



T.C.  
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**MK-801 İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL  
ŞİZOFRENİ BENZERİ DAVRANIŞ MODELİNDE GLP-1  
AGONİSTİ LİRAGLUTİD'İN CREB, BDNF, TRK-B  
EKSPRESYONLARI İLE DUYGUSAL-BİLİŞSEL  
DAVRANIŞLAR ÜZERİNE ETKİSİ**

**Dr. Meltem DÖNMEZ KUTLU**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Doç. Dr. Kübra AKILLIOĞLU**

**ADANA-2022**



T.C.  
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**MK-801 İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL  
ŞİZOFRENİ BENZERİ DAVRANIŞ MODELİNDE GLP-1  
AGONİSTİ LİRAGLUTİD'İN CREB, BDNF, TRK-B  
EKSPRESYONLARI İLE DUYGUSAL-BİLİŞSEL  
DAVRANIŞLAR ÜZERİNE ETKİSİ**

**Dr. Meltem DÖNMEZ KUTLU**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Doç. Dr. Kübra AKILLIOĞLU**

**Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu tarafından**

**TTU-2019-12291 no'lu proje olarak desteklenmiştir.**

**ADANA-2022**

## TEŞEKKÜR

Fizyoloji ihtisasıma başladığım günden itibaren tez sürecim dahil olmak üzere bana her konuda destek olan, yaptığım her hatada büyük bir özveri ve sabırla doğruyu gösteren, her türlü sorunu çözebilme yeteneğiyle hayran bırakan, her durumun pozitif yönünü görebilen, sonsuz sabrı ve çalışma azmini örnek aldığım değerli tez danışmanım Doç. Dr. Kübra AKILLIOĞLU'na,

Henüz tıp fakültesi sıralarındayken fizyolojiye sempati beslememi sağlayan değerli Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Şeref ERDOĞAN başta olmak üzere, emekli öğretim üyesi Prof. Dr. Ayşe DOĞAN, Prof. Dr. Sanlı Sadi KURDAK, Doç. Dr. Kerem Tuncay ÖZGÜNEN, Doç. Dr. Besim ÖZAYKAN, Doç. Dr. Ayper BOĞA PEKMEZEKMEK, Doç. Dr. Kübra AKILLIOĞLU ve Doç. Dr. Çiğdem ÖZDEMİR'e,

Çalışmalarımı yürütürken laboratuvar imkanlarından faydalanmamı sağlayan Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Bertan YILMAZ ile doktora öğrencisi Hale ÖKSÜZ'e,

Her ne kadar artık beraber çalışmıyor dahi olsak en zorlu günlerimde hala desteğini esirgemeyen, birlikte çalıştığımız kısacık vakitte bile abiliği ve öğretmenliğiyle bana yol gösteren, sayesinde çömezlik sürecimi en güzel şekilde geçirdiğim Dr. İbrahim ÇEVİK'e, nörofizyoloji alanındaki biricik yoldaşım, tüm çıkmazlarda yanımda olan ve fikirlerine güvendiğim canım arkadaşım doktora öğrencisi Seda KÖSE'ye, yardımlarından ötürü tüm çalışma arkadaşlarım ve personellerimize şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmamı, bugünlere gelmemde en çok emeği olan ve hala her zor zamanımda imdadıma yetişen, her daim yanımda olduklarını hissettiğim kıymetli annem Birsen DÖNMEZ ve babam Mehmet DÖNMEZ'e, tez sürecim boyunca gösterdiği sabır ve özveriden dolayı biricik hayat arkadaşım Salih Burak KUTLU'ya ve doğduğu andan itibaren hayatımı değiştiren canım kızım Öykü KUTLU'ya ithaf ediyorum.

Dr. Meltem DÖNMEZ KUTLU

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                              |      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| TEŞEKKÜR .....                                                                               | I    |
| İÇİNDEKİLER.....                                                                             | II   |
| TABLO LİSTESİ .....                                                                          | VI   |
| ŞEKİL LİSTESİ .....                                                                          | VII  |
| KISALTMA LİSTESİ.....                                                                        | IX   |
| ÖZET.....                                                                                    | XII  |
| ABSTRACT .....                                                                               | XIII |
| 1. GİRİŞ.....                                                                                | 14   |
| 2. GENEL BİLGİLER.....                                                                       | 17   |
| 2.1. Şizofreni .....                                                                         | 17   |
| 2.1.1. Şizofreni Fizyopatolojisi.....                                                        | 19   |
| 2.1.1.1. Şizofreni Fizyopatolojisinde Glutamaterjik Hipotez.....                             | 20   |
| 2.1.1.1.1. NMDA Reseptörü.....                                                               | 21   |
| 2.1.2. NMDA Reseptör Antagonizması ile Oluşturulan Deneysel Şizofreni Benzeri Modeller ..... | 33   |
| 2.2. Glukagon Benzeri Peptid 1 .....                                                         | 36   |
| 2.2.1. GLP-1'in Etkileri .....                                                               | 42   |

|            |                                                   |    |
|------------|---------------------------------------------------|----|
| 2.2.1.1.   | GLP-1'in Pankreas Üzerine Etkileri .....          | 42 |
| 2.2.1.2.   | GLP-1'in Pankreas Dışı Etkileri .....             | 42 |
| 2.2.1.2.1. | GLP-1'in Beyindeki Etkileri .....                 | 44 |
| 2.2.2.     | GLP-1 Agonistleri .....                           | 45 |
| 3.         | GEREÇ VE YÖNTEM .....                             | 47 |
| 3.1.       | Etik .....                                        | 47 |
| 3.2.       | Deney Hayvanlarının Bakımı .....                  | 47 |
| 3.3.       | DeneySEL Şizofreni Modeli Oluşturulması .....     | 48 |
| 3.4.       | Liraglutid Enjeksiyonu .....                      | 48 |
| 3.5.       | Kan Glukoz Değerlerinin Ölçümü .....              | 49 |
| 3.6.       | Deney Grupları .....                              | 50 |
| 3.7.       | Davranış Bataryası .....                          | 51 |
| 3.7.1.     | Duygusal Davranış Bataryası .....                 | 52 |
| 3.7.1.1.   | Açık Alan Düzeneği .....                          | 52 |
| 3.7.1.1.1. | Açık Alan Testi .....                             | 53 |
| 3.7.1.2.   | Yükseltilmiş Artı Düzenek .....                   | 53 |
| 3.7.1.2.1. | Yükseltilmiş Artı Düzenek Testi .....             | 54 |
| 3.7.2.     | Bilişsel Davranış Testi .....                     | 54 |
| 3.7.2.1.   | Morris Su Havuzu .....                            | 54 |
| 3.7.2.1.1. | Morris Su Havuzu Eğitim Denemeleri ve Testi ..... | 55 |

|          |                                                      |    |
|----------|------------------------------------------------------|----|
| 3.8.     | Western Blot Analizi .....                           | 56 |
| 3.8.1.   | Western Blot Analiz Aşamaları .....                  | 58 |
| 3.8.1.1. | Total Protein Numunelerinin Elde Edilmesi.....       | 58 |
| 3.8.1.2. | Total Protein Ölçümü .....                           | 58 |
| 3.8.1.3. | SDS Page Jelinin Hazırlanması .....                  | 61 |
| 3.8.1.4. | Proteinlerin Jel Üzerinde Yürütülmesi .....          | 62 |
| 3.8.1.5. | Jelin Membrana Aktarılması.....                      | 63 |
| 3.8.1.6. | Bloklama.....                                        | 64 |
| 3.8.1.7. | Birincil ve İkincil Antikorla İnkübasyon İşlemi..... | 64 |
| 3.8.1.8. | Görüntüleme .....                                    | 65 |
| 3.9.     | İstatistiksel Analiz.....                            | 66 |
| 4.       | BULGULAR .....                                       | 67 |
| 4.1.     | Somatik Büyüme .....                                 | 67 |
| 4.2.     | Kan Şekerleri.....                                   | 69 |
| 4.3.     | Duygusal Davranış Testleri.....                      | 71 |
| 4.3.1.   | Açık Alan Testi.....                                 | 71 |
| 4.3.2.   | Yükseltilmiş Artı Düzenek Testi .....                | 75 |
| 4.4.     | Bilişsel Davranış Testi .....                        | 80 |
| 4.4.1.   | Morris Su Havuzu Testi.....                          | 80 |
| 4.4.1.1. | Eğitim Denemeleri.....                               | 80 |

|                                                                            |     |
|----------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.4.1.2. Test .....                                                        | 85  |
| 4.5. Western Blot Analizi .....                                            | 87  |
| 5. TARTIŞMA.....                                                           | 97  |
| 5.1. Somatik Büyüme .....                                                  | 97  |
| 5.2. Kan Şekeri .....                                                      | 98  |
| 5.3. MK-801 ve Liraglutid'in Duygusal-Bilişsel Davranışlara Etkileri ..... | 99  |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....                                                 | 106 |
| KAYNAKLAR.....                                                             | 108 |

## TABLO LİSTESİ

|                                                                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 1. Şizofreninin klinik semptomları ile NMDA reseptör antagonistleriyle yapılan şizofreni benzeri hayvan modellerindeki bu semptomlara uygun değişimler..... | 35 |
| Tablo 2. Western blot tekniğinde kullanılan kimyasal ajanlar ve kodları.....                                                                                      | 57 |
| Tablo 3. Seyreltilmiş BSA standartlarının hazırlanması.....                                                                                                       | 60 |
| Tablo 4. Ayırıcı ve paketleyici jel hazırlamada kullanılan solüsyon ve hacimleri. ....                                                                            | 61 |
| Tablo 5. Vücut ağırlığı ortalamalarının gruplar arasında 7 haftalık değişimleri. ....                                                                             | 68 |
| Tablo 6. Kan şekeri ortalamalarının gruplar arasında 7 haftalık değişimleri. ....                                                                                 | 70 |
| Tablo 7. Gruplar arasında açık alan testindeki anksiyete benzeri davranış ölçütleri. ....                                                                         | 72 |
| Tablo 8. Gruplar arasında açık alan testindeki lokomotor aktivite ölçütleri. ....                                                                                 | 72 |
| Tablo 9. Gruplar arasında yükseltilmiş artı düzenek testindeki zaman ölçütleri. ....                                                                              | 76 |
| Tablo 10. Gruplar arasında yükseltilmiş artı düzenek testindeki davranış ölçütleri. ....                                                                          | 76 |

## ŞEKİL LİSTESİ

|                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1. NMDA reseptör alt birimleri.....                                                                   | 22 |
| Şekil 2. NMDA reseptörünün hücresel yapısı.....                                                             | 23 |
| Şekil 3. CREB’i fosforile eden ve CREB’in etkilediği faktörler. ....                                        | 28 |
| Şekil 4. NMDA ve Trk-B reseptörü ile aktive olan yollar. ....                                               | 32 |
| Şekil 5. Proglukagonun peptid sekanslaması ve farklı organlardaki bölünmeleri. ....                         | 38 |
| Şekil 6. GLP-1’in insan vücudundaki metabolik etkilerinin şematik gösterimi.....                            | 43 |
| Şekil 7. NMDA, Trk-B ve GLP-1 reseptör aktivasyonlarıyla ilişkili CREB aracılı hücresel sinyal yolları..... | 45 |
| Şekil 8. a. Yetişkin (8-10 haftalık) Balb/c fare. b. Farede tartım işlemi .....                             | 47 |
| Şekil 9. Farede kan şekeri ölçümü.....                                                                      | 49 |
| Şekil 10. Deney gruplarının oluşturulması. ....                                                             | 50 |
| Şekil 11. Deney akış şeması.....                                                                            | 51 |
| Şekil 12. Davranış bataryası.....                                                                           | 51 |
| Şekil 13. Açık alan düzeneği.....                                                                           | 52 |
| Şekil 14. Yükseltilmiş artı düzenek. ....                                                                   | 53 |
| Şekil 15. Morris su havuzu. ....                                                                            | 54 |
| Şekil 16. Total protein ölçümü.....                                                                         | 59 |
| Şekil 17. BSA standartlarının protein konsantrasyonuna karşılık gelen absorbans yanıt eğrisi.....           | 60 |
| Şekil 18. SDS Page jelinin yürütülmeye hazır hali.....                                                      | 62 |
| Şekil 19. Proteinlerin jel üzerinde yürütülmesi basamakları.....                                            | 63 |
| Şekil 20. Membran transferi için kullanılan Trans-blot Turbo cihazı. ....                                   | 63 |
| Şekil 21. Görüntüleme ekipmanları. ....                                                                     | 65 |
| Şekil 22. Gruplar arasında 7 haftalık vücut ağırlığı değişimi. ....                                         | 68 |
| Şekil 23. Gruplar arasında 7 haftalık kan şekeri değişimi. ....                                             | 70 |
| Şekil 24. Gruplar arasında açık alan testinde düzeneğin merkezinde geçirilen süre.....                      | 72 |

|                                                                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 25. Gruplar arasında açık alan testinde düzeneğin düzeneğin periferinden merkezine ilk geçiş latensi. .... | 73 |
| Şekil 26. Gruplar arasında açık alan testinde ayağa kalkma sıklığı.....                                          | 73 |
| Şekil 27. Gruplar arasında açık alan testinde merkezden geçme sıklığı. ....                                      | 74 |
| Şekil 28. Gruplar arasında açık alan testinde kat edilen mesafe. ....                                            | 74 |
| Şekil 29. Gruplar arasında yükseltilmiş artı düzenek testinde açık kola girme latensi. ....                      | 77 |
| Şekil 30. Gruplar arasında yükseltilmiş artı düzenek testinde açık kolda geçirilen zaman. ....                   | 77 |
| Şekil 31. Gruplar arasında yükseltilmiş artı düzenek testinde kapalı kolda geçirilen zaman. ....                 | 78 |
| Şekil 32. Gruplar arasında yükseltilmiş artı düzenek testinde açık kola giriş sıklığı. ....                      | 78 |
| Şekil 33. Gruplar arasında yükseltilmiş artı düzenek testinde toplam giriş-çıkış sıklığı.....                    | 79 |
| Şekil 34. Gruplar arasında yükseltilmiş artı düzenek testinde açık koldan aşağı baş uzatma sıklığı.....          | 79 |
| Şekil 35. Morris su havuzu testinde platformu bulma süresi.....                                                  | 82 |
| Şekil 36. Morris su havuzu eğitim denemelerinde yüzmeye hızı. ....                                               | 84 |
| Şekil 37. Morris su havuzu testinde hedef kadranda geçirilen süre. ....                                          | 85 |
| Şekil 38. Morris su havuzu testinde yüzmeye hızı. ....                                                           | 86 |
| Şekil 39. Western blot analizinde hipokampüse ait görüntü.....                                                   | 88 |
| Şekil 40. Hipokampusta, western blot testinde kat değişimi. ....                                                 | 90 |
| Şekil 41. Hipokampusta, western blot testinde BDNF/Trk-B oranı. ....                                             | 91 |
| Şekil 42. Hipokampusta, western blot testinde p-CREB/CREB oranı. ....                                            | 91 |
| Şekil 43. Western blot analizinde prefrontal kortekse ait görüntü. ....                                          | 93 |
| Şekil 44. Prefrontal kortekste, western blot testinde kat değişimi.....                                          | 95 |
| Şekil 45. Prefrontal kortekste, western blot testinde BDNF/Trk-B oranı.....                                      | 96 |
| Şekil 46. Prefrontal kortekste, western blot testinde p-CREB/CREB oranı.....                                     | 96 |

## KISALTMA LİSTESİ

|               |                                                                |
|---------------|----------------------------------------------------------------|
| <b>AMPA</b>   | : $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metilisoksazol-4 propionik asit |
| <b>APS</b>    | : Amonyum Persülfat                                            |
| <b>BDNF</b>   | : beyin kaynaklı nörotrofik faktör                             |
| <b>CaMK</b>   | : $Ca^{2+}$ /kalmoduline bağımlı protein kinaz                 |
| <b>CBP</b>    | : CREB bağlayıcı protein                                       |
| <b>CGRP</b>   | : kalsitonin gen-ilişkili peptid                               |
| <b>CNV</b>    | : gen kopya sayısı varyantı analizi                            |
| <b>COMT</b>   | : katekol-O-metiltransferaz                                    |
| <b>CRE</b>    | : cAMP yanıt elemanı                                           |
| <b>CREB</b>   | : cAMP yanıt elemanı bağlayıcı protein                         |
| <b>CRTC</b>   | : CREB tarafından düzenlenen transkripsiyon ko-aktivatörü      |
| <b>DAG</b>    | : diaçil gliserol                                              |
| <b>DISC1</b>  | : disrupted in schizophrenia 1                                 |
| <b>DPP-IV</b> | : dipeptidil peptidaz-IV                                       |
| <b>DTNBP1</b> | : disbindin                                                    |
| <b>ECL</b>    | : enhanced chemi luminescence                                  |
| <b>FGF-6</b>  | : fibroblast büyüme faktörü-6                                  |
| <b>GABA</b>   | : gamma-amino bütirik asit                                     |
| <b>GAD 67</b> | : glutamik asit dekarboksilaz 67                               |
| <b>GIP</b>    | : glukoz bağımlı insülinotropik polipeptid                     |
| <b>GİS</b>    | : gastrointestinal sistem                                      |
| <b>GLP-1</b>  | : glukagon benzeri peptid-1                                    |

|                                |                                                |
|--------------------------------|------------------------------------------------|
| <b>GLP-1R</b>                  | : GLP-1 reseptörü                              |
| <b>GPRC</b>                    | : G protein-bağlı reseptör                     |
| <b>GRP</b>                     | : gastrin salgılatıcı peptid                   |
| <b>GRPP</b>                    | : glisentin ilişkili polipeptid                |
| <b>GSK-3<math>\beta</math></b> | : glikojen sentaz kinaz-3 $\beta$              |
| <b>IL</b>                      | : interlökin                                   |
| <b>IP-2</b>                    | : intervening peptid-2                         |
| <b>IP<sub>3</sub></b>          | : inositol trifosfat                           |
| <b>ip.</b>                     | : intraperitoneal                              |
| <b>iv.</b>                     | : intravenöz                                   |
| <b>LSD</b>                     | : liserjik asit dietilamidin                   |
| <b>LTD</b>                     | : uzun süreli depresyon                        |
| <b>LTP</b>                     | : uzun süreli güçlenme                         |
| <b>MAPK</b>                    | : mitojenle aktifleşen protein kinaz           |
| <b>MEK</b>                     | : mitojen/hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz |
| <b>MK-801</b>                  | : dizosilpin                                   |
| <b>mPFC</b>                    | : medyal prefrontal korteks                    |
| <b>MPGF</b>                    | : majör proglukagon parçası                    |
| <b>MSK-1</b>                   | : stresle ilişkili kinaz 1                     |
| <b>MSS</b>                     | : merkezi sinir sistemi                        |
| <b>NEP</b>                     | : nötral endopeptidaz                          |
| <b>NGF</b>                     | : nörotrofin sinir büyüme faktörü              |
| <b>NMDA</b>                    | : N-metil D-aspartat                           |
| <b>NMDAR</b>                   | : NMDA reseptörü                               |
| <b>Nrf-2</b>                   | : nükleer faktör eritrioid ilişkili faktör-2   |

|                                |                                  |
|--------------------------------|----------------------------------|
| <b>NRG1</b>                    | : neuregulin 1                   |
| <b>NT-3</b>                    | : nörotrofin-3                   |
| <b>p75<sup>NTR</sup></b>       | : pan75 nörotrofin reseptörü     |
| <b>p-CREB</b>                  | : fosfo-CREB                     |
| <b>PCSK1</b>                   | : prohormon dönüştürücü enzim 1  |
| <b>PEPCK</b>                   | : fosfoenolpirüvat karboksikinas |
| <b>PET</b>                     | : pozitron emisyon tomografisi   |
| <b>PI3K</b>                    | : fosfatidilinositol-3 kinaz     |
| <b>PKA</b>                     | : protein kinaz A                |
| <b>PLC-<math>\gamma</math></b> | : fosfolipaz C- $\gamma$         |
| <b>PP1</b>                     | : protein fosfataz 1             |
| <b>PTEN</b>                    | : fosfataz tensin homologu       |
| <b>PTZ</b>                     | : pentazolamin                   |
| <b>sc.</b>                     | : subkutan                       |
| <b>SF</b>                      | : serum fizyolojik               |
| <b>SGLT-1</b>                  | : sodyum-glukoz taşıyıcısı-1     |
| <b>STZ</b>                     | : streptozotosin                 |
| <b>TBS</b>                     | : Tris Buffered Saline           |
| <b>TEMED</b>                   | : tetrametiletildiamin           |
| <b>TGS</b>                     | : Tris/Glycine/SDS               |
| <b>Trk-B</b>                   | : tirozin reseptör kinaz-B       |

## ÖZET

### **MK-801 ile Oluşturulan DeneySEL Şizofreni Benzeri Davranış Modelinde GLP-1 Agonisti Liraglutid'in CREB, BDNF, Trk-B Ekspresyonları ile Duygusal-Bilişsel Davranışlar Üzerine Etkisi**

GLP-1 agonisti Liraglutid'in nöroprotektif etkileri bilinmesine rağmen MK-801 aracılı NMDA reseptör antagonizmasına bağlı etkileri üzerine literatürde çalışma bulunmamaktadır. Sunulan çalışmamızda MK-801 ile oluşturulan deneySEL şizofreni benzeri davranış modelinde Liraglutid'in CREB, BDNF, Trk-B ekspresyonları ve duygusal-bilişsel davranışlar üzerine etkisi araştırıldı.

