

HİPOTİROİDİLİ SIÇANLARDA UZAMSAL ÖĞRENME PERFORMANSINDA CİNSİYET BAĞIMLI FARKLILIKLAR*

GENDER-DEPENDENT DIFFERENCES ON SPATIAL LEARNING PERFORMANCE IN HYPOTHYROID RATS

Ercan BABUR¹, Burak TAN¹, Nesrin YILDIZ², Melek BATAKÇI³, Cem SÜER¹, Nurcan DURSUN¹

1 Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

2 Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri

3 Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Konya

ÖZ

Çalışmanın amacı, deneysel hipotiroidi (HT) geliştirilen sıçanlarda uzamsal öğrenme ve bellek bozukluklarının cinsiyet ile ilişkisini ortaya koymaktır. Hipotiroidi oluşturmada propiltiourasil (PTU) kullanılmıştır (0,2 mg/kg, içme suları ile 21 gün). Öğrenme ve hafıza değişimlerini değerlendirmede Morris Su Tankı Testi kullanılmıştır. Test değerlendirmesi, anksiyete düzeyini ifade eden tigmotaksis oranı, HT grubunun kontrolden daha az anksiyete sergilediğini, Grup* Cinsiyet etkileşimi arasında ise önemli farklılığın olmadığını göstermiştir. Dişi sıçanların yüzme hızları erkek sıçanlara göre daha yavaş bulunmuştur. Öğrenme performansı değerlendirilmesinde platforma ulaşma süresi, yüzme mesafesi ve platforma olan ortalama uzaklık değerlendirilmiştir. Kaçış mesafesi ve yüzme mesafesi değerlendirildiğinde hipotiroidi durumu platformu bulma süresini uzatmış, yüzme mesafesini arttırmıştır. Ancak cinsiyet faktörü hipotiroidideki bozulmaya etki etmemiştir. Yüzme hızından etkilenmeyen platforma olan ortalama uzaklık değerlendirildiğinde dişilerde öğrenme performansı anlamlı ($p<0,001$) bir şekilde azalmıştır ve hipotiroidi durumu bu azalmaya etki etmemiştir. Ayrıca tek başına hipotiroidi durumu platforma olan ortalama uzaklığı arttırmıştır. Post Hoc Tukey testine göre, hipotiroidili grupların kontrol gruplarına göre hedef kadranda daha az süre geçirdiği tespit edilmiştir ($p<0,05$). Ancak cinsiyet faktörü bu anlamlılığı etkilememiştir. Sonuç olarak hipotiroidi oluşturduğumuz hayvanlarda öğrenme ve hafıza performansının bozulduğu, hipotiroidide görülen bu bozukluğa cinsiyet farklılığının bir etkisi olmadığı görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Hipotiroidizm; Sıçan; Öğrenme; Bellek; Morris Su Tankı

ABSTRACT

The aim of the study was to investigate the effects of experimental hypothyroidism (HT) on spatial learning and memory disorders to establish relationship with gender. Propylthiouracil (PTU) was used to induce HT (0.2 mg / kg, 21 days with drinking water). Morris Water Tank test (MWTT) was used to evaluate learning and memory changes. When the anxiety level was expressed as the rate of tigmotaxis in the MWTT, it was found that the HT group was less anxious than the control group and there was no significant difference between the Group*Sex interaction. The swimming speed (SS) of female groups was found to be slower than the male groups. In evaluating the learning performance, the mean distance to platform (MdtoP), distance movement (DM) and escape latency (EL) was evaluated. During EL and DM assessment, the HT state prolonged the time to find the platform and increased swimming distance. However, the gender factor did not affect the deterioration of the HT state. Evaluating the MdtoP, which is not affected by SS, the learning performance in female was significantly reduced ($p<0,001$) and the HT state did not affect this decrease. In addition, hypothyroid status alone increased the mean distance to platform. According to the Post Hoc Tukey test, HT groups were realized that it spent less time than the control groups in target quadrant ($p<0,05$). However, the gender factor did not affect this significance. As a result, we found that the animals with hypothyroidism had poor learning and memory performance, and gender difference did not affect this deterioration in hypothyroidism.

Keywords: Hypothyroidism; Rats; Learning; Memory; Morris Water Maze

*Bu çalışma Yüksek Lisans Tezinden hazırlanmış olup Erciyes Üniversitesi BAP Birimi tarafından desteklenmiştir (TYL-2013-438).

Makale Geliş Tarihi : 27.07.2017

Makale Kabul Tarihi: 22.11.2017

Corresponding Author: Prof. Dr. Nurcan DURSUN

İş adresi: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Melikgazi/KAYSERİ

İş telefonu: 0 352 207 66 66-23306

Cep telefonu: 0 533 369 72 30

GİRİŞ

Öğrenme süreçlerinde çok kritik role sahip olan hipokampüse, insanlarda deklaratif hafızanın kodlanmasında ve konsolidasyonunda gereksinim duyulurken (1,2) kemirgenlerde uzamsal bilginin depolanması ve işlenmesinde gereksinim duyulmaktadır(3,4). Hayvanlarda yapılan lezyon çalışmaları, uzamsal belleğin test edildiği Morris Su Tankı ve radyal labirent gibi testlerde yön bulmada hipokampüsün sağlam olmasının önemini göstermektedir. Öğrenme ve hafızanın temel hücrel mekanizması olarak kabul edilen yapısal plastisiteden hipokampal sinapslar sorumludur.

