

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**APELİN'İN SOSYAL İZOLASYON UYGULANAN GENÇ
SIÇANLARDA DAVRANIŞ ÜZERİNE ETKİSİ**

KANİYE ZEYNEP ÇALIŞKAN SAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

Prof. Dr. Selim KUTLU

KONYA 2019

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**APELİN'İN SOSYAL İZOLASYON UYGULANAN GENÇ
SIÇANLARDA DAVRANIŞ ÜZERİNE ETKİSİ**

KANIYE ZEYNEP ÇALIŞKAN SAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Selim KUTLU

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü tarafından 181318010 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA 2019

TEZ ONAY SAYFASI

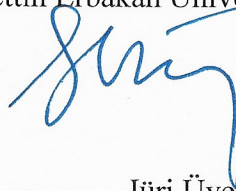
Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi **Kaniye Zeynep ÇALIŞKAN SAK**'ın '**Apelin**'in **Sosyal İzolasyon Uygulanan Genç Sıçanlarda Davranış Üzerine Etkisi**' başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Konya,Türkiye / 10.10.2019

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Selim KUTLU

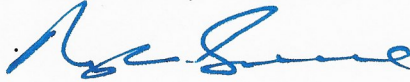
Necmettin Erbakan Üniversitesi



Jüri Üyesi

Prof. Dr. Neyhan ERGENE

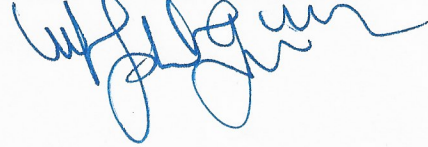
K.T.O Karatay Üniversitesi



Jüri Üyesi

Doç. Dr. Işık Solak Görmüş

Necmettin Erbakan Üniversitesi



Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun **23/10/2019** ve ...**21**.../...**01**...sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü



APPROVAL

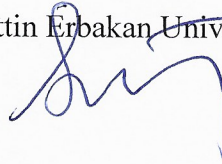
We certify that we have read this dissertation entitled ‘**Effect of Apelin on Behavior in Young Isolated Rats**’ by ‘**Kaniye Zeynep ÇALIŞKAN SAK**’ that in our opinion it is fully adequate, in scope and quality, as dissertation for the degree of Master of Science in the Department of ‘‘Physiology’’, Institute of Health Sciences University of Necmettin Erbakan.

Konya, Turkey/ 10.10.2019

Principal Advisor

Prof. Dr. Selim KUTLU

Necmettin Erbakan University



Examination Committee Member

Prof. Dr. Neyhan ERGENE

K.T.O Karatay University



Examination Committee Member

Doç. Dr. Işık Solak Görmüş

Necmettin Erbakan University



This thesis has approved for the University of Necmettin Erbakan Institute of Health Sciences.

Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Director of Institute of Health Sciences

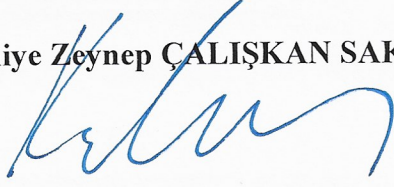


BEYANAT

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesinde aldığımı, tez çalışması ve yazım sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

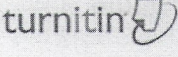
10.10.2019

Kaniye Zeynep ÇALIŞKAN SAK



TURNİTİN RAPORU

[Elif Gulbahce Mutlu](#) | [Kullanıcı Bilgisi](#) | [Mesajlar](#) | [Öğretmen](#) ▼ | [Türkçe](#) ▼ | [Topluluk](#) | [Yardım](#) | [Çıkış](#)



[Ödevler](#) | [Öğrenmeler](#) | [Not Defteri](#) | [Kütüphaneler](#) | [Takvim](#) | [Tartışma](#) | [Tercihler](#)

GÖRÜNTÜLENİYOR: ANASAYFA > YAYINLAR > APELİN'İN SOSYAL İZOLASYON UYGULANAN GENÇ SİÇANLARDA DAVRANIŞ ÜZERİNE ETKİSİ

Bu sayfa hakkında
Bu sizin ödev kutunuzdur. Bir yazılı ödevi görüntülemek için yazılı ödevin başlığını seçin. Bir Benzerlik Raporunu görüntülemek için yazılı ödevin benzerlik sütunundaki Benzerlik Raporu ikonunu seçin. Tıklandığında olmayan bir ikon Benzerlik Raporunun henüz oluşturulmadığını gösterir.

APELİN'İN SOSYAL İZOLASYON UYGULANAN GENÇ SİÇANLAR...
GELEN KUTUSU | GÖRÜNTÜLENİYOR: YENİ ÖDEVLER ▼

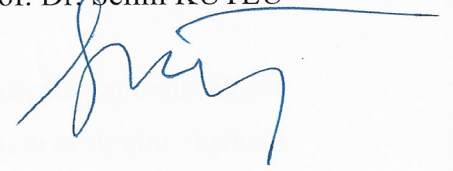
Dosyayı Gönder

Çevrimiçi Derecelendirme Raporu | Ödev ayarlarını düzenle | E-posta bildirmeyenler

YAZAR	BAŞLIK	BENZERLİK	PUANLA	CEVAP	DOSYA	ÖDEV NUMARASI	TARİH
☒ Kaniye Zeynep Çalışk...	APELİN'İN SOSYAL İZOLASYON UYGULANAN GEN...	%9	■	--	--	1189218440	09-EKİ-2019

Telif Hakkı © 1998 - 2019 Turnitin, LLC. Tüm Hakları Saklıdır.
[Gizlilik Politikası](#) | [Özellik Sözcüğü](#) | [Hizmet Kopulan](#) | [AB Veri Koruma Uyumluluğu](#) | [Telif Hakkı Korunması](#) | [Yazıcı SSS'ler](#) | [Yardım Merkezi](#)

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Selim KUTLU



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca, konulara olan pozitif yaklaşımı ile olası olumsuzlukları yüz güldüren bir tecrübe haline dönüştüren, her konuda desteğini, içten samimiyetini hissettiren çok değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Selim KUTLU'ya, görüş ve önerileriyle yolumu aydınlatan kıymetli hocam sayın Doç. Dr. Z. Işık SOLAK GÖRMÜŞ'e, yetenekli, özverili asistan hocalarım sayın Arş. Gör. Raviye ÖZEN ve sayın Öğr. Gör. Hatice SOLAK'a

Deneylerimin moleküler aşamasının gerçekleştirilmesine yardımcı olan, uzun yıllardır bilgisine ve görüşlerine başvurduğum, sayın Prof. Dr. Ercan KURAR'a ve ekibine, tezimin istatistiksel değerlendirmesinde destek olan sayın Mustafa Agah TEKİNDAL'a

Tanıdığım günden bugüne çözüm odaklı anlayışını ilke edindiğim, akademik anlamda daima örnek aldığım değerli hocam sayın Prof. Dr. Neyhan ERGENE'ye, desteğini esirgemeyen hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Elif GÜLBAHÇE MUTLU'ya,

Deneyisel çalışmalarımda sıkıştığım her an görüşüne başvurduğum sayın Alpaslan ÖZKÜRKÇÜLER'e ve Konüdam ekibine,

Bana mutlu olabilmeyi öğreten, hayatta her zaman daha fazlasını yapabileceğimi aşıl原因an annem Hacer ÇALIŞKAN'a ve maddi manevi her konuda desteğini eksiksiz hissettiren babam Ümran ÇALIŞKAN'a,

Bu yoğun süreçte motivasyon kaynağım olan eşim Yusuf Kürşad SAK'a, tekmeleriyle varlığını hissettirip, hayat amacımı hatırlatan canım oğlum Rüzgar'a ve emeği geçen herkese teşekkürlerimi sunarım.

Tezimi 181318014 no'lu proje ile destekleyen NEÜ Bilimsel Araştırma Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Kaniye Zeynep ÇALIŞKAN SAK

KONYA, 2019

İÇİNDEKİLER

<i>İç Kapak</i>	i
<i>Tez Onay Sayfası</i>	ii
<i>Approval</i>	iii
<i>Beyanat</i>	iv
<i>Turnitin Raporu</i>	v
<i>Teşekkür</i>	vi
<i>İçindekiler</i>	vii
<i>Kısaltmalar ve Simgeler Listesi</i>	x
<i>Şekiller Listesi</i>	xi
<i>Tablolar Listesi</i>	xiv
<i>Grafikler Listesi</i>	xv
<i>Özet</i>	xvii
<i>Abstract</i>	xix
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Anksiyete	3
2.2. Apelin	4
2.3. Apelinerjik Sistem.....	6
2.3.1. Apelin Reseptörü	6
2.4. Apelin'in Fizyolojik Etkileri.....	8
2.4.1. Periferik Dokular	8
2.4.1.1. Beslenme Üzerine Etkisi.....	9
2.4.1.2. Sıvı Dengesi Üzerine Etkisi	9
2.4.1.3. Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkisi	10
2.4.2. Merkezi Sinir Sistemi.....	10
2.4.2.1. Apelin ve Depresyon	11

2.4.2.2. Apelin ve Parkinson	12
2.4.2.3. Apelin ve Alzheimer	12
2.4.2.4. Apelin ve Epilepsi.....	13
2.4.2.5. Apelin ve Anksiyete	14
2.4.2.6. İskemik İnme.....	14
2.4.2.7. Beyin Hasarı	14
2.4.2.8. Nörotropik Ağrı.....	15
2.5. Nörogenez	16
2.5.1. Hipokampal Nörogenez.....	17
2.5.2. Hipokampal Nörogenez ve Anksiyete.....	18
2.6. Hipokampus	19
2.6.1. Hipokampus Anatomisi	19
2.6.2. Hipokampal Formasyon.....	19
2.6.3. Hipokampus ve Anksiyete.....	21
2.6.4. Amigdala ve Anksiyete	22
2.7. DeneySEL Anksiyete Modelleri	22
2.7.1. Sosyal İzolasyon.....	23
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	24
3.1. Deney Hayvanları	24
3.2. Davranış Testleri.....	25
3.2.1. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi.....	25
3.2.2. Açık Alan Testi	26
3.2.3. Aydınlık-Karanlık Kutu Testi	27
3.3. Ozmotik Pompa	28
3.4. Hayvanların Hazırlanması.....	28
3.5. Deneyin Sonlandırılması ve Dokuların Toplanması	29
3.6. Gen Ekspresyon Analizleri.....	29

3.6.1. Doku Örneklerinden Total RNA İzolasyonu.....	29
3.6.2. Total RNA Örneklerinin Kalite Kontrolü.....	30
3.6.3. Total RNA Örneklerinin gDNA kontaminasyonun temizlenmesi.....	30
3.6.4. Reverse Transkriptaz (RT) reaksiyonu.....	31
3.6.5. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qPZR)	31
3.7. İstatiksel Metod.....	32
4. BULGULAR.....	34
4.1. Davranış testleri.....	34
4.1.1. Açık Alan Testi	34
4.1.1.1. Sosyal İzolasyon Sonrası.....	34
4.1.1.2. Apelin ve Serum Fizyolojik Uygulama Sonrası.....	38
4.1.1.3. Sosyal İzolasyon- Apelin ve Serum Fizyolojik Uygulama Sonrası.....	41
4.1.2. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi.....	42
4.1.2.1. Sosyal İzolasyon Uygulama Sonrası.....	42
4.1.2.2. Apelin ve Serum Fizyolojik Uygulama Sonrası.....	44
4.1.2.3. İzolasyon Uygulama- Apelin ve Serum Fizyolojik Uygulama Sonrası	45
4.1.3. Aydınlik Karanlık Kutu Testi.....	47
4.1.3.1. Sosyal İzolasyon Uygulama Sonrası	48
4.1.3.2. Apelin ve Serum Fizyolojik Uygulama Sonrası.....	51
4.1.3.3. Sosyal İzolasyon- Apelin ve Serum Fizyolojik Uygulama Sonrası.....	52
4.2. Gen Ekspresyon Analiz Bulguları.....	54
5. TARTIŞMA.....	62
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	69
7. KAYNAKLAR.....	70
8. ÖZGEÇMİŞ.....	79
9. EKLER.....	80
9.1. Etik Kurul Onayı	80

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

AAT: Açık Alan Testi

AH: Alzheimer Hastalığı

AKT: Aydınlık Karanlık Kutu Testi

AR: Apelin Reseptörü

BDNF: Brain Derived Neurotrophic Factor

CA: Cornu Ammonis

cAMP: Siklik Adenozin Monofosfat

cDNA: Complementary DNA

DCX: Doublecortin

DG: Dentat Girus

EK: Entorhinal Korteks

ERK: Ekstraselüler Sinyalle Düzenlenen Kinaz

GLP-1: Glukagon Benzeri Peptit-1

GPBR: G Proteini Bağlı Reseptör

GTP: Guanozintrifosfat

HPA: Hipotalamik-Pitüiter-Adrenal

İP: İntraperitoneal

İSV: İntraserebroventriküler

mRNA: Mesajcı RNA

MASH1: Mammalian Achaete Scute Homolog-1

PI₃K: Fosfoinositid 3-Kinaz

PVN: Paraventriküler Nukleus

RT-PCR: Reverse Transkripsiyon-Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RNA: Ribo Nükleik Asit

SGB: Subgranüler Bölge

SON: Supraoptik Nucleus

SVZ: Subventriküler Zone

TrkB: Tropomyosin reseptörü kinaz B

MSS: Merkezi Sinir Sistemi

YAT: Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

ŞEKİLLER LİSTESİ

<i>Şekil 2.1. Apelin'in farklı izoformları.....</i>	<i>5</i>
<i>Şekil 2.2. Erişkin sıçanlarda apelin izoformlarının aminoasit dizilimleri.....</i>	<i>6</i>
<i>Şekil 2.3. Hipokampusun trisinaptik döngüsü.....</i>	<i>21</i>
<i>Şekil 3.1. Yükseltilmiş artı labirent test düzeneği.....</i>	<i>26</i>
<i>Şekil 3.2. Açık alan test düzeneği.....</i>	<i>27</i>
<i>Şekil 3.3. Aydınlık karanlık kutu test düzeneği.....</i>	<i>28</i>
<i>Şekil 3.4. Ozmotik pompa.....</i>	<i>28</i>
<i>Şekil 4.1. RNA izolasyonu sonrası kontrol (K), apelin (A), sosyal izolasyon (Sİ) ve apelin + sosyal izolasyon (Sİ+A) grupları sıçanların hipokampus ve amigdala dokularına ait örnek jel elektroforezi. M; 100 bç DNA markörü.....</i>	<i>54</i>
<i>Şekil 4.2. Çalışmada kullanılan aday ve referans ait gerçek zamanlı PZR ürünlerinin jel görüntüsü. M; 100 bç DNA markörü.....</i>	<i>54</i>
<i>Şekil 4.3. Çalışmada kullanılan aday ve referans ait gerçek zamanlı melting curve analiz eğrileri.....</i>	<i>55</i>
<i>Şekil 4.4. Apelin (K-A), sosyal izolasyon (K-Sİ) ve sosyal izolasyon + apelin (K-Sİ+A) gruplarının kontrol grubu ile sosyal izolasyon ve sosyal izolasyon + apelin grupları arasında (K-Sİ+A) Apelin gen ifadesinde gözlenen kat artışı.....</i>	<i>56</i>
<i>Şekil 4.5. Apelin (K-A), sosyal izolasyon (K-Sİ) ve sosyal izolasyon + apelin (K-Sİ+A) gruplarının kontrol grubu ile sosyal izolasyon ve sosyal izolasyon + apelin grupları arasında (K-Sİ+A) APJ gen ifadesinde gözlenen kat artışı.....</i>	<i>56</i>
<i>Şekil 4.6. Apelin (K-A), sosyal izolasyon (K-Sİ) ve sosyal izolasyon + apelin (K-Sİ+A) gruplarının kontrol grubu ile sosyal izolasyon ve sosyal izolasyon + apelin grupları arasında (K-Sİ+A) BDNF gen ifadesinde gözlenen kat artışı.....</i>	<i>57</i>
<i>Şekil 4.7. Apelin (K-A), sosyal izolasyon (K-Sİ) ve sosyal izolasyon + apelin (K-Sİ+A) gruplarının kontrol grubu ile sosyal izolasyon ve sosyal izolasyon + apelin grupları arasında (K-Sİ+A) Neuritin gen ifadesinde gözlenen kat artışı.....</i>	<i>58</i>
<i>Şekil 4.8. Apelin (K-A), sosyal izolasyon (K-Sİ) ve sosyal izolasyon + apelin (K-Sİ+A) gruplarının kontrol grubu ile sosyal izolasyon ve sosyal izolasyon + apelin grupları arasında (K-Sİ+A) Nestin gen ifadesinde gözlenen kat artışı.....</i>	<i>59</i>
<i>Şekil 4.9. Apelin (K-A), sosyal izolasyon (K-Sİ) ve sosyal izolasyon + apelin (K-Sİ+A) gruplarının kontrol grubu ile sosyal izolasyon ve sosyal izolasyon + apelin grupları arasında (K-Sİ+A) DCX gen ifadesinde gözlenen kat artışı.....</i>	<i>60</i>

Şekil 4.10. *Apelin (K-A), sosyal izolasyon (K-Sİ) ve sosyal izolasyon + apelin (K-Sİ+A) gruplarının kontrol grubu ile sosyal izolasyon ve sosyal izolasyon + apelin grupları arasında (K-Sİ+A) MASH1 gen ifadesinde gözlenen kat artışı.....60*

TABLolar LİSTESİ

Tablo 3.1. <i>qPZR analizlerinde kullanılan genlerin primer dizileri</i>	31
Tablo 4.1. <i>Sİ Uygulama Sonrası Gruplar Arası Değerler</i>	34
Tablo 4.2. <i>AAT- Apelin ve SF uygulama sonrası değerler</i>	39
Tablo 4.3. <i>Sİ uygulama- apelin ve SF uygulama sonrası aynı grupların süslenme sayısı parametresinin karşılaştırılması</i>	41
Tablo 4.4. <i>Sİ uygulama sonrası YAT değerleri</i>	42
Tablo 4.5. <i>Apelin ve SF Uygulama Sonrası YAT Değerleri</i>	45
Tablo 4.6. <i>Sİ- Apelin ve SF Uygulama Sonrası Açık Kola Giriş Sayıları</i>	46
Tablo 4.7. <i>Sİ- Apelin ve SF Uygulama Sonrası Açık Kolda Geçen Süreler</i>	46
Tablo 4.8. <i>Sİ Sonrası AKT Değerleri</i>	48
Tablo 4.9. <i>Apelin ve SF Uygulama Sonrası AKT Değerleri</i>	51
Tablo 4.10. <i>Sİ- Apelin ve SF Uygulama Sonrası Aydınlık Kutudan Karanlık Kutuya Geçiş Sayısı</i>	52
Tablo 4.11. <i>Sİ – Apelin ve SF Uygulama Sonrası Aydınlık Kutuda Geçirilen Süre</i>	53

GRAFİKLER LİSTESİ

Grafik 4.1. Açık alan testi (Sİ sonrası) immobilité süresi parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması.....	35
Grafik 4.2. Açık alan testi (Sİ sonrası) mobilite süresi parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması.....	35
Grafik 4.3. Açık alan testi (Sİ sonrası) merkezde geçirdiği süre parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması.....	36
Grafik 4.4. Açık alan testi (Sİ sonrası) hız parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması.....	36
Grafik 4.5. Açık alan testi (Sİ sonrası) süslenme parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması.....	37
Grafik 4.6. Açık alan testi (Sİ sonrası) şahlanma parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması.....	37
Grafik 4.7. Açık alan testi (Sİ sonrası) defekasyon parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması.....	38
Grafik 4.8. Açık alan testi (apelin ve SF uygulama sonrası) süslenme parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması.....	39
Grafik 4.9. Açık alan testi (apelin ve SF uygulama sonrası) şahlanma parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması.....	40
Grafik 4.10. Açık alan testi (apelin ve SF uygulama sonrası) şahlanma parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması.....	40
Grafik 4.11. Açık alan testi (Sİ-apelin ve SF uygulama sonrası) süslenme parametresinin aynı gruplar arasında karşılaştırılması.....	41
Grafik 4.12. Yükseltilmiş artı labirent testinde (Sİ uygulama sonrası) açık kola giriş sayısı parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması.....	43
Grafik 4.13. Yükseltilmiş artı labirent testinde (Sİ uygulama sonrası) açık kolda geçirdiği süre parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması.....	43
Grafik 4.14. Yükseltilmiş artı labirent testinde (Sİ uygulama sonrası) kapalı kolda geçirdiği süre parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması.....	44
Grafik 4.15. Yükseltilmiş artı labirent testinde apelin ve SF uygulama sonrası açık kola giriş sayısı parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması.....	45
Grafik 4.16. Yükseltilmiş artı labirent testinde Sİ- apelin ve SF uygulama sonrası açık kola giriş sayısı parametresinin aynı gruplar arasında karşılaştırılması.....	46

Grafik 4.17. Yükseltmiş artı labirent testinde Sİ- apelin ve SF uygulama sonrası açık kolda geçen süre parametresinin aynı gruplar arasında karşılaştırılması.....	47
Grafik 4.18. Aydınlik karanlık kutu testinde Sİ uygulama sonrası aydınlık kutuda geçirdiği süre parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması.....	48
Grafik 4.19. Aydınlik karanlık kutu testinde Sİ uygulama sonrası karanlık kutuda geçirdiği süre parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması.....	49
Grafik 4.20. Aydınlik karanlık kutu testinde Sİ uygulama sonrası aydınlık kutudan karanlık kutuya geçiş sayısı parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması.....	50
Grafik 4.21. Sİ Uygulama Sonrası Karanlık Kutudan Aydınlik Kutuya geçiş sayısı.....	50
Grafik 4.22. Apelin uygulama sonrası grupların karanlık kutudan aydınlık kutuya geçiş sayısı geçiş parametresi bakımında karşılaştırılması.....	52
Grafik 4.23. Sİ-apelin ve SF uygulama sonrası aynı grupları birbiriyle aydınlık kutudan karanlık kutuya geçiş parametresi bakımından karşılaştırılması.....	53

ÖZET

T.C.

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Apelin'in Sosyal İzolasyon Uygulanan Genç Sıçanlarda Davranış Üzerine Etkisi

Kaniye Zeynep Çalışkan Sak

Fizyoloji Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA 2019

Son yıllarda, hızla değişen teknoloji ve çalışma ortamı, insanları bireyselleştirmeye ve izole etmeye başlamıştır. Bu durumun beraberinde getirdiği çeşitli duygu durum bozuklukları araştırmacıların dikkatini çekmektedir. Sosyal izolasyon ve anksiyete arasındaki ilişki bilinmesine rağmen bu ilişkinin nedenleri ve mekanizmaları bilinmemektedir. Bu tez çalışmasında sosyal izolasyon modeli ile oluşturulan anksiyete üzerine apelin uygulamasının olası etkisini incelemek amaçlanmıştır.

4 haftalıkken anne yanından ayrılan 22 adet yavru rat sosyal izolasyona maruz bırakılarak anksiyeteye girmesi sağlanmış ve sonrasında apelin uygulaması yapılmıştır. Ratlar, kontrol+serum fizyolojik grubu, kontrol+apelin grubu, sosyal izolasyon grubu (8 hafta boyunca tekli barındırılan grup) ve sosyal izolasyon+apelin grubu olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Deneyin sonunda ratlara dekapitasyon uygulanarak beyin dokuları incelenmek üzere -80 °C' de saklanmıştır. Sosyal izolasyon grubunun kontrol grubuna kıyasla sosyal izolasyon sonrasında anksiyeteye girip girmediğini araştırmak amacıyla ve apelin uygulaması sonrasında apelinin her iki grup üzerinde anksiyolitik/anksiyojenik etkisinin bulunup bulunmadığının tespiti amacıyla davranış testleri uygulanmıştır. Bu değerlendirmeleri yapmak için sosyal izolasyon sonrasında ve apelin uygulaması sonrasında olmak üzere hayvanlara açık alan testi, yükseltilmiş artı labirent testi ve aydınlık karanlık kutu testi uygulanmıştır. Anksiyete oluşumunda hipokampus ve amigdalada meydana gelen değişimleri incelemek amacıyla apelin, APJ, nöritin, MASH1, nestin, BDNF ve DCX'in gen ekspresyon düzeyleri araştırılmıştır.

Sıçanlara uygulanan sosyal izolasyon stresinin davranış testi parametreleri neticesinde anksiyete benzeri davranışlara yol açtığı saptanmıştır. Apelin uygulamasının açık alan testinde mobilite süresini ve katedilen mesafeyi arttırdığı tespit edilmiştir. Yükseltilmiş artı labirent testinde açık kola giriş sayısı ve karanlıktan aydınlığa geçiş sayısı apelin uygulama sonrasında artış gösterdiği bulunmuştur. Aydınlık karanlık kutu testinde ise apelin grubu açık kolda daha çok zaman geçirmiş, karanlık kutuya daha az geçiş yaptıkları belirlenmiştir. Nöroenez biyobelirteçlerinin bir kısmında sosyal izolasyon uygulama sonrası azalma, apelin uygulama sonrasında ise artış olduğu gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak, apelin maddesinin subkutan yolla uygulanmasının, anksiyete oluşturulmuş sıçanlarda anksiyeteyi belirgin ölçüde azalttığı belirlenmiştir. Ancak, apelinin kaygı bozukluğu üzerine olan etkisinin tam olarak anlaşılabilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Anksiyete; Apelin; Nöroenez; Sıçan; Sosyal İzolasyon.

Abstract

REPUBLIC of TURKEY

NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY

HEALTH SCIENCES INSTITUTE

Effect of Apelin on Behavior in Young Isolated Rats

Kaniye Zeynep Çalışkan Sak

Department of Physiology

MASTER THESIS / KONYA 2019

In recent years, the rapidly changing technology and working environment has started to individualize and isolate people. Various mood disorders brought by this situation attract researchers interest. Although the relationship between social isolation and anxiety is a known fact, the causes and mechanisms of this relationship are not known. In this thesis, it is aimed to investigate the possible effect of apelin application on anxiety created by social isolation model.

At the age of 4 weeks, 22 young rats separated from their mothers were exposed to social isolation and then apelin was applied. The rats were divided into 4 groups as control + saline group, control + apelin group, social isolation group (single host for 8 weeks) and social isolation + apelin group. At the end of the experiment, rats were decapitated and brain tissues were stored at -80 ° C for examination. Behavioral tests were applied to investigate whether the social isolation group had anxiety after social isolation compared to the control group and to determine whether the apelin had anxiolytic / anxiogenic effect on both groups after apelin application. To make these evaluations, animals were subjected to open field test, elevated plus maze test and bright dark box test after social isolation and after apelin application. Gene expression levels of apelin, APJ, neuritin, MASH1, nestin, BDNF and DCX were examined in order to investigate the changes in the hippocampus and amygdala in the formation of anxiety.

As a result of behavior test parameters, it was found that social isolation stress applied to rats caused anxiety-like behaviors. Apelin application was found to increase mobility time and distance traveled in the open field test. In the elevated plus maze test, the number of entrances to the open arm and the movements from dark to light

were found to increase after apelin application. In the light dark box test, apelin group had more time in the open arm and less movement to the dark box. It was observed that some of the neurogenesis biomarkers decreased after social isolation and increased after apelin application.

In conclusion, subcutaneous administration of apelin substance significantly reduced anxiety in rats induced anxiety. However, further studies are needed to fully understand the effect of apelin on anxiety disorder.

Keywords: Anxiety; Apelin; Neurogenesis; Rat; Social Isolation.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Son yıllarda, hızla değişen yaşam koşulları ve teknoloji, sağlık açısından birçok olumsuz durumu da beraberinde getirebilmektedir. Bununla birlikte bireyselleşmenin ortaya çıkardığı izole yaşam tarzıyla ilişkili olarak anksiyete ve depresyon gibi bazı duygu durum bozuklukları da tetiklenebilmektedir. Bu nedenle, hastalıkların mekanizmalarını anlamak ve yeni tedaviler geliştirmek için daha fazla çaba gerekmektedir.

İnsanlarda var olan bu psikopatolojik durumlarla ilgili araştırmalar yapmak amacıyla deney hayvanları üzerinde çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Bu kapsamda sıçan ve fareler son yıllarda nöropsikiyatrik araştırmalarda en çok tercih edilen modeller olarak ortaya çıkmıştır.

Anksiyete, oluşabilecek bir tehlike karşısında kişide bilişsel, ruhsal ve fiziksel bozulmalara yol açabilen endişe durumudur. Aşırı terleme, kalp hızında artış, nefes almada zorlanma, hızlı soluk alıp verme, titreme hali fizyolojik belirtileri arasında olup, heyecanlanma, sıkıntı, her an kötü bir şey olacakmış gibi hissetme psikolojik belirtileri arasında sayılabilir. Tedirgin hissetme, gerilme ve panik atak olmak üzere çeşitli derecelerde hissedilebilir. Anksiyete aynı zamanda bireyin etrafında oluşan değişikliklere karşı yanıt vererek hazır olmasını sağlar. Bu sayede kişiyi yeni bir duruma adapte ettiği gibi kaygı seviyesinin artmasıyla birlikte kişiyi engelleyici rol de oynar. Bu yüzden kişinin yeni bir duruma uyum sağlayabilmesinde rol almasının yanı sıra, endişenin artması sonucu kişiyi engelleyici rol de üstlenebilir. Kaygı bozukluğunun görülme sıklığı yüksek olup, yapılan taramalarda toplumda insidansının %13.6 ile %28.8 olduğu bildirilmektedir (Ruh Sağlığı ve Bozuklukları 2015).

Anksiyetenin oluşum mekanizmalarını ve yeni ilaçların anksiyete üzerindeki etkisini inceleyebilmek amacıyla özellikle sıçanlar ve fareler üzerinde uygulanan birçok modelleme mevcuttur. Bu testlerde çeşitli stres faktörleri hayvana uygulanmakta, hayvanın çevreyi araştırma ve keşfetme davranışları incelenmektedir. Strese karşı sıçanlarda genellikle bilişsel bozukluklar, irkilme, korku, düşük sosyal etkileşim gibi davranış değişiklikleri oluşur. Bu değişimleri inceleyebilmek için en sık kullanılan testler arasında yükseltilmiş artı labirent testi (YAT), açık alan testi (AAT), aydınlık-karanlık kutu testleri (AKT) bulunmaktadır (Aykaç ve ark. 2015).

Apelin, 1998 yılında ilk olarak sığır mide özsuyundan izole edilmiş olan, merkezi sinir sistemi (MSS) ve birçok periferik dokudan eksprese edilen bir moleküldür. İnsan, fare ve sıçan dokularında tespit edilen bu molekül çeşitli fizyolojik ve patolojik durumlarda rol oynamaktadır (Lee ve ark. 2001; Shin ve ark. 2017). Apelinle ilgili ilk araştırmalarda daha çok besin alımı, kan basıncı, enerji metabolizması üzerinde durulmuşken, son dönemlerde anksiyete (Fan ve ark. 2018), depresyon (Tian ve ark. 2018), Alzheimer (Aminyavari ve ark. 2019), Parkinson (Pouresmaeili ve ark. 2018) gibi MSS patolojileri konu edinen araştırmalar gerçekleştirilmiştir.

Bu tez çalışmasında, sosyal izolasyonla indüklenmiş anksiyete benzeri davranış modelinde, apelinin olası anksiyolitik etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla sosyal izolasyon uygulanan sıçanlarda YAT, AAT ve AKT ile davranış özellikleri araştırılmıştır. Elde edilen davranış parametreleri üzerinde sistemik apelin uygulanmasının muhtemel etkilerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Anksiyete

Anksiyete korku, kaçınma ve ilişkili diğer semptomları içeren fiziksel ve psikolojik rahatsızlıklara ilişkin bir psikiyatrik sağlık sorunudur (Panagioti ve ark. 2014). Normal veya anormal anksiyete esas olarak MSS'den kaynaklanmaktadır (Barnett 2007). Anksiyetenin patogenezi mekanizması tamamen açık değildir ve stres de dahil olmak üzere anksiyete ve depresyon oluşumuna katkıda bulunan birçok faktör vardır. Stres çok önemli bir indükleyici faktördür ve genellikle nöroimmün sistemin işlevsizliğine yol açar (Wang ve ark. 2018). Bu bozukluk klinik psikiyatride en sık rastlanan patoloji olup, tüm psikiyatrik bozuklukların yaklaşık %30'unu temsil eder (Kessler ve ark. 2005). Hayvanları tehlikeden korumada rol oynamasına rağmen, abartılı veya kontrol edilemeyen anksiyete tepkileri yıkıcı olabilir ve birçok psikiyatrik hastalığın temel semptomu olarak kabul edilebilir (Grupe ve Nitschke 2013). Anksiyete bozuklukları sıklıkla çocukluk ve ergenlik döneminde başlar (Oler ve ark. 2010). Erken yaşam travması yaşayan bireyler özellikle kaygı bozuklukları geliştirmeye meyillidir (Heim ve ark. 2010). Son yıllarda, insan ve hayvan araştırmaları, hipokampusun strese karşı oldukça duyarlı olduğunu göstermiştir (Kim ve Diamond 2002). Stres anksiyete, depresyon, şizofreni dahil olmak üzere insanlarda duygu, düşünce ve davranış bozukluğuna yol açabilen bir durumdur (Kim ve ark. 2015).

Son yıllarda dünyada anksiyetenin sıklıkla görülmesi bu hastalığın tedavisi ile ilgili gerek klinik gerekse prelinik araştırmaların artmasına yol açmıştır. Klinik öncesi çalışmalarda, hayvan modelleri ile yeni ilaçların anksiyolitik etkileri araştırılmaktadır. Bu modellerde kemirgenler arasında en sık kullanılan hayvanlar sıçanlar ve farelerdir. Bu türler, emosyonel ve motivasyonel işlevlerin altındaki mekanizmayı araştırmada yoğun olarak kullanılmaktadır (The rat 2007). Elde edilen kanıtlar, hipokampus ve hipotalamus bölgelerinin depresif davranışlar ve antidepresan tedaviler ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Cai ve ark. 2015).

2.2. Apelin

Apelin, MSS ve birçok periferik dokudan eksprese edilen bir sinyal molekülüdür. Apelin hipokampus, serebellum, striatum, merkezi gri madde, dorsal rafe çekirdeği, amigdala, serebral korteks ve hipotalamus dahil olmak üzere neredeyse tüm beyin dokularında ifade edilir (De Mota 2000; Medhurst 2003; Carroll 2013). Bu durum, apelinin birçok fizyolojik ve patofizyolojik işlevde rol oynayabileceğini göstermektedir. Son zamanlarda apelinin epilepsi, Parkinson, Alzheimer gibi çeşitli nörolojik hastalıklardaki etkin rolü belirlenmiştir (Cheng ve ark. 2012).