Bu amaçla 8-10 haftalık erkek Balb/c farelere (n=78) 7 hafta boyunca, günde 1 defa MK-801 (0,25 mg/kg, 0,1 mL/kg vücut ağırlığı) ve/veya Liraglutid (300 mcg/kg) enjeksiyonu intraperitoneal olarak yapıldı. Kontrol grubuna aynı hacimde serum fizyolojik uygulandı. Gruplar iki enjeksiyon arasında 30 dakika olacak şekilde SF+SF, MK-801+SF, Liraglutid+SF, MK-801+Liraglutid ve Liraglutid+MK-801 olarak oluşturuldu. Enjeksiyonu takiben açık alan testi, yükseltilmiş artı düzenek testi ve Morris su havuzu testi ile duygusal ve bilişsel davranışları değerlendirildi. Her gruptan davranış deneylerine alınmayan farelerin hipokampus ve prefrontal korteksleri izole edilerek Western blot tekniği ile BDNF, Trk-B, CREB ve p-CREB ekspresyonları değerlendirildi.

Çalışmamızda, farelerde MK-801 duygusal-bilişsel işlevlerde bozulmaya neden oldu. MK-801 ile prefrontal kortekste p-CREB/CREB oranı arttı ( $p<0,001$ ). MK-801+Liraglutid gruplarında, Liraglutid, MK-801'in bilişsel davranışlar üzerindeki olumsuz etkisini düzeltemedi. Liraglutid uygulaması, prefrontal kortekste MK-801 ile artan p-CREB/CREB oranını azalttı ( $p<0,001$ ), hipokampüste BDNF/Trk-B oranını artırdı ( $p<0,001$ ). Liraglutid+MK-801 gruplarında, Liraglutid'in uzaysal öğrenme ve bellek aktivitesindeki olumlu etkileri MK-801 uygulamasından etkilenmedi. Liraglutid uygulaması hipokampüste BDNF/Trk-B oranı ve p-CREB/CREB oranını, prefrontal kortekste ise p-CREB/CREB oranını SF uygulanan kontrol grubu seviyesine azalttı.

Sonuçta, Liraglutid'in NMDA reseptör blokajının neden olduğu duygusal ve bilişsel davranışları değiştirmede ancak bilişsel davranışlardaki bozulmaya karşı koruyucu etki gösterdiği düşünülebilir. Ayrıca, hipokampus ve prefrontal kortekste GLP-1 reseptörlerinin NMDA reseptör aktivitesinin modülasyonunda CREB aktivasyonu/deaktivasyonu aracılığı ile rol oynadığı ileri sürülebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Açık Alan Testi, BDNF, Liraglutid, MK-801, Morris Su Havuzu, Şizofreni, Trk-B, Yükseltilmiş Artı Düzenek.

## **ABSTRACT**

### **The Effect of GLP-1 Agonist Liraglutide on Emotional-Cognitive Behaviors with CREB, BDNF, Trk-B Expressions in Experimental Schizophrenia-Like Behavior Model Induced by MK-801**

Although the neuroprotective effects of GLP-1 agonist Liraglutide are known, its effect on MK-801-mediated NMDA receptor antagonism have not been demonstrated in the literature. In our presented study, the effects of Liraglutide on CREB, BDNF, Trk-B expressions and emotional-cognitive behaviors were investigated in an experimental schizophrenia-like behavior model induced by MK-801.

For that purpose, 8-10 weeks old male Balb/c mice (n=78) were injected with MK-801 (0.25 mg/kg, 0.1 mL/kg body weight) and/or Liraglutide (300 mcg/kg body weight) intraperitoneally once a day for 7 weeks. The same volume of saline was administered to the control group. Mice were randomly divided into 5 groups: Saline+Saline, MK-801+Saline, Liraglutide+Saline, MK-801+Liraglutide cotreatment and Liraglutide+MK-801 cotreatment. The time interval between each drug administration in all situations was 30 minutes. Following the injection emotional and cognitive behaviors were evaluated with the open field test, the elevated plus maze and the Morris water maze test. The hippocampus and prefrontal cortex of the mice that were not included in the behavioral experiments from each group were isolated and BDNF, Trk-B, CREB and p-CREB expressions were evaluated by Western blotting.

In our study, MK-801 administration in mice caused impairment in emotional and cognitive functions. MK-801 increased the p-CREB/CREB ratio in the prefrontal cortex ( $p<0.001$ ). In the MK-801+Liraglutide groups, Liraglutide could not reverse the negative effect of MK-801 on cognitive behaviors. Liraglutide administration decreased the p-CREB/CREB ratio in the prefrontal cortex and increased the BDNF/Trk-B ratio in the hippocampus ( $p<0.001$ ) that increased by MK-801 administration ( $p<0.001$ ). In the Liraglutide+MK-801 groups, the positive effects of Liraglutide on spatial learning and memory activity were not affected by MK-801 administration. Liraglutide administration returned the BDNF/TrkB and p-CREB/CREB ratio in the hippocampus, the p-CREB/CREB ratio in the prefrontal cortex to the control group level.

In conclusion, it can be assumed that Liraglutide does not change the emotional and cognitive behaviors caused by NMDA receptor blockade, but it has a protective effect against the impairment on cognitive behaviors. In addition, it can be suggested that in the hippocampus and prefrontal cortex, GLP-1 receptors play a role in the modulation of NMDA receptor activity through CREB activation/deactivation.

**Keywords:** BDNF, Elevated Plus Maze, Liraglutide, MK-801, Morris Water Maze, Open Field Test, Schizophrenia, Trk-B.

## 1. GİRİŞ

Şizofreni, kendisini delüzyon, halüsinasyon, sosyal geri çekilme, anhedoni, bilişsel fonksiyonlarda kayıp gibi karmaşık semptomlarla gösteren, ilerleyici nöropsikiyatrik bir sendromdur<sup>(1)</sup>. Etiyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte genetik, çevresel ve sosyal faktörlerin bir arada bulunduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalara bakıldığında şizofreni hastalarının birinci ve ikinci derece akrabalarında şizofreniye yatkınlığın arttığı saptanmıştır. Yapılan genetik analizlerle şizofreniye yatkınlık genleri bulunmasına rağmen tüm hastaların kromozomlarında bu yatkınlık genlerini taşıdıkları gösterilememiştir<sup>(1)</sup>. Bununla birlikte hipoksi ve asfiksi sonucu oluşan perinatal anomaliler, intrauterin enfeksiyonlar, özellikle nörotransmitter sistemlerinde olmak üzere beyin kimyasında anormallikler gibi çevresel faktörler ve düşük sosyoekonomik düzey, medeni durum, stresli yaşam gibi sosyal faktörler de şizofreni etiyolojisi içinde sayılabilir<sup>(2)</sup>.

Dünya çapında her yıl yaklaşık 2 milyon yeni vakanın ortaya çıktığı tahmin edilmektedir<sup>(3)</sup>. Şizofreninin etiyolojik olarak nedenlerinin tam olarak bilinmemesi, hastalıktan muzdarip kişinin ve bakım verenlerinin yaşadığı psikososyal ve maddi kayıplar, güncel şizofreni tedavilerinin hastalığın tüm semptomlarını gidermedeki eksiklikleri ve güncel farmakoterapinin yaygın görülen yan etkilerinin çokluğu nedeniyle günümüzde şizofreni araştırmaları popülerliğini korumaktadır.

Şizofreni fizyopatolojisiyle ilgili yapılan araştırmalarda dikkat çeken nörotransmitterlerden biri glutamattır. Bilindiği gibi glutamat beyin gelişiminde, nöronal büyüme-farklılaşma süreçlerinde, aksonal dallanmada, nöroplastisitede ve sinaptik etkinliklerin düzenlenmesinde görev almaktadır. Şizofreni fizyopatolojisinde rol alan esas glutamat reseptörü iyonotropik N-metil D-aspartat (NMDA) reseptörleri olup yapılan çalışmalar ile şizofrenide NMDA reseptör hipofonksiyonunu destekleyen kanıtlar gösterilmiştir<sup>(4)</sup>. Deneysel olarak NMDA reseptör hipofonksiyonu oluşturmak için kemirgenlerde daha çok ketamin, fensiklidin, dizosilpin (MK-801) gibi yarışmasız

NMDA reseptör antagonistleri kullanılmaktadır<sup>(5)</sup>. Örneğin ketamin ve fensiklidin insanlarda halüsinasyon, sanrı, konuşma dağarcığında azalma, bilişsel işlevlerde bozulma gibi semptomlara neden olurken, kemirgenlerde lokomotor aktivite artışı, sosyal geri çekilme, stereotipik hareketler, kognitif fonksiyonlarda kötüleşme gibi yanıtlarla karakterizedir<sup>(6, 7)</sup>.

Uzun süreli güçlenme (LTP), günümüzde öğrenme-bellek oluşumunun temel hücresel mekanizması olarak kabul görmektedir ve NMDA reseptörlerinin aktivasyonu LTP oluşumu için gereklidir<sup>(8)</sup>. NMDA reseptörleri aracılığıyla hücre içine giren yüksek miktardaki  $Ca^{2+}$ , protein kinaz aktivasyonuna neden olarak cAMP yanıt elemanı bağlayıcı protein (CREB)'in fosforilasyonunu sağlar ve bu şekilde LTP oluşur<sup>(9, 10)</sup>. CREB, genlerin transkripsiyonunu artırmak veya azaltmak yoluyla nöroplastisiteyi modüle eden nükleer bir transkripsiyon faktörüdür<sup>(11)</sup>. Literatüre bakıldığında CREB gen ifadesinin durdurulmasının, hipokampus ve striatumda nöronal dejenerasyona yol açarak şizofreni, Alzheimer hastalığı ve depresyon gibi nörodejeneratif ve psikiyatrik hastalıkların gelişimine katkıda bulunduğu gösterilmiştir<sup>(12)</sup>. CREB, hücre içinde fosforile hali olan fosfo-CREB (p-CREB) ile aktif konumda bulunur ve bu haliyle nörotrofik faktörlerin ana düzenleyicilerindendir. Örneğin p-CREB, nörotrofin ailesinin en bilinen üyelerinden biri olan ve beyinde yaygın bir şekilde bulunan beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF)'in promoter bölgesine bağlanarak BDNF'in transkripsiyonunda rol oynar<sup>(13)</sup>. BDNF, reseptörü tirozin reseptör kinaz-B (Trk-B) üzerinden uyarıcı ve baskılayıcı tipte sinapsların sayısını artırır, aksonal morfolojiyi düzenler ve sinaptik süreçlerde rol alır. BDNF sinyalinde bir bozukluk olması, nörogenezde ve sinaptik iletimde aksaklıklara sebebiyet verir. Bu durum da beyin fonksiyonlarının düzensizleşmesine ve sonuç olarak şizofreni gibi nöropsikiyatrik hastalıkların gelişimine neden olabilir<sup>(9)</sup>. Rizos ve ark.nın yaptığı çalışmada, şizofreninin başlangıç dönemlerinde serum BDNF seviyesinin azalmasının uzun süreli psikozlarla ilişkili olduğu ve bunun da şizofrenideki nörodejeneratif süreçte rol alabileceği gösterilmiştir<sup>(14)</sup>. Şizofrenide öğrenme ve bellek süreçlerinde bozulma hastaların yaklaşık %80'ini etkileyen önemli bir sorundur<sup>(15)</sup>.

Glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1)'in glukoz homeostazı üzerindeki etkilerinin yanı sıra kan-beyin bariyerini geçerek bilişsel işlev performansında artışa katkıda

bulunduğu gösterilmiştir<sup>(15)</sup>. Deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalarla, Liraglutid gibi GLP-1 reseptör agonistlerinin özellikle hipokampüste LTP'yi kolaylaştırarak öğrenmeyi ve hafıza performansını geliştirebildiği, anksiyete ve depresyonu azaltıcı etkiler gösterebildiğine dair kanıtlar bulunmuştur<sup>(16)</sup>. During ve ark.nın sıçanlarda yaptıkları bir çalışmada, GLP-1'in Morris su havuzu testinde ve pasif sakınma testinde öğrenme ve hafıza performansını geliştirdiği saptanmıştır<sup>(17)</sup>. Aynı zamanda GLP-1'in duygudurum bozukluklarıyla giden depresyon ve anksiyete gibi durumlarda da etkili olduğu bulunmuştur. Literatürde çalışılan bir epilepsi modelinde, GLP-1 agonisti Liraglutid'in yükseltilmiş artı düzenek, kuyruktan asma testi ve pasif sakınma testlerinde olumlu sonuçlar göstermesiyle anksiyete ve depresyon düzeyinde azaltıcı özelliklerine vurgu yapılmıştır<sup>(18)</sup>. GLP-1, söz edilen nöroprotektif etkilerini GLP-1 reseptörü ile cAMP artışıyla protein kinaz A'yı aktive ederek gösterir<sup>(19)</sup>. Beraberinde hücre sağ kalımı, proliferasyonu ve farklılaşmasıyla ilgili sinyal yolları da aktifleterek bu sürece katkıda bulunur. Yapılan çalışmalarla bu sinyal yollarının aktivasyonunun p-CREB üzerinden BDNF ve reseptörü Trk-B ekspresyonlarını da artırdığı gösterilmiştir<sup>(20, 21)</sup>.

Şizofreninin karmaşık bir nöropsikiyatrik hastalık olup etkili bir tedavi yönteminin bulunmayışı ve Liraglutid'in literatürde gösterilen davranışsal ve moleküler olarak olumlu etkilerinden yola çıkarak hipotezimiz "MK-801 ile oluşturulan deneysel şizofreni benzeri davranış modelinde Liraglutid'in CREB, BDNF, Trk-B ekspresyonları ile duygusal-bilişsel davranışlar üzerine etkisi vardır." şeklinde kuruldu. Çalışmamızda MK-801 ile oluşturulan deneysel şizofreni benzeri davranış modelinde Liraglutid'in CREB, BDNF, Trk-B ekspresyonları ile duygusal-bilişsel davranışlar üzerine etkisinin araştırılması amaçlandı.

Bu amaçla yetişkin erkek Balb/c farelere 45 gün süreyle MK-801 ve Liraglutid enjeksiyonları yapıldıktan sonra davranış deneylerine alındılar. Açık alan testi ile anksiyete benzeri yanıtları ve lokomotor aktiviteleri, yükseltilmiş artı düzenek testi ile anksiyete benzeri davranışları, Morris su havuzu testi ile öğrenme-bellek yanıtları değerlendirildi. Moleküler düzeyde ise hipokampus ve prefrontal korteks dokularında western blot analizi ile BDNF, Trk-B, CREB ve p-CREB ekspresyon düzeyleri araştırıldı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Şizofreni

Şizofreni dünya çapında yaklaşık %1 oranında görülen, sıklıkla belirgin sanrı ve varsanılarla kendini gösteren, kognitif, emosyonel ve diğer birtakım fonksiyonel bozukluklarla ilerleyen kronik bir nöropsikiyatrik sendromdur<sup>(5, 22)</sup>. Şizofreni kelimesi Yunancada ayrılmış-parçalanmış anlamına gelen “şizo” ve akıl anlamına gelen “frenos” sözcüklerinin bir araya gelmesiyle oluşmuştur<sup>(23)</sup>. Tarihçesi Hipokrat’a kadar dayanmasına rağmen tam olarak tanımı 1900’lü yılların başında yapılmıştır<sup>(24)</sup>. Şizofreni tüm toplumlarda ve coğrafyalarda görülmekle birlikte sıklığı ve yaygınlığı konusunda kesin bir veri yoktur. Örneğin Amerika’da yapılan geniş çaplı bir araştırmada şizofreni ve şizofreniform bozukluğun prevalansının %1, insidansının ise %1,5 civarında olduğu gösterilmiştir<sup>(1)</sup>. Türkiye’de yapılan başka bir sistemik incelemede ise şizofreninin insidansının her 1000 kişide 8,9 olduğu saptanmıştır<sup>(25)</sup>. Dünya sağlık örgütünün verileri incelendiğinde ise Avrupa ve Asya’da şizofreni sıklığının %0,85 olduğu bildirilmektedir<sup>(26)</sup>. Ülkemizde ise yaklaşık 350 bin şizofreni hastasının olduğu düşünülmekle beraber bakım verenler de sisteme dahil edildiğinde yaklaşık 1 milyon kişinin bu durumdan etkilendiği sonucuna varılabilir<sup>(27)</sup>.

Şizofreninin etiyolojisi belirgin olmamakla birlikte genetik, çevresel ve sosyal faktörlerin birlikte rol aldığı söylenebilir. Yapılan çalışmalarda şizofreni görülme riskinin, şizofreni hastalarının biyolojik akrabalarında daha yüksek olduğu gösterilmiştir<sup>(22)</sup>. Hatta şizofreni hastalarının birinci derece akrabalarında normal topluma göre şizofreni görülme riskinin 10 kat arttığı bulunmuştur<sup>(1)</sup>. Şizofreni aynı zamanda nörogelişimsel bir hastalık olarak kabul edilir, çünkü çevresel risk faktörleri genelde perinatal dönemde yoğunlaşır<sup>(24)</sup>. Hamilelik ve doğum komplikasyonları, Rh faktör uyumsuzluğu, intrauterin enfeksiyonlar, madde kullanımı gibi etmenler çevresel risk faktörleri arasında sayılabilir. Nörogelişimsel hipoteze göre genetik ve erken çevresel faktörlerin bir araya gelmesiyle nöronal büyüme, sağ kalım, farklılaşma, sinaps oluşumu,

apoptozda bozulma neticesinde nöron gelişimi olumsuz yönde etkilenmektedir. Perinatal dönemde nöron gelişiminde görülen bu aksaklıklar belli bir sessiz dönem sonrası erken erişkinlik döneminde şizofreninin ortaya çıkmasında rol alıyor gibi görünmektedir<sup>(28)</sup>. Şizofreni, genç yaşta başlaması, ilerleyici olması, hastanın ve bakım veren kişinin günlük yaşamını zorlaştırması, mevcut farmakoterapilerin kesin tedaviyi sağlayamaması ve ilaca uyumun zor olması gibi nedenlerle birçok açıdan toplum üzerinde maddi ve manevi yük oluşturmaktadır<sup>(27)</sup>.

Şizofreni çoğunlukla erken çocukluk-ergenlik döneminde başlar. En sık 15-40 yaş aralığında görülür. Kadın ve erkeklerde görülme oranları eşit olmakla beraber genelde erkeklerde kadınlardan daha genç yaşta başlar<sup>(1)</sup>. 10 yaşından önce ve 45 yaşından sonra şizofreni görülme olasılığı son derece düşüktür<sup>(3)</sup>. Şizofreni hastalarında bekar ya da boşanmış olmak en sık izlenen medeni durum olarak göze çarpmaktadır. Özellikle erkek hastalarda bekar ya da boşanmış olma durumu daha çok görülmektedir<sup>(1)</sup>. Bununla birlikte düşük sosyoekonomik düzeyin de şizofreni sıklığını artırdığı çalışmalarda gösterilmektedir. Bunun nedeni olarak bakım yetersizliği sonucu enfeksiyonlara yatkınlığın artması ve genetik olarak da ebeveynlerden alt kuşaklara şizofreniye yatkınlık genlerinin aktarılmasında düşük sosyoekonomik sınıflara doğru bir kayma olabileceği üzerinde durulmaktadır<sup>(28, 29)</sup>. Ayrıca şizofreni ile çağımızın en büyük sorunlarından biri olan diabetes mellitus birlikteliği sık görülmekte olup şizofreni, tip 2 diyabet gelişimi için bir risk etkeni olarak kabul edilmektedir<sup>(30)</sup>. Buna ek olarak şizofreni tedavisinde sıklıkla kullanılan atipik antipsikotiklerde artmış diyabet ve metabolik sendrom riski saptanmıştır<sup>(31)</sup>.

Şizofreninin klinik özellikleri arasında halüsinasyonlar(sanrı), hezeyanlar(varsanı), katatonik davranışlar, dizorganize konuşma (baskılı konuşma, fikir uçuşmaları, ekolali vb.) gibi pozitif semptomlar; duygusal küntleşme, sosyal geri çekilme, cinsel isteksizlik, üşengeçlik, düşünme ve konuşma yetisinde yetersizlik gibi negatif semptomlar; dikkat ve konsantrasyon bozukluğu, bellekte zayıflama gibi bilişsel semptomlar sayılabilir. Genellikle oryantasyon korunmuştur. Kronik şizofreni hastalarının bazılarında amaçsız ve tuhaf hareketlerin tekrarlanması şeklinde kendini gösteren “stereotipik” hareketler görülmektedir. Şizofreni, hastaların yaklaşık %70’inde negatif belirtilerle başlarken,

%7'si pozitif, %20'sinde ise negatifle pozitif belirtiler birlikte başlamaktadır<sup>(28)</sup>. DSM-V kriterlerine göre, sayılan negatif-pozitif ve kognitif belirtilerin bir aylık periyotta sıklıkla gözlenmesi ve bu bulguların en az altı ay boyunca sürüyor olması şizofreni tanısının koyulabilmesi için önemlidir<sup>(28)</sup>.

