadaşı yapmaktadır. Sonuç olarak otizmlili çocuklar otizm teriminin de önerdiği gibi kendi içlerine dönerek sosyal çevrelerinden izole olurlar (Jordan, 2003). OSB'nin başlıca semptomlarından olan sosyal etkileşim problemleri deneysel modellerde semptomatik kriteri sağlamak için modelin sahip olması gereken bir bozukluktur (Mabungu ve ark.,2015).

Normal sosyal gelişime sahip hayvanlar yalnız kalmaktansa sosyalleşmeyi tercih etmektedir. Ayrıca tanıdık ve yabancı akranı arasında tercih yapması sağlandığında yabancı ile daha çok vakit geçirerek sosyal çevresine yeni bir akran katmayı tercih etmektedir (McFarlane ve ark., 2008; Schneider ve Przewlocki, 2005; Silverman ve ark., 2011). Deneysel modellerde sosyallik ölçümü üç bölmeli sosyal etkileşim testi ve modifiye edilmiş versiyonları ile ölçülebilmektedir. Kaidonovich-Beilin ve arkadaşlarının (2011) önerdiği modelde test edilen sıçanlar sosyal tanıma sonrasında sosyal tercih için tanıma testinde birlikte oldukları sıçan ve yeni bir yabancı sıçanla test edilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız düzenek bu testin modifiye edilmiş versiyonudur ve sosyal tercih aşamasında tanıdık sıçan olarak aynı

kafeste yaşadığı kardeş sıçan kullanılmıştır (Kaidonovich-Beilin ve ark., 2011; Servadio ve ark., 2016).

İnsanlarda görülen sosyal etkileşim problemleri deneysel modellerde prenatal dönemde VPA maruziyeti ile taklit edilerek modelin semptomatik kriteri güçlendirilmektedir (Kang ve Kim, 2015; Schneider ve Przewlocki, 2005). Embriyonik dönemde VPA'e maruz kalan sıçanların üç bölmeli sosyal etkileşim testinde sosyal etkileşimden kaçınması beklenmektedir. Birinci aşama olan sosyal tanıma testinde, VPA grubu sıçanların kontrol sıçanların aksine, yabancı sıçanın olduğu haznede vakit geçirmek yerine boş olan bölmede vakit geçirmesi beklenmektedir. İkinci aşama olan sosyal tercih testinde ise yabancı ve tanıdık sıçan arasında belirli bir tercih göstermemesi beklenmektedir (Kerr ve ark., 2013; Kim ve ark., 2011; Win-Shw ve ark., 2018). Dai ve ark. (2018) ise VPA grubu sıçanların sosyal tanıma kontrollerine göre kötü olmalarına rağmen, sosyal tercih testinde bir fark gözlemediklerini bildirmişlerdir. Çalışmamızda sosyal tanıma ve sosyal tercih skorları kontrol grupları için VPA gruplarına göre daha yüksektir. Sonuçlarımıza göre sosyal tanıma kontrol gruplarının kısıtlanmış yabancı sıçanın bulunduğu kabinde daha fazla vakit geçirmesi ve VPA grubunun ise boş olan kabinde daha fazla vakit geçirmesi literatürle uyumludur.

Win-Shw ve ark. (2018) yaptıkları çalışmalarında VPA maruziyeti olan dişi ve erkek erişkin sıçanların sosyal tercih testinde keşif davranışını daha az gösterdiğini bildirmiştir. Melancia ve ark. (2018) ise hem erişkin hem de genç sıçanları kullandıkları sosyal performans testlerinin sonuçlarına göre erişkinlerde yalnızca erkek sıçanların azalmış sosyal tanıma gösterdiğini, gençlerde ise dişi ve erkek sıçanlarda azalmış oyun davranışının görüldüğünü bildirmektedir. Araştırmacıların yorumu dişilerde görülen sosyal problemlerin yalnızca oyun aşamasında olabileceği, erkeklerde ise gençlikten erişkinliğe devam eden bir sosyal etkileşim problemi olduğudur (Melancia ve ark., 2018). Çalışmamızda sosyal tanıma ve sosyal tercih testleri yalnızca “çocukluk” dönemlerinde yapılmıştır. Gruplar kendi arasında cinsiyetlere göre incelendiğinde dişi ve erkek arasında fark görülmemiştir.

İki test için de VPA dişilerin kontrol dişilere, VPA erkeklerin ise kontrol erkeklere göre daha düşük sosyal skorlar göstermesi ise literatürle uyumludur.

Otizm sıçan modellerinde sosyal etkileşim problemlerinin görülmesi genellikle beklense de aksi sonuç bildiren gruplar da vardır. Cohen ve ark. (2013) E13'de 350 mg/kg dozda VPA enjekte ettikleri Long Evans sıçanlarda modifiye edilmiş üç çemberli sosyal etkileşim testi uygulamışlardır. Testte farklı olarak kısıtlanmış hayvan yoktur, hayvanların bölmeler arası geçişini kontrol eden yarım daire şeklinde kapılar bulunmaktadır ve bu kapılardan tek seferde yalnızca bir hayvan geçebilmektedir. Hayvanların serbestçe birbiriyle oynayabildiği, birbirlerini koklayabildikleri bu düzenekte VPA'e maruz kalmış sıçanların kontrol sıçanlara göre oyun davranışa daha yatkın olduğunu göstermişlerdir (Cohen ve ark., 2013). Artmış sosyal etkileşimi gösteren diğer grup ise E12'de 600 mg/kg dozda VPA kullanmış ve sosyal etkileşimin yanısıra dişilerde artmış oksitosin seviyesini göstermişlerdir (Ştefánik ve ark., 2015). Ancak bu sonuca modifiye edilmiş üç bölmeli sosyal etkileşim düzeneğinde farklı cinsiyetten kısıtlanmış sıçan kullanımının neden olabileceği düşünülmektedir.. Çalışmamızda sosyal performans düzeneğinde yalnızca aynı cinsiyetten sıçanlar kullanılarak cinsiyetler arası oluşabilecek etkileşimlerin engellenmesi amaçlanmıştır.

Zor durumda olan birine yardım etme davranışını tetikleyici bir etmen olan empati insan dışı canlılarda da benzer ya da farklı şekillerde karşımıza çıkmaktadır. Perspektif alma, pro-sosyal davranış, sempati ve merhamet, duygusal yayılım ve taklit etme davranışları empati benzeri davranış olarak yorumlanır ve hayvanlarda çeşitli kategorilerde görülebilir (Sivaselvachandran ve ark., 2018). Stres içinde olan bir akranını rahatlatma ve bulunduğu durumdan kurtarma kendisine somut olarak bir yarar veya motivasyon kaynağı olmasa da tür içinde sosyal etkileşim ve bağlılığı arttırdığı için empati, evrimsel olarak korunmuş hayatta kalma becerileri olarak değerlendirilebilir.

