

Araştırma Makalesi

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg 2022;15(3):480-489

doi: 10.26559/mersinsbd.1096963

Sıçanlarda 6-n-propil-2-tiourasil ile bozulan öğrenme ve bellek performansına selenyumun etkisi

 Bilal Koşar¹,  Burak Tan¹,  Melek Altunkaya²,
 Cem Süer¹,  Nurcan Dursun¹

¹Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı, Kayseri, Türkiye

²Selçuk Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Konya, Türkiye

Öz

Amaç: Bu çalışma ile sıçanlarda 6-n-propil-2-tiourasil ile hipotiroidizm oluşturularak bozulan uzamsal öğrenme ve bellek performansına selenyumun iyileştirici etkisini ortaya koymak amaçlanmıştır. **Yöntem:** Çalışma vücut ağırlıkları 250-300 gr olan, genç erkek Wistar albino sıçanlar üzerinde yapıldı. Sıçanlar kontrol, hipotiroidi, 6-n-propil-2-tiourasil ile beraber 5 ppm selenyum verilen ve 6-n-propil-2-tiourasil ile beraber 10 ppm selenyum verilen olarak dört gruba ayrıldı. Sıçanların plazma serbest triiyodotironin ve tiroksin değerleri ELİSA yöntemiyle, hipokampus selenyum değerleri ise atomik absorpsiyon spektrometresi ile ölçüldü. Öğrenme/bellek performansının değerlendirilmesi için Morris su tankı testi kullanıldı. **Bulgular:** Öğrenme testinin ilk gününden dördüncü güne doğru tüm grupların yüzme mesafelerinde ve kaçış sürelerinde anlamlı düzeyde azalma görüldü. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmada yüzme mesafesi, uygulamanın birinci gününde hipotiroidili grupta kontrole göre artış, 10 ppm selenyum verilen hipotiroidili grupta selenyum verilmeyen hipotiroidili gruba göre azalma bulundu. Hedef kadranda bulunma oranı hipotiroidizm ile azalma, 5 ppm selenyum verilen grupta, selenyum verilmeyen hipotiroidili gruba göre artış gösterdi. **Sonuç:** Bu çalışma, hipotiroidizmin hipokampal öğrenme ve bellek fonksiyonunu olumsuz etkileyebileceğini, selenyum takviyesinin ise hipotiroidizmin bu olumsuz etkisini düzeltebileceğini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Hipotiroidizm, selenyum, öğrenme, bellek, morris su tankı testi

Yazının geliş tarihi: 04.04.2022

Yazının kabul tarihi: 24.06.2022

Sorumlu yazar: Bilal Koşar, Adres: Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, Melikgazi/KAYSERİ. Telefon: 0352 2076666-23310, E-posta: drbilalkosar01@gmail.com

Not: Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji ABD "Selenyumun, sıçanlarda 6-n-propil-2-tiourasil (PTU) ile oluşturulan öğrenme/bellek bozukluğuna etkisi" başlıklı yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

Effect of selenium on impaired learning and memory performance by 6-n-propyl-2-thiouracil in rats

Abstract

Aim: In this study, it was aimed to reveal that the healing effect of selenium on spatial learning and memory performance impaired by hypothyroidism with 6-n-propyl-2-thiouracil in rats. **Method:** The study was carried out on young male *Wistar albino* rats weighing between 250 and 300 gr. The rats were divided into four groups which were control, hypothyroid, 5 ppm selenium supplied with 6-n-propyl-2-thiouracil and 10 ppm selenium supplied with 6-n-propyl-2-thiouracil group. Plasma fT3 and fT4 levels of rats were measured by ELISA method and hippocampus selenium levels were measured by atomic absorption spectrometry. Morris water maze test was used to evaluate learning/memory performance. **Results:** A significant decrease was observed in distance moved and escape latency of all groups from the first day to the fourth day of the learning test. In the statistical comparison between groups, distance moved showed an increase in the hypothyroid groups than that the control group and decrease in 10 ppm selenium supplemented hypothyroid group compared to hypothyroidism without selenium. The ratio of presence in the target quadrant decreased with hypothyroidism and increased in the group supplemented 5 ppm selenium compared to hypothyroidism without selenium. **Conclusion:** This study revealed that hypothyroidism may negatively affects hippocampal learning and memory function, and selenium supplementation may improve this negative effect of hypothyroidism.

Keywords: Hypothyroidism, selenium, learning, memory, morris water maze test

Giriş

Öğrenme/bellek her canlının vazgeçilmez bir özelliğidir. Her canlı deneyime bağlı olarak gerçekleştirmiş olduğu davranış değişikliklerini öğrenir ve bu değişikliklerin kalıcı hale gelmesi ve gerektiğinde geri çağrılabilmesi için belleğe ihtiyaç duyar.¹