Yapılan postmortem çalışmalarla, şizofreni hastalarının beyinlerinden alınan spesifik kesitler immunohistokimyasal olarak incelenmiş ve MR görüntülemeleriyle görüntülenmiştir. Korpus kallozum, talamus, prefrontal ve orbitofrontal korteks, hipokampus, amigdala, parahipokampal girus, superior temporal girus gibi özellikle limbik sistem ve asosiyasyon korteksleri başta olmak üzere kortikal volümle total nöron sayısının azaldığı fark edilmiştir<sup>(32,33)</sup>. Ayrıca şizofreni hastalarında hem gri hem de beyaz cevheri kapsayan total beyin hacmi azalmıştır. Beyaz cevher kaybı hastalık süresince sabit seyrederken, gri cevher kaybı hastalık ilerledikçe derinleşmektedir<sup>(34)</sup>. Özellikle süperior prefrontal korteks<sup>(35)</sup> ve çift taraflı hipokampüsteki<sup>(36)</sup> beyaz cevher miktarının azalmasının oligodendrosit miktarının azalmasıyla ilişkili olduğu saptanmıştır.

### **2.1.1. Şizofreni Fizyopatolojisi**

Şizofreni fizyopatolojisiyle ilgili ortaya atılan ilk iddia dopaminerjik hipotez ile ilgilidir. Dopamin merkezi sinir sistemindeki (MSS) katekolaminlerin çoğunu oluşturan, üzerinde en çok çalışılmış nörotransmitterlerden biridir ve haz, ödül, istek, motivasyon, dikkat, öğrenme, duysal-motor koordinasyon, hareketin başlatılması, bilişsel işlevler gibi fonksiyonlarla ilişkilendirilmektedir. Dopaminerjik hipotez, 1950'lerde antipsikotik bir ilaç olan klorpromazinin ilk olarak bulantı ve alerji tedavisi için kullanımı ve ardından bu ilacın şizofreninin pozitif semptomlarını düzeltmesinin görülmesiyle ortaya çıkmıştır<sup>(37)</sup>. Şizofreni hastalarına amfetamin verilmesinin belirtileri şiddetlendirdiği, sağlıklı insanlarda amfetamin kullanımının ise psikoz tablosu oluşturduğunun fark edilmesi ve amfetaminin dopamini artırdığının gösterilmesiyle şizofrenide aşırı dopamin salınımının rolü olabileceği düşünülmüştür<sup>(22)</sup>. Aynı yıllarda Parkinson hastalarının tedavisinde kullanılan, dopamin düzeyini artıran L-dopa isimli ilacın hastalarda şizofreni benzeri belirtiler oluşturduğu gösterilmiştir. İlerleyen yıllarda yeni keşfedilen dopamin antagonisti antipsikotiklerin de şizofreninin pozitif semptomlarını düzeltmesiyle dopamin

hipotezi önemini artırmıştır. Ancak dopamin D<sub>2</sub> reseptörüne afinitesi çok az olan klozapinin şizofreni tedavisinde etkili olduğunun bulunması ve bazı şizofreni hastalarının serum ve beyin omurilik sıvılarında dopamin miktarının normal seviyelerde olduğunun tespit edilmesi dopamin hipoteziyle çelişki yaratmıştır. Yapılan pozitron emisyon tomografisi (PET) çalışmaları ile şizofrenide pozitif semptomların, mezolimbik dopamin yolağının hiperaktivitesinden kaynaklanan striatal dopamin D<sub>2</sub> reseptörünün aşırı aktivitesi ile oluştuğu gösterilmiştir<sup>(38)</sup>. Aynı zamanda negatif ve bilişsel semptomların ise mezokortikal dopamin yolağının azalmış aktivitesi nedeniyle prefrontal kortekste dopamin D<sub>1</sub> reseptörünün hipostimülasyonundan kaynaklandığı bildirilmiştir<sup>(38, 39)</sup>.

Dopaminerjik hipotezdeki sınırlamalardan dolayı şizofreni fizyopatolojisinde başka nörotransmitterlerin de rolü olabileceği düşünülmüştür. Halüsinojenik bir madde olan liserjik asit dietilamidin (LSD) etki mekanizması ve serotonin reseptörleriyle ilişkisinin araştırılmasıyla şizofrenide serotonerjik hipotez gündeme gelmiştir<sup>(40)</sup>. Şizofreni fizyopatolojisinde halen serotoninle ilgili kesin kanıtlar bulunmamaktadır. Fakat MSS'deki bazı bölgelerden kaynaklanan strese bağlı serotoninin aşırı salınımının şizofrenide kortikal nöronların aktivitesini bozabileceği ileri sürülmüştür<sup>(40)</sup>. Bununla birlikte serotonin reseptör antagonistleri klozapin, olanzapin ve risperidon gibi atipik antipsikotiklerin şizofreni tedavisinde etkili olduğu bilinmektedir ve günümüzde etkin olarak kullanılmaktadır.

Şizofreni fizyopatolojisinde glutamat, gamma-amino bütirik asit (GABA), serotonin gibi nörotransmitterler, nikotik(özellikle  $\alpha$ -7 tipi) ve muskarinik reseptörler, histamin H<sub>3</sub> reseptörü,  $\alpha$  adrenerjik reseptörler, endokannabinoid sistem, inflamasyon ve oksidatif stresin de etkisi yapılan ileri araştırmalarla desteklenmektedir<sup>(37)</sup>.

#### **2.1.1.1. Şizofreni Fizyopatolojisinde Glutamaterjik Hipotez**

Glutamat, MSS'nin temel eksitator nörotransmitteri olarak kabul edilmektedir. Glutamat beyin gelişiminde, nöronal gelişim ve farklılaşmada, akson oluşumunda, nöroplastisitede, sinaptik etkinliklerin düzenlenmesinde görev almaktadır. Öğrenme-

bellek mekanizmalarında, algı ve kognisyon gibi birçok fizyolojik fonksiyonda adı geçen majör nörotransmitterlerdendir.

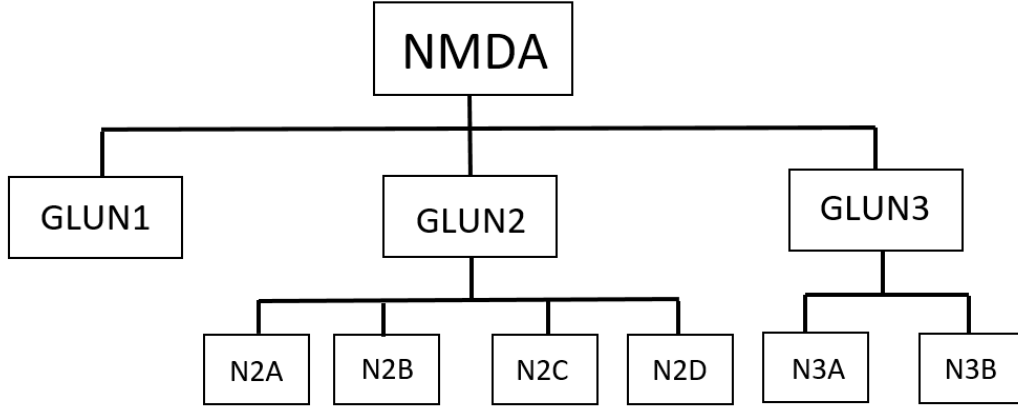
Glutamatın metabotropik ve iyonotropik reseptörler olmak üzere iki reseptör alt tipi bulunmaktadır. Bu ayrım moleküler yapıları, elektrofizyolojik ve farmakolojik özelliklerine göre yapılmıştır. Metabotropik reseptör ailesi (mGluR<sub>1-8</sub>) ikincil haberci sistemleri aracılığıyla iyon kanallarını kontrol eden G protein eşlenik reseptörlerdir. Uyarılmaları ile hücre içi inositol trifosfat (IP<sub>3</sub>) ve diaçil gliserol (DAG) miktarlarını artırıp Ca<sup>2+</sup> salınımını sağlarlar<sup>(41)</sup>. İyonotropik reseptörler ise kendi içerisinde yüksek afiniteli seçici ligandlara duyarlılıklarına göre<sup>(24)</sup> N-metil D-aspartat,  $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metilisoksazol-4 propionik asit (AMPA) ve kainat reseptörleri olmak üzere 3 gruba ayrılır. İyonotropik reseptörler, Na<sup>+</sup> ve Ca<sup>2+</sup> geçirgenliğini sağlayan katyon kanalları olarak çalışırlar. AMPA ve kainat reseptörleri özellikle Na<sup>+</sup> geçişi ile postsinaptik hücrede hızlı bir nörotransmisyon sağlarlar. NMDA reseptörü (NMDAR) ise diğer ikisine göre daha yavaştır.

Şizofreninin glutamaterjik hipotezinde esas rol alan glutamat reseptörü NMDA reseptörleridir. Ancak diğer iyonotropik ve metabotropik reseptörlerin de NMDA reseptörlerini etkileyebilme özellikleri olduğu bilindiğinden herhangi bir glutamat reseptörünün bozukluğu da NMDA reseptör fonksiyon bozukluğuna sebebiyet verebilir<sup>(42)</sup>.

#### **2.1.1.1.1. NMDA Reseptörü**

NMDA reseptörünün 7 farklı gen tarafından kodlanan 3 temel alt birimi bulunur (Şekil 1). GLUN1 reseptörü GRIN1 geni, GLUN2A-D 4 adet GRIN2 geni, GLUN3A-B ise 2 adet GRIN3 geni tarafından kodlanır<sup>(43)</sup>. Bu alt birimlerdeki yapısal ve fonksiyonel çeşitlilik farklı farmakolojik ve biyofiziksel özelliklere sahip NMDA reseptörlerini oluşturur. NMDA reseptörleri, iki GLUN2 alt birimi veya GLUN2 ve GLUN3 alt birimlerinin bir kombinasyonuna sahip iki zorunlu GLUN1 alt biriminden oluşan tetraheteromerik yapılardır<sup>(4, 44)</sup>. Ancak son yıllarda birçok kanıt triheteromerik NMDA reseptörlerinin de olduğunu göstermektedir (Ör: GLUN1/2A/2B, GLUN1/2B/2D gibi)<sup>(45-</sup>

<sup>47)</sup>. Ancak bu triheteromerik NMDA reseptörlerinin birçok önemli özelliği hala net olarak anlaşılamamış olup ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır<sup>(48)</sup>.

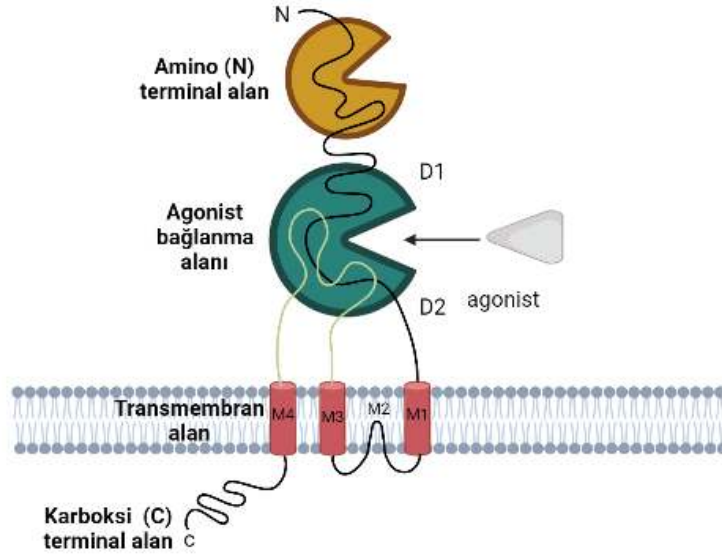


**Şekil 1. NMDA reseptör alt birimleri.**

GLUN1 tüm yaşam süresi boyunca bulunan zorunlu NMDA reseptör alt birimidir ve tüm merkezi nöronlarda yaygın olarak eksprese edilir<sup>(49)</sup>. Dört farklı GLUN2 alt biriminin olması NMDA reseptörleri arasında önemli bir çeşitlilik yaratır. Bu çeşitlilik sinaptik plastisite, nöronal fonksiyonlar, çoklu biyofiziksel özellikler ve sinir sistemi gelişimi üzerindeki birçok parametrenin ayarlanmasına izin verir<sup>(45)</sup>. GLUN2A ekspresyonu doğumdan sonra başlar ve beyin gelişimine paralel olarak seviyesi yükselir. GLUN2B embriyonik dönemde az miktarda bulunmakla birlikte doğum sonrasında hipokampus ve kortekste artar. Yetişkin beyinde GLUN2C olfaktör bulbus ve serebellumda, GLUN2D ise yalnızca diensefalon ve mezensefalonda bulunur<sup>(4, 50, 51)</sup>.

NMDA reseptör alt birimlerinin tümü dört bölgeden oluşan benzer bir mimariye sahiptir (Şekil 2). Bu dört bölge geniş ekstrasellüler N-terminal alan, agonist bağlanma alanı, iyon kanalını içeren transmembran alan ve intrasellüler C-terminal alanı içerir. N-terminal alan, hücre dışı  $Zn^{2+}$  ve seçici antagonistler dahil olmak üzere allosterik modulatorler için bağlanma bölgeleri oluşturarak NMDA reseptör fonksiyonunu güçlü

bir şekilde düzenler<sup>(52)</sup>. Agonist bağlanma alanı, bir üst (D1) ve bir alt (D2) lop içeren iki bölümden oluşur ve glutamat, glisin, D-serin gibi agonistler bu iki bölüm arasındaki yarığa bağlanır. Transmembran alan, üç transmembran heliks (M1, M3, M4) ve bir girintili kıvrım (M2) tarafından oluşturulur. M1, M3, M4 segmentleri porun hücre dışı bölgesini oluştururken M2 segmenti porun hücre içi bölgesini oluşturur. Segmentlerin içerisindeki spesifik bölgeler sayesinde iyon geçişi ve permeabilitesi düzenlenir<sup>(45)</sup>. Allosterik modölatörlerden etkilenmeyen tek alan olan C-terminal alan reseptör trafiği ve hücre içi sinyalleşmede görev alır<sup>(4)</sup>.



Şekil 2. NMDA reseptörünün hücresel yapısı <sup>(42, 50)</sup>.

NMDA reseptör aktivasyonu diğer iki iyonotropik reseptör aktivasyonuna göre farklıdır. Aktivasyon için birçok faktörün bir arada bulunması gereklidir. Glutamatın GLUN2 bölgesine bağlanması, koagonist glisin (veya D-serin) GLUN1 bölgesine bağlanması, kanalı tıkayan  $Mg^{2+}$  bloğunun AMPA ve kainat reseptörleriyle sağlanan kısmi depolarizasyon sayesinde kalkması gereklidir. Bu aktivasyon sonucu postsinaptik nörona  $Ca^{2+}$  geçişi mümkün olmaktadır. Hücre içi  $Ca^{2+}$  artışı da lokal ve akut sinaptik plastisiteye öncülük eden bir dizi hücre içi olayı tetikleyen bir sinyal olarak işlev görür. Devamında ise uzun süreli yapısal nöral plastisiteyi etkileyen gen ekspresyon değişiklikleri meydana getirir<sup>(4, 53)</sup>.

NMDA reseptörlerinin olgun reseptör halini alıp postsinaptik hücrelerde aynı zamanda aksiyon potansiyeli tetikleyebilmesi için, bazı NMDA reseptör alt tipleri beyin gelişimi sırasında birbiri arasında değişim gösterir. Bu değişim farklı beyin bölgelerinde farklı zamanlarda olabilir ve prenatal enfeksiyonlar, doğum stresi, hipoksi, sosyal izolasyonlar gibi şizofreni için risk oluşturabilecek çevresel faktörler ile aynı zamana denk gelebilir<sup>(34)</sup>. Bu durum şizofreninin nörogelişimsel hipotezini destekleyen bulgulardan biridir.

Yapılan biyokimyasal, farmakolojik ve genetik çalışmalar ile şizofrenide NMDAR hipofonksiyonunu destekleyen kanıtlar gösterilmiştir<sup>(4)</sup>. Örneğin şizofreni hastalarının postmortem beyin kesitleriyle yapılan bir meta-analizde, prefrontal kortekste büyük oranda azalmış GLUN1 mRNA ekspresyonuna ikincil olarak GLUN1 proteininde azalma olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada kortikal GLUN2 ve GLUN3 mRNA ekspresyonlarında bir değişiklik bulunmamıştır<sup>(54)</sup>. Şizofreni hastalarındaki manyetik rezonans spektroskopi görüntülerine dayanarak hipokampüste, özellikle de dentat girusta GLUN1 seviyesinin azaldığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır<sup>(55)</sup>. Bununla birlikte ketamin, fensiklidin gibi yarışmasız NMDA reseptör antagonistlerinin sağlıklı gönüllülerde şizofreninin bilişsel işlevler dahil olmak üzere neredeyse tüm semptomlarını yansıttığı bilinmektedir<sup>(4)</sup>. Benzer şekilde, NMDA reseptörünün GLUN1 alt tipinin hücre dışı epitoplarına karşı gelişen antikörlerin sebep olduğu otoimmün ensefalit olgularında, özellikle erken evrelerde, şizofreni benzeri psikiyatrik semptomlar görülmüştür<sup>(56)</sup>. Yapılan geniş ölçekli genetik analizler de şizofrenide NMDA reseptör hipofonksiyonuyla

ilgili eldeki verileri artırmaktadır. Nitekim, gen kopya sayısı varyantı analizlerinin (CNV) saptadığı gibi, NMDA reseptöründe ve postsinaptik yoğunlukla ilişkili proteinlerde gözlenen genetik *de novo* mutasyonlar şizofreni gelişim riskini artırmaktadır<sup>(57)</sup>. Şizofreni gelişimiyle ilişkileri kanıtlanan genler arasında disbindin (DTNBP1), neuregulin 1 (NRG1), kalsineurin, katekol-O-metiltransferaz (COMT), glutamik asit dekarboksilaz 67 (GAD 67) ve disrupted in schizophrenia 1 (DISC1) sayılabilir.

NMDAR hipofonksiyonunun şizofrenide, bilişsel işlev düzensizlikleri dahil olmak üzere pozitif ve negatif semptomlardaki önemi, nöron devreleriyle ilgili hipotezlerle açıklanabilir. NMDAR hipofonksiyonuna bağlı olarak kortikal 1. sıra glutamaterjik nöronların ateşleme potansiyeli azalır, bu da GABAerjik ara nöronların etkinliğini azaltarak 2. sıra kortikal glutamaterjik nöronlar üzerindeki inhibisyonu ortadan kaldırır ve daha sık fakat asenkronik olarak aksiyon potansiyeli oluşumuna neden olur. 2. sıra kortikal nöronlar da ventral tegmental alandaki dopaminerjik nöronlar üzerinde aşırı uyarılmaya neden olarak şizofreni fizyopatolojisindeki önemli yollardan biri olan mezolimbik yolağın hiperaktivasyonuna neden olur. Artan dopamin salınımı ise pozitif semptomların görülmesine ve psikoza yol açar<sup>(4)</sup>. Aynı zamanda kortikal nöronlardaki NMDAR hipofonksiyonu, ventral tegmental alandaki GABAerjik ara nöronların üzerindeki inhibisyonun azalmasına neden olarak mezokortikal dopaminerjik yolu baskılar. Sonuç olarak prefrontal kortekste dopamin salınımı azalır ve bu da şizofreninin negatif ve bilişsel semptomlarının açıklanmasına katkıda bulunur<sup>(58)</sup>. Emosyon ve hislerle ilgili süreçlerde önemi olan serotonin, 5HT adı verilen reseptörleri ile MSS'de etkisini gösterir. Şizofreni hastalarının prefrontal korteksinde 5HT-1A azalırken 5HT-2A ise artar. Bu reseptörler NMDA aktivitesini de düzenlemede rol aldıkları için 5-HT sinyalizasyonunda gözlenen değişiklikler NMDAR aktivitesini de etkiler<sup>(59)</sup>. Bu da mezokortikal yolaktaki dopamin azalmasıyla benzer etkide bulunur ve şizofreninin negatif ve bilişsel semptomlarının altında yatan mekanizmanın anlaşılmasına yardım eder<sup>(4)</sup>.

NMDA reseptörleri beyin gelişimi esnasında nöronal büyüme ve farklılaşmada, nöron göçünde, akson uzaması ve dallanmasında, yeni sinaps oluşumunda rol almaktadır<sup>(60)</sup>. Bununla birlikte yetişkin dönemde de öğrenme-bellek, LTP ve uzun süreli

depresyon (LTD) dahil olmak üzere sinaptik plastisitenin birçok noktasında anahtar rol oynar.