1998 yılında, sığır mide öz suyundan 36 aminoasitlik yapıda olan bir peptit izole edilmiş ve ilk kez tanımlanan bu peptit apelin-36 olarak isimlendirilmiştir (Tatemoto ve ark. 1998).

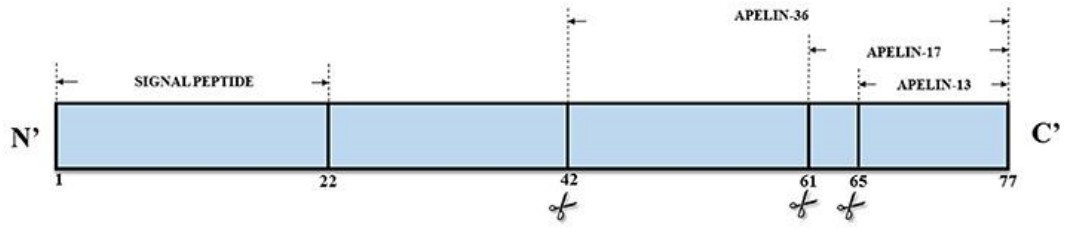
İnsan, fare ve sıçan dokularında yapılmış olan çalışmalarda tespit edilen apelin ifadesinin varlığı, başlarda ventromediyal ve dorsomediyal nükleuslar, hipokampus, frontal korteks, preoptik alan, periventriküler hipotalamus, kaudat çekirdek ve talamus bölgelerinde gösterilmiştir (Lee ve ark. 2001). Hipotalamusta bulunan supraoptik ve paraventriküler çekirdeklerde ise en yüksek ekspresyonun gerçekleştiği ortaya konmuştur (Carroll ve ark. 2000).

Apelin mRNA'sının korpus kallozum, gri cevher, hipofiz bezi ve omuriliğin yanı sıra akciğerler, kalp, plasenta, meme bezleri ve böbrekler gibi MSS'de ve periferik dokularda da varlığı gösterilmiştir (Lee ve ark. 2001; Kleinz ve ark. 2005). Apelinin beyinde ve diğer organlardaki genel dağılımı organizmadaki düzenleyici süreçlerde apelinin önemli rolü olabileceğini ortaya koymuştur (Cheng ve ark. 2012).

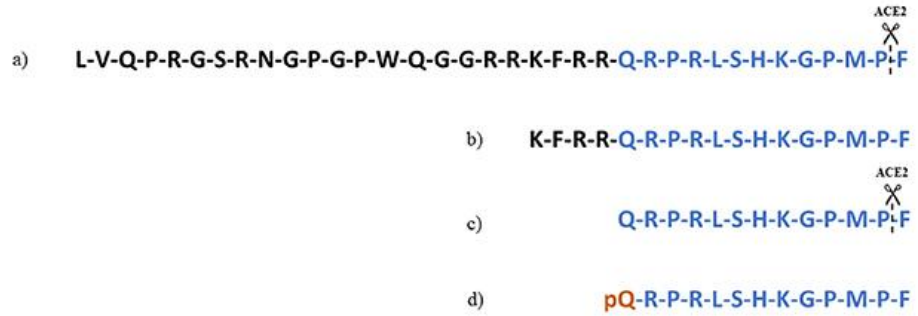
Apelin olgun adipositler tarafından da salgılandığı için bir adipokin olarak da kabul edilmektedir (Castan ve ark. 2011).

Apelin-13'ün değişik izoformları, insanlarda ve kemirgenlerde farklı apelin genleri tarafından kodlanan bir öncü preproapelininden üretilir (Carroll ve ark. 2013). İnsanlardaki apelin geni Xq25-226 kromozomunun uzun kolunda bulunur ve daha kısa formdaki alt ünitelerine ayırmak üzere 77 aminoasitlik preproapelinini kodlar (Hosoya ve ark. 2000). Preproapelin apelin-36, apelin-26, apelin19, apelin-17, apelin-13 ve apelin-12 olarak moleküler formlarına dönüştürülür (Telegdy ve Jászberényi 2014) .

A



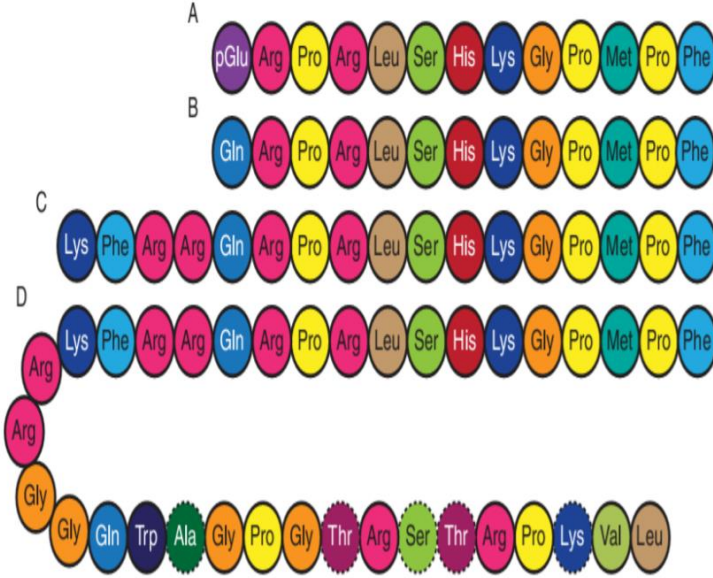
B



Şekil 2.1. Apelinin farklı izoformları. A) Apelin öncülünün yapısı **B)** (a) apelin 36, (b) apelin 17, (c) apelin 13, (d) [Pyr1] apelin-13'ün aminoasit dizilimleri. Anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE-2), C-terminalini kaldırarak apelin-13 ve apelin-36'yı hidrolize edebilir (Wysocka ve ark. 2018).

Apelin 13, diğer formlara kıyasla apelin reseptörüne bağlanma aktivitesi bakımından en yüksek kapasiteye sahiptir. Bu bağlanma kapasitesinin sırası ile apelin 17 ve apelin 36 takip eder ve bağlanmaları sonucunda farklı fiziksel işlev gösterirler (Hosoya ve ark. 2000). Apelin 13, APJ reseptörlerini uyararak stres yanıtının, öğrenmenin ve hafıza sürecinin düzenlenmesinde rol alan en etkili izoformudur (Masoumi ve ark. 2018).

Son zamanlarda insan, sıçan, fare ve inekte apelin kodlayan cDNA'lar tespit edilmiş ve fonksiyonel olarak tanımlanmıştır (Lee ve ark. 2001). Uzun ve kısa apelin formlarının farklı dokular arasında varlık gösterebileceği belirtilmiştir (Kawamata ve ark. 2001).



Şekil 2.2. Erişkin sıçanlarda apelin izoformlarının aminoasit dizilimleri. Amino asit dizisi (A) (Pyr1) apelin-13, (B) apelin-13, (C) apelin-17 ve (D) apelin-36. Siyah daire içerisine alınan diziler, insan, sığır, sıçan ve fare için özdeş olanları göstermektedir (Anne Marie O’Carroll ve ark. 2013).

2.3. Apelinerjik Sistem

2.3.1. Apelin Reseptörü

Apelin reseptörü (AR), 1993 yılında O’Dowd ve arkadaşları tarafından ilk olarak anjiyotensin II (Ang II) tip-1 reseptör genine çok yakın özdeşliğe sahip, orfan (endojen ligandı belli olmayan) bir reseptör olarak keşfedilmiştir (Dowd ve ark. 1993). AR, G protein bağlı reseptör ailesinin bir üyesidir (Cai ve ark. 2017) .

Farmakolojik açıdan AR, birkaç apelin izoformunu bağlama yeteneğine sahiptir, farklı G protein alt birimlerini aktive edebilir ve daha sonra hücre ve dokuya özel bir şekilde birkaç sinyal yolunu indükleyebilir (Carroll ve ark. 2013). Apelinin AR’ye bağlanması sonucu G_i birimi aktifleşir ve intraselüler cAMP inhibisyonu ortaya çıkar (Masri ve ark. 2002). cAMP’nin inhibisyonu aynı zamanda ERK’nin aktivasyonunu da beraberinde getirir (Stork ve Schmitt 2002).

AR’nin insan immün yetmezlik virüsü (HIV) ve simian immün yetmezlik virüsü (SIV) suşları için bir koruyucu olduğu da gösterilmiştir (Zou ve ark. 2000). AR, fare, sıçan, inek, rhesus makak, *Xenopus laevis* ve *Danio rerio* dahil olmak üzere başka türlerde tanımlanmıştır (Pitkin ve ark. 2010).

Apelin ve AR MSS’de, özellikle hipotalamusta ve birçok periferik dokularda eksprese edilir (Castan ve ark. 2011). Apelinerjik sinyal beyin bölgelerinde, özellikle stres ve duygusal tepkilerde önemli roller oynayan hipokampus ve hipotalamus gibi bölgelerde yaygın olarak bulunur (Lee ve ark. 2001). 377 aminoasitten oluşan ve farelerde bulunan AR, insanlarda bulunan AR ile yaklaşık %91 oranında dizilişte benzerlik gösterirken, yine 377 aminoasitten oluşan ve sıçan dokularında bulunan AR ise insan doku reseptörüyle yaklaşık %89 oranında diziliş benzerliği göstermektedir (Pitkin ve ark. 2010).

Moleküler çalışmalar, sıçanlarda bulunan akciğer ve kalp dokularında yüksek düzeyde AR olduğunu bildirirken, plasenta, tiroid bezi, iskelet kası, kostal kıkırdak, yumurtalık, uterus ve yağ dokular için düşük seviyeler bildirilmiştir (Medhurst ve ark. 2003). AR mRNA'sının ve proteininin, sıçan hipotalamusunun SON ve PVN' sinde bulunan vazopressin ile kolokelize olması, reseptörün sıvı dengesinin düzenlenmesinde de rolü olabileceğini göstermektedir (Mota ve ark. 2000).

İnsanlarda akciğer, böbrek, kalp ve plasenta dahil periferik organlarda AR yaygın dağılım gösterir. AR’nin otoradyografik ve immünohistokimyasal yöntemlerle kardiyomiyositlere ek olarak vasküler endotel ve düz kas hücrelerine lokalize olduğu belirlenmiştir (Yang ve ark. 2015). AR mRNA'sının kaudat çekirdekte, korpus kallosumda, hipokampusta, subtalamik çekirdekte, medullada ve omurilikte güçlü sinyaller ortaya çıkardığı anlaşılmıştır (Medhurst ve ark. 2003). Son zamanlarda, AR ekspresyonu insan kemik iliği stromal hücre kültürlerinde de tespit edilmiştir (Hansen ve ark. 2007). Bir diğer çalışmada dalak ve plasenta dokusunda yüksek; akciğer, mide ve bağırsakta ise zayıf bir ifade olduğunu bildirilmiştir.

Apelinin AR’ye bağlanma bölgeleri, kas arterlerinin media ve intima katmanları ve büyük elastik arterler ile damarların içinde bulunabilir, akciğerde ise ağırlıklı olarak vasküler bir lokalizasyona sahiptir (Katugampola ve ark 2001). İmmünohistokimya ile gösterildiği gibi kardiyovasküler dokulardaki AR dağılımı, AR'nin ventriküler kardiyomiyositlerde, vasküler düz kas hücrelerinde ve intramiyokardiyal endotel hücrelerinde mevcut olduğunu gösterir (Kleinz ve ark. 2005).

2.4. Apelinin Fizyolojik Etkileri

2.4.1. Periferik Dokular

Apelin karaciğer, böbrekler, pankreas, dalak, ve yağ dokusunda üretilmektedir (Tatemoto 2001; Boucher 2005). Yetişkin sıçanların midelerinin funduslarında yüksek seviyelerde apelin ekspresyonunun olduğu, ince bağırsaklarında ise düşük seviyelerde apelin ekspresyonunun varlığı gösterilmiştir (Susaki ve ark. 2005). Bununla birlikte apelinin yüksek seviyelerdeki ekspresyon düzeyi sıçan akciğer ve meme bezlerinde de keşfedilmiştir (Habata ve ark. 1999).

Kardiyak miyositlerin hem apelin hem de AR'yi eksprese ettiği keşfedilmiştir (Szokodi ve ark. 2002). Lee ve ark. (2001) farelerin kalp dokusunda yaptıkları çalışmada yüksek oranda preproapelin ve AR mRNA'sının varlığını belirlerken, Földes ve ark. (2003) ise insan atriyal dokularında gerçekleştirdikleri çalışmada yüksek miktarda apelinin varlığını bildirmişlerdir. Preproapelin mRNA'sı adrenal bezlerde, vasdeferens, testis, bağırsak, dalak, karaciğer ve böbrekte de izole edilmiştir (Carroll ve ark. 2000). AR proteini ve AR mRNA'sı ise akciğer, arter, ven, iskelet kası, böbrek, yumurtalık, uterus dokuları, tiroid bezi, omurilik ve sıçan adipoz dokusunda bulunmuştur (Habata ve ark. 1999).

Apelinin güçlü endojen pozitif inotroplardan biri olarak kalbin kasılma fonksiyonunu arttırıcı etkisi bulunmuştur (Szokodi ve ark. 2002).

Apelin endotel hücrelerde epitelyal nitrik oksit sentaz aracılığıyla cGMP düzeyini arttırarak vazodilatatör etki gösterir bu sayede kan basıncını düşürür (Tatemoto ve ark. 2001). Miyokard infarktüsü, kalp yetmezliği ve hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalıklarda belirgin bir koruyucu etkiye sahiptir (Shin ve ark. 2017). Apelin ayrıca, fare splenositlerinden sitokin üretimini kısmen baskılamakta, kemotaktik aktivite sergilemektedir (Lee ve ark. 2001).

Bebek farelerde yetişkin farelere kıyasla daha yüksek seviyelerde apelin ve AR mRNA ifadesi mevcuttur, bu da apelinin gelişim üzerine rol oynayabileceği anlamına gelir (Hosoya ve ark. 2000).

Apelin hem insülin hem de insülin reseptör seviyelerini modüle edebilir ve pankreas insülin sekresyonu üzerinde inhibe edici etkiye sahiptir (Winzell ve ark.

2005). Klinik çalışmalarda apelin seviyesinin obezite ve insülin direnci durumlarında arttığı, vücut ağırlığının azalması ile apelin ekspresyonunda düşüşün olduğu bildirilmiştir (Li ve ark. 2006; Castan ve ark. 2008).

2.4.1.1. Beslenme Üzerine Etkisi

Sığır mide ekstrelerinde (Tatemoto ve ark. 1998), tanımlandıktan sonra apelinin, gastrointestinal sistemin epitel hücreleri üzerinde proliferatif etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Buna ek olarak, sıçan ince bağırsak hücrelerinden kolesistokinin salınımını uyardığı bulunmuştur (Wang ve ark. 2004).

Hiperinsülinemik olan obez farelerde yağ dokuda apelin mRNA ekspresyonu artmış, aç bırakılan farelerde ekspresyon düzeyi azalmıştır (Boucher ve ark. 2005). Apelinin besin alımı üzerindeki etkisi tartışmalıdır. Bir grup araştırmacı İSV olarak uyguladıkları apelinin gıda alımını arttırdığını ileri sürmüştür (Taheri ve ark. 2002), ancak Sunter ve ark. (2003), İSV apelinin gıda alımını azalttığını belirtmiştir.

İP yöntemle uygulanan apelin enjeksiyonunun gıda alımını arttırdığı ve sıçanlarda kilo artışının gerçekleştiği bildirilmiştir (Saral ve ark. 2018). Başka bir çalışmada ise İSV olarak uygulanan apelinin sıçandaki spontan besin alımı üzerinde azaltıcı etkisini gösterilmiştir (Shea ve ark. 2003).

2.4.1.2. Sıvı Dengesi Üzerine Etkisi

İP apelin enjeksiyonuna tabi tutulan sıçanlar, içme davranışında kısa süreli bir artış sergilemiştir (Lee ve ark. 2001). Apelinin İSV enjeksiyonlarının da içme davranışını arttırdığı bulunmuşken (Taheri ve ark. 2002), dehidrate sıçanlarda İSV enjeksiyonlarının içme davranışını azalttığı bulunmuştur (Reaux ve ark. 2001). Sıçanların su yoksunluğuna veya tuz yüklemesine tabi tutulmasını takiben SON ve PVN'de apelin seviyelerinin yükselmesi ile AR mRNA'sında bir artış sergilediği görülmüştür (Carroll ve ark. 2000). Ishida ve ark. (2004), AR eksikliği olan farelerin, vahşi tip farelere kıyasla, sıvı alımlarında fark olmadığını bildirmiştir. Ratlara İSV yöntemle uygulanan apelinin suya rahat erişebilen ratlarda su içme davranışını uyardığı gösterilmiştir (Reaux ve ark. 2001).

2.4.1.3. Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkisi

Apelin ve AR'nin kalpteki prevalansı, AR-apelin sinyal yolunun kardiyovasküler fonksiyonlarda rol oynamasını sağlar. Sıçanlara İV yola uygulanan apelin-12 ve apelin-13 enjeksiyonlarının, kalp hızlarında hafif bir artışla birlikte, hipotansif etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Lee ve ark. 2005). Tatemoto ve ark. (2001), apelin-12'nin kalpte güçlü bir depresör etkisinin olduğunu belirtmişlerdir. Normotansif sıçanlarda apelinin herhangi bir etkisi bulunamamıştır (Lee ve ark. 2005). Apelin-12 İV yoldan uygulandığında, sıçanlarda ortalama arter basıncını düşürmüş ve kalp atış hızını arttırmıştır (Cheng ve ark. 2003).

AR- apelin sisteminin hipotansif etkilerine yönelik kanıtların aksine, apelin-13'ün insan safen venine in vitro uygulaması güçlü bir vazokonstriksiyon etkiye sahiptir (Katugampola ve ark. 2001). Ratlarda apelinin medulla oblongata içine uygulanan mikro enjeksiyonları, arteriyel basınçta bir artış sergilemiştir (Seyedabadi ve ark. 2002). Bunun tersine, sıçanların lateral ventrikülüne yapılan apelin enjeksiyonu ortalama arter basıncını etkilememiştir (Reaux ve ark. 2001). Sol ventriküllerinde yüksek seviyelerde apelin mRNA ekspresyonu olan ve atriyumlarında immünoreaktif apelin seviyelerinde azalma gösteren kronik kalp yetmezliği hastalarında apelinin rol oynayabileceği ön görülmüştür (Földes ve ark. 2003).

2.4.2. Merkezi Sinir Sistemi

İnsan ve kemirgenler üzerinde yapılan çalışmalarda, apelin ve AR'nin MSS'de özellikle kortikal, hipokampal ve hipotalamik nöronlarda yüksek oranda eksprese edildiği gösterilmiştir (Kleinz ve Davenport 2005). Kemirgen hipokampal nöronal kültürlerin apelin-36 da dahil olmak üzere farklı apelin izoformları ile muamele edilmesinin, ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinaz-1/2 (ERK1 / 2) fosforilazlarını ve bu hücreleri eksitotoksositeye karşı koruduğu gösterilmiştir (Donnell ve ark. 2007).

MSS'de yaygın şekilde dağılım gösteren apelin ve AR'leri, bazı nöronal fonksiyonların düzenlenmesinde görev alır (Telegdy ve Jászberényi 2014). MSS'de AR mRNA'sının ifadesi, amigdala, hipotalamus, hipokampal amon boynuzunda saptanmıştır ki bu durum apelinin duygusal davranışların düzenlenmesinde olası bir rol oynadığını gösterir (Lv ve ark. 2012).

En çok araştırılan apelin izoformu olan apelin-13, sıvı homeostazı ve kardiyovasküler fonksiyonun düzenlenmesine katılmaktadır. Su alımı ile endokrin sistemin hipotalamik düzeyde düzenlenmesinde rol oynadığı da gösterilmiştir (Taheri ve ark. 2002). Sıçan beyinde, AR mRNA'sının hipokampus, serebellum, striatum ve hipotalamik paraventriküler çekirdek ile supraoptik çekirdekte bulunduğu gösterilmiştir (Dowd ve ark. 1993). Buna paralel olarak apelin üreten nöronlar hipotalamusun farklı bölgelerinde yer alan median preoptik çekirdek ve ventromedial çekirdeklerde lokalizedir (Reaux ve ark. 2001).

Apelin ve AR ayrıca dopaminerjik nöronlara sahip olan gri cevher ve striatum nöronlarında da eksprese edilir (Lee ve ark 2001).

2.4.2.1. Apelin ve Depresyon

Depresyon uzun süren ve tekrarlayan, bireyin günlük yaşamındaki işlevini önemli ölçüde bozan yaygın bir zihinsel bozukluktur. En sık görülen duygudurum bozukluğu olup yaşam boyu prevalansı %7 ile %21 arasında değişmektedir (Vilagut ve ark. 2016). Depresyon patogenezinde birçok faktör yer alır ve stres genellikle ilk tetikleyicidir (Krishnan ve Nestler 2008). Stres tepkisinin temel özelliği iç ve dış ortam tarafından uyarıldıktan sonra hipotalamus-hipofiz-adrenal (HPA) eksenini ve otonom sinir sisteminin hiperaktivitesidir (Hemmerle ve ark. 2012). HPA eksenini, iç ortamda denge sağlamayı, dış çevreye ve duygusal uyarıma fizyolojik ve psikolojik tepkiler oluşturmayı sağlar (Li ve ark. 2017). HPA ekseninin aktivite artışı, depresyonun en sık görülen nörolojik bulgularından biridir (Binder ve Nemeroff 2010). Birçok prelinik depresyon modelinin tasarımı, insanlarda strese bağlı psikopatolojilere dayanmaktadır (Wang ve ark. 2017).

Apelin ve AR'nin stres ve depresyonda önemli rol oynayan hipokampus ve hipotalamus bölgelerinde varlığı gösterilmiştir. Bu dağılım apelinin sinyallemenin depresif davranışların gelişiminde aracı olabileceğini düşündürmektedir (Xiao ve ark. 2018). Deneysel depresyon modelinde, hipotalamustaki apelin-AR ekspresyon düzeyinin azaldığı tespit edilmiştir (Yan ve ark. 2018). Dai ve ark. (2018), yaptıkları bir çalışmada apelin-13'ün antidepresan benzeri etki gösterdiğini ve hipokampusun, antidepresan etkilerine aracılık eden kritik bir beyin bölgesi olduğunu belirtmişlerdir. Apelinin İSV enjeksiyonlarının sıçanlarda hafızada iyileşme ve antidepresan etki

gösterdiği rapor edilmiştir (Li ve ark. 2016). Bir diğer çalışmada ise, apelin-13'ün depresyon benzeri davranışlar üzerine etkisi araştırılmıştır. Sıçanlara İSV apelin-13 uygulanmıştır. Apelinin hafıza bozukluğunu ve depresyon benzeri davranışı tersine çevirdiği gösterilmiştir (Tian ve ark. 2018). Xiao ve ark. (2018), İSV apelinin enjeksiyonunun, antidepresan benzeri bir aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Apelin'in, ERK ve fosfatidilinositol 3-kinaz gibi hücrel sinyalleşme yollarını modüle ederek depresyon üzerinde iyileştirici etki gösterdiği rapor edilmiştir (Cook ve ark. 2011).

2.4.2.2. *Apelin ve Parkinson*

Parkinson, 80 yaşın üzerindeki kişilerin %10'unu ve 60 yaşın üzerindeki kişilerin %2'sini etkileyen ikinci derecede yaygın nörodejeneratif bir hastalıktır (Forman ve ark. 2004). Nüfus yaşlandıkça Parkinson prevalansının 2030 yılında ikiye katlanması beklenmektedir (Dorsey ve ark. 2007).

Dopamin yeni uyaranların işlenmesinde rol oynayan bir nörotransmitter olup, sinaptogenez ve nöronal plastisitenin oluşumunun kalıcılığı için proteinlerin ekspresyonunu düzenler (Rossato ve ark. 2009). Parkinson beynin farklı alanlarını etkileyerek progresif bir dopamin nöron kaybına yol açar. Parkinsonun patogeneğinde, mitokondriyal bozulma, oksidatif stres, nöroinflamasyon, kimyasallar ve genetik faktörlerin yol açabileceği bildirilmiştir (Hirsch ve Hunot 2009; Moreira ve ark. 2010; Obeso ve ark.2010).

Apelin-13'ün dopaminerjik hücrelerde meydana gelen toksisite üzerinde önleyici bir etkisinin olduğu daha önce belirtilmiştir (Babaki ve ark. 2018). Haghparsat ve ark. (2018), deneysel Parkinson modelinde apelinin bilişsel bozuklukları önemli ölçüde azalttığını tespit etmişlerdir.

2.4.2.3. *Apelin ve Alzheimer*

Alzheimer hastalığı (AH) ana risk faktörünün yaş olduğu nörodejeneratif bir hastalıktır ve 60 yaşından sonra insidansında artış gösterir (Dubois ve ark. 2016). AH patofizyolojik olarak amiloid β peptitlerden oluşan nötr plakların birikimi ve nörofibrillerden oluşan yumaklarla karakterizedir (Holtzman ve ark. 2011). β -amiloid peptitlerin birikimi senil plakları oluşturur (Buoso ve ark. 2010). AH, hipokampus ve

kortekste bulunan nöronal devrelerin dejenerasyonuna neden olarak hafıza kaybına ve bilişsel bozulmaya yol açar. Hipokampus mekansal hafıza ve yön bulma yetisi üzerinde etkilidir (Garcez ve ark. 2017). Hipokampus atrofisi, AH'nin prognozu üzerine direk etkilidir (Teipel ve ark. 2013). AH yaşa bağlı olarak gelişen epizodik bellekteki düşüşle birlikte seyrederek (Butterfield ve ark. 2013). Apelin'in intrahipokampal uygulanmasının deneysel AH'de bellek işlevlerinde belirgin düzelmeler oluşturduğu gözlenmiştir (Aminyavari ve ark. 2019).

2.4.2.4. Apelin ve Epilepsi

Epilepsi, dünya nüfusunun yaklaşık % 0,5-1'ini etkileyen yaygın görülen nörolojik hastalıklardandır ve bireylerin yaşam kalitesini büyük ölçüde azaltır (Jokeit ve Ebner 2002). Nöronlarda apelin endojen ekspresyonu ve apelin / AR etkileşimleri, MSS'de nöroprotektif sinyal iletimini gösterir. Nöronal hücre ölümü, başlıca nekroz ve apoptozis ile oluşan nörodejeneratif hastalıkların bir özelliğidir (Mattson 2000; Niimura ve ark. 2006). Nöbetlerin nekrotik ve apoptotik hücre ölümleriyle nöron ölümünü tetikleyebileceği gösterilmiştir (Chuang 2010).

Cook ve ark. (2011), apelinin nöronal sağkalımı destekleyebildiğini belirtmişlerdir. Yapılmış olan bir çalışmada, idiyopatik epilepsili çocukların plazmasındaki apelin seviyelerinin anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir (Meral ve ark. 2011). Zhang ve ark. (2011), epilepsi hastalarında ve epileptik sıçanların beyin dokularında apelin protein düzeyinde artış olduğunu ve apelin peptidinin nöbet sonrası nöroprotektif etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Apelin'in farklı oksidatif stres durumlarında potansiyel antioksidan özelliğinin olduğu bildirilmiştir (Foussal ve ark. 2010). İn vitro ve in vivo olarak yapılan çalışmalarda apelinin, güçlü bir anti-apoptotik etki gösterdiği bulunmuştur (Yang ve ark. 2016). Apelin-AR sisteminin hipokampal ve kortikal nöronları eksitotoksik hasara karşı koruduğu gösterilmiştir (Donnell ve ark. 2007). Ek olarak, apelin pro-enflamatuar sitokinlerin ekspresyonu üzerinde hafifletici bir etkiye sahiptir ve mikrogliya, astrositler ve diğer enflamatuar hücreleri inhibe eder (Xin ve ark. 2015).

2.4.2.5. *Apelin ve Anksiyete*

WHO'ya göre anksiyete bozuklukları, yaygın anksiyete bozukluğu, panik bozukluk, fobiler, sosyal anksiyete bozukluğu, obsesif-kompulsif bozukluk ve travma sonrası stres bozukluğu dahil olmak üzere kaygı ve korku duyguları ile karakterize edilen zihinsel bozukluk anlamına gelir ve kadınlarda erkeklere oranla daha sık görülmektedir. Apelin-13'ün duygudurum bozukluklarında yer alan mekanizmalar üzerine koruyucu rolü olan nöropeptidlerden biri olduğu bilinmektedir (Aminyavari ve ark. 2019). Anksiyete ve hafızada azalma birbirine paralellik gösterir, apelin AR'yi aktive ederek hafızanın düzenlenmesinde ve anksiyetenin iyileşmesinde rol oynar (Pietrzak ve ark. 2015; Tian ve ark. 2018). Apelin'in anksiyete üzerine olan etkisini araştıran sınırlı sayıda makale bulunmaktadır.

Apelin'in sıçanlara İP yolla uygulanmasının, hipokampusta nöronal korunmayı arttırdığı ve anksiyete üzerine olumlu etkisinin olduğu gösterilmiştir (Fan ve ark. 2018).

Telegdy ve ark. (2014), deneysel anksiyete modelinde İSV yöntemle uyguladıkları apelinin anksiyolitik etkisinin olduğunu tespit etmişlerdir. Depresyon ve anksiyete sıklığı üzerine yapılan bir çalışmada, her iki durumda da serum apelin düzeyi yüksek bulunmuştur (Oğuz ve ark. 2016). Apelin, antienflamasyon aktivitesini artırarak nöroprotektif etkiler gösterir (Zeng ve ark. 2010). Sıçanlara İSV yolla uygulanan Apelin-13'ün nöroinflamasyonu azalttığı rapor edilmiştir (Xin ve ark. 2015).

2.4.2.6. *İskemik İnme*

İnme, ölüm nedenleri arasında ikinci sırada olup, sakatlık nedenleri arasında 3. sırada bulunmaktadır. İskemik inme ise inme vakalarının yaklaşık %87'sini oluşturur. Wu ve ark. (2018), yaptıkları bir çalışmada apelinin iskemik inmede Gai/Gaq-CK2 sinyalini aktive ederek nöronal apoptozu hafiflettiğini göstermişlerdir.

2.4.2.7. *Beyin Hasarı*

Nöronal apoptoz subaraknoid kanama sonrası meydana gelen beyin hasarında önemli ölçüde rol oynar. Tüm felçlerin %5'ini oluşturan anevrizmal subaraknoid

kanama yüksek mortalite ve morbidite oranları ile ilişkilidir (Macdonald ve Schweizer 2017).

Subaraknoid kanamadan sonraki ilk 72 saat içinde meydana gelen erken beyin hasarı, kanamadan sonra görülen nörolojik eksikliklere ve kötü sonuçlara neden olur (Cahill ve ark. 2006).

Nöronal apoptozun subaraknoid kanama sonrası beyin hasarının gelişiminde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Cassidy ve Cramer 2017). Apelin 13'ün çeşitli beyin hasarlarını takiben nöroprotektif ve antiapoptotik etkilere sahip olduğu belirtilmiştir (Boal ve ark 2016).

PI3K / Akt yolağının aktivasyonunun nöronal sağkalımda önemli bir rol oynadığı iyi bilinmektedir (Zhuang ve ark. 2011). Apelin 13'ün sıçan vasküler düz kas hücrelerinde PI3K / Akt sinyal yolunu aktive edebileceğini göstermiştir (Liu ve ark. 2015).

Yapılan bir araştırmada, GLP-1 aktivasyonunun subaraknoid kanamada nöronal ölümü azaltabileceği (Xie ve ark. 2018), apelin 13'ün toplam plazma GLP1 konsantrasyonunu önemli ölçüde arttırabildiği gösterilmiştir (Wattez ve ark. 2013). Plazma apelin konsantrasyonlarının yaşla birlikte azaldığı, böylece yaşlı sıçanlarda konsantrasyonlarının erişkinlerinkinin yarısı kadar olduğu bildirilmiştir (Sauvant ve ark. 2014).

Endoplazmik retikulum stresi subaraknoid kanama sonrası nöronal apoptozda büyük bir rol oynar (Zhao ve ark. 2018). Apelin-13'ün endoplazmik retikulum stres aracılı apoptozu ve subaraknoid kanama sonrası beyin hasarını azalttığı rapor edilmiştir (Xu ve ark. 2018). Liu ve ark. (2019), yaptıkları bir çalışmada apelin-13'ün nöronal apoptozu baskılayarak beyinde oluşabilecek hasarı hafiflettiğini göstermişlerdir.

2.4.2.8. Nörotropik Ağrı

Omurilik yaralanmasını takiben oluşan nöropatik ağrı dünya çapında önemli bir klinik sorundur (Clark ve ark. 2010). Parapleji, hiperaljezi ve nöropatik ağrı semptomlarıyla ilişkilidir (Nogueira ve ark. 2012). Bu semptomlar uzun süre devam

eden, psikolojik ve sosyal açıdan kötü yaşam kalitesine neden olan komplikasyonlara sebep olur (Clark ve ark. 2010).

Omurilik hücre apoptozu önde gelen nedenlerden biridir (Liu ve ark. 2015). Nöropatik ağrı üzerine yapılan araştırmalarda, hücreleri apoptoza karşı korumak için nöroprotektif ajanlara odaklanılmıştır (Kakinohana ve ark. 2011; Bai ve ark. 2012). Zhao ve ark. (2011), omurilik yaralanmasını takiben düşük apelin ekspresyonunun apoptoza bağlı nöronal ölümü tetiklediğini göstermişlerdir. Apelin'in iç organlarda analjezik etki gösterdiği bildirilmiştir (Lv ve ark. 2012). Apelinin sıçanlarda omurilik yaralanmasından sonra nöropatik ağrıyı hafiflettiği belirtilmiştir (Hajimashhadi ve ark. 2017).

2.5. Nörogenез

Yetişkin nörogenезi beyinde yeni nöronların üretilmesidir. Nörogenез progenitör hücrelerin çoğalmasıyla başlayan, fizyolojik olgunlaşma ve nöronal karakterin kazanılması ile devam eden, yeni fonksiyonel özellik kazanmış olan entegre bir nöronun varlığıyla sona eren karmaşık bir süreci ifade eder (Balu ve Lucki 2009). İnsanlar dahil olmak üzere birçok türde, hipokampusta bulunan dentat granül hücre tabakası yetişkin yaşamı boyunca nörogenез gösterir (Aberg ve ark. 2000).