Hipokampus uzun dönemli hafızanın oluşumunda kritik role sahiptir. Kabul edilen genel mekanizma, duyuşsal algıların kortekste kendileri ile ilgili alanlara gitmesi (görüntü-vizüel korteks, işitme-oditör korteks) ve daha sonra bu bilgilerin hipokampüse sunulduğu şeklindedir. Hipokampüsün bu bilgileri işlediği ve depolanmak için geri respektif kortekse gönderdiği düşünülür. Kısa dönemli hafızanın uzun dönemli hafızaya dönüşümü hafıza konsolidasyonu olarak adlandırılır. Hipokampüsün hafıza depolama görevinde bulunmadığı, sadece bilginin uzun dönemli hafıza olarak kayıt edilmesi sürecinde rol aldığı gösterilmiştir (5).

Tiroit hormonları omurgalıların gelişiminde ve insan patolojisinde önemli rol oynar. Hücre farklılaşması, gelişmesi ve olgunlaşması gibi insan gelişimi üzerine kritik etkilere sahiptir. Tiroit hormonları oksijen tüketimindeki değişikliklerden protein, lipid, karbonhidrat ve vitamin metabolizmasına kadar birçok fizyolojik etkiye sahiptir. Protein sentezi üzerine olan direkt etkisinin yanında birçok hormon ve büyüme faktörünün sentezine ve parçalanmasına da etki etmektedir, böylece dolaylı olarak endokrin sinyal iletimini de etkilemektedir. Tiroit hormonları hedef dokular üzerine olan klasik etkisini (genomik etki) nükleer reseptörlerine bağlanıp transkripsiyonel aktivasyonu sağlayarak gerçekleştirir. Bu genomik etkilerin ortaya çıkması görece uzun zaman alır (6). Tiroid hormonları non genomik etkilerini bir hücre yüzey proteini olan $\alpha\beta3$ integrin reseptörü üzerinden gösterir. Integrin $\alpha\beta3$ reseptörünün uyarılması bazı proteinlerin sitoplazmadan nükleer kompartmana taşınımı ve Mitojen Aktive Protein Kinaz (MAPK) gibi birçok faktörün aktivasyonuna neden olur. Burada önemli olan tüm bu etkilerin hücre membranından başlaması ve tiroid hormon reseptöründen bağımsız olarak nükleer olayları uyarmasıdır (7).

İnsan ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda uzamsal öğrenme performansının erkeklerde dişilerden daha iyi olduğu bildirilmektedir. Bununla beraber tek günlük Water Maze çalışmalarında proöstrus fazında dişi sıçanların proöstrus olmayan dişi sıçanlardan daha iyi performans gösterdiği, insan ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda uzamsal öğrenme performansının erkeklerde dişilerden daha iyi olduğu bildirilmektedir (8,9).

Bu çalışmada, deneysel hipotiroidi geliştirilen yetişkin erkek ve dişi sıçanlarda oluşan uzamsal öğrenme ve bellek bozukluklarında cinsiyetin ne derecede etkili olduğu araştırılmıştır. Tiroid hormon eksikliğinde gelişen hipokampal bozukluğun cinsiyet hormonları ile ilişkilendirildiği ya da kötüleştirildiği Morris Su Tankı Testi ile değerlendirilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deneysel Hayvanları ve Gruplama

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan 09.01.2013 tarih ve 13/12 sayılı onayı ile ve Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi (DEKAM)'nden sağlanan Wistar Albino cinsi, vücut ağırlıkları 200-300 gr olan, 2 aylık genç sıçanlarda yapılmıştır. Kontrol grubu 12 erkek ve 12 dişi, hipotiroidi grubu 12 erkek ve 12 dişiden oluşturulmuştur. Hipotiroidizm geliştirme amaçlı propiltiourasil hipotiroidi gruplarına (erkek ve dişi) 0,2 mg/kg dozda olacak şekilde içme suları içerisinde 21 gün süre ile verilmiştir. Beş gün süreli Morris Su Tankı denemelerinden hemen sonra hipotiroid ve kontrol grubuna ait sıçanlardan eter anestezisi altında intrakardiyak olarak alınan kan örneğinden elde edilen serumda T3 ve T4 değerleri ölçülmüştür. Hipotiroidi gruplarının T4 değerleri, kontrol gruplarının T4 değerlerinden istatistiksel anlamda önemli azalma göstermiştir (sırasıyla 0,112 ng/dl ve 2,025 ng/dl).

Morris Su Tankı Uygulaması

Morris Su Tankı Testi hipokampus bağımlı öğrenme ve bellek performansını ölçmekte sıklıkla kullanılan ve bu amaca yönelik özgülüğü kabul edilmiş bir testtir. Protokol, tekrarlayan denemelerle, tanka yerleştirilmiş bir platformun yerinin öğrenilmesi ve daha sonra öğrenilen yerin hatırlanması esasına dayanır. Görünmez durumdaki platformun yerini öğrenmek, kavramsal ilişkili fikir yürütülerek kognitif stratejiyi kullanmayı gerektiren bir performanstır. Bunun için deneyde ipuçları kullanılır. Dört gün boyunca deneklerin gösterdikleri performans, çalışma belleğinin (working memory) değerlendirmesini sağlar.