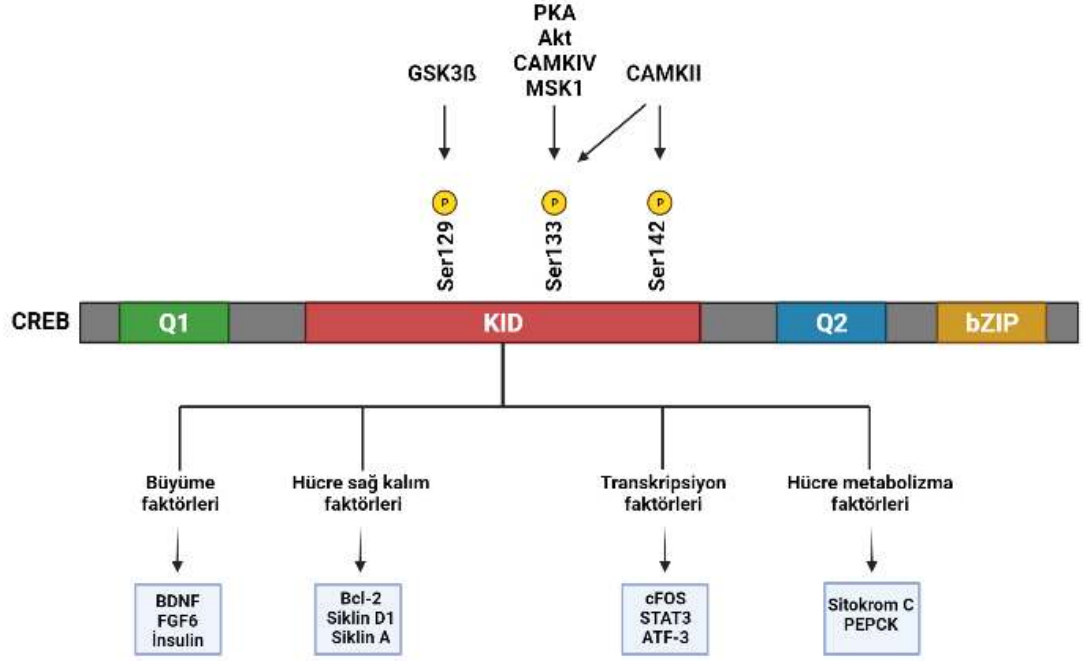
Öğrenme ve belleğin primer olarak gerçekleştiği yer hipokampüstür. Hipokampüse bağlı öğrenme ve belleğin hücresel mekanizmalarından en iyi bilinenlerinden birisi LTP'dir ve NMDA reseptörlerinin aktivasyonu LTP indüksiyonu için gereklidir<sup>(8)</sup>. NMDA reseptörleri aracılığıyla hücre içine giren yüksek miktardaki  $Ca^{2+}$  akışı,  $Ca^{2+}$ /kalmoduline bağımlı protein kinaz II (CaMK II), CaMK IV ve mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) enzimlerinin aktivasyonuna neden olarak CREB'in fosforilasyonunu sağlar ve bu şekilde LTP indüksiyonu oluşur<sup>(9, 10)</sup>.

CREB, beyinde cAMP yanıt elemanına (CRE) bağlanarak genlerin transkripsiyonunu artırmak veya azaltmak yoluyla nöroplastisiteyi modüle eden nükleer bir transkripsiyon faktörüdür<sup>(11)</sup>. CREB, nöronlarda proliferasyon, farklılaşma, hayatta kalma, LTP, nörojenesis ve nöronal plastisite dahil olmak üzere birçok önemli hücre içi olayda görev almaktadır<sup>(61)</sup>. Son zamanlarda yapılan çalışmalar CREB'in şizofreni gibi bazı nöropsikiyatrik hastalıkların patogenezinde rol aldığı düşünülen sinyal yollarında yer aldığını göstermiş ve bu nedenle bununla ilgili araştırmalar hız kazanmıştır<sup>(62)</sup>. CREB gen ifadesinin durdurulmasının, hipokampus ve striatumda nöronal dejenerasyona yol açarak şizofreni, Alzheimer hastalığı ve depresyon gibi nörodejeneratif ve psikiyatrik hastalıkların gelişimine katkıda bulunduğu gösterilmiştir<sup>(12)</sup>. CREB'in bellek gelişimiyle de ilgili olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda, CREB ile ilgili gen ifadesi durdurulmuş (knockout) fare beyinde uzaysal, asosiyatif ve nesne tanıma belleğinde önemli bozulmaların olduğu gösterilmiştir<sup>(63)</sup>. Aynı zamanda CREB (alfadelta-) defisitli farelerle yapılan başka bir çalışmada yükseltilmiş artı düzenek, açık alan ve aydınlık-karanlık düzenek testlerindeki davranış analiz sonuçları kontrol grubu farelere kıyasla daha düşük ve CREB (alfadelta-) defisitli farelerin lokomotor aktivitelerinin daha az olduğu bulunmuştur<sup>(64)</sup>.

CREB geni farelerde ve insanlarda 11 ekzondan oluşmakla birlikte çoğu dokuda benzer işlevleri olan  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\Delta$  izoformları içermektedir<sup>(65)</sup>. Şekil 3'te gösterildiği gibi CREB, N-terminalinden C-terminaline doğru sırasıyla Q1 bazal transkripsiyonel aktivite

alanı, kinazla uyarılabilir alan (KID), glutaminden zengin Q2 yapısal aktivite alanı ve DNA'ya bağlanmadan sorumlu temel bölge/lösün fermuar (bZIP) alanı olmak üzere 4 parçadan oluşur<sup>(66)</sup>. Q1 alanı N-terminal bölgede bulunur ve TATA bağlayıcı proteinle ilişki kurarak gen transkripsiyonunu destekler<sup>(67)</sup>. KID alanı orta kısımda bulunur ve bu alanın da ortasında birçok kinazın CREB'i fosforile ederek fosfo-CREB (p-CREB) oluşumunu sağlayacak yer olan ser133 vardır. Bu kinazlar arasında fosfoinositol 3-kinaz/protein kinaz B (PI3K/AKT), protein kinaz A (PKA), protein kinaz C, CaMK II, CaMK IV ve AKT sayılabilir<sup>(68)</sup>. Q2 alanı RNA polimeraz başlatıcı kompleks ile bağlanmadan ve "5'-TGACGTCA-3'" sekansında bulunan CRE'yi tanıma ve bağlanmadan da sorumludur. C-terminal alanda bulunan bZIP alanı ise CREB'in dimerizasyonu için gereklidir. CREB üzerinde, fosforilasyon için Ser129, Ser133 ve Ser142 olmak üzere 3 farklı bölge bulunmaktadır. Bunlardan Ser133 ile fosforilasyonu sonucu CREB'in transkripsiyonel aktivitesi 10-20 katlık bir artış gösterir<sup>(69)</sup>. PKA, CaMK IV, AKT, MSK-1 ve CaMK II CREB'i ser133'te fosforilleyip CREB aracılı gen transkripsiyonunu teşvik ederler. CaMK II Ser 142 üzerinden, glikojen sentaz kinaz 3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ) ise Ser 129 fosforilasyonu yoluyla CREB'in dimerleşmesini engelleyerek CREB aracılı gen transkripsiyonunu azaltır<sup>(70)</sup>.

CREB fosforillenip aktifleştikten sonra öğrenme-bellek süreçleriyle ilgili gen transkripsiyonlarının aktivasyonu veya inhibisyonunda görev almaya hazır bir pozisyonda bulunur. p-CREB gen transkripsiyonu için CRE'ye bağlı dimerler halinde bulunur ve CREB tarafından düzenlenen transkripsiyon ko-aktivatörleri (CRTC'ler) ile CREB bağlayıcı protein/p300 (CBP/p300) dahil olmak üzere spesifik ko-aktivatörlerle bir araya gelerek daha büyük bir transkripsiyonel kompleks oluşturur. Oluşan bu kompleks yakınındaki kromatinin konformasyonunu değiştiren ve RNA polimeraz aracılığıyla RNA sentezini sağlayan histon asetilasyonunu başlatır<sup>(70)</sup>. Bu sayede BDNF, fibroblast büyüme faktörü-6 (FGF-6) ve insülin gibi büyüme faktörleri; bcl-2, siklin D ve siklin A gibi hücre sağ kalımı elemanları; c-fos, ATF-3 ve STAT3 gibi transkripsiyonel faktörler ile fosfoenolpirüvat karboksikinaz (PEPCK), sitokrom C gibi hücre metabolizmasını düzenleyen faktörlerin ekspresyonlarını düzenler<sup>(68)</sup>.



Şekil 3. CREB'i fosforile eden ve CREB'in etkilediği faktörler <sup>(50, 66)</sup>.

Kinazlarla birlikte fosfatazlar da nöronal fonksiyonlarla ilgili sinyal yollarının düzenlenmesinde görev alır. Memelilerdeki protein fosfataz 1 (PP1), PP2A, PP2B ve PP2C gibi örnekleri olan ve CREB'in defosforilasyonunu sağlayarak inhibe eden serin/treonin protein fosfataz buna örnek olarak verilebilir<sup>(71)</sup>. PP2A, etkisini PKA üzerinden cAMP ile ilgili gen transkripsiyonlarını azaltarak gösteren, serin/treonin protein fosfatazlar içerisinde en güçlü CREB defosforilasyonunu sağlayan enzimdir. Bunun yanı sıra PP2B  $Ca^{2+}$  bağımlı bir fosfataz olup CREB'in Ser133'teki fosforilasyonunun bozunmasını sağlayarak etki eder. Protein fosfataz 1 de protein fosfataz 2B gibi Ser133 üzerinden CREB defosforilasyona neden olarak glutamaterjik sinapslardaki LTP'de rol oynar. PP2C'nin CREB defosforilasyonuna hangi mekanizmayla neden olduğu ise henüz açıklanamamıştır. Serin/treonin protein fosfatazlara ek olarak fosfataz tensin homoloğu (PTEN) da CREB defosforilasyonunu

sağlayan enzimler arasında yer alır. CREB üzerinde zıt etkiye sahip olan kinazlar ve fosfatazlar arasında kurulan denge ile CREB aracılı gen transkripsiyon süreçleri düzenlenir ve nöronal plastisiteyi oluşturan sinyal yolları şekillenir<sup>(72)</sup>.

Yaklaşık 70 yıl önce, nöronların gelişimsel sürecindeki hasarlara yanıt olarak salgılanan ve nöronal hayatta kalmayı düzenleyen birtakım maddelerin varlığı gösterilmiş olup bu maddelere nörotrofinler adı verilmiştir. Keşfedilen ilk nörotrofin sinir büyüme faktörü (NGF) olup ardından 1990'lı yıllarda BDNF, nörotrofin-3 (NT-3) ve NT-6 gibi nörotrofinler peş peşe keşfedilmiştir. Nörotrofinler, gelişimsel süreçte nöron gruplarının strese bağlı sağ kalımında ve farklılaşmalarında, yetişkinlikte ise MSS üzerinde sinaptik iletimin modülasyonu, nöronal uyarılabilirlik, aksonal dallanma gibi nöronal plastisiteyi düzenleyen fonksiyonların kontrolünde rol oynayan, küçük, basit, sekretuvar, dimerik polipeptid ailesidir<sup>(73)</sup>. Nörotrofinler, tirozin reseptör kinaz (Trk) ve pan75 nörotrofin reseptörü (p75<sup>NTR</sup>) olmak üzere iki farklı yüzey reseptörüyle etki gösterir. Her Trk reseptörü bir veya birden çok nörotrofin tarafından aktive edilebilir. NGF Trk-A'yı, BDNF Trk-B'yi, NT-3 ise Trk-C'yi aktive eder<sup>(74)</sup>. Ayrıca BDNF hem Trk-B ile hem de p75 ile etkisini gösterebilir ancak, Trk-B'ye olan afinitesi daha yüksektir<sup>(75)</sup>. Trk-B'nin etkisi hem fetal beyinde hem de postnatal dönemde önemli olup, fetal dönemde farklı tipte nöronların glutamaterjik, dopaminerjik veya serotonerjik nöronlara farklılaşmasında görev alır<sup>(76)</sup>.

BDNF, belirli nöronal hücre gruplarının gelişimini destekleyen ve onlara nöron koruyucu etki sağlayan önemli bir nörotrofindir<sup>(74)</sup>. Ayrıca sinaptik modülasyon ve öğrenme-bellek mekanizmalarında da rol oynar. BDNF, geni 11. kromozomun p13 bandında bulunan basit dimerik bir proteindir. Yapısal olarak NGF'ye benzerlik gösterir ancak ona kıyasla MSS'de daha geniş dağılım gösterir<sup>(77)</sup>. Kendisi ve reseptörü Trk-B yetişkin beyinde hipokampus, prefrontal korteks ve hipotalamus başta olmak üzere geniş çapta eksprese edilir. BDNF, uyarıcı ve baskılayıcı tipte sinapsların sayısını artırır, aksonal morfolojiyi düzenler ve sinaptik süreçlerde rol alır. BDNF sinyalinde bir bozukluk olması, nörogenezde ve sinaptik iletimde aksaklıklara sebebiyet verir. Bu durum da beyin fonksiyonlarının düzensizleşmesine ve sonuç olarak şizofreni gibi nöropsikiyatrik hastalıkların gelişimine neden olabilir<sup>(9)</sup>. Nörogelişim sırasında BDNF

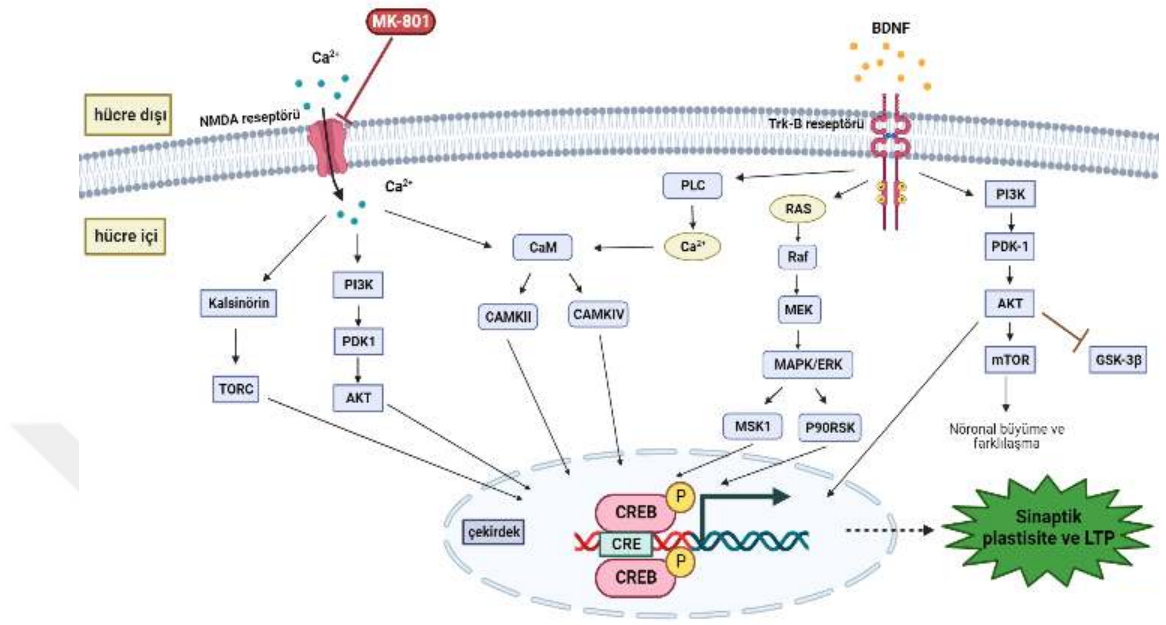
gibi nörotrofinlerdeki yetersizlik sinirsel ağların normal düzeyin altında yapılanmasına, sinaps organizasyonunda ve bununla beraber nöronal plastisitede aksaklıklara sebebiyet verir. Ayrıca yetişkin dönemde nörotrofinlerin yetersiz düzeyde olması ise adaptif yanıtlarda ve nöronların hayatta kalabilme yeteneğinde azalmaya neden olur<sup>(74)</sup>. Rizos ve ark.nın yaptığı çalışmada, şizofreninin başlangıç dönemlerinde serumda ölçülen BDNF azlığının uzun süreli psikozlarla ilişkili olduğu ve bunun da şizofrenideki nörodejeneratif süreçte rol alabileceği gösterilmiştir<sup>(14)</sup>. Daha önce de bahsedildiği gibi, şizofreni patofizyolojisindeki güncel yaklaşımlardan biri, NMDA reseptörlerindeki fonksiyon azalmasının GABAerjik ara nöronlarındaki düzensizliğe yol açması sonucunda glutamaterjik iletimin bozulduğu bir modeli kapsar<sup>(74)</sup>. Şizofreni hastaları ile yapılan bir çalışmada, Trk-B reseptörünün aracılık ettiği BDNF sinyalindeki eksiklik sonucu, dorsolateral prefrontal kortekste GABA sentezinin azaldığı ve bunun neticesi olarak işletim belleğinin nöronal aktivasyon kapasitesinin azaldığı bulunmuştur<sup>(78)</sup>.

BDNF insanlarda kan-beyin bariyerini kolayca geçebildiği için, BDNF'in plazma ve serumdaki değerlerinin BOS'taki BDNF değeriyle paralel olduğu düşünülmüş ve bu durum yapılan çalışmalarla da desteklenmiştir<sup>(79)</sup>. Tersini gösteren az sayıda çalışma da mevcut olmakla birlikte<sup>(80, 81)</sup> birçok çalışmada, özellikle tedavi edilmemiş ve ilk psikotik atağını geçirmiş şizofreni hastalarında plazma ve serum BDNF seviyeleri kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur<sup>(74, 82, 83)</sup>. Araştırmacılar, bu sonuçlarla tutarlı olacak şekilde hipokampal hacmin de şizofreni hastalarında küçüldüğü sonucuna ulaşmıştır<sup>(83)</sup>. Palomino ve ark.nın yaptığı bir çalışmada ise şizofreni hastalarının 6 aylık atipik antipsikotiklerle tedavisinin ardından BDNF'in plazma değerlerinin başlangıçtaki seviyesine göre arttığı saptanmıştır<sup>(84)</sup>. Şizofreni hastaları ve kontrol grubu ile yapılan postmortem bir çalışmada, şizofreni hastalarının beyinlerinde kontrol grubuna kıyasla kortikal alanlarda BDNF seviyelerinin arttığı, hipokampüste ise azaldığı gösterilmiştir<sup>(32)</sup>. Benzer tarihlerde yapılan başka bir çalışmada ise, şizofreni hastalarında özellikle anterior singulat korteks ve hipokampüste BDNF seviyelerinin arttığı, reseptörü Trk-B'nin ise hipokampus ve prefrontal kortekste azaldığı tespit edilmiştir<sup>(85)</sup>.

Şizofreni hastalarında görülen BDNF seviyelerindeki azalma, yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarla da desteklenmektedir. Örneğin, prenatal strese maruz bırakılan

sıçanlarda prefrontal korteks ve striatumda BDNF seviyelerinde azalma gözlenmiştir<sup>(86)</sup>. Gözlenen bu azalma yetişkinlik döneminde dahi devam etmiştir. Bu da kortikostriatal BDNF düzensizliğinin şizofreni benzeri patolojilerdeki önemine vurgu yapmaktadır. Yapılan başka bir çalışmada, neonatal ventral hipokampus lezyonu yapılan sıçanlarda hipokampal BDNF ekspresyonlarında azalma tespit edilmiştir<sup>(87)</sup>. Yakın zamanda yapılan bir in vivo çalışmada, 6 gün boyunca 0,5 mg/kg MK-801 uygulanan sıçanlardan elde edilen primer hipokampal kültür ekimi sonucunda, hipokampüsteki BDNF ekspresyonları ve hipokampal BDNF sekresyonlarının azaldığı gösterilmiştir<sup>(88)</sup>. Saptanan bu bulguların aksine Valvassori ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, yetişkin Wistar sıçanlara kronik olarak uygulanan 3 farklı atipik antipsikotik tedavi sonrası hipokampüste BDNF ve NGF seviyelerinde kontrol grubuna kıyasla herhangi bir fark bulunamamıştır<sup>(89)</sup>.

