

Öğrenme ve Bellek Deneylerinde Deney Hayvanlarına Yaklaşım ve Deney Modellerinin Değerlendirilmesi

Approach to Experimental Animals in Learning and Memory Experiments and Evaluation of Experimental Models

Melek ALTUNKAYA¹ 

¹Selçuk Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Konya, TÜRKİYE

Öz

Öğrenme ve bellek, canlıların yeni bilgiler ediniş depolanmasını ve gerektiğinde geri çağırmasını sağlayan ve yaşamlarını sağlıklı bir şekilde devam ettirebilmeleri için gerekli olan bir süreçlerdir. Öğrenme ve bellek ile ilgili beynimizin ana bölümleri amigdala, hipokampus, beyincik ve prefrontal kortektir. Bu alanlardaki bozulmalar öğrenme ve bellek mekanizmalarını etkilemektedir. Hayvan çalışmaları insanlarda öğrenme ve bellek bozukluklarının patofizyolojisi hakkında önemli bilgiler sunarak tedavi için yeni farmakolojik ajanların keşfedilmesine katkıda bulunur. Ancak hayvan çalışmalarına başlamadan önce yapılacak çalışmanın amacını ve bu amaca ulaşabilmek için çalışmada hangi tür deney hayvanının kullanılacağını ve bu tür deney hayvanında hangi test ve modelin uygun olduğunu belirlemek, seçilen hayvan türünde modelin geçerliliği ve güvenilirliği hakkında bilgi sahibi olmak oldukça önem arz eder. Bu amaçla bu derlemede, deney hayvanlarında yaygın olarak kullanılan öğrenme ve bellek modelleri ve testleriyle ilgili temel bilgilerin sunulması ve testler arasında bir kıyaslama yapma imkanının sunulması amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Öğrenme, Bellek, Öğrenme ve Bellek Testleri, Hayvan Davranışı

Abstract

Learning and memory are processes that enable living beings to acquire and store new information and recall it when necessary, and are necessary for them to continue their lives in a healthy way. The main parts of our brain related to learning and memory are the amygdala, hippocampus, cerebellum and prefrontal cortex. Deteriorations in these areas affect learning and memory mechanisms. Animal studies provide important information about the pathophysiology of learning and memory disorders in humans and contribute to the discovery of new pharmacological agents for treatment. However, before starting animal studies, it is very important to determine the purpose of the study to be conducted, which type of experimental animal will be used in the study to achieve this purpose, which test and model are appropriate for this type of experimental animal, and to have information about the validity and reliability of the model in the selected animal species. For this purpose, this review aims to present basic information about learning and memory models and tests commonly used in experimental animals and to provide the opportunity to make a comparison between the tests.

Keywords: Learning, Memory, Learning and Memory Tests, Animal Behavior

Sorumlu Yazar / Corresponding Author

Dr. Melek ALTUNKAYA
Selçuk Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri
Meslek Yüksekokulu, Konya, TÜRKİYE

E-mail: melek.batakci@selcuk.edu.tr

Geliş tarihi / Received: 20.05.2024

Kabul tarihi / Accepted: 21.10.2024

DOI: 10.35440/hutfd.1487260

Giriş

Fizyolojinin 1890'larda ayrı bir akademik disiplin olarak kurulmasıyla birlikte öğrenme ve bellek ile ilgili yapılan çalışmalar artmıştır. William James, 1890'da "Fizyolojinin Prensipleri" adlı eserinde öğrenmeye geniş yer ayırmıştır (1, 2). Bellek geçmiş yaşantıların, öğrenilen konuların, deneyimler sonucunda geliştirilen veya değiştirilen davranışların hatırlanması (geri çağırma) yetisidir ve insanlar için toplumsal yaşam gereği büyük öneme sahiptir (3). Basitçe bellek dış dünya hakkındaki bilginin kodlandığı, saklandığı ve geri çağırıldığı süreçtir (4). Öğrenme ise çevresel uyarılara bağlı olarak değişmiş davranışsal yanıt kazanımıdır. Nörofizyolojik açıdan öğrenme, sinir sisteminde gelişen elektriksel, kimyasal ve yapısal bazı değişiklikler sonucunda yeni sinaptik bağlantıların kurulması olarak tanımlanmaktadır (5, 6). Bellek farklı özelliklerine göre sınıflandırılmaktadır. Belleğin zamansal değerlere göre sınıflandırılması genel olarak kabul görmüşken, içeriğe dayalı ayırım üzerinde açıklık sağlanamamıştır. 19. yy'de Hering, Ebbinghaus ve ardından Atkinson ve Shiffrin tarafından belleğin zamansal sınıflaması yapılmıştır (7, 8). Bu sınıflamaya göre bellek duysal bellek, kısa süreli (çalışma belleği) ve uzun süreli bellek olarak üç grupta tanımlanmıştır (7).

Belleği içeriğine göre sınıflandırdığımızda ise ikiye ayrılır. Birincisi açık (ifade edilen, declarative) bellek, ikincisi örtük (ifade edilemeyen, non-declarative) bellektir (9). Açık bellek kabaca bilgi ile ilgilidir ve epizodik (olaysal) bellek ve semantik (anlamsal) bellek olarak ikiye ayrılır (9). Epizodik bellek, bir olayın ne zaman, nerede gerçekleştiği ve nasıl bir olay olduğu hakkında içeriksel bilgiyi kapsar (10, 11). Semantik bellek ise dünyaya ait gerçekler hakkında bilgi içerir (10). Örtülü bellek ise kabaca beceriler ile ilgilidir ve bireyin bilgiyi edinme sürecinin ve hatta böyle bir bilgiye sahip olduğunun bile farkında olmaması anlamındadır (3, 12). Çalışmalar belleğin tek bir bölgede olmadığı farklı ve çoklu beyin sistemleri tarafından desteklendiği konusunda fikir birliğine varmıştır. Beynin hafızayla ilgili ana bölümleri beyincik, hipokampus, prefrontal korteks ve amigdaladır (13). Beyincik beceri gerektiren hareketlerin koordinasyonu ve denge kontrolüyle ilişkilendirilse de (14, 15) prosedüral bellek (işlemsel bellek) sistemini de desteklemektedir (16). Prosedüral bellek, uyarıların tekrarı ve becerilerin sürekli pratik edilmesiyle güçlenen bir bellek türüdür (bisiklete binme ve beceri gerektiren oyun oynama gibi) (16, 17). Prosedüral belleğin özelliklerinden biri tekrarlanan uygulama ihtiyacıdır (16, 17). Hipokampus, görsel-uzaysal işleme ve kısmen de "çalışan" belleğe ilişkin bir yapıdır (11, 18) Hipokampus uzunlamasına bir eksenle bölündüğünde arka hipokampus belirli anılardaki görsel-uzaysal ayrıntılarla ilişkilirken, ön hipokampus bir yerin genel kavramını hatırlamakla ilişkilidir (19). Yaşanan anıların ve yaşadıkları mekanların geri çağırılmasına yardımcı olduğu için hipokampus epizodik bellekle ilişkilidir (11, 18).

Epizodik çıkarımda, hipokampus, mevcut olayları önceki bilgiyle ilişkilendirerek bütünleştirmek ve kodlamak için

ventromedial prefrontal korteks ile etkileşime girerek genellemeye katkıda bulunur (20). Ventral prefrontal korteks, önceden öğrenilmiş şemanın hatırlanmasıyla ilişkilidir. Medial temporal yapılarla sağlam bağlantıları vardır ve daha önce gerçekleşmiş bir şeyi tanımaya yardımcı olurken, bununla ilişkili bazı ayrıntıları hatırlayarak, zaten bildiğimizi düşündüğümüz şeylerdeki boşlukları doldurmaya yardımcı olur (21). Amigdala acı, korku ve haz gibi hafızanın duygusal bileşenlerini işler (22). Amigdala olaya karşı güçlü veya zayıf bir duygusal tepkiye sahip olup olmadığına dayanarak hatıraların nerede depolanacağına belirlenmesinde rol oynar (22, 23).