Hipokampus kısa süreli belleğin uzun süreli belleğe çevrilme işlevinde önemli role sahiptir. Hipokampus'un yeni bilginin kalıcı depolamaya çevrilmesi gerçekleşinceye kadar onu tekrarlamasını gerektiren sinyal veya sinyaller ileterek bu görevi gerçekleştirdiği ileri sürülmüştür. 1980'li yıllarda Dr. Richard Morris, kemirgenlerin bulanık su altındaki gizli platformun uzamsal konumunu öğrenmeleri için Morris su tankı testi (MST)'ni oluşturmuş ve hipokampal lezyonlar ile öğrenme performansının anlamlı olarak bozulduğunu göstermiştir.² Bilişsel işlevlerin ve bellek süreçlerinin beyindeki işleyişi, genel olarak ilgili nöronlar arasındaki sinaptik ileti gücünün değişimini ifade eden sinaptik plastisiteye bağlı olduğu bilinmektedir. Öğrenme ve belleğin hücresele temeli olan sinaptik plastisitenin

indüklenmesi ve idame edilmesi moleküler ve genetik süreçler ile sağlandığından, cinsiyet hormonları, stress hormonları ve tiroid hormonları gibi çeşitli hormonların öğrenme ve bellek üzerine etki göstermeleri beklenir. Daha önceki laboratuvar çalışmalarımızda, tiroid hormonunun öğrenme ve bellek üzerine etkileri çalışılmış olup, tiroid hormon düzeyinin hem yüksekliği hem de azlığı hipokampal fonksiyonu etkilemiştir.^{3,4}

Tiroksinin (T4) etkili olabilmesi ve hücreye girmesi için aktif hormon triiyodotironin (T3)'e dönüşümü ve tiroid hormonlarının etkisiz hale gelmesi iyodotironin deiyodinaz enzimleri ile sağlanır. Üç tip iyodotironin deiyodinaz (Dİ01, Dİ02 ve Dİ03) enzimi vardır. Her bir izozim tipinin dokularda dağılım oranları ve etki tercihleri, farklılık gösterebilmektedir. Bunlardan Dİ01; karaciğer, böbrek ve tiroide bulunurken Dİ02; beyin⁵ ve hipofizde yer alarak T4'ü T3'e dönüştürür. Dİ03 ise beyin ve plasentada⁶ yer alırken T4'ü etkisiz bir T3 şekli olan rT3'e (reverse T3) dönüştürür. Dolayısıyla Dİ02 enzimi

santral sinir sistemindeki tiroid hormon seviyesi değişikliklerine uyum sağlamada önemli bir faktördür. Deiyodinaz enziminin üç izoziminin de selenoenzimler olduğunun belirlenmesi ile tiroid hormon sisteminin regülasyonunda, iyodun yanı sıra selenyumun (Se) da esansiyel bir rol üstlendiği anlaşılmıştır.⁷ Ayrıca tiroid bezi, tiroid hormon sentezi esnasında kullanılmak üzere fazla miktarda ürettiği hidrojen peroksit'in toksik etkisinden selenoenzim olan glutatyon peroksidazların antioksidan etkisiyle korunmaktadır.⁸ Se eksikliğinin, özellikle T4'ün T3'e dönüştürülmesinden sorumlu olan iyodotironin deiyodinazların işlevini azalttığı için tiroid hormonlarının sentezini azalttığı bilinmektedir.⁹ Deneysel olarak Se noksanlığı oluşturulan sıçanlar ile yapılan çalışmada, plazma T3 düzeylerinde %22 oranında azalma, T4 düzeylerinde ise %64 oranında bir artış olduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada 10 µg/kg Se verilmesinin tiroid hormon metabolizması veya glutatyon peroksidaz aktivitesi üzerinde hiçbir etki meydana getirmediğini, 200 µg/kg Se verilmesinin ise plazma T4 ve T3 düzeylerini normal seviyelere getirdiğini ayrıca, karaciğer ve plazma glutatyon peroksidaz aktivitelerini önemli ölçüde arttırdığını bildirmişlerdir.¹⁰

Selenyum, beyinde T4 hormonunun aktif form olan T3 hormonuna dönüşümünde rol alan DİO2 enzim aktivitesini arttırmaktadır. Hipotiroidizmin, sinaptik plastisite ve dolayısıyla öğrenme/bellek performansı üzerine olumsuz etkileri olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, mevcut çalışmada, sıçanlarda 6-n-propil-2-tiourosil (PTU) ile hipotiroidizm oluşturularak bozulan uzamsal öğrenme/bellek performansına Se takviyesinin iyileştirici etkisinin araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Deney Hayvanları

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 15.01.2014 tarih ve 14/009 sayılı onayı ile Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi (DEKAM)'nden sağlanan Wistar albino cinsi sıçanlar ile yapılmıştır. Çalışmada "Deney Hayvanları Kullanım ve

Etik İlkeler" prensipleri doğrultusunda hayvan hakları korunmuştur.

Tüm gruplarda vücut ağırlıkları 250-300 gr, genç (2-3 aylık) erkek hayvanlar tercih edildi. Sıçanlar, deney süresince sıcaklığı 23±2°C, %60 nemdeki ortamda, saat 07.00-19.00 ve 19.00-07.00 arasında 12'şer saatlik aydınlık-karanlık döngüsü uygulanarak ve 20x40x15cm ebatlarındaki kafeslerde dörder sıçan olacak şekilde barındırıldı. Çalışmada toplam 64 adet erkek sıçan kullanıldı. Bu sıçanlar dört gruba ayrıldı ve her bir grup öğrenme/bellek performansını ölçmekte sıklıkla kullanılan MST testine tabi tutuldu. Kontrol grubu sıçanlar, standart pellet yem ve musluk suyu ile kısıtlama yapılmaksızın beslendi (n=16). Hipotiroidi (PTU) grubu sıçanlar, standart pellet yem ile beslendi ve içme sularına 21 gün 0.2 mg/kg dozda¹¹ olacak şekilde PTU verilerek hipotiroidizm oluşturuldu (n=16). Se'nin doz bağımlı etkisini araştırmak için iki farklı doz kullanıldı. PTU ve 5 ppm Se verilen (P-5Se) grubu sıçanlar, standart pellet yem ile beslendi ve içme sularına 21 gün 0.2 mg/kg dozda olacak şekilde PTU ve 5 ppm dozda¹² sodyum selenit (Sigma S5261) karıştırılarak verildi (n=16). PTU ve 10 ppm Se verilen (P-10Se) grubu sıçanlar, standart pellet yem ile beslendi ve içme sularına 21 gün 0.2 mg/kg dozda olacak şekilde PTU ve 10 ppm dozda sodyum selenit karıştırılarak verildi (n=16).