Nörogenез en yüksek aktivitesini embriyonik gelişim sırasında gösterir (Kandel 2006). Orta-adolesan döneme denk gelen 35 günlük fareler üzerinde yapılan bir çalışmada her ay 250.000 kadar yeni DG hücresi veya % 6 oranında granül hücre popülasyonunun üretildiği rapor edilmiştir (Cameron ve McKay 2001). 60 günlük farelerde, granül hücre üretiminde % 80' lik kayıp ergenlikten genç erişkinliğe kadar gözlenir bu da granül hücre popülasyonunun yaklaşık %0.4 ila %1'inin genç ve orta yaşlarda aylık olarak üretildiğini gösterir (Vyas ve ark. 2002). Bununla beraber ön beyin SVB'de ve hipokampal DG'de nörogenез hem insanlarda hem de kemirgenlerde yaşam boyunca devam eder (He ve Crews 2007). Yapılan çalışmalar farklı antidepresan ilaç sınıflarının DG alt bölgesinde nörogenез seviyelerini arttırdığını göstermiştir (Jessica ve ark. 2000).

2.5.1. Hipokampal Nöroenez

Hipokampal nöroenez, yaşam süresince nöral kök hücrelerden farklılaşarak yeni fonksiyonlar kazanmış olan nöronların üretim sürecidir. Nörojenik niş terimi, nöral öncü ve kök hücrelerinin rejenerasyon ve başkalaşım geçirerek glial ve nöron hücrelerine dönüşebildiği lokal çevreyi tanımlar. Hipokampal DG'nin SGB'si yetişkin beyinde var olan iki nörojenik nişten biridir (Zhao ve ark. 2008). Yeni nöron oluşumunun yetişkin sıçanlarda beyin hipokampus bölgesinin DG'sinde olduğu ilk kez 1965 yılında Altman ve Das tarafından gösterilmiştir (Altman ve Das 1965). Nöroenezin fonksiyonel rolünü araştıran çalışmalar bu öncü araştırmadan sonra hız kazanmıştır. Yetişkin hipokampal nöroenezi, SGB'de nöral progenitor hücrelerin proliferasyonu ile başlar (Zhao ve ark. 2006). Çok az sayıda nöral progenitor hücre gliaya farklılaşırken, birçoğu DG'deki granüler hücrelere dönüşür.

Yeni doğan DG hücrelerinin nöral farklılaşması ve DG'de bulunan glial hücre tabakasına göçü yaşamın ilk haftasında başlar (Aimone ve ark. 2010). Bu hücreler sinir ağına henüz entegre değildir ve aktivasyonlarını γ -aminobütirik asit ile sağlarlar (Pontes ve ark. 2013). İkinci haftada, hücrelerin moleküler tabakaya uzanan dendritleri, hilustan CA3'e uzanan aksonları yosunsu lifleri oluşturur ve böylece nöron benzeri özelliklere ulaşır. Bununla birlikte, membranlarında bulunan dirençlerinin yüksekliği nedeniyle hala tam olarak olgunlaşmamış nöronlardır. Ayrıca, moleküler katmanda yetersiz sayıda dendritik dikenler içermeleri sebebiyle glutamaterjik girdileri alamazlar (Aimone ve ark. 2010).

Hipokampal nöroenez, in vivo ve in vitro olarak birden fazla faktör tarafından düzenlenir, bunlar arasında tropomiyosin reseptör kinaz B'ye (TrkB) yüksek afiniteli bağlanma gösteren beyin kaynaklı nötrofik faktör (BDNF) ile depresif bozukluğu olan hastalarda kritik rol oynar (Castrén ve Kojima 2017). BDNF'nin ekspresyon düzeyi, nörodejeneratif hastalıklarda lezyonların şiddetini yansıtır ve eksikliği yenidoğan granül hücrelerinin proliferasyonunu azaltır (Begni ve ark. 2017). Nöroenez ve nöroplastisite hafıza ve öğrenme gibi farklı süreçlerde rol alan anahtar mekanizmalardır (Chesnokova ve ark. 2016). Hipokampal nöroenezde eksiklik anksiyete davranışını artırır (Revest ve ark. 2009). Hipokampusun sinir kök hücreleri, öğrenme, hafıza ve ruh hali ve bunlarla ilişkili hastalıklar dahil olmak üzere, hemen hemen her fonksiyonda rol almaktadır (Balı ve Lucki 2009) .

2.5.2. *Hipokampal Nörogenez ve Anksiyete*

Anksiyete, patolojik korku biçimidir. Klinik psikiyatride en sık rastlanan patoloji olup, tüm psikiyatrik bozuklukların yaklaşık %30'unu oluşturur (Kessler ve ark. 2005).

Hipokampal nörogenezin başlarda beyin gelişimi ile sınırlı olduğuna inanılmış ancak devam eden araştırmalarda nörogenezin devam ettiği keşfedilmiştir. Nörogenez insanlar da dahil olmak üzere yetişkin sıçanların beyinde farklı bölgelerde devamlılığını sürdürür (Abrous ve ark. 2005). Nörogenezde yaşam boyunca DG içine granül hücrelerinin eklenmesi söz konusudur. Bu hücreler DG'nin subgranüler bölgesinde (SGB) yer alan öncü hücrelerden üretilir ve çoğalma, olgunlaşma, hayatta kalma oranları yaş, stres, egzersiz ve antidepresanlar gibi çevresel koşullardan etkilenir (Praag ve ark 2005; Dranovsky ve ark. 2011).

Nörogenez, anksiyete ve depresyonda olduğu gibi stres hormonlarına uzun süre maruz kaldığında inhibe olur (Revest ve ark. 2009; Snyder ve ark. 2011; Gold 2015). Yetişkin yaşamı boyunca hipokampusta yeni nöronların artışının kaygı davranışını baskıladığına inanılmaktadır (David ve ark. 2009). Hipokampus sadece bilişsel işlevlere dahil değildir, aynı zamanda duygusal beyin kilit yapısıdır (Revest ve ark. 2009). Bu yapı duygusal durumların düzenlenmesinde büyük rol oynar ve özellikle kaygı durumlarının modülasyonu ile ilişkilendirilmiştir (Bannerman ve ark. 2004).

Hipokampal nörogenezde azalmanın anksiyete benzeri davranışlarda rol alabileceği, yetişkin hipokampal nörogenezin artırılmasının anksiyete ve depresyon benzeri davranışların azaltılması için yeterli olduğu rapor edilmiştir (Hill ve ark. 2015).

Stres yanıtının oluşumunda HPA aksı önemli rol oynar. Anksiyete durumunda HPA aks mekanizmasında bozulma meydana geldiği belirtilmiştir (Kheirbek ve ark. 2012). Anne yanından erken dönemde uzun süreli ayrılmada HPA aktivitesi artar. Bu durum erişkinlikte anksiyete davranışına yol açar (Kocabasoglu 2016). Nörogenez anksiyete gelişiminde rol alır, SGB'de üretilen yeni nöronlar anksiyete regülasyonuna katılır (Marques ve ark. 2016).

Hipokampus strese son derece hassas bir bölgedir ve nörogenezin patolojik kaygının gelişimiyle bağlantılı olduğu öne sürülmüştür (Sah ve ark. 2012). Kronik stres, HPA ekseninin aktivitesini değiştirmenin yanı sıra, hipokampal nörogenezi azaltır ve böylece hipokampusun stres ve anksiyete yanıtlarında yer alan beyin alanlarını modüle etme kabiliyetini zayıflatır. DG'nin SGB'sinde granül hücre olma potansiyeline sahip bölünme özelliğini koruyan çok sayıda nöral progenitör hücrenin varlığı bilinmektedir (Marques ve ark. 2016).

2.6. Hipokampus

2.6.1. Hipokampus Anatomisi

Ventriculus lateralisin cornutemporale'sinin tabanında yer alır. Hipokampus yaklaşık 5 cm uzunluğundadır ve şeklinin deniz atına benzerliği nedeniyle de hippocampus (deniz atı) olarak isimlendirilmiştir. Limbik sistemin bir parçası olarak hipokampus, duygu oluşumu ve işlenmesi, hafıza ve öğrenme için büyük bir merkezdir. Ön kısmı, pes hippocampi olarak isimlendirilir ve digitationes hippocampi adı verilen 3-4 adet yuvarlak çıkıntı şeklinde yapı bulunur. Hipokampusun koronal kesitine bakıldığında konveks yüzü ventrikül boşluğuna bakan, konkav yüzü ise hemisferin alt yüzüne doğru yönelen C harfini andıran bir yapı görülmektedir. Alt yüzde konumlanan bu yarı, sulcus hippocampi şeklinde isim almıştır. Kısaca hipokampus, sulcus hippocampi'nin yapılandığı yerde gri cevher yan karıncığının cornu temporalisine giriş oluşturması suretiyle şekillenmiştir (Anatomi 2016).

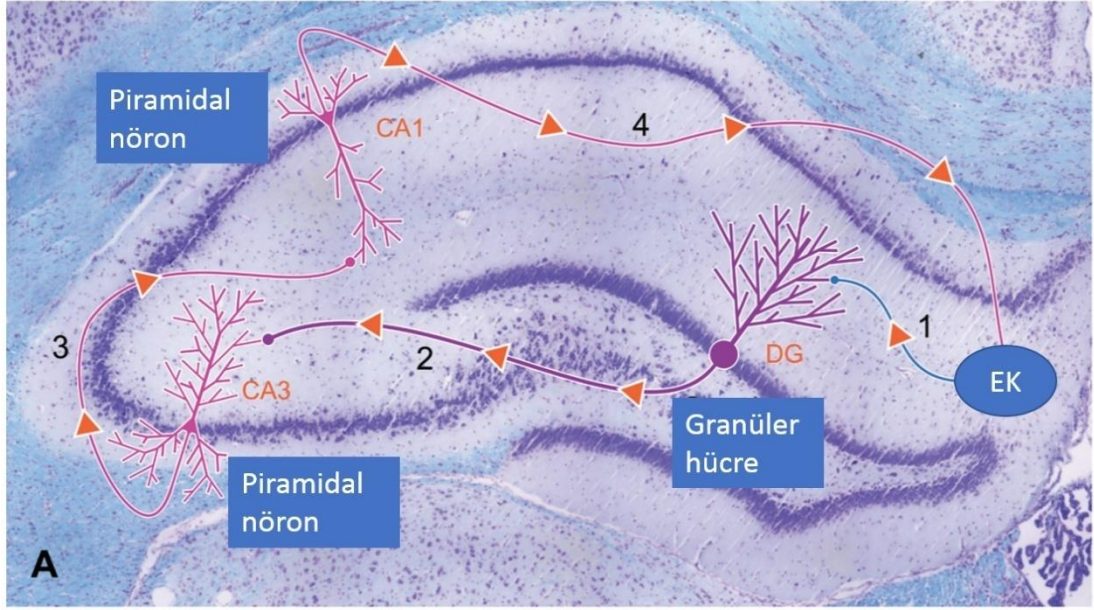
2.6.2. Hipokampal Formasyon

Hipokampus ammon boynuzu, cornu ammonis (CA) ve dentat girus (DG) denilen 2 ana bölümden oluşmaktadır. CA'nın birincil nöronal hücre tabakası glutamaterjik uyarıcı piramidal nöronlardan oluşur. Piramidal hücre tabakası CA boynuzu boyunca bulunurken, piramidal nöronlar CA1 ve CA3 bölgelerine ayrılan farklı morfolojik ve genetik özelliklere sahiptir. CA2, CA1 ve CA3 arasındaki geçiş bölgesini belirtir (Tole ve ark. 1997). Piramidal hücre öncülleri nöroepitelden doğarlar ve radyalgia ile yönlendirilirler, olgunlaşmalarını izleyen birkaç gün boyunca içten dışa doğru bir şekilde ammonik plakaya göç ederler. Piramidal hücreler, ratlarda gebeliğin son haftasında nörogenezin pik yapmasıyla beraber oluşmaya başlar (Lagali ve ark. 2010). GABAerjik internöronlar ilk olarak hipokampusa göç eder ve uyarıcı nöronlardan önce fonksiyonel sinapslar geliştirir (Hennou ve ark. 2002). CA3

piramidal nöronlar, CA1 piramidal nöronlarla sinaps yapan afferent aksonları uzatır; bunlar Schaffer kolleteralleri olarak adlandırılır. CA3 piramidal hücrelerin dendritleri, postnatal dönemde olgunlaşmaya devam eder. Bu dendritler yosunsu lifler olarak adlandırılan DG granül nöronlarının aksonlarından sinaptik girdi almaktadır. Granül hücreleri, yetişkin hipokampusunda SGB'den üretilmeye devam eder, nörodejeneratif ve nöropsikiyatrik hastalıklar için potansiyel bir terapötik etkisi olan yetişkin nöral kök hücre kaynağıdır (Hsieh ve Eisch 2010).

Hipokampal formasyonun bir parçası olan iki ana nöron grubu, ekstra hipokampal bağlantılardan sorumlu olan asıl nöronlar ve hipokampus içinde lokal bağlantıların oluşumuna katılan inter nöronlardır (Falougy ve ark. 2008). Glutamaterjik piramidal ve granüler nöronlar, hipokampusun toplam nöron sayısının %90'ını oluştururken, diğer %10'u GABAerjik internöronlardan oluşmaktadır (Queen ve ark. 2003). Glukokortikoid ve minerakortikoid reseptörler, hipokampusun asıl hücrelerinde bol miktarda bulunur aynı zamanda duygusal ve bilişsel fonksiyonları etkiler (Joëls ve ark. 2007).

Hipokampal DG, iç ve dış çevre hakkındaki temel girdiyi, entorhinal korteksten (EK), perforan yoldan alır. DG'de bulunan granül hücrelerinin aksonları, CA3 bölgesine uzanır. CA1 bölgesi, intrahippokampal trisinaptik döngüdeki son aşamayı temsil eder ve schaffer kollateralleri olan CA3 piramidal hücre aksonlarının ana hedefidir. CA1'den subiculuma ve EK giden yol ana hipokampal çıktısını oluşturur (Freund ve Buzsáki 1998). Hipokampustaki bu sinir ağı, belirli kortikal bölgelerden elde edilen duyusal bilgilerin hipokampusa EK yoluyla girdiği kapalı bir devreyi temsil eder (Zaletel ve ark. 2016).



Şekil 2.3. Hipokampusun trisinaptik döngüsü. Medial ve lateral perforant yollarla DG'ye giren sinyal, EK'den köken alır. (1) Sinyal daha sonra granül hücrelerinin aksonları vasıtasıyla CA3 piramidal nöronlara (2) ve daha sonra schaffer kollaterali vasıtasıyla CA1 piramidal hücelere aktarılır. (3) Bilgi döngüden çıkar ve tekrar entorhinal korteksten geçerek köken aldığı yere döner (Zaletel ve ark. 2016).

2.6.3. Hipokampus ve Anksiyete

Hipokampus limbik sistem içerisinde bulunan amigdala, hipotalamus, serebral korteks bölgeleriyle birçok farklı yoldan bağlantı kurarak davranışların ortaya çıkmasında ve düzenlenmesinde rol oynar (Guyton 2013). Hipokampus, beynin hafıza oluşumunu ve öğrenilen davranışları kontrol etmesini sağlayan birincil bölgedir (Lagali ve ark. 2010).

Her türlü duyuşsal uyaran hipokampusu aktive etmektedir. Bu nedenle hipokampus öğrenme ve hafıza gibi normal; stres, anksiyete ve depresyon gibi patolojik davranışsal durumların düzenlendiği önemli merkezlerden birisi olarak kabul edilmektedir (Kenney ve Gould 2008). Hipokampus davranışların düzenlenmesinin yanı sıra bilgi işlemede ve hatıra oluşumunda da rol oynar (Malberg ve ark. 2000; Bannerman ve ark. 2004; Surget ve ark. 2011). Hipokampus anksiyete semptomlarının oluşumunda rol alan hipotalamus ve korku belirtilerinin oluşumunun şekillendiği amigdala ile nöronlar aracılığıyla iletişim kurar (Uzbay 2004). Dorsal alt bölgenin mekansal öğrenme ve hafızada rolü olduğu ventral alt bölgenin ise kaygı ile ilgili davranışlarda rol oynadığı ileri sürülmüştür (Bannerman ve ark. 1999).

İnsanlarda hipokampus, gebeliğin dokuzuncu haftası itibariyle serebral hemisferlerin orta kısımlarında görülebilir. Hipokampusta meydana gelen gelişim

hasarının sonucu nöropsikiyatrik hastalıklar oluşabilir (Sobotta 2015). Psikiyatrik hastalıklarda strese cevap sisteminin ana bileşeni olan HPA'nın aşırı aktivasyonunun bilişsel performansta hipokampal bozulmaya yol açabileceği gösterilmiştir (Beluche ve ark. 2010). Hipokampus ve serebral kortekste yüksek oranda ifade edilen BDNF, ruh hali ile ilişkili bozukluklar sırasında patofizyolojinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (Alshogran ve ark. 2018). Depresyon ve anksiyetesi bulunan hastalarda hipokampus dokusunda atrofi ve nöronal kayıp olduğu saptanmıştır (Sheline ve ark. 1996).

2.6.4. Amigdala ve Anksiyete

Amigdala terimi ilk kez 1819'da Anatomist Burdach tarafından insan temporal korteksinin derinliklerinde bulunan badem şekline benzer yapıdaki hücre kütesini tanımlamak için kullanılmıştır (Davis ve Whalen 2001). Yapısı, bazolateral çekirdekler ve farklı fonksiyonlara hizmet eden diğer beyin bölgeleri ile belirgin anatomik bağlantıları olan merkezi çekirdek dahil olmak üzere birçok alt çekirdekten oluşur (Kim ve ark. 2011). Beyinde bulunan yapılar içerisinde talamus, hipotalamus, hipokampus, pineal bez, hipofiz ve amigdala gibi önemli nöroanatomik oluşumları içeren limbik sistem, bellek ve duygudurum değişikliklerinden sorumlu önemli bir bölgedir (Uzbay 2004). Amigdala, anksiyete ve korku duygusunun meydana gelmesinde rol alan önemli oluşumlardan bir tanesidir (Davis ve ark. 1994). Amigdala davranışlarla ilgili olan bir bilinç kısmı olarak kabul edilmekte olup, bireyin etrafında olan bitenleri ve anlık olarak düşünceleri limbik sisteme gönderir. Amigdalanın uyarımı, korku, ceza, öfke gibi çeşitli yönlerden davranış değişikliklerine sebep olur. Tüm bunlar göz önünde bulundurulduğunda, amigdalanın, çevrede meydana gelen olaylara karşı bireylerde bir çeşit davranış cevabı oluşturmaya yardımcı olduğu varsayılmaktadır (Guyton 2017).

2.7. Deneysel Anksiyete Modelleri

Hayvanlarda oluşturulmak istenen anksiyete için farklı stresör yöntemler bulunur. Bunlardan bazıları sosyal izolasyon, eğimli kafesler, yüksek ortamda barındırılma, farklı derecelerde ışıklandırılmış ortamlardır. Uygulanan bu stresörlere karşı sosyal etkileşimde azalma, korku, irkilme gibi davranış değişiklikleri gözlemlenir (Aykaç ve ark. 2015).

Davranış üzerine yapılan hayvan çalışmalarında genel olarak hayvanın lokomotor aktivitesi, stres altında verdiği yanıt ve öğrenme becerisi ölçülmektedir, insanlar üzerinde etik ve benzeri durumlarda çalışma yapılamadığında hayvan modelleri kullanılır (Kalueff ve Tuohimaa 2004).

2.7.1. Sosyal İzolasyon

Küçük sosyal ağlar, nadir kurulan sosyal temaslar, yalnız yaşamak ve sosyal aktivitelere katılım eksikliği, sosyal izolasyonu tanımlamak için kullanılan kriterlerdir (Cornwell 2012). Ratlarda adolesan dönem, doğumdan sonra geçirilen 28. ila 42. günler arasına tekabül eder (Spear 2007). Ergenlik döneminde sosyal ve çevresel etkilerin hayati bir rol oynadığı iyi bilinmektedir. Sosyal izolasyon, bireyler arası iletişim kopukluğuna sebep olur. Sosyal izolasyon modeli, kemirgenlerde depresyon benzeri bir durumun iyi bilinen deneysel bir modelidir. Sosyal izolasyon deney hayvanının annesinden ve yaşadığı sosyal çevresinden ayrılıp, ayrı kafes ve ayrı odalarda tekli barındırılması ile oluşturulan bir modeldir. Bazı çalışmalarda hayvan tekli barındırılmak yerine günde 4 veya 6 saat ayrı bir kafeste ve odada barındırılarak bu süre sonunda tekrar anne yanına veya yaşadığı sosyal çevreye dönmüştür (Chida ve ark. 2005). Sosyal izolasyon uygulanması için konan kafeslerde bulunan sıçanlar, haftada 1 defa olmak üzere temizlenmek üzere ele alınır (Duman 2002). Sosyal izolasyon stresi, stres kaynağının uygulanma süresi, hayvanın yaşı ve cinsiyeti gibi çeşitli faktörlerden etkilenir (Xiao ve ark. 2018). Sosyal izolasyonda, izolasyonun meydana geldiği dönem önem arz eder. Erken yaşlarda maruz kalınan sosyal izolasyon, yetişkin dönemde depresyon ve anksiyete gibi bozuklukların oluşup devam etmesine neden olabilir (Barrientos ve ark. 2003). Stres, başta limbik sistem olmak üzere, beyinde bulunan ve önem arz eden birçok bölgede nöronların yapılarını bozup, normal fonksiyonlarını yapamayacak hale getirerek, nörohumoral mekanizmada önemli ölçüde problem oluşturan çevresel bir faktördür. Stresin meydana gelişi, depresyonda olduğu kadar anksiyetenin oluşmasında da önemli bir etkidir (Vyas ve ark. 2002).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışma, Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından temin edilen Wistar Albino türü erkek sıçan üzerinde gerçekleştirilmiştir. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 23.02.2018 tarihli ve 2018-011 karar sayısı ile onaylanmıştır ve çalışmadaki bütün uygulamalar etik kurul protokolünde belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Davranış deneyleri 8 hafta boyunca gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada toplamda 44 adet, ağırlıkları 55-65 gr gram arasında değişen Wistar Albino cinsi erkek sıçan deney hayvanları kullanılmıştır. Sıçanlardan kontrol grubu birlikte, sosyal izolasyon grubundakiler ise ayrı kafeslerde olacak şekilde ve deney boyunca 22 ± 1 oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık/karanlık olacak şekilde barındırılmıştır. Kafeslerin temizliği her hafta yapılmış ve altlık olarak talaş kullanılmıştır. Hayvanların yemleri standart (pellet) yemi şeklinde, suları ise özel şişelerinde musluk suyu olarak verilmiştir.

Sıçanların hepsi 3 haftalık süren laktasyon döneminin ardından 1 hafta daha annelerinin yanında bırakıldıktan sonra, 28. günlerinde annelerinin yanından alınmış ve biri kontrol diğeri sosyal izolasyon olmak üzere rastgele olarak 2 grup halinde ayrılmıştır. Bu gruplar hazırlanırken, gruplara aynı anneden doğan ratların gelmemesine özen gösterilmiştir. Daha sonra bu gruplar da kendi aralarında serum fizyolojik ve apelin uygulanan grup olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır. Sıçanların ağırlıkları anneden ayrıldıktan sonra kafeslere dağılım öncesinde ve davranış deneylerinin öncesinde kaydedilmiştir. İzole kafeslere konan hayvanların çevre ile iletişimini engellemek adına kafeslerin etrafı kaplanıp her birinin içine birer rat olacak şekilde hayvanlar yerleştirilmiştir. 8 hafta boyunca, aynı odada bulunan farklı raflarda bu şekilde tutulmuştur. Bu sayede ortamda bulunması gerekli olan ışık, koku ve ses koşulları sağlanmıştır. Kontrol grubunda olanlar ise standart kafes koşullarında barındırılmıştır. Altlarını değiştirmek amacı ile haftada yalnızca 1 defa ele alınmıştır, bunun dışında hayvanlarla herhangi bir temas kurulmamıştır.

Çalışma grupları aşağıda şekilde düzenlenmiştir.

Gruplar:

Kontrol (n=11): Sosyal izolasyon uygulanmayan sıçanlardan oluşturuldu.

Apelin (n=11): Sosyal izolasyon uygulanmayan ve apelin infüzyonu yapılan grup.

Sosyal İzolasyon (Sİ, n=11): Hayvanlara 8 hafta boyunca Sİ uygulandı.

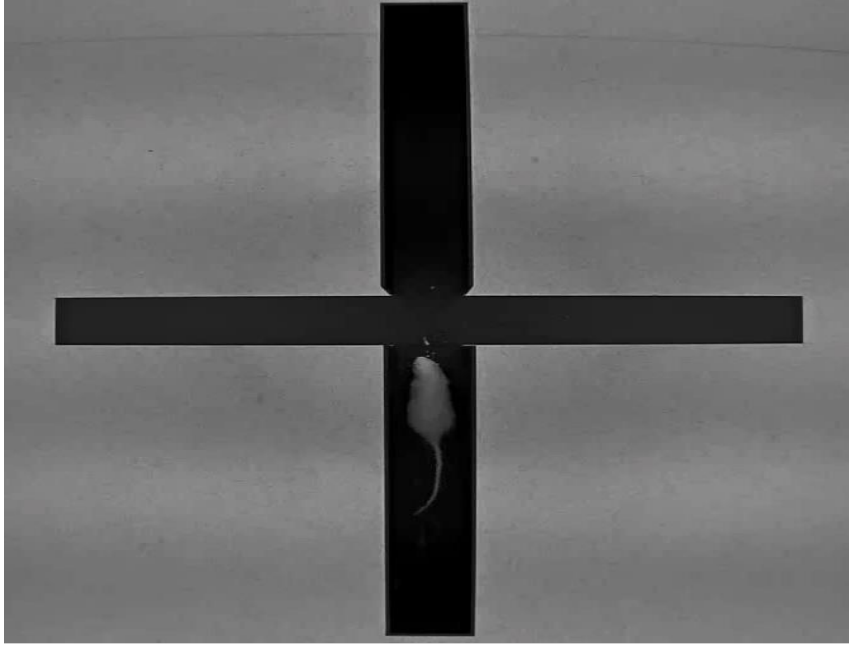
Sosyal İzolasyon+Apelin (Sİ+A, n=10): 6 hafta boyunca uygulanan Sİ sonrasında deri altı yolla 2 hafta boyunca apelin infüze edildi. Sİ, apelin infüzyonu döneminde de uygulandı.

3.2. Davranış Testleri

Hayvanların anksiyete davranışları ve lokomotor aktivitelerini değerlendirebilmek için AAT, AKT ve YAT kullanılmıştır. Testler, birbirini izleyen günlerde sabah 09:00-12:00 arasında yapılmıştır. Hayvanların test ortamına alışabilmesi açısından teste tabi tutulmadan yaklaşık yarım saat önce odaya alınmıştır.

3.2.1. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

YAT düzeneği yazılım programına (Ethovision Video Tracking System XT11, Netherlands) tanıtılmış ve açık kollar, kapalı kollar, merkez olacak şekilde bölgeler işaretlenmiştir. Hayvanın başı açık bölgeye bakacak şekilde hep aynı yönden bırakılmış ve 5 dakika boyunca deneye tabi tutulmuştur. Bu süre içerisinde açık ve kapalı kollara giriş sayıları, açık ve kapalı kollarda geçirdiği süreler kaydedilmiştir. Her deney bitiminde aparatlar %10'luk etil alkol ile silinmiştir.



Şekil 3.1. Yükseltilmiş artı labirent test düzeneği.

3.2.2. Açık Alan Testi

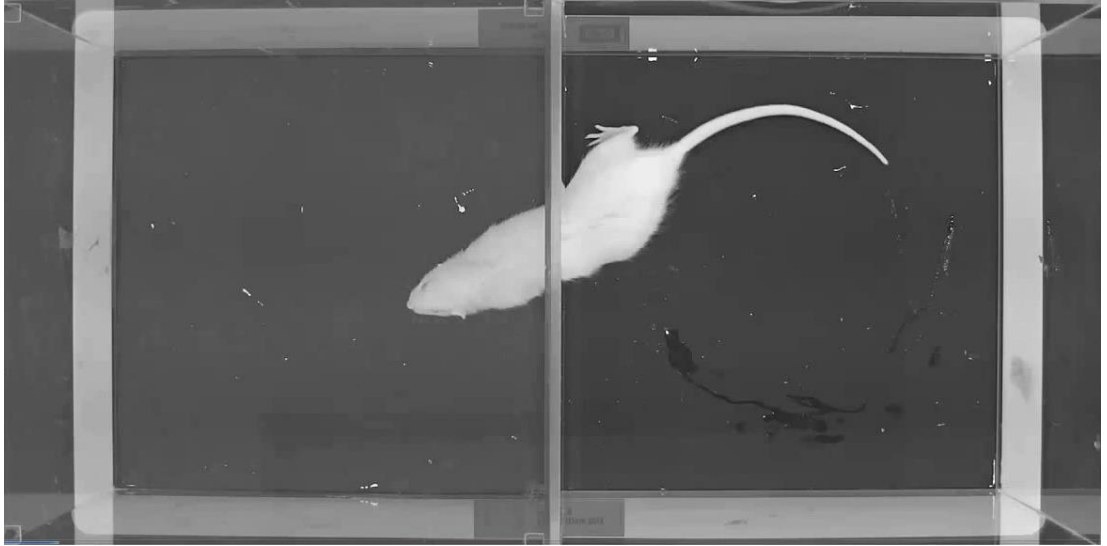
Hayvan, AAT için özel kullanılan yazılım programına (Ethovision Video İzleme Sistemi XT11, Hollanda) tanıtılmıştır, işaretlenmiştir, tüm deney program aracılığı ile kaydedilmiştir. Her hayvan 5 dakikalık süreç başında aparata aynı kenardan bırakılmıştır ve bu süre içerisinde merkezde kalma süresi, hız, mobilite süresi ve imobilite süresi hesaplanmıştır. Aynı zamanda deney süresince gözlemleyerek süslenme sayısı, şahlanma sayısı ve defekasyon sayıları da hesaplanmıştır. Testler, hayvanların fizyolojik koşulları göz önünde tutularak gün içinde 09:00- 12:00 saatleri arasında yapılmıştır. Her deneyin bitiminde aparat %10'luk etil alkol çözeltisi ile temizlenmiştir.



Şekil 3.2. Açık alan test düzeneği.

3.2.3. Aydınlık Karanlık Kutu Testi

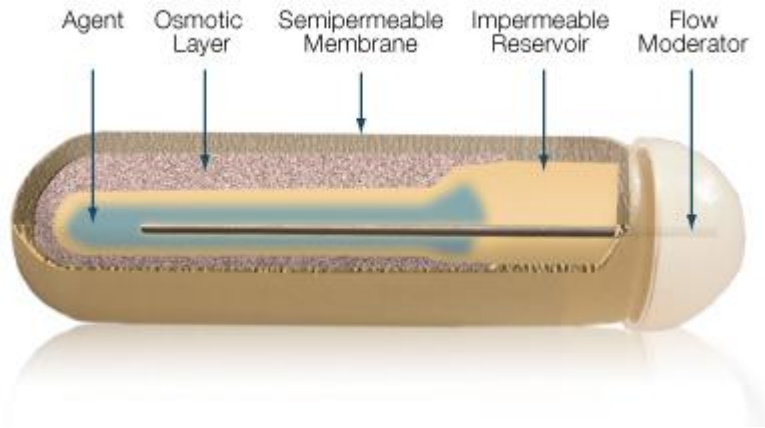
Hayvanlar, AKT için özel kullanılan yazılım programına (Ethovision Video İzleme Sistemi XT11, Hollanda) tanıtılmıştır, kırmızı nokta ile işaretlenmiştir, tüm deney program aracılığı ile kaydedilmiştir. Her hayvan 5 dakikalık süreç başında aparata aynı kenardan bırakılmıştır ve bu süre içerisinde aydınlık ve karanlık kutuda geçirdiği süreler, aydınlık kutudan karanlık kutuya giriş sayısı, karanlık kutudan aydınlık kutuya giriş sayısı hesaplanmıştır.



Şekil 3.3. Aydınlik karanlık kutu test düzeneği.

3.3. Ozmotik Pompa

Alzet marka ozmotik pompa, saatte 0,11-1 μ l salınım yapabilen, çalışma prensibi ozmotik basınç farkına dayanan bir pompadır. En içte ilaç, ortada ozmotik tabaka, en dışta yarı geçirgen zara sahip, toplamda 3 tabakalı bir sistemdir. Özel kapsülü yardımıyla, hazırlanan ilaç solüsyonu en iç tabakaya enjekte edilir. Ozmotik pompa subkutan olarak yerleştirildiğinde, dışardan su emilimi başlar ve su ozmotik tabakayı genişletir. Bu genişlemeyle beraber ilaç rezervuarı sıkışmaya başlayarak ilacın kontrollü salınımı gerçekleşmeye başlar.



Şekil 3.4. Ozmotik pompa (http://www.alzet.com/products/ALZET_Pumps/howdoesitwork.html).

3.4. Hayvanların Hazırlanması

Sıçanlara intramüsküler yolla 75 mg/kg ketamin ve 10 mg/ksilazin verilerek anestezi uygulandı. Sıçanların tam olarak anesteziye girip girmediği parmak kıstırma

testi ve fizyolojik yanıtların değerlendirmesiyle kontrol edildi. Hayvanlar anesteziye girdiklerinde enseleri traşlandı, tüm sterilizasyonları sağlanarak ozmotik pompaların subkutan yerleştirilmesi amacıyla ameliyat masasına alındı.

Hayvanlar serum fizyolojik ve apelin uygulama grubu olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Serum fizyolojik ve apelin uygulaması için ozmotik pompalar prosedüre uygun şekilde yerleştirildi. Ense derisinin sterilizasyonu sağlandıktan sonra ufak bir kesi yardımıyla genişletildi. Pompalar olabildiğince derine konularak oluşturulan insizyon, 3.0 ipek sütür ipliği ile dikilerek kapatıldı ve üzerine antibakteriyel etki oluşturması açısından fusidik asit lokal olarak tatbik edildi.

Kullanılan ozmotik pompalar 200 µg rezervuar hacminde, 5 µl/saat/hafta İSV infüzyonuna sahipti. Ozmotik pompaların içerisinden çıkan künt uçlu iğne kullanılarak, sham kontrol grubuna serum fizyolojik, deney grubu için apelin-13 pompa içerisine dolduruldu ve ucunda kanülü olan kapağı kapatılarak kullanıma hazır hale getirildi. 15 gün süre ile apelin grubundaki hayvanlara (kontrol ve Sİ) hazırlanan ozmotik pompalar ile apelin uygulaması gerçekleştirildi.