Deney hayvanlarında bellek Morris su labirenti, Barnes labirenti, yeni obje tanıma ve yeni yer bulma testleri, T labirenti, Y labirenti ve radyal 8 kollu labirent gibi testler kullanılarak değerlendirilir (24-26). Bu çalışmada bu testlerin uygulama şekilleri, kullanıldığı çalışmalar ve aralarındaki farklar incelenmiştir.

Öğrenme ve Bellek Modelleri

Davranış deneylerinde deney hayvanının barındığı odada yapılmayacaksa, deney hayvanının testten önce deney yapılacak oda da en az 30-60 dk boyunca odaya alıştırılması gereklidir (27-29). Bu esnada araştırmacı odada kalabilir ancak bu süre zarfında sessiz kalmalıdır. Deneyin yapılacağı araç bir önceki kullanımdan sonra koku alma işaretlerini en aza indirmek için %70 etanol ile temizlenip kurulmalıdır ve etanol ile temizleme sonrası deney hayvanlarında etanolün irrite edici kokusunun giderilmesi için ıslak bir bezle kurulması önerilmektedir (27-29). Ayrıca deney hayvanında sirkadiyen ritimler nedeniyle gün boyunca aktivite seviyelerinde meydana gelen değişiklikler hesaba katmalı ve deney her gün aynı saatte yapılmalıdır (genellikle sabah saatleri tercih edilir) (30, 31).

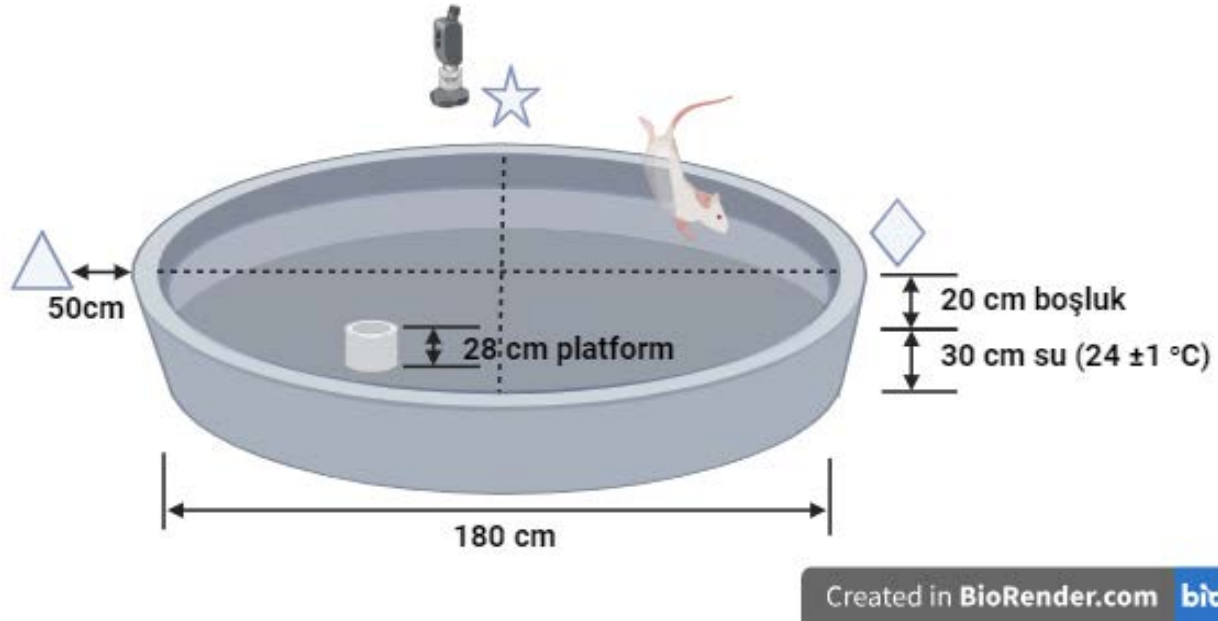
Morris Su Labirenti (Morris Water Maze (MWM))

Morris su labirenti (MWM) davranış çalışmalarında, kemirgenlerde yaşlanmanın, deneysel lezyonların, nörodejeneratif hastalıkların (örn. Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, şizofreni) ve ilaç etkilerinin değerlendirilmesinde 25 yılı aşkın süredir yaygın şekilde kullanılan ve kabul gören bir test olmuştur (32-34). 1982'den bu yana, bu modelin kemirgenlerde uzamsal öğrenme ve hafızayı değerlendirmek ve karşılaştırmak için kullanıldığı 2500'den fazla dergi makalesi literatürde bulunabilir (35, 36).

Protokol, içi su dolu havuza yerleştirilmiş gizli platformun yerinin öğrenilmesi ve sonra öğrenilen yerin hatırlanması esasına dayanır (24, 34). Gizli platformun yerini öğrenmek kavramsal ilişkili fikir yürütülerek bilişsel stratejiyi kullanmayı gerektiren bir performanstır (24, 37). Test için silindirik şekilde bir havuz kullanılır. Havuz paslanmaz çelikten olabileceği gibi plastikten de olabilir. Havuzun veya hedef platformunun ne büyüklükte olması gerektiğine dair kesin standartlar yoktur (38). Ancak Morris'in ilk havuzun çapının 132 cm olması ve ilk metodolojik makalesini yayınladığında,

sonraki deneylerde çapını 214 cm'ye çıkarması dikkat çekicidir (38). Havuzun hedef boyuta göre çok küçük olması durumunda, sıçanların labirenti mekansal ipuçlarını kullanmadan çözdüğüne dair çalışma bulunmaktadır (39). Diğer taraftan havuz 244 cm çapında büyük havuzlarda da sıçanların zorlanmadan öğrenebildiklerini gösterilmiştir (38, 40). Havuz içindeki platformu gizlemek amacıyla toksik olmayan bir boya veya gıda renklendirici madde eklenerek suyun opaklaştırılması gerekir. Suyun yüksekliği platformu gizleyecek şekilde (platformu 1-2 cm geçmeli) ve en az 35-50 cm yüksekliğinde olmalıdır (eğer zemin ve platform siyah boyalı

nırsa, suyu opak hale getirecek maddeye olan ihtiyaç ortadan kalkabilir) (24, 37). Görüntü kaydı almak ve gerekli ölçümleri yapabilmek için havuzun merkezinin üzerinde olacak şekilde tavana monte kayıt ve görüntü işleme sistemleri (Noldus EthoVision® (Leesburg, Virginia (ABD), San Diego Instruments (ABD), Columbus Instruments, (ABD)) kullanılabilir. Testin yapıldığı odaya deney hayvanının görebileceği mesafede olacak şekilde yön belirteçleri (geometrik resimler; kareler, üçgenler, daireler vb.) asılır (35, 36, 38). Deneyin yapılacağı havuz iki dik kesişen doğru ile hayali olarak 4 eşit kadrana ayrılır (Şekil 1) (34, 37).