Morris Su Tankı Uygulaması

MST testi, hipokampal öğrenme/bellek performansını ölçmede kullanılan ve bu amaca yönelik özgülüğü kabul edilmiş olan bir testtir. Protokol, tekrar ederek, tanka yerleştirilmiş gizli platformun yerinin öğrenilmesi ve sonra öğrenilen yerin hatırlanması esasına dayanır. Gizli platformun yerini öğrenmek kavramsal ilişkili fikir yürütülerek bilişsel stratejiyi kullanmayı gerektiren bir performanstır. MST testi için 180 cm çapında, 75 cm yüksekliğinde paslanmaz çelikten yapılmış bir silindir su tankı kullanıldı. Su tankı, sıcaklığı 22±2 °C olacak şekilde, toksik olmayan bir boya ile opaklaştırılarak 50 cm yüksekliğine kadar su ile dolduruldu. Bir clone CD disk (CCD) kamera sıçanların yüzme süresince tank içindeki hareketlerini

kaydetmek için tankın merkezi üzerinde olacak şekilde tavana monte edildi. Kayıtlar NOLDUS izleme ve kayıt sistemine (Noldus, Leesburg, VA) aktarıldı. MST'de 4 gün öğrenme deneyleri, 5. gün ise belleğin test edilmesi (PROBE testi) şeklinde çalışıldı. Sıçanlar 4 gün süresince öğrenme deneylerinde, her gün 4 farklı kadrandan olacak şekilde 20 dk aralıklarla suya bırakıldı ve suyun 1-2 cm altında gizli olan platformun yerini öğrenmeleri için her bir sıçanın 1 dk yüzmesine izin verildi. Bu süre içinde platformu bulamayan sıçanlar platforma yönlendirilerek, zarar vermeden platform üzerine alındı ve 15 sn süresince beklemesi sağlandı. 5. gün ise belleğin test edilmesinde platform çıkarılarak sıçanların hedef kadrandaki geçirdikleri zaman kaydedildi.

Probe deneyinde sıçanın, eskiden platformun bulunduğu kadranda diğer kadrana göre daha fazla süre bulunması beklendi. Probe denemesi son öğrenme deneyinden 24 saat sonra yapıldı. Her denemede, sıçanların platformu bulması için geçen süre, kat edilen mesafe, yüzme hızı kaydedildi. Ayrıca uzamsal öğrenme fonksiyonunu karşılaştırmak için yüzme hızından etkilenmeyen bir parametre olması nedeniyle sıçanların platforma olan ortalama uzaklıkları da kaydedildi. Belleğin test edilmesinde platformun bulunduğu hedef kadranda geçirilen süre kaydedildi. Su tankı testinin bitiminde sıçanlar anestezi altına alınarak kan örnekleri alındı.

Plazma sT3, sT4 ve Plazma ve Hipokampus Selenyum Düzeylerinin Ölçümü

Beş gün süreli MST denemelerinden hemen sonra sıçanlardan eter anestezi altında intrakardiyak olarak alınan kan örnekleri 1000 rpm'de 30 dakika süre ile santrifüj edildi, plazma örnekleri ölçüm yapılacak güne kadar -20 °C'de saklandı. Plazma sT3 (Cloud-Clone Corp. Katalog no: CEA186Ge, ABD) ve sT4 (Cloud-Clone Corp. Katalog no: CEA185Ge, ABD) ölçümleri için uygun ELISA kiti kullanıldı.

Intrakardiyak kan alımı takiben sıçanlar dekapite edilerek beyinleri çıkarıldı. Beyin dokusunun sağ ve sol hemisferi ayrıldıktan sonra hipokampusler beyinden ayrılarak çıkarıldı. Alınan kan ve doku örnekleri ölçüm yapılacak güne kadar

80°C'de saklandı. Plazma ve hipokampal Se düzeyleri atomik absorpsiyon spektrometresi ile İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitü laboratuvarlarından hizmet alımı şeklinde gerçekleştirildi.

Veri Analizi ve İstatistik

Bu çalışmada T₃ ve T₄'ün plazmadaki seviyesi PTU verilerek en düşük seviyeye indirilen hipotiroidizm oluşturulmuş hayvanlarda hipokampal fonksiyon bozukluğunun Se takviyesinden nasıl etkilendiği araştırıldı. 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.