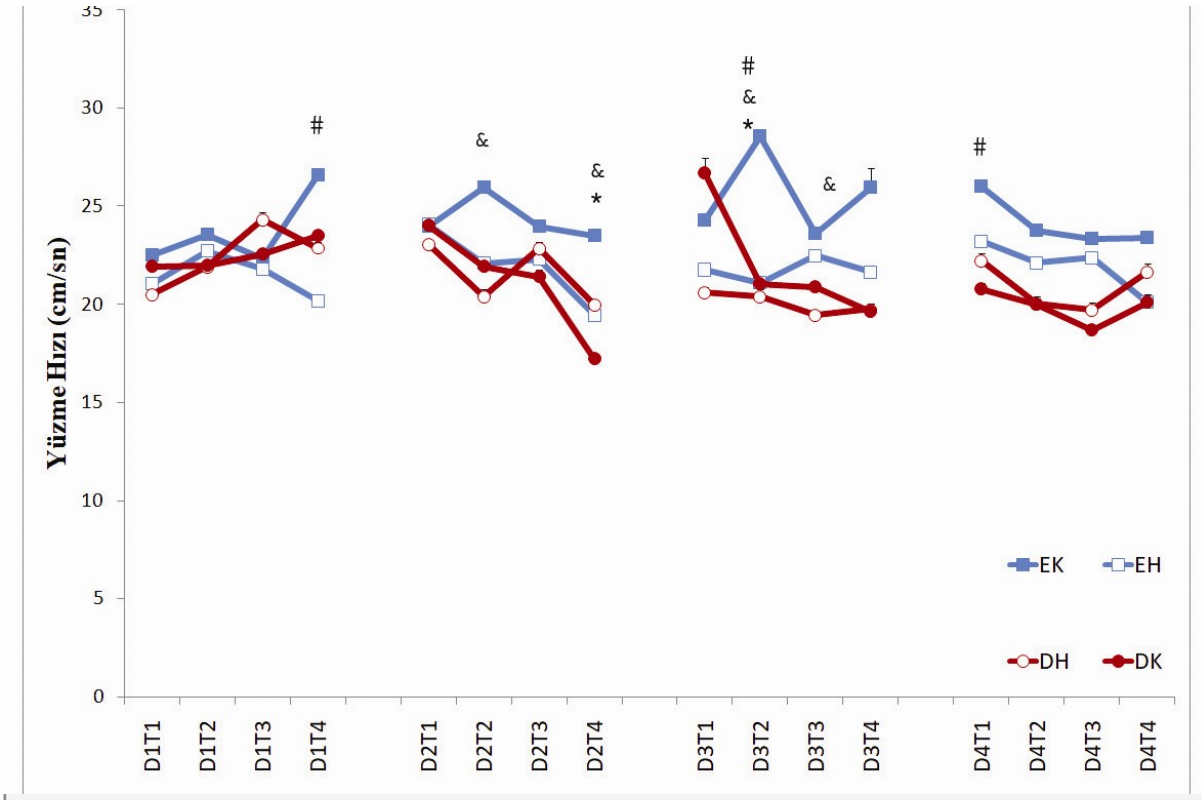
Su Tankı testi, çapı 180 cm, derinliği 60 cm olan içi su ile dolu bir havuzda yapılmıştır. Platformun gözükmemesi için su doğal boyalarla renklendirilmiş ve suyun sıcaklığı 22 ± 2 °C dereceye getirilmiştir. Havuz hayali iki dik kesişen çap ile dört eşit kadrana ayrılmış ve kadrandan birine, yüksekliği suyun iki cm kadar altında olacak şekilde 10 cm çapında ağır bir kaçma platformu yerleştirilmiştir. Bu platformun havuz içinde bütün denemelerde bütün sıçanlar için aynı yerde olmasına dikkat edilmiştir. Sıçanın platformun yerini bulmayı öğrenmesine yardımcı olmak üzere havuzun çevresinde görsel ipuçları bırakılmıştır. Her sıçan, günde dört kez (trial) ve her trialin arası 16 dakika olacak şekilde öğrenme denemelerine tabii tutulmuştur. Sıçanların bir dakika içinde platformu bulması beklenmiş, platformu bulamayan sıçanlara tahta çubuğa tutunmak suretiyle platformun yeri öğretilmiş ve çevredeki ipuçlarını fark etmeleri için platformun üzerinde 15 saniye durmasına izin verilmiştir. Dört gün boyunca denemeler devam etmiş, beşinci gün platform yerinden kaldırılmış, sıçanların daha önce platformun bulunduğu kadranda ne kadar süre geçirdiği hesaplanmak üzere prob denemesi gerçekleştirilmiştir. Prob denemesi son öğrenme denemesinden 24 saat sonra yapılmıştır. Tüm denemelerde tankın tamamını görececek şekilde, bir kamera tavana monte edilip ve görüntü NOLDUS izleme ve kayıt sistemine aktarılmıştır. Bu sistem ve uygun yazılımı kullanılarak sıçanın yüzme hızı, platforma kaçış süreleri, yüzme mesafesi ve her kadranda buldukları süre kayıt altına alınmıştır.

İstatistiksel Değerlendirme

Morris Su Tankı Testi sonuçlarının istatistiksel analizi için SPSS Version 16 paket programı ile Windows 8 Bilgisayar Programında günler arası karşılaştırmalarda tekrarlı ölçümlerde faktöriyel ANOVA kullanılmıştır. Veriler, Shapiro-Wilks ve Mauchly's test kullanılarak normallik ve küresellik açısından değerlendirildi. Bu testler verilerin normal dağılım ve küresellik gösterdiğini doğruladı. Normallik ve homojenlik için Shapiro-Wilks ve Levene testi yapıldı. Veriler eşit varyansa sahipti. İstatistiksel anlamlılık için olasılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir. Değerler ortalama \pm standart hata şeklinde ifade edilmiştir.

