

ERKEK YAVRU SIÇANLARDA SOSYAL İZOLASYON STRESİNİN ÖĞRENMEYE ETKİSİ* The Effect of Social Isolation Stress on Learning in Male Juvenile Rats

Leyla DURMUŞ¹, Meral AŞÇIOĞLU²

Özet : Öğrenme kompleks bir fonksiyondur ve fizyolojik koşullardaki değişikliklerden etkilenir. Bu nedenle organizmanın iç ve dış ortamını bozan stresin endokrin sistem ve sinir sisteminde biyokimyasal ve fonksiyonel değişikliklere neden olup, öğrenmeyi de etkileyeceği düşünülmür.

Bu çalışmada erkek yavru siçanlarda 21 günlük sosyal izolasyon stresinin öğrenme üzerine etkisi araştırıldı. Çalışma; 5'i ön denemede, 10'u kontrol ve 10'u sosyal izolasyon grubunda olmak üzere toplam 25 adet 28 günlük Wistar albino erkek yavru siçan ile gerçekleştirildi. Deney grubu siçanlar günde dört saat olmak üzere 21 gün süreyle ayrı ayrı kafeslerde barındırılarak sosyal izolasyon stresine maruz bırakıldılar. Sosyal izolasyon süresi sonunda siçanların yer bulma öğrenmeleri Morris Su Tankı deneyleri ile test edildi. Üç günlük öğrenme dönemi sonunda 4.gün öğrenmenin test edilmesi deneyleri yapıldı.

İstatistiksel değerlendirmelerde grup içi günler arası farklılıklar tekrarlı ölçümlerde ANOVA; günler arası ikili karşılaştırmalar ise Bonferroni testi ile yapıldı. Gruplar arası karşılaştırmalarda ise Unpaired-t testi kullanıldı. Anlamlılık seviyesi için $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

Bulguların gruplar arası karşılaştırmalarında fark anlamsız ($p > 0.05$), grup içi karşılaştırmalarında günler arası fark anlamlı ($p < 0.05$) bulundu. Sonuç olarak 21 günlük ılımlı sosyal izolasyon stresinin erkek yavru siçanlarda öğrenmeyi etkilemediği gözlemlendi ve stresin öğrenme üzerindeki etkisinin, şiddeti ve süresi ile ilişkili olabileceği düşünüldü.

Anahtar kelimeler: Sosyal İzolasyon, öğrenme, siçan, Morris Su Tankı, stres

Summary : Learning is a complex function and it is influenced from by the changes in physiological conditions. So, it is thought that the stress which damages inside and outside environment of the organism while causes biochemical and functional changes in the neuro-endocrine system affects learning and causes many complications in the organism. In this study, effects of 21-day social isolation stress on learning in male juvenile rats were investigated. The study was done with 25 Wistar Albino male juvenile rats which were 28 days old. Five of them were at preexperiment group, 10 were at control group and 10 were at social isolation group. The rats underwent social isolation stress 4 hours daily for 21 days. At the end of this period, the rats learning to locate places was tested at Morris Water Maze. After a three day learning period, learning test was done at day four. The total duration of time spent to find the platform and the duration of time spent in half area of the tank including the platform in a value representing the percentage in the total time were compared statistically within and between the rats included in the control and social isolation experiment groups so as to assess the effect of social isolation stress on the ability of learning position in rats. The comparasion on the learning phase for learning performances displayed on each day within groups was statistically analysed by means of repeated measurament with the ANOVA test and Benferroni Test whereas the test phase was compaired between groups with the Unpaired-t Test. $p < 0,05$ was accepted for significant level. As a result, it was found that social isolation stress, at applied for 21 days, is not affect on learning in male juvenile rats and it was concluded that the effect of stress on learning is related to period and degree of the stress.

Key words: Social isolation, learning, rats, Morris Water Maze, stress

¹ Bilim Uzm, Erc. Ün.Sağlık Bil.Ens.Fizyoloji AD, Kayseri

² Prof.Dr.Erc.Ün.Tıp Fak, Fizyoloji AD, Kayseri

*Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından SBY.03.10 nolu proje ile desteklenmiştir.