3.5. Deneyin Sonlandırılması ve Dokuların Toplanması

Uygulamadan 15 gün sonra hayvanlar dekapite edildi, gen ekspresyon analizlerini yapmak amacıyla kontrol (K; n=6), apelin (A; n=6), sosyal izolasyon (Sİ; n=6) ve apelin + sosyal izolasyon (Sİ+A; n=6) gruplarına ait sıçanların beyin dokuları hızla çıkarılarak hipokampus ve amigdala bölgeleri disekte edilmiş ve sıvı azotta hemen dondurularak gen ekspresyon analizleri için -80 °C’de saklandı.

Dekapitasyon işlemi tamamlanına yerleştirilmiş olan ozmotik pompalar içerisinde bulunan zeltelerin miktarına bakılarak pompaların uygun şekilde fonksiyon gösterip göstermediğine bakıldı.

3.6. Gen ekspresyon analizleri

3.6.1. Doku örneklerinden total RNA izolasyonu

Gen düzeyinde ekspresyon değerlendirilmesi için hipokampus ve amigdala dokularından TRIzol yöntemi ile RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Doku rneklerinin homojenizasyon işlemi 1000 µl TRIzol içerisinde gerçekleştirilmiştir. Homojenatlar oda sıcaklığında 5 dk inkübasyona bırakılmış, daha sonra 200 µl

kloroform eklenerek ve kısa bir vorteks işleminin ardından tekrar oda sıcaklığında 15 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra örnekler 12000 g'de 15 dk +4 °C'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası RNA'yı içeren üst faz yeni ependorf tüplere aktarılmış ve üzerlerine 500 µl izopropanol eklenmiştir. Daha sonra ependorflar birkaç kez alt üst edilecek ve 10 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası örnekler 10 dk 12000 g'de +4 °C'de santrifüj edilerek oluşan RNA peletinin dibeye çökmesi sağlanmıştır. Süpernatant kısmı atılıp peletin üzerine 1 ml % 75 etanol eklendikten sonra ependorflar alt üst edilmiştir. Yıkama işleminin ardından 12000 g'de 10 dk +4 °C'de santrifüj yapılmış ve süpernatant kısım uzaklaştırılmıştır. Oluşan pelet 5-10 dk oda sıcaklığında kurutulduktan sonra 50 µl nükleaz free su ile çözündürülmüştür. Elde edilen RNA örnekleri kullanılıncaya kadar -80 °C'de saklanmıştır.

3.6.2. Total RNA örneklerinin kalite kontrolü

Total RNA örneklerinin konsantrasyonu ve kalitesinin tayini spektrofotometrik ve agaroz jel elektroforez yöntemi ile kontrol edilmiştir. Fenol, protein ve genomik DNA (gDNA) kontaminasyonlarını belirlemek amacıyla nanodrop cihazına 1 µl RNA örneğinden yüklenip, A260/A280 ve A260/230 oranları değerlendirilmiştir. UV ölçümleri A260/A280 için $2 \pm 0,1$ ve A260/A230 için 2,0-2,4 arasında olan RNA örnekleri analizlerde kullanılmıştır. RNA örneklerinin kalitesinin belirlenmesi amacıyla 1 µg/10 µl konsantrasyonundaki RNA üzerine 6X yükleme boyasından 2 µl konularak %1'lik agaroz jel elektroforez sonrası ethidium bromür (EtBr) ile boyanan RNA bantlarının kalitesi UV-translüminatör üzerinde gözle ve görüntüleme sisteminden alınan resim ile değerlendirilmiştir.

3.6.3. Total RNA örneklerinin gDNA kontaminasyonunun temizlenmesi

Spektrofotometrik sonuçlar doğrultusunda, olası gDNA kontaminasyonunun giderilmesi amacıyla DNase-I (BioLabs) enzim reaksiyonu üretici firmanın talimatlarına göre uygulanmıştır. Bu protokole göre 10 µg total RNA, DNase-I reaksiyon karışımı ile 100 µl total hacime tamamlanmıştır. RNA örnekleri, üzerine 2 U DNase-I enzimi konularak 37 °C'de 10 dk bekletilmiştir. Reaksiyon durdurulması amacıyla 1 µl 0,5 M EDTA ilave edilerek 75 °C 10 dakika inkübe edilmiştir.

3.6.4. Reverze Transkriptaz (RT) reaksiyonu

Kalite kontrolü yapılmış olan RNA örneklerinden üretici firmanın protokolü kullanılarak cDNA sentezlenmiştir. Kısaca, 2µg/20µl total RNA'dan tek zincir cDNA üretilmesi için 1µl Oligo dT ve 1µl Random hekzamer 2µg/20µl total RNA üzerine ilave edilerek su banyosunda +70°C 5 dakika bekletildikten sonra 8µl 5X cDNA reaksiyon karışımı, 2 µl RNase inhibitörü, 4µl dNTP ilave edilerek +25°C su banyosunda 5 dakika bekletilmiştir. Daha sonra 2µl Reverse Transkriptaz enzimi ilave edilerek önce +25°C 10 dakika sonra +37°C 60 dakika su banyosunda inkübe edilmiştir. Reaksiyon +70°C su banyosunda 10 dakika bekletilerek durdurulmuştur. Elde edilen cDNA örnekleri daha sonra kullanılmak üzere - 20 °C'de saklanmıştır.

3.6.5. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qPZR)

Hedef ve referans genlerin ekspresyon kantitasyon analizi, gerçek zamanlı PZR cihazı (Bio-Rad CFX Connect Gerçek Zamanlı PZR Sistemi) kullanılarak yapılmıştır. Reaksiyon için çift iplikli DNA'ya bağlanan bir boya olan SyberGreen kullanılmıştır. Kısaca, 2X SyberGreen master mskten 10 µl, forward primerden 5 pmol, reverse primerden 5 pmol (Tablo 3.1.), 2 µl cDNA ve toplam hacim 20 µl olacak şekilde ddH₂O ile tamamlanarak polimeraz zincir reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonun ısı profili, +95 °C 10 dk, 40 döngü (95 °C 30 sn, 60 °C 30 sn, 72 °C 30 sn) olacak şekilde kullanılmış. Ayrıca 95 °C 1 dakika ısıtılıp, 55 °C'ye düşürülen ısı 95 °C'ye kadar tekrar kademeli olarak arttırılarak *melting curve* (erime eğrisi) analizi gerçekleştirilmiştir. Gerçek zamanlı PZR cihazından elde edilen Ct (eşik döngüsü) değerleri kayıt edilmiştir. Gerçek zamanlı PZR'den elde edilen ürünlerin doğru ürün olduğunu teyit etmek amacıyla ürünler % 2'lik agaroz jelde 120 volta 30 dk yürütülmüştür.

Tablo 3.1. qPZR analizlerinde kullanılan genlerin primer dizileri

Gen	Primer dizileri (5'->3')	Uzunluk
APELİN	ACAGCTAACCACCTTGGAGAGT	166 bç
	GCTGGCTGGAGAGAGTGAG	
APS	GCACTTTGCAGCCAACTTCTT	168 bç
	ACGTGAGCAGACACATCTT	
BDNF	CTGAGCGTGTGTGACAGTATTA	153 bç
	GGGATTACACTTGGTCTCGTAG	
NEURİTİN	TCGCGGTGCAAATAGCTTAC	152 bç
	CGGTCTTGATGTTCTGCTTGTC	

NESTIN	CACACCTCAAGATGTCCCTTAG AGGTACTGGTCCTCTGGTATC	166 bç
DCX	AGGTACGTTTCTACCGCAATG CTGAGGCAGGTTGATGTTGT	137 bç
MASH-1	GTTCGGCGGTCGAATACAT GAGTTCAAGTCGTTGGAGTAGTT	127 bç
PGK1	ATGCAAAGACTGGCCAAGCTAC AGCCACAGCCTCAGCATATTTTC	104 bç
HPRT1	CTCATGGACTGATTATGGACAGGAC GCAGGTCAGCAAAGAACTTATAGCC	122 bç
YWHAZ	GATGAAGCCATTGCTGAACTTG GTCTCCTTGGGTATCCGATGTC	120 bç

3.7. İstatiksel Metod

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 25 (IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version25.0. Armonk, NY: IBM Corp.) istatistik paket programı kullanılmıştır. Değişkenler ortalama±standart hata ve medyan (maksimum-minimum) yüzde ve frekans değerleri kullanılmıştır. Verilerin tekrarlanan ölçümler varyans analizine uygunluğu *Mauchy's Küresellik* testi ve *Box-M* varyansların homojenliği testi ile değerlendirilmiştir. Ortalamaların karşılaştırmaları için faktöriyel düzende faktörlerden biri tekrarlanan ölçümler varyans analizi kullanılmıştır. Eğer parametrik testlerin (faktöriyel düzende tekrarlanan ölçümler varyans analizi) ön şartlarını sağlamıyorsa serbestlik derecesi düzeltmeli *Greenhouse-Geisser (1959)*, ya da *Huynh-Feldt (1976)* testlerinden biri kullanılmıştır. Çoklu karşılaştırmalar ise düzeltilmiş *Bonferroni* testi ile gerçekleştirilmiştir. Değişkenler normallik, varyansların homojenliği ön şartlarının kontrolü yapıldıktan sonra (*Shapiro Wilk* ve *Levene* testi) değerlendirilmiştir. Veri analizi yapılırken, iki grup karşılaştırması için Bağımsız 2 grup t testi (*Student's t test*), ön şartlar sağlamadığında ise *Mann Whitney-U* testi, üç ve daha fazla grup karşılaştırması için Tek Yönlü Varyans Analizi ve çoklu karşılaştırma testlerinden *Tukey HSD* testi ile sağlanmadığında ise *Kruskal Wallis* ve çoklu karşılaştırma testlerinden *Bonferroni-Dunn* testi kullanılmıştır. Testlerin anlamlılık düzeyi için $p < 0,05$ ve $p < 0,01$ değeri kabul edilmiştir.

Gen ekspresyon verilerinin analizinde öncelikle çalışmaya konu olan bütün genlerin ekspresyon düzeylerini ifade eden Ct değerleri PGK1, HPRT1 ve YWHAZ referans genlerin Ct değerleri ile normalize edilerek $2^{(-\Delta Ct)}$ değerleri tespit edilmiştir. Kontrol ve deneme grupları arasında gen ekspresyonu farklılıkları ile için $2^{(-\Delta \Delta Ct)}$ yöntemi ile tespit edilmiştir. Kontrol ve deneme grupları arasında gen ifadesinde gözlenen

farklılıklar kat artışı olarak “RT² Profiler™ Pcr Array Data Analysis” olarak isimli web tabanlı program (<http://pcrdataanalysis.sabiosciences.com/pcr/arrayanalysis.php>) kullanılarak hesaplanmıştır. Gruplar arası karşılaştırma “RT² Profiler™ PCR Array Data Analysis” programında bulunan “*Student t-testi*” analizi ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Davranış testleri

4.1.1. Açık Alan Testi

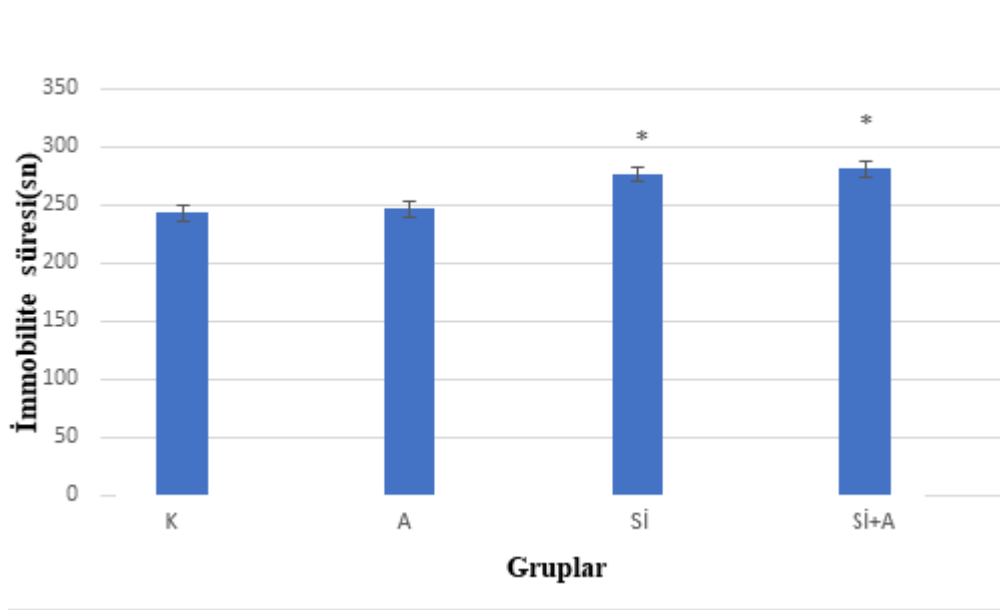
4.1.1.1. Sosyal İzolasyon Sonrası

AAT’de, sosyal izolasyon sonrası tüm gruplarda hız, katedilen mesafe, mobilite süresi ve immobilite süresi değişimleri, şahlanma sayısı ve süslenme davranışının frekans değişim parametreleri ile defekasyon sayısı değişimleri istatistiksel açıdan incelenmiştir. Çalışma gruplarının düzeyleri aritmetik ortalama $\pm$ standart hata (SH) şeklinde ifade edilmiştir (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. Sİ uygulama sonrası gruplar arası değerler.

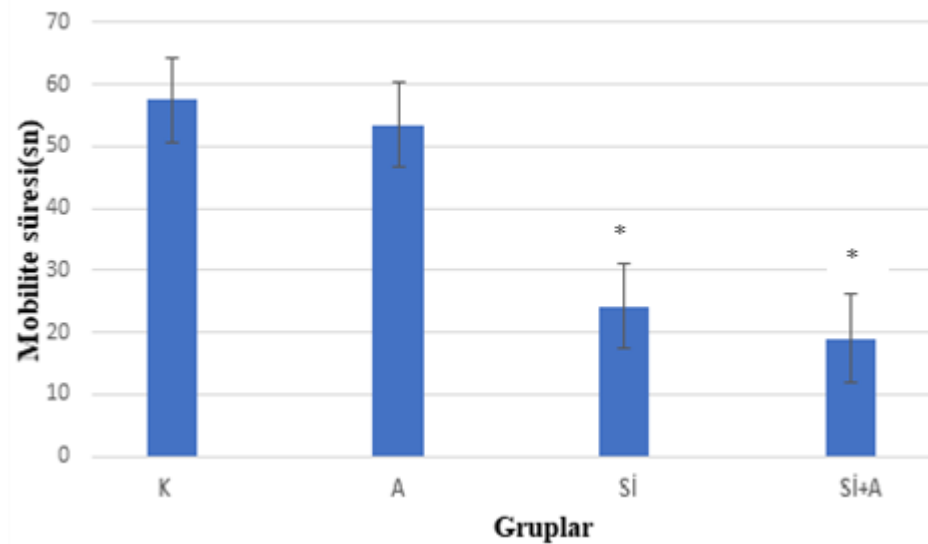
Gruplar	Kontrol	Apelin	Sİ	Sİ+A
Immobilite süresi	242,49 $\pm$ 6,69	246,51 $\pm$ 6,69	275,87 $\pm$ 6,69	281,04 $\pm$ 7,02
Mobilite süresi	57,51 $\pm$ 6,86	53,49 $\pm$ 6,86	24,14 $\pm$ 6,86	18,97 $\pm$ 7,20
Katedilen mesafe	1042,32 $\pm$ 110,96	975,80 $\pm$ 110,96	754,40 $\pm$ 110,96	758,15 $\pm$ 116,37
Merkezde geçirilen süre	8,19 $\pm$ 2,80	6,27 $\pm$ 4,08	5,46 $\pm$ 6,18	1,16 $\pm$ 2,99
Hız	5,30 $\pm$ 0,48	5,00 $\pm$ 0,48	4,16 $\pm$ 0,48	3,89 $\pm$ 0,50
Süslenme sayısı	4,90 $\pm$ 0,501	4,72 $\pm$ 0,50	2,27 $\pm$ 0,50	2,60 $\pm$ 0,52
Şahlanma sayısı	6,36 $\pm$ 0,80	6,18 $\pm$ 0,80	3,81 $\pm$ 0,80	4,10 $\pm$ 0,84
Defekasyon sayısı	2,00 $\pm$ 0,48	1,54 $\pm$ 0,48	3,90 $\pm$ 0,48	3,30 $\pm$ 0,51

Sosyal izolasyon bitiminde yapılan testlerde, katedilen mesafe kontrol (1042,32 $\pm$ 110,96) grubunda Sİ (754,40 $\pm$ 110,96) grubuna kıyasla yüksekti ancak gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0.05$).



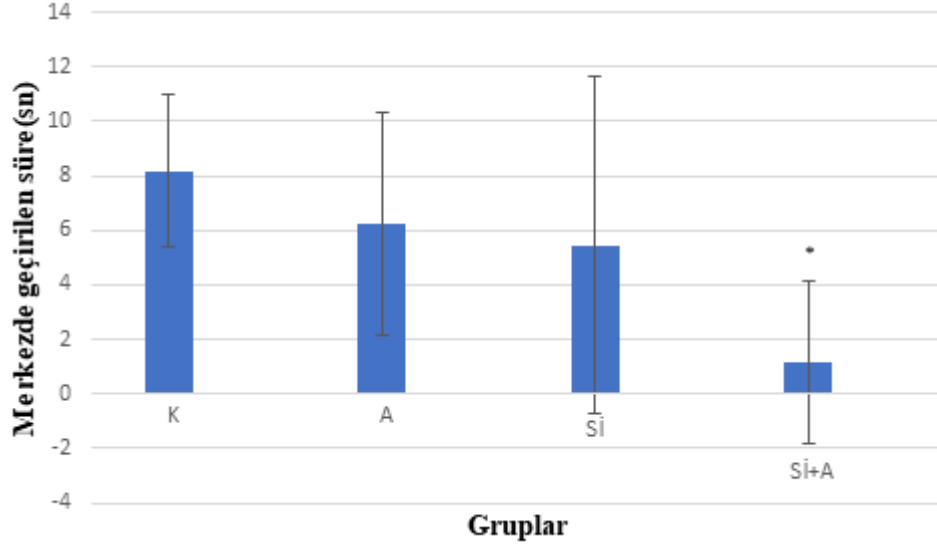
Grafik 4.1. Açık alan testi (Sİ sonrası) immobilité süresi parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması (AO±SH). *Kontrol grubuna göre (p<0.05). (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+ Apelin).

İmmobilite süresi parametresi bakımından Sİ (275,87±6,69) grubu, kontrol grubuna göre (242,49±6,69) daha yüksekti. Sİ+A (281,04±7,02) grubu, kontrole (242,49±6,69) göre daha yüksekti (p<0.05) (Grafik 4.1.).



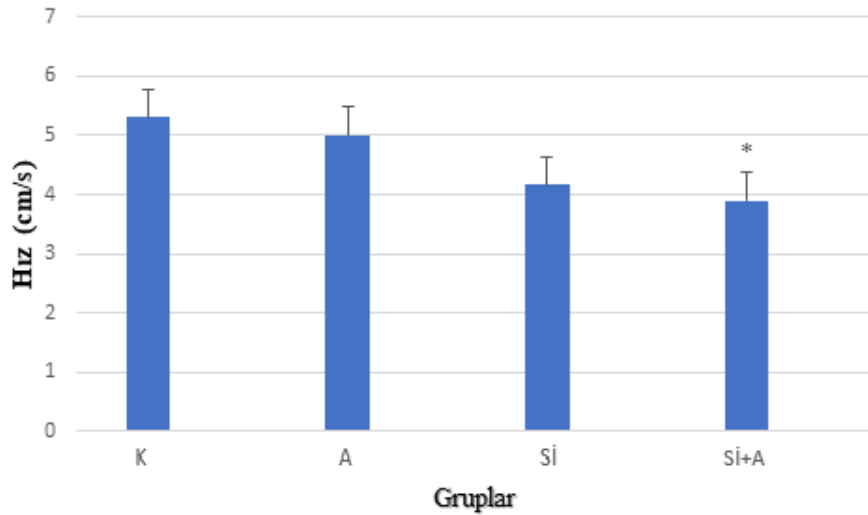
Grafik 4.2. Açık alan testi (Sİ sonrası) mobilite süresi parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması (AO±SH). *Kontrol grubuna göre (p<0.05). (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+ Apelin).

Mobilite süresi parametresi bakımından Sİ (24,14±6,86) grubu, kontrol grubuna göre (57,51±6,86) daha düşüktü. Sİ+A (18,97±7,20) grubu, kontrole (57,51±6,86) göre daha düşüktü ($p<0.05$) (Grafik 4.2.).



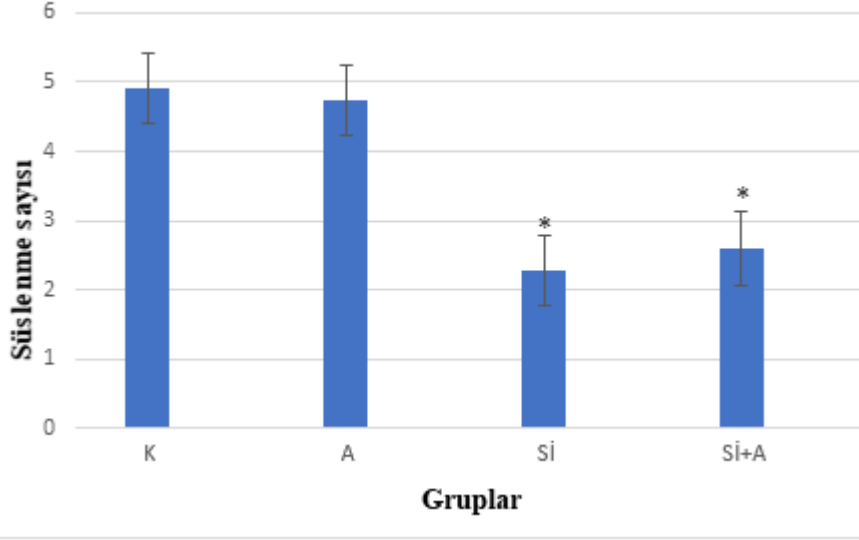
Grafik 4.3. Açık alan testi (Sİ sonrası) merkezde geçirilen süre parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması (AO±SH). *Kontrol grubuna göre ($p<0.05$). (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+ Apelin).

Merkezde geçirilen süre incelendiğinde kontrol (8,19±2,80) grubuna göre Sİ (5,46±6,18) grupta azalma vardı ancak anlamlı değildi ($p>0.05$) (Grafik 4.3.).



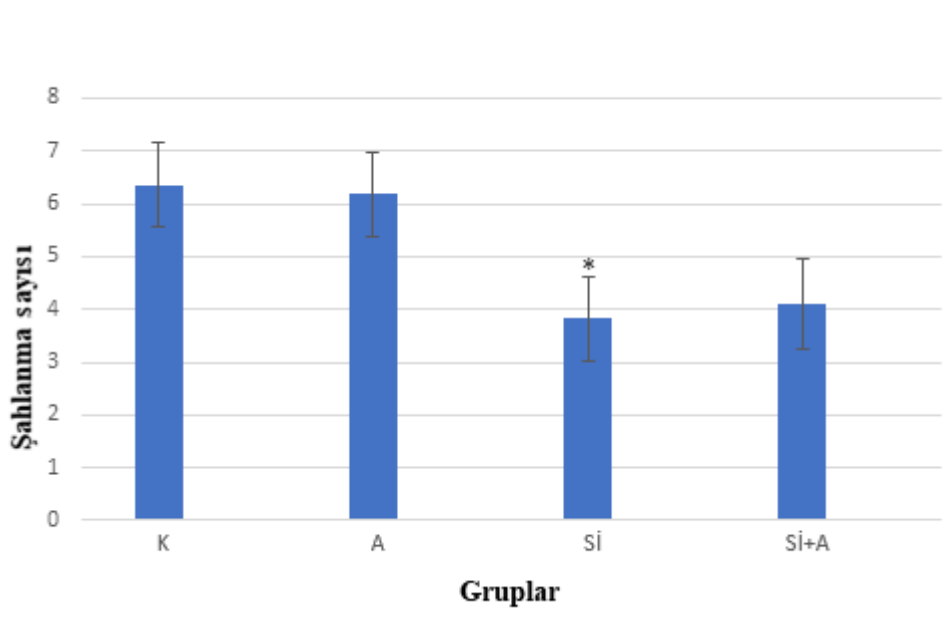
Grafik 4.4. Açık alan testi (Sİ sonrası) hız parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması (AO±SH). *Kontrol grubuna göre ($p<0.05$). (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+ Apelin).

Sİ+A ($3,89 \pm 0,50$) grubunun AAT'deki ortalama hızı kontrol ($5,30 \pm 0,48$) grubuna göre daha düşük bulundu ($p < 0.05$) (Grafik 4.4.).



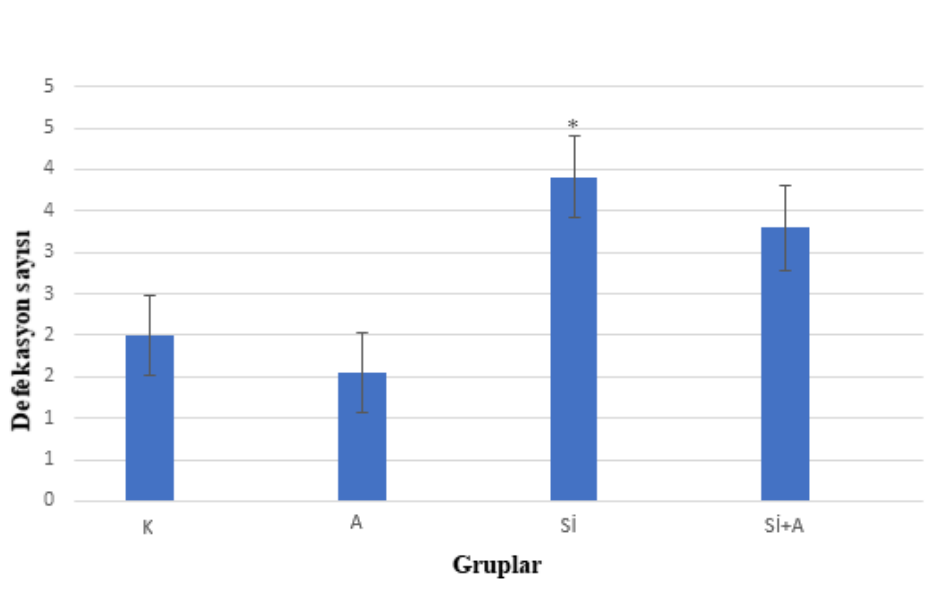
Grafik 4.5. Açık alan testi (Sİ sonrası) süslenme sayısı parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması (AO $\pm$ SH). *Kontrol grubuna göre ($p < 0.05$). (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+ Apelin).

Süslenme sayısı, Sİ ($2,273 \pm 0,501$) grubunda kontrol ($4,909 \pm 0,501$) grubuna göre daha düşüktü. Sİ+A ($2,600 \pm 0,525$) grubun ise kontrol ($4,909 \pm 0,501$) grubuna kıyasla azalış mevcuttu ($p < 0.05$) (Grafik 4.5.).



Grafik 4.6. Açık alan testi (Sİ sonrası) şahlanma sayısı parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması (AO $\pm$ SH). *Kontrol grubuna göre ($p < 0.05$). (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+ Apelin).

İzole grubunun AAT'deki şahlanma sayısı ($3,818 \pm 0,809$) kontrol ($6,364 \pm 0,809$) grubuna göre düşük bulundu ($p < 0.05$) (Grafik 4.6.).



Grafik 4.7. Açık alan testi (Sİ sonrası) defekasyon sayısı parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması ($AO \pm SH$). *Kontrol grubuna göre ($p < 0.05$). (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+ Apelin).

Sİ grubunun ($3,90 \pm 0,48$) AAT'deki defekasyon sayısı kontrol ($2,00 \pm 0,48$) grubuna göre daha yüksekti ($p < 0.05$) (Grafik 4.7.).

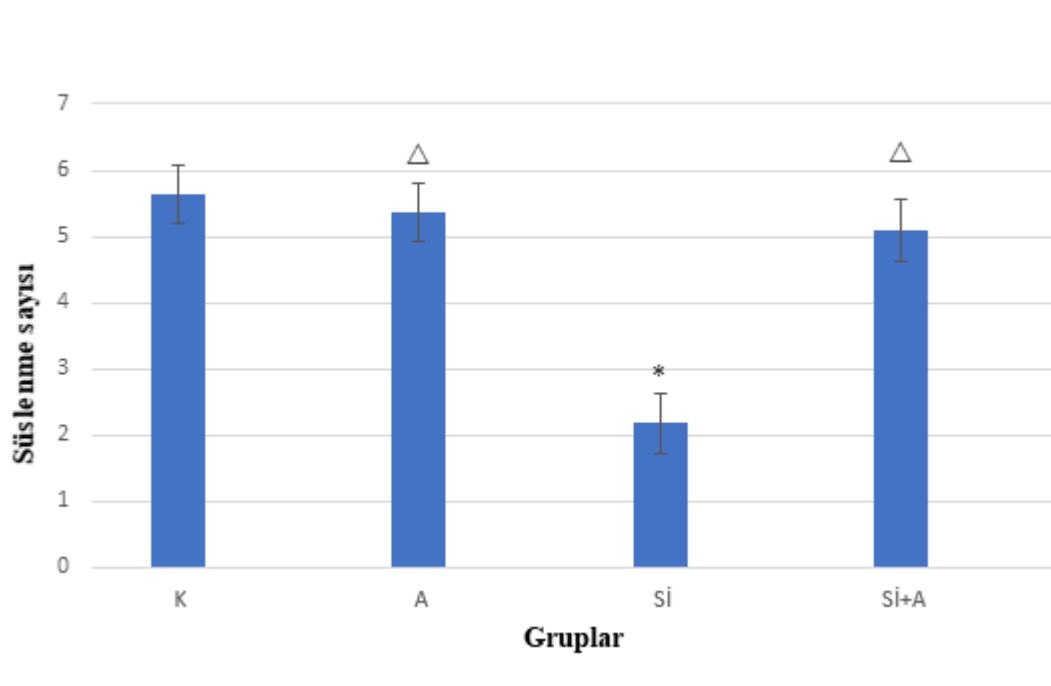
4.1.1.2. Apelin ve Serum Fizyolojik Uygulama Sonrası

AAT'de, apelin ve SF uygulaması sonrası tüm gruplarda hız, katedilen mesafe, mobilite süresi ve immobilité süresi değişimleri, şahlanma sayısı ve süslenme davranışının frekans değişim parametreleri ile defekasyon sayısı değişimleri istatistiksel açıdan incelenmiştir. Çalışma gruplarının düzeyleri aritmetik ortalama $\pm$ standart hata (SH) şeklinde ifade edilmiştir (Tablo 4.2.).

Tablo 4.2. AAT- Apelin ve SF uygulama sonrası değerler.

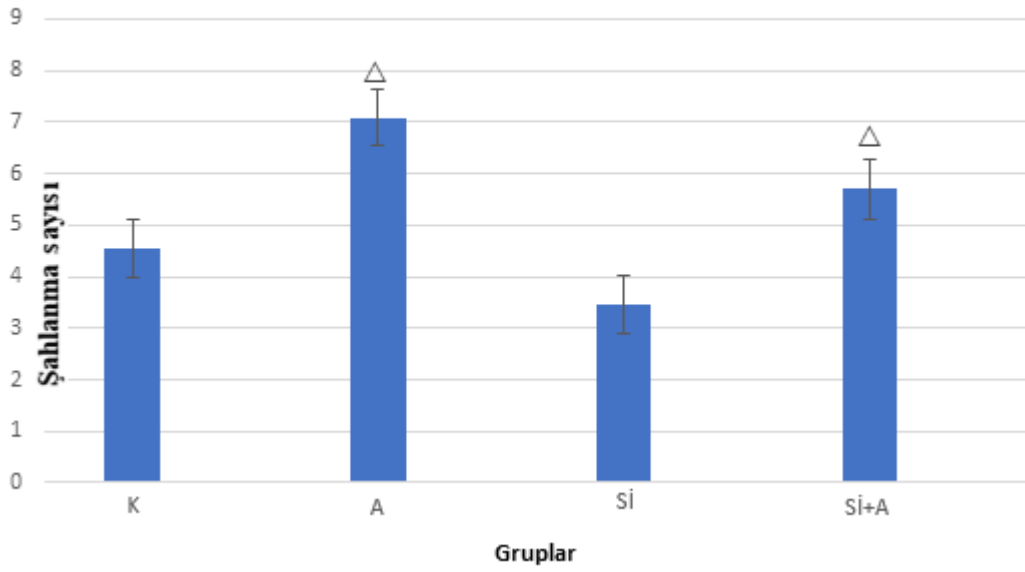
Gruplar	Kontrol	Apelin	Sİ	Sİ+A
İmmobilite süresi	290,87±1,53	291,75±1,53	293,87±1,53	292,53±1,60
Mobilite süresi	9,10±1,53	8,31±1,53	6,13±1,53	7,46±1,60
Katedilen mesafe	423,43±49,8	402,63±49,87	364,55±49,87	382,79±52,31
Merkezde geçirilen süre	6,68±1,11	4,98±1,11	2,56±1,11	3,27±1,17
Hız	2,11±0,27	1,69±0,27	1,91±0,27	1,71±0,28
Süslenme sayısı	5,63±0,45	5,36±0,45	2,18±0,45	5,10±0,47
Şahlanma sayısı	4,54±0,55	7,09±0,55	3,45±0,55	5,70±0,57
Defekasyon sayısı	2,27±0,44	1,63±0,44	4,09±0,44	1,00±0,46

Apelin ve SF uygulama sonrası yapılan testlerde gruplarda merkezde geçirilen süre, mobilite süresi, immobilite süresi, katedilen mesafe ve hız parametrelerinde kontrol ve Sİ grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$).