Şekil 1. Morris Su Tankı (BioRender programında çizilmiştir)

Sıçanlar havuza atılırken sıçanın yüzü tank ya da havuzun duvar kısmına bakmalıdır (37). Deney hayvanı havuza bırakıldıktan sonra yüzme aktivitesi, platforma ulaşma süresi, kat edilen toplam mesafe, her çeyrekte harcanan zaman ve mesafe vb. bilgiler bir video izleme sistemi aracılığıyla bulunur (37, 38). Sıçanlar her atışta 60 sn (bazı protokolde 90 sn(38)) süre ile yüzdürülür (41), bu süre içinde platform üzerine çıkıp 5 sn kalan sıçanlar deneyin bu aşamasını tamamlamış olarak kabul edilir ve 15 sn (bazı protokolde 30 saniyedir(24)) süreyle platform üzerinde kalmalarına izin verilir (37). Bekleme süresi içinde deney hayvanı platformdan düşerse 15 sn doldurmak için tekrar platforma alınır (37). 60 sn içinde platformu bulamayan sıçanlar elle yönlendirilerek platformu bulmaları sağlanır (42) ve 15- 20 sn süreyle platform üzerinde kalmasına dikkat edilir (37, 43). Sıçanlar 4 gün boyunca, her gün 4 farklı kadrandan ve iki sıçan arasında 20 dk aralıklı olacak şekilde suya bırakılıp platformu bulma süreleri kaydedilir (37, 42). Deneyin 5. günü platform çıkarılarak sıçanın 2 dakika süresince serbestçe yüzmesine izin verilir ve görüntü kaydı alınır (37, 43). Bu denemede sıçanın eskiden platformun bulunduğu kadranda diğer kadrana göre daha fazla vakit geçirmesi beklenir. Probe denemesi son öğrenme denemesinden 24 saat sonra (37, 38)

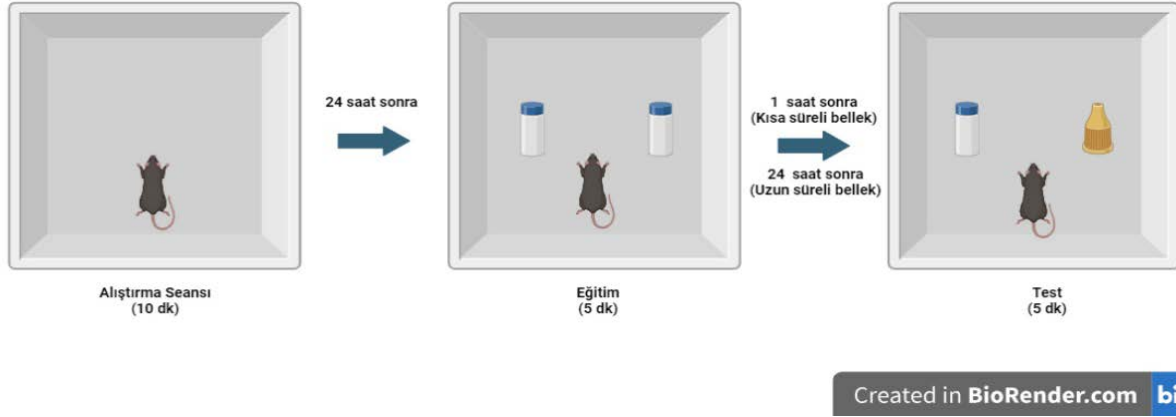
ya da 48 saat içinde yapılır (43). Probe denemesi bize önceki platform konumu için uzamsal bilgiyi ölçmek üzere platformun havuzdan çıkarıldığı bir araştırma denemesi şeklinde gerçekleştirilir. Bu, önceki hedef çeyrekte harcanan zamanın yüzdesinin (ve yüzme mesafesinin) yanı sıra önceki platform konumu üzerinden geçiş sayısının ölçülmesiyle gerçekleştirilir. Bu değerlendirmeler, önceki platform konumuna ilişkin hafızanın gücü ve doğruluğu hakkında ikinci bir tahmin sağlar. Video izleme cihazlarının kullanılması ve yüzme hızlarının ölçülmesi yoluyla, motor fonksiyonlardaki eksiklikler belirlenebilir. Platformun konumu değiştirilerek hem öğrenme hem de yeniden öğrenme deneyleri gerçekleştirilebilir. Ayrıca uzamsal öğrenme fonksiyonunu karşılaştırmak için yüzme hızından etkilenmeyen bir parametre olması nedeniyle sıçanların platforma olan ortalama uzaklıkları da kaydedilir. Belleğin test edilmesinde ise platformun bulunduğu hedef kadranda geçirilen süre kaydedilir (37, 43).

Yeni Nesne Tanıma Testi (Novel Object Recognition Test (NORT))

Yeni nesne tanıma testi öğrenme ve hafızayı değerlendirmek için basit ve etkili bir test olarak ilk kez 1988 yılında

Ennaceur ve Delacour tarafından tanımlanmıştır (44). Bu test, öğrenmenin ve belleğin farklı aşamalarını (edinim, pekiştirme veya hatırlama) incelemek, farklı bellek türlerini (uzamsal bellek) değerlendirmek veya hafızada tutmanın farklı aralıklarını (kısa süreli hafıza ve uzun süreli hafıza) değerlendirmek için kullanılır (45, 46). Bu nedenle öğrenme ve hafızadaki farmakolojik, genetik ve nörolojik değişiklikleri incelemek için tercih edilebilir. Deney hayvanının yeni bir nesneyi araştırmaya tanıdık bir nesneden daha fazla zaman harcama eğilimine dayalı olarak hipokampüse bağlı tanıma

hafızasını değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan bir davranış testidir (29, 47). Teste kullanılan kutu plastik, pleksiglas veya tahtadan olabilir. Kutunun ebatları çalışmalara göre ve deney hayvanının türüne göre değişmektedir. Eğer çalışmada sıçan kullanılacaksa; 66 x 56 x 30 cm (48), 40 x 50 x 50 cm (47) ve 50x50x46 cm (49) ebatlarında kutular kullanılabilir. Eğer deney hayvanı olarak fare kullanılacaksa yaklaşık 30 cm x 23 cm x 21,5 cm ebatında kutu (50) yada 40 cm x 40 cm x 40 cm ebatlı kutu tercih edilebilir (Şekil 2) (51).



Şekil 2. Yeni Nesne Tanıma Protokolü (BioRender programında çizilmiştir).

Deneye başlamadan önceki gün alıştırmaya günüdür (29). Deney hayvanında oluşabilecek her türlü stresi veya kaygıyı azaltmak için deneyin yapılacağı boş kutuda 5-10 dk bekletilir (29). Deneyde kullanılacak ideal nesnenin ağırlığı deney hayvanı tarafından yerinden oynatılmayacak kadar ağır olmalıdır (29). Nesnenin cam veya metal olarak seçilmesi hem malzemelerde kolayca oluşabilecek deformitelerin hem de koku muhafazasının önüne geçtiği için daha uygundur (29). Ertesi gün, yani tanıma seansı, iki özdeş nesne (A1 ve A2), açık alanın duvarlarından yaklaşık 10 cm uzakta, zıt köşelerde ya da iki komşu kenara denk gelecek şekilde yerleştirilir (28, 29). Daha sonra kutuya sıçan konulup 5 dakika kutuda tutularak nesnelere keşfetmesine izin verilir ve kutudan çıkarılır. Eğer kısa süreli bellek değerlendirilecekse tanıma seansından 60 dk sonra aynı nesne ve yeni bir nesne konarak (diğerleriyle aynı yere) sıçan tekrar kutuya konulur ve 5 dk kutuda tutularak nesnelere incelenme davranışı kaydedilir (28, 42). Uzun süreli bellek için tanıma seansından 24 saat sonra aynı nesne ve yeni bir nesne konarak (diğerleriyle aynı yere), sıçan 5 dakika kutuda tutularak ve nesnelere incelenme davranışı kaydedilir (28). Nesnelere keşfetmek için harcanan zamanı ölçerken nesnenin koklanması, nesneye bakmak, yalamak, dokunmak keşif davranışı olarak tanımlanırken nesneye yaslanmak, ayakta durmak veya üzerinde oturmak keşif davranışı olarak kabul edilmez (28, 48) Deneyde iki indeks kullanılır; 1. Yüzde tanıma indeksi (Recognition Index – RI) hatırlamanın temel göstergesi olarak görülür ve yeni nesneyi inceleme süresinin toplam nesne inceleme süresine bölünmesinden sonra 100 ile çar-