Nörofizyolojik olarak öğrenme bir yaşantı sonucu kimyasal, elektriksel ve yapısal bazı değişikliklere bağlı olarak yeni sinaptik bağların kurulması ile açıklanmaktadır. Öğrenme kompleks bir fonksiyon olup, fizyolojik koşullardaki değişikliklerden etkilenir. Bu nedenle de organizmanın iç ve dış ortamını bozan, dinamik durumu rahatsız eden stres faktörlerinin özellikle endokrin sistem ve sinir sisteminde biyokimyasal ve fonksiyonel değişikliklere neden olarak organizmada çeşitli komplikasyonlara yol açarken öğrenmeyi de etkileyeceği düşünülür (1).

Ancak organizma her hangi bir stresle karşı karşıya kaldığında vereceği tepkiler çeşitli faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterir. Bunlar stres ve bireye bağlı özelliklerdir. Bireyin yaşı, cinsiyeti bu faktörler arasında yer alır ve bireyin gelişim özelliklerine bağlı olarak stres oluşturacak durumlar ve etkileri farklıdır. Kemirgenlerde yavru iken anneden veya farklı yaş dönemlerinde akranlarından ayırıp tek tek kafeslere koyarak sosyal izolasyon stresi oluşturulabilir. Bu nedenle, yavrunun anne ya da akranlarından kısa veya uzun süreli ayrı tutulması ile oluşan sosyal izolasyonun da öğrenmeyi etkilemesi söz konusudur (2-4).

Literatürde uygulanan stres modeli ve deney koşullarındaki farklılıklara bağlı olarak stres ve öğrenme arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmaların sonuçları arasında farklılıklar vardır ve yavrularda izolasyon genellikle kesintisiz uygulanmıştır. Sunulan bu çalışmada erkek yavru sıçanlarda 21 gün süre ile ve her gün 4 saat olacak şekilde sosyal izolasyon uygulanarak oluşturulan stresin öğrenme ve hafızaya etkisi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi. Ön denemeler için beş, sosyal izolasyon oluşturulması için 10 ve kontrol grubu için 10 olmak üzere toplam 25 adet Wistar albino erkek yavru sıçan ile çalışıldı. Anne sıçanların çiftleşmeleri ve yavruların doğumları, yavrular öğrenme deneylerine başlanırken tam 4 haftalık olacak şekilde için anne sıçanların planlandı.

Deney grubunda sosyal izolasyon stresi oluşturmak için yavru sıçanlar süttten kesme ve anneden ayrılma döneminde 28 günlük olduktan sonra 21 gün boyunca her gün 12:00 – 16:00 saatleri arasında günde dört saat süreyle ayrı bir odada ve her biri ayrı bir kafeste barındırıldı. Sosyal izolasyon için görsel iletişimi engelleyecek şekilde opak malzemenen yapılmış 25×40×15 cm ebatlarında kafesler kullanıldı.

Öğrenme deneyleri için 130 cm çapında, 45 cm derinliğinde Morris Su Tankı kullanıldı. Deneyler için tank süt tozu ile opaklaştırılmış su ile yarısına kadar dolduruldu. Su sıcaklığı 26±2 derece olarak ayarlandı. Su yüzeyindeki sıçanın görüş alanında olacak şekilde üç ayrı yönde duvarlara siyah ve siyah ile kontrast oluşturacak şekilde beyaz, kırmızı panolar asıldı. Tank içerisine 10 cm çapında ve silindirik şekilde, öğrenme deneyleri sırasında suyun bir cm yüzeyinde, öğrenmenin test edilmesi periyodunda suyun bir cm altında kalacak şekilde ve havuz kenarından 20 cm uzaklıkta bir kaçış platformu yerleştirildi. Platform, sıçan üzerine çıktığında kendini emin hissedeceği ve pençelerini yerleştireceği lifli bir kumaş ile kaplandı.

Sıçanlar suya platformsuz yarı alanda ve platformun tam karşısından başı platform tarafına gelecek şekilde tankın kenarından 20 cm uzaklıktan suya bırakıldı. Böylece, platformsuz ve platformlu yarı alanda katedilen mesafeden kaynaklanacak süre farklılığı ortadan kaldırıldı. İlk denemelerde sıçanın platformu bulması için en fazla 2 dakika yüzmesine izin verildi. Sıçan bu süre içinde platformu bulmayı başaramadığında yardımla platforma alındı. Platformda 30 saniye kalması sağlandı (5).