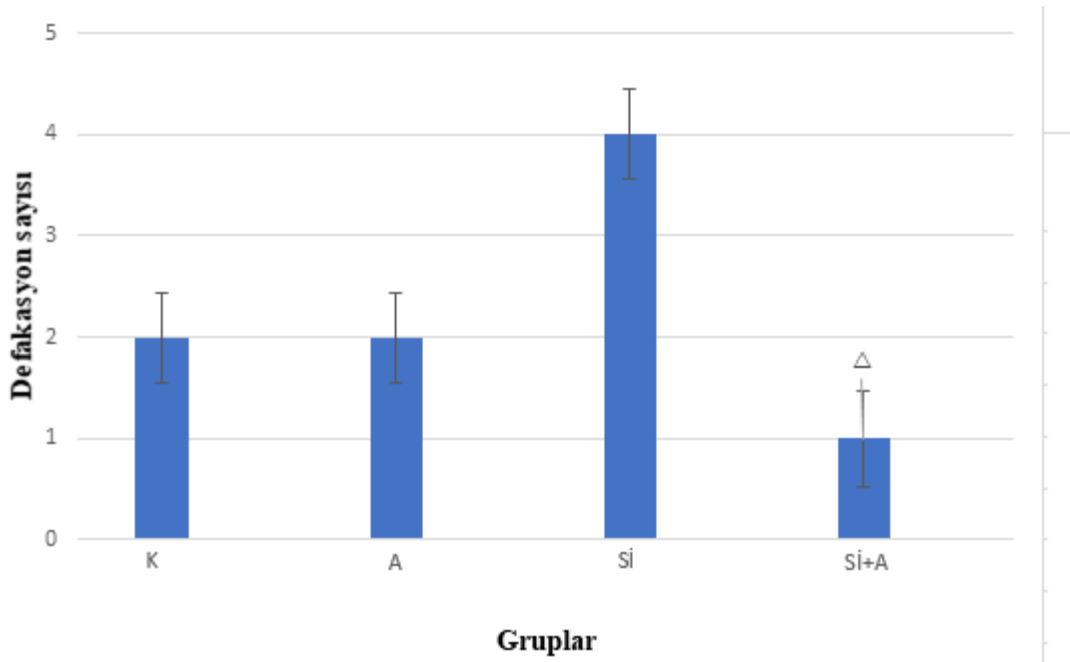
Grafik 4.8. Açık alan testi (apelin ve SF uygulama sonrası) süslenme sayısı parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması (AO±SH). * Kontrol gruba göre ($p<0.05$). Δ Sosyal izolasyon grubuna göre ($p<0.05$). (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+ Apelin).

Süslenme sayısı, şahlanma sayısı ve defekasyon sayısı parametreleri açısından kontrol ve Sİ grupları arasında anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Süslenme sayısı, Sİ+A (5,100±0,474) grubunda Sİ (2,182±0,452) grubuna göre daha yüksekti. Apelin (5,364±0,452) grubunda Sİ (2,182±0,452) grubuna kıyasla artış gözlemlendi ($p<0.05$) (Grafik 9). Sİ (2,182±0,452) grubunda kontrol (5,636±0,452) grubuna kıyasla düştü (Grafik 4.8.).



Grafik 4.9. Açık alan testi (apelin ve SF uygulama sonrası) şahlanma sayısı parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması ($AO \pm SH$). Δ Sosyal izolasyon grubuna göre ($p < 0.05$). (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+ Apelin).

Apelin ($7,091 \pm 0,551$) grubunun şahlanma sayısı Sİ ($3,455 \pm 0,551$) grubuna kıyasla daha yüksekti. Sİ ($3,455 \pm 0,551$) grubunda ise Sİ+A ($5,700 \pm 0,578$) grubuna kıyasla daha düşüktü ($p < 0.05$) (Grafik 4.9.).



Grafik 4.10. Açık alan testi (apelin ve SF uygulama sonrası) defekasyon sayısı parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması ($AO \pm SH$). Δ : Sosyal izolasyon grubuna göre ($p < 0.05$). (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+ Apelin).

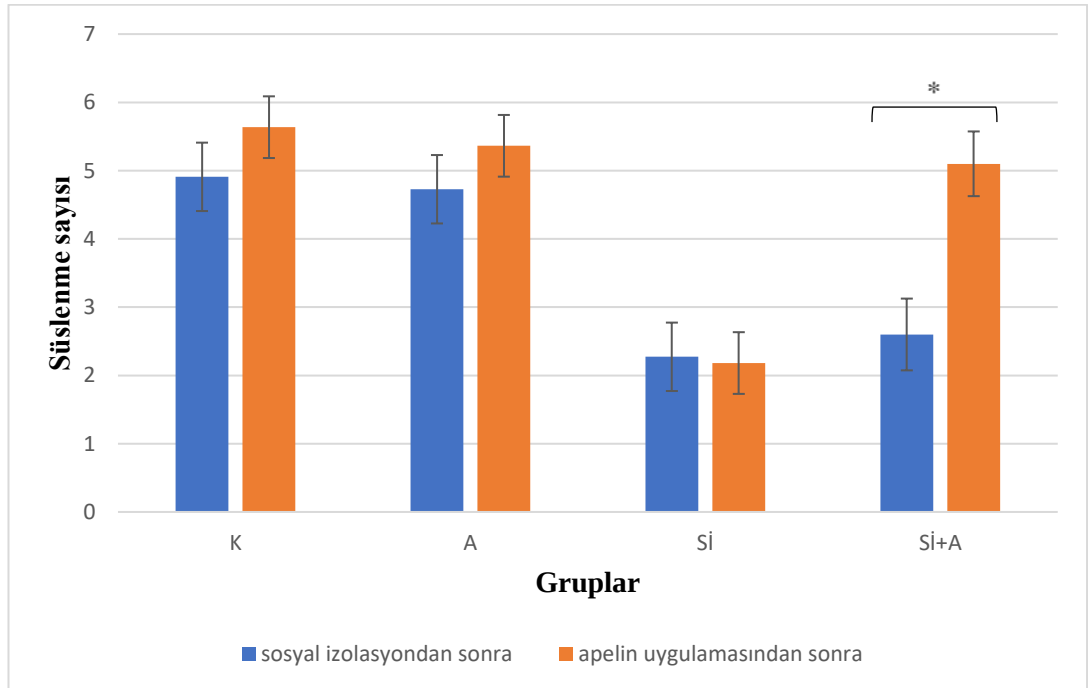
AAT’de Sİ+A (1,00±0,46) grubunun defekasyon sayısı Sİ (4,091±0,447) grubuna göre anlamlı ölçüde düşük bulundu ($p<0.05$) (Grafik 4.10.).

4.1.1.3. Sosyal İzolasyon Uygulama-Apelin ve SF Uygulama Sonrası

Tablo 4.3. Sİ uygulama- apelin ve SF uygulama sonrası aynı grupların süslenme sayısı parametresinin karşılaştırılması.

Gruplar	Kontrol	Apelin	Sİ	Sİ+A
İzolasyon sonrası	4,90±0,50	4,72±0,50	2,27±0,50	2,60±0,52
Apelin uygulama sonrası	5,63±0,45	5,36±0,45	2,18±0,45	5,10±0,47
p	0,266	0,329	0,889	0,001

Süslenme parametresi bakımından, sosyal izolasyon, apelin ve SF uygulama sonrasında aynı gruplar birbiriyle kıyaslandığında, apelin ve SF uygulama sonrası Sİ+A (5,100±0,474) grupta sosyal izolasyon sonrası Sİ+A (2,600±0,525) grubuna göre süslenme sayısı artış gösterdi ($p<0.05$). Diğer grupların kendi arasında kıyaslamalarda anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$) (Tablo 4.3.).



Grafik 4.11. Açık alan testi (Sİ-apelin ve SF uygulama sonrası) süslenme sayısı parametresinin aynı gruplar arasında karşılaştırılması (AO±SH). * $p<0.05$ (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+ Apelin).

Aynı gruplar arasında süslenme sayıları karşılaştırıldığında, Sİ+A grupları arasında, apelin ve SF uygulama sonrası artış gösterdiği bulundu (Grafik 4.11.).

4.1.2.Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

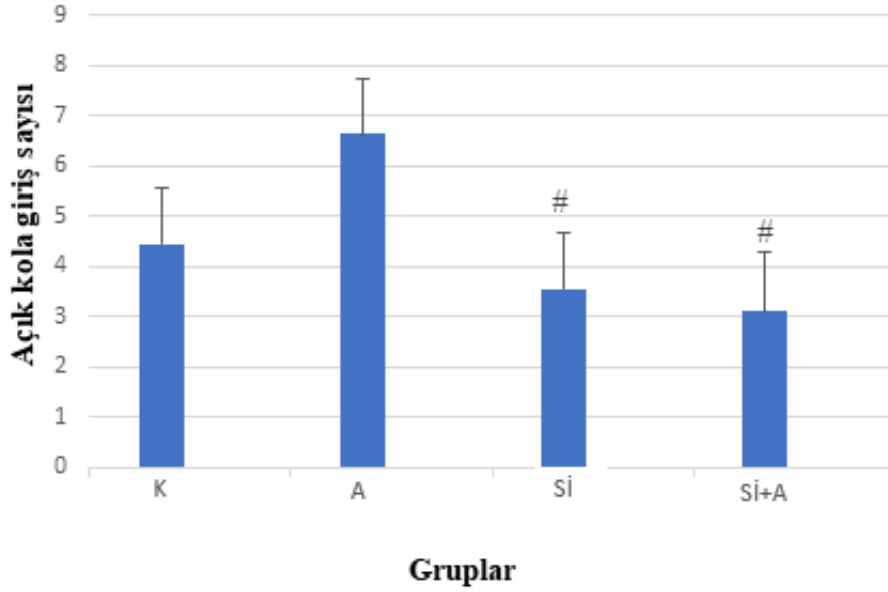
4.1.2.1.Sosyal İzolasyon Uygulama Sonrası

YAT, hayvanların açık ve kapalı kollara giriş sayısını ve kollarda bulunma sürelerini ölçen bir testtir. Sosyal izolasyon ve apelin uygulamasının anksiyete benzeri davranışlar üzerine etkisinin incelenmesi amacıyla, hayvanlara 300 saniye boyunca YAT uygulanmış, açık kola giriş sayısı, açık kolda geçirdiği süre, kapalı kola giriş sayısı, kapalı kolda geçirdiği süre kayıtları da istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Çalışma gruplarının düzeyleri aritmetik ortalama $\pm$ standart hata (SH) şeklinde ifade edilmiştir (Tablo 4.4.).

Tablo 4.4. Sİ uygulama sonrası YAT değerleri.

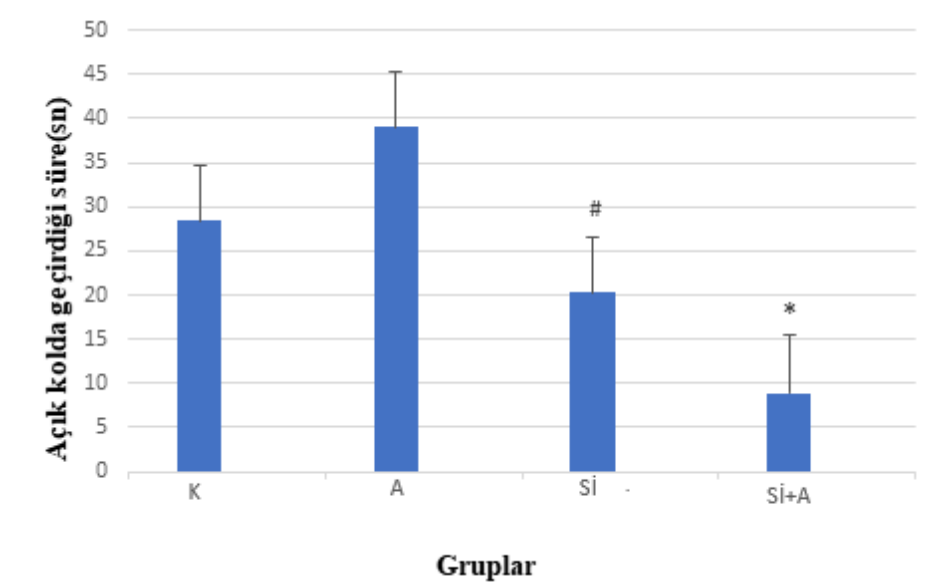
Gruplar	Kontrol	Apelin	Sİ	Sİ+A
Açık kola giriş sayısı	4,45 $\pm$ 1,11	6,63 $\pm$ 1,11	3,54 $\pm$ 1,11	3,10 $\pm$ 1,16
Açık kolda geçirdiği süre	28,40 $\pm$ 6,29	39,02 $\pm$ 6,29	20,30 $\pm$ 6,29	8,85 $\pm$ 6,59
Kapalı kola giriş sayısı	21,63 $\pm$ 3,65	17,72 $\pm$ 3,65	27,45 $\pm$ 3,65	20,40 $\pm$ 3,83
Kapalı kolda geçirdiği süre	244,73 $\pm$ 8,56	229,28 $\pm$ 8,56	256,63 $\pm$ 8,56	261,64 $\pm$ 8,97

Sİ (27,45 $\pm$ 3,65) grubu hayvanlarda kapalı kola giriş sayısı kontrol (21,63 $\pm$ 3,65) grubuna göre artmıştır. Kontrol (28,40 $\pm$ 6,29) grubunun açık kolda geçirdiği süre Sİ+A (8,85 $\pm$ 6,59) grubuna göre yüksektir. Sİ (27,45 $\pm$ 3,65) grubunun kapalı kola giriş sayısı kontrol (21,63 $\pm$ 3,65) grubuna göre artış göstermiştir. Kapalı kolda geçirilen süreler bakımından Sİ+A (261,64 $\pm$ 8,97) grubu kontrol (244,73 $\pm$ 8,56) grubuna göre yüksekti (Tablo 4.4.).



Grafik 4.12. Yükseltilmiş artı labirent testinde (Sİ sonrası) açık kola giriş sayısı parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması (AO±SH). # Apelin gruba göre ($p<0.05$). (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+ Apelin).

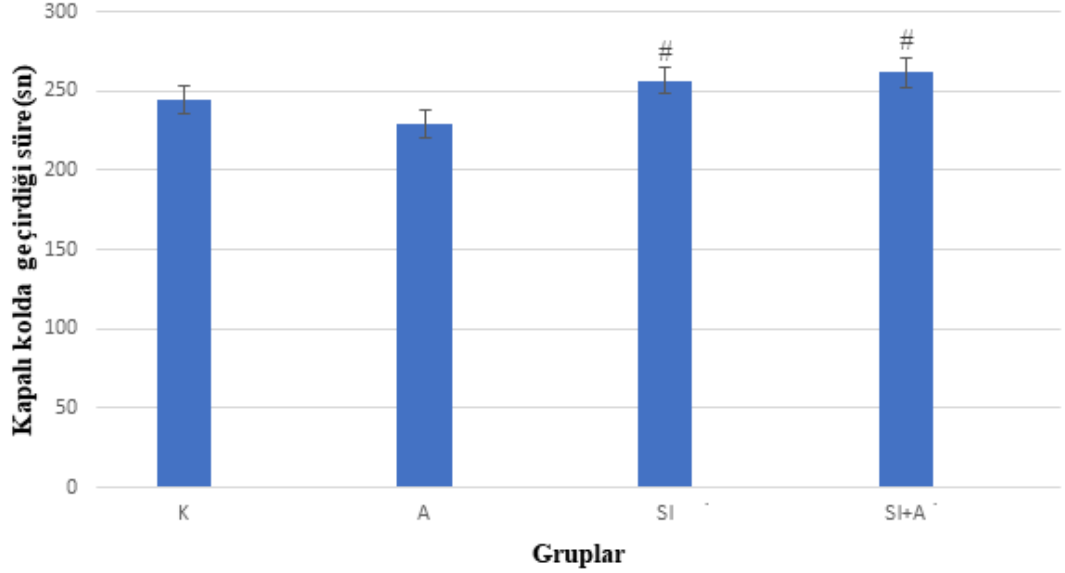
Açık kola giriş sayısı apelin ($6,63\pm1,11$) grubunda kontrol ($4,45\pm1,11$) grubuna kıyasla anlamlı derecede artış gösterdi $p<0.05$. Apelin ($6,63\pm1,11$) grubuna göre Sİ ($3,54\pm1,11$) grubunda yüksekti (Grafik 4.12.).



Grafik 4.13. Yükseltilmiş artı labirent testinde (Sİ sonrası) açık kolda geçirdiği süre parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması (AO±SH). * Kontrol gruba göre ($p<0.05$). # Apelin gruba göre ($p<0.05$) (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+ Apelin)

Açık kolda geçirilen süreleri kontrol grubunda $28,407\pm6,29$, apelin grubunda $39,02\pm6,29$, Sİ grubunda $20,30\pm6,29$ ve Sİ+A grubunda $8,85\pm6,59$ olarak ölçülmüştür

(Tablo 4.4.). Sİ+A grubunun, kontrol grubuna kıyasla açık kolda geçirdiği süre azaldı $p<0.05$ (Grafik 4.13.).



Grafik 4.14. Yükseltilmiş artı labirent testinde (Sİ sonrası) kapalı kolda geçirdiği süre parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması (AO±SH). # Apelin gruba göre ($p<0.05$). (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+ Apelin).

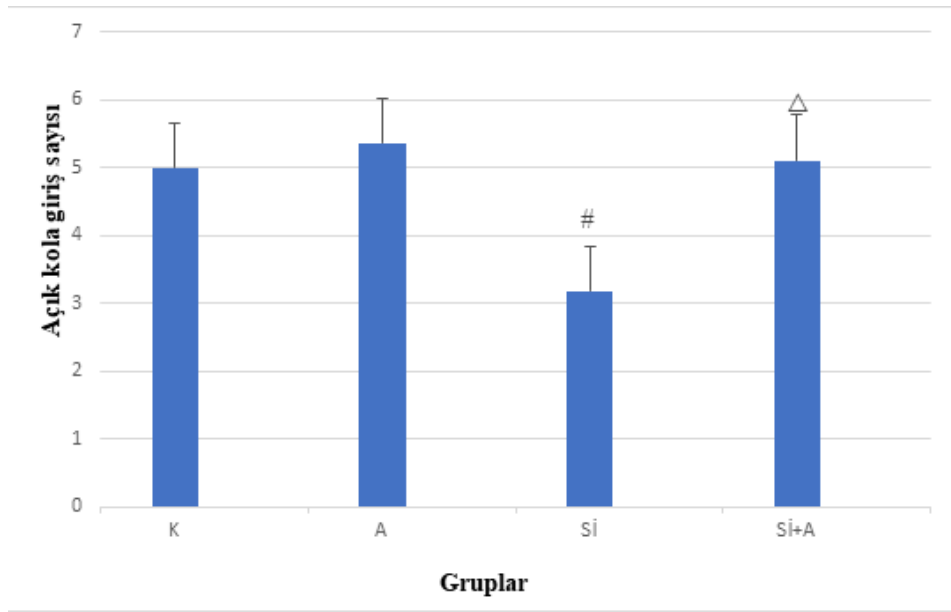
Kapalı kolda kalma süreleri kontrol grubunda $244,738\pm 8,56$, apelin grubunda $229,28\pm 8,56$, Sİ grubunda $256,63\pm 8,56$ ve Sİ+A grubunda $261,64\pm 8,97$ olarak ölçülmüştür. Sİ grubun kapalı kolda kalma süresi kontrol grubuna kıyasla arttı $p<0.05$ (Grafik 4.14.).

4.1.2.2. Apelin ve SF uygulama sonrası

Apelin ve SF uygulama sonrasında YAT'ye tabi tutulan hayvanların açık kola giriş sayısı, açık kolda geçirdiği süre, kapalı kola giriş sayısı, kapalı kolda geçirdiği süre kayıtları istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Çalışma gruplarının düzeyleri aritmetik ortalama± standart hata (SH) şeklinde ifade edilmiştir (Tablo 4.5.).

Tablo 4.5. Apelin ve SF uygulama sonrası YAT değerleri.

Gruplar	Kontrol	Apelin	Sİ	Sİ+A
Açık kola giriş sayısı	5,00±0,65	5,36±0,65	3,18±0,65	5,10±0,68
Açık kolda geçirdiği süre	28,30±4,13	28,43±4,13	17,27±4,13	22,77±4,33
Kapalı kola giriş sayısı	10,18±2,02	5,09±2,02	4,60±2,02	5,00±2,12
Kapalı kolda geçirdiği süre	253,26±6,43	260,64±6,43	271,39±6,43	265,01±6,74



Grafik 4.15. Yükseltilmiş artı labirent testinde (apelin ve SF uygulama sonrası) açık kola giriş sayı parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması (AO±SH). Δ: Sosyal izolasyon grubuna göre (p<0.05). # Apelin gruba göre (p<0.05). (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+Apelin).

Açık kola giriş sayıları göz önüne alındığında, kontrol (5,00±0,65) grubu Sİ (3,18±0,65) grubuna kıyasla yüksekti (p<0.05). Sİ (3,18±0,65) grupta ise apelin (5,36±0,65) grubuna kıyasla düşüktü (p<0.05). Sİ grubu (3,18±0,65) Sİ+A (5,10±0,68) grubuyla kıyaslandığında daha düşüktü (p<0.05) (Grafik 4.15.).

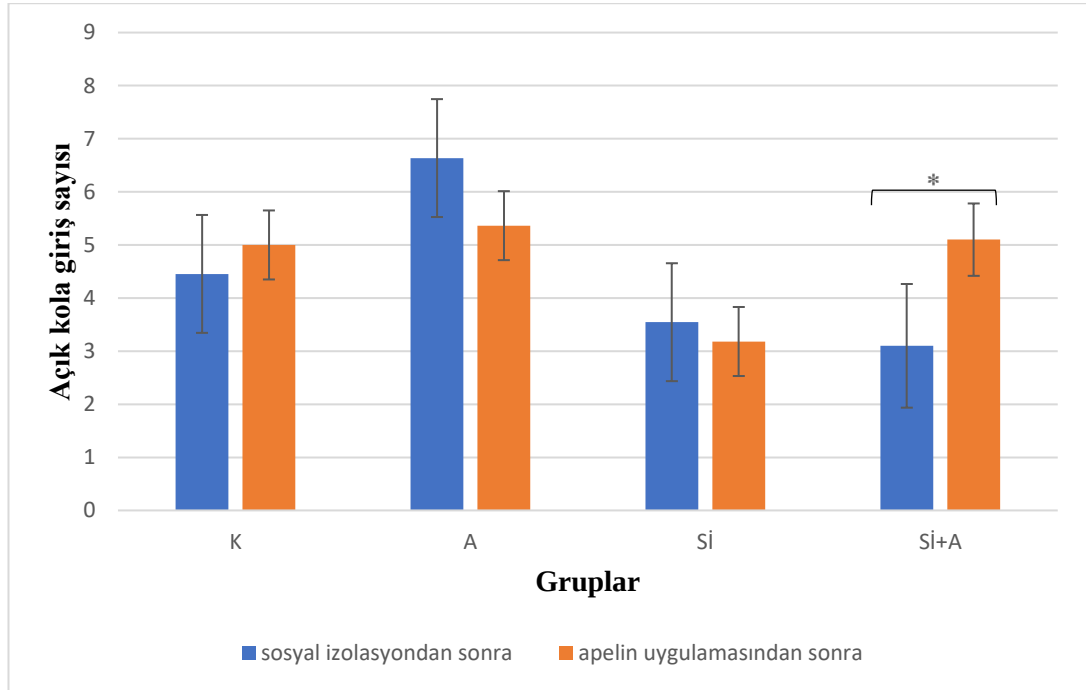
4.1.2.3. Sosyal İzolasyon uygulama-apelin ve SF uygulama sonrası

Sosyal izolasyon, apelin ve SF uygulama sonrasında hayvanlara uygulanan YAT'de hayvanların açık kola giriş sayısı, açık kolda geçirdiği süre, kapalı kola giriş sayısı, kapalı kolda geçirdiği süre kayıtları istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Çalışma gruplarının düzeyleri aritmetik ortalama± standart hata (SH) şeklinde ifade edilmiştir (Tablo 4.6.).

Tablo 4.6. Sİ-apelin ve SF uygulama sonrası açık kola giriş sayıları.

Gruplar	Kontrol	Apelin	Sİ	Sİ+A
Açık kola giriş sayısı	4,45±1,11	6,63±1,11	3,54±1,11	3,10±1,16
Açık kola giriş sayısı	5,00±0,65	5,36±0,65	3,18±0,65	5,10±0,68
p	0,65	0,3	0,76	0,12

Açık kola giriş süreleri bakımından kontrol (4,45±1,11-5,00±0,65), apelin (6,63±1,11- 5,36±0,65) ve Sİ (3,54±1,11-3,18±0,65) grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı (p>0.05).



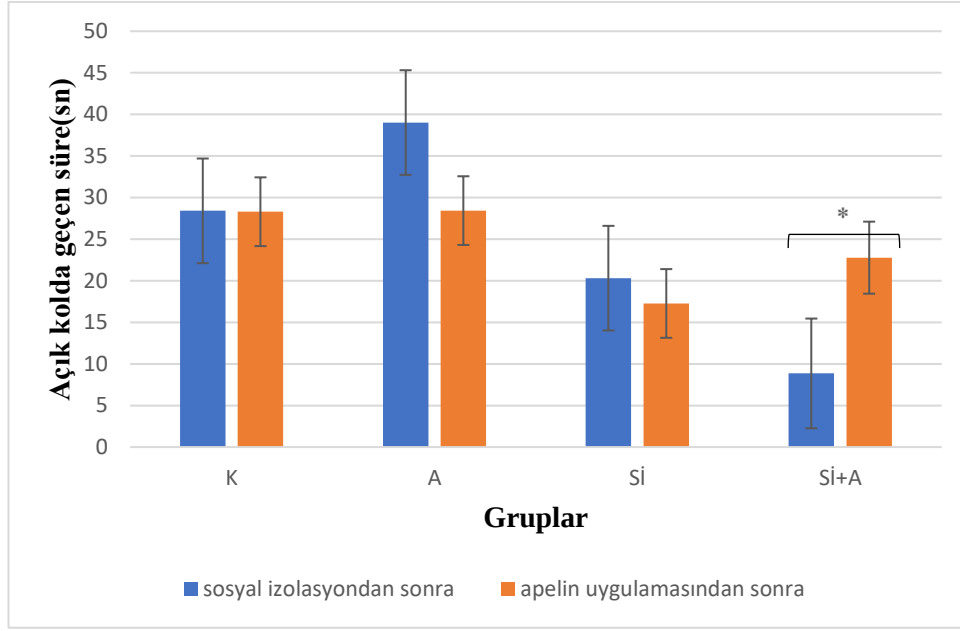
Grafik 4.16. Yükseltilmiş artı labirent testinde (Sİ- apelin ve SF uygulama sonrası) açık kola giriş sayısı parametresinin aynı gruplar arasında karşılaştırılması (AO±SH). * p<0.05 (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+ Apelin).

Sİ+A (3,10±1,16-5,10±0,68) grupları arasında ise apelin uygulaması sonrası açık kola giriş sayısında artış oldu. Sİ+A grubunda, apelin uygulama sonrası açık kola giriş sayısı arttı. (p<0.05) (Grafik 4.16.).

Tablo 4.7. Sİ-apelin ve SF uygulama sonrası açık kolda geçen süreler.

Gruplar	Kontrol	Apelin	Sİ	Sİ+A
Açık kolda geçen süre	28,40±6,29	39,02±6,29	20,30±6,29	8,85±6,59
Açık kolda geçen süre	28,30±4,13	28,43±4,13	17,27±4,13	22,77±4,33
P	0,98	0,11	0,64	0,04

İzolasyon-apelin ve SF uygulama sonrası açık kolda geçen süreler kıyaslandığında, kontrol ($28,407 \pm 6,29 - 28,30 \pm 4,13$) grubu, apelin ($39,02 \pm 6,29 - 28,43 \pm 4,13$) grubu ve Sİ ($20,30 \pm 6,29 - 17,27 \pm 4,13$) grupları arasında anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$). İzolasyon uygulandıktan sonra Sİ+A grubunda açık kolda geçirdiği süre $8,85 \pm 6,59$ iken, apelin uygulama sonrasında aynı grupta $22,77 \pm 4,33$ olarak ölçülmüştür (Tablo 4.7.).



Grafik 4.17. Yükseltilmiş artı labirent testinde (Sİ ve apelin ve SF uygulama sonrası) açık kolda geçen süre parametresinin aynı gruplar arasında karşılaştırılması ($AO \pm SH$). * $p < 0.05$ (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+ Apelin).

İzole apelin gruplarında ise, izolasyon uygulama sonrası ($8,85 \pm 6,59$) değere gör apelin uygulama sonrası ($22,77 \pm 4,33$) değer anlamlı düzeyde artış gösterdi ($p < 0.05$) (Grafik 4.17.).

4.1.3. Aydınlik Karanlık Kutu Testi

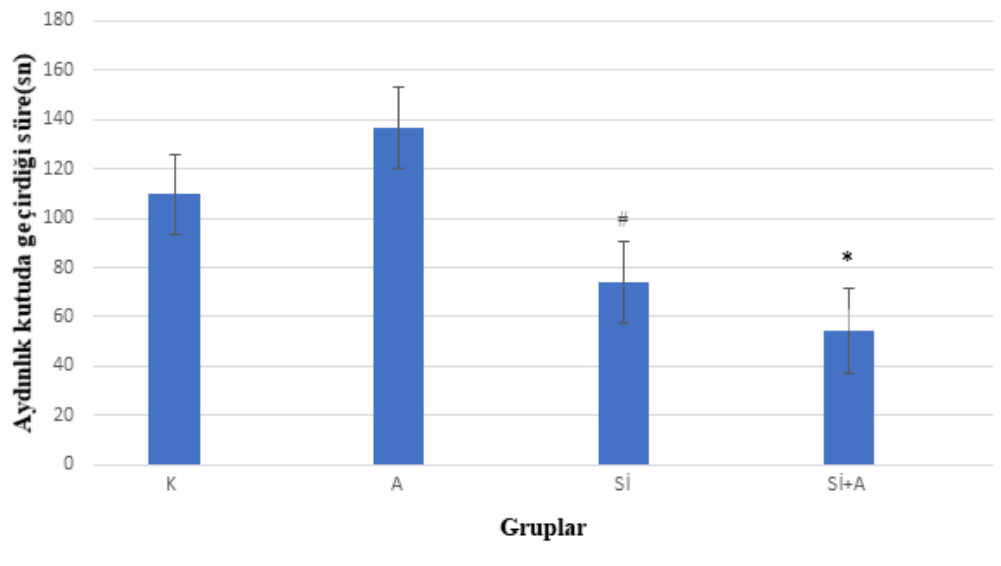
AKT’de, sosyal izolasyon sonrası-apelin ve SF uygulama sonrası olacak şekilde aydınlık kutuda geçirdiği toplam süre, aydınlık kutudan karanlık kutuya geçiş sayısı, karanlık kutuda geçirdiği toplam süre ve karanlık kutudan aydınlık kutuya geçiş sayısı istatistiksel açıdan incelenmiştir. Çalışma gruplarının düzeyleri aritmetik ortalama $\pm$ standart hata (SH) şeklinde ifade edilmiştir.

4.1.3.1. Sosyal İzolasyon Uygulama Sonrası

Tablo 4.8. Sİ sonrası AKT değerleri.

Gruplar	Kontrol	Apelin	Sİ	Sİ+A
Aydınlık kutuda geçirdiği toplam süre	109,61±16,46	136,42±16,46	74,14±16,46	54,59±17,26
Aydınlık kutudan karanlık kutuya geçiş sayısı	6,72±0,75	6,09±0,75	3,72±0,75	2,40±0,79
Karanlık kutuda geçirdiği toplam süre	190,41±16,44	163,64±16,44	225,71±16,44	245,25±17,24
Karanlık kutudan aydınlık kutuya geçiş sayısı	6,09±0,075	5,81±0,75	4,27±0,75	3,30±0,79

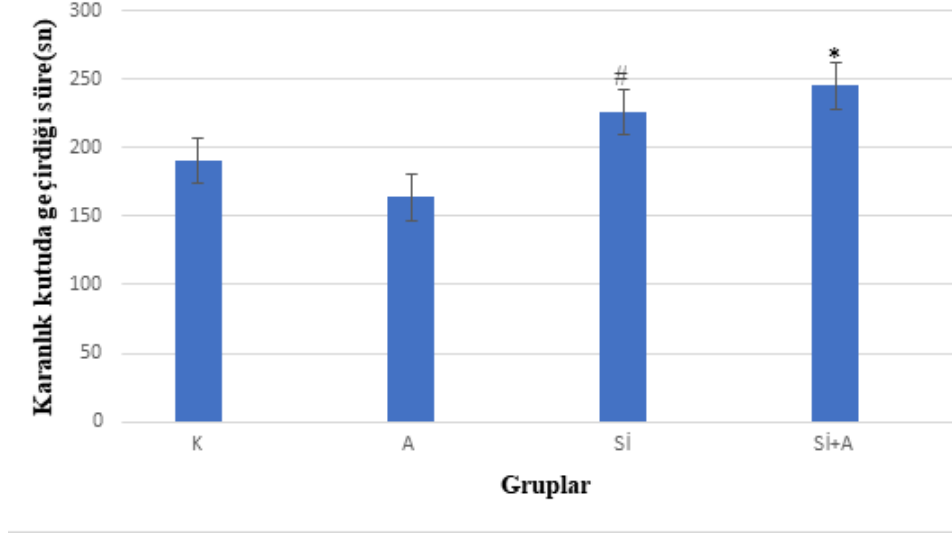
Sosyal izolasyon uygulama sonrasında hayvanlara uygulanan AKT’de grupların aydınlık kutuda geçirdiği toplam süreleri incelendiğinde, kontrol (109,61±16,46) grubuna kıyasla Sİ (54,59±17,26) grubunda düşüş meydana geldi ($p<0.05$) (Tablo 4.8.).



Grafik 4.18. Aydınlık karanlık kutu testinde (Sİ sonrası) aydınlık kutuda geçirdiği süre parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması (AO±SH). *Kontrol grubuna göre ($p<0.05$). # Apelin gruba göre ($p<0.05$). (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+ Apelin).

Aydınlık kutuda geçirdiği süre apelin (136,42±16,46) grubuna kıyasla Sİ (74,14±16,46) grubunda düşüktü ($p<0.05$). Apelin (136,42±16,46) grubunun geçirdiği süre Sİ+A (54,59±17,26) grubuna kıyasla yüksekti ($p<0.05$) (Grafik 4.18.).