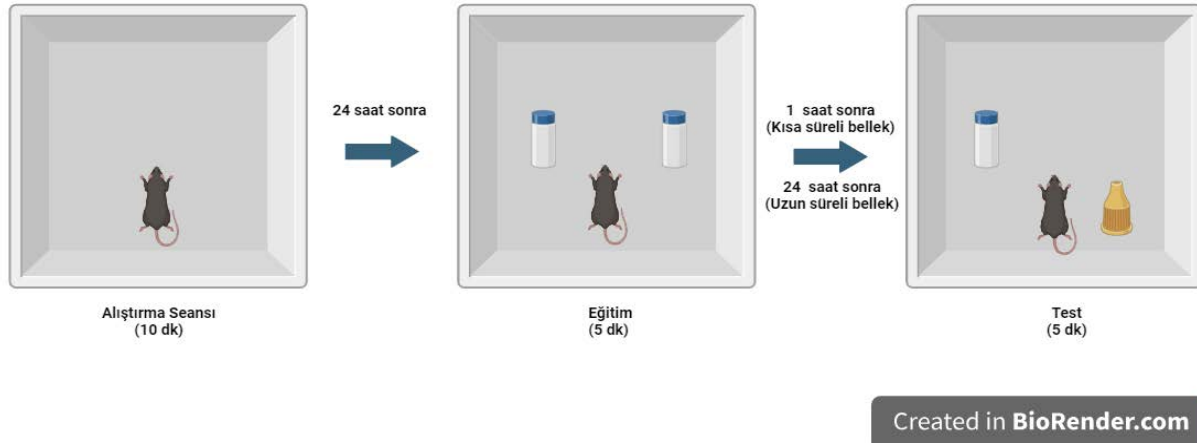
pılarak hesaplanır. %50'nin üzerindeki bir değer, yeni konum veya nesnenin daha fazla araştırıldığını gösterir (29, 52, 53). 2. Ayrım indeksi yeni nesnelere üzerinde harcanan süre ile tanıdık nesne ile geçirilen süre arasındaki farkın her iki nesneyi keşfetmek için harcanan toplam süreye bölünmesiyle hesaplanır (29, 52, 53). Pozitif bir değer, yeni nesneyi araştırmak için daha fazla süre harcadığını gösterir. Ayrımcılık indeksinin sıfır olması, her iki nesneyle harcanan sürenin eşit olduğunu gösterir (29, 52, 53).

Yeni Yer Bulma Testi (Novel Location Recognition Test (NLRT))

Yeni yer bulma testi büyük ölçüde hipokampal aktiviteye dayanan uzamsal öğrenmeyi değerlendirir (29, 54). Yeni nesne tanıma testinde olduğu gibi deneye başlamadan bir gün önce alıştırmaya seansı olarak hayvanın deneyin yapılacağı kutuyu boş olarak 10 dk keşfetmesine imkân sağlanır (29). Ertesi gün yani tanıma seansı iki özdeş nesne (A ve A'), açık alanın duvarlarından yaklaşık 10 cm uzakta, zıt köşelerde ya da iki komşu kenara denk gelecek şekilde yerleştirilir (28). Deney aşamasında aynı iki özdeş nesne kullanılır fakat nesnenin birisinin yeri önceki konuma göre farklı bir yere konulur (28) (Şekil 3). Daha sonra nesnelere keşfetmeye harcanan zaman, NORT testinde anlatıldığı gibi hesaplanır.

Recognition İndeks = yeni konumda geçirilen süre / yeni konum + tanıdık konumda geçirilen süre x 100

Ayrım İndeksi = yeni konumda geçirilen süre - tanıdık konumda geçirilen süre / yeni konum + tanıdık konumda geçirilen süre.



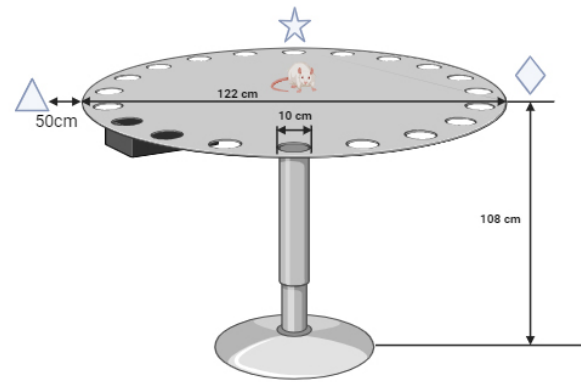
Şekil 3. Yeni Yer Bulma Protokolü (BioRender programında çizilmiştir).

Barnes Maze Task (BM)

İlk kez 1979'da Carol Barnes tarafından tanımlanmış olmasına rağmen, kullanılması neredeyse yirmi yıl sonra kabul görmüştür (55, 56). Mekansal öğrenmeyi değerlendirmek, yaşlılık, nörogelişimsel bozukluklar, zihinsel gerilik gibi pek çok öğrenmenin bozulduğu patolojik durumları değerlendirmeye olanak tanır (57, 58). Suda yüzdürme işlemi olmadığı için Morris su labirentine göre daha az streslidir (59). Ancak deneylerde Morris kadar tercih edilmemektedir (60, 61). Bu testin tercih edilmemesinin altında yatan nedenler arasında genetik değişimlere daha az duyarlı olmasıdır. Yapılan bir çalışma Tg2576 farelerinde (Alzheimer hastalığının bir modeli) uzamsal hafıza bozukluklarını tespit etme olasılığının, BM kullanıldığında (T labirenti veya Morris su labirentiyle karşılaştırıldığında) daha düşük olduğu gösterilmiştir (60, 61). Deney için kullanılacak platform ahşap, plastik, polietilen, pleksiglas veya metalden yapılabilir. Rengi genellikle beyaz (62) tercih edilebileceği gibi gri yada siyah olabilir (63, 64). Ancak deney hayvanı kaçış için karanlık ortamı tercih etmesinden dolayı kaçış deliği kutusu siyah renkte olmalıdır. Düzenek üzerinde 20 tane her biri 10 cm çapta delik bulunan 122 cm çapında açık dairesel bir platformdan oluşur (64, 65). Bazı düzenekler 18 deliklide olabilir (Şekil 4) (61) Platformun yerden yüksekliği 108 cm dir (64, 65).

Bu deliklerden sadece bir tanesinin altında siyah renkte gömme bir kaçış kutusu bulunur. Dairesel platformdan 50 cm uzakta dört proksimal görsel ipucu yerleştirilir. Hayvanlara testin başlamasından bir gün önce alıştırma yaptırılır. Alıştırma seansları farklılık gösterebilir, örneğin bir çalışmada sadece 2 dk kaçış kutusunda deney hayvanı tutulurken (66) bazı çalışmalarda ise alıştırma süresinde bir hayvanı 1-2 dakika kaçış kutusunu bulmak için platforma yerleştirip ardından 2 dakika kaçış kutusunda kalmasına izin verilir (61, 67, 68). Test gününde her bir hayvan ilk olarak labirentin merkezine yerleştirilmiş olan 20 cm çapında ve 30 cm yüksekliğinde dairesel şeffaf olmayan bir tutma kutusunda 30 saniye boyunca tutulur. Daha sonra tutma kutusu kaldırılarak hayvanın platformun merkezinden kaçış deliğine doğru yolunu bulması kaydedilir. Deney hayvanının ka-

fasının yönü her denemede rastgele değiştirilir. Kaçış deliğine ulaşıldığında hayvanın 2 dakika orada kalmasına izin verilir, ardından 15 dk (bazı çalışmalarda bu süre 30 dakikadır (69)) dinlenme süresi için kendi kafesine alınır (61). Başka protokollerde ise deneme, hayvan kaçış kutusuna girdiğinde sona erer veya 3 dk geçmesi beklenir nu süre içinde kaçış kutusunu bulamayan hayvan, araştırmacı tarafından kutuya yerleştirilir ve çıkarılmadan önce 15 saniye orada kalmasına izin verilir (56). Test 5 gün boyunca günde iki deneme şeklinde yapılır. Her denemede iki ölçüm kaydedilir. Birincisi kaçış kutusunun bulma gecikmesi, ikincisi ise her bir hayvanın yaptığı hataların sayısı (56, 61). Hata, kaçış kutusu üzerindeki delik dışında herhangi bir deliğin kafa dürtmesiyle keşfedilmesi olarak tanımlanır (56, 61).