BULGULAR

Yüzme Hızına Hipotiroidinin Cinsiyete Bağlı Etkisi: Öğrenme performansını değerlendirmede kullanılan kaçış süresi, yüzme mesafesi parametrelerinin, hayvanların bireysel motor fonksiyonlarından ve cinsiyet farklılıklarından etkilenip etkilenmediği yüzme hızı değerlendirmesi ile ortaya konulmuştur. Yüzme hızının cinsiyet ve gruba göre değerleri, Tablo 1 ve Şekil 1’de gösterilmiştir. Yüzme hızı, Trial ve Gün* Trial etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Trial; $F=4,425$, $p=0,005$, Gün* Trial; $F=4,445$, $p=0,001$). Yüzme hızı ve Gün değişkeni etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Gün; $F=1,073$, $p=0,362$).



Şekil 1: Morris Su Tankında Dişi ve Erkek Sıçanların Yüzme Hızının Grafiği (Değerler ortalama \pm standart hata şeklinde ifade edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık $p < 0,05$ olarak değerlendirilmiştir. DK: Dişi kontrol, DH: Dişi hipotiroidi, EK: Erkek kontrol, EH: Erkek hipotiroidi)

* EK ve EH grupları arasında $p < 0,05$, # EK ve DK grupları arasında $p < 0,05$, & EK ve DH grupları arasında $p < 0,05$, +DK ve DH grupları arasında $p < 0,05$, £ DK ve EH grupları arasında $p < 0,05$

Tablo 1: Morris Su Tankında Dişi ve Erkek Sıçanların Yüzme Hızının Ortalama Değerleri ve Standart Hataları

	1. Gün				2. Gün				3. Gün				4. Gün			
	D1T1	D1T2	D1T3	D1T4	D2t1	D2T2	D2T3	D2T4	D3T1	D3T2	D3T3	D3T4	D4T1	D4T2	D4T3	D4T4
DK	21,9 0,28	22,0 0,24	22,6 0,27	23,5 0,25	24,0 0,27	21,9 0,32	21,4 0,34	17,2 0,25	26,7 0,80	21,0 0,27	20,9 0,21	19,6 0,44	20,8 0,31	20,0 0,30	18,7 0,19	20,1 0,39
EK	22,5 0,19	23,5 0,34	22,3 0,24	26,6 0,31	24,0 0,31	26,0 0,31	24,0 0,35	23,5 0,23	24,3 0,25	28,6 0,32	23,6 0,27	26,0 0,96	26,0 0,26	23,8 0,32	23,3 0,39	23,4 0,19
DH	20,5 0,23	21,9 0,26	24,3 0,36	22,9 0,32	23,1 0,20	20,4 0,37	22,9 0,33	20,0 0,24	20,6 0,29	20,4 0,36	19,4 0,24	19,7 0,32	22,2 0,38	20,0 0,38	19,7 0,37	21,7 0,39
EH	21,0 0,19	22,7 0,15	21,8 0,22	20,2 0,30	24,1 0,27	22,1 0,23	22,3 0,28	19,4 0,25	21,8 0,26	21,1 0,30	22,5 0,33	21,6 0,30	23,2 0,21	22,1 0,33	22,4 0,34	20,1 0,30

(DK: Dişi kontrol, DH: Dişi hipotiroidi, EK: Erkek kontrol, EH: Erkek hipotiroidi)

Hipotiroidi durumu, Trial ve Gün değişkenleri ile ikili etkileşimi ve hipotiroidi durumu, Trial ve Gün değişkenlerinin üçlü etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Gün*Durum; $F=2,403$, $p=0,069$), Gün*Trial*Durum; $F=1,329$, $p=0,219$, Trial*Durum; $F=2,157$, $p=0,065$).

Cinsiyet faktörü ve Trial değişkenleri etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Trial*Cinsiyet; $F=4,781$, $p=0,003$). Erkek sıçanların dişi sıçanlardan daha hızlı yüzdüğü gözlenmiştir. Cinsiyet faktörü, Gün değişkenlerinin ikili etkileşimi ve cinsiyet, Gün ve Trial değişkenlerinin üçlü etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Gün*Cinsiyet; $F=0,203$, $p=0,894$, Gün*Trial*Cinsiyet; $F=1,620$, $p=0,106$).

Cinsiyet faktörü, hipotiroidi durumu ve Gün değişkenlerinin üçlü etkileşimleri ve cinsiyet faktörü, hipotiroidi durumu, Gün ve Trial değişkenlerinin dörtlü etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Gün*Durum*Cinsiyet; $F=3,104$, $p=0,028$, Gün*Trial*Durum*Cinsiyet; $F=2,175$, $p=0,022$). Dişi sıçanlarda görülen yüzme hızında azalma, hipotiroidi etkisinde daha belirgin hale gelmiştir. Cinsiyet faktörü, hipotiroidi durumu ve Trial değişkenlerinin üçlü etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Trial*Durum*Cinsiyet; $F=2,300$, $p=0,079$).