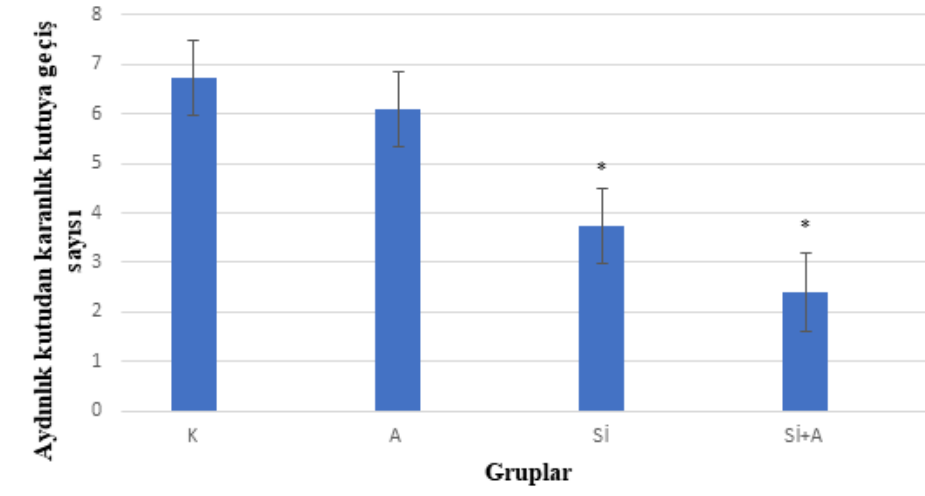
Sİ+A grubunun aydınlık kutuda geçirdiği süre $245,25 \pm 17,24$, kontrol grubunun $190,41 \pm 16,44$, Sİ grubun $74,14 \pm 16,46$ olarak ölçülmüştür.



Grafik 4.19. Aydınlık karanlık kutu testinde (Sİ sonrası) karanlık kutuda geçirdiği süre parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması ($AO \pm SH$). *Kontrol grubuna göre ($p < 0.05$). # Apelin gruba göre ($p < 0.05$). (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+ Apelin).

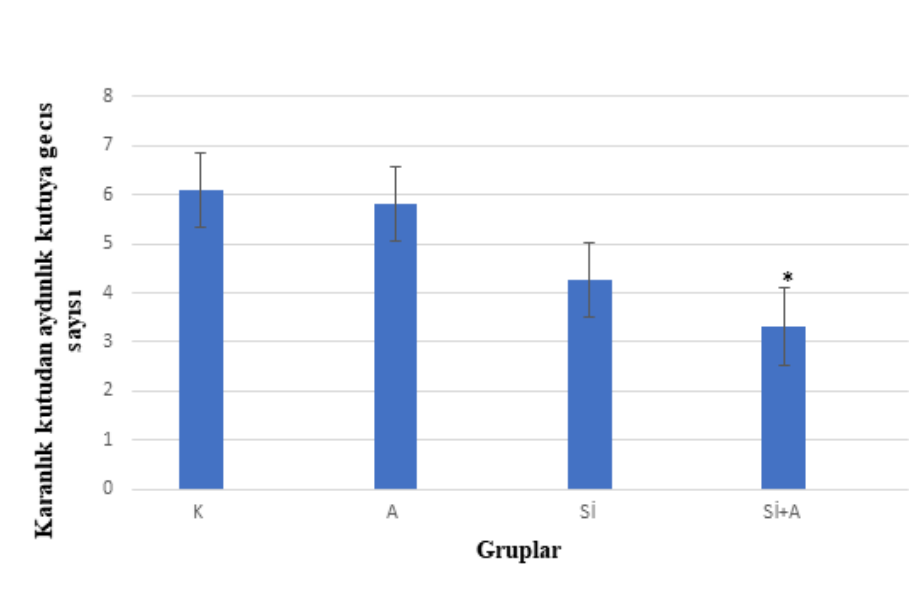
Grupların karanlık kutuda geçirdiği toplam süre değerleri kontrol ($190,41 \pm 16,44$) grubunda Sİ+A ($245,25 \pm 17,24$) grubuna kıyasla düşüktü. Sİ ($225,71 \pm 16,44$) grubunun geçirdiği süre apelin ($163,64 \pm 16,44$) grubu ile kıyaslandığında yüksekti. Apelin ($163,64 \pm 16,44$) grubunun geçirdiği süre Sİ+A ($245,25 \pm 17,24$) grubuna kıyasla düşük değerdeydi (Grafik 4.19.).

Sİ+A grubunun karanlık kutuda geçirdiği süre $245,25 \pm 17,24$, kontrol grubunun $190,41 \pm 16,44$ Sİ grubunun $225,71 \pm 16,44$ olarak ölçülmüştür.



Grafik 4.20. Aydınlık karanlık kutu testinde (Sİ sonrası) aydınlık kutudan karanlık kutuya geçiş sayısı parametresinin gruplar arasında karşılaştırılması (AO±SH). *Kontrol grubuna göre (p<0.05). (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+ Apelin).

Grupların aydınlık kutudan karanlık kutuya geçiş sayıları incelendiğinde, kontrol (6,72±0,75) grubuna kıyasla Sİ (3,72±0,75) grupta değerler düşüktü. Sİ+A (2,40±0,79) grubunun geçiş sayısında kontrol (6,72±0,75) grubuna göre azalma vardı. Apelin (6,09±0,75) grubunun geçiş sayısı Sİ (3,72±0,75) gruba göre yüksekti. Apelin (6,09±0,75) grubunun Sİ+A (2,40±0,79) grubuna göre yüksek değerdeydi (Grafik 4.20.).



Grafik 4.21. Aydınlık karanlık kutu testinde (Sİ sonrası) karanlık kutudan aydınlık kutuya geçiş sayısı bakımından karşılaştırılması (AO±SH). *Kontrol grubuna göre (p<0.05). (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+ Apelin).

Karanlık kutudan aydınlık kutuya geçiş parametresinde, Sİ+A grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde düşüş görüldü ($p<0.05$). Kutular arası geçiş sayıları kontrol grubunda $6,09\pm0,075$ ve apelin grubunda $5,81\pm0,75$ iken Sİ grubunda $4,27\pm0,75$ ve Sİ+A grubunda $3,30\pm0,79$ olarak ölçülmüştür. Sİ gruplarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir düşüş gözlenmektedir ($p<0.05$). (Grafik 4.21.).

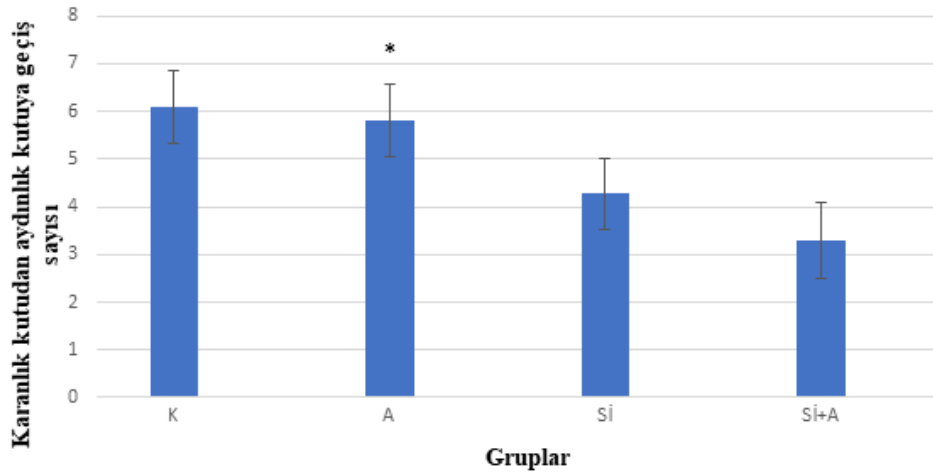
4.1.3.2. Apelin ve SF uygulama sonrası

AKT’de apelin ve SF uygulama sonrasında aydınlık kutuda geçirdiği toplam süre, aydınlık kutudan karanlık kutuya geçiş sayısı, karanlık kutuda geçirdiği toplam süre ve karanlık kutudan aydınlık kutuya geçiş sayısı istatistiksel açıdan incelenmiştir. Çalışma gruplarının düzeyleri aritmetik ortalama $\pm$ standart hata (SH) şeklinde ifade edilmiştir (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Apelin ve SF uygulama sonrası AKT değerleri.

Gruplar	Kontrol	Apelin	Sİ	Sİ+A
Aydınlık kutuda geçirdiği toplam süre	39,31 $\pm$ 20,16	70,49 $\pm$ 20,16	28,41 $\pm$ 20,16	43,61 $\pm$ 21,14
Aydınlık kutudan karanlık kutuya geçiş sayısı	3,00 $\pm$ 0,47	2,09 $\pm$ 0,47	2,27 $\pm$ 0,47	2,20 $\pm$ 0,49
Karanlık kutuda geçirdiği toplam süre	260,53 $\pm$ 20,14	229,56 $\pm$ 20,17	271,64 $\pm$ 20,17	256,50 $\pm$ 21,15
Karanlık kutudan aydınlık kutuya geçiş sayısı	2,45 $\pm$ 0,58	0,72 $\pm$ 0,58	2,00 $\pm$ 0,58	2,10 $\pm$ 0,61

Apelin uygulama sonrası hayvanların aydınlık kutuda geçirdiği süre, aydınlık kutudan karanlık kutuya geçiş sayısı ve karanlık kutuda geçirdiği toplam süre bakımından anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).



Grafik 4.22. Aydınlık karanlık kutu testinde (apelin ve SF uygulama sonrası) grupların karanlık kutudan aydınlık kutuya geçiş sayısı parametresi bakımından karşılaştırılması (AO±SH). *Kontrol grubuna göre ($p<0.05$). (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+ Apelin).

Karanlık kutudan aydınlık kutuya geçiş sayısı parametresinde, apelin ($0,72\pm0,58$) grubunda kontrol ($2,45\pm0,58$) grubuna kıyasla anlamlı şekilde düşüktü ($p<0.05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlılık yoktu ($p>0.05$). Apelin grubu kontrol grubuna kıyasla düşüktü ($p<0.05$) (Grafik 4.22.).

4.1.3.3. Sosyal İzolasyon- Apelin ve SF Uygulama Sonrası

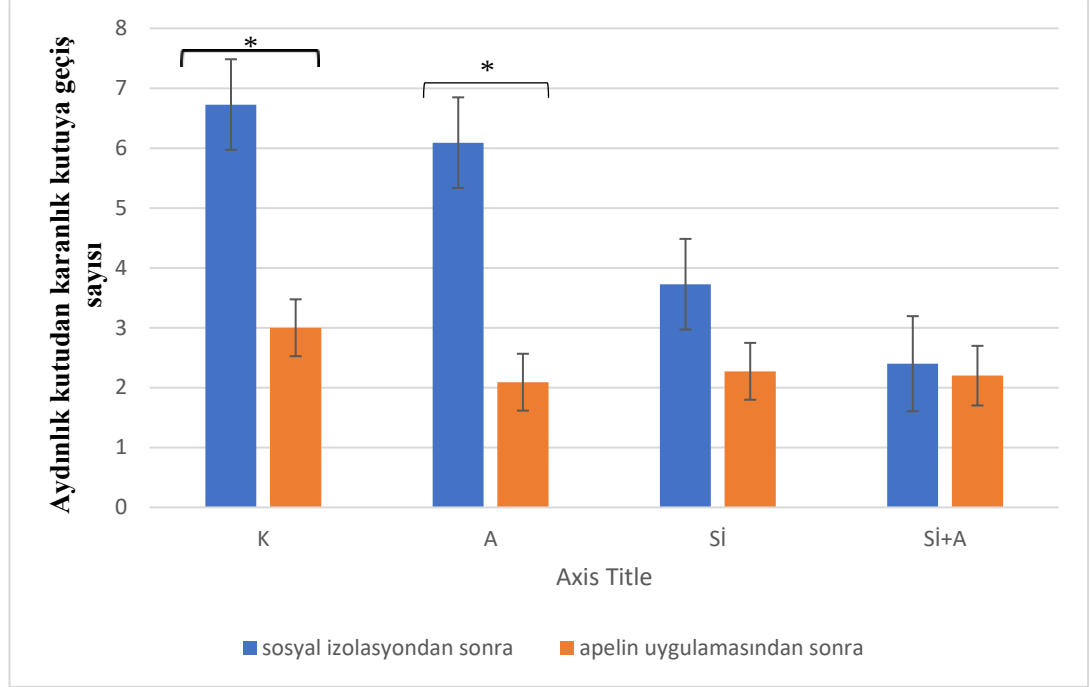
Her iki uygulamadan sonra aynı grupların birbiriyle kıyaslamasında aydınlık kutuda geçirdiği süre, karanlık kutuda geçirdiği süre, karanlık kutudan aydınlık kutuya geçiş sayısı ve aydınlıktan karanlığa ilk giriş süresi bakımından anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

Tablo 4.10. Sİ – apelin ve SF uygulama sonrası aydınlık kutudan karanlık kutuya geçiş sayısı.

Gruplar	Kontrol	Apelin	Sİ	Sİ+A
Aydınlık kutudan karanlık kutuya geçiş sayısı	6,72±0,75	6,09±0,75	3,72±0,75	2,40±0,79
Aydınlık kutudan karanlık kutuya geçiş sayısı	3,00±0,47	2,09±0,47	2,27±0,47	2,20±0,49
p	0,001	0,001	0,063	0,803

Aydınlık kutudan karanlık kutuya geçiş sayısı kontrol ($6,72\pm0,75$ - $3,00\pm0,47$) ve apelin grupları ($6,09\pm0,75$ - $2,09\pm0,47$) arasında, Sİ uygulamasından sonraya kıyasla apelin uygulama sonrası azalma gösterdi (Tablo 4.10). Sİ ($3,72\pm0,75$ -

2,27±0,47) ve Sİ+A (2,40±0,79-2,20±0,49) grupları arasında apelin uygulaması sonrası düşüş vardı ancak anlamlı değildi ($p>0.05$).



Grafik 4.23. Aydınlık karanlık kutu testinde (Sİ-apelin ve SF uygulama sonrası) aynı grupları birbiriyle aydınlık kutudan karanlık kutuya geçiş parametresi bakımından karşılaştırılması (AO±SH). * $p<0.05$ (K: Kontrol A: Apelin Sİ: Sosyal İzolasyon Sİ+A: Sosyal İzolasyon+ Apelin).

Kontrol gruplarında, apelin uygulama sonrası değerler izolasyon sonrası değerlere göre düşüktü (Grafik 4.23.).

Tablo 4.11. Sİ – apelin ve SF uygulama sonrası aydınlık kutuda geçirilen süre.

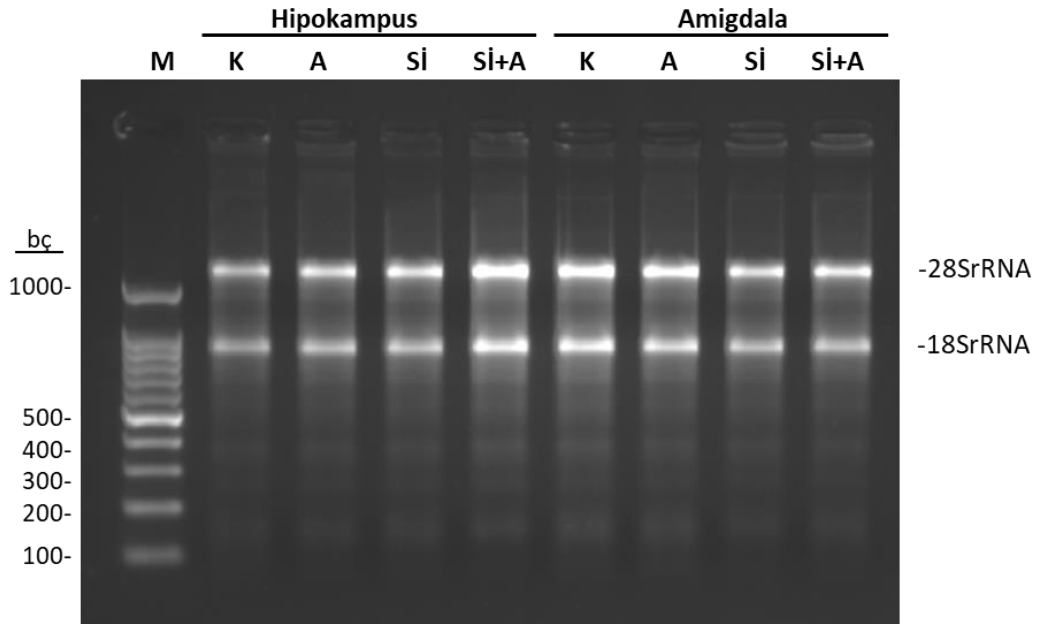
Gruplar	Kontrol	Apelin	Sİ	Sİ+A
Aydınlık kutuda geçirdiği süre	109,60 ±16,46	136,41 ± 16,46	74,1756±16,46	54,59 ± 17,26
Aydınlık kutuda geçirdiği süre	39,31 ± 20,16	70,49 ± 20,16	28,41±20,16	43,61 ± 21,14
p	0,001	0,003	0,031	0,611

Aydınlık kutuda geçirdiği süreler bakımından apelin (136,41 ± 16,46-70,49 ± 20,16) grupları arasında apelin uygulama sonrasında düşüş vardı ancak anlamlı değildi ($p>0.05$) (Tablo 4.11).

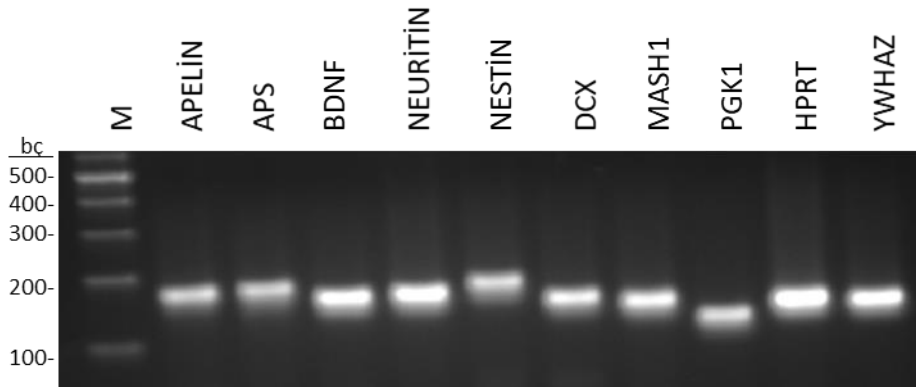
4.2. Gen ekspresyon analiz bulguları

Kontrol (K), apelin (A), sosyal izolasyon (Sİ) ve apelin + sosyal izolasyon (Sİ+A) grupları ratların hipokampus ve amigdala doku örneklerinden total RNA izolasyonu gerçekleştirilmiş ve kalite/kontrolü spektrofotometrik ve agaroz jel elektroforez ile kontrol edilmiştir. Tüm örneklerin qPZR analizlerinde kullanılabilecek kalitede olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.1.).

Şekil 4.1. RNA izolasyonu sonrası kontrol (K), apelin (A), sosyal izolasyon (Sİ) ve apelin + sosyal izolasyon (Sİ+A) grupları sıçanların hipokampus ve amigdala dokularına ait örnek jel elektroforezi. M; 100 bç DNA markörü.

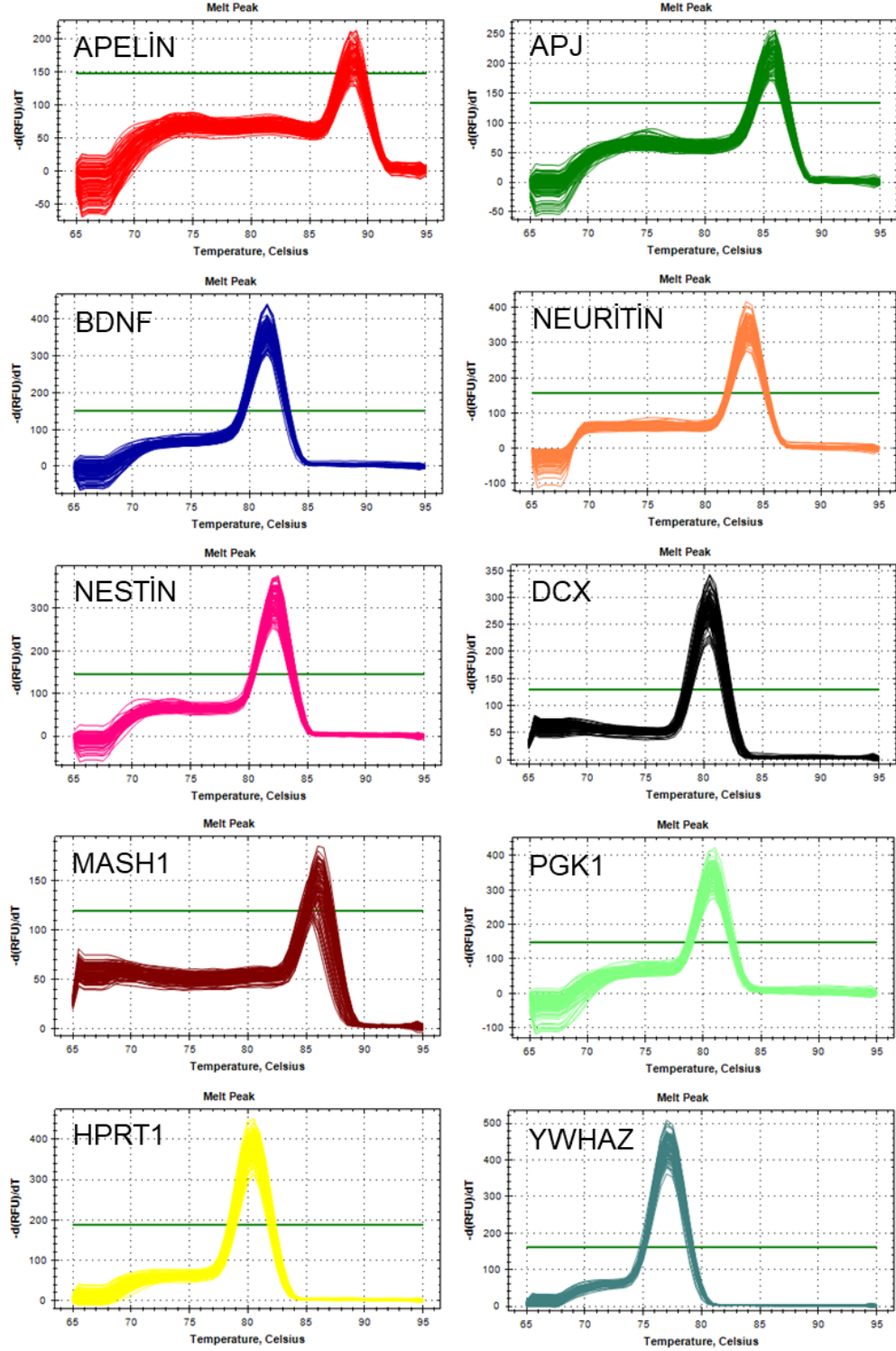


Şekil 4.2. Çalışmada kullanılan aday ve referans ait gerçek zamanlı PZR ürünlerinin jel görüntüsü. M; 100 bç DNA markörü.



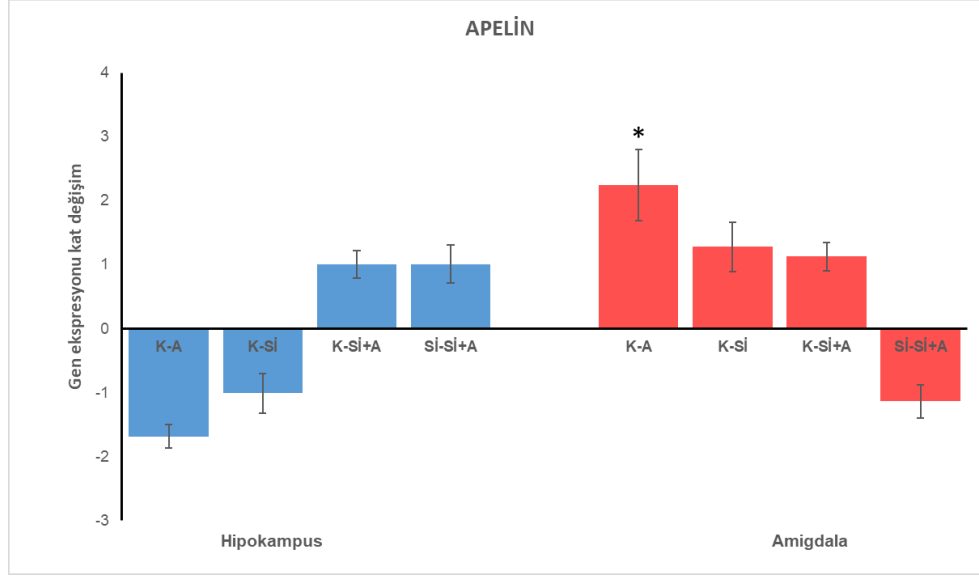
Çalışmada kullanılan aday ve referans genlerin mRNA seviyesinde ekspresyonları qRZR ile tespit edilmiştir ve agaroz jel (%2) elektroforezde tüm genlere ait PZR ürünleri gözlenmiştir (Şekil 4.2).

Şekil 4.3. Çalışmada kullanılan aday ve referans ait gerçek zamanlı melting curve analiz eğrileri.



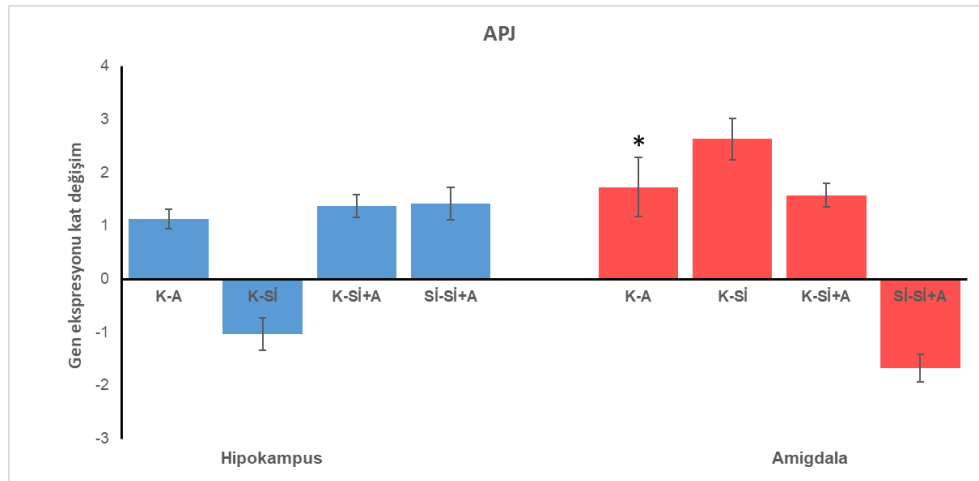
Ayrıca, melting curve analizlerinde tüm PZR ürünlerinin spesifik olduğu ve herhangi bir diğer genom bölgesinin yükseltgenmediği tespit edilmiştir (Şekil 4.3).

Şekil 4.4. Apelin (K-A), sosyal izolasyon (K-Sİ) ve sosyal izolasyon + apelin (K-Sİ+A) gruplarının kontrol grubu ile sosyal izolasyon ve sosyal izolasyon + apelin grupları arasında (K-Sİ+A) Apelin gen ifadesinde gözlenen kat artışı.



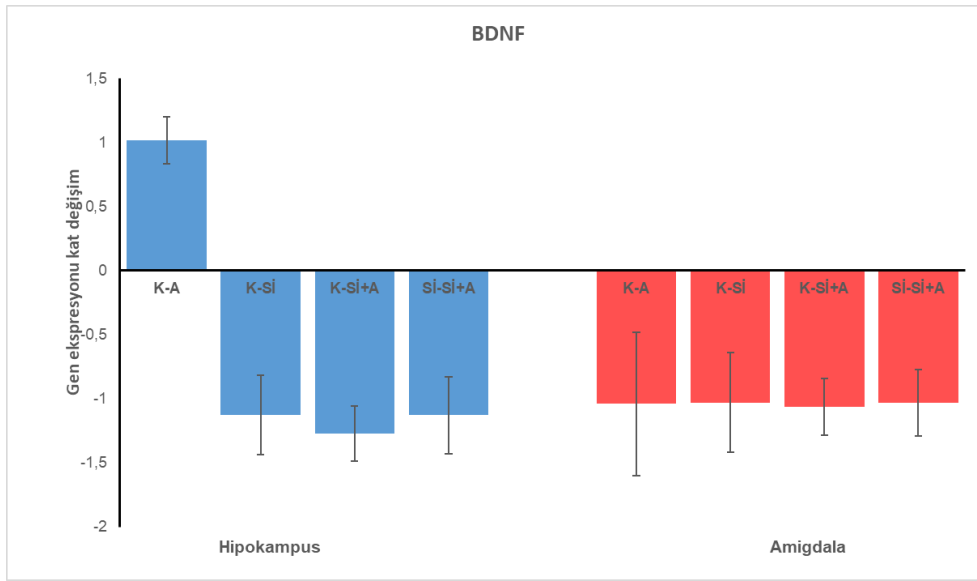
Sİ+A grubunun kontrol ve Sİ grubuna göre apelin gen ekspresyon kat değişimi incelendiğinde, hipokampus dokusunda gen ekspresyon düzeyinin artış gösterdiği bulunmuştur ancak bu artış düzeyi istatistiksel olarak anlamlı değildir. Amigdala dokusunda ise kontrol grubuna göre apelin grubunda 2,24 kat arttığı tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Şekil 4.5. Apelin (K-A), sosyal izolasyon (K-Sİ) ve sosyal izolasyon + apelin (K-Sİ+A) gruplarının kontrol grubu ile sosyal izolasyon ve sosyal izolasyon + apelin grupları arasında (K-Sİ+A) APJ gen ifadesinde gözlenen kat artışı.



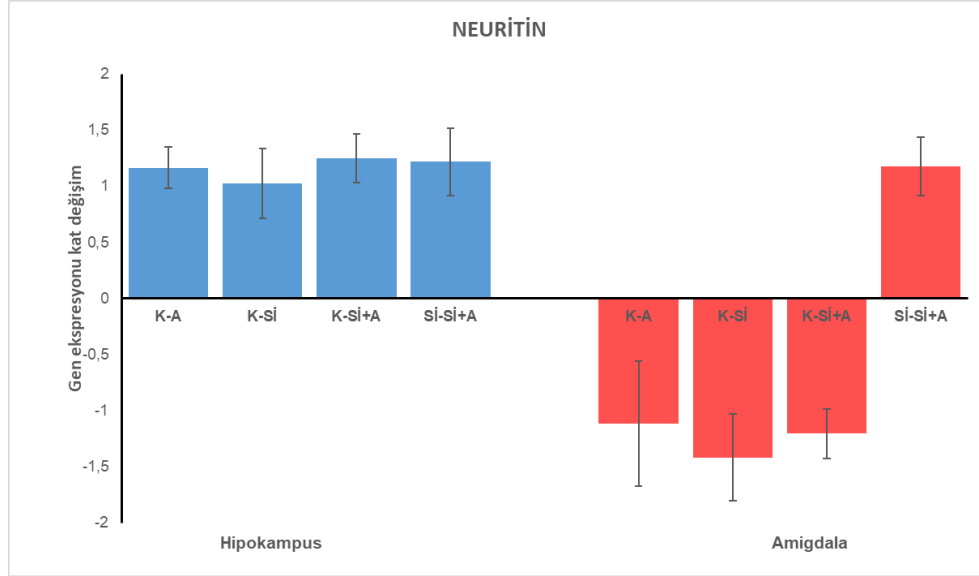
Amigdala dokusundan elde edilen sonuçlara göre, apelin grubunun APJ gen ekspresyon düzeyi kontrol grubuna göre 1,72 kat artış göstermiştir ve bu artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). Hipokampus dokusunda APJ gen ekspresyon düzeyi incelendiğinde apelin grubu kontrol grubuna kıyasla 1,13 kat artış göstermiş, Sİ grubu kontrol grubuna göre 1,03 kat azalmıştır ancak bu değerler istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$).

Şekil 4.6. Apelin (K-A), sosyal izolasyon (K-Sİ) ve sosyal izolasyon + apelin (K-Sİ+A) gruplarının kontrol grubu ile sosyal izolasyon ve sosyal izolasyon + apelin grupları arasında (K-Sİ+A) BDNF gen ifadesinde gözlenen kat artışı.



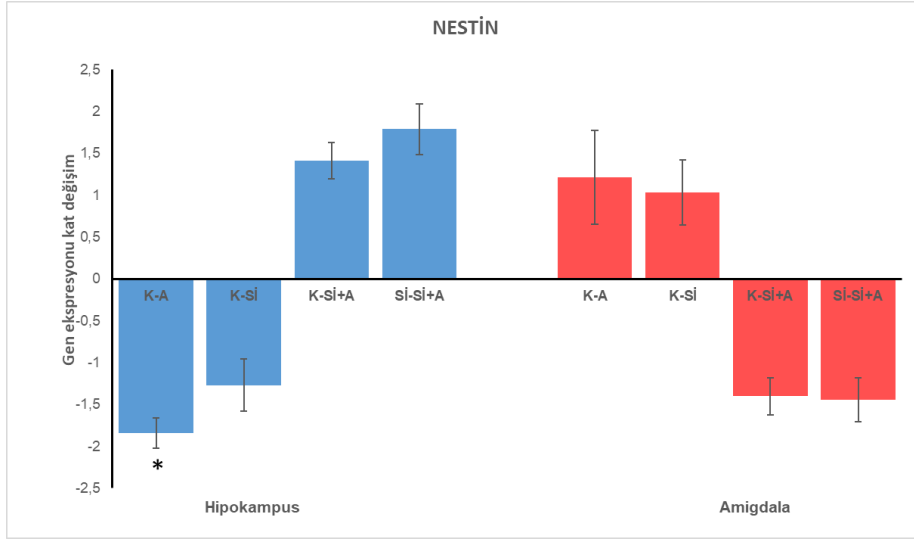
Gruplar arası BDNF düzeyleri ele alındığında hipokampus dokusunda apelin grubunun kontrol grubuna kıyasla BDNF düzeyinde artış tespit edilmiştir. Sİ grubunun kontrolle kıyasında BDNF ekspresyonunun azaldığı görülmekle birlikte istatistiksel açıdan öneme sahip olmayan bir farklılık saptanmıştır ($p>0.05$).

Şekil 4.7. Apelin (K-A), sosyal izolasyon (K-Sİ) ve sosyal izolasyon + apelin (K-Sİ+A) gruplarının kontrol grubu ile sosyal izolasyon ve sosyal izolasyon + apelin grupları arasında (K-Sİ+A) Nöritin gen ifadesinde gözlenen kat artışı.