Kemirgenlerde empati benzeri davranışı ilk olarak Church (1959) test etmiştir. Sıçanlara öncelikle yemek ödülü karşılığında kola basmayı öğretilmiş,

sonrasında yemek ödülü yerine kola her basıldığında bitişik kafesteki sıçana elektriksel uyarı verilmiştir. Daha önce kendisi de elektriksel uyarana maruz kalmış sıçanların kola basma sayılarında düşüş görülürken, hiç uyarana almamış kontrol grubu sıçanların kola basma sayılarında anlamlı bir değişiklik bildirilmemiştir. Bu çalışma, öncesinde elektriksel uyarı gibi olumsuz bir durumu yaşayan hayvanlarda, aynı olumsuz duruma maruz kalan akranlarına karşı empati benzeri bir davranış geliştiğini bildirmektedir. Kullandığımız düzenekte de tüm serbest sıçanlar test öncesi kısıtlayıcı kabin stresini tecrübe etmiştir. Bu sayede kabin stresi yaşayan kardeşlerine karşı empati benzeri davranış geliştirmeleri amaçlanmıştır.

Araştırmacılar tarafından empati benzeri davranışı ölçümleyen iki genel yaklaşım benimsenmiştir. Bunlardan ilki duygusal yayılımı ölçümlendiği düşünülen korku ve acıya dayalı deney düzenekleri ve ikincisi pro-sosyal davranışı ölçümlendiği düşünülen strese ve stresli durumu ortadan kaldırmaya dayalı deney düzenekleridir. Korku ve ağrıya dayalı ilk çalışmalardan biri Kavaliers ve ark. (2001) tarafından yapılmıştır. Çalışmada ilk gün denek fare ısırma sineklerin olduğu bir bölmedeyken, yan bölmede ise izleyici fare bulunmaktadır. Ertesi gün sinekler tarafından ısırılmamış izleyici farede sineklere maruz kaldığında artmış stres ve aneljezik cevap bildirilmiştir. Çalışmamızda otizm benzeri semptomatik model oluşturulmuş sıçanlar kullanılmıştır. Otizm semptom bulguları arasında ağrı algısı ve korku koşullanmasının bozulduğunu gösteren çalışmalar olduğu için, empati benzeri davranış pro-sosyal davranış üzerinden değerlendirilmiştir.

Pro-sosyal davranışı ölçümlendiği düşünülen kabul görmüş çalışmalardan biri Bartal ve ark. (2011) tarafından yapılmıştır. Çalışmalarında yardım etme davranışını serbest sıçanın kısıtlanmış sıçanın olduğu kabinin kapısını açması üzerinden değerlendirmişlerdir. Çalışma öncesinde kabin kapısını açması öğretilmiş sıçanların boş veya oyuncak sıçan bulunan kabinlerin kapısını açmadığı bildirilmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında ise düzenek içerisine kısıtlanmış sıçanın yanısıra çikolata konulmuştur. Serbest sıçanların tüm çikolatayı yemediği ve kısıtlanmış sıçanı kurtararak çikolatayı paylaştığı görülmüştür. Çalışmamızda otizm modeli

sıçanlarda öğrenme ve motivasyonun etkilerini elimine etmek ve akut olarak empati benzeri davranışı ölçebilmek için sıçanlar deney öncesi herhangi bir eğitim fazından geçmemiş ve davranışları sonucunda herhangi bir pekiştireç almamışlardır. Düzeneğimiz, modifiye edilmiş ve literatürde ilk defa kullanılan bir düzenek olmasına rağmen, kontrol grubu sıçanlar kısıtlanmış kardeşleriyle etkileşimde bulunmuş ve kabin kapısını açmayı başarmış, böylece düzeneğimizin empati benzeri davranışı ölçümleyebildiğini göstermişlerdir. VPA grubu sıçanlarda ise kabin kapısını açan sıçan bulunmamasının yanısıra kontrol grubuna göre kısıtlanmış kardeşleriyle daha az etkileşimde buldukları gözlenmiştir. Sonuçlarımız otizmlili bireylerde görülen empati sorunlarıyla uyumlu olarak otizm benzeri semptomatik model oluşturulmuş sıçanlarda da empati benzeri davranışın modellenilebildiğini göstermiştir.

Empati evrimsel olarak korunmuş ve gelişmiş bir hayatta kalma becerisidir. Evrimsel açıdan bakıldığında soyun devamı için ilk olarak yavru, sonrasında eş, sonrasında akraba ve en son ise yabancıya karşı empati duyulması beklenmektedir. Sıçanlar aynı soydan yabancı sıçanlara karşı kurtarma davranışı gösterirken, farklı soydan yabancı sıçanlara karşı kurtarma davranışı göstermemiştir (Bartal ve ark., 2014). Çalışmanın diğer bölümünde ise sıçanlar test öncesi farklı soydan olan sıçanlarla iki hafta aynı kafeste yaşatılmıştır. Birlikte yaşama sonrasında farelerin farklı soydan olmalarına rağmen kurtarma davranışı gösterdiği bildirilmektedir (Bartal ve ark., 2014). Bu bulgu aşinalığın önemini ortaya koymaktadır. Aynı çalışma farklı soydan yavrular doğum sonrasında karıştırmış ve birlikte büyümeleri sağlamıştır. Erişkinlikte test edilen sıçanların evlat edinildiği soya karşı kurtarma davranışı gösterirken, kendi soyundan olan sıçanlara karşı aynı davranışı göstermediği bildirilmiştir (Bartal ve ark., 2014). Bu durum empati benzeri davranışın yalnızca genetik benzerlikten köken almadığını, aynı zamanda sosyal etkileşim, çevre ve tecrübenin de empati üzerindeki etkilerini göstermektedir. Çalışmamızda serbest ve kısıtlanmış sıçanlar kardeştir ve birlikte büyümüşlerdir. Böylelikle yabancı sıçana karşı görülebilecek empati benzeri davranış

azlığı durumu elimine edilerek yalnızca VPA'in etkisinin gözlemlenmesi amaçlanmıştır.

İnsanlarda empatinin cinsiyetler arasında farklı olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (Baron Cohen ve ark., 2005). Fakat östrus döngüsünün etkisini elimine etmek amacıyla deneysel modellerde genellikle erkekler tercih edilmektedir. Dişilerle yapılan çalışmalar, korku ve acıya dayalı deney düzeneklerinde östrus döngüsüne bağlı olarak değişken anksiyete düzeyi nedeniyle kısıtlıdır (Mora ve ark., 1997). Normal östral döngüye sahip dişi sıçanların erkeklerle göre daha fazla keşfedici davranışta bulunduğu gösterilmiştir (Calhoun, 1963). Evrimsel açıdan bakıldığında erkeklerin daha agresif olması ve geniş çevresel nişe sahip olmaları onların korku ve acıya dayalı modellerde kullanılabilirliğini arttırmaktadır. Dişiler ise daha az agresiftir ve sosyal çevreleri daha kısıtlıdır. Bu nedenle dişilerde acı ve korkuya dayalı modeller yerine pro-sosyal modellerin kullanılması tercih edilmelidir. Çalışmamızda hem dişi hem erkek yavrular kullanılmış ve cinsiyetler arasında kontrol grubu ve VPA grubu için bir fark görülmemiştir. Sıçanlarda östrus döngüsü 5-6 gün arasında değişmektedir. Otizmin gelişimsel bir model olması nedeniyle tüm sıçanların her teste aynı gün içerisinde tabii tutulmaları amaçlanmış ve bu sebeple dişilerdeki östrus döngüsü dikkate alınmamıştır.