Deneyler; sıçanlara sabah 9:00-12:00 saatleri arasında, 30'ar dakika aralarla, günde 4 yüzdürme yaptırılarak ardışık 3 gün öğrenme periyodu, 4. gün görünmez platforma öğrenme periyodundaki işlemler aynen uygulanarak test periyodu şeklinde yürütüldü. Deneylerde sıçanın kaçış platformunu bulma süresi ve platformlu yarı alanda geçirdiği süre dijital bir kronometre ile kaydedildi. Değerlendirme için sıçanların kaçış platformunu bulma süreleri ve platformlu yarı alanda geçirdikleri sürenin toplam sürenin %'si cinsinden değerleri istatistiksel olarak değerlendirildi.

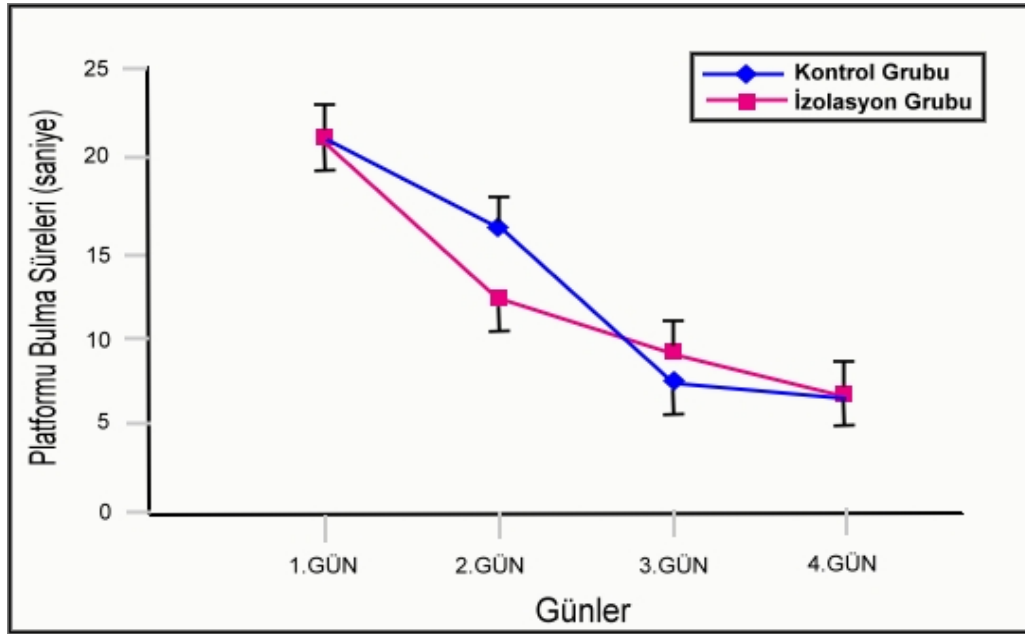
Verilerin istatistiksel değerlendirmesinde günler arası karşılaştırmalar için tekrarlı ölçümlerde ANOVA ve Bonferroni testi, gruplar arası karşılaştırmalarda ise Unpaired-t testi kullanıldı. Anlamlılık seviyesi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

BULGULAR

Kontrol grubu ve 21 gün süreyle günde 4 saat sosyal izolasyon stresi uygulanan deney grubu erkek yavru sıçanlarda Morris Su Tankı öğrenme deneylerinde grupların öğrenme ve test fazında kaçma platformunu bulmaları için geçen toplam sürelerin grup içi karşılaştırmaları Şekil 1’de sunulmuştur.

Şekil 1’de görüldüğü gibi hem kontrol hem de deney grubu sıçanların deneyin öğrenme fazı olan 1.,2.,3. günlerinde ve test fazı olan 4. günde platform bulma süreleri için grup içi karşılaştırma yapıldığında fark anlamlı bulunmuş ve uygulanan 3 günlük periyodun öğrenme için yeterli olduğu görülmüştür.