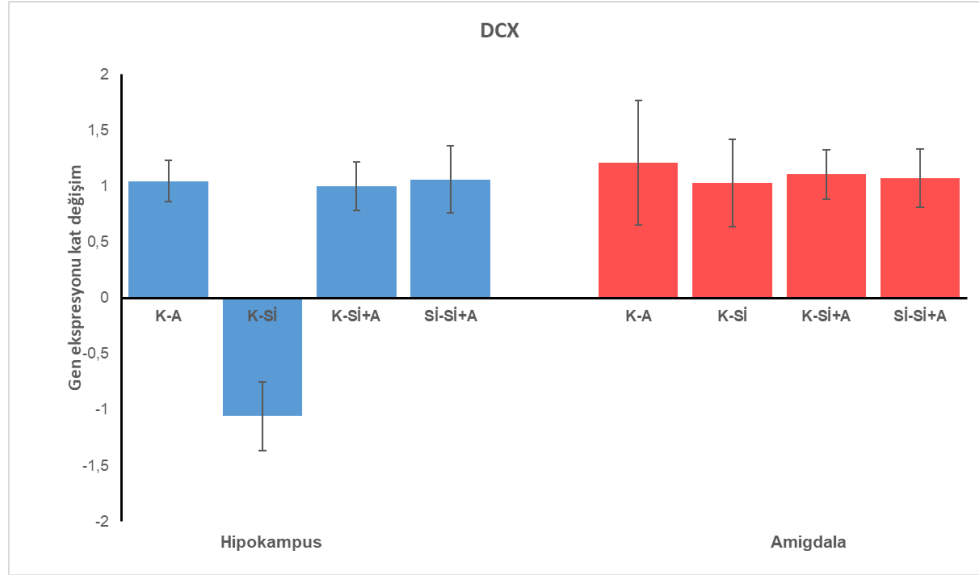
Hipokampus dokusunda nöritin gen ekspresyonu değişim düzeyleri analiz sonucuna göre kontrol grubuna kıyasla apelin grubunun 1,17 kat, Sİ+A grubunun 1,24 kat, Sİ grubunun 1,03 kat anlamlı olmayan bir artış gösterdiği saptanmıştır ($p>0.05$). Amigdala dokusundan elde edilen analiz sonuçlarına göre apelin grubunun nöritin ekspresyon düzeyi kontrol grubuna göre 1,11 kat, Sİ grubunun kontrol grubuna göre 1,41 kat, Sİ+A grubunun kontrol grubuna göre 1,20 kat azalış gösterdiği gözlemlenmiştir. Sİ+A grubunun Sİ grubuyla kıyasında ise artış mevcuttur ancak değişimlerin hiçbirisi anlamlı değildir ($p>0.05$).

Şekil 4.8. Apelin (K-A), sosyal izolasyon (K-Sİ) ve sosyal izolasyon + apelin (K-Sİ+A) gruplarının kontrol grubu ile sosyal izolasyon ve sosyal izolasyon + apelin grupları arasında (K-Sİ+A) Nestin gen ifadesinde gözlenen kat artışı.



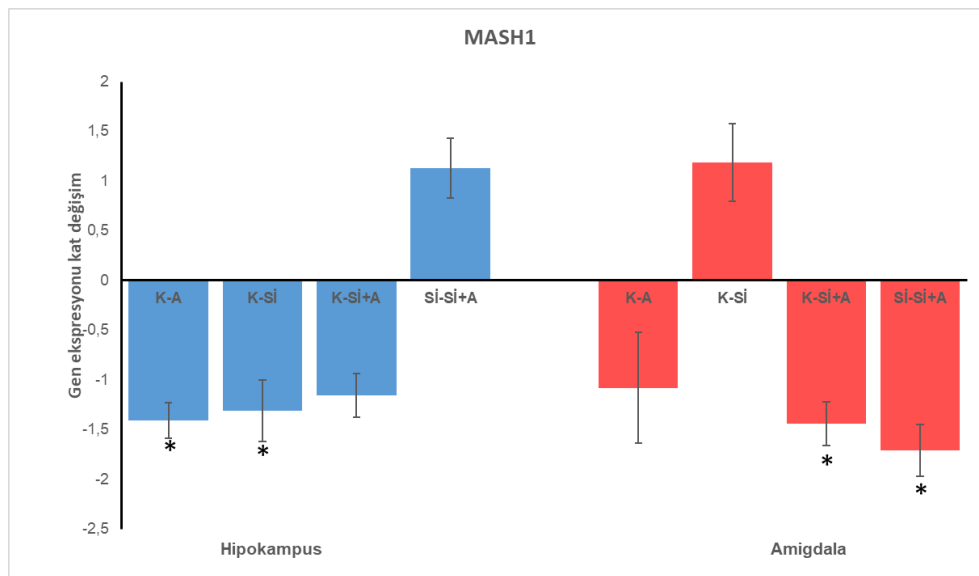
Hipokampus dokusunun analiz sonuçlarına göre kontrol grubu ile kıyaslandığında apelin uygulaması yapılan grupta nestin gen ekspresyon düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma mevcuttur ($p < 0.05$). Sİ grubunun kontrolle kıyasında 1,27 kat azalma görülmüştür ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0.05$). Sİ+A grubunun kontrol ve Sİ grubu ile kıyasında artış tespit edilmiştir ($p > 0.05$). Amigdala dokusundan elde edilen bulgulara göre kontrol grubuna kıyasla apelin ve Sİ grubunun nestin gen ekspresyonunda anlamlı olmayan bir artış mevcuttur.

Şekil 4.9. Apelin (K-A), sosyal izolasyon (K-Sİ) ve sosyal izolasyon + apelin (K-Sİ+A) gruplarının kontrol grubu ile sosyal izolasyon ve sosyal izolasyon + apelin grupları arasında (K-Sİ+A) DCX gen ifadesinde gözlenen kat artışı.



Hipotalamus dokusundan elde edilen bulgulara göre kontrol grubu ile apelin grubu kıyaslandığında DCX ekspresyon düzeyinde artış mevcuttur. Sİ grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu değer azaldığı görülmektedir. Sİ+A grubunda kontrol ve Sİ ile kıyasında ise ekspresyon düzeyi artış göstermiştir ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$). Amigdala dokusunun bulgularına göre tüm gruplarda ekspresyon düzeyinde artış gerçekleşmiştir ($p>0.05$).

Şekil 4.10. Apelin (K-A), sosyal izolasyon (K-Sİ) ve sosyal izolasyon + apelin (K-Sİ+A) gruplarının kontrol grubu ile sosyal izolasyon ve sosyal izolasyon + apelin grupları arasında (K-Sİ+A) MASH1 gen ifadesinde gözlenen kat artışı.



Sİ grubunun MASH1 gen ekspresyon düzeyinin kontrol grubuna göre 1,41 kat azaldığı saptanmıştır. Kontrol grubunda apelin grubuna göre 1,31 kat azalma mevcuttur. Amigdala dokusunun analiz sonuçlarına göre Sİ+A grubu kontrol grubu ile kıyaslandığında 1,44 kat, Sİ grubu ile kıyaslandığında ise 1,70 kat azalma göstermiştir.

5. TARTIŞMA

Stresin psikopatolojik etkisinin altında yatan mekanizmalar büyük ölçüde bilinmezliğini sürdürmektedir. Hayvan modellemelerinde kullanılan çeşitli stres yöntemleri, bu mekanizmanın açığa çıkarılabilmesi yönünden önem taşımaktadır. Bu çalışmada, aynı gruplar üzerine 2 farklı uygulama yapılmıştır. İlk uygulamada sıçanlar sosyal izolasyona maruz bırakılarak anksiyete oluşturulmuştur. İkinci aşamada ise anksiyete üzerine apelinin etkisi araştırılmıştır. Anksiyete oluşumunu değerlendirebilmek amacıyla hayvanlara AAT, YAT ve AKT uygulanmıştır.

AAT, kemirgenlerde lokomotor aktivite ve defekasyon sayısının değerlendirilmesi için kullanılan bir testtir (Stanford, 2007). Anksiyete davranışı gözlenen hayvanlarda saldırma, hareketlerde azalma, defekasyonda artış ortaya çıkar (Campos ve ark. 2013). Çalışmamızda uyguladığımız sosyal izolasyon, kontrol grubuna kıyasla Sİ grubunda defekasyon sayısını arttırmıştır. Sİ grubuna apelin uygulanması sonrasında defekasyon davranışı ve dışkılama sayısı anlamlı ölçüde azalmıştır.

Sıçanlarda AAT'nin kenar kısımlarında bulunma isteğinde artış ve merkez bölümde geçirdiği sürede azalış anksiyetenin bir göstergesi sayılmaktadır. Anksiyolitik ajanlar, sıçanlarda araştırma davranışını arttırarak merkezde geçirilen süreyi uzatır (Leary ve ark. 2013). Mevcut çalışmada sosyal izolasyona tabi tutulan gruplarda merkezde geçirilen süre önemli ölçüde azalırken apelin uygulama sonrasında artmıştır.

AAT'de belirlenen bir diğer parametre ise sıçanların etrafı araştırmak ve bilgi edinmek amacıyla gösterdiği keşif davranışdır. Anksiyetede bu davranışın sıklığı azalmaktadır (Prut ve Belzung 2003; Leary ve ark. 2013). Bulgularımıza göre sosyal izolasyon uygulamasını takiben şahlanma davranışında azalma meydana gelmiştir. Bu gruba apelin uygulama sonrasında şahlanma sayısındaki artışın, apelinin anksiyolitik etkisini desteklediği görülmektedir.

AAT'de ölçülen kat edilen mesafe parametresi, sıçanların lokomotor aktivitesi hakkında bilgi verir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre Sİ grubundaki sıçanlarda kontrol grubuna kıyasla kat edilen mesafede azalma, apelin uygulamasından sonra ise artış olmuştur. Defekasyon sayısı, otonom sistemin aktivasyonuna bağlı olarak anksiyetede

artar. Ancak süslenme davranışında her iki görüş de mevcuttur (Campos ve ark. 2013). Elde ettiğimiz bulgulara kontrol grubuna göre Sİ grubunda defekasyon sayısında anlamlı ölçüde artış meydana gelmiştir. Apelin uygulaması defekasyon sayısını anlamlı şekilde azaltmıştır. Süslenme sayısı ise Sİ grubunda azalırken apelin uygulanan grupta artış göstermiştir. Mevcut bulgulara göre anksiyetenin apelin uygulama sonrasında azaldığını göz önünde bulundurursak, süslenme davranışının apelin uygulama sonrasında gösterdiği artış anksiyetede azalma olarak değerlendirilebilir.

YAT’de göz önüne alınan asıl parametre açık kollara giriş sayısı ve açık kollarda geçirilen süredir. Sıçanlar iç güdülerini gereği açık alanlardan ve yüksekten kaçınırlar (Mineur ve ark. 2013). Norcross ve ark. (2008) gerçekleştirdikleri bir çalışmada etkin bir antidepresan olan fluoksetin tedavisinin anksiyete üzerindeki etkisini araştırmışlar ve fluoksetin alan hayvanların açık kolda geçirdiği sürelerde artış olduğunu belirlemişlerdir. Elde ettiğimiz bulgulara göre apelin, açık kollara giriş sayısını ve bu kollarda geçirilen süreyi artmıştır. Bu durum apelinin anksiyete üzerinde iyileştirici etkisi olabileceğini işaret etmektedir.

AKT’de aydınlık kutuya bırakılan sıçanların karanlık kutuya geçiş sayısı ve her iki tarafta geçirdiği süreler değerlendirilmiştir. Sİ grubunda ortaya çıkan karanlık kutuda kalma süresinin uzaması anksiyetenin bir göstergesidir. Anksiyolitik etki gösteren ajanlar aydınlık kutuya geçiş sayısını ve burada kalma süresini arttırırken, anksiyojenik maddeler karanlık kutuya geçiş sayısını ve bu bölgede kalış süresini uzatırlar (Campos ve ark. 2013). Revest ve ark (2009), yaptıkları bir çalışmada hipokampal nörojenezi inhibe ederek fareleri YAT ve AKT’ye tabi tutmuşlar ve bu testler sonucunda anksiyete benzeri davranışların arttığını rapor etmişlerdir. Bulgularımıza göre karanlık kutudan aydınlık kutuya geçiş sayısının Sİ grubunda azaldığı, apelin uygulanmasıyla bu geçiş davranışının arttığı tespit edilmiştir.

Farklı bir araştırmada da apelinin depresyon benzeri davranışları iyileştirdiği gösterilmiştir (Dai ve ark. 2018). Aynı araştırmada apelinin bu etkisindeki hedef bölgenin hipokampus olabileceği belirtilmiştir.

Apelinin sıçanlarda stres kaynaklı depresyon ve hafıza bozulmasının düzenlenmesindeki rolünün incelendiği bir başka araştırmada, yeni antidepresan

ajanların seçiminde yaygın olarak kullanılan zorunlu yüzme testinde, tekrarlanan apelin İSV enjeksiyonlarının immobilityi tersine çevirdiği ve antidepresan etki gösterdiği rapor edilmiştir (Li ve ark. 2016).

Farelerde kronik normobarik hipoksiyle indüklenen anksiyete modelinde apelinin, nükleer faktör kappa B aracılı bir mekanizmayla anksiyolitik etki gösterdiği belirlenmiştir (Fan ve ark, 2018). Apelinin hafıza bozukluğu ve depresyon benzeri davranışlar üzerine etkisinin incelendiği diğer bir çalışmada apelinin hafıza bozukluğunu ve depresyon benzeri davranışı tersine çevirdiği gösterilmiştir (Tian ve ark. 2018).

Xiao ve ark. (2018), İSV apelin enjeksiyonunun, sıçanlara uygulanan zorunlu yüzme testinde antidepresan benzeri bir aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Aynı çalışmada zorunlu yüzmeye maruz kalmanın hipokampustaki apelin ve APJ protein ekspresyon seviyelerini yükselttiğini ancak hipotalamusta herhangi bir değişikliğe yol açmadığını bulmuşlardır. Ayrıca, apelinin intrahipokampal enjeksiyonunun, antidepresan benzeri bir etki gösterdiğini ve intrahipotalamik enjeksiyonunun zorunlu yüzme testinde immobility davranışını değiştirmediğini göstermişlerdir. Bu bulgulardan yola çıkarak hipokampusun sıçanlarda apelinin antidepresan benzeri aktivitesine aracılık ettiği kritik bir bölge olduğunu bildirmişlerdir.

Telegdy ve ark. (2014), santral yolla uyguladıkları apelinin anksiyolitik etkisinin olduğunu belirtmişlerdir. Sıçanlarda oluşturulan deneysel Parkinson modelinde bilişsel bozukluklar üzerinde apelinin etkilerini araştırılmış ve apelinin bilişsel bozuklukları önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir (Haghparsat ve ark. 2018).

Apelinin otofaji ve apoptoz süreçleri yanında amiloid beta (A β) kaynaklı hafıza kaybı üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada hipokampus dokusunun CA1 bölgesine uygulanan A β enjeksiyonunun bellek ve mekansal hafızanın bozulmasına neden olduğunu, apelinin bu etkilere karşı önemli ölçüde koruma sağladığı belirtilmiştir (Aminyavari ve ark. 2019).

Epilepsi hastaları ve epileptik sıçan modelinde beyin dokusunda apelin düzenlenmesi üzerine gerçekleştirilen bir çalışmanın sonucunda ilaca dirençli epilepsi hastalarında ve epileptik sıçanların beyin dokularında apelin proteininin düzeyinde

artış olduğunu ve apelinin nöbet sonrası nöroprotektif etki gösterdiği belirtilmiştir (Zhang ve ark. 2011). Apelinin iskemik inmede endoplazmik retikulum stres aracılı nöronal apoptozu hafiflettiği tespit edilmiştir (Xu ve ark. 2018; Wu ve ark. 2018). Apelinin GLP-1 yoluyla subaraknoid kanamayı takiben oluşan erken beyin hasarını nöronal apoptozu baskılayarak azalttığı rapor edilmiştir (Liu ve ark. 2019). Sıçanlarda kronik apelin uygulamasının nörotropik ağrı üzerine iyileştirici etkisi saptanmıştır (Hajimashhadi ve ark. 2017).

Nörodejeneratif hastalıklar sonucunda beyin bölgelerinde apelin gen ekspresyon düzeyinin azaldığı gösterilmiştir (Acar ve ark. 2019). İntrahipokampal apelin enjeksiyonunun ERK, PI₃K gibi farklı hücresel sinyalleşme yollarını modüle ederek anksiyete ve depresyon gibi duygudurum bozuklukları üzerinde olumlu etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Xiao ve ark. 2018). Çalışmamızda kontrol ve sosyal izolasyon uygulanan sıçanların hipokampus ve amigdala bölgelerindeki apelin gen ekspresyon düzeyleri araştırılmıştır fakat önemli bir değişiklik bulunamamıştır.

APJ, ratlarda periferik dokuların yanında hipokampus, hipotalamus, amigdala gibi birçok dokuda bulunan bir reseptör türüdür (Reaux ve ark. 2001). Stres yanıtının düzenlendiği hipokampus dokusunda APJ'nin artışı apelin bağlanma kapasitesini arttırarak duygudurum düzenlenmesi üzerinde etkili olabilmektedir. Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada apelinin hipokampusta bulunan APJ'nin ekspresyonunu arttırarak stres yanıtını düzenlediği ortaya konmuştur (Aminyavari ve ark. 2019). Çalışmamızın analiz sonuçlarına göre, sosyal izolasyon APJ üzerinde anlamlı bir etki oluşturmamıştır.

Nörogenez sürecinde gerçekleşen aşamalarda farklı özel biyobelirteçler eksprese olmaktadır. Biyobelirteçler sayesinde nörogenez süreci ve yeni doğan hücrelerin izledikleri yol ayrıntılı ve net biçimde gözlenebilmektedir (Duan ve ark. 2008; Bohlen ve Halbach 2011). Çalışmamızda, nörogenez biyobelirteçlerinden nestin, nöritin, DCX, MASHI ve BDNF genlerinin ekspresyon değişimleri araştırılmıştır.

Nöritin, nöronal plastisiteyi düzenleyen bir proteindir (Son ve ark. 2012) ve antidepresanlara benzer şekilde hipokampusta BDNF düzeyini arttırır (Naeve ve ark. 1997). Bir grup araştırmacı, kronik stresin rat hipokampusunda bulunan CA1 ve CA3

bölgelerinde nörin ekspresyon düzeyini azalttığını göstermiştir (Son ve ark. 2012). Kronik antidepresan tedavisinin sıçan beyinde nörin ekspresyonunu arttırdığı Alme ve ark. (2007) tarafından bildirilmiştir. Bizim bulgularımıza göre apelin uygulanan grupta nörin ekspresyon düzeyi kontrol gurubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış göstermiştir. Bu durum hipokampus dokusunun spesifik olarak CA1 ve CA3 bölümünün değil, tamamının alınmasından kaynaklanıyor olabilir. Bu çalışma sosyal izolasyonla indüklenmiş anksiyete modelinde eksojen apelin uygulanmasının hipokampal nörin düzeyine etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır.

Öncü hücrelerin bölünmesi ile SGB'den hücre tabakasına göç edecek olan nöroblastlar üretilir (Christie ve ark. 2013). DCX, nörogenez düzeyini belirlemek için kullanılan, sadece yenidoğan nöronlarda geçici olarak eksprese edilen, nöronlara farklılaşan progenitörleri işaret eden bir proteindir (Shapiro ve ark. 2005; He ve Crews 2007; Jin ve Galvan 2007). Fareler ile yapılan bir çalışmada tamoksifen enjeksiyonu ile nörogenez kısmi olarak baskılanmış ve bu durumun anksiyete ile depresyon üzerine etkisi incelenmiştir. Anksiyete benzeri davranışların arttığı farelerde DCX ekspresyon düzeyinin azaldığı bildirilmiştir (Yun ve ark. 2016). Diğer bir çalışmada, doğum sonrası depresyon oluşturulmuş olan sıçanlarda DCX ekspresyon düzeyinde azalmanın meydana geldiği belirtilmiştir (Gobinath ve ark. 2017). Maternal ayrılmanın hipokampal hücre proliferasyonunu azalttığını ancak DCX ekspresyonu üzerinde azaltıcı bir etki göstermediğini Hulsholf ve ark. (2011) rapor etmişlerdir. Fareler üzerinde spinal sinir yaralanması ile anksiyete oluşturulmuş ve ventral DG'de DCX ekspresyon düzeyinin azaldığı tespit edilmiştir. Çalışmamızın bulgularına göre Sİ grubunda DCX ekspresyon düzeyi azalmış, apelin uygulama sonrasında ise ekspresyon seviyesi pozitif yönde artış göstermiştir. Ortaya çıkan bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı olmasa da anksiyete oluşumunun sonucunda nörogenezin baskılandığı ve apelin uygulamasının nörogenez üzerinde olumlu etki gösterdiği yönünde ipuçları verebilir.

BDNF, hipokampus ve amigdala olmak üzere beynin birçok bölgesinde eksprese edilir, bununla beraber hipokampal nörogenezde ortaya çıkan artışa paralel olarak ekspresyonunda da artış gerçekleşir (Xu ve ark. (2015). Stres, hipokampusun CA1 ve CA3 bölgelerinde BDNF düzeyinde azalmaya yol açan bir etkidir (Gray ve ark. 2013). Apelinin kronik kısıtlama stresi ile indüklenmiş hafıza kayıplarını

düzeltiltiği ve bu etkiyi hipokampal BDNF düzeyini arttırarak gösterebileceği belirtilmiştir (Shen ve ark. 2019). Bizim bulgularımıza göre anksiyete, hipokampus dokusunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmasa da BDNF ekspresyon düzeyinde bir azalmaya yol açmıştır.

Nörogenez aşamasında bölünen sinir kök hücreleri göç ettikleri bölgelerde farklılaşarak yeni karakter kazanacak olan öncül hücreleri meydana getirirler. Nestin nöral öncü hücre biyobelirteçlerindendir (Jin ve Galvan 2007). Kronik nörotropik ile indüklenmiş anksiyete modelinde, farelere uygulanan fluoksetinin nestin pozitif hücre artışına neden olarak anksiyete üzerinde iyileştirici etki gösterdiği, aynı zamanda kaygı davranışı gösteren farelerin ventral DG'sinde nöral kök hücrelerin hızla azaldığı ve bu nedenle bu bölgenin davranışların kontrolü üzerinde anahtar bir rol üstlenebileceği ileri sürülmüştür. Yine aynı çalışmada, spinal sinir yaralanması ile anksiyete indüklenerek nestin pozitif hücrelerin sayısında azalma olduğu gösterilmiştir (Zhao ve ark. 2018). Çalışmamızın bulgularına göre apelin, hipokampus dokusunda nestin gen ekspresyon düzeyinde azalma meydana getirmiştir. Bu durum hipokampus dokusunun tamamının alınmasından veya uygulanan apelinin nestin ekspresyonu için yeterli süre uygulanmamasından kaynaklanıyor olabilir. Amigdala dokusunda ise apelinin nestin gen ekspresyon düzeyini arttırdığı gözlemlenmiştir. Bu artış istatistiksel açıdan anlamlı olmamakla birlikte apelinin beyin farklı bölgelerinde nöral öncü hücre artışını sağlayarak nörogenez üzerindeki pozitif etki gösterdiği fikrini destekleyebilir.

MASH1, nörogenez sırasında farklılaşma süreçlerini düzenleyen temel bir transkripsiyon faktörüdür ve nöral öncü hücrelerin farklılaşmasını sağlar (Kageyama ve ark. 2005). DG'deki iskeminin MASH1 + hücrelerin üretimini arttırdığı ve bu hücrelerin proliferasyonunun nörogenezde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Nakatomi ve ark. 2002). Aynı araştırmada egzersizin MASH1 hücre sayısını arttırarak hipokampal nörogenez üzerinde olumlu etkisinin olabileceği vurgulanmıştır. Çalışmamızın bulgularına göre kontrol grubuna kıyasla hem sosyal izolasyon hem de apelin uygulanan grupta hipokampus dokusunda MASH1 gen ekspresyonu anlamlı düzeyde azalış göstermiştir. Sİ+A grubu Sİ grubu ile kıyaslandığında, MASH1'in istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış gösterdiği görülmektedir. Bu durum sosyal izolasyon neticesinde negatif etkilenen veya bozulan nörogenezi apelin uygulamasıyla beraber normal seviyeye çıkarabilmek için nöronal öncü hücrelerin

aktivasyonundan kaynaklanıyor olabilir. Literatürde anksiyete ile MASH1 gen ekspresyonu değişimi hakkında herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Hipokampal nörojenezde meydana gelen azalma veya bozulmanın anksiyeteye neden olabileceği farklı araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (Cameron ve McKay 2001; Ageta ve ark. 2008; Schloesser ve ark. 2009; Sahay ve ark. 2011; Petrik ve ark. 2012; Marques ve ark. 2016). SGB’de yeni nöron üretiminin anksiyete ve korkunun düzenlenmesinde rol aldığı bildirilmiştir. Yeni oluşan hipokampal nöronların nöroplastisiteyi arttırarak anksiyeteyi azalttığı rapor edilmiştir (Marques ve ark. 2016). Mevcut çalışmada sosyal izolasyon, anksiyete benzeri davranışları arttırmış ve hipokampal nörojenez üzerinde baskılayıcı rol oynamıştır. Apelin uygulanan sıçanlarda ise anksiyete benzeri davranışlar azalmıştır. Tüm bu bulgular değerlendirildiğinde apelinin anksiyolitik etkisinde aracı bir mekanizma olarak hipokampal nörojenizin rol alabileceği muhtemeldir. Apelin, hipokampal nörojenizi arttırarak anksiyete davranışlarının gerilemesine neden olmuş olabilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Mevcut tez çalışması, sosyal izolasyonla indüklenmiş anksiyete modelinde eksojen apelin uygulanmasının hipokampal nöroenez düzeyine etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Bu çalışma ile apelinin anksiyete benzeri davranışları iyileştirdiği bununla beraber hipokampal nöroenez üzerine kısmen olumlu etki gösterdiği bulunmuştur. Bu araştırmanın bulguları, apelinin anksiyolitik etkiye sahip olabileceğini göstermektedir.

Apelinin fizyolojik açıdan rolünün anlaşılmasının, hipokampal nöroenezdeki işlevinin aydınlatılmasının, nörodejeneratif bozulmalara ve nöronal hasara karşı koruyucu mekanizmalara katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. İleri düzeyde gerçekleştirilecek yeni araştırmalarla apelinin nöroenez ve anksiyetenin iyileştirilmesi üzerine olumlu etkisinin altında yatan mekanizmalar daha net olarak anlaşılabilir.

7. KAYNAKLAR

- Aarhi RG, Joanna LW, Carmen C, Stephanie EL, Liisa MG. Sex-dependent effects of maternal corticosterone and SSRI treatment on hippocampal neurogenesis across development. *Biol Sex Differ.* 2017; 8: 20.
- Aberg MA, Aberg ND, Hedbäcker H, Oscarsson J, Eriksson PS. Peripheral infusion of IGF-I selectively induces neurogenesis in the adult rat hippocampus. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 2000; 15;20(8):2896-903.
- Abrous DN, Koehl M, Le Moal M. Adult Neurogenesis: From Precursors to Network and Physiology. *Physiological Reviews*, 2005; 85(2):523-69.
- Acar N, Parlak H, Ozkan A, Soyulu H, Avci S, Ustunel, Uysal VN, Agar A. The effect of docosahexaenoic acid on apelin distribution of nervous system in the experimental mouse model of Parkinson's disease. *Tissue Cell.* 2019; 56:41-51.
- Ageta H, Murayama A, Migishima R, Kida S, Tsuchida K, Yokoyama M, Inokuchi K. Activin in the brain modulates anxiety-related behavior and adult neurogenesis. *PLoS One.* 2008; 2;3(4):e1869.
- Aimone JB, Deng W, Gage FH. Adult neurogenesis: integrating theories and separating functions. *Trends in Cognitive Sciences*, 2010; 14(7): 35–37.
- Alme MN, Wibrand K, Dagestad G, Bramham CR. Chronic fluoxetine treatment induces brain region-specific upregulation of genes associated with BDNF-induced long-term potentiation. *Neural Plast.* 2007: 26496.
- Alshogran OY, Khalil AA, Oweis AO, Altawalbeh SM, Alqudah MAY. Association of brain-derived neurotrophic factor and interleukin-6 serum levels with depressive and anxiety symptoms in hemodialysis patients. 2018; 53:25-31.
- Altman J, Das GD. Post-Natal Origin of Microneurons in the Rat Brain. *Nature*, 1965; 28;207(5000):953-6.
- Aminyavari S, Zahmatkesh M, Farahmandfar M, Khodagholi F, Dargahi L, Zarrindast MR. Protective role of Apelin-13 on amyloid β 25-35-induced memory deficit; Involvement of autophagy and apoptosis process. 2019; 8:32-34
- Andreatini R, Bacellar LFS, The relationship between anxiety and depression in animal models: a study using the forced swimming test and elevated plus-maze. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 1999. Vol. 32: 1121-1126
- Aykaç A, Süer K, Taşkıran C. Anksiyete araştırmalarında kullanılan sıçan davranış modelleri. *Marmara Medical Journal*, 2015; 28(1), 001.
- Bannerman DM1, Matthews P, Deacon RM, Rawlins JN. Medial Septal Lesions Mimic Effects of Both Selective Dorsal and Ventral Hippocampal Lesions. *Behavioral Neuroscience*. 2004; 118(5):1033-41.
- Barnett SA. The rat: a study in behavior. New Jersey: Transaction Publishers, 2007.
- Barrientos RM, Sprunger DB, Campeau S, Higgins EA, Watkins LR, Rudy JW, Maier SF. Brain-derived neurotrophic factor mRNA downregulation produced by social isolation is blocked by intrahippocampal interleukin-1 receptor antagonist. *Neuroscience*. 2003; 121(4):847-53.
- Begni V, Riva MA, Cattaneo A. Cellular and molecular mechanisms of the brain-derived neurotrophic factor in physiological and pathological conditions. *Clinical Science*. 2017; 1;131(2):123-138
- Beluche I, Carrière I, Ritchie K, Ancelin MLA. Prospective study of diurnal cortisol and cognitive function in community-dwelling elderly people. *Psychological Medicine*, 2010; 40(6): 1039–1049.
- Binder EB, Nemeroff CB. The CRF system, stress, depression and anxiety-insights from human genetic studies. *Molecular Psychiatry*, 2010; 15(6):574-88.
- Bingbing L, Weihua H, Xiaoshan X, Yao X, Songmei M, Zhengyuan X. Neuroprotective Effect of Ulinastatin on Spinal Cord Ischemia-Reperfusion Injury in Rabbits. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015; 624819.
- Boal F, Timotin A, Roumegoux J, Alfarano C, Calise D, Anesia R, Parini A, Valet P, Tronchere H, Kunduzova O. Apelin-13 administration protects against ischaemia/reperfusion-mediated apoptosis

- through the FoxO1 pathway in high-fat diet-induced obesity. *British Journal of Pharmacology*, 2016; 173(11):1850-63.
- Bohlen V, Halbach O. Immunohistological markers for proliferative events, gliogenesis, and neurogenesis within the adult hippocampus. *Cell Tissue Res*. 2011; 345(1):1-19.
- Boucher J, Masri B, Daviaud D, Gesta S, Guigné C, Mazzucotelli A, Castan-Laurell I, Tack I, Knibiehler B, Carpené C, Audigier Y, Saulnier-Blache JS, Valet P. Apelin, a Newly Identified Adipokine Up-Regulated by Insulin and Obesity. *Endocrinology*, 2005; 146(4):1764-71.
- Buoso E, Lanni C, Schettini G, Govoni S, Racchi M. β -Amyloid precursor protein metabolism: focus on the functions and degradation of its intracellular domain. *Pharmacological Research*, 2010; 62(4):308-17
- Butterfield DA, Swomley AM, Sultana R. Amyloid β -Peptide (1–42)-Induced Oxidative Stress in Alzheimer Disease: Importance in Disease Pathogenesis and Progression. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2013 10; 19(8): 823–835.
- Cahill J, Calvert JW, Zhang JH. Mechanisms of early brain injury after subarachnoid hemorrhage. 2006; 26(11):1341-53.
- Cai X, Bai B, Zhang R, Wang C, Chen J. Apelin receptor homodimer-oligomers revealed by single-molecule imaging and novel G protein-dependent signaling. *Scientific Reports*, 2017; 7(1), 40335.
- Cameron HA, McKay RD. Adult neurogenesis produces a large pool of new granule cells in the dentate gyrus. *The Journal of Comparative Neurology*, 2001; 435(4):406-17.
- Campos AC, Fogaça MV, Aguiar DC, Guimarães FS. Animal models of anxiety disorders and stress. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 2013; 35 Suppl 2:S101-11
- Cassidy JM, Cramer SC. Spontaneous and Therapeutic-Induced Mechanisms of Functional Recovery After Stroke. *Translational Stroke Research*, 2017 Feb;8(1):33-46.
- Castan-Laurell I, Dray C, Attané C, Duparc T, Knauf C, Valet P. Apelin, diabetes, and obesity. *Endocrine*, 2011 Aug;40(1):1-9.
- Castan-Laurell I, Vítková M, Daviaud D, Dray C, Kováčiková M, Kovacova Z, Hejnova J, Stich V, Valet P. Effect of hypocaloric diet-induced weight loss in obese women on plasma apelin and adipose tissue expression of apelin and APJ. *European Journal of Endocrinology*, 2008; 158(6):905-10
- Castrén E, Kojima M. Brain-derived neurotrophic factor in mood disorders and antidepressant treatments. *Neurobiology of Disease*, 2017; 97(Pt B):119-126.
- Cheng B, Chen J, Bai B, Xin Q. Neuroprotection of apelin and its signaling pathway. *Peptides*, 2012; 37(1):171-3.
- Cheng X, Cheng XS, Pang CC. Venous dilator effect of apelin, an endogenous peptide ligand for the orphan APJ receptor, in conscious rats. *European Journal of Pharmacology*, 2003; 470(3):171-5.
- Chesnokova V, Pechnick RN, Wawrowsky K. Chronic peripheral inflammation, hippocampal neurogenesis, and behavior. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2016; 58:1-8.
- Chida Y, Sudo N, Kubo C. Social isolation stress exacerbates autoimmune disease in MRL/lpr mice. *Journal of Neuroimmunology*, 158(1–2), 138–144. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2004.09.002>ocial isolation stress exacerbates autoimmune dis. *Journal of Neuroimmunology*, 2005; 158(1-2):138-44.
- Christie KJ, Turbic A, Turnley AM. Adult hippocampal neurogenesis, Rho kinase inhibition and enhancement of neuronal survival. *Neuroscience*. 2013; 5;247: 75-83.
- Chuang YC. Mitochondrial Dysfunction and Oxidative Stress in Seizure-Induced Neuronal Cell Death. *Acta Neurol Taiwan*. 2010; 19(1):3-15.
- Clark AK, Yip PK, Grist J, Gentry C, Staniland AA, Marchand F, Dehvari M, Wotherspoon G, Winter J, Ullah J, Bevan S, Malcangio M.. Cathepsin S Inhibition Attenuates Neuropathic Pain and Microglial Response Associated with Spinal Cord Injury. *The Open Pain Journal* 2007; 104(25)
- Cook DR, Gleichman AJ, Cross SA, Doshi S, Ho W, Sciutto KL, Kolson DL. NMDA receptor modulation by the neuropeptide apelin: implications for excitotoxic injury. *Journal of Neurochemistry*, 2011; 118(6): 1113–1123.