Empati davranışı insanlarda zamanla gelişen bir davranıştır. Yeni doğanlarda empatinin basit formlarından olan duygusal yayılım, ağlayan bir bebeği duyan bebeklerin de ağlamaya başlaması davranışında görülebilir. İkinci yaş konuşma ve motor becerilerin gelişmesiyle birlikte pro-sosyal davranışın da gelişmesi için önemli bir zamandır. Duygusal davranışı kontrol eden beyin bölgeleri arasında bağların oluşması ve güçlenmesi ile birlikte empati davranışı belirginleşmeye başlar (Ersoy ve Köşger, 2016). İnsanlarda empatinin yaş ile gelişimi gösterilmiştir fakat deneysel modellerde gelişimini gösterebilmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (Decety ve ark., 2016). Çalışmamızda empati benzeri davranışlar P30 ve P60'da test edilmiştir. Kontrol grubunda P60'da P30'a göre anlamlı olarak artan kabin kapısını açma denemesi empati benzeri pro-sosyal davranışın zamanla geliştiğini

göstermektedir. VPA grubunda ise P30 ve P60 arasında anlamlı bir artış görülmemesi VPA'in sıçanlarda sosyal gelişimi etkilediğini ve gözlemlenen sosyal etkileşim problemlerinin devam edebileceğini düşündürmektedir. Kapı açma denemesinin zamanla artması öğrenme-bellek fonksiyonlarının ve aynı zamanda ince motor becerilerin gelişiminin etkisini de düşündürücü niteliktedir. Fakat alınan ölçüt kapıyı açma denemesidir ve test kabin kapısı açıldığında sonlandırılmıştır. Empati benzeri davranışı ölçtüğü bildirilen farklı çalışmalar sıçanları test günü öncesi eğitim fazına tabii tutmuş ve sonuç olarak test gününde eğitim günlerine göre daha az sayıda kabin açma denemesi gördüklerini bildirmişlerdir. Bu sonuçlar eğitim fazı sırasında öğrenilen davranışın etkisi olarak daha az deneme ile birlikte kabin kapısının açılmasıdır. Çalışmamızda ise kontrol grubunda P60'da kapı açma denemesinde görülen artış, hayvanların öğrenmemiş olmalarına rağmen denemeyi sürdürdüklerini ve öğrenme-bellek fonksiyonlarından bağımsız olarak empati benzeri davranışa daha yakın bir davranış sergiledikleri sonucunu oluşturmaktadır. VPA grubunda ise kabin kapısı açma denemesinde herhangi bir artışın olmaması, grubun sosyal becerilerde gösterdikleri problemlerden kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamız, otizm benzeri semptomatik sıçan modellemesinde empati benzeri davranışın ilk kez ölçümlenmesi ve modifiye edilmiş yeni bir pro-sosyal empati düzeneğini önermesi nedeniyle özgün ve önemlidir.

İrkilme refleksi türler arasında korunmuş içgüdüsel bir hayatta kalma becerisidir. Asıl uyarı öncesi verilen daha düşük şiddetli uyarının, irkilme cevabında neden olduğu azalma “ön uyarı aracılı inhibisyon” olarak tanımlanmıştır (Ison ve Hammond, 1971). ÖUAİ temelinde duysal kapılama mekanizması olan ve bireyin gürültü arasından uyarıyı algılamasına yardımcı olup dikkatini yöneltmesini sağlayan bir habitüasyon mekanizmasıdır (Braff ve Geyer, 1990). Bu mekanizma işleyişindeki herhangi bir bozukluk duysal anlamda aşırı yüklenmeye neden olabileceği gibi bireyin baş etme mekanizmalarını da zayıflatmaktadır (Pellicano ve Burr, 2012).

Otizmlili bireyler duysal aşırı yüklenmeden sıkça yakınrlar ve bunun tekrarlayan davranışlara neden olduğunu düşündüren çalışmalar bildirilmiştir. Fakat

duysal kapılamada oluşabilecek herhangi bir fonksiyon bozukluğunun bu duruma neden olup olmadığı henüz net değildir (Sinclair ve ark., 2017). Oranje ve ark. (2013) otizmlı çocuklarda irkilme reflekslerinde ve ÖUAİ oranlarında bir farklılık bulunmadığını bildirmiştir. Aynı grupça yapılan takip eden çalışmada ise ön uyaran şiddetleri daha düşük kullanılmış ve küçük çocuklarda ÖUAİ oranını artmış olarak bulmuşlardır (Madsen ve ark., 2014).

Deneysel modellerde genel olarak azalmış ÖUAİ oranları bildirilse de farklı görüşler mevcuttur (Markram ve ark., 2008; Schneider ve Przewlocki, 2005). Kogan ve ark. (2015) otizmlı fare modelinde normal duysal kapılama bildirmiştir. Literatürle uyumlu olarak çalışma sonuçlarımızda görülen ÖUAİ oranlarının kontrol grubunda VPA grubuna göre daha yüksek olması VPA'nın duysal kapılama üzerinde olumsuz etkiye sebep olarak inhibisyon mekanizmasını bozduğunu düşündürmektedir. Böylelikle otizmlı bireylerde de görülen ÖUAİ sorunlarının modellenmesi çalışmamızın semptomatik geçerliliğini güçlendirmektedir.

İnsanlarla yapılan duysal kapılama çalışmaları bu mekanizmanın 8. yaş ile birlikte olgunlaştığını göstermektedir (Davies ve ark., 2009). Literatürde, duysal kapılama mekanizmasının gelişimini gösteren çalışmalara ne sağlıklı deney hayvanlarında ne de otizm gibi gelişimsel bozukluk gösteren modellerde rastlanmamıştır. Otizmlı kemirgen modellerde çocukluk, ergenlik ya da erişkinlik zamanlarından ya yalnızca birinde ya da en fazla ikisinde ÖUAİ ölçümleri alınmış, fakat gelişimi vurgulayacak yeterli veri oluşmamıştır. Çalışmamızda kontrol ve VPA grupları P35, P65 ve P95'de ÖUAİ testine tabii tutulmuştur. Sonuçlarımıza göre ortaya çıkan kontrol gruplarının P35'den P65'e ve P65'den P95'e gösterdikleri ÖUAİ gelişimi, duysal kapılama mekanizmasının sıçanlarda yaşamın ilerleyen evrelerinde olgunlaştığını düşündürücü niteliktedir. Genel yaşam ömrü dikkate alındığında 8 insan yılı yaklaşık 105 sıçan günü etmektedir (Sengupta, 2013). Kontrol grubunda aldığımız sonuçlar duysal kapılama mekanizmasının insanlarla benzer bir gelişimsel zaman dilimine denk geldiğini düşündürmektedir. VPA grubu için üç ölçüm zamanı karşılaştırıldığında ise hayvanların P65 ve P95 arasında duysal

kapılamada herhangi bir gelişim göstermediği görülmüştür. Bu bulgu VPA'in nörogelişimsel bir bozukluk olan otizmin gelişimsel boyutunu da modelleyerek semptomatik geçerliliği arttırması , aynı zamanda bir çalışmada ilk kez gösterilmesi açısından önemli ve ilerleyen çalışmalar için umut vaat edicidir.