Şekil 4. Barnes Maze Task (BioRender programında çizilmiştir).

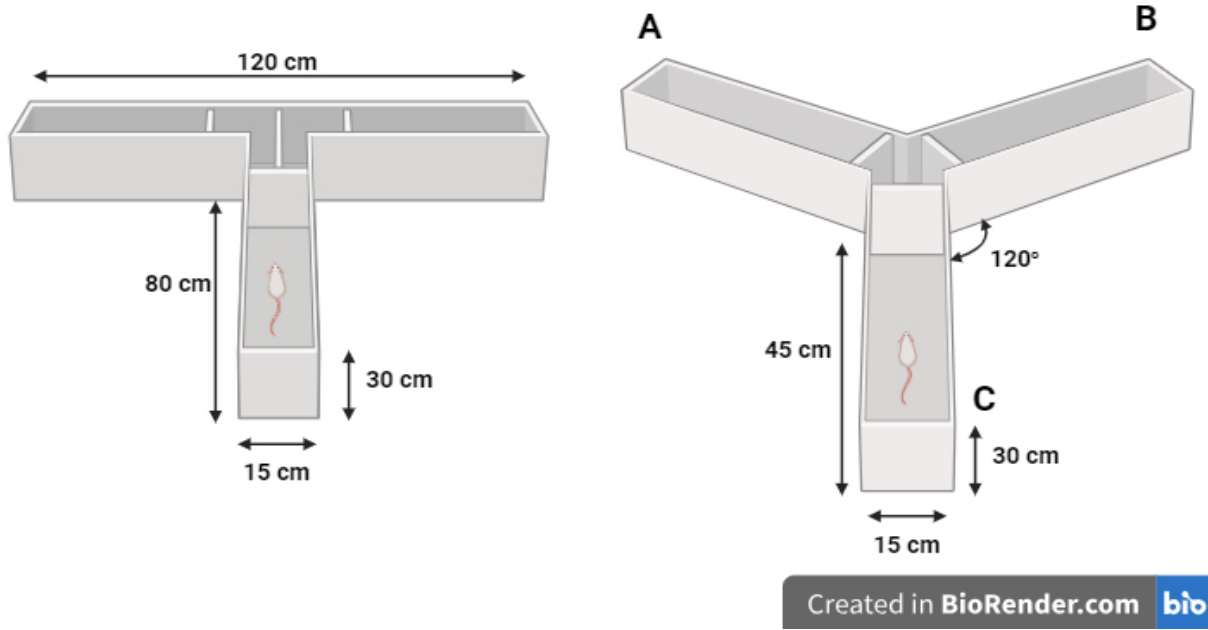
T Labirenti ve Y Labirenti

Şu anda kullanılan labirentlerin çoğunluğu 20. yy. başında yapılan çalışmalarda kullanılan labirentler olmakla birlikte daha önce geliştirilen labirentlerin modifikasyonlarıdır. T-Y-W maze, tekrarlı T ve Y maze gibi pek çok labirent bulunmaktadır. Bu kısımda sık tercih edilen yön bulma öğrenimi ve hafıza çalışmalarında kullanılan T ve Y labirent deneylerinden bahsedilecektir. Hayvanların doğuştan gelen araştı-

macı yapısı gereği ilk seferde örneğin sola gitmeye karar veren hayvan ikinci sefer sağı tercih etme olasılığı daha yüksektir (70). Yani, labirentin en son ziyaret edilen kolu en iyi bilinenidir ve bu nedenle tekrar keşfedilme olasılığı daha düşüktür (71). T labirentinin tanıtılmasıyla birlikte başka bir ikili karar labirenti olan Y labirenti geliştirildi (72). T labirente göre Y labirentin kollarının 120°'lik açıya sahip olması labirenti deney hayvan için daha doğal hale getirerek öğrenme süresinin kısalmasını sağlar (73). Y labirenti farelerde kısa süreli hafızayı, referans bellek, çalışan bellek ölçümlerini değerlendirmek için kullanılabilir (26). Farelerin ve kemirgenlerin daha önce ziyaret edilmemiş alanları keşfetmeye yönelik doğuştan gelen merakı vardır (74). Test fare-

lerinin eğitimi sırasında bir kolu kapalı olacak şekilde Y labirentine yerleştirilir. Çalışma belleği ve dolayısıyla prefrontal kortikal işlevleri sağlam olan bir fare, daha önce ziyaret ettiği kolu hatırlamalı ve hangi kolu keşfetmediğini hatırlayıp bu kolu daha sık ziyaret etmelidir (31).

Labirent ahşap ya da koyu renk pleksiglastan yapılması uygundur. T labirent fareler için 30 cm × 10 cm × 20 cm (75) iken, sıçan çalışmaları için T labirent 80 cm × 15 cm × 30 cm, ya da 120 cm × 10 cm × 30 cm, seçilebilir (Şekil 5a) (70). Sıçan için Y labirent aparatı siyah pleksiglastan yapılmış, merkezi bir birleştirme bölgesi etrafında 120° aralıklarla düzenlenmiş üç özdeş koldan 45 cm × 15 cm × 30 cm, olabilir (Şekil 5b) (31).



Şekil 5. T Labirenti ve Y Labirenti (BioRender programında çizilmiştir).

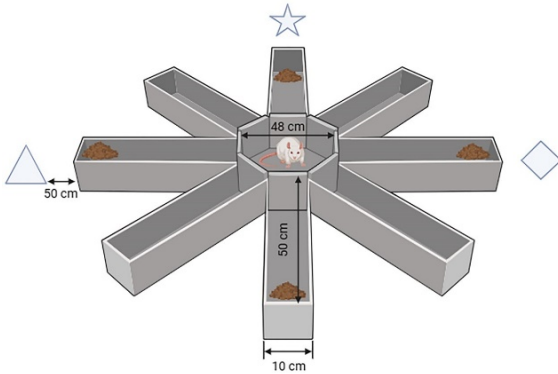
Y labirentinin modifiye formları vardır 1. Model: Y labirenti otomatik bir davranış kabul edip eğitim gerektirmeden test aşamasına geçilir. Önce Şekil 5b'de olduğu gibi labirent kolları isimlendirilir. Araştırmacıya yakın kola (örneğin A kolu) sıçan yerleştirilip 8 dk boyunca sıçanın girmiş olduğu kollar kaydedilir (43). Labirent koluna bir giriş sıçanın dört uzvunun da o kol içinde olması olarak tanımlanır. Eğer sıçan labirentin bir kolunda saklanıp 60 saniyeden fazla aynı noktada hareketsiz kalırsa (labirent deney sonrası iyi temizlenmemesinden dolayı veya odanın dışındaki yüksek bir sesten dolayı hayvan korkabilir ve labirentte hareketsiz kalabilir) sıçan Y labirentinin merkezine doğru hareket ettirilip deneye devam edilir (31). Uzamsal biliş hesaplanırken başarılı değişimlerin sayısının toplam giriş sayısının iki eksiğine bölünmesiyle hesaplanır. Örnek verecek olursak hareketler ACABCABAB-CABC olarak kaydedilmişse, spontane değişimi hesaplarken ilk iki başlangıç konumunu dikkate alınmaz (payda 11 hareket olacak şekilde). Doğru hareketlerin sayısını sayın (doğru hareketler = 8). Yüzde doğruluk: $8 / (13 - 2) \times 100 = \%72,7$ (31, 76). 2. Model ; Y-Labirent'in kollarından birinin bloke edilip

kemirgenin kalan iki kolu keşfetmesine izin verilir ve ardından üçüncü kola erişimin yeniden açılması ve kemirgenin üçüncü yeni kolda ne kadar süre geçirdiğinin değerlendirilmesini içerir (77). Eğitim aşaması sırasında, başlangıç koluna yerleştirilir ve kollardan biri (yani yeni kol) kapalı olarak 10 dakika boyunca labirenti keşfetmelerine izin verilir. Daha sonra sıçanlar, daha önce bloke edilen kolun erişilebilir olduğu ertesi günkü test aşamasına kadar ev kafesine geri gönderilir. Ertesi gün sıçanların 8 dakika boyunca tüm kolları incelemesine izin verilir (78). 3. modelde ise Y-Labirent yeni bir nesnenin veya yiyeceğin uyarıcı olarak kollardan birine yerleştirilerek sıçanın keşif modelinin gözlemlenmesi temeline dayanır (77).