Verilerin normal dağılım göstermesi nedeni ile istatistiksel analizlerde parametrik testlerden tek yönlü ANOVA testi kullanıldı. Plazma sT3, sT4 ve Se düzeyleri ile hipokampal Se düzeylerini karşılaştırmak için tek yönlü ANOVA testi kullanıldı. MST testi ile sıçanların, uzamsal öğrenme/bellek performansındaki değişiklikler değerlendirildi. MST testi sonuçlarının istatistiksel analizi SPSS Version 21 paket programı kullanılarak günler arası karşılaştırmalarda tekrarlayan ölçümlerde ANOVA testi ile değerlendirildi. ANOVA testi ile istatistiksel olarak anlamlı p değeri bulunması durumunda, ikili karşılaştırmalar için post hoc LSD testi kullanıldı.

İstatistiksel anlamlılık için olasılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi. Değerler ortalama±standart hata şeklinde ifade edildi.

Bulgular

Grupların Plazma sT₃ ve sT₄ değerleri: MST testinden hemen sonra tüm gruplara ait sıçanların plazma sT3 ve sT4 düzeyleri ölçülmüştür (Tablo 1). PTU verilen grupta kontrol grubundan daha düşük plazma sT3 ölçülmüştür ($F_{2,12}=26.06, p=0.001$). PTU ile beraber Se verilen gruplarda (hem P-5Se hem de P-10Se için), sT3 değeri kontrole yaklaşmış olup, PTU'lu gruptan anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur ($p < 0.001$). Ayrıca P-5Se ve P-10Se grupları

arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$). sT₄ değeri PTU grubunda sT₃ değerinde olduğu gibi kontrole göre anlamlı düzeyde azaldığı bulunmuştur ($F_{2;14}=38.08$, $p=0.001$). Buna ek olarak, PTU ile beraber Se verilen gruplarda da sT₄ değerleri PTU'lu

gruptan anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0.001$), fakat kontrol grubu ile Se takviyesi yapılan gruplar arasındaki anlamlı farklılıktan anlaşılacağı üzere ($p<0.001$), Se takviyesi sT₄ düzeylerini kontrol değerlerine yaklaştıramamıştır.

Tablo 1. Grupların plazma sT₃ ve sT₄ değerleri

	Kontrol (n=5)	PTU (n=5)	P-5Se (n=5)	P-10Se (n=5)
T ₃ (pg/mL)	2.41±0.13	1.35±0.10*	1.98±0.12+	2.20±0.09+
T ₄ (ng/dL)	1.73±0.18	0.15±0.07 *	0.51±0.09*+	0.66±0.09*+

Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi. "*" işareti kontrol grubuna göre anlamlı farklılığı ifade eder. "+" işareti PTU grubuna göre anlamlı farklılığı ifade eder. PTU; Hipotiroidizm oluşturulan grubu, P-5Se; PTU ile beraber 5 ppm Se verilen grubu ve (P-10Se) PTU ile beraber 10 ppm Se verilen grubu ifade eder.

Grupların Plazma ve Hipokampus Selenyum değerleri: Plazma Se değerlerinin (Tablo 2) istatistiksel analizinde, P-10Se grubunda kontrole göre anlamlı artış gösterdiği bulundu ($F_{2;27}=3.91$, $p=0.032$). Hipokampus Se değerleri (Tablo 2) için, P-10Se grubunda hem kontrol hem de PTU

grubuna göre anlamlı düzeyde artış gösterdiği bulunmuştur ($F_{2;12}=12.11$, $p=0.001$). P-5Se grubunda plazma Se ve hipokampus Se düzeylerinde, kontrol ve PTU grubuna göre her ne kadar bir artış görülse de bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 2 Grupların plazma ve hipokampus selenyum değerleri

	Kontrol	PTU	P-5Se	P-10Se
Plazma Se (ng/dL)	316.72±40.84 (n=10)	354.15±29.45 (n=10)	396.24±29.52 (n=10)	446.52±29.73* (n=10)
Hipokampus Se (ng/dL)	177.63±25.71 (n=5)	196.03±43.88 (n=5)	300.20±32.32 (n=5)	383.22±24.83*+ (n=5)

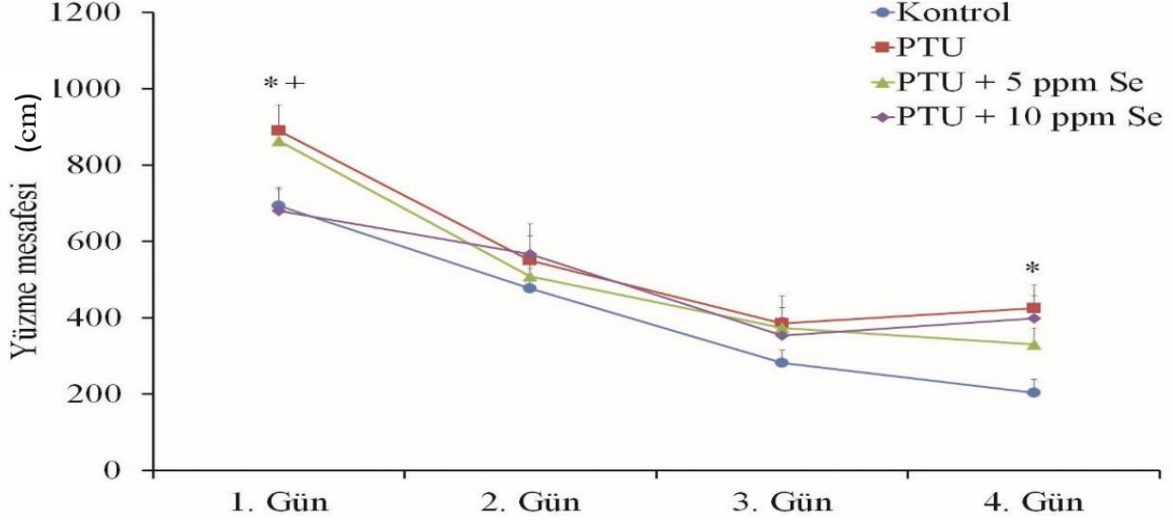
Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi. "*" işareti kontrol grubuna göre anlamlı farklılığı ifade eder. "+" işareti PTU grubuna göre anlamlı farklılığı ifade eder. PTU; Hipotiroidizm oluşturulan grubu, P-5Se; PTU ile beraber 5 ppm Se verilen grubu ve (P-10Se) PTU ile beraber 10 ppm Se verilen grubu ifade eder.