- Cornwell EY. Social Disconnectedness, Percieved Isolation, and Health among Older Adults. *Journal of Health and Social Behavior*, 2009; 50(1): 31–48.
- Dai TT, Wang B, Xiao ZY, You Y, Tian SW. Apelin-13 Upregulates BDNF Against Chronic Stress-induced Depression-like Phenotypes by Ameliorating HPA Axis and Hippocampal Glucocorticoid Receptor Dysfunctions. *Neuroscience*, 2018; 15;390:151-159.
- Darrick T. Balub, Irwin Luckia. Adult hippocampal neurogenesis: Regulation, functional implications, and contribution to disease pathology. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2009; 33(3): 232–252.
- David DJ, Samuels BA, Rainer Q, Wang JW, Marsteller D, Mendez I, Hen R. Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. *Neuron*, 2009; 62(4), 479–493.
- Davis M, Rainnie D, Cassell M. Neurotransmission in the rat amygdala related to fear and anxiety. *Trends in Neurosciences*, 1994; 17(5):208-14.
- Davis M, Whalen PJ. The amygdala: vigilance and emotion. *Molecular Psychiatry*, 2001; 6(1):13-34.
- De Mota N, Lenkei Z, Llorens-Cortès C. Cloning, Pharmacological Characterization and Brain Distribution of the Rat Apelin Receptor. *Neuroendocrinology*, 2000; 72(6):400-7.
- Dorsey ER, Constantinescu R, Thompson JP, Biglan KM, Holloway RG, Kiebertz K, Marshall FJ, Ravina BM, Schifitto G, Siderowf A, Tanner CM. Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030. *Neurology*, 2007 Jan 30;68(5):384-6.
- Dranovsky A, Picchini AM, Moadel T, Sisti AC, Yamada A, Kimura S, Leonardo ED, Hen R. Experience dictates stem cell fate in the adult hippocampus. *Neuron*, 2011; 70(5):908-23.
- Duan X, Kang E, Liu CY, Ming GL, Song H. Development of neural stem cell in the adult brain. *Curr Opin Neurobiol*. 2008; 18(1): 108-15.
- Dubois B, Hampel H, Feldman HH, Scheltens P, Aisen P, Andrieu S, Bakardjian H, Benali H, Bertram L, Blennow K, Broich K, Cavado E. Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. *Alzheimer's & Dementia*, 2016; 12(3):292-323.
- Duman RS. Pathophysiology of depression: the concept of synaptic plasticity. *European Psychiatry*, 2002; 17, 306–310.
- El Falougy H1, Kubikova E, Benuska J. The microscopical structure of the hippocampus in the rat. 2008; 109(3):106-10.
- Fan J, Guang H, Zhang H, Chen D, Ding L, Fan X, Xue F, Gan Z, Wang Y, Mao S, Hu L, Gong Y. SIRT1 Mediates Apelin-13 in Ameliorating Chronic Normobaric Hypoxia-induced Anxiety-like Behavior by Suppressing NF- κ B Pathway in Mice Hippocampus. *Neuroscience*. 2018; 15;381:22-34.
- Forman MS, Trojanowski JQ, Lee VM. Neurodegenerative diseases: a decade of discoveries paves the way for therapeutic breakthroughs. *Nature Medicine*, 2004; 10(10):1055-63.
- Foussal C, Lairez O, Calise D, Pathak A, Guilbeau-Frugier C, Valet P, Parini A, Kunduzova O. Activation of catalase by apelin prevents oxidative stress-linked cardiac hypertrophy. *FEBS Letters*, 2010; 584(11):2363-70.
- Földes G, Horkay F, Szokodi I, Vuolteenaho O, Ilves M, Lindstedt KA, Mäyränpää M, Sárman B, Seres L, Skoumal R, Lakó-Futó Z, deChâtel R, Ruskoaho H, Tóth M. Circulating and cardiac levels of apelin, the novel ligand of the orphan receptor APJ, in patients with heart failure. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2003; 308(3):480-5.
- Freund TF, Buzsáki G. Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus*, 1996;6(4):347-470.
- Garcez ML, Mina F, Bellettini T, Carneiro FG, Luz AP, Schiavo GL, Budni J. Minocycline reduces inflammatory parameters in the brain structures and serum and reverses memory impairment caused by the administration of amyloid β (1-42) in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2017; 77:23-31.
- Gold PW. The organization of the stress system and its dysregulation in depressive illness. *Molecular Psychiatry*, 2015; 20(1), 32–47.
- Gray JD, Milner TA, McEwen BS. Dynamic plasticity: the role of glucocorticoids, brain-derived neurotrophic factor and other trophic factors. *Neuroscience*. 2013; 239:214-27.

- Habata Y, Fujii R, Hosoya M, Fukusumi S, Kawamata Y, Hinuma S, Fujino M. Apelin, the natural ligand of the orphan receptor APJ, is abundantly secreted in the colostrum. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1999; 1452(1), 25–35.
- Haghparast E, Mahani S, Abbasnejad M, Sheibani V. Apelin-13 ameliorates cognitive impairments in 6-hydroxydopamine-induced substantia nigra lesion in rats. *Neuropeptides*, 2018; 68, 28–35.
- Hall JH, Editör; Çağlayan Yeğen B, Alican İnci, Solakoğlu Z. Guyton ve Hall Tıbbi fizyoloji. 12. Basım. inc Nobel Tıp Kitap Evi. 2013.
- Hansen A, Chen Y, Inman JM, Phan QN, Qi ZQ, Xiang CC, Palkovits M, Cherman N, Kuznetsov SA, Robey PG, Mezey E, Brownstein MJ. Sensitive and specific method for detecting G protein-coupled receptor mRNAs. *Nature Methods*, 2007; 4(1), 35–37.
- He J, Crews FT. Neurogenesis decreases during brain maturation from adolescence to adulthood. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2007; 86(2), 327–333.
- Hemmerle AM, Herman JP, Seroogy KB. Stress, depression and Parkinson's disease. *Experimental Neurology*, 2012, 233(1), 79–86.
- Hennou S, Khalilov I, Diabira D, Ben-Ari Y, Gozlan H. Early sequential formation of functional GABA_A and glutamatergic synapses on CA1 interneurons of the rat foetal hippocampus. *European Journal of Neuroscience*, 2002; 16(2), 197–208.
- Hill AS, Sahay A, Hen R. Increasing Adult Hippocampal Neurogenesis is Sufficient to Reduce Anxiety and Depression-Like Behaviors. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 2015; 40(10), 2368–2378.
- Hirsch EC, Hunot S. Neuroinflammation in Parkinson's disease: a target for neuroprotection? *The Lancet Neurology*, 2009; 8(4), 382–397.
- Holtzman DM, Morris JC, Goate AM. Alzheimer's disease: the challenge of the second century. *Science Translational Medicine*, 2011; 3(77), 77sr1.
- Hosoya M, Kawamata Y, Fukusumi S, Fujii R, Habata Y, Hinuma S, Kitada C, Honda S, Kurokawa T, Onda H, Nishimura O, Fujino M. Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin. *The Journal of Biological Chemistry*, 2000; 275(28), 21061–21067.
- Hsieh J, Eisch AJ. Epigenetics, hippocampal neurogenesis, and neuropsychiatric disorders: Unraveling the genome to understand the mind. *Neurobiology of Disease*, 2010; 39(1), 73–84.
- Hulshof HJ, Novati A, Sgoifo A, Luiten PG, den Boer JA, Meerlo P. Maternal separation decreases adult hippocampal cell proliferation and impairs cognitive performance but has little effect on stress sensitivity and anxiety in adult Wistar rats. *Behav Brain Res*. 2011; 20;216(2):552-60.
- Jin K, Galvan V. Endogenous Neural Stem Cells in the Adult Brain. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2(3), 236–242.
- Joëls M, Karst H, Krugers HJ, Lucassen PJ. Chronic stress: Implications for neuronal morphology, function and neurogenesis. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 2007; 28(2–3), 72–96.
- Jokeit H, Ebner A. Effects of chronic epilepsy on intellectual functions. 2002; 455–463.
- Kageyama R, Ohtsuka T, Hatakeyama J, Ohsawa R. Roles of bHLH genes in neural stem cell differentiation. *Exp Cell Res*. 2005; 10;306(2):343-8.
- Kakinohana M, Kida K, Minamishima S, Atochin DN, Huang PL, Kaneki M, Ichinose F. Delayed paraplegia after spinal cord ischemic injury requires caspase-3 activation in mice. *Stroke*, 2011; 42(8), 2302–2307.
- Kalueff AV, Tuohimaa P. Experimental modeling of anxiety and depression. *Acta Neurobiol Exp* 2004; Vol. 64.
- Karamustafalıoğlu O, Yumrukçal H. Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Depresyon ve anksiyete bozuklukları. *The Medical Bulletin of Şişli Etfal Hospital*. 2011; Vol. 2.
- Katugampola SD, Maguire JJ, Matthewson SR, Davenport AP. [(125)I]-(Pyr(1)) Apelin-13 is a novel radioligand for localizing the APJ orphan receptor in human and rat tissues with evidence for a vasoconstrictor role in man. *British Journal of Pharmacology*, 2001; 1326, 1255–1260.

- Kawamata Y, Habata Y, Fukusumi S, Hosoya M, Fujii R, Hinuma S, Nishizawa N, Kitada C, Onda H, Nishimura O, Fujino M. Molecular properties of apelin : tissue distribution and receptor binding, 2001; 1538, 162–171.
- Kessler RC, Birnbaum H, Demler O, Falloon IR, Gagnon E, Guyer M, Howes MJ, Kendler KS, Shi L, Walters E, Wu EQ. The Prevalence and Correlates of Nonaffective Psychosis in the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *Biological Psychiatry*, 2005; 58(8), 668–676.
- Kheirbek MA, Klemenhagen KC, Sahay A, Hen R. Neurogenesis and generalization: a new approach to stratify and treat anxiety disorders. *Nature Neuroscience*, 2012; 15(12), 1613–1620.
- Kim MJ, Loucks RA, Palmer AL, Brown AC, Solomon KM, Marchante AN, Whalen PJ. The structural and functional connectivity of the amygdala: From normal emotion to pathological anxiety. *Behavioural Brain Research*, 2011; 223(2), 403–410.
- Kleinz MJ, Davenport AP. Emerging roles of apelin in biology and medicine. *Pharmacology & Therapeutics*, 2005; 107(2), 198–211.
- Kocabasoglu N. Stres ve anksiyete, 2016.
- Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression. *Nature*, 2008; 455(7215), 894–902.
- Lagali PS, Corcoran CP, Picketts DJ. Hippocampus development and function: role of epigenetic factors and implications for cognitive disease. 2010; *Clinical Genetics*, 78(4), 321–333.
- Lee DK, Cheng R, Nguyen T, Fan T, Kariyawasam AP, Liu Y, Osmond DH, George SR, O'Dowd BF. Characterization of Apelin, the Ligand for the APJ Receptor. *Journal of Neurochemistry*, 2001; 74(1), 34–41.
- Lee DK, Saldivia VR, Nguyen T, Cheng R, George SR, O'Dowd BF. Modification of the Terminal Residue of Apelin-13 Antagonizes Its Hypotensive Action. *Endocrinology*, 2005; 146(1), 231–236.
- Li E, Deng H, Wang B, Fu W, You Y, Tian S. Apelin-13 exerts antidepressant-like and recognition memory improving activities in stressed rats. *European Neuropsychopharmacology*, 2016; 26(3), 420–430.
- Li J, Huang S, Huang W, Wang W, Wen G, Gao L, Fu X, Wang M, Liang W, Kwan HY, Zhao X, Lv Z. Paeoniflorin ameliorates interferon-alpha-induced neuroinflammation and depressive-like behaviors in mice. *Oncotarget*, 2017; 8(5), 8264–8282.
- Liu QF, Yu HW, Sun LL, You L, Tao GZ, Qu BZ. Apelin-13 upregulates Egr-1 expression in rat vascular smooth muscle cells through the PI3K/Akt and PKC signaling pathways. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2015; 468(4), 617–621.
- Liu Y, Zhang T, Wang Y, Wu P, Li Y, Wang C, Xu S, Shi H. Apelin-13 attenuates early brain injury following subarachnoid hemorrhage via suppressing neuronal apoptosis through the GLP-1R/PI3K/Akt signaling. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019; 21;513(1):105-111.
- Lv SY, Qin YJ, Wang HT, Xu N, Yang YJ, Chen Q. Centrally administered apelin-13 induces depression-like behavior in mice. *Brain Research Bulletin*, 2012; 88(6), 574–580.
- Lv SY, Qin YJ, Wang NB, Yang YJ, Chen Q. Supraspinal antinociceptive effect of apelin-13 in a mouse visceral pain model. *Peptides*, 2012; 37(1), 165–170.
- Macdonald RL, Schweizer TA. Spontaneous subarachnoid haemorrhage. *The Lancet*, 2017; 389(10069), 655–666.
- MacQueen GM, Campbell S, McEwen BS, Macdonald K, Amano S, Joffe RT, Young LT. Course of illness, hippocampal function, and hippocampal volume in major depression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003; 100(3), 1387–1392.
- Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 2000; 20(24), 9104–9110.
- Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS. Chronic Antidepressant Treatment Increases Neurogenesis in Adult Rat Hippocampus, 2000; 15;20(24):9104-10.
- Marques AA, Bevilacqua MC, Fonseca AM, Nardi AE, Thuret S, Dias GP. Gender Differences in the Neurobiology of Anxiety: Focus on Adult Hippocampal Neurogenesis. *Neural Plast*. 2016; 5026713.

- Masri B, Lahlou H, Mazarguil H, Knibiehler B, Audigier Y. Apelin (65–77) Activates Extracellular Signal-Regulated Kinases via a PTX-Sensitive G Protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2002; 290(1), 539–545.
- Medhurst AD, Jennings CA, Robbins MJ, Davis RP, Ellis C, Winborn KY, Lawrie KW, Hervieu G, Riley G, Bolaky JE, Herrity NC, Murdock P, Darker JG. Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. *Journal of Neurochemistry*, 2003; 84(5), 1162–1172.
- Meral C, Cekmez F., Vurucu S., Tascilar E, Pirgon O, Canpolat FE, Ipcioglu OM, Aydemir G, Aydinöz S, New adipocytokines (vaspin, apelin, visfatin, adiponectin) levels in children treated with valproic acid. *Cytokine Netw*, 2011; 22(2), 118–140.
- Mineur YS, Obayemi A, Wigstrand MB, Fote GM, Calarco CA, Li AM, Picciotto MR. Cholinergic signaling in the hippocampus regulates social stress resilience and anxiety- and depression-like behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013; 110(9), 3573.
- Naeve GS, Ramakrishnan M, Kramer R, Hevroni D, Citri Y, Theill LE. Neuritin: a gene induced by neural activity and neurotrophins that promotes neuritogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997; 18;94(6):2648-53.
- Nakatomi H, Kuriu T, Okabe S, Yamamoto S, Hatano O, Kawahara N, Tamura A, Kirino T, Nakafuku M. Regeneration of hippocampal pyramidal neurons after ischemic brain injury by recruitment of endogenous neural progenitors. *Cell*. 2002; 23;110(4):429-41.
- Norcross M, Mathur P, Enoch AJ, Karlsson RM, Brigman JL, Cameron HA, Harvey-White J, Holmes A. Effects of adolescent fluoxetine treatment on fear-, anxiety- or stress-related behaviors in C57BL/6J or BALB/cJ mice. *Psychopharmacology*, 2008; 200(3):413-24.
- O'Shea M, Hansen MJ, Tatemoto K, Morris MJ. Inhibitory Effect of Apelin-12 on Nocturnal Food Intake in the Rat. *Nutritional Neuroscience*, 2003; 6(3), 163–167.
- Obeso JA, Rodriguez-Oroz MC, Goetz CG, Marin C, Kordower JH, Rodriguez M, Hirsch EC, Farrer M, Schapira AH, Halliday G. Missing pieces in the Parkinson's disease puzzle. *Nature Medicine*, 2010; 16(6), 653–661.
- O'Carroll AM, Selby TL, Palkovits M, Lolait SJ. Distribution of mRNA encoding B78/apj, the rat homologue of the human APJ receptor, and its endogenous ligand apelin in brain and peripheral tissues. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2000; 1492(1), 72–80.
- O'Carroll AM1, Lolait SJ, Harris LE, Pope GR. The apelin receptor APJ: Journey from an orphan to a multifaceted regulator of homeostasis. *Journal of Endocrinology*, 2013; 11;219(1):R13-35.
- O'Donnell LA, Agrawal A, Sabnekar P, Dichter MA, Lynch DR, Kolson DL. Apelin, an endogenous neuronal peptide, protects hippocampal neurons against excitotoxic injury. *Journal of Neurochemistry*, 2007; 102(6), 1905–1917.
- O'Dowd BF, Heiber M, Chan A, Heng HH, Tsui LC, Kennedy JL, Shi X, Petronis A, George SR, Nguyen T. A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene*, 1993; 136(1–2), 355–360.
- O'Leary TP, Gunn RK, Brown RE. What are We Measuring When We Test Strain Differences in Anxiety in Mice? *Behavior Genetics*, 2013; 43(1), 34–50.
- Petrik D, Lagace DC, Eisch AJ. The neurogenesis hypothesis of affective and anxiety disorders: are we mistaking the scaffolding for the building? *Neuropharmacology*. 2012; 62(1):21-34.
- Pitkin SL, Maguire JJ, Bonner TI, Davenport AP. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIV. Apelin Receptor Nomenclature, Distribution, Pharmacology, and Function. *Pharmacological Reviews*, 2010; 62(3), 331–342.
- Pontes A, Zhang Y, Wenhui HU. Novel functions of GABA signaling in adult neurogenesis. *Frontiers in Biology*, 2013 Oct 1; 8(5).
- Pouresmaeili-Babaki E, Esmaeili-Mahani S, Abbasnejad M, Ravan H. Protective Effect of Neuropeptide Apelin-13 on 6-Hydroxydopamine-Induced Neurotoxicity in SH-SY5Y Dopaminergic Cells: Involvement of Its Antioxidant and Antiapoptotic Properties. 2018; *Rejuvenation Research*, 21(2), 162–167.

- Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology*, 2003; 28;463(1-3):3-33
- Reaux A, De Mota N, Skultetyova I, Lenkei Z, El Messari S, Gallatz K, Corvol P, Palkovits M, Llorens-Cortès C. Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain. *Journal of Neurochemistry*, 2001;77(4):1085-96.
- Reaux A, Gallatz K, Palkovits M, Llorens-Cortés C. Distribution of apelin-synthesizing neurons in the adult rat brain. *Neuroscience*. 2002; 113(3):653-62.
- Revest JM, Dupret D, Koehl M, Funk C, Grosjean N, Piazza PV, Abrous DN. Adult hippocampal neurogenesis is involved in anxiety-related behaviors. *Molecular Psychiatry*. 14(10), 959-967.
- Rossato JI, Bevilaqua LR, Izquierdo I, Medina JH, Cammarota M. Dopamine Controls Persistence of Long-Term Memory Storage. *Science*, 2009; 21;325(5943):1017-20.
- Sah A, Schmuckermair C, Sartori SB, Gaburro S, Kandasamy M, Irschick R, Klimaschewski L, Landgraf R, Aigner L, Singewald N. Anxiety- rather than depression-like behavior is associated with adult neurogenesis in a female mouse model of higher trait anxiety- and comorbid depression-like behavior. *Transl Psychiatry*. 2012; 16:2.
- Sahay A, Scobie KN, Hill AS, Carroll CM, Kheirbek MA, Burghardt NS, Fenton AA, Dranovsky A, Hen R. Increasing adult hippocampal neurogenesis is sufficient to improve pattern separation. *Nature*. 2011; 28;472(7344):466-70.
- Santos-Nogueira E, Redondo Castro E, Mancuso R, Navarro X. Randall-Selitto test: a new approach for the detection of neuropathic pain after spinal cord injury. *Journal of Neurotrauma*, 2012; 20;29(5):898-904.
- Sauvant J, Delpech JC, Palin K, De Mota N, Dudot J, Aubert A, Orcel H, Roux P, Layé S, Moos F, Llorens-Cortés C, Nadjar A. Mechanisms involved in dual vasopressin/apelin neuron dysfunction during aging. *PloS One*, 2014; 5;9(2):e87421.
- Schloesser RJ, Manji HK, Martinowich K. Suppression of adult neurogenesis leads to an increased hypothalamo-pituitary-adrenal axis response. *Neuroreport*. 2009; 22;20(6):553-7.
- Seyedabadi M, Goodchild A, Pilowsky PM. Site-specific effects of apelin-13 in the rat medulla oblongata on arterial pressure and respiration. *Autonomic Neuroscience*, 2002; 101(1-2), 32-38.
- Shapiro LA, Korn MJ, Shan Z, Ribak CE. GFAP-expressing radial glia-like cell bodies are involved in a one-to-one relationship with doublecortin-immunolabeled newborn neurons in the adult dentate gyrus. *Brain Res*. 2005; 8;1040(1-2):81-91.
- Sheline YI, Wang PW, Gado MH, Csernansky JG, Vannier MW. Hippocampal atrophy in recurrent major depression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1996; 93(9), 3908.
- Shin K, Kenward C, Rainey JK. Apelinergic System Structure and Function. *Comprehensive Physiology*, 8(1), 2017; 407-450.
- Snyder JS, Soumier A, Brewer M, Pickel J, Cameron HA. Adult hippocampal neurogenesis buffers stress responses and depressive behaviour. *Nature*, 2011;476(7361):458-61.
- Son H, Banasr M, Choi M, Chae SY, Licznarski P, Lee B, Voleti B, Li N, Lepack A, Fournier NM, Lee KR, Lee IY, Kim J, Kim JH, Kim YH, Jung SJ, Duman RS. Neuritin produces antidepressant actions and blocks the neuronal and behavioral deficits caused by chronic stress. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012; 10;109(28):11378-83
- Sörhede Winzell M, Magnusson C, Åhrén B. The apj receptor is expressed in pancreatic islets and its ligand, apelin, inhibits insulin secretion in mice. *Regulatory Peptides*, 2005 Nov;131(1-3):12-7.
- Spear, LP. Assessment of adolescent neurotoxicity: Rationale and methodological considerations. *Neurotoxicology and Teratology*, 2007; 29(1): 1-9.
- Stanford, SC. The Open Field Test: reinventing the wheel. *Journal of Psychopharmacology*, 2007 Mar;21(2):134-5.
- Stork PJ, Schmitt JM. Crosstalk between cAMP and MAP kinase signaling in the regulation of cell proliferation. *Trends in Cell Biology*, 2002 Jun;12(6):258-66.

- Surget A, Tanti A, Leonardo ED, Laugeray A, Rainer Q, Touma C, Palme R, Griebel G, Ibarguen-Vargas Y, Hen R, Belzung C. Antidepressants recruit new neurons to improve stress response regulation. *Molecular Psychiatry*, 2011 Dec;16(12):1177-88.
- Susaki E, Wang G, Cao G, Wang HQ, Englander EW, Greeley GH. Apelin cells in the rat stomach. *Regulatory Peptides*, 2009 Nov 27; 158(1-3): 32–39.
- Szokodi I, Tavi P, Földes G, Voutilainen S, Ilves M, Tokola H, Ruskoaho H. Apelin, the Novel Endogenous Ligand of the Orphan Receptor APJ, Regulates Cardiac Contractility. *Circulation Research*, 2002; 6;91(5):434-40.
- Taheri S, Murphy K, Cohen M, Sujkovic E, Kennedy A, Dhillo W, Bloom S. The Effects of Centrally Administered Apelin-13 on Food Intake, Water Intake and Pituitary Hormone Release in Rats. 2002; 15;291(5):1208-12.
- Tanti A, Belzung C. Neurogenesis along the septo-temporal axis of the hippocampus: Are depression and the action of antidepressants region-specific? *Neuroscience*, 2013 Nov 12;252:234-52.
- Tatemoto K, Takayama K, Zou MX, Kumaki I, Zhang W, Kumano K, Fujimiya M. The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regulatory Peptides*, 2001; 15;99(2-3):87-92.
- Teipel SJ, Grothe M, Lista S, Toschi N, Garaci FG, Hampel H. Relevance of Magnetic Resonance Imaging for Early Detection and Diagnosis of Alzheimer Disease. *Medical Clinics of North America*, 2013; 97(3):399-424.
- Tejada J, Bosco GG, Morato S, Roque AC. Characterization of the rat exploratory behavior in the elevated plus-maze with Markov chains. *Journal of Neuroscience Methods*, 2010; 30;193(2):288-95.
- Telegdy G, Jászberényi M. Transmitter mediation of the anxiolytic action of apelin-13 in male mice. *Behavioural Brain Research*, 2014 15;263:198-202.
- Tole S, Christian C, Grove EA. Early specification and autonomous development of cortical fields in the mouse hippocampus. 1997;124(24):4959-70.
- Uda M, Ishido M, Kami K. Features and a possible role of Mash1-immunoreactive cells in the dentate gyrus of the hippocampus in the adult rat. *Brain Res*. 2007; 26;1171:9-17.
- Uzbay, T. Anksiyete ve Depresyonun Nörobiyolojisi. *Klinik Psikiyatri Dergisi*, 2004; 3–11.
- van Praag H, Shubert T, Zhao C, Gage FH. Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 2005; 21;25(38):8680-5.
- Vilagut G, Forero CG, Barbaglia G, Alonso J. Screening for Depression in the General Population with the Center for Epidemiologic Studies Depression (CES-D): A Systematic Review with Meta-Analysis. *PLoS One*, 2016 May 16;11(5):e0155431.
- Vyas A, Mitra R, Rao B, Chattarji S. Chronic Stress Induces Contrasting Patterns of Dendritic Remodeling in Hippocampal and Amygdaloid Neurons. 2002; 1;22(15):6810-8.
- Wang G, Anini Y, Wei W, Qi X, OCarroll AM, Mochizuki T, Wang HQ, Hellmich MR, Englander EW, Greeley GH. Apelin, a New Enteric Peptide: Localization in the Gastrointestinal Tract, Ontogeny, and Stimulation of Gastric Cell Proliferation and of Cholecystokinin Secretion. *Endocrinology*, 2004 Mar;145(3):1342-8.
- Wang Q, Timberlake MA, Prall K, Dwivedi Y. The recent progress in animal models of depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2017; 3;77:99-109.
- Wattez JS, Ravallée R, Cudennec B, Knauf C, Dhulster P, Valet P, Breton C, Vieau D, Lesage J. Apelin stimulates both cholecystokinin and glucagon-like peptide 1 secretions in vitro and in vivo in rodents. *Peptides*, 2013; 48:134-6.
- Wysocka M B, Gremplewicz K, Nowak D. The Role of Apelin in Cardiovascular Diseases, Obesity and Cancer. *Frontiers in Physiology*, 2018; 9: 557.
- Xiao ZY, Wang B, Fu W, Jin X, You Y, Tian SW, Kuang X. The Hippocampus is a Critical Site Mediating Antidepressant-like Activity of Apelin-13 in Rats. *Neuroscience*, 2018 Apr 1;375:1-9.
- Xie Z, Enkhjargal B, Wu L, Zhou K, Sun C, Hu X, Gospodarev V, Tang J, You C, Zhang JH. Exendin-4

- attenuates neuronal death via GLP-1R/PI3K/Akt pathway in early brain injury after subarachnoid hemorrhage in rats. *Neuropharmacology*, 2018;128:142-151.
- Xin Q, Cheng B, Pan Y, Liu H, Yang C, Chen J, Bai B. Neuroprotective effects of apelin-13 on experimental ischemic stroke through suppression of inflammation. *Peptides*, 2015; 63:55-62.
- Xu W, Gao L, Li T, Zheng J, Shao A, Zhang J. Apelin-13 Alleviates Early Brain Injury after Subarachnoid Hemorrhage via Suppression of Endoplasmic Reticulum Stress-mediated Apoptosis and Blood–Brain Barrier Disruption: Possible Involvement of ATF6/CHOP Pathway. *Neuroscience*, 2018; 388:284-296.
- Xu XF, Li T, Wang DD, Chen B, Wang Y, Chena ZY. Integrin-linked Kinase is Essential for Environmental Enrichment Enhanced Hippocampal Neurogenesis and Memory. *Sci Rep*. 2015; 5: 11456.
- Yan Z, Jiao H, Ding X, Ma Q, Li X, Pan Q, Wang T, Hou Y, Jiang Y, Liu Y, Chen J. Xiaoyaosan Improves Depressive-Like Behaviors in Mice through Regulating Apelin-APJ System in Hypothalamus. *Molecules*, 2018; 3;23(5).
- Yang P, Maguire JJ, Davenport AP. Apelin, Elabela/Toddler, and biased agonists as novel therapeutic agents in the cardiovascular system. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2015; 36(9): 560–567.
- Yang Y, Zhang XJ, Li LT, Cui HY, Zhang C, Zhu CH, Miao JY. Apelin-13 protects against apoptosis by activating AMP-activated protein kinase pathway in ischemia stroke. *Peptides*, 2016; 75:96-100.
- Yun S, Donovan MH, Ross MN, Richardson DR, Reister R, Farnbauch LA, Fischer SJ, Riethmacher D, Gershenfeld HK, Lagace DC, Eisch AJ. Stress-Induced Anxiety- and Depressive-Like Phenotype Associated with Transient Reduction in Neurogenesis in Adult Nestin-CreERT2/Diphtheria Toxin Fragment A Transgenic Mice. *PLoS One*. 2016; 21;11(1):e0147256.
- Zaletel I, Filipović D, Puškaš N. (2016). Chronic stress, hippocampus and parvalbumin-positive interneurons: what do we know so far? *Reviews in the Neurosciences*, 2016; 27(4).
- Zeng XJ, Yu SP, Zhang L, Wei L. Neuroprotective effect of the endogenous neural peptide apelin in cultured mouse cortical neurons. *Experimental Cell Research*, 2010; 316(11):1773-83
- Zhao C, Deng W, Gage FH. Mechanisms and Functional Implications of Adult Neurogenesis. *Cell*, 2008; 22;132(4):645-60.
- Zhao C, Teng EM, Summers RG Jr, Ming GL, Gage FH. Distinct morphological stages of dentate granule neuron maturation in the adult mouse hippocampus. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 2006; 4;26(1):3-11.
- Zhao J, Xiang X, Zhang H, Jiang D, Liang Y, Qing W, Liu L, Zhao Q, He Z. CHOP induces apoptosis by affecting brain iron metabolism in rats with subarachnoid hemorrhage. *Experimental Neurology*, 2018; 302:22-33.
- Zhao Y, Zhang Li, Wang M, Yu J, Yang J, Liu A, Yao H, Liu X, Shen Y, Guo B, Wang Y, Wu S. Anxiety Specific Response and Contribution of Active Hippocampal Neural Stem Cells to Chronic Pain Through Wnt/ β -Catenin Signaling in Mice. *Front Mol Neurosci*. 2018; 11: 296.
- Zhuang Z, Zhao X, Wu Y, Huang R, Zhu L, Zhang Y, Shi J. The anti-apoptotic effect of PI3K-Akt signaling pathway after subarachnoid hemorrhage in rats. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 2011; 41(4):364-72.
- Zou MX, Liu HY, Haraguchi Y, Soda Y, Tatemoto K, Hoshino H. Apelin peptides block the entry of human immunodeficiency virus (HIV). *FEBS Letters*, 2000; 473(1), 15–18.

8. ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Konya’da doğdum. İlk, orta ve lise öğretimimi tamamladıktan sonra yüksek öğretimimi 2009-2014 yılları arasında Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi’nde tamamladım. Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji (Tıp) Anabilim Dalında yüksek lisans eğitime devam etmekteyim. 21 Ekim 2016 tarihi itibarıyla KTO Karatay Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktayım.

e-posta: zeynep.caliskan@karatay.edu.tr

9. EKLER

EK A: Etik Kurul Onayı

9.1. Etik Kurul Onayı



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve
Araştırma Merkezi Müdürlüğü



Karar Sayısı: 2018 – 011

Karar Tarihi: 23.02.2018

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D.'den Prof.Dr. Selim KUTLU ve Kaniye Zeynep ÇALIŞKAN tarafından sunulan **"Apelin'in Sosyal İzolasyon Uygulanan Genç Sıçanlarda Davranış Üzerine Etkisi"** başlıklı tez projesi 7 üyenin katılımı ile değerlendirildi.

Projede, 4 grupta toplam 40 adet sıçan kullanılacağı, sıçanların anestezi altında servikal dislokasyon ile sakrifiye edileceği bildirilmiştir.

Projenin deney hayvanlarına ilişkin yönlerinin, Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ndeki ilgili maddeler gereğince "Etik Kurallara Uygunluk Esası" dikkate alınarak hazırlandığı belirlenmiştir.

Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ndeki ilgili maddelerde belirtilen başvuru sahibinin sorumluluktan ve hayvan deneyleri ile ilgili etik ilkeler saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında yönerge ilkelerine uyulduğu ve çalışmanın deneysel kısmını gerçekleştirecek araştırmacıların deney hayvanları kullanım sertifikasına sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım etiği açısından "Uygun" olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Prof.Dr.Selim KUTLU
Başkan-Katılmadı

Prof.Dr.Lema TAVLI
Üye-Katılmadı

Prof.Dr.Ayşe Saide
ŞAHİN
Üye-Katılmadı

Prof.Dr.Mehmet GÜL
Üye

Doç.Dr.Ercan KURAR
Üye

Doç.Dr.Tevfik
KÜÇÜKARTALLAR
Üye-Katılmadı

Doç.Dr.Hasan Hüseyin
KOZAK
Üye

Yrd.Doç.Dr.Ömer
TANYELİ
Üye

Vet.Hek.Malî Aydın
ŞİMŞEK
Üye

Vet.Hek.Ahmet ÖZKORKÇÜLER
Üye

Mustafa ŞİRİN
Üye

Adres : Meram Tıp Fakültesi Kampüsü 42080 Akçöküş – Meram / KONYA
Tel : +90 332 223 71 11 e-posta : konudam@konya.edu.tr
Faks : +90 332 223 71 24 Elektronik Ağ : http://www.konya.edu.tr/merkepler/konudam