Radyal Kollu Labirent (Radial Arm Maze (RAM))

Olton ve Samuelson tarafından 1976 yılında geliştirilmiş olup RAM, BM ve MWM'nin geliştirilmesinden önce mekansal öğrenme ve hafızanın değerlendirilmesi için geçerli bir testtir (36, 38). RAM, merkezi boşlukta sekizgen bir merkez ve bu

merkezden 45'er derecelik eşit açılarla yayılan üstü açık sekiz adet kapalı koldan oluşur (79-82). RAM pleksiglastan veya tahtadan yapılabilir. Çalışmalarda farklı ebatlarda yapılmış RAM'ler görülmektedir (79-82). 30 cm yarı çaplı merkeze bağlı, 50 cm uzunluk ve 12 cm genişlikte kollar olabileceği gibi (80), 24 cm yarı çaplı merkeze bağlı, 50 cm uzunluk ve 10 cm genişlikte kollar (81) ya da 45 cm yarı çaplı merkeze bağlı, 58 cm uzunluk ve 16,5 cm genişlikte kollar (82) olabilir. Testin platformunun yerden yüksekliği 50-80 cm arasında seçilmektedir (Şekil 6) (83, 84). Testten önce aksi belirtilmediği sürece deney hayvanlarının vücut ağırlıklarını başlangıç kilosunun %80-85'ine indirmek için hayvanların yemeleri kısıtlanır (79, 83-85). Deney aşamasının günleri çalışmalarda farklılık göstermekle birlikte (79, 81, 86) üç aşamadan oluşur 1. aşama: alıştırmaya ya da ön eğitim aşaması 2. aşama: eğitim aşaması 3. aşama: test aşamasıdır (79, 81, 84). İlk iki gün hayvanlar alışma seansında 5-10 dk labirentin merkezine bırakılır (79, 84). Üçüncü günden itibaren beş gün boyunca, rastgele seçilmiş dört kola yiyecek konularak bu kollar açık tutulur; diğer dört kol kapatılır (79). Merkeze bırakılan hayvanların kollarındaki yemleri bulmaları beklenir. Test, hayvanın dört koldaki yiyeceği bulması ya da 10 dk sürenin tamamlanmasıyla sonlandırılır (79, 81). Sekizinci günden itibaren, kapalı tutulan diğer dört kol açılır; ancak bu kollar yem konulmaz (79). RAM'de değerlendirilen parametreler, kol girişleri (dört pençenin de o kola yerleşmesiyle sayılır); kol gecikmeleri (üç mevcut yiyecek ödülünü bulmak için geçen maksimum süre) ve dikilme sayısı değerlendirilir (79, 83). Eğer deney hayvanı yemli kollar yeniden giriş yaparsa çalışma belleği hatası olarak puanlanır, yemsiz kollar giriş yaparsa referans belleği hatası olarak puanlanır (83, 84). Testi tamamlama süresi olarak dört koldaki yiyeceği bulma süresi puanlanır (79). Örneğin, hayvan 10 dakika süresinde toplam 6 kola girmiş ise cevap gecikmesi; $600/6=100'$ dür (Labirentte geçirilen toplam süre saniye çevrilir/toplam girilen kol sayısına bölünür). Başka bir örnek verecek olursak, hayvan toplam 8 kolu hatalı girişler de dahil olmak üzere toplamda 12 giriş sayısı ile tamamlamış ve tüm girişleri 480 saniyede sonlandırmış ise, cevap gecikmesi, $480/12=40'$ dür.



Şekil 6. Sekiz Kollu Labirent (BioRender programında çizilmiştir).

Sonuç

Bu derlemede beynin öğrenme ve hafıza ilgili ana bölümleri olan amigdalada, hipokampusüte, beyincik ve prefrontal korteksite meydana gelebilecek hasarların tespitinde davranış ve sinirbilim araştırmalarında kullanılan basit ve karmaşık labirentlere genel bir bakış sunulmuştur. Bu modellerin güvenilir ve geçerli bir şekilde kullanılabilmesi için hayvan deneyinde elde edilen sonuçların, gözlemlenen hastalık veya durumun gerçekten de deneysel olarak oluşturulduğunun doğrulanmasına ihtiyaç duyulabilir bu doğrulama patolojik çalışmalarla yapılabilir. Ayrıca bu derlemede öğrenme ve bellek modellerinde kullanılacak hayvanın türüne, test esnasında kullanılan nesnelerin cinsinin seçimine, kullanılacak prosedürün ve değerlendirilecek parametrelerin araştırmanın amacına göre ve en önemlisi labirentlerin sorgulanacak biliş türüne göre seçilmesi gerektiğine dikkat çekilmiştir.

Yazar Katkıları:

Konsept: M.A.

Literatür Tarama: M.A.

Tasarım: M.A.

Veri toplama: M.A.

Analiz ve yorum: M.A.

Makale yazımı: M.A.

Eleştirel incelenmesi: M.A.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını bildirmişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma herhangi bir fon tarafından desteklenmemiştir.

Kaynaklar

- Sweatt JD. Mechanisms of memory: Academic Press; 2009.
- James's W. Principles of psychology: British Royal Archives; 1863.
- Özen NE, Rezaki M. Prefrontal korteks: Bellek işlevi ve bunama ile ilişkisi. Türk Psikiyatri Dergisi. 2007;18(3):262-9.
- Kandel ER. The molecular biology of memory storage: A dialogue between genes and synapses. J Science. 2001;294(5544):1030-8.
- Hall JE, Guyton AC. Medical physiology Amsterdam: Elsevier Saunders; 2006.
- Berktaş F, Kıroğlu O, Aksu F. Antidepresan ilaçların öğrenme ve bellek mekanizmasına etkileri. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi. 2017;26(2):178-206.
- Jawabri KH, Cascella M. Physiology, explicit memory. StatPearls [Internet]. 2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554551/>.
- Cascella M, Al Khalili Y. Short-term memory impairment. StatPearls [Internet]. 2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545136/>.
- Graf P, Schacter DL. Implicit and explicit memory for new associations in normal and amnesic subjects. Journal of experimental psychology Learning, memory, and cognition. 1985;11(3):501-18.
- Danieli K, Guyon A, Bethus I. Episodic memory formation: A review of complex hippocampus input pathways. Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry. 2023;126:110757.
- Moscovitch M, Cabeza R, Winocur G, Nadel L. Episodic memory and beyond: The hippocampus and neocortex in transformation. Annual review of psychology. 2016;67:105-