Hipotiroidili Sıçanların Yüzme Mesafesine Selenyumun Etkisi: Öğrenme performansını değerlendirmede kullanılan yüzme mesafesinin gruplara göre değerleri, Şekil 1'de gösterilmiştir. Tekrarlayan ölçümlerle ANOVA testi grup içi değişken olarak kullanılan "Gün Değişkeninin" etkisinin birinci gün ($F_{4;74}=2.67$, $p<0.01$) ve dördüncü günde ($F_{4;74}=2.74$, $p<0.01$) anlamlı

olduğunu ortaya koymuştur. Gruplar birinci güne göre dördüncü güne doğru platforma ulaşmada daha az mesafe kat etmiştir. Yüzme mesafeleri gruplar arasında istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; birinci gün: PTU ($p=0.021$) ve P-5Se ($p=0.046$) grubu, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha çok mesafe kat etmiştir. P-10Se grubunun birinci günde kat ettiği mesafe kontrol grubu ile

anlamli bir farklılık göstermezken, PTU grubuna göre anlamlı düzeyde daha az mesafe kat etmiştir. Dördüncü gün: PTU ($p=0.005$) ve P-10Se ($p=0.013$) grubu

şıçanlar kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha çok mesafe kat ettiği bulunmuştur.



Şekil 1. Öğrenme denemeleri sırasında Kontrol grubu, PTU grubu, PTU+5 ppm Se ve PTU+10 ppm Se, gruplarında yüzme mesafesi (cm) değerleri.

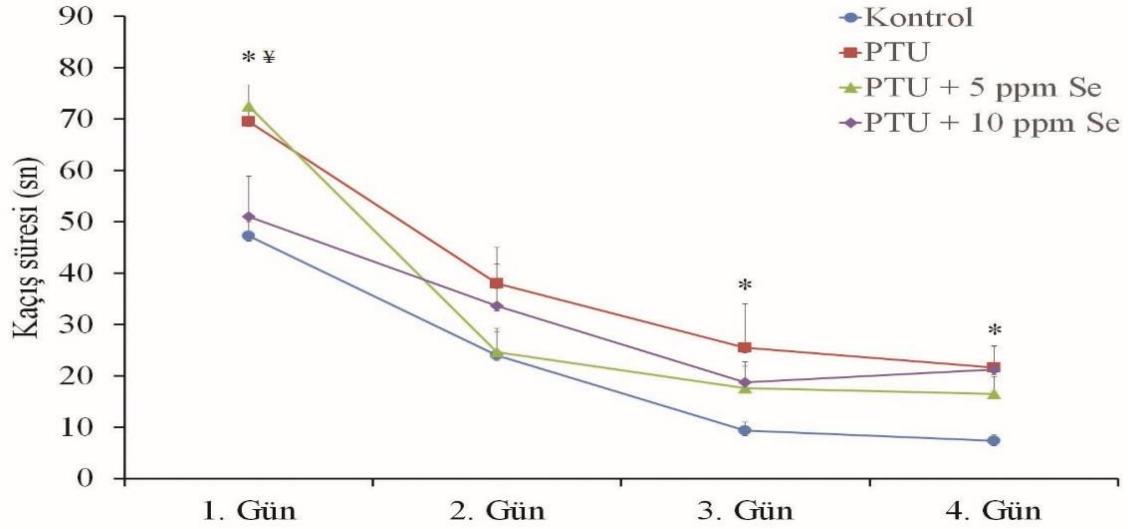
"*" işareti kontrol grubuna göre anlamlı farklılığı ifade eder. "+" işareti PTU grubuna göre anlamlı farklılığı ifade eder. Her bir grup için $n=16$. Değerler ortalama \pm standart hata olarak verildi.

Hipotiroidili Sıçanların Kaçış Süresine (platformu bulma süresi) Selenyumun Etkisi: Tüm gruplarda birinci günden dördüncü güne kadar platform bulma süresinde bir azalma dikkat çekmiştir (Şekil 2). Tekrarlayan ölçümlerle ANOVA testi yapıldığında grup içi değişken olarak kullanılan "Gün Değişkeninin" etkisinin anlamlı olduğu gösterilmiştir ($F_{4;74}=2.40$ $p<0.01$). Bu istatistiksel sonuca göre bütün gruplar platformun yerini öğrenmişlerdir. Birinci günden dördüncü güne kadar kaçış süresi gruplar arasında istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; birinci gün, PTU ($p=0.031$) ve P-5Se ($p=0.014$) grubu sıçanlar kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha uzun süre yüzerek platformu bulmuştur. Ayrıca, P-5Se grubu sıçanlar P-10Se grubu sıçanlara göre anlamlı düzeyde daha uzun süre yüzerek platformu bulmuştur. Üçüncü gün, PTU grubu sıçanlar kontrol grubu sıçanlara göre ($p=0.027$), dördüncü gün ise, PTU ($p=0.009$) ve P-10Se ($p=0.011$) grubu sıçanlar kontrol grubu sıçanlara göre anlamlı

düzeyde daha uzun süre yüzerek platformu bulmuştur.