Gruplar arası karşılaştırmalar Tek Yönlü ANOVA, Post hoc Tukey testi ile yapıldı. 1.günün 4.trialinde EK grubu EH ($p=0,002$) grubundan, 2.günün 2.trialinde EK grubu DH ($p=0,015$), grubundan, 2.günün 4.trialinde EK grubu

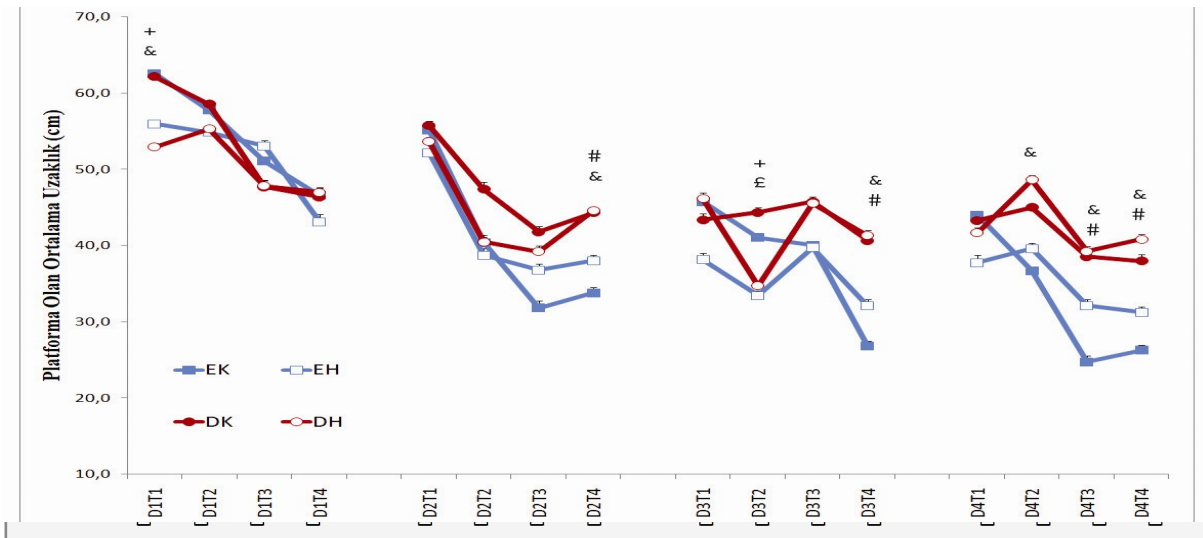
EH ($p=0,024$) ve DK ($p=0,001$) grubundan, 3.günün 2.trialinde EK grubu EH ($p=0,001$), DK($p=0,001$) ve DH ($p=0,001$) grubundan, 3.günün 3.trialinde EK grubu DH ($p=0,046$) grubundan, 4.Günün 1.trialinde EK grubu DK ($p=0,016$) grubundan istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir.

Yüzme hızlarında, cinsiyet ve hipotiroidi durumundan kaynaklanan farklılıktan dolayı yüzme hızlarından etkilenen kaçış süresi ve yüzme mesafesi parametreleri değerlendirilmeye alınmamıştır.

Platforma Olan Ortalama Uzaklık Değerlendirilmesi

Gruplar arasında yüzme hızında farklılıklar oluştuğu zaman kaçış süresi ve yüzme mesafesi bu parametreden etkilenir. Bu koşullarda yüzme hızından bağımsız olan platforma olan ortalama uzaklık değerlerinin öğrenme performansının değerlendirilmesinde kullanılması daha uygundur. Platforma olan uzaklık değerleri Tablo 2 ve Şekil 2' de gösterilmektedir. Platforma olan ortalama uzaklık, Gün, Trial ve Gün*Trial etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Gün; $F=88,266$, $p=0,001$, Trial; $F=71,093$, $p=0,001$, Gün*Trial; $F=9,673$, $p=0,001$). Sıçanların platforma olan ortalama uzaklıklarının ilk günden dördüncü güne doğru azaldığı ve öğrenmenin gerçekleştiği gözlenmiştir.

Cinsiyet faktörü, Gün ve Trial değişkenleri etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Gün*Cinsiyet; $F=7,725$, $p=0,001$, Trial*Cinsiyet; $F=7,146$, $p=0,001$). Dişi sıçanlar erkek sıçanlara göre platformu daha uzun süre



Şekil 2: Morris Su Tankında Dişi ve Erkek Sıçanların Platforma Olan Ortalama Uzaklık Grafiği (Değerler ortalama \pm standart hata şeklinde ifade edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık $p<0,05$ olarak değerlendirilmiştir. DK: Dişi kontrol, DH: Dişi hipotiroidi, EK: Erkek kontrol, EH: Erkek hipotiroidi)

* EK ve EH grupları arasında $p<0,05$, # EK ve DK grupları arasında $p<0,05$, & EK ve DH grupları arasında $p<0,05$, +DK ve DH grupları arasında $p<0,05$, £ DK ve EH grupları arasında $p<0,05$

Tablo 2: Morris Su Tankında Dişi ve Erkek Sıçanların Platforma Olan Ortalama Uzaklık Değerleri ve Standart Hataları