Tablo 1’de ise kontrol ve deney grubu sıçanların 1.,2.,3. ve 4. günlerde platform bulma sürelerinin toplam sürenin %’si cinsinden değerlerinin gruplar arası karşılaştırmaları verilmiştir.



Şekil 1. Kontrol ve deney grubu sıçanların 1.,2.,3. ve 4. günlerde kaçma platformunu bulmaları için geçen süreler açısından öğrenme performanslarının grup içi ve gruplar arası karşılaştırması. (*: Birinci gün değeri ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$) (•: İkinci gün değeri ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$)

Tablo I. Kontrol ve deney grubu sıçanların 1,2,3,4. günlerde platformlu yarı alanda geçirdikleri sürenin toplam sürenin %'si cinsinden değerleri (YASY)'nin gruplar arası karşılaştırması

Günler	Kontrol grubu (n=10)	İzolasyon grubu (n=10)	t	p
	YASY (sn) (X±SD)	YASY (sn) (X±SD)		
1.gün	53,1±9,7	43,8± 8,2	2,3	0,03
2.gün	50,0± 10,2	50,6± 5,8	0,14	0,88
3.gün	56,0 ±11,6	49,9± 5,9	1,4	0,16
4. gün	50,4± 5,2	57,5± 9,9	1,9	0,06
	F= 0,8 p= 0,45	F= 6,7 p= 0,00		

Bulguların istatistiksel analizi sonunda, Şekil 1 ve Tablo 1'de görüldüğü gibi platformu bulma süreleri için gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Platformlu yarı alanda geçirilen sürelerin toplam sürenin yüzdesi cinsinden değerleri karşılaştırıldığında ise öğrenme deneylerinin birinci gününde izolasyon grubunun platformlu yarı alanda geçirdiği sürenin toplam sürenin yüzdesi cinsinden değerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşük olduğu ancak öğrenme döneminin ikinci ve üçüncü günü ve öğrenmenin test edildiği dördüncü gün bu deneyler açısından gruplar arası anlamlı fark bulunmadığı belirlendi.

TARTIŞMA

Organizma herhangi bir stresle karşı karşıya kaldığında vereceği tepkiler stresin tipine, birey ve çevre faktörüne bağlı olarak gelişir. Stresin niteliği ve otaya çıktığı an, stresin süresi veya karşı karşıya kalınan stresler arası zaman, birçok stresin bir anda yaşanması gibi değişkenler sonucu etkileyen parametrelerdir ve organizmanın gelişme dönemine göre stresin etkileri farklıdır. Bu nedenle stres ile karşı karşıya kalan bireyin yaşı, bulunduğu ortam, bireyin stres ile baş edebilme kapasitesi ortaya çıkacak cevabı ve öğrenmeyi farklı etkileyecektir. Literatürde anneden ayrılma stresinin yeni doğan yavrularda büyüme ve gelişmeyi etkileyerek erişkin dönemde bilişsel fonksiyonları etkilediği, erişkin dönemden sonra akranlarından ayrılan ve tek

tek izole kafeslere konulan sıçanlarda da öğrenme performansının izolasyon süresi ile ilişkili olarak bozulduğu bildirilmektedir(6-8). Ancak farklı bulgular bildiren araştırmalar da bulunmaktadır.

Frisone ve arkadaşları(5) tarafından yetişkin sıçanlar üzerine uygulanan sosyal izolasyon stresinin öğrenmeyi artırdığı gözlenmiştir. Sunulan bu çalışmada ise uygulanan stres modeli Frisone ve arkadaşlarının(5) modeli ile örtüşmüş olmasına rağmen uygulanan stresin platformu bulma süresi ve platformlu yarı alanda geçirilen sürenin toplam sürenin yüzdesi cinsinden değerler açısından öğrenme performansını anlamlı düzeyde etkilemediği gözlenmiştir. Uygulanan sters modeli örtüşmesine karşın bulgular arasındaki farklılığın stresin uygulandığı yaş dönemi için farklı olmasından kaynaklandığı ve sütten kesme dönemi sonunda uygulanan ılımlı sosyal izolasyon stersinin öğrenmeyi etkilemediği düşünülmüştür bağlanmıştır.