Hipotiroidili Sıçanların Yüzme Hızına Selenyumun Etkisi: Tekrarlayan ölçümlerle ANOVA testi grup içi değişken olarak kullanılan "Gün Değişkeninin" etkisinin anlamlı olmadığını ortaya koymuştur. Ayrıca Gruplar arası karşılaştırmalarda da istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. Tüm grupların Morris Tankındaki yüzme hızları benzerdir.

Hipotiroidili Sıçanların Platforma Olan Ortalama Uzaklık Değerine Selenyumun Etkisi: Platforma olan ortalama uzaklık değerleri, kaçış süresi ve kat edilen mesafe parametrelerinin aksine yüzme hızından etkilenmez. Tekrarlayan ölçümlerle ANOVA testi grup içi değişken olarak kullanılan "Gün Değişkeninin" etkisinin anlamlı olmadığını ortaya koymuştur. Tüm grupların Morris Tankındaki platforma olan ortalama uzaklıkları benzerdir.

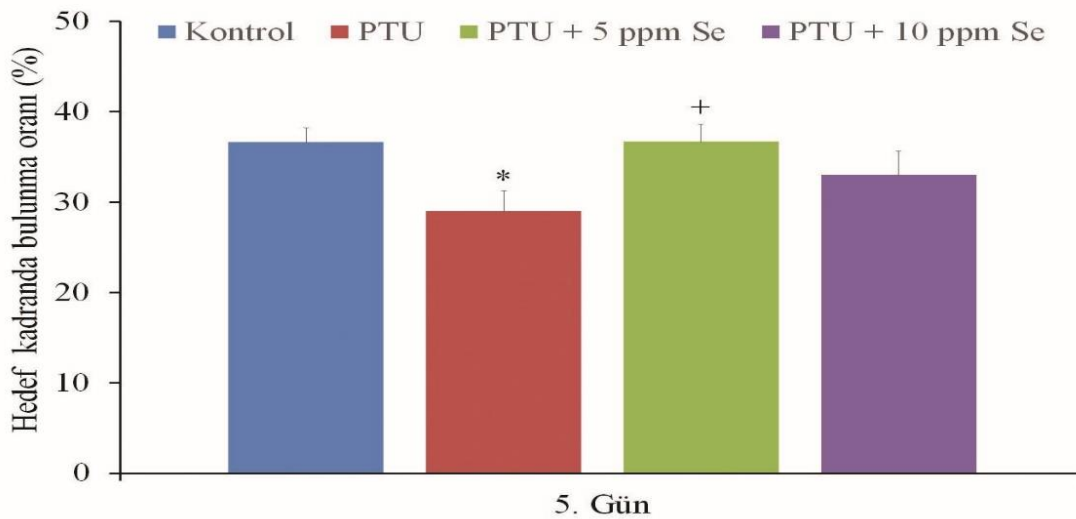


Şekil 2. Öğrenme denemeleri sırasında Kontrol grubu, PTU grubu, PTU+5 ppm Se ve PTU+10 ppm Se, gruplarının kaçış süresi (sn) değerleri.

"*" işareti kontrol grubuna göre anlamlı farklılığı ifade eder. "†" işareti PTU + 5 ppm Se ile PTU + 10 ppm Se grubu arasındaki anlamlı farklılığı ifade eder. Her bir grup için n=16. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

Hipotiroidili Sıçanların Hedef Kadranda Bulunma Oranına Selenyumun Etkisi: Hedef kadranda bulunma oranı kontrol ve deney grubu sıçanların, hedef kadranda geçirdiği sürenin, Morris Su Tankında geçirilen toplam süreye oranının yüzde olarak hesaplanması ile bulunur (Şekil 3). Tek yönlü ANOVA testi, gruplar arası karşılaştırmalarda anlamlı farklılık olduğunu ortaya koymuştur ($F_{4;74}=2.23, p=0.041$). Post

Hoc LSD testinde PTU grubunun, kontrol grubundan anlamlı olarak hedef kadranda daha az vakit geçirdiği bulunmuştur ($p=0.014$). P-5Se grubu sıçanlar ise PTU grubuna göre hedef kadranda anlamlı düzeyde daha fazla vakit geçirdiği bulunmuştur ($p=0.011$). P-10Se grubu sıçanlar ise hem PTU hem de kontrol grubu sıçanlardan istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği bulunmuştur ($p>0.05$).



Şekil 3. Kontrol grubu, PTU grubu, PTU+5 ppm Se ve PTU+10 ppm Se, grubunun Morris su tankında Probe testi denemesinde hedef kadranda bulunma oranı değerleri.

"*" işareti kontrol grubuna göre anlamlı farklılığı ifade eder. "+" işareti PTU grubuna göre anlamlı farklılığı ifade eder. Her bir grup için n=16. Değerler ortalama ± standart hata olarak verildi.