Davranış testleriyle paralel zamanlarda ölçülen lokomotor aktivite testinde hayvanların hareketli ve hareketsiz geçirdikleri süreler, yürüme mesafesi ve süresi ile birlikte hız değerlendirilmiştir. Schneider ve Przewlocki (2005) prenatal VPA maruziyetine sahip OSB grubu sıçanlar ve kontrol grubu sıçanlar arasında yürüme mesafesi bakımından bir fark olmadığını bildirmektedir. Çalışmamızda da iki grup arasında anlamlı bir fark görülmemesi literatürle uyumludur. Sosyal performans ve empati benzeri davranış testleriyle yakın zamanda yapılan lokomotor aktivite testinin bu sonucu, davranış deneylerinde görülen VPA grubundaki sosyal etkileşim eksikliğinin lokomotor sistem kaynaklı olmadığını düşündürmektedir.

Yürüme mesafesi açısından fark olmamasına rağmen VPA grubunda hareketsizlik süresinin daha uzun olması, bu durumun OSB modellerinde görülen anksiyete ile ilişkili hareketsizlik nedeniyle olabileceğini düşündürmektedir.

Etiyolojik ve semptomatik açıdan spektrum özelliği gösteren OSB'ını, sıçanlarda embriyonik dönemde VPA maruziyetiyle modellediğimiz çalışmamızda hayvanlar fiziksel malformasyonlar, olfaktör diskriminasyon, sosyal performans, empati benzeri davranış, ÖUAİ ve lokomotor aktivite açısından değerlendirilmiştir. Deney grubunda bildirdiğimiz kuyruk deformiteleri VPA'in teratojenik etkilerini doğrular şekildedir. Olfaktör diskriminasyon testinde literatürden farklı olarak latanslarda fark görmemenin yanısıra, VPA grubunda anne talaşında daha fazla vakit geçirildiğini gözlemlenmiştir. Sosyal performans test sonuçları OSB'nin ana semptomlarından biri olan sosyal etkileşim problemlerinin yavrularda prenatal VPA etkisiyle oluşabildiğini göstermiştir. Empati benzeri davranışın OSB modellerinde ilk kez modellenmesiyle özgün olan çalışmamız aynı zamanda empati benzeri davranışın zaman içindeki gelişimini de tanımlamaktadır. VPA grubunda ÖUAİ test sonuçlarının literatürle uyumlu bir şekilde daha düşük olması çalışmamızda VPA'in

etkisini davranış verilerinin yanısıra fizyolojik olarak da göstermektedir. VPA grubundan bağımsız olarak kontrol grubunda görülen ÖUAİ oranlarında zamana bağlı artış, duysal kapılama mekanizmasının gelişimini göstererek literatüre özgün bir değer katmıştır. Lokomotor veriler literatürle uyumludur ve aynı zamanda davranış verilerinin lokomotor problem kaynaklı olmadığını gösterir niteliktedir. Sonuç olarak embriyonik dönemde VPA maruziyeti, sıçanlarda OSB benzeri semptomatik bulgulara neden olmuştur. Semptomların spektrum halinde görüldüğü ve VPA'in sosyal ve nöral gelişim açısından etkileri olduğu gösterilmiştir.

6. KAYNAKLAR

- Altman J, Bayer SA (1995) Atlas of prenatal rat brain development. CRC press.
- American Psychiatric Association (2013) Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5®). American Psychiatric Pub.
- Arkonaç O (1999) Psikiyatri Sözlüğü. İstanbul Nobel Tıp Kitabevleri.
- Arndt TL, Stodgell CJ, Rodier PM (2005) The teratology of autism. *International Journal of Developmental Neuroscience* 23(2-3): 189-199.
- Ashwood P, Van de Water J (2004) Is autism an autoimmune disease?. *Autoimmunity reviews* 3(7-8): 557-562.
- Auyeung B, Baron-Cohen S, Ashwin E et al (2009) Fetal testosterone and autistic traits. *British Journal of Psychology* 100(1): 1-22.
- Backster C (1968) Evidence of a Primary Perception in Pkant Life. *International Journal of Parapsychology* 10(4): 329-348.
- Baf MM, Subhash MN, Lakshmana KM et al (1994) Sodium valproate induced alterations in monoamine levels in different regions of the rat brain. *Neurochemistry international* 24(1): 67-72.
- Baio J, Wiggins L, Christensen DL et al (2018) Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years—autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2014. *MMWR Surveillance Summaries* 67(6), 1.
- Baron-Cohen S, Knickmeyer RC, Belmonte MK (2005) Sex differences in the brain: implications for explaining autism. *Science* 310(5749): 819-823.
- Baron-Cohen S, Ring HA, Bullmore ET et al (2000) The amygdala theory of autism. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 24(3): 355-364.
- Bartal IBA, Decety J, Mason P (2011) Empathy and pro-social behavior in rats. *Science* 334(6061): 1427-1430.

Bartal, IBA, Rodgers DA, Sarria MSB et al (2014) Pro-social behavior in rats is modulated by social experience. *Elife* 3: e01385.

Barth PG (1987) Disorders of neuronal migration. *Canadian Journal of Neurological Sciences* 14(1): 1-16.

Basch MF (1983) Empathic understanding: A review of the concept and some theoretical considerations. *Journal of the American Psychoanalytic Association* 31(1): 101-126.

Bauman ML, Kemper TL (2005) *The neurobiology of autism*. JHU Press.

Bissonette GB, Martins GJ, Franz TM et al (2008) Double dissociation of the effects of medial and orbital prefrontal cortical lesions on attentional and affective shifts in mice. *Journal of Neuroscience* 28(44): 11124-11130.

Bjorklund G, Saad K, Chirumbolo S et al (2016) Immune dysfunction and neuroinflammation in autism spectrum disorder. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 76(4): 257-268.

Bleuler E (1916) *Lehrbuch der psychiatrie*. Springer-Verlag.

Bobee S, Mariette E, Tremblay-Leveau H et al (2000) Effects of early midline cerebellar lesion on cognitive and emotional functions in the rat. *Behavioural brain research* 112(1-2): 107-117.

Bolivar VJ, Walters SR, Phoenix JL (2007) Assessing autism-like behavior in mice: variations in social interactions among inbred strains. *Behavioural brain research* 176(1): 21-26.

Braff DL, Geyer MA, Swerdlow NR (2001) Human studies of prepulse inhibition of startle: normal subjects, patient groups, and pharmacological studies. *Psychopharmacology* 156(2-3): 234-258.

Brudzynski SM (2013) Ethotransmission: communication of emotional states through ultrasonic vocalization in rats. *Current opinion in neurobiology* 23(3) : 310-317.

Burton BS (1882) On the propyl derivatives and decomposition products of ethylacetoacetate. *American Chemistry Journal* 18 (3): 385-95.

Calhoun JB (1963) *The Ecology and Sociology of the Norway Rat*. US Government Printing Office.