BDNF, tam uzunluktaki Trk-B ile kinaz alanı olmayan kesilmiş Trk-B olmak üzere iki tip Trk-B reseptörü üzerinden hücrel fonksiyonunu gösterir. Kesilmiş Trk-B'nin tam uzunluktaki Trk-B'ye oranı BDNF'in biyolojik aktivitelerinin devamı için gereklidir<sup>(90)</sup>. Trk-B, transmembranal bir reseptör olup yapısal olarak iki sistein grubu ve iki immunoglobulin alan içeren üç adet lósinden zengin subunitten oluşmuştur. Reseptör-ligand etkileşimi ikinci immunoglobulin alanda meydana gelir. Şekil 4'te gösterildiği gibi reseptör-ligand etkileşimi ile Trk-B aktive olur ve hem reseptörün kendisini hem de hücre içi sinyalleşmede rol oynayacak olan fosfolipaz C- $\gamma$  (PLC- $\gamma$ ) ve fosfatidilinositol-3 kinazı (PI3K) fosforile eder. PLC aktivasyonu sonrası IP<sub>3</sub> ile hücre içi Ca<sup>2+</sup> seviyesi artırılır, DAG ise protein kinaz C'yi aktive ederek nöronal sağ kalım ve hücre ölümü gibi organizma için elzem hücrel etkiler başlatılır. PI3K'nin buradaki rolü önemlidir, çünkü hücreleri apoptotik etkilere karşı koruyan Akt sinyal yolunu aktifler<sup>(90)</sup>. Aynı zamanda MAPK enziminin BDNF aracılı hücre içi aktivasyonu için Ras adı verilen zara bağlı hücre içi sinyal moleküllerinin ortamda bulunması gerekir. Ras'ın en iyi efektörü Raf'tır ve Raf aktivasyonu ile mitojen/hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (MEK) fosforillenip aktive olur. MEK de MAPK (ERK)'ı fosforile edip aktivasyonunu sağlar ve CREB'in de rol aldığı nöroplastisiteyi sağlayacak süreçleri çalıştırır<sup>(90)</sup>.



Şekil 4. NMDA ve Trk-B reseptörü ile aktive olan yollarlar<sup>(45, 70, 91, 92)</sup>.

Hücre içinde p-CREB, BDNF transkripsiyonunu desteklerken, aynı zamanda BDNF de Trk-B reseptörleri üzerinden CREB aktivasyonunu teşvik eder<sup>(93)</sup>. BDNF, CREB’i fosforile eden CaMK IV enziminin aktivasyonuna yol açan hücre içi Ca<sup>2+</sup>’u artırarak CREB aktivasyonunu sağlar<sup>(68)</sup>. BDNF aktivasyonu aynı zamanda Ras/ERK/Rsk sinyal yolağının da uyarılmasını sağlar ki bunlar da CREB’in ser133 ile fosforilasyonunu sağlayan yollardan biridir<sup>(93)</sup>.

Şizofrenide bozulduğu bilinen dendritik gelişimi düzenleyen faktörler arasında BDNF, MAPK ve CREB sinyal kompleksi bulunur<sup>(94)</sup>. Bunlar dendritik uzunluğu ve dendrit morfolojisini düzenlerler. Ayrıca Trk-B fosforilasyonu, MAPK enziminin sitoplazmadan nükleusa translokasyonunu düzenleyerek majör CREB kinazlardan biri

olan mitojen ve stresle ilişkili kinaz 1 (MSK-1) enziminin aktifleşmesine aracı olur ve bu şekilde sürece katkıda bulunur<sup>(95, 96)</sup> (Şekil 7).

### **2.1.2. NMDA Reseptör Antagonizması ile Oluşturulan Deneysel Şizofreni Benzeri Modeller**

Şizofreni gibi karmaşık psikiyatrik bozuklukların hayvan deneyleri olarak modellenmesi bu bozuklukların nörobiyolojik temellerinin incelenmesi için değerlidir. Ayrıca gelecekteki tedavi seçeneklerinin ve tedavinin etki gücünün artırılması için yeni ilaç hedefleri bulunmasını sağlamaktadır<sup>(5)</sup>. Preklinik modeller, hastalık ilerlemesinin insanlardakinden daha hızlı izlenmesini mümkün kılar ve potansiyel ajanların daha kolay test edilmesine olanak verir<sup>(97)</sup>. Ancak şizofreninin paranoid sanrılar ve işitsel halüsinasyonlar gibi semptomlarının bazıları yalnızca insana özgüdür, bu da hayvan modellerinden elde edilen sonuçların yorumlanmasını zorlaştırmaktadır<sup>(98)</sup>.

Bilişsel işlevlerde bozulma, şizofreninin ana semptomlarından biri olup şizofreni hastalarının uzun süreli yaşama olasılığının temel belirleyicilerindendir. Bilişsel fonksiyon kayıpları neticesinde, kişinin günlük hayat idamesinde, özellikle de iş bulma ve yaptığı işi sürdürme konularında yaşadığı sıkıntılar hayatını zorlaştırmaktadır. Görülen bu bilişsel engellilik hali kişiyi sosyal ve mental yalnızlığa sürüklemektedir. Bu nedenle üzerinde çalışılacak şizofreni tedavisinin bilişsel fonksiyon kayıplarını da en aza indirmesi beklenmektedir<sup>(74)</sup>.

Bilder ve ark., şizofreni hastaları ve sağlıklı gönüllülerden oluşan toplam 130 kişi üzerinde yürüttüğü bir çalışma sonucunda şizofreninin bilişsel fonksiyonları etkilemesi üzerine önemli kanıtlar elde edilmiştir. Deneklere bir dizi nöropsikolojik test uygulanmış ve sonuçları değerlendirildiğinde dil işlevinin nispeten korunduğu, yürütme ve motor işlevlerde görece kayıp olduğu ancak bellekle ilgili bozuklukların sık görüldüğü raporlanmıştır<sup>(99)</sup>. Yakın tarihli yaklaşık 2450 şizofreni hastasının verilerinin incelendiği bir meta-analizde, hastaların beyinlerinde BDNF seviyelerinin azaldığı ve bunun sözel bellek, işletim belleği, işlem yapabilme hızı ve akıcı konuşma gibi bilişsel performanslarla ilişkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır<sup>(100)</sup>.

Şizofrenide NMDA reseptör hipofonksiyonu son yıllarda büyük ilgi görmüştür. Amfetamin ve apomorfin gibi dopamin seviyesini artırıcı ilaçlarla yapılan deneysel modellerde şizofreninin negatif ve bilişsel semptomlarının tam olarak gösterilememesi bu ilginin sebepleri arasında sayılabilir<sup>(101)</sup>. NMDA reseptör hipofonksiyonu için kemirgenlerde daha çok ketamin, fensiklidin, dizosilpin (MK-801) gibi yarışmasız NMDA reseptör antagonistleri kullanılmaktadır<sup>(5)</sup>. Tablo 1’de gösterildiği gibi insanlarda bu farmasötik maddeler halüsinasyon, sanrı, konuşma dağarcığında azalma, bilişsel işlevlerde bozulma gibi semptomlara neden olurken, kemirgenlerde lokomotor aktivite artışı, sosyal geri çekilme, stereotipik hareketler, kognitif fonksiyonlarda kötüleşme gibi yanıtlarla karakterizedir<sup>(6, 7)</sup>. Kemirgenlerdeki lokomotor aktivite artışı şizofreninin pozitif semptomlarından biri olarak kabul görmektedir<sup>(102)</sup>.

Deney hayvanlarında bilişsel fonksiyonların değerlendirilmesi için kullanılan Morris su havuzu testi literatürde, şizofreni hastaları için kullanılan kısa görsel bellek testinin preklinikteki karşılığı olarak kabul edilmektedir<sup>(103)</sup>. Şizofreninin deneysel modellerinde Morris su havuzu testinde bilişsel performansın azaldığı bilinmektedir.

**Tablo 1. Şizofreninin klinik semptomları ile NMDA reseptör antagonistleriyle yapılan şizofreni benzeri hayvan modellerindeki bu semptomlara uygun değişimler <sup>(7)</sup>.**

| <b>Şizofreninin Klinik Semptomları</b> | <b>NMDA Reseptör Antagonistleri ile Yapılan Şizofreni Benzeri Hayvan Modellerindeki Değişimler</b> |
|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Psikotik semptomlar</b>             | Lokomotor aktivite artışı                                                                          |
| <b>Stereotipik hareketler</b>          | Tekrarlayan davranışlar (koklama, yüz temizleme gibi)                                              |
| <b>Strese karşı güçsüzlük</b>          | Lokomotor aktivitede değişiklikler veya stresle indüklenen davranışlar                             |
| <b>Dikkat eksikliği</b>                | Latent inhibisyon testinde bozulma                                                                 |
| <b>Bilişsel işlevlerde bozulma</b>     | Morris su havuzu gibi uzaysal bellek testlerinde bozulma                                           |
| <b>Sosyal geri çekilme</b>             | Farklı kafeslerdeki kemirgenlerle temas kurmama                                                    |

NMDA reseptör antagonisti olarak deneysel şizofreni benzeri modellemede kullanılan MK-801, ilk olarak 1982 yılında sentez edilmiş olup antikonvülzan ve nöroprotektif etkileri nedeniyle kullanılmaya başlanmıştır<sup>(104)</sup>. MK-801, fensiklidinden bile daha selektif olması nedeniyle<sup>(105)</sup> günümüzde hem şizofreni çalışmalarında hem de glutamat nörotoksisitesinde geniş çapta kullanılmaktadır.

Deneysel şizofreni benzeri modellemede NMDA reseptör antagonistleri deney hayvanında akut olarak kullanılabileceği gibi hayvana kronik olarak da uygulanabilir. NMDA reseptörünün akut olarak inhibe edilmesi hayvanlarda deneysel şizofreni benzeri

davranış kalıbı oluşturur<sup>(106)</sup>. Kronik uygulama ile deney hayvanlarının nörotransmitter sisteminde oluşan değişiklikler şizofreni hastalarında bildirilen değişikliklerle paralellik sunar<sup>(7)</sup>.

NMDA reseptör antagonistlerinin kronik uygulanmasını takiben farelerin frontal bölgesinde hücre dışı glutamat miktarının azaldığı gösterilmiştir<sup>(107)</sup>. Tekrarlayan MK-801 enjeksiyonları ile sıçanların frontal bölgesinde de benzer değişiklikler bulunmuştur<sup>(108)</sup>. Rujescu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kronik MK-801 uygulaması ile sıçan hipokampusünde NMDA reseptörünün GLUN1 ve GLUN2B alt birimlerinin mRNA ekspresyonları artmış, GLUN2A alt biriminin ekspresyonu ise azalmıştır<sup>(109)</sup>. Başka bir çalışmada da fare prefrontal korteksinde kronik fensiklidin tedavisinden sonra NR1 alt biriminin ekspresyonu artmış ve fosforilasyonu azalmıştır<sup>(110)</sup>. Şizofreni hastalarının frontal korteksinde de NMDA reseptörünün NR1 alt biriminin fosforilasyonunun azaldığının gösterilmesi, bu durumun kognitif fonksiyonlarda bozulmayla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir<sup>(7, 110)</sup>.

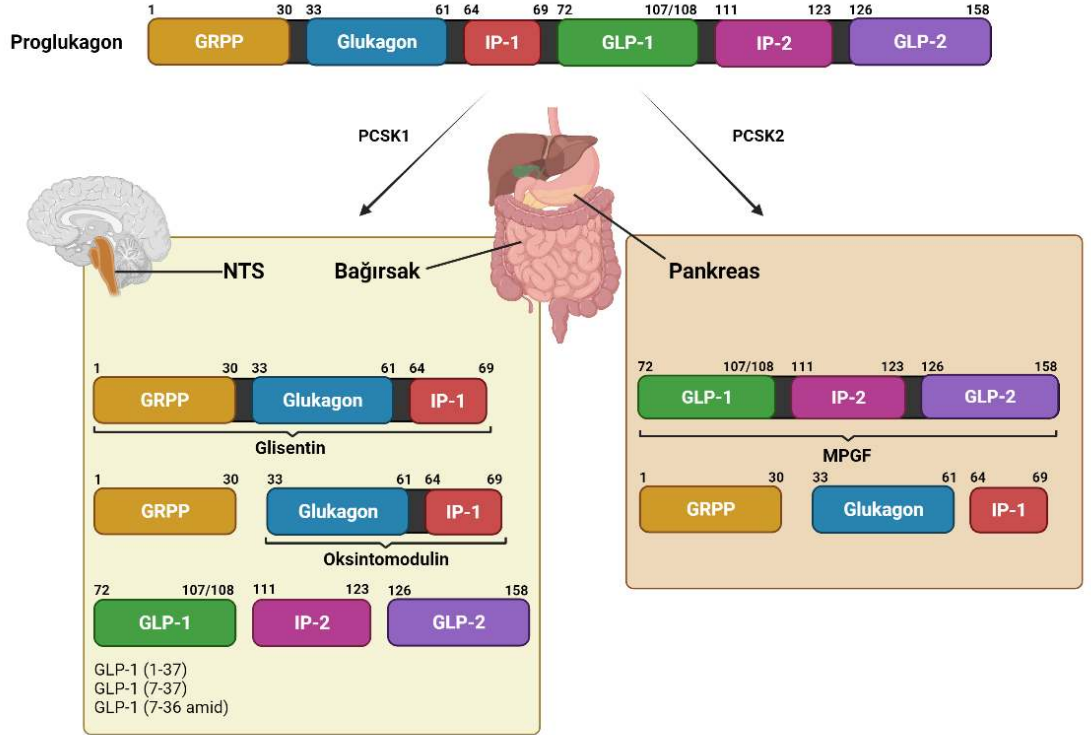
NMDA reseptör antagonistlerinin kronik olarak uygulanması ile gösterilen reseptör sistemindeki bu değişiklikler beraberinde davranış değişikliklerini de getirmektedir. Birçok hayvan türünde yapılan çalışmalarla özellikle kognitif fonksiyon bozulması ve bilgi işleme düzeyinde birtakım eksiklikler saptanmıştır<sup>(111, 112)</sup>. Bununla birlikte farelerde kognitif fonksiyon bozulmasının ilacın kesilmesinden sonra bile devam ettiği gösterilmiştir<sup>(110)</sup>. Bilindiği gibi  $Ca^{2+}$ -CaMK II fosforilasyonu öğrenmede rol oynayan süreçlerden bir tanesidir. NMDA reseptörlerinin inhibisyonu bu fosforilasyonu azaltır ve kognitif fonksiyon bozulmasının bu süreçle de ilişkili olduğu düşünülmektedir<sup>(110)</sup>.

## **2.2.Glukagon Benzeri Peptid 1**

Oral olarak verilen glukozun, aynı miktarda intravenöz (iv.) yolla verilen glukozu göre insülin cevabını 2-3 kat fazla artırması inkretin etki olarak adlandırılır<sup>(113, 114)</sup>. İnkretin hormonlar 1929 yılında, Edgard Zunz ve Jean LaBarre adlı araştırmacılar tarafından keşfedilmiş olup gıda alımını takiben gastrointestinal sistemdeki (GİS) özel hücreler tarafından salgılanan ve insülin sekresyonunu stimüle eden hormonlardır<sup>(115, 116)</sup>.

GLP-1 ve glukoz bağımlı insülinotropik polipeptid (GIP) insan vücudundaki en önemli iki inkretin hormondur. Bu iki hormon inkretin aktivitesinin yaklaşık olarak %90'ından sorumludur<sup>(117)</sup>. İnkretin etki yemekten sonra salınan insülin cevabının yaklaşık olarak %60'ını oluşturur<sup>(114)</sup>.

GLP-1, enteroendokrin L hücrelerinden preproglukagonun farklılaşma süreçleriyle oluşan, 30 aminoasitlik peptid yapılı bir hormondur. GLP-1, bir miktar pankreas alfa hücrelerinden ve nöronlardan -özellikle nucleus traktus solitariusta<sup>(116)</sup>- da preproglukagondan eksprese edilir. Proglukagon geni, esas olarak distal bağırsak, ileum ve kolonda bulunan enteroendokrin L hücreleri içinde sentezlenir ve farklı organlarda farklı bölünmelere uğrar<sup>(118)</sup> (Şekil 5). Proglukagonun doku ve organlara özgü bölünmesi, prohormon dönüştürücü enzimleri tarafından gerçekleştirilir. Prohormon dönüştürücü enzim 1 (PCSK1), beyin ve bağırsakta eksprese edilir ve son ürün olarak GLP-1, GLP-2, intervening peptid-2 (IP-2), glisentin ve oksintomodulin oluşturur. Pankreasta ise PCSK2 proglukagondan majör proglukagon parçası (MPGF), glisentin ilişkili polipeptid (GRPP), “pankreatik tip” glukagon ve IP-1 son ürünlerini oluşturur. GLP-1'in proglukagon üzerindeki peptid sekanslaması PG 72-107/108'e denk gelir ve bu şekildeki GLP-1 inaktif formdadır. Aktive GLP-1 bağırsakta ve beyinde, GLP-1 (1-37) (veya 1-36 amid) ve 2 kırpılmış formu olan GLP-1 (7-36 amid) ile GLP-1 (7-37) (glisinle genişletilmiş GLP-1) olarak 3 forma ayrılır<sup>(116, 119, 120)</sup>. İnsanlarda dolaşımdaki GLP-1 aktivitesinin yaklaşık %80'ini GLP-1 (7-36 amid), %20'sini ise GLP-1 (7-37) formu oluşturur<sup>(121)</sup>. GLP-1 (7-36 amid) ve GLP-1 (7-37)'in insülin salgılatıcı etki gücü benzer ve güçlüyken GLP-1 (1-37)'nin etki gücü diğer ikisine göre daha azdır<sup>(122)</sup>.



Şekil 5. Proglukagonun peptid sekanslaması ve farklı organlardaki bölünmeleri <sup>(50, 112)</sup>.

İnsanlarda ve diğer memelilerde enteroendokrin L hücrelerinin sayısı oral bağırsak bölümlerinde daha az iken kaudale doğru gidildikçe artar<sup>(123)</sup>. En büyük kısmı ise ileum ve kolonun epitel tabakasında bulunur. L hücrelerinin apikal yüzeyi, besinlerle temas eden kısım olan lümeneye bakar. Bu nedenle karbonhidratların ve yağların ileuma doğrudan uygulanması ile sağlıklı insanlarda GLP-1 seviyelerinde artış gözlenir<sup>(124)</sup>.

GLP-1'in sekresyonu bağırsak lümenindeki besinler tarafından uyarılır. GLP-1, bazal lamina boyunca lamina propria içine emilir ve oradan kapiller tarafına alınır. Bu geçişler sırasında, enterosit fırça kenarında ve kapiller endotelial hücrelerin luminal

yüzünde bulunan dipeptidil peptidaz-IV (DPP-IV) ile parçalanır. CD26 olarak da bilinen DPP-4 enzimi, sondan bir önceki pozisyonunda bir prolin veya alanin rezidüsüne sahip olan dipeptitleri, oligopeptidleri veya proteinleri amino terminalinden ayıran bir serin proteazdır. DPP-IV, GLP-1'i 2. pozisyonundaki alanin rezidüsünden ayırır ve inaktif GLP-1 (9-36/37 amid) oluşturur<sup>(125)</sup>. Böbreklerde yüksek konsantrasyonda bulunan, geniş doku dağılımına sahip nötral endopeptidaz (NEP 24.11) (neprilisin olarak da bilinir), GLP-1 metabolizmasına dahil olan ikinci enzim olarak görev alır. NEP 24.11, C-terminal bölgesindeki peptitleri ayıran, geniş bir substrat spesifitesine sahip, membrana bağlı bir çinko metallopeptidazdır<sup>(126, 127)</sup>. NEP 24.11'in, GLP-1 inaktivasyonunda DPP-IV gibi temel bir rol oynadığı son yapılan çalışmalarla gösterilmiştir<sup>(123, 126)</sup>. Bu enzimlerin etkileri nedeniyle, salgılanan miktarın yalnızca %25'i portal dolaşıma ulaşır. Kalan miktarın %40-50'si karaciğerde yıkılır<sup>(128)</sup>. Bu şekilde sistemik dolaşıma giren kısmı %10-15 düzeyine iner<sup>(129)</sup>. DPP-IV ve NEP 24.11 enzim aktiviteleri nedeniyle GLP-1'in plazma ömrü 1-2 dakikadır ve esas olarak böbrekler aracılığıyla elimine edilir<sup>(120, 128-130)</sup>.

Enteroendokrin L-hücrelerinden dolaşıma GLP-1 salgılanması için birincil fizyolojik uyarıcı, özellikle karbonhidratlar veya yağlar açısından zengin bir besin alımıdır<sup>(127, 131)</sup>. GLP-1'in plazma seviyeleri, insanlarda açlık durumunda 5-10 pmol/L arasında değişir ve oral besin alımına yanıt olarak 50 pmol / L'ye kadar hızlıca yükselir. GLP-1'in pik konsantrasyonu oral besin alımını takiben 30-45 dakika içinde gözlenir<sup>(132)</sup> ve bazal seviyelerine besin alımından yaklaşık olarak 2-3 saat sonra döner<sup>(127, 133)</sup>. İnsanlarda gıda alımına yanıt olarak GLP-1 salgılanması erken (30-45 dk sonra) ve geç (60-90 dk sonra) faz olmak üzere bifaziktir. Erken fazda salınım, gıda alımına cevap olarak vagusun uyarılması ile gerçekleşir ve bu salınım muskarinik reseptörler rol oynar. Geç fazda salınım ise ince bağırsaklarda bulunan glukoz, aminoasit, uzun zincirli ve kısa zincirli yağ asitlerinin L hücrelerini direkt olarak uyarması ile gerçekleşmektedir<sup>(134, 135)</sup>.