Tartışma

6-n-propil-2-tiourosil (PTU), hipertiroidizm tedavisinde kullanılan tiyoüre türevi bir ilaçtır. Etkisini, tiroid peroksidaz ve 5'-deiyodinazın inhibisyonu ile gösterir. Çalışmamızda PTU grubunda hem sT3 hem de sT4 hormon değerlerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş gözlemlendi. Gilbert ve ark.'ları¹³ düşük ve yüksek doz PTU ile (3 ve 10 ppm) konjenital hipotiroidizm oluşturdukları 30 günlük sıçanlarda T4 hormon değerlerindeki azalma ile orantılı olarak bilişsel fonksiyonlarda bozulma olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda tek doz PTU (0.2 mg/kg) 21 gün süre ile erişkin (iki aylık) sıçanların içme sularına verilerek uygulanmıştır. Bahsedilen çalışmada, 10 ppm PTU verilen sıçanların T4 hormon değerlerinde %65 azalma bulunmuştur, mevcut çalışmamızda ise bu azalma kontrolün %95'ine inmiştir. Se takviyesi, sT3 hormon değerlerini kontrol seviyelerine yaklaştırmasına rağmen, sT4 hormon değerlerinin kontrole göre anlamlı derecede düşmesine yol açtı. Se takviyesinin sT4 hormonu üzerine sınırlı etki gösterirken sT3 hormon değerini kontrol seviyesine yaklaştırması, Se'nin tiroid hormon sentezi üzerine etkisinden çok T4 hormonun T3 hormonuna dönüşümünü katalizleyen deiyodinaz enzim aktivitesini arttırmasına bağlı gibi görünmektedir. Bal ve ark.'larının¹⁴ yapmış olduğu bir çalışmada; tiroid hormonları ve serum Se seviyelerine bakılan 303 kişiden serum Se seviyeleri yüksek bulunan hastaların serbest T3/T4 oranlarının yüksek bulunması bulgumuzu destekler niteliktedir.

Morris su tankı testi, hipokampal öğrenme/bellek performansını ölçmede kullanılan ve bu amaca yönelik özgülüğü kabul edilmiş olan bir testtir. Öğrenme performansının değerlendirilmesinde kullanılan yüzme mesafesi ve kaçış zamanı yüzme hızından etkilenen parametrelerdir. Çalışmamızda yüzme hızı, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermedi. PTU grubu sıçanlarının kontrol grubu sıçanlara göre yüzme mesafesi ve kaçış zamanının anlamlı bir şekilde artmasına ek olarak, bellek performans değerlendirilmesinde kullanılan platformda

bulunma oranının anlamlı bir şekilde düşmesi, yetişkin başlangıçlı hipotiroid sıçanlarda öğrenme ve bellek performansının bozulduğunu göstermektedir. Çalışma bulgularımız her ne kadar Se takviyesinin, sıçanların öğrenme performansının değerlendirilmesinde kullanılan parametrelerde anlamlı bir sonuç doğurmasa da sıçanların hedef kadranda bulunma oranlarını arttırması, Se'nin hipotiroidizmin oluşturduğu öğrenme bozukluğundan ziyade uzamsal bellek bozukluklarını düzeltereabileceğini göstermektedir.

Çalışma sonuçlarımıza göre hipotiroidili yetişkin sıçanlarda bilişsel fonksiyonlarda bozulma geliştiği, MST testinde öğrenme/bellek testi ile ortaya konuldu. Benzer çalışmalar bizim çalışma sonuçlarımızı desteklemektedir.¹³ Dias ve arkadaşları¹⁵ 3 ay süresince methimazole'ü içme sularına vererek hipotiroidizm oluşturmuş, aynı öğrenme testleri uygulandığında platform bulma süresinin ve yüzme mesafesinin önemli derecede arttığı görülmüştür. Bu sonuçlar çalışmamız ile uyumludur. Ayrıca, hedef kadranda bulunma süresinin hipotiroidili grupta arttığını bildirmişlerdir. Fakat, bu sonuç bizim sonuçlarımızla uyuşmamaktadır. Araştırmacılar, hipotiroidizm oluşturma süresince verdikleri difenil diselenitin bilişsel fonksiyonlarda, özellikle platform bulma süresi ile yüzme mesafelerinde önemli ölçüde düzeltme yaptığını göstermişlerdir. Sadece Se verilen grubun bilişsel fonksiyonlarının kontrolden çok daha iyi olduğu ifade edilmiştir. Bu çalışma ile bizim çalışmamız arasında yöntem farklılıkları bulunmaktadır. Bu farklılıklardan biri; çalışmamızda hayvanlarda tekrar tekrar MST testi yapmanın uygun olmayacağı düşüncesi ile tek test değerlendirmesi uygulanmış olmamız, bir diğer farklılık; hipotiroidizm oluşturmada farklı ilaç kullanmamızdır. Ayrıca tüm bunlara ilaveten çalışmamızda Se, hipotiroidili hayvanlara 21 gün süre ile, iki farklı dozda uygulanmıştır. Dias ve arkadaşlarının¹⁵ bulgularından farklı olarak çalışmamızda daha düşük doz ve daha kısa

sürelî Se takviyesinde hipokampus bağımlı bellek fonksiyonlarında düzelme olduğu görülmüştür.