- Cannell JJ (2008) Autism and vitamin D. *Medical hypotheses* 70(4): 750-759.
- Caracci MO, Ávila ME, De Ferrari GV (2016) Synaptic Wnt/GSK3 β signaling hub in autism. *Neural plasticity*.
- Casanova MF, van Kooten IA, Switala AE et al (2006) Minicolumnar abnormalities in autism. *Acta neuropathologica* 112(3): 287.
- Chen Q, Panksepp JB, Lahvis GP (2009) Empathy is moderated by genetic background in mice. *PloS one* 4(2): e4387.
- Chess S (1971) Autism in children with congenital rubella. *Journal of autism and childhood schizophrenia* 1(1): 33-47.
- Church RM (1959) Emotional reactions of rats to the pain of others. *Journal of comparative and physiological psychology* 52(2): 132.
- Cohen OS, Varlinskaya EI, Wilson CA et al (2013) Acute prenatal exposure to a moderate dose of valproic acid increases social behavior and alters gene expression in rats. *International Journal of Developmental Neuroscience* 31(8): 740-750.
- Courchesne E, Mouton PR, Calhoun ME et al (2011) Neuron number and size in prefrontal cortex of children with autism. *Jama* 306(18): 2001-2010.
- Courchesne E, Pierce K, Schumann CM et al (2007) Mapping early brain development in autism. *Neuron* 56(2): 399-413.
- Cutrer FM (2001) Antiepileptic drugs: how they work in headache. *Headache: The Journal of Head and Face Pain* 41: 3-11.
- Czuczwar SJ, Frey HH, Löscher W (1985) Antagonism of N-methyl-D, L-aspartic acid-induced convulsions by antiepileptic drugs and other agents. *European journal of pharmacology* 108(3): 273-280.
- Dai YC, Zhang HF, Han SP et al (2018) Neonatal Oxytocin Treatment Ameliorates Autistic-Like Behaviors and Oxytocin Deficiency in Valproic Acid-Induced Rat Model of Autism. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 12: 355.
- Davidson PW, Myers GJ, Weiss B (2004) Mercury exposure and child development outcomes. *PEDIATRICS-SPRINGFIELD* 113(4): 1023-1029.
- Davies PL, Chang WP, Gavin WJ (2009) Maturation of sensory gating performance in children with and without sensory processing disorders. *International journal of psychophysiology* 72(2): 187-197.

Davis R, Peters DH, McTavish D (1994) Valproic acid. A reappraisal of its pharmacological properties and clinical efficacy in epilepsy. *Drugs* 47(2): 332-372.

Decety J, Bartal IBA, Uzefovsky F et al (2016) Empathy as a driver of prosocial behaviour: highly conserved neurobehavioural mechanisms across species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 371(1686): 20150077.

DiGuseppi C, Hepburn S, Davis JM et al (2010) Screening for autism spectrum disorders in children with Down syndrome: population prevalence and screening test characteristics. *Journal of developmental and behavioral pediatrics: JDBP* 31(3): 181.

Dixon JF, Hokin LE (1997) The antibipolar drug valproate mimics lithium in stimulating glutamate release and inositol 1, 4, 5-trisphosphate accumulation in brain cortex slices but not accumulation of inositol monophosphates and bisphosphates. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94(9): 4757-4760.

Dufour-Rainfray D, Vourc'h P, Tourlet S et al (2011) Fetal exposure to teratogens: evidence of genes involved in autism. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 35(5): 1254-1265.

Durkin MS, Maenner MJ, Newschaffer CJ et al (2008) Advanced parental age and the risk of autism spectrum disorder. *American journal of epidemiology* 168(11): 1268-1276.

El-Ansary A, Al-Ayadhi L (2014) GABAergic/glutamatergic imbalance relative to excessive neuroinflammation in autism spectrum disorders. *Journal of neuroinflammation* 11(1): 189.

Ersoy E, Köşger F (2016) Empati: Tanımı ve Önemi/empathy: Definition and its importance. *Osmangazi Tıp Dergisi* 38(2): 9-17. 2

Faiella A, Wernig M, Consalez GG et al (2000) A mouse model for valproate teratogenicity: parental effects, homeotic transformations, and altered HOX expression. *Human molecular genetics* 9(2): 227-236.

Favre MR, Barkat TR, Mendola DL et al (2013) General developmental health in the VPA-rat model of autism. *Frontiers in behavioral neuroscience* 7: 88.

Fombonne E (2003) Epidemiological surveys of autism and other pervasive developmental disorders: an update. *Journal of autism and developmental disorders* 33(4): 365-382.

Franceschetti S, Hamon B, Heinemann U (1986) The action of valproate on spontaneous epileptiform activity in the absence of synaptic transmission and on evoked changes in $[Ca^{2+}]_0$ and $[K^+]_0$ in the hippocampal slice. *Brain research* 386(1-2): 1-11.

Gajović S, Kostović-Knežević L, Švajger A (1989) Origin of the notochord in the rat embryo tail. *Anatomy and embryology* 179(3): 305-310.

Gandal MJ, Edgar JC, Ehrlichman RS et al (2010) Validating γ oscillations and delayed auditory responses as translational biomarkers of autism. *Biological psychiatry* 68(12): 1100-1106.

Gao J, Wang X, Sun H et al (2016) Neuroprotective effects of docosahexaenoic acid on hippocampal cell death and learning and memory impairments in a valproic acid-induced rat autism model. *International Journal of Developmental Neuroscience* 49: 67-78.

Geschwind DH (2011) Genetics of autism spectrum disorders. *Trends in cognitive sciences* 15(9): 409-416.

Goldenfeld N, Baron-Cohen S, Wheelwright S (2005) Empathizing and systemizing in males, females and autism. *Clinical Neuropsychiatry* 2(6): 338-345.

Gregory EH, Pfaff DW (1971) Development of olfactory-guided behavior in infant rats. *Physiology & behavior* 6(5): 573-576.

Hamdan FF, Daoud H, Rochefort D et al (2010) De novo mutations in FOXP1 in cases with intellectual disability, autism, and language impairment. *The American Journal of Human Genetics* 87(5): 671-678.

Happé FG (1993) Communicative competence and theory of mind in autism: A test of relevance theory. *Cognition* 48(2): 101-119.

Hummel T, Livermore A (2002) Intranasal chemosensory function of the trigeminal nerve and aspects of its relation to olfaction. *International archives of occupational and environmental health* 75(5): 305-313.

Iacoboni M, Dapretto M (2006) The mirror neuron system and the consequences of its dysfunction. *Nature Reviews Neuroscience* 7(12): 942.

Ison JR, Hammond GR (1971) Modification of the startle reflex in the rat by changes in the auditory and visual environments. *Journal of comparative and physiological psychology* 75(3): 435.

Jordan R (2003) Social play and autistic spectrum disorders: a perspective on theory, implications and educational approaches. *Autism* 7(4): 347-360.

Jung GA, Yoon JY, Moon BS et al (2008) Valproic acid induces differentiation and inhibition of proliferation in neural progenitor cells via the beta-catenin-Ras-ERK-p21 Cip/WAF1 pathway. *BMC cell biology* 9(1): 66.

Kaidanovich-Beilin O, Lipina T, Vukobradovic I et al (2011) Assessment of social interaction behaviors. *Journal of Visualized Experiments: JoVE* (48).

Kang J, Kim E (2015) Suppression of NMDA receptor function in mice prenatally exposed to valproic acid improves social deficits and repetitive behaviors. *Front. Mol. Neurosci* 8: 17.

Kanner L (1943) Autistic disturbances of affective contact. *Nervous child* 2(3): 217-250.

Kataoka S, Takuma K, Hara Y et al (2013) Autism-like behaviours with transient histone hyperacetylation in mice treated prenatally with valproic acid. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 16(1): 91-103.