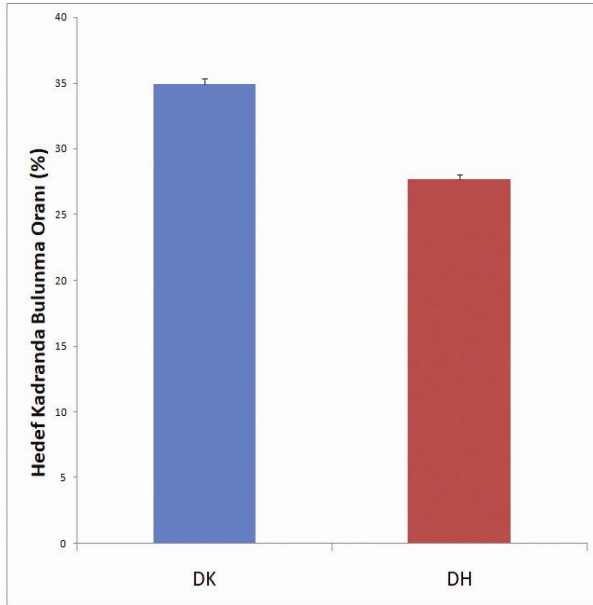
	Gün				Gün				Gün				Gün			
	D1T1	D1T2	D1T3	D1T4	D2T1	D2T2	D2T3	D2T4	D3T1	D3T2	D3T3	D3T4	D4T1	D4T2	D4T3	D4T4
DK	62,2 0,44	58,6 0,40	47,7 0,80	46,4 0,64	55,7 0,62	47,4 0,93	41,8 0,68	44,3 0,80	43,4 0,85	44,3 0,69	45,8 0,63	40,7 0,63	43,3 0,58	45,0 0,50	38,5 0,48	38,0 0,85
EK	62,6 0,38	57,8 0,40	51,1 0,61	46,6 0,90	55,1 0,46	40,4 0,74	31,8 0,91	33,8 0,76	45,8 0,52	41,1 0,62	40,0 0,52	26,8 0,65	44,0 0,45	36,7 0,53	24,7 0,79	26,3 0,68
DH	52,9 0,51	55,3 0,43	47,8 0,74	47,0 0,59	53,6 0,60	40,5 0,85	39,2 0,75	44,6 0,48	46,1 0,74	34,7 0,56	45,5 0,46	41,3 0,65	41,7 0,72	48,6 0,59	39,2 0,67	40,8 0,63
EH	56,0 0,32	54,8 0,33	53,0 0,76	43,1 1,00	52,2 0,47	38,7 0,92	36,8 0,80	38,0 0,73	38,2 0,84	33,4 0,60	39,7 0,69	32,1 0,89	37,8 0,97	39,6 0,75	32,1 0,85	31,2 0,69

(DK: Dişi kontrol, DH: Dişi hipotiroidi, EK: Erkek kontrol, EH: Erkek hipotiroidi)

de bulunmuştur. Hipotiroidi durumu ve Trial değişkenleri etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Trial*Durum; $F=8,149, p=0,001$). Hipotiroidi durumunun Trial değişkeninde platforma olan ortalama uzaklığı arttırdığı gözlenmiştir. Hipotiroidi durumu ve Gün değişkenlerinin ikili etkileşimi ve hipotiroidi durumu, Trial ve Gün değişkenlerinin üçlü etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Gün*Durum; $F=2,176, p=0,092$, Gün*Trial*Durum; $F=1,365, p=0,201$).

Hipotiroidi durumu, cinsiyet, Gün ve Trial değişkenlerinin dörtlü etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Gün*Trial*Durum*Cinsiyet; $F=0,740, p=0,672$, Gün*Durum*Cinsiyet; $F=0,574, p=0,633$, Trial*Durum*Cinsiyet; $F=1,193, p=0,126$).

1.günün 1.trialinde DH grubu EK ($p=0,001$) ve DK ($p=0,001$) grubundan, 2.günün 4.trialinde EK grubu DK ($p=0,049$) ve DH ($p=0,041$) grubundan, 3.günün 2.trialinde DK grubu EH ($p=0,016$) ve DH ($p=0,041$) grubundan, 3.günün 4.trialinde EK grubu DK ($p=0,006$) ve DH ($p=0,004$) grubundan, 4.günün 2.trialinde EK grubu DH ($p=0,005$), grubundan, 4.günün 3.trialinde EK grubu DK ($p=0,006$) ve DH ($p=0,004$) grubundan, 4.günün 4.trialinde EK grubu DK ($p=0,026$) ve DH ($p=0,003$) grubundan istatistiksel olarak anlamlılık oluşturacak şekilde farklı yüzmüşlerdir.

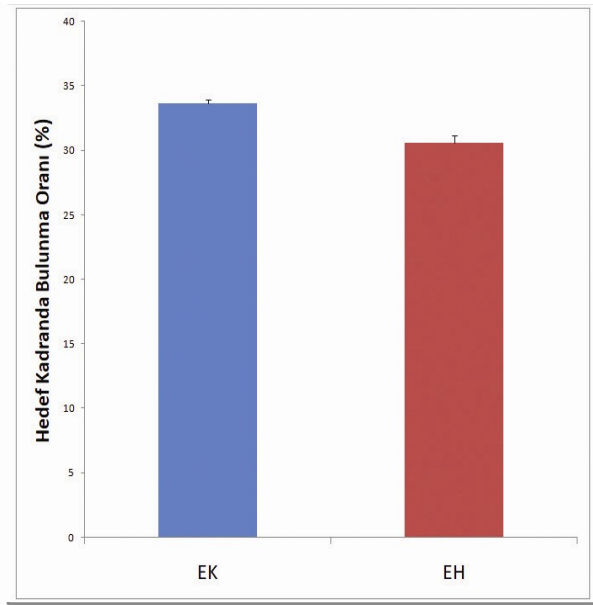


Hipotiroidinin Hedef Kadrandaki Bulunma Oranının Cinsiyete Bağlı Etkisi:

Bellek performansını değerlendirmede kullanılan hedef alanda geçirilen zaman yüzde değerlerinin Cinsiyet ve Gruba göre değerleri Şekil 3A ve 3B ve Tablo 3' te gösterilmektedir. Belleğin geri çağırılmasını gösteren prob denemelerinde, hipotiroidi durumu, hedef kadrandaki geçirilen süre üzerine istatistiksel olarak anlamlı etki göstermiştir ($F=8,98, p=0,004$). Hipotiroidi grubu hedef kadrandaki daha az süre geçirmiştir. Cinsiyet faktörü, hedef kadrandaki geçirilen süre üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etki göstermemiştir ($F=0,527, p=0,471$). Hipotiroidi durumu ve cinsiyet faktörü etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Cinsiyet*Durum; $F=1,575, p=0,214$).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Öğrenme performansının değerlendirilmesinde kullanılan yüzme mesafesi ve kaçış zamanı yüzme hızından etkilenen parametrelerdir. Yüzme hızı yüksek sıçanların platformu daha hızlı bulması ve daha fazla mesafe kat etmesi beklenen bir durumdur ve öğrenme performansı diğer gruplarla kıyaslandığında yanıltıcı sonuçlar verilebilir. Bu çalışmada dişi sıçanlar erkek sıçanlara göre anlamlı derecede düşük yüzme hızına sahiptir.



Şekil 3: Morris Su Tankında Dişi(A) ve Erkek Sıçanların(B) Hedef Kadrandaki Bulunma Oranı Grafiği (Değerler ortalama \pm standart hata şeklinde ifade edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık $p<0,05$ olarak değerlendirilmiştir. DK: Dişi kontrol, DH: Dişi hipotiroidi, EK: Erkek kontrol, EH: Erkek hipotiroidi)

Tablo 3: Morris Su Tankında Dişi (A) ve Erkek Sıçanların (B) Hedef Kadrandaki Bulunma Oranı Değerleri ve Standart Hataları

	Ortalama Değerler	Standart Hata
DK	34,89	0,44
DH	27,67	0,37
EK	33,67	0,24
EH	30,62	0,54

(DK: Dişi kontrol, DH: Dişi hipotiroidi, EK: Erkek kontrol, EH: Erkek hipotiroidi)

Hipotiroidi faktörü yüzme hızında azalma eğilimi göstermesine rağmen istatistiksel anlamlılık göstermemiştir. Hipotiroidi durumu kas güçsüzlüğü ve motor fonksiyonlardaki zayıflama ile ilişkilidir. Aynı zamanda dişi ve erkekler kas kitlesi açısından kıyaslandığında farklılıklara sahiptir. Bu yüzden bu çalışmada yüzme hızından etkilenmeyen platforma olan ortalama uzaklık esas alınmıştır. Dişi sıçanlar platforma erkek sıçanlara göre anlamlı bir şekilde daha uzak yüzmüşlerdir. Dişi sıçanlardaki öğrenme performansında azalma hipotiroidi durumundan etkilenmemiştir. Gruplar arası anksiyete farklılığına bağlı öğrenme etkilenmiş olabilir mi sorusuna cevap olarak tigmotaksis davranış testi yapılmıştır. Hipotiroidi oluşturulmuş grupların, kontrol grubu sıçanlarından daha az anksiyeteye sahip olduğu ve bunun istatistiksel olarak anlamlılığı gösterilmiştir. Bu veriden "hipotiroidili grupta kontrol grubundan anlamlı derecede azalmış öğrenme performansına anksiyetenin önemli etkisi yoktur" sonucunu çıkartabiliriz. Ya da başka bir ifade ile hipotiroidi, anksiyete dışındaki bir etki ile hipokampus fonksiyonunu etkilemiştir.

Bellek performansının değerlendirilmesinde kullanılan prob denemeleri erkek sıçanlar ile dişi sıçanlar arasında bir farklılık göstermemiştir. Hipotiroidili sıçanlar hedef kadranda geçirilen oranda anlamlı azalma sergilemiştir. Çalışmamızın asıl amacı olan hipotiroidi durumunda görülen öğrenme bozukluğuna cinsiyetin etkisi değerlendirildiğinde cinsiyetin etkisi olmadığı görülmüştür. Dişi hipotiroidili gruplar ile erkek hipotiroidili gruplar anlamlı farklılık sergilememiştir. Hipotiroidi durumunda öğrenmedeki bozulmanın yetişkin sıçan hipokampusünde fosforillenmiş Mitojen Aktive Edilmiş Protein Kinaz ve Ca/Kalmodulin bağımlı Protein Kinaz II seviyelerinde azalmaya bağlı olduğu düşünülmektedir (10). Deney hayvanlarında yapılan çalışmalar, tiroit hormon yetersizliğinin merkezi sinir sisteminde sinaptik bağlantılarda ve nörotransmitter seviyelerinde yaygın görülen bir azalmaya ve azalmış miyelinizasyona neden olduğu bildirilmiştir (11,12). Perinatal hipotiroidi oluşturulan sıçanların serebral korteksinde kontrol grubuna göre androjen reseptör mRNA ekspresyonunun azaldığı ve T4 infüzyonunun ise bu durumu iyileştirdiği fakat hipokampüsteki androjen reseptörünün mRNA ekspresyonundaki azalmayı değiştirmediği bildirilmektedir (13). Bu çalışma hipotiroidili gruplarda cinsiyet farklılığının neden oluşmadığını kısmen açıklamaktadır. Dişi ve erkek sıçanların platforma olan ortalama uzaklıkları kıyaslandığında dişi sıçanların erkek sıçanlara göre daha zayıf öğrenme performansı sergilediği görülmüştür. Öğrenme-hafıza performansına, yetişkin hipokampal nöroenez etkisi yanında cinsiyet farklılıklarının da etkili olduğu bilinmektedir. Örneğin hayvan ve insanın her iki cinsiyetleri için literatürde en çok rapor edilen uzamsal öğrenmede erkeklerin dişilerden daha iyi performans sergilediği şeklindedir (14). Uzamsal öğrenme sırasında dişilerin ve erkeklerin hipokampuslerinde farklı aktivasyonlar gelişir ve bu cinsiyet farkı ile menstrual siklus arasındaki ilişkiden kaynaklanmaktadır (13,14). Nitekim yapılan çalışmalar kadınlarla karşılaştırıldığında erkeklerdeki mental rotasyon ve uzamsal yön bulmanın daha iyi olduğunu bildirmektedir. Ayrıca, kadınlarda fMRI kullanılarak ortaya konulan aktivasyon düzeyleri ve uzamsal yetenekleri değerlendirildiğinde her ikisinin de regly faz değişiklik-