Yemek yanıtı, yemeğin büyüklüğüne bağlıdır ve gastrik boşalma hızı ile güçlü bir şekilde ilişkilidir<sup>(120)</sup>. Sağlıklı insanlarla yapılan bir çalışmada, 520 kcal'lik bir öğünün 260 kcal'lik öğüne göre sistemik aktif GLP-1 seviyesini daha fazla artırdığı

gösterilmiştir<sup>(133)</sup>. Benzer içeriklere sahip sıvı besinler ise katı besinlere oranla GLP-1 sekresyonunu daha fazla artırır<sup>(127, 136)</sup>.

Besinler haricinde GLP-1'in besin dışı uyarıcıları da tanımlanmıştır. Vagal ve enterik nöronlardan eksprese edilen gastrin salgılatıcı peptid (GRP), asetilkolin ve kalsitonin gen-ilişkili peptid (CGRP) gibi nörotransmitterler yemek sonrası GLP-1 salınımına hızlı bir şekilde katkıda bulunur<sup>(123)</sup>. Reseptörleri hem insan hem kemirgenlerdeki L hücrelerinde eksprese edilen leptin de sağlıklı bireylerde GLP-1 sekresyonunu uyarır<sup>(123)</sup>. GIP'in insülinotropik etkisinin yanı sıra, GLP-1 salımının güçlü bir uyarıcısı olduğu da bilinmektedir<sup>(136)</sup>. İnsülin, somatostatin ve bir nöropeptid olan galaninin, intestinal L hücrelerinden GLP-1'in sekresyonunu inhibe ettiği, yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla gösterilmiştir<sup>(123, 127)</sup>. İntestinal GLP-1 sekresyonu kolinerjik ve  $\beta$ -adrenerjik reseptör aktivasyonlarıyla stimüle edilebilirken,  $\alpha$ -adrenerjik reseptör aktivasyonu GLP-1 sekresyonunu inhibe eder<sup>(137, 138)</sup>. Egzersizin de GLP-1 sekresyonunu uyardığı gösterilmiştir<sup>(139)</sup>.

GLUTag hücre hattı kullanılarak yapılan *in vitro* çalışmalarla, L hücrelerinden GLP-1 salınımının hücresel mekanizması açığa çıkarılmıştır. Bu modelde glukoz ve fruktoz gibi monosakkaritler ATP-duyarlı  $K^+$  kanallarını ( $K_{ATP}$ ) bloke ederek membran depolarizasyonunu sağlar. Glukoz aracılı membran depolarizasyonu voltaj bağımlı  $Ca^{2+}$  kanallarının açılmasına neden olarak hücre içi  $Ca^{2+}$  seviyesini artırır ve veziküler ekzositoz yoluyla GLP-1'in sistemik dolaşıma verilmesine yardımcı olur. Düşük konsantrasyondaki glukoz (ve diğer monosakkaritler), L hücrelerinin luminal membranındaki sodyum-glukoz taşıyıcısı-1 (SGLT-1) tarafından başlatılan yolla L hücrelerinde elektriksel aktiviteyi tetikler. Kuhre ve ark.nın izole sıçan ileumunda yaptığı çalışmada, SGLT-1 inhibisyonuna ikincil olarak luminal glukoz alımı engellendiğinde GLP-1 seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir<sup>(140)</sup>.  $K_{ATP}$  kanallarının GLP-1 salınması üzerine etkisi *in vitro* çalışmalarda *in vivo*'dakiler kadar belirgin olmamakla beraber Kir6.2/SUR1  $K_{ATP}$  kanal kompleksi kemirgen<sup>(141)</sup> ve insan<sup>(142)</sup> L hücrelerinde de gösterilmiştir. Karbonhidratlara ek olarak diyetle alınan lipid ve proteinler de L hücrelerinden GLP-1 salınımını uyarır. Bunu L hücrelerinin bazolateral zarındaki kendilerine özgü reseptörlerine bağlanarak gerçekleştirirler. Örneğin, kısa ve uzun

zincirli yağ asitleri  $G_q$  aracılığıyla hücre içi  $Ca^{2+}$  düzeyini artırarak karbohidratlara benzer mekanizmayla GLP-1 salınımını sağlar<sup>(116)</sup>.

GLP-1, bağırsaklardan dolaşıma salındıktan sonra spesifik plazma reseptörüne bağlanır ve ilgili sinyal yollarını aktive eder<sup>(143)</sup>. Glukagon benzeri peptid-1 reseptörü (GLP-1R), G protein-bağlı reseptör (GPCR) süper ailesine ait, 463 aminoasitten oluşan heptahelikal yapıya sahip bir reseptördür<sup>(124)</sup>. Pankreasta GLP-1 reseptörü, Langerhans adacıklarında ve bir miktar asiner hücrelerde bulunurken duktal hücrelerde gösterilememiştir. Özellikle  $\beta$  hücrelerinde çok geniş ekspresyon alanı bulunmaktadır<sup>(116)</sup>. İnsanlarda ve diğer primatlarda yapılan immunohistokimya çalışmalarında GLP-1 reseptörünün, böbrek ve akciğerin arteriyel duvarları, kalpte sinoatrial (S.A.) noddaki miyositler<sup>(144)</sup>, duodenumda Brunner bezleri, midenin düz kas ve pariyetal hücreleri, bağırsaktaki myenterik plexus nöronları, adipositler<sup>(145)</sup>, hipofiz<sup>(146)</sup> ile kognitif fonksiyonlarla ilişkili hipokampus, amigdala, prefrontal korteks, nuc. accumbens ve nöral kök/progenitör hücreler<sup>(147)</sup> de dahil olmak üzere merkezi ve periferik sinir sisteminin birçok bölgesinde eksprese edildiği gösterilmiştir.<sup>(123, 127, 147, 148)</sup>. Ayrıca, farelerde GLP-1R pozitif hücreler beyinde telensefalonun (olfaktör bulbus, amigdala, preoptik alan, nükleus accumbens, septum), diensefalonun (hipotalamik arkuat nükleus, paraventriküler nükleus, dorsomedial nükleus, lateral hipotalamik nükleus ve supraoptik nükleus) ve mezensefalonun bazı bölgelerinde tanımlanmıştır<sup>(149)</sup>. İnsan olmayan primatların beyinde, en yüksek GLP-1 immünoreaktivitesi, hipotalamusun çeşitli çekirdeklerinde, postrema bölgesi, nükleus tractus solitarius ve vagusun dorsal motor çekirdeğinde gösterilmiştir<sup>(150)</sup>. İnsan beyinde serebral korteks, hipotalamus, hipokampus, talamus, striatum ve globus pallidus GLP-1R mRNA ekspresyonu bildirilmiştir<sup>(116, 151)</sup>.

Kemirgenlerde ve insanlarda GLP-1 reseptörünün yapısal olarak çok benzer olduğu bilinmektedir<sup>(152)</sup>. GLP-1R, hücre içi döngülerle birbirine bağlanan geniş bir N-terminal hücre dışı alanı (~120 aminoasit) ve bir C-terminal hücre içi alanına sahip 7-helikal transmembran alanı içerir<sup>(116)</sup>. N-terminal hücre dışı alanı GLP-1R'nin tanınması ve nörotransmitter bağlanması için önemlidir. C-terminal sitoplazmik bölge ise G proteinlerin bağlanması için gerekli ana belirleyicileri içerir. GLP-1R,  $G_s$  alt biriminin

yanı sıra  $G_q$ ,  $G_o$  ve  $G_i$  gibi G protein alt birimlerinden de sinyal oluşturabilmektedir<sup>(125)</sup>. Fizyolojik koşullar altında GLP-1R aktivasyonunun, hücre içi cAMP ve  $Ca^{2+}$  konsantrasyonlarını artırarak PKA, PKC, PI-3K ve MAPK sinyal yollarının aktivasyonu dahil olmak üzere birden fazla yol aktivasyonu ile hücrel büyüme, tamir ve farklılaşma ile ilgili genlerin yapımı ve düzenlenmesinde rol aldığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir<sup>(19, 122, 125, 134, 153)</sup>.

### **2.2.1. GLP-1'in Etkileri**

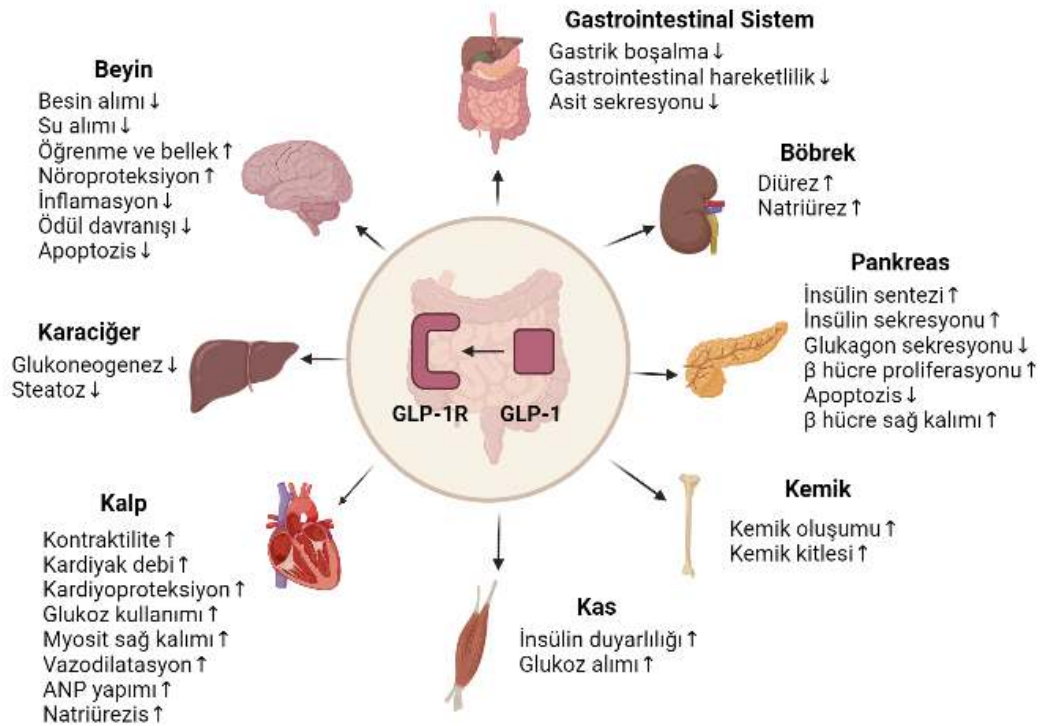
#### **2.2.1.1. GLP-1'in Pankreas Üzerine Etkileri**

GLP-1'in en temel etkisi pankreas üzerinedir. Burada  $\beta$  hücrelerini etkileyerek glukoz bağımlı insülin salgılanmasını artırır. Hücrel düzeyde bu etki, GLP-1'in GLP-1R'ye bağlanması ile başlar. Sonrasında adenilat siklaz aktivasyonu ile hücre içi cAMP seviyeleri yükselir ve protein kinaz A (PKA) ile cAMP tarafından düzenlenen guanin nükleotid değişim faktörü II'nin (cAMP-GEFII veya Epac2) aktivasyonu gerçekleşir. Bu da hücre içi  $Ca^{2+}$  artışı ve insülin içeren granüllerin ekzositozu ile sonuçlanır<sup>(154)</sup>. Bununla birlikte GLP-1,  $\beta$  hücreleri üzerinde trofik etkiyle  $\beta$  hücre proliferasyonu ve farklılaşmasını sağlar<sup>(155)</sup>, proliferasyon ve apoptoz arasındaki dengeyi korur<sup>(156)</sup>. GLP-1'in pankreastaki diğer bir etkisi de  $\alpha$  hücrelerinden glukoz bağımlı glukagon salgılanmasını inhibe etmektir. Bunların yanı sıra yapılan son çalışmalara göre GLP-1,  $\delta$ -hücrelerini -her iki etkisi de glukagon salınımını baskılamayla sonuçlanan- hem somatostatin salgılaması için hem de insülin, amilin, çinko ve GABA salgılaması için uyarır<sup>(157, 158)</sup>.

#### **2.2.1.2. GLP-1'in Pankreas Dışı Etkileri**

GLP-1, pankreastaki etkilerinin yanı sıra pankreas dışında da birçok organ ve sistemde önemli etkileri olan bir hormondur. GLP-1, gastrointestinal sekresyonları ve motiliteyi azaltır, gastrik boşalmayı yavaşlatır<sup>(159)</sup>. Merkezi (intrasebroventriküler) veya periferik yolla GLP-1 verilmesi, gıda alımında inhibisyona ve vücut ağırlığında azalmaya neden olur<sup>(160)</sup>. Yapılan çalışmalarla GLP-1'in, insanlarda yağ dokusunda hem lipolitik

hem de lipojenik etkiler gösterebildiği bulunmuştur<sup>(161)</sup>. Sağlıklı bireylerde sürekli bir GLP-1 infüzyonunun yemek sonrası plazma trigliserit artışını engellediği gösterilmiştir<sup>(162)</sup>. GLP-1'in kardiyovasküler sistem üzerine de olumlu etkileri olduğu bilinmektedir<sup>(116)</sup>. Şekil 6'da GLP-1'in insan vücudundaki tüm metabolik etkileri şematik olarak gösterilmektedir.

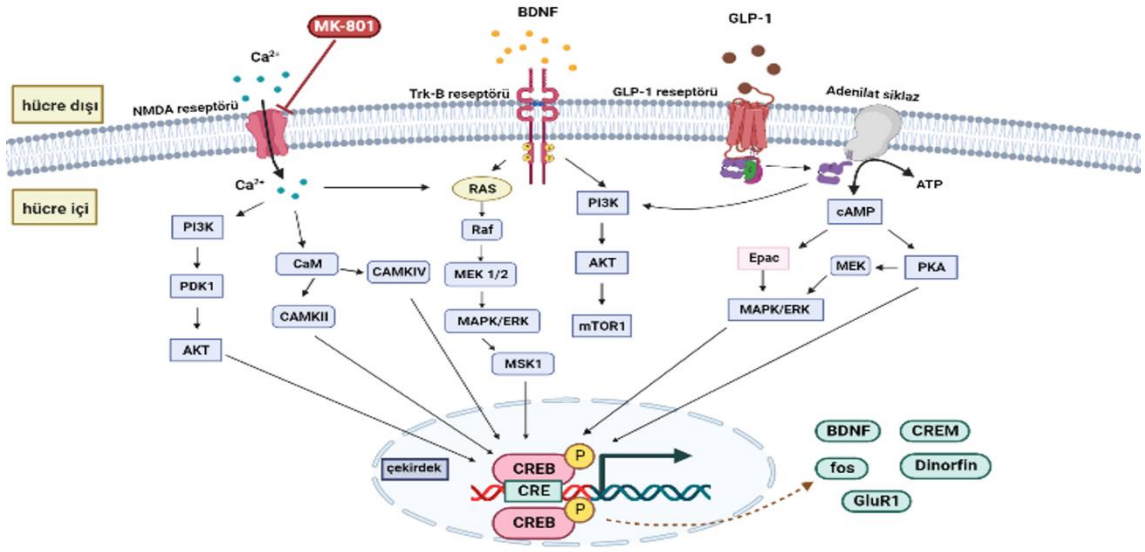


Şekil 6. GLP-1'in insan vücudundaki metabolik etkilerinin şematik gösterimi <sup>(50, 112)</sup>.

#### 2.2.1.2.1. GLP-1'in Beyindeki Etkileri

GLP-1R ekspresyonu fare<sup>(163)</sup> ve sıçanlarda<sup>(164)</sup>, uzaysal öğrenme ve bellekle ilgili bölümlerden biri olan hipokampüste gösterilmiştir<sup>(165)</sup>. İnsan beyinde ise pariyetal korteks, hipotalamus ve medulla oblongatada GLP-1R ekspresyonu varlığı saptanmıştır<sup>(166)</sup>. GLP-1'in sıçanlarda, Morris su havuzu ve pasif sakınma testlerinde öğrenme ve hafıza performansını geliştirdiği gösterilmiştir<sup>(17)</sup>. Yapılan insan çalışmalarında, GLP-1 mimetiklerin dentat girusta progenitör hücre proliferasyonunu desteklediği, GLP-1 reseptör antagonistlerinin ise progenitör hücre proliferasyonunu azalttığı bulunmuştur<sup>(167)</sup>. Isacson ve ark.nın yaptığı benzer bir çalışmada<sup>(168)</sup>, GLP-1 reseptör agonistlerinin, öğrenme ve hafıza performansını geliştirebildiği, anksiyete ve depresyonu azaltıcı eylemler sergileyebildiği sıçanlar üzerinde gösterilmiştir<sup>(16)</sup>. GLP-1'in beyinde nöroprotektif etkilerinin yanı sıra anti-inflamatuvar, anti-apoptotik ve anti-oksidan özellikleri de mevcuttur<sup>(169, 170)</sup>.

Yapılan çalışmalar ile endojen GLP-1'in kan-beyin bariyerini geçebildiği ve yukarda da söz edildiği gibi merkezi sinir sisteminde birçok süreçte olumlu etkilerinin olduğu raporlanmıştır<sup>(123)</sup>. Şekil 7, beyinde GLP-1'in GLP-1R'ye bağlanması sonrasındaki hücre içi olayları göstermektedir. GLP-1R'nin aktivasyonu G proteinini etkinleştirip adenilat siklaz sistemini çalıştırarak cAMP seviyesini artırır, böylece PKA aktive olur. Aktive PKA ya direkt olarak kendisi ya da indirekt olarak MEK/ERK yolağı üzerinden CREB aktivasyonunu artırmak suretiyle LTP'yi kolaylaştırır ve sinaptik plastisiteyi artırır. GLP-1R aktivasyonu ile CREB fosforilasyonuna katkı sağlayan bir diğer yol da PI3K seviyesinin artmasıdır<sup>(158)</sup>. PI3K seviyesinin artışı MAPK ve mTOR1 yolunu aktive ederek nöronal büyüme, tamir ve farklılaşmayı kontrol eden gen ekspresyonlarının artışına aracılık eder<sup>(92, 171)</sup>.



Şekil 7. NMDA, Trk-B ve GLP-1 reseptör aktivasyonlarıyla ilişkili CREB aracılı hücre içi sinyal yolları (19, 68, 70, 74, 90, 91, 172).

### 2.2.2. GLP-1 Agonistleri

Güneybatı Amerika ve Meksika'ya özgü zehirli bir kertenkele türü olan Gila canavarının (*Heloderma suspectum*) tükürüğünde DPP-IV'e dirençli exendin-4 adlı doğal olarak oluşan bir GLP-1 agonistinin keşfi, özellikle tip 2 diyabetin güncel tedavisinde kullanımı giderek artan GLP-1 mimetiklerin sentezlenmesine ön ayak olmuştur<sup>(173)</sup>. Exenatid bu amaçla sentezlenen ilk GLP-1 agonisti olup onu sırasıyla Liraglutid, Dulaglutid, Albiglutid ve Lixisenatid takip etmiştir. Endojen GLP-1'in plazma yarı ömrünün 1-2 dakika olmasına karşın GLP-1 agonistlerinin yarı ömrü oldukça uzundur. Aynı zamanda GLP-1 agonistleri, endojen GLP-1 aktivitesini yaklaşık 8 kat artırmayı sağlayan doza bağımlı etki gösterirler. Deney hayvanlarında gösterildiği gibi Dulaglutid dışındaki GLP-1 agonistleri kan-beyin bariyerini geçerek beyinde de çeşitli etkiler göstermektedirler<sup>(173, 174)</sup>.

Liraglutid, 34. pozisyonundaki arjininin lizin amino asidinin yerine geçmesi ve 26. pozisyonundaki palmitik asit içeren bir glutamik asit rezidüsünün lizin rezidüsüne eklenmesi ile oluşturulan, GLP-1'in sentetik bir analogudur<sup>(175)</sup>. Bu modifikasyonlar sayesinde Liraglutid endojen GLP-1'e %97 oranında homoloji gösterir ve %98-99 oranında serum albüminine bağlanması ile DPP-IV ile parçalanmaya dirençli hale gelerek plazma yarı ömrü artar (13 saat)<sup>(175)</sup>. Bu da enjeksiyonların günde bir kez olacak şekilde yapılmasını sağlayarak hastanın tedaviye uyumunu artırır. Liraglutid, 2010 yılında tip 2 diyabet hastalığı için kullanım onayı almıştır. İnsanlarda enjeksiyondan yaklaşık 30 dk. sonra kanda yüksek seviyelere çıkar ve doz artırıldığında kanda yüksek kalma seviyesi 3 saati geçebilir<sup>(19)</sup>. Liraglutid'in yan etkileri çok az olmakla birlikte daha çok tolere edilebilir düzeyde mide bulantısı, kusma ve ishal gibi gastrointestinal yan etkiler gözlenir<sup>(176)</sup>. Bununla birlikte hipoglisemik yan etkisinin düşük olması ve kilo vermeyi sağlaması olumlu özellikleridir. Ayrıca Liraglutid kan-beyin bariyerini geçerek<sup>(177)</sup> beyinde bulunan GLP-1 reseptörleri aracılığıyla hipokampal LTP ile sinaptik plastisite artışı dahil olmak üzere merkezi etkilerini gösterir<sup>(175)</sup>.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1.Etik

Çalışmanın, etik kurul onayı, Çukurova Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 03.09.2019 tarihli 5. oturumun 3 no'lu kararıyla alındı.