Kavaliers M, Choleris E, Colwell DD (2001). Learning from others to cope with biting flies: social learning of fear-induced conditioned analgesia and active avoidance. *Behavioral neuroscience* 115(3): 661.

Kawicka A, Regulska-Ilow B (2013) How nutritional status, diet and dietary supplements can affect autism. A review. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny* 64(1).

Kelleher III RJ, Bear MF (2008) The autistic neuron: troubled translation?. *Cell* 135(3): 401-406.

Kern JK, Jones AM (2006) Evidence of toxicity, oxidative stress, and neuronal insult in autism. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B* 9(6): 485-499.

Kerr DM, Downey L, Conboy M et al (2013) Alterations in the endocannabinoid system in the rat valproic acid model of autism. *Behavioural Brain Research* 249: 124-132.

Kim KC, Kim P, Go HS et al (2011) The critical period of valproate exposure to induce autistic symptoms in Sprague–Dawley rats. *Toxicology letters* 201(2): 137-142.

Kogan JH, Gross AK, Featherstone RE et al (2015) Mouse model of chromosome 15q13.3 microdeletion syndrome demonstrates features related to autism spectrum disorder. *Journal of Neuroscience* 35(49): 16282-16294.

Kolevzon A, Gross R, Reichenberg A (2007) Prenatal and perinatal risk factors for autism: a review and integration of findings. *Archives of pediatrics & adolescent medicine* 161(4): 326-333.

Lancaster K, Dietz DM, Moran TH et al (2007) Abnormal social behaviors in young and adult rats neonatally infected with Borna disease virus. *Behavioural brain research* 176(1): 141-148.

Langford DJ, Crager SE, Shehzad Z et al (2006) Social modulation of pain as evidence for empathy in mice. *Science* 312(5782): 1967-1970.

Mabunga DFN, Gonzales ELT, Kim JW et al (2015) Exploring the validity of valproic acid animal model of autism. *Experimental neurobiology* 24(4): 285-300.

Madsen GF, Bilenberg N, Cantio C et al (2014) Increased prepulse inhibition and sensitization of the startle reflex in autistic children. *Autism Research* 7(1): 94-103.

Markram K, Rinaldi T, La Mendola D et al (2008) Abnormal fear conditioning and amygdala processing in an animal model of autism. *Neuropsychopharmacology* 33(4): 901.

Martens MA, Wilson SJ, Dudgeon P et al (2009) Approachability and the amygdala: insights from Williams syndrome. *Neuropsychologia* 47(12): 2446-2453.

McFarlane H, Kusek G, Yang M et al (2008) Autism-like behavioral phenotypes in BTBR T^{tf/J} mice. *Genes, Brain and Behavior* 7: 152-163.

Melancia F, Schiavi S, Servadio M et al (2018) Sex-specific autistic endophenotypes induced by prenatal exposure to valproic acid involve anandamide signalling. *British journal of pharmacology* 175(18): 3699-3712.

Melo AI, Lovic V, Gonzalez A et al (2006) Maternal and littermate deprivation disrupts maternal behavior and social-learning of food preference in adulthood: Tactile stimulation, nest odor, and social rearing prevent these effects. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology* 48(3): 209-219.

- Menegola E, Broccia ML, Prati M et al (2003) Stage-dependent skeletal malformations induced by valproic acid in rat. *International Journal of Developmental Biology* 42(1): 99-102.
- Meunier H, Carraz G, Meunier Y et al (1963) Propriétés pharmacodynamiques de l'acide n-dipropylacétique. *Thérapie* 18:435-438.
- Minschew NJ, Williams DL (2007) The new neurobiology of autism: cortex, connectivity, and neuronal organization. *Archives of neurology* 64(7): 945-950.
- Mora S, Dussaubat N, Díaz-Véliz G (1996) Effects of the estrous cycle and ovarian hormones on behavioral indices of anxiety in female rats. *Psychoneuroendocrinology* 21(7): 609-620.
- Nakatani J, Tamada K, Hatanaka F et al (2009) Abnormal behavior in a chromosome-engineered mouse model for human 15q11-13 duplication seen in autism. *Cell* 137(7): 1235-1246.
- Nanson JL (1992) Autism in fetal alcohol syndrome: a report of six cases. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 16(3): 558-565.
- Nicolini C, Fahnestock M (2018) The valproic acid-induced rodent model of autism. *Experimental neurology* 299: 217-227.
- Norbury CF (2005) The relationship between theory of mind and metaphor: Evidence from children with language impairment and autistic spectrum disorder. *British Journal of Developmental Psychology* 23(3): 383-399.
- Opris I, Casanova MF (2014) Prefrontal cortical minicolumn: from executive control to disrupted cognitive processing. *Brain* 137(7): 1863-1875.
- Oral S, Göktaş G (2012) Şizofreni Hastalığının Biyolojik Belirteçlerinden Olan Ön Uyarıcı Aracılı İnhibisyon Testine (ÖUAİ) Göre Gruplandırılmış Sıçanların Dizosilpin (MK-801)'e Verdikleri Yanıt Farklılıkları. *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2(1): 5-10.
- Oranje B, Lahuis B, van Engeland H et al (2013) Sensory and sensorimotor gating in children with multiple complex developmental disorders (MCDD) and autism. *Psychiatry Research* 206(2-3): 287-292.
- Ornoy A (2009) Valproic acid in pregnancy: how much are we endangering the embryo and fetus?. *Reproductive toxicology* 28(1): 1-10.

Öz P, Gökalp HK, Göver T et al (2018) Dose-dependent and opposite effects of orexin A on prepulse inhibition response in sleep-deprived and non-sleep-deprived rats. *Behavioral Brain Research* 346:73-79.

Ozonoff S, Young GS, Carter A et al (2011) Recurrence risk for autism spectrum disorders: a Baby Siblings Research Consortium study. *Pediatrics* 128(3): e488.

Pearson BL, Pobbe RLH, Defensor EB, et al (2011). Motor and cognitive stereotypies in the BTBR T+ tf/J mouse model of autism. *Genes, Brain and Behavior* 10(2): 228-235.

Pellicano E, Burr D (2012) When the world becomes 'too real': a Bayesian explanation of autistic perception. *Trends in cognitive sciences* 16(10): 504-510.

Persico AM, Bourgeron T (2006). Searching for ways out of the autism maze: genetic, epigenetic and environmental clues. *Trends in neurosciences* 29(7): 349-358.

Pizzarelli R, Cherubini E (2011) Alterations of GABAergic signaling in autism spectrum disorders. *Neural plasticity*.

Rapin I, Tuchman RF (2008) Autism: definition, neurobiology, screening, diagnosis. *Pediatric Clinics of North America* 55(5): 1129-1146.

Rey JM (2006) IACAPAP textbook of child and adolescent mental health. *The Lancet*.

Rice D, Barone Jr S (2000) Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. *Environmental health perspectives* 108(suppl 3): 511-533.

Rizzolatti G, Craighero L (2005) Mirror neuron: a neurological approach to empathy. In *Neurobiology of human values* (pp. 107-123) Springer, Berlin, Heidelberg.

Rizzolatti G, Fabbri-Destro M, Cattaneo L (2009) Mirror neurons and their clinical relevance. *Nature Reviews Neurology* 5(1): 24.