Sunulan bu çalışmada 28 günlük yavru sıçanlara 21 gün süreyle günde 4 saat şeklinde uygulanan sosyal izolasyon stresinin yer bulma öğrenmesini etkilemediği yönündeki bulgular Hernandez ve arkadaşlarının (9) 20 günlük sıçanlara uygulamış oldukları sosyal izolasyon stresi sonunda auto-shaping değerlendirmelerinde ılımlı stresin öğrenmeyi etkilemediği yönündeki bulguları ile paralellik göstermekte ve bu paralellik sütten kesme dönemi sonunda uygulanan ılımlı sosyal izolasyon stersinin öğrenmeyi etkilemediği yönündeki yorumumuzu desteklemektedir.

N. Uysal ve arkadaşları (10) tarafından yapılan çalışmada doğumdan itibaren 21 gün süreyle, günde 6 saat uygulanan sosyal izolasyon stresinin erkek yavru sıçanlarda spasyal öğrenme performansını olumsuz yönde etkilediği sonucuna varılmıştır.. Bildirilen çalışmada doğumdan itibaren başlayan günde 6 saatlik bir izolasyon söz konusudur ve yavru henüz anneye bağımlı olduğu dönemde bu stresi yaşamıştır. Sunulan çalışmada ise yavru süttten kesilme dönemi sonunda 28 günlük iken ve 21 gün süreyle hergün 4 saat şeklinde bir sosyal izolasyon uygulanmış ve bu uygulamanın yer bulma öğrenmesini etkilemediği görülmüştür.

Sonuç olarak; anneye bağımlılık döneminden sonra yaşanmış ılımlı bir sosyal izolasyonun yavrunun yer bulma öğrenmesini etkilememiş olması sonucu; belirtilen çalışmalar (9-10)' ın sonuçları ile birlikte yorumlandığında stres ile öğrenme arasındaki ilişkinin, canlımın strese maruz kaldığı dönem ve stresin şiddetine bağlı olduğu kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. McBrain CJ, Maccefferri G. Synaptic plasticity in hippocampal interneurons. *Pharmacol* 1997; 75: 488-94.
2. Barry SF, Randolph BS, Stephen MR. *Synopsis of Neuropsychiatry*. New York, Maple Pres, 2000: 112-287.
3. McBrain CJ, Maccefferri G. Synaptic plasticity in hippocampal interneurons. *Pharmacol* 1997, 75: 488-94
4. Sorra KE, Fiala JC, Haris KM. Critical assesment of the involvement of perforation, spinules and spine brancing in hippocampal synapse formation. *Compar Neurol* 1998, 398: 225-40
5. Frisone DF, Frye CA, Zimmerberg B. Social isolation stress during the third week of life has age – dependent effects on spatial learning in rats. *Behav Brain Res* 2002, 128(2): 153-160
6. Yıldırım BD. *Davranış Bilimlerine Giriş*. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi ANTIP AŞ, Ankara Yayınları, 1998, ss 83-153
7. Pharmac T, Willner P, *Animal models of depression*. *Behav Neurosci* 1990, 45: 425-455
8. Conrad CD, Magarinos AM, McEwen BS, Leodoux JE. Repeated restraint stress facilitates fear conditioning independently of causing hippocampal CA3 dendritic atrophy. *Behav Neurosci* 1999, 113: 902-913
9. Miguel Molina-Hernandez, Patricia Tellez-Alcantara and Julian Perez-Garcia. Isolation rearing induced fear-like behavior without affecting learning abilities of wistar rats. *Prog Neuro- Psychopharmacol & Biol Psychiat* 2001, 25: 1111-1123
10. Uysal N, Gönenç S, Şişman AR, Açıköz O, Dayı A ve ark. Anneden ayrılma stresinin spasyal belleğe ve sonradan karşılaşılan akut stresin genç sıçan beyin dokularında antioksidan enzim aktiviteleri ile lipid peroksidasyonuna etkileri. 28. Ulusal Fizyoloji Kongresi Bildiri Özetleri Kitabı, Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir 24-27 Eylül 2002, s:13

Erkek yavru sıçanlarda sosyal izolasyon stresinin öğrenmeye etkisi