#### 3.2.Deney Hayvanlarının Bakımı

Deneylerde 8-10 haftalık (ortalama  $34 \pm 2,0$  gr) Balb/c fareler kullanıldı (Şekil 8a). Deney hayvanları barındırıldıkları odanın ısısı klima ile  $22 \pm 1$  °C olacak şekilde sabit tutuldu. Oda camları ışık geçirmeyecek şekilde boyanmış olup aydınlık-karanlık döngüsü otomatik olarak denetleyici bir cihaz ile 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olacak şekilde (05:<sup>00</sup>-17:<sup>00</sup> aydınlık, 17:<sup>00</sup>-05:<sup>00</sup> karanlık) ayarlandı. Deney hayvanlarının yemleri MBD Yem firmasından temin edildi, yemler herhangi bir kısıtlama olmadan (ad libitum) verildi. Tüm deney hayvanlarının su ihtiyaçları da herhangi bir kısıtlama olmadan çeşme suyu ile karşılandı.



Şekil 8. a. Yetişkin (8-10 haftalık) Balb/c fare. b. Farede tartım işlemi

### 3.3. Deneysel Şizofreni Modeli Oluşturulması

Çalışmamızda, deneysel şizofreni modeli oluşturmak amacı ile NMDA reseptör blokajı yapıldı. NMDA reseptör blokajı yapmak için (+)-MK-801 hidrojen maleat (Dizocilpine hydrogen maleate, (5R, 10S)-(+)-5-Methyl-10,11-dihydro-5H-dibenzo [a,d] cyclohepten-5, 10-imine hydrogen maleate) (SIGMA-ALDRICH M107, USA.), kontrol gruplarında ise serum fizyolojik (SF) kullanıldı. MK-801, 0,25 mg/ml olacak şekilde serum fizyolojikte sulandırılarak stok solüsyon hazırlandı. Stok solüsyon 1ml'lik endoporfirlara ayrılarak -20°C'de saklandı. Enjeksiyondan önce stok solüsyon serum fizyolojik ile sulandırılarak enjeksiyon günlerinde +4°C'de saklandı.

NMDA reseptör blokajı yapılan gruplarda, MK-801, günde bir defa (saat 10:<sup>00</sup>) periton içine, 0,25 mg/kg dozda (0,1ml/10gr vücut ağırlığı hacminde) 45 gün süre ile uygulandı<sup>(112)</sup>. Kontrol gruplarında ise, MK-801 ile aynı hacimde günde bir defa periton içine serum fizyolojik (kontrol) enjeksiyonu yapıldı. Şizofreni tanısında tekrarlayan psikoz epizodları bulunması gerektiği için bu çalışmada da MK-801'in tekrarlayan enjeksiyonlarını içeren bir protokol seçilmiştir. Enjeksiyon günlerinde deney hayvanlarının somatik büyümelerinin takibi için vücut ağırlıkları ölçüldü (Şekil 8b).

### 3.4. Liraglutid Enjeksiyonu

Çalışmamızda, GLP-1 agonisti olarak Liraglutid (Victoza®, 6 mg/ml kullanıma hazır dolu enjeksiyon kalemı içinde enjeksiyonluk çözelti, A10BJ02, NOVO NORDISK, Danimarka) kullanıldı. Enjeksiyon kalemı +4°C'de saklandı. Liraglutid, her kullanımda 300 mcg/ml olacak şekilde enjeksiyon kaleminden çekilip serum fizyolojik ile sulandırılarak deney hayvanlarına uygulandı.

Liraglutid yapılacak gruplarda, Liraglutid, günde bir defa (saat 10:<sup>00</sup>) periton içine, 300 mcg/kg dozda (0,1ml/10gr vücut ağırlığı hacminde) 45 gün süre ile uygulandı<sup>(171, 178)</sup>.

Enjeksiyon günlerinde deney hayvanlarının somatik büyümelerinin takibi için vücut ağırlıkları ölçüldü. Ayrıca haftada bir düzenli olarak kan şekeri ölçümü yapıldı.

### 3.5. Kan Glukoz Değerlerinin Ölçümü

Her gruptan davranış testlerine alınmayan hayvanlarda kan glukoz değerleri ölçüldü. Bunun için deney hayvanlarının lateral kuyruk veni kullanıldı. Kan alınacak alan öncelikle %70'lik etil alkolle temizlendi. Sonrasında kan alınacak yerin üst kısmına hafif bası yapılarak ve ısıtılarak yüzeysel venöz damarın belirginleşmesi sağlandı. Damar hattı izlenerek 22 G'lik enjektör ucu ile vene 45 derecelik açıyla girilerek bir damla kan alındı. Kalibre edilmiş Gluco Dr marka glukometre ile kan şekeri ölçümü yapıldı. Kan glukoz düzeyleri ölçümünün 6 hafta boyunca haftalık olarak takibi yapıldı (Şekil 9).



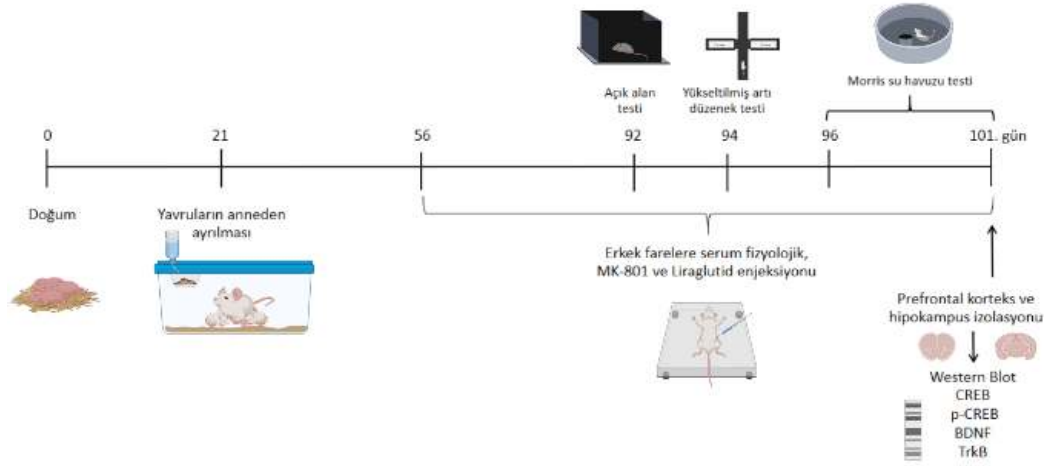
Şekil 9. Farede kan şekeri ölçümü.

### 3.6. Deney Grupları

Deney hayvanları rastgele seçilerek (N=her grupta 15-17) toplamda 5 gruba ayrıldı: SF+SF, MK-801+SF, Liraglutid+SF, MK-801+Liraglutid ve Liraglutid+MK-801. Tüm gruplarda ilk enjeksiyonu takiben 30 dakika sonra ikinci enjeksiyonlar uygulandı. Fareler, enjeksiyonlar devam ederken sırasıyla anksiyete benzeri davranışların değerlendirildiği açık alan ve yükseltilmiş artı düzenek testine, uzaysal öğrenme-belleğin değerlendirildiği Morris su havuzu testine alındı. Her gruptan 5'er adet fare ise davranış testine alınmadan prefrontal korteks ve hipokampusleri izole edilerek, BDNF, Trk-B, CREB ve p-CREB düzeyleri Western blot tekniği ile değerlendirildi (Şekil 10-11).

| Deney grubu              | Uygulama                                          |
|--------------------------|---------------------------------------------------|
| SF+SF (N=15)             | Davranış bataryası (N=10)                         |
|                          | Hipokampus ve prefrontal korteks izolasyonu (N=5) |
| MK-801+SF (N=15)         | Davranış bataryası (N=10)                         |
|                          | Hipokampus ve prefrontal korteks izolasyonu (N=5) |
| Liraglutid+SF (N=16)     | Davranış bataryası (N=11)                         |
|                          | Hipokampus ve prefrontal korteks izolasyonu (N=5) |
| MK-801+Liraglutid (N=17) | Davranış bataryası (N=12)                         |
|                          | Hipokampus ve prefrontal korteks izolasyonu (N=5) |
| Liraglutid+MK-801 (N=15) | Davranış bataryası (N=10)                         |
|                          | Hipokampus ve prefrontal korteks izolasyonu (N=5) |

Şekil 10. Deney gruplarının oluşturulması.



Şekil 11. Deney akış şeması (50).

### 3.7.Davranış Bataryası

Deney hayvanları 3 günlük adaptasyon döneminin ardından duygusal ve bilişsel işlevlerin değerlendirildiği davranış testlerine alındılar. Davranış testlerinde ilk olarak duygusal yanıtların değerlendirildiği açık alan testi ve yükseltilmiş artı düzenek testi yapıldı. Duygusal davranış testlerinden sonra deney hayvanları bilişsel işlevlerin değerlendirildiği Morris su havuzu testine alındılar (Şekil 12).



Şekil 12. Davranış bataryası.

### 3.7.1. Duygusal Davranış Bataryası

#### 3.7.1.1. Açık Alan Düzeneği

Açık alan düzeneği 60x60x24 cm ölçülerinde, siyah pleksiglastan yapılmış üstü açık, kenarları 1 cm kalınlığında duvar ile çevrelenmiştir. Düzeneğin duvara komşu alanları perifer, diğer yerleri ise merkez alan olarak tanımlanmaktadır (Şekil 13). Açık alan düzeneğinde perifer alanlar deney hayvanları için korumalı ve güvenli alanlardır. Merkez alan ise korumasız, anksiyetenin tetiklendiği alanlardır. Fareler doğal davranış yapıları gereği kendileri için güvenli olan perifer alanı tercih ederler ve anksiyetenin tetiklendiği merkez alandan kaçınırlar. Merkez alanda geçirilen süre, merkeze giriş çıkış sıklığı, merkezden geçme sıklığı ve merkeze girme latensi anksiyete ölçütleri olarak kabul edilir.



Şekil 13. Açık alan düzeneği.

#### 3.7.1.1.1. Açık Alan Testi

Açık alan testi ile farelerin açık alan korkuları, yeni uzaysal uyaran ile tetiklenen anksiyeteleri ve lokomotor aktiviteleri değerlendirildi.

Davranış testi için laboratuvara getirilen farelerin 3 dakika süresince ortama alışmaları beklendi ve daha sonra teste alındı. Açık alan düzeneğinin periferdeki kenarından düzeneğe bırakılan farelerin, düzeneğin merkezinde geçirilen süre, düzeneğin periferinde geçirilen süre, kat edilen mesafe ve merkezden geçme sıklığı davranışları 5 dakika süre ile video-kamera ile kayıtlanarak ETHOVISION XT (NOLDUS, sürüm 4.1) ile değerlendirildi. Merkeze ilk geçiş latensi ve ayağa kalkma sıklığı manuel olarak değerlendirildi. Düzenekte ortam sıcaklığı 24 °C, ışık şiddeti 100 lux olarak ayarlandı.

#### 3.7.1.2.Yükseltilmiş Artı Düzenek

Yükseltilmiş artı düzenek, yerden 40 cm yükseklikte, her biri 30 cm uzunluğunda iki açık kolu ve iki kapalı kolu olan, şeffaf pleksiglastan artı biçiminde yapılmıştır. Kapalı kolların etrafı 15 cm yüksekliğinde duvar ile çevrelenmiştir. Düzeneğin açık kollarında ışık 165 lx olacak şekilde ayarlanmıştır. Düzenek açık kol, kapalı kol ve merkez olmak üzere üç ana bileşen içermektedir (Şekil 14). Açık kollar anksiyetenin tetiklendiği, güvenli olmayan ortamdır. Fareler doğal davranış yapısı olarak açık koldan sakınıp kapalı kolu tercih etmektedirler. Açık kol aktivitesi anksiyete durumunun göstergesi olarak kabul edilmektedir. Farelerin duygusal durumu açık kol aktivitesi ve yeni ortama alışma ile değerlendirilmektedir.



Şekil 14. Yükseltilmiş artı düzenek.

#### 3.7.1.2.1. Yükseltilmiş Artı Düzenek Testi

Yükseltilmiş artı düzenek testi ile farelerde kalıtsal olan yükseklik korkusu ve yeni uzaysal uyaran ile tetiklenen anksiyete değerlendirilmektedir. Bu testte fareler yüzleri açık kola bakacak şekilde düzeneğin merkezine yerleştirildi. Açık kola girme latensi, açık kolda geçirilen zaman, kapalı kolda geçirilen zaman, açık kola giriş sıklığı, kapalı kola giriş sıklığı ve açık koldan aşağıya baş uzatma sıklığı davranışları 5 dk süresince video-kamera ile kayıtlanarak manuel olarak değerlendirildi.

#### 3.7.2. Bilişsel Davranış Testi

##### 3.7.2.1. Morris Su Havuzu

Morris su havuzu, 95 cm çapında, 45 cm derinliğinde, galvaniz kaplama saçtan yapılmış, iç kısmı siyah, silindirden oluşmaktadır. Havuzun içinde hareket ettirilebilen 27 cm yüksekliğinde, 10 cm çapında bir kaçış platformu bulunmaktadır (Şekil 15). Deneyler sırasında havuzun içi platform seviyesini 1cm aşacak kadar çeşme suyu ile dolduruldu. Suyun sıcaklığı  $24 \pm 1$  °C olacak şekilde ayarlandı. Havuzda yüzen farelere uzaysal ipucu olması için, farelerin görüş alanı içinde laboratuvar duvarlarına, açık renk duvara zıt şekilde, siyah renkli geometrik şekiller asıldı. Havuzdaki ışık 50 lx olacak şekilde ayarlandı.



Şekil 15. Morris su havuzu.

### **3.7.2.1.1. Morris Su Havuzu Eğitim Denemeleri ve Testi**

Morris su havuzu eğitim denemeleri ve testi ile farelerin uzaysal öğrenmeleri ve bellekleri değerlendirildi. Morris su havuzunda deney hayvanları 5 gün üst üste günde 4 kez eğitim denemelerine tabi tutuldu. Her denemede, hayali olarak bölünmüş dört kadranın herhangi birinden yüzü duvara dönük şekilde havuza bırakılan fareler kaçış platformunu bulmaları için 60 sn süresince yüzdürüldü. Deney hayvanları platforma geldiklerinde burada 10 sn bekletildikten sonra havuzdan alındı. Eğitim denemeleri sırasında fareler, platformu 60 sn süresince bulamamışlarsa el yardımı ile yönlendirilerek platformun yerini uzaysal olarak öğrenmeleri sağlandı ve 10 sn platformda bekletilerek havuzdan alındı. Farelerde platformu bulma süresi ve yüzme hızı kamera ile kayıtlanarak ETHOVISION XT (NOLDUS, sürüm 4.1) ile değerlendirildi. Platformun yeri denemelerin hepsinde aynı kadranda sabit şekilde tutuldu. Eğitim denemeleri arasında fareler uygun ortam sıcaklığı sağlanarak önce kurulanıp sonra kafeslerinde 30 sn bekletildi.

Test gününde platform havuzdan uzaklaştırıldı ve deney hayvanları platformun uzaklaştırılmadan önce bulunduğu kadranın karşısındaki kadranda havuza bırakıldı. Fareler test için 60 sn süresince havuzda yüzdürüldü ve platform uzaklaştırılmadan önce bulunduğu kadranda (hedef kadranda) geçirdikleri süre ve yüzme hızı kamera ile kayıtlanarak ETHOVISION XT (NOLDUS, sürüm 4.1) ile değerlendirildi.

### 3.8. Western Blot Analizi

Western blot, bir hücre veya doku örneğinin içerisindeki spesifik bir proteini özgün bir şekilde saptamak için geliştirilmiş bir moleküler analiz tekniğidir. Bu yöntemle çalışılan örnekte istenen proteinin var olup olmadığı, varsa miktarı ve miktarının yarı kantitatif olarak farklı gruplar arasındaki karşılaştırmaları hesaplanabilir. Western blotlama öncelikle protein örneklerinin hazırlanmasıyla başlar. Elimizde bulunan örnekteki proteinler diğer yapılardan ayrıştırılır. Ardından protein konsantrasyonu spektrofotometreyle ölçülür. Bu sayede yürütme sırasında her kuyucuğa eşit miktarda protein eklenmesi sağlanmış olur. Elde edilen protein örnekleri sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel (SDS-PAGE) jel üzerinde, elektriksel ortam kullanılarak molekül ağırlıklarına göre yürütülür. Bu işleme elektroforez adı verilir. Yürütme işlemi sonrasında jel üzerindeki bantlar PVDF membrana aktarılır. Bu işleme blotlama adı verilmektedir. Bu işlem sonrasında hedef protein dışı bölgelerin reaksiyona girmemesi için o bölgeler ilgisiz proteinlerle kaplanır. Bu işleme bloklama denilmektedir. Devamında ise hedef proteine uygun birincil ve ikincil antikorla muamele işlemi gerçekleştirilir. Son olarak, görüntüleme işlemi ile membran üzerindeki bantlar röntgen filmine aktarılır. Bu çalışmada Western blot için kullanılan kimyasal ajanlar ve kodları Tablo 2’de sunulmuştur.

**Tablo 2. Western blot tekniğinde kullanılan kimyasal ajanlar ve kodları.**

|                                                           |                                                    |
|-----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| <b>RIPA Lysis Buffer</b>                                  | sc-24948 (Santa Cruz)                              |
| <b>Pierce BCA Protein Assay Kit</b>                       | 23227 (Thermo Fisher)                              |
| <b>10xTBS (Tris Buffered Saline)</b>                      | 170-6435 (Bio rad)                                 |
| <b>10xTGS (Tris/Glycine/SDS)</b>                          | 161-0772 (Bio rad)                                 |
| <b>APS (Amonyum Persülfat)</b>                            | 161-0700 (Bio rad)                                 |
| <b>TEMED (Tetrametiletilendiamin)</b>                     | 161-0801 (Bio rad)                                 |
| <b>TGX FastCast Acrylamide Kit</b>                        | 161-0173 (Bio rad)                                 |
| <b>2-Mercaptoethanol</b>                                  | 161-0710 (Bio rad)                                 |
| <b>4x Laemmli Sample Buffer</b>                           | 161-0747 (Bio rad)                                 |
| <b>Tween 20, % 100 Nonionic Detergent</b>                 | 9005-64-5 (Isolab)                                 |
| <b>Blotting Grade Blocker Non Fat Dry Milk</b>            | 170-6404 (Bio rad)                                 |
| <b>Trans-Blot Turbo Transfer Pack</b>                     | 170-4156 (Bio rad)                                 |
| <b>Trans-Blot Turbo Transfer Kit RTA</b>                  | 170-4272 (Bio rad)                                 |
| <b>Beta Actin Polyclonal Antibody</b>                     | 40338 (Elabscience)                                |
| <b>BDNF Polyclonal Antibody</b>                           | STJ118730-100 (St. John's)                         |
| <b>CREB-1 Antibody</b>                                    | STJ92463-100 (St. John's)                          |
| <b>Phospho-CREB-1 (S133) Antibody</b>                     | STJ90235-100 (Biolegend)                           |
| <b>Trk-B Antibody</b>                                     | STJ96109 (St. John's)                              |
| <b>Goat Anti-rabbit IgG(H+L) peroxidase-HRP conjugate</b> | E-AB-1003 (Elabscience) ve SA00001-2 (Proteintech) |
| <b>Clarity Max Western ECL Substrate</b>                  | 170-5061 ve 1705062 (Bio rad)                      |
| <b>WesternC Blotting Standards</b>                        | 161-0376 (Bio rad)                                 |
| <b>Röntgen Banyo Solüsyonu Developer</b>                  | de1576 (Impact)                                    |
| <b>Röntgen Banyo Solüsyonu Fixer</b>                      | de1576 (Impact)                                    |

**Yükleme Tamponu:** 100 µL 2-merkaptoetanol + 900 µL 4X-Laemmli sample buffer

**Yıkama Tamponu:** 900 ml saf su + 100 ml 10xTBS + 1 ml Tween 20

**Bloklama Solüsyonu:** 100 ml yıkama tamponu + 5 gr süt tozu

### **3.8.1. Western Blot Analiz Aşamaları**

#### **3.8.1.1.Total Protein Numunelerinin Elde Edilmesi**

Western blot analizi öncesinde farklı gruptaki doku örneklerinin protein izolasyonları yapıldı. Bunun için 45 gün boyunca enjeksiyonları yapılan farelerin 45. gün prefrontal korteks ve hipokampus dokuları izole edilip -80°C'ye kaldırıldı. Tüm grupların izolasyon işlemleri bittikten sonra prefrontal korteks ve hipokampus örnekleri hassas terazi ile tartıldı. Tartılan örnekler RIPA karışımıyla birleştirilip homojenizatörde 70-80 RPMI'da en az 5 dk homojenize edildi. Tartılan dokunun her 1 gramı için 3 ml RIPA hazırlandı. Her 1 ml RIPA için ise 10 µl PMSF, 10 µl sodiumorthovanadat ve 10-20 µl proteaz inhibitörü eklenip bir RIPA karışımı oluşturuldu. Protein örneği ve RIPA karışımı krema kıvamı alınca homojenizasyon bitirilip ependorflara aktarıldı (Şekil 16a). Ependorflar +4 °C'de 14000 RPMI 'da 10 dk santrifüj edildi. Süpernatant kısım total protein olarak kabul edilip farklı bir ependorfa aktarıldı ve -20 °C'ye kaldırıldı.