lerinden etkilendiğini göstermektedir. Regly faz aşamasındaki (yumurtalık hormon düzeyleri azaldığı) dişilerin uzamsal rotasyon testinde daha iyi oldukları, uzamsal rotasyon çalışmalarındaki aktivasyon seviyelerinin, mid-luteal fazdaki dişilere kıyasla erkeklerin cevaplarına yakın olduğu şeklinde açıklamalar bulunmaktadır (15). Buradan çıkartılan sonuç erkeklerle kıyasla kadınlardaki öğrenme performansındaki azalmanın sorumlusu östrojen hormonudur. 30 adet sıçanla yapılan çalışmada hipotiroidinin hayvanlarda çalışma (working) ve referans hafızayı olumsuz etkilediği bildirilmektedir. Aynı çalışmada hipotiroidili grubun serum total antioksidan kapasitelerinin, hipokampus serotonin ve γ -aminobutirik asit (GABA) seviyelerinin kontrole göre azaldığı, hipokampuslerinde piramidal hücrelerde bozulma ve yaygın vaküoler dejenerasyon gibi yapısal değişikliklerin olduğu gösterilmiştir (16). Bu çalışmadaki amaç, erişkin hipotiroidinin öğrenme ve hafıza üzerine yaptığı olumsuz etkiyi göstermek, bunda cinsiyet bağımlı etkinin olup olmadığını ortaya koymaktır. PTU ile hipotiroidi oluşturduğumuz hayvanlarda öğrenme ve hafıza performansının bozulduğu, hipotiroidi durumunda görülen bu bozukluğa cinsiyet farklılığının bir etkisi olmadığı görülmüştür. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalında tiroit hormonun öğrenme ve hafıza üzerine olan etkisini açıklamada olası mekanizmaları ortaya koyacak çalışmalar devam etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Eichenbaum H. Hippocampus: cognitive processes and neural representations that underlie declarative memory. *Neuron* 2004; 44:109-120.
2. Squire LR, Zola SM. Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1996; 93:13515-13522.
3. Kesner RP, Hopkins RO. Mnemonic functions of the hippocampus: a comparison between animals and humans. *Biological Psychology* 2006; 73:3-18.
4. Olton DS, Paras BC. Spatial memory and hippocampal function. *Neuropsychologia* 1979; 17:669-682.
5. Arthur C, Guyton JEH. *Textbook of Medical Physiology* (eleventh edition ed). 2016; pp 934-939.
6. Davis PJ, Davis FB, Cody V. Membrane receptors mediating thyroid hormone action. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 2005; 16:429-435.
7. Davis PJ, Shih A, Lin H-Y, Martino LJ, Davis FB. Thyroxine promotes association of mitogen-activated protein kinase and nuclear thyroid hormone receptor (TR) and causes serine phosphorylation of TR. *Journal of Biological Chemistry* 2000; 275:38032-38039.
8. Warren SG, Juraska JM. Spatial and nonspatial learning across the rat estrous cycle. *Behavioral Neuroscience* 1997; 111:259.
9. Berry B, McMahan R, Gallagher M. Spatial learning and memory at defined points of the estrous cycle: effects on performance of a hippocampal-dependent task. *Behavioral Neuroscience* 1997; 111:267.
10. Tong H, Chen G-H, Liu R-Y, Zhou J-N. Age-related

- learning and memory impairments in adult-onset hypothyroidism in Kunming mice. *Physiology & Behavior* 2007; 91:290-298.
11. Figueiredo B, Almazan G, Ma Y, Tetzlaff W, Miller F, Cuello A. Gene expression in the developing cerebellum during perinatal hypo- and hyperthyroidism. *Molecular Brain Research* 1993; 17:258-268.
 12. Patel AJ, Hayashi M, Hunt A. Selective persistent reduction in choline acetyltransferase activity in basal forebrain of the rat after thyroid deficiency during early life. *Brain Research* 1987; 422:182-185.
 13. Ji C, Shao J, Zhao Z, Huang X, Mao S. Expression of androgen receptor gene in cerebral cortex and hippocampus of rats with perinatal hypothyroidism. *Zhejiang da xue xue bao Yi xue ban= Journal of Zhejiang University Medical Sciences* 2005; 34:293-297.
 14. Morris R, Schenk F, Tweedie F, Jarrard L. Ibotenate lesions of hippocampus and/or subiculum: dissociating components of allocentric spatial learning. *European Journal of Neuroscience* 1990; 2:1016-1028.
 15. Epp JR, Chow C, Galea LA. Hippocampus-dependent learning influences hippocampal neurogenesis. *Frontiers In Neuroscience* 2013; 7.
 16. Abd Allah E, Gomaa A, Sayed M. The effect of omega-3 on cognition in hypothyroid adult male rats. *Acta Physiologica Hungarica* 2014; 101:362-376.