- 34.
12. Robertson LT. Memory and the brain. *Journal of dental education*. 2002;66(1):30-42.
 13. Pape H-C, Pare D. Plastic synaptic networks of the amygdala for the acquisition, expression, and extinction of conditioned fear. *Physiological reviews*. 2010;90(2):419-63.
 14. Schmahmann JD. The cerebellum and cognition. *J Neuroscience letters*. 2019;688:62-75.
 15. Ivry R, Fiez J. Cerebellar contributions to cognition and imagery. 2000. In: *The Cognitive Neurosciences* [Internet]. Cambridge: MIT Press.; [999-1011].
 16. Ullman MT. Contributions of memory circuits to language: The declarative/procedural model. *Cognition*. 2004;92(1-2):231-70.
 17. Xie T-T, Wang T-Z, Wei Y-P, Ye E-C, Exercise. Declarative memory affects procedural memory: The role of semantic association and sequence matching. *J Psychology of Sport*. 2019;43:253-60.
 18. Hutter SA, Wilson AI. A novel role for the hippocampus in category learning. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2018;38(31):6803-5.
 19. Small SA, Nava AS, Perera GM, DeLaPaz R, Mayeux R, Stern Y. Circuit mechanisms underlying memory encoding and retrieval in the long axis of the hippocampal formation. *Nature neuroscience*. 2001;4(4):442-9.
 20. Schlichting ML, Preston AR. Memory integration: Neural mechanisms and implications for behavior. *Current opinion in behavioral sciences*. 2015;1:1-8.
 21. Oscar-Berman M. Function and dysfunction of prefrontal brain circuitry in alcoholic korsakoff's syndrome. *Neuropsychology review*. 2012;22(2):154-69.
 22. Kensinger EA, Addis DR, Atapattu RK. Amygdala activity at encoding corresponds with memory vividness and with memory for select episodic details. *Neuropsychologia*. 2011;49(4):663-73.
 23. Hamann S, Mao H. Positive and negative emotional verbal stimuli elicit activity in the left amygdala. *Neuroreport*. 2002;13(1):15-9.
 24. Dyomina AV, Smolensky IV, Zaitsev AV. Refinement of the barnes and morris water maze protocols improves characterization of spatial cognitive deficits in the lithium-pilocarpine rat model of epilepsy. *Epilepsy & Behavior*. 2023;147:109391.
 25. Paul C-M, Magda G, Abel S. Spatial memory: Theoretical basis and comparative review on experimental methods in rodents. *Behavioural brain research*. 2009;203(2):151-64.
 26. Zhai Q, Zhang Y, Ye M, Zhu S, Sun J, Wang Y, et al. Reducing complement activation during sleep deprivation yields cognitive improvement by dexmedetomidine. *British journal of anaesthesia*. 2023;131(3):542-55.
 27. Vuralli D, Wattiez AS, Russo AF, Bolay H. Behavioral and cognitive animal models in headache research. *Journal Headache Pain*. 2019;20(1):11.
 28. Lin JC, Lee MY, Chan MH, Chen YC, Chen HH. Betaine enhances antidepressant-like, but blocks psychotomimetic effects of ketamine in mice. *Psychopharmacology*. 2016;233(17):3223-35.
 29. Denninger JK, Smith BM, Kirby ED. Novel object recognition and object location behavioral testing in mice on a budget. *Journal of visualized experiments : JoVE*. 2018(141).
 30. Allen RS, Motz CT, Feola A, Chesler KC, Haider R, Ramachandra Rao S, et al. Long-term functional and structural consequences of primary blast overpressure to the eye. *Journal of neurotrauma*. 2018;35(17):2104-16.
 31. Gudapati K, Singh A, Clarkson-Townsend D, Phillips SQ, Douglass A, Feola AJ, et al. Behavioral assessment of visual function via optomotor response and cognitive function via y-maze in diabetic rats. *Journal of visualized experiments : JoVE*. 2020(164).
 32. Francis PT, Palmer AM, Snape M, Wilcock GK. The cholinergic hypothesis of alzheimer's disease: A review of progress. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. 1999;66(2):137-47.
 33. McNamara RK, Skelton RW. The neuropharmacological and neurochemical basis of place learning in the morris water maze. *Brain research Brain research reviews*. 1993;18(1):33-49.
 34. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of neuroscience methods*. 1984;11(1):47-60.
 35. Terry AV, Jr. *Frontiers in neuroscience spatial navigation (water maze) tasks*. In: Buccafusco JJ, editor. *Methods of behavior analysis in neuroscience*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis 2009.
 36. Othman MZ, Hassan Z, Che Has AT. Morris water maze: A versatile and pertinent tool for assessing spatial learning and memory. *Experimental animals*. 2022;71(3):264-80.
 37. Koşar B, Burak T, Altunkaya M, Cem S, Dursun N. Siçanlarda 6-n-propil-2-tiourasil ile bozulan öğrenme ve bellek performansına selenyumun etki. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2022;15(3):480-9.
 38. Vorhees CV, Williams MT. Assessing spatial learning and memory in rodents. *ILAR journal*. 2014;55(2):310-32.
 39. Mactutus C, Booze R. Accuracy of spatial navigation: The role of platform and tank size. *Soc Neurosci Abst*. 1994;20:1014.
 40. Williams MT, Braun AA, Amos-Kroohs RM, McAllister II JP, Lindquist DM, Mangano FT, et al. Kaolin-induced ventriculomegaly at weaning produces long-term learning, memory, and motor deficits in rats. *International Journal of Developmental Neuroscience*. 2014;35:7-15.
 41. She L, Sun J, Xiong L, Li A, Li L, Wu H, et al. Ginsenoside rk1 improves cognitive impairments and pathological changes in alzheimer's disease via stimulation of the ampk/nrf2 signaling pathway. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. 2024;122:155168.
 42. Liu Y, Xia P, Zong S, Zheng N, Cui X, Wang C, et al. Inhibition of alzheimer's disease by 4-octyl itaconate revealed by rna-seq transcriptome analysis. *European journal of pharmacology*. 2024;968:176432.
 43. Kang S, Lee J, Choi S, Nesbitt J, Min PH, Trushina E, et al. Moderate ethanol exposure reduces astrocyte-induced neuroinflammatory signaling and cognitive decline in presymptomatic app/ps1 mice. *Research square*. 2023.
 44. Ennaceur A, Delacour J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behavioural brain research*. 1988;31(1):47-59.
 45. Winters BD, Saksida LM, Bussey TJ. Object recognition memory: Neurobiological mechanisms of encoding, consolidation and retrieval. *J Neuroscience Biobehavioral Reviews*. 2008;32(5):1055-70.
 46. Dere E, Huston JP, Silva MADS. The pharmacology, neuroanatomy and neurogenetics of one-trial object recognition in rodents. *J Neuroscience Biobehavioral Reviews*. 2007;31(5):673-704.
 47. Wu C, Yang L, Li Y, Dong Y, Yang B, Tucker LD, et al. Effects of