Mevcut çalışma bulgularımıza göre Se takviyesinin özellikle DİO₂ aracılığı ile hipokampusta T4'ün T3'e dönüşümünü artırarak hipotiroidizmin bellek üzerine oluşturduğu olumsuz etkisini azaltabileceğini düşünmekteyiz. Deneysel, klinik ve epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen kanıtların toplamı, yüksek düzeyde diyet antioksidanları içeren gıdaların tüketiminin bilişsel bozulma riskini önleyebileceği veya azaltabileceği fikrini desteklemektedir.^{16,17} Dolayısıyla, Se'nin deiodinaz enzim aktivite artışı ile aktif T3 hormon seviyesini düzenleyebilmesinin yanında, nöroprotektif ve antioksidan etkisiyle de hipotiroidizm ile bozulan bellek fonksiyonlarının iyileşmesine katkı sağlayabilir.

Sonuç

Bu çalışma yetişkin dönem başlangıçlı hipotiroidizmin, hipokampuste öğrenme/bellek gibi bilişsel fonksiyonları olumsuz etkileyebileceğini, Se takviyesinin ise hipotiroidizmin bu olumsuz etkisini düzeltilebileceğini düşündürmektedir.

Yazar katkısı: BK: Verilerin Analizi ve Yorumlanması, Makalenin Yazılması; BT: Deney, Verilerin Analizi ve Yorumlanması, Makalenin Yazılması; MA: Deney, Verilerin Analizi ve Yorumlanması, Makalenin Yazılması; CS: Tasarım ve Planlama, Verilerin Analizi ve Yorumlanması, Makalenin Yazılması; ND: Tasarım ve Planlama, Verilerin Analizi ve Yorumlanması, Makalenin Yazılması.

Çıkar çatışması: Yazarların herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Mali destek: Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir [proje numarası: TYL-2014-5102].

Kaynaklar

1. Keleş E, Çepni S. Beyin ve öğrenme. *J. Turk. Sci. Educ.* 2006;3(2):66-82.

2. Morris RG, Garrud P, Rawlins Ja, O'Keefe J. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature.* 1982;297(5868):681-3.
3. Bavarsad K, Hosseini M, Hadjzadeh M-A-R, Sahebkar A. *The effects of thyroid hormones on memory impairment and Alzheimer's disease.* *J Cell Physiol.* 2019;234(9):14633-40.
4. Artis A, Bitiktas S, Taşkın E, Dolu N, Liman N, Suer C. Experimental hypothyroidism delays field excitatory post-synaptic potentials and disrupts hippocampal long-term potentiation in the dentate gyrus of hippocampal formation and Y-maze performance in adult rats. *J. Neuroendocrinol* 2012;24(3):422-33.
5. Jo S, Fonseca TL, Bocco BMLC et al. Type 2 deiodinase polymorphism causes ER stress and hypothyroidism in the brain. *J. Clin. Investig.* 2019;129(1):230-45.
6. Huang SA, Dorfman DM, Genest DR, Salvatore D, Larsen PR. Type 3 iodothyronine deiodinase is highly expressed in the human uteroplacental unit and in fetal epithelium. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003;88(3):1384-8.
7. Winther KH, Rayman MP, Bonnema SJ, Hegedüs L. Selenium in thyroid disorders — essential knowledge for clinicians. *Nat. Rev. Endocrinol* 2020;16(3):165-76.
8. Croteau W, Whittmore SL, Schneider MJ, Germain DL. Cloning and expression of a cDNA for a mammalian type III iodothyronine deiodinase. *Int. J. Biol. Chem.* 1995;270(28):16569-75.
9. Ventura M, Melo M, Carrilho F. Selenium and thyroid disease: from pathophysiology to treatment. *Int. J. Endocrinol* 2017;2017.
10. Arthur JR, Nicol F, Hutchinson AR, Beckett GJ. The effects of selenium depletion and repletion on the metabolism of thyroid hormones in the rat. *Journal of inorganic biochemistry* 1990;39(2):101-8.
11. Chaalal A, Poirier R, Blum D et al. PTU-induced hypothyroidism in rats leads to several early neuropathological signs of Alzheimer's disease in the hippocampus

- and spatial memory impairments. *Hippocampus*. 2014;24(11):1381-93.
12. Bitiktaş S, Tan B, Batakçı M, Kavraal Ş, Dursun N, Süer C. Effects of selenium treatment on 6-n-propyl-2-thiouracil-induced impairment of long-term potentiation. *Neurosci. Res.* 2016;109:70-6.
 13. Gilbert M, Sui L. Dose-dependent reductions in spatial learning and synaptic function in the dentate gyrus of adult rats following developmental thyroid hormone insufficiency. *Brain Res.* 2006;1069(1):10-22.
 14. Bal C, Büyükşekerci M, Ercan M ve ark. Farklı selenyum seviyelerinin tiroid hormon sentezi üzerine etkisi. *Turk Hij Den Biyol Derg*, 2015; 72(4): 311-6.
 15. Dias GRM, Vieira FA, Dobrachinski F et al. Diphenyl diselenide diet intake improves spatial learning and memory deficits in hypothyroid female rats. *Int. J. Dev. Neurosci. INT J DEV NEUROSCI* 2012;30(2):83-9.
 16. Meydani M. Antioxidants and cognitive function. *Nutr. Rev.* 2001;59(8):S75-S82.
 17. Lee KH, Cha M, Lee BH. Neuroprotective Effect of Antioxidants in the Brain. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(19):7152