Rizzolatti G, Fadiga L, Gallese V et al (1996) Premotor cortex and the recognition of motor actions. *Cognitive brain research* 3(2): 131-141.

Rodier PM, Ingram JL, Tisdale B et al (1996) Embryological origin for autism: developmental anomalies of the cranial nerve motor nuclei. *Journal of Comparative Neurology* 370(2): 247-261.

Rosenberg RE, Law JK, Yenokyan G et al (2009) Characteristics and concordance of autism spectrum disorders among 277 twin pairs. *Archives of pediatrics & adolescent medicine* 163(10): 907-914.

Ruhela RK, Sarma P, Soni S et al (2017) Congenital malformation and autism spectrum disorder: Insight from a rat model of autism spectrum disorder. *Indian journal of pharmacology* 49(3): 243.

Saft P, Toledo-Cardenas R, Coria-Avila GA et al (2014) Characterization of four types of tail abnormalities in rats treated prenatally with valproic acid. *Revista Eneurobiología* 5(9): 070714.

Sato N, Tan L, Tate K, et al (2015) Rats demonstrate helping behavior toward a soaked conspecific. *Animal cognition* 18(5): 1039-1047.

Schendel D, Bhasin TK (2008) Birth weight and gestational age characteristics of children with autism, including a comparison with other developmental disabilities. *Pediatrics* 121(6): 1155-1164.

Schmitz C, Rezaie P (2008) The neuropathology of autism: where do we stand?. *Neuropathology and applied neurobiology* 34(1): 4-11.

Schneider T, Przewłocki R (2005) Behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid: animal model of autism. *Neuropsychopharmacology* 30(1): 80.

Schneider T, Ziłkowska B, Gieryk A et al (2007) Prenatal exposure to valproic acid disturbs the enkephalinergic system functioning, basal hedonic tone, and emotional responses in an animal model of autism. *Psychopharmacology* 193(4):547-555.

Schultz RT (2005) Developmental deficits in social perception in autism: the role of the amygdala and fusiform face area. *International Journal of Developmental Neuroscience* 23(2-3): 125-141.

Sengupta P (2013) The laboratory rat: relating its age with human's. *International journal of preventive medicine* 4(6): 624.

Servadio M, Manduca A, Melancia F et al (2018) Impaired repair of DNA damage is associated with autistic-like traits in rats prenatally exposed to valproic acid. *European Neuropsychopharmacology* 28(1): 85-96.

Servadio M, Melancia F, Manduca A et al (2016) Targeting anandamide metabolism rescues core and associated autistic-like symptoms in rats prenatally exposed to valproic acid. *Translational Psychiatry* 6(9): e902.

Sharma RM (1992) Empathy-A retrospective on its development in psychotherapy. *Australian and New Zealand journal of psychiatry* 26(3): 377-390.

Siberstein S (2002) Valproic acid: clinical efficacy and use in other neurological disorders. *Antiepileptic drugs*.

Silver WL, Mason JR, Marshall DA et al (1985). Rat trigeminal, olfactory and taste responses after capsaicin desensitization. *Brain research* 333(1): 45-54.

Silverman JL, Turner SM, Barkan CL et al (2011) Sociability and motor functions in Shank1 mutant mice. *Brain Research* 1380: 120-137.

Sinclair D, Oranje B, Razak KA et al (2017) Sensory processing in autism spectrum disorders and Fragile X syndrome—From the clinic to animal models. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 76: 235-253.

Sivaselvachandran S, Acland EL, Abdallah S et al (2018) Behavioral and mechanistic insight into rodent empathy. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 91: 130-137.

Smith A (2006) Cognitive empathy and emotional empathy in human behavior and evolution. *The Psychological Record* 56(1): 3-21.

Stadelmaier R, Nasri H, Deutsch CK et al (2017) Exposure to sodium valproate during pregnancy: Facial features and signs of autism. *Birth defects research* 109(14): 1134-1143.

Štefáňik P, Olexová L, Kršková L (2015) Increased sociability and gene expression of oxytocin and its receptor in the brains of rats affected prenatally by valproic acid. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 131: 42-50.

Stigler KA, Sweeten TL, Posey DJ et al (2009) Autism and immune factors: a comprehensive review. *Research in Autism Spectrum Disorders* 3(4): 840-860.

Strömland K, Nordin V, Miller M et al (1994) Autism in thalidomide embryopathy: a population study. *Developmental Medicine & Child Neurology* 36(4): 351-356.

Sweileh WM, Al-Jabi SW, Sawalha AF et al (2016) Bibliometric profile of the global scientific research on autism spectrum disorders. *SpringerPlus* 5(1): 1480.

Tang G, Rios PG, Kuo SH et al (2013) Mitochondrial abnormalities in temporal lobe of autistic brain. *Neurobiology of disease* 54: 349-361.

Taniai H, Nishiyama T, Miyachi T et al (2008) Genetic influences on the broad spectrum of autism: Study of proband-ascertained twins. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics* 147(6): 844-849.

Tiihonen J, Hodgins S, Vaurio O et al (2017). Amygdaloid volume loss in psychopathy. In *Society for Neuroscience Abstracts*.

Tomson T, Battino D, Bonizzoni E et al (2011) Dose-dependent risk of malformations with antiepileptic drugs: an analysis of data from the EURAP epilepsy and pregnancy registry. *The Lancet Neurology* 10(7): 609-617.

Trottier G, Srivastava L, Walker CD (1999) Etiology of infantile autism: a review of recent advances in genetic and neurobiological research. *Journal of Psychiatry and Neuroscience* 24(2): 103.

Turrigiano GG, Nelson SB (2004) Homeostatic plasticity in the developing nervous system. *Nature reviews neuroscience* 5(2): 97.

Van der Laan JW, De Boer T, Brunivels J (1979) Dt-N-Propylacetate And Gaba Degradation. Preferential Inhibition Of Succinic Semialdehyde Dehydrogenase And Indirect Inhibition Of Gaba-Transaminase. *Journal of Neurochemistry* 32(6): 1769-1780.

Volkmar FR, Klin A (2005) Issues in the classification of autism and related conditions.

Volkmar FR, Lord C, Bailey A et al (2004) Autism and pervasive developmental disorders. *Journal of child psychology and psychiatry* 45(1): 135-170.

Vorhees CV (1987) Teratogenicity and developmental toxicity of valproic acid in rats. *Teratology* 35(2) 195-202.

Wang Z, Hong Y, Zou L et al (2014) Reelin gene variants and risk of autism spectrum disorders: An integrated meta-analysis. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics* 165(2): 192-200.

Wegner C, Nau H (1992) Alteration of embryonic folate metabolism by valproic acid during organogenesis: implications for mechanism of teratogenesis. *Neurology* 42(4 Suppl 5): 17-24.

Weintraub K (2011) The prevalence puzzle: autism counts. *Nature News* 479(7371): 22-24.

Werling DM, Geschwind DH (2013) Sex differences in autism spectrum disorders. *Current opinion in neurology* 26(2): 146.

Weston J, Bromley R, Jackson CF et al (2016) Monotherapy treatment of epilepsy in pregnancy: congenital malformation outcomes in the child. *Cochrane Database of Systematic Reviews* (11).