- exercise training on anxious-depressive-like behavior in alzheimer rat. *Medicine and science in sports and exercise*. 2020;52(7):1456-69.
48. Szczepańska K, Bojarski AJ, Popik P, Malikowska-Racia N. Novel object recognition test as an alternative approach to assessing the pharmacological profile of sigma-1 receptor ligands. *Pharmacological reports* : PR. 2023;75(5):1291-8.
 49. Colettis NC, Habif M, Oberholzer MV, Filippin F, Jerusalinsky DA. Differences in learning and memory between middle-aged female and male rats. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, NY)*. 2022;29(5):120-5.
 50. Barrett RM, Malvaez M, Kramar E, Matheos DP, Arrizon A, Cabrera SM, et al. Hippocampal focal knockout of cbp affects specific histone modifications, long-term potentiation, and long-term memory. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 2011;36(8):1545-56.
 51. Lueptow LM. Novel object recognition test for the investigation of learning and memory in mice. *Journal of visualized experiments : JoVE*. 2017(126).
 52. Chen HH, Chiang YC, Yuan ZF, Kuo CC, Lai MD, Hung TW, et al. Buprenorphine, methadone, and morphine treatment during pregnancy: Behavioral effects on the offspring in rats. *Neuropsychiatric disease and treatment*. 2015;11:609-18.
 53. Kūçūkkarapınar M, Dönmez A, Candansayar S, Bozkurt A, Akçay E, Gülbahar Ö, et al. Erken dönem müdahalelerin erişkin wistar sıçanlarında davranışsal ve nörogelişimsel etkileri. *Arch Neuropsychiatry* 2020.
 54. Ennaceur A, Meliani K. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. lli. Spatial vs. Non-spatial working memory. *Behavioural brain research*. 1992;51(1):83-92.
 55. Gawel K, Gibula E, Marszalek-Grabska M, Filarowska J, Kotlinska JH. Assessment of spatial learning and memory in the barnes maze task in rodents—methodological consideration. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. 2019;392:1-18.
 56. Pitts MW. Barnes maze procedure for spatial learning and memory in mice. *Bio-protocol*. 2018;8(5).
 57. Puzzo D, Lee L, Palmeri A, Calabrese G, Arancio O. Behavioral assays with mouse models of alzheimer's disease: Practical considerations and guidelines. *Biochemical pharmacology*. 2014;88(4):450-67.
 58. Illouz T, Madar R, Clague C, Griffioen KJ, Louzoun Y, Okun E. Unbiased classification of spatial strategies in the barnes maze. *Bioinformatics*. 2016;32(21):3314-20.
 59. Harrison F, Hosseini A, McDonald M. Endogenous anxiety and stress responses in water maze and barnes maze spatial memory tasks. *Behavioural brain research*. 2009;198(1):247-51.
 60. Stewart S, Cacucci F, Lever C. Which memory task for my mouse? A systematic review of spatial memory performance in the tg2576 alzheimer's mouse model. *Journal of Alzheimer's disease*. 2011;26(1):105-26.
 61. Walesiuk A, Braszko JJ. Gingkoselect alleviates chronic corticosterone-induced spatial memory deficits in rats. *Fitoterapia*. 2010;81(1):25-9.
 62. O'Leary TP, Savoie V, Brown RE. Learning, memory and search strategies of inbred mouse strains with different visual abilities in the barnes maze. *Behavioural brain research*. 2011;216(2):531-42.
 63. Gawel K, Labuz K, Gibula-Bruzda E, Jenda M, Marszalek-Grabska M, Filarowska J, et al. Cholinesterase inhibitors, donepezil and rivastigmine, attenuate spatial memory and cognitive flexibility impairment induced by acute ethanol in the barnes maze task in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. 2016;389:1059-71.
 64. Morel GR, Andersen T, Pardo J, Zuccolilli GO, Cambiaggi VL, Hereñú CB, et al. Cognitive impairment and morphological changes in the dorsal hippocampus of very old female rats. *J Neuroscience Biobehavioral Reviews*. 2015;303:189-99.
 65. Sunyer B, Patil S, Höger H, Lubec G. Barnes maze, a useful task to assess spatial reference memory in the mice. *PROTOKOL2007*.
 66. Greferath U, Bennie A, Kourakis A, Barrett G. Impaired spatial learning in aged rats is associated with loss of p75-positive neurons in the basal forebrain. *J Neuroscience*. 2000;100(2):363-73.
 67. Marszalek-Grabska M, Gibula-Bruzda E, Bodzon-Kulakowska A, Suder P, Gawel K, Talarek S, et al. Adx-47273, a mglu5 receptor positive allosteric modulator, attenuates deficits in cognitive flexibility induced by withdrawal from 'binge-like' ethanol exposure in rats. *Behavioural brain research*. 2018;338:9-16.
 68. Vargas-López V, Lamprea MR, Múnera A. Characterizing spatial extinction in an abbreviated version of the barnes maze. *Behavioural processes*. 2011;86(1):30-8.
 69. Yamada M, Sakurai Y. An observational learning task using barnes maze in rats. *Cognitive neurodynamics*. 2018;12:519-23.
 70. Wijnen K, Genzel L, van der Meij J. Rodent maze studies: From following simple rules to complex map learning. *Brain Structure Function*. 2024:1-19.
 71. Dember WN, Fowler H. Spontaneous alternation behavior. *J Psychological bulletin*. 1958;55(6):412.
 72. Warden C. A standard unit animal maze for general laboratory use. *J The Pedagogical Seminary Journal of Genetic Psychology*. 1929;36(1):174-6.
 73. Coutrot A, Manley E, Goodroe S, Gahnstrom C, Filomena G, Yesiltepe D, et al. Entropy of city street networks linked to future spatial navigation ability. *Nature*. 2022;604(7904):104-10.
 74. da Cruz Rodrigues KC, Kim SC, Uner AA, Hou ZS, Young J, Campolim C, et al. Lrp1 in gabaergic neurons is a key link between obesity and memory function. *Molecular metabolism*. 2024;84:101941.
 75. Deacon RM, Rawlins JNP. T-maze alternation in the rodent. *Nature protocols*. 2006;1(1):7-12.
 76. Abdulbasit A, Stephen Michael F, Shukurat Onaopemipo A, Abdulmusawwir AO, Aminu I, Nnaemeka Tobechukwu A, et al. Glucocorticoid receptor activation selectively influence performance of wistar rats in y-maze. *Pathophysiology : the official journal of the International Society for Pathophysiology*. 2018;25(1):41-50.
 77. Havekes R, Nijholt IM, Luiten PG, Van der Zee EA. Differential involvement of hippocampal calcineurin during learning and reversal learning in a y-maze task. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, NY)*. 2006;13(6):753-9.
 78. Jia G, Sun Y, An P, Wu W, Shen Y, Liu H, et al. Auditory training remodels hippocampus-related memory in adult rats. *Cerebral Cortex*. 2024;34(2).
 79. Dost T, Firat Z, Tamer M, Ulugöl A, Karadağ ÇH. The role of histaminergic system in learning and memory functions. *Balkan Medical Journal*. 2002;2002(1).
 80. You C, Zhang Z, Ying H, Yang Z, Ma Y, Hong J, et al. Blockage of

- calcium-sensing receptor improves chronic intermittent hypoxia-induced cognitive impairment by per-act4-chop pathway. *Experimental neurology*. 2023;368:114500.
81. Kaya E, Bölükbaşı Hatip FF, Yılmaz İ, Hatip-Al-Khat İ. Effect of nilvadipine on memory impairment and hippocampal malondialdehyde in rats with 4-vessel occlusion ischemia. *Duzce Medical Journal*. 2013.
82. Banerjee S, Mukherjee B, Poddar MK, Dunbar GL. Carnosine improves aging-induced cognitive impairment and brain regional neurodegeneration in relation to the neuropathological alterations in the secondary structure of amyloid beta (a β). *Journal of neurochemistry*. 2021;158(3):710-23.
83. Nascimento C, Guerreiro-Pinto V, Pawlak S, Caulino-Rocha A, Amat-Garcia L, Cunha-Reis D. Impaired response to mismatch novelty in the li(2+)-pilocarpine rat model of tle: Correlation with hippocampal monoaminergic inputs. *Biomedicines*. 2024;12(3).
84. Sanz-Martos AB, Roca M, Ruiz-Gayo M, Del Olmo N. Tributyrin reverses the deleterious effect of saturated fat on working memory and synaptic plasticity in juvenile mice: Differential effects in males and females. *European journal of pharmacology*. 2024;977:176726.
85. Şavik E, Gültekin F, Karakoyun İ, Doğuç DK, Demirin H, Delibaş N. Klorpirifosun sıçanlarda öğrenmeye etkileri. *Medical Journal of Süleyman Demirel University*. 2008;15(3):1-6.
86. Setkowicz Z, Gaździńska A, Osoba JJ, Karwowska K, Majka P, Orzeł J, et al. Does long-term high fat diet always lead to smaller hippocampi volumes, metabolite concentrations, and worse learning and memory? A magnetic resonance and behavioral study in wistar rats. *PLoS One*. 2015;10(10):e0139987.