Willner P (1984) The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology* 83(1): 1-16.

Wing L (1988) The continuum of autistic characteristics. In *Diagnosis and assessment in autism* (pp. 91-110) Springer, Boston, MA.

Win-Shw TT, Nway NC, Imai M et al (2018) Social behavior, neuroimmune markers and glutamic acid decarboxylase levels in a rat model of valproic acid-induced autism. *The Journal of Toxicological Sciences* 43(11): 631-643.

Wolterink G, Daenen LE, Dubbeldam S et al (2001) Early amygdala damage in the rat as a model for neurodevelopmental psychopathological disorders. *European Neuropsychopharmacology* 11(1): 51-59.

Xu X, Miller EC, Pozzo-Miller L (2014) Dendritic spine dysgenesis in Rett syndrome. *Frontiers in neuroanatomy* 8: 97.

Yang M, Silverman JL, Crawley JN (2011) Automated three-chambered social approach task for mice. *Current protocols in neuroscience* 56(1): 8-26.

Yates K, Le Couteur A (2016) Diagnosing autism/autism spectrum disorders. *Paediatrics and Child Health* 26(12): 513-518.

Zecavati N, Spence SJ (2009) Neurometabolic disorders and dysfunction in autism spectrum disorders. *Current neurology and neuroscience reports* 9(2): 129-136.

7. SİMGELER VE KISALTMALAR

APA: American Psychiatry Association
CDC: Centre for Disease Control and Prevention
CNV: Copy Number Variants
dB: Desibel
DSM-V: The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition
ERK: Extracellular Signal Regulated Kinase
E/I: Ekstibatör/ İnhibatör
E'sayı': Embriyonik Gün 'Sayı'
GABA: Gama-Aminobütirik Asit
GODİ-A: Genel Olfaktör Diskriminasyon İndeksi- Anne
GODİ-E: Genel Olfaktör Diskriminasyon İndeksi- Ev
GSK3 β : Glikojen Sentaz Kinaz 3 b-Beta
GSTİ: Genel Sosyal Tanıma İndeksi
İODİ-A: İlgili Olfaktör Diskriminasyon İndeksi- Anne
İODİ-E: İlgili Olfaktör Diskriminasyon İndeksi- Ev
İSTİ: İlgili Sosyal Tanıma İndeksi
NMDA: N-metil-D-aspartat
NPFUAM: Nöropsikofarmakoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi
OSB: Otizm Spektrum Bozuklukları
ÖUAİ: Ön Uyarıcı Aracılı İnhibisyon
P'sayı': Postnatal Gün 'sayı'
TTT: Toplam Tanıdık Tercihi
TYT: Toplam Yabancı Tercihi
VPA: Valproik Asit
Wnt: Wingless Integrated

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimimi aldığım Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Kasım Özlük'e eğitimim boyunca gösterdiği hoşgörü ve üniversiteler arası ortak çalışmaya verdiği destekten ötürü, danışmanım Doç. Dr. Bülent Gören'e destekleri ve sabırla üzerinde çalıştığımız tez için ayırdığı zaman, katkı ve tavsiyelerinden dolayı ve bütün Fizyoloji Anabilim Dalı hocalarıma eğitimime verdikleri katkılardan dolayı teşekkür ederim. Tezimin deneylerini yapabilmem için laboratuvarını kullanmama müsaade eden ve her aşamada yardımcı olan Üsküdar Üniversitesi'nden Prof. Dr. Tayfun Uzbay'a ve bilimsel açıdan her zaman beni besleyen, akademik hayatın dışında sosyal olarak da vakit geçirmekten, bilim- kurgu ve fantastik yayınları tartışmaktan son derece keyif aldığım eş danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Pınar Öz'e teşekkür ediyorum.

Deney aşamalarında yardımcı olan Vet. Hekim Burcu Çevreli ve Lab Teknisyeni Emre Karaca'ya ve deneyler sırasındaki özverileri ve hayvanlara karşı sevgilerinden dolayı Şeyma Teomete, Bilge Ünal ve Sümeyye Şirin'e, beden ve ruh sağlığım açısından beni düşünen, kurabiyeleriyle besleyen ve her zaman desteğini hissettiren Ayşe Naz Hazal Sezen'e ve deney materyallerinin temini için yardımcı olan arkadaşlarıma teşekkür ederim. Tez yazım aşamalarında benimle usanmadan beyin fırtınası yapan, tavsiyeleriyle bu metni daha iyi hale getirdiğim Fizyoloji Anabilim Dalı'ndan Öğr. Gör. Dr. Ayşen Çakır, Araş. Gör. Büşra Öcalan ve Araş. Gör. Dr. Birnur Aydın'a teşekkür ederim.

Tüm bu süreçte desteklerini tamamıyla hissettiğim, en stresli olduğum anlarda bile beni neşelendirebilen, hayatım boyunca da arkamda olduklarından emin olduğum, birlikte olduğumuz her saniye için şükrettiğim annem, babam ve kardeşlerime sevgileri, güvenleri ve varlıkları için çok teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

14 Nisan 1995 yılında Bursa'da doğdu. Orta öğrenimini Özel İlgüneş Okulları'nda, lise öğrenimini Rafet Kahraman Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2012 yılında Üsküdar Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nü kazandı. 2013 yılında yine aynı üniversitede çift anadal programı dahilinde Psikoloji Bölümü'ne başladı. 2014 yılında Amgen Vakfı'ndan kazanmış olduğu araştırma bursu ile Cambridge Üniversitesi'nde, 2015 yılında ise Harvard Üniversitesi'nden kazandığı burs ile sinirbilim alanında araştırmalar yaptı. 2016 yılında iki bölümden de mezun oldu. Mezun olduktan sonra Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fiziyojji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. 2018 yılında aynı bölüme Araştırma Görevlisi olarak atandı, halen bu görevine devam etmektedir.

BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TEZ ÇOĞALTMA VE ELEKTRONİK YAYIMLAMA İZİN FORMU

Yazar Adı Soyadı	Süeda Tunçak
Tez Adı	Valproik Asit ile Otizm Modeli Oluşturulan Sıçanlarda Empati Benzeri Davranışın Değerlendirilmesi
Enstitü	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Tıp-Fizyoloji Anabilim Dalı
Tez Türü	Yüksek Lisans
Tez Danışman(lar)ı	Doç. Dr. Bülent Gören, Dr. Öğr. Üyesi Pınar Öz
Çoğaltma (Fotokopi Çekim) izni	Tezimden fotokopi çekilmesine izin veriyorum Tezimin sadece içindekiler, özet, kaynakça ve içeriğinin % 10 bölümünün fotokopi çekilmesine izin veriyorum <u>Tezimden fotokopi çekilmesine izin vermiyorum</u> ✓
Yayımlama izni	Tezimin elektronik ortamda yayımlanmasına izin veriyorum 6 Ay gecikmeli olarak

Hazırlamış olduğum tezimin belirttiğim hususlar dikkate alınarak, fikri mülkiyet haklarım saklı kalmak üzere Bursa Uludağ Üniversitesi Kütüphane ve Dokümantasyon Daire Başkanlığı tarafından hizmete sunulmasına izin verdiğimi beyan ederim.

Tarih : 24.06.19

İmza :

Süeda Tunçak