#### **3.8.1.2.Total Protein Ölçümü**

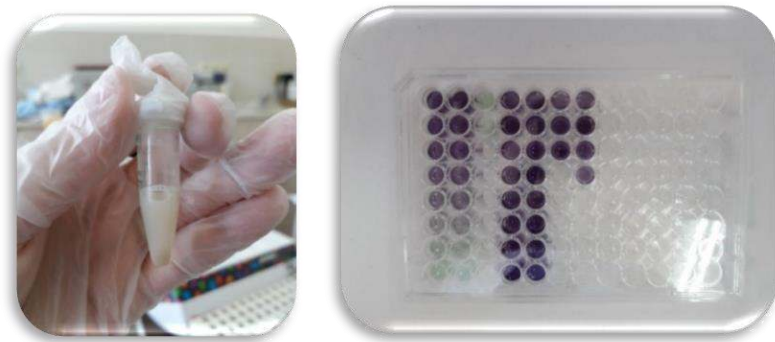
Total protein ölçümü, Bicinchoninic Acid (BCA) Protein Assay testi ile yapıldı. Bu test ile protein miktarları bilinen albümin standartları ile protein miktarları bilinmeyen numunelerin protein konsantrasyonları hesaplanabilmektedir. Prensip olarak, bir alkali solüsyonda biüret reaksiyonu olarak bilinen  $\text{Cu}^{2+}$ 'nin  $\text{Cu}^{+}$ 'e indirgenmesi ve bicinchoninic asit ile mor renk oluşumuna yol açması kullanılır<sup>(179)</sup>. İndirgenmiş  $\text{Cu}^{2+}$  miktarı, solüsyonda bulunan protein miktarı ile doğru orantılı olarak değişir. Oluşan mor

renk spektrofotometrede 562 nm’de ölçülür ve absorbans değerleri alınır. Sonrasında standart bir protein için elde edilen referans eğrisi ile 0,02-2,00 mg/mL aralığındaki protein konsantrasyonları hesaplanabilir<sup>(180)</sup>.

Bu amaçla, öncelikle BCA çalışma solüsyonu hazırlandı. Her örnek için 200 µL olacak şekilde, BCA Protein Assay kit içerisindeki BCA Solüsyon A ve B’den 50:1 oranında alınıp karıştırıldı. Daha sonra protein miktarları bilinen 9 adet standart, Tablo 3’te gösterilen oranlarda, stok sığır serum albümininden (BSA) seyreltme yapılarak hazırlandı.

Hazırlanan 9 adet standart ve protein miktar tayini yapılacak örnekler 96’lık kültür kaplarına sırayla her biri 25 µl olacak şekilde eklendi. Daha sonra çalışma solüsyonundan hem standart hem de örneklerin üzerine 200 µL eklendi ve 37°C’de 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası 562 nm’de spektrofotometrede (Eon, Biotek marka) absorbanslar ölçüldü (Şekil 16b).

Her BSA standart için 562 nm’deki ölçüm değerleri, onun µg/mL’deki protein konsantrasyonuna karşı çizilerek standart bir eğri elde edildi (Şekil 17). Deney gruplarındaki örneklerin protein konsantrasyonunu belirlemek için bu standart eğri kullanıldı. Böylece örneklerdeki proteinlerin mL’deki µg düzeyleri belirlendi.

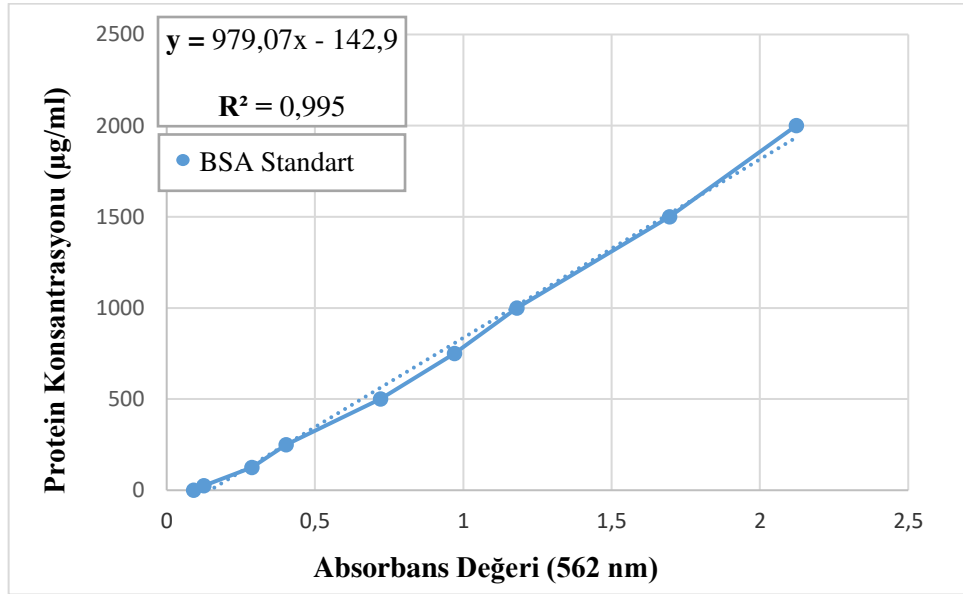


**Şekil 16. Total protein ölçümü.**

**a. Krema kıvamına gelmiş beyin dokusu b. BSA standartları ve protein örneklerinin 96’lık kültür kabında inkübasyon işlemi**

**Tablo 3. Seyreltilmiş BSA standartlarının hazırlanması.**

| Ependorf | Seyreltme Hacmi (µL) | BSA'nın Hacim ve Kaynağı (µL) | Final BSA Konsantrasyonu (µg/mL) |
|----------|----------------------|-------------------------------|----------------------------------|
| <b>A</b> | 0                    | Stoktan 300                   | 2000                             |
| <b>B</b> | 125                  | Stoktan 375                   | 1500                             |
| <b>C</b> | 325                  | Stoktan 325                   | 1000                             |
| <b>D</b> | 175                  | C ependorfundan 175           | 750                              |
| <b>E</b> | 325                  | B ependorfundan 325           | 500                              |
| <b>F</b> | 325                  | E ependorfundan 325           | 250                              |
| <b>G</b> | 325                  | F ependorfundan 325           | 125                              |
| <b>H</b> | 400                  | G ependorfundan 100           | 25                               |
| <b>I</b> | 400                  | 0                             | 0                                |



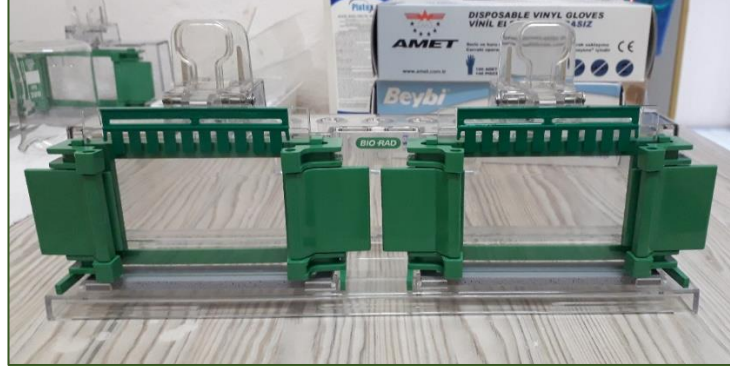
**Şekil 17. BSA standartlarının protein konsantrasyonuna karşılık gelen absorbans yanıt eğrisi. BSA: Sığır serum albumini**

### 3.8.1.3.SDS Page Jelinin Hazırlanması

Bio-rad firmasından temin edilen iki cam plak “UP” yazan kısmı yukarı bakacak şekilde ve girintili kısım camların iç yüzeyinde olacak şekilde casting yuvasına yerleştirildi, kilidi sıkıştırıldı. Sonrasında casting standına yerleştirildi. Biorad firmasından temin edilen Acrylamide Kit ile SDS PAGE jelin ayırıcı jeli Tablo 4’te gösterildiği gibi hazırlandı. Üst yüzeyin düzgünlüğünü sağlamak için üzerine 1 mL isopropanol eklendi ve 30 dakika polimerize olması için beklendi. Süre dolunca kurutma kağıdı kullanılarak ayırıcı jelin üzerindeki isopropanol dikkatlice uzaklaştırıldı. Ardından Tablo 4’te belirtilen ölçülerde paketleyici jel hazırlanıp ayırıcı jelin üzerine taşma miktarına gelene kadar döküldü. Polimerize olması beklenmeden kuyucukları oluşturacak olan tarak paketleyici jel üzerine yerleştirildi ve +4°C’de bir gece bekletildi (Şekil 18).

**Tablo 4. Ayırıcı ve paketleyici jel hazırlamada kullanılan solüsyon ve hacimleri.**

|                        |                 |    |
|------------------------|-----------------|----|
| <b>Ayırıcı Jel</b>     | Revolver A (ml) | 3  |
|                        | Resolver B (ml) | 3  |
|                        | APS (%10) (µl)  | 30 |
|                        | TEMED (µl)      | 3  |
| <b>Paketleyici Jel</b> | Stacker A (ml)  | 1  |
|                        | Stacker B (ml)  | 1  |
|                        | APS (%10) (µl)  | 10 |
|                        | TEMED (µl)      | 2  |



**Şekil 18. SDS Page jelinin yürütölmeye hazır hali.**

#### **3.8.1.4. Proteinlerin Jel Üzerinde Yürütölmesi**

Daha önceden hazırlanılan total protein örnekleri  $-20^{\circ}\text{C}$ 'den çıkarılıp buz içersine alındı. Kuyucuk yükleme için her örnek 30  $\mu\text{g}$  protein içerecek ve 30  $\mu\text{l}$  hacimde olacak şekilde hesaplandı ve ayrı ayrı ependorflara konuldu. Protein örneklerinin üzerlerine 3:1 oranında yükleme tamponu eklendi. Tüm ependorflar  $95^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlanmış olan kuru blok ısıtıcına yerleştirilip 5 dk beklendi.

Önceden hazırlanan jeller kasetlere geçirilip yürütme cihazına yerleştirildi ve tank içersine TGS (yürütme solüsyonu) eklendi. Jel üzerindeki tarak dikkatli bir şekilde kaldırılarak oluşturulan kuyular kontrol edildi. Ardından ilk kuyucuğa jel elektroforezi moleküler ağırlık standardından 2  $\mu\text{l}$ , protein örnekleri de geri kalan kuyucuklara 30  $\mu\text{l}$  olacak şekilde yüklendi. Kuyucuk yükleme işlemi sonrası elektroforez cihazının kapağı kapatılıp çalıştırıldı. İlk 20 dk 80 volt'ta, sonrasında 100 volt'ta örnekler jelin sonuna ulaşınca kadar çalıştırıldı (Şekil 19).



**Şekil 19. Proteinlerin jel üzerinde yürütülmesi basamakları.**

#### **3.8.1.5.Jelin Membrana Aktarılması**

Yürütme işlemi bittikten sonra jel cam plakalar arasından çıkarıldı ve TGS solüsyonuna konuldu. Bio-rad marka transfer cihazına (trans-blot turbo) öncelikle Bio-rad marka ıslak membran kitinden (trans-blot turbo transfer pack) çıkan 6 adet filtre kağıdı ve üzerine PVDF membran konuldu. Üzerine jel yerleştirildi ve 6 adet filtre kağıdıyla kapatıldı. Arada kabarcık kalmaması için silindir çubukla (blotting roller) filtre kağıdının üzerinden birkaç kez geçildi ve membrana aktarım sağlandı (Şekil 20).



**Şekil 20. Membran transferi için kullanılan Trans-blot Turbo cihazı.**

### **3.8.1.6.Bloklama**

Membrana aktarım işleminden sonra jel atıldı, membran ise TBS solüsyonuna konularak 5 dakika bekletildi. Ardından TBS solüsyonu döküldü. Membran önceden hazırlanmış olan 20 ml %5'lik bloklama solüsyonuna konuldu ve 1 saat boyunca +4°C'de çalkalayıcıda çalkalandı. Süre bitiminde bloklama solüsyonu döküldü. Membran 3 kez 5'er dakika boyunca yıkama solüsyonuyla +4°C'de çalkalayıcıda yıkandı.

### **3.8.1.7.Birincil ve İkincil Antikorla İnkübasyon İşlemi**

Yıkama işlemi bittikten sonra membrana primer antikor eklendi. Her örnek için primer antikor olarak  $\beta$  aktin, BDNF, CREB, p-CREB, Trk-B kullanıldı.  $\beta$  aktin 1:1000, BDNF 1:500, CREB 1:500, p-CREB 1:500, Trk-B 1:500 oranında bloklama solüsyonuyla seyreltme işlemi yapılarak membranlara uygulandı. Ardından membran +4 °C'de çalkalayıcı üzerinde tüm gece inkübe edildi.

Süre bitiminde membran üzerindeki primer antikor döküldü. Membran 3 kez 5'er dakika yıkama solüsyonuyla +4°C'de çalkalayıcıda yıkandı. Sonrasında membran üzerine sekonder antikor eklendi. Her örnek için sekonder antikor 1:5000 oranında bloklama solüsyonuyla seyreltilerek hazırlandı. Membran sekonder antikorla 1 saat boyunca +4 °C'de çalkalayıcı üzerinde inkübe edildi. 1 saat sonunda sekonder antikor döküldü ve membran 3 kez 5'er dakika +4°C'de çalkalayıcıda yıkama solüsyonuyla yıkandı.

### 3.8.1.8.Görüntüleme

Membran yıkandıktan sonra, önceden hazırlanan Enhanced Chemi Luminescence (ECL) solüsyonu membranın üzerine karanlık ortamda döküldü. Membran solüsyonda 15 dakika boyunca karanlıkta bekletildi. ECL solüsyonu ile membran üzerinde oluşan ışıma 18x24 cm'lik X-ray filmine aktarıldı. Aktarım sonrası X-ray filmi karanlık ortamda sırasıyla 1 dakika developer solüsyonunda, 1 dakika fixer solüsyonunda bekletildi ve hemen ardından çeşme suyuyla yıkandı. Bu yöntemle spesifik proteinler X-ray filmi üzerinde görünür hale getirildi (Şekil 21).

Görüntüleme işlemi yapıldıktan sonra X-ray filmi, Image-Lab programıyla (sürüm: 6.0, Bio-rad, 2017) bilgisayara aktarıldı ve kantitatif analizleri yapıldı. Yapılan analizde, spesifik protein yoğunluk miktarlarının,  $\beta$ -aktin proteine ait bant yoğunluk miktarına bölünmesiyle normalizasyon sağlandı. Değerler kontrol grubuna göre bant yoğunluk miktarları % değişimi şu şekilde ifade edildi:  $[(\text{Prt yoğun.örnek} / \text{Prt yoğun.}\beta\text{-aktin}) / \text{Prt yoğun.kontrol ort.} \times 100]$ . Kontrol grubunun protein yoğunluk değeri %100 olarak belirlenirken, kontrol grubunun protein kat artışı 1 olarak belirlendi.



Şekil 21.Görüntüleme ekipmanları.

### 3.9. İstatistiksel Analiz

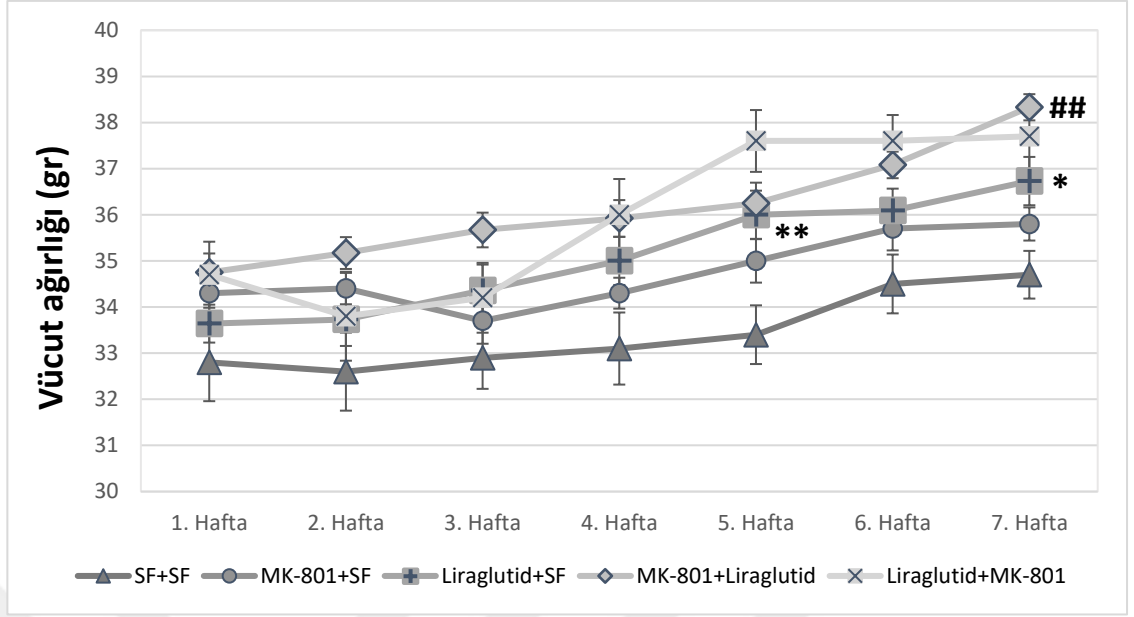
Veriler ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak ifade edildi. İstatistiksel analiz için SPSS Statistics programı (22.0, IBM, Chicago, ABD) kullanıldı. Normal dağılıma uyan ve parametrik verilerde ANOVA ardından ikili grup karşılaştırmalarında Tukey testi kullanıldı. Normal dağılıma uymayan ve parametrik olmayan veriler Kruskal Wallis testini takiben ikili grup karşılaştırmalarında Mann Whitney U testi ile analiz edildi. Vücut ağırlığı ve kan şekeri verileri tekrarlayan ölçümlerde ANOVA testi takiben Tukey testi ile değerlendirildi. Morris su havuzu testi normal dağılıma uymadığı için Friedman'ın ANOVA takiben grupların kendi içlerinde karşılaştırmasında Wilcoxon testi, gruplar arası karşılaştırmada Mann Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1.Somatik Büyüme

Yetişkin dönem farelerde, somatik büyüme değerlendirmesi yapmak amacıyla 1.-7. haftalar arası haftalık kilo takibi yapıldı.

Farelerde, vücut ağırlığında ANOVA testi ile gruplar arasında, 1. hafta [ $F(4,52)=2,0$   $p=0,105$ ] ve 2. haftada [ $F(4,52)=3,2$   $p=0,082$ ] fark bulunmazken, 3. haftada [ $F(4,52)=2,2$   $p<0,05$ ], 4. haftada [ $F(4,52)=4,2$   $p<0,01$ ], 5. haftada [ $F(4,52)=7,7$   $p<0,001$ ], 6. haftada [ $F(4,52)=6$   $p<0,01$ ] ve 7. haftada [ $F(4,52)=8,1$   $p<0,001$ ] anlamlı fark saptandı. SF+SF grubuna göre Liraglutid+SF grubunda, 5. ve 7. haftalarda, vücut ağırlığında anlamlı artış görüldü (5. hafta  $p<0,01$ , 7. hafta  $p<0,05$ ). MK-801+Liraglutid grubunda, MK-801+SF grubuna göre 7. haftada, vücut ağırlığında anlamlı artış görüldü ( $p<0,01$ ) (Şekil 22) (Tablo 5).



Şekil 22. Gruplar arasında 7 haftalık vücut ağırlığı değişimi.

\* $p<0,05$ , \*\* $p<0,01$  SF+SF grubuna göre, ## $p<0,01$  MK-801+SF grubuna göre. Tek yönlü ANOVA *Post hoc* Tukey testi. Veriler ortalama±S.H. olarak ifade edildi. Gruplarda N=10-12.

Tablo 5. Vücut ağırlığı ortalamalarının gruplar arasında 7 haftalık değişimleri.

|                   | 1. Hafta | 2. Hafta | 3. Hafta | 4. Hafta | 5. Hafta   | 6. Hafta | 7. Hafta   |
|-------------------|----------|----------|----------|----------|------------|----------|------------|
| SF+SF             | 32,8±0,8 | 32,6±0,8 | 32,9±0,7 | 33,1±0,8 | 33,4±0,6   | 34,5±0,6 | 34,7±0,5   |
| MK-801+SF         | 34,3±0,4 | 34,4±0,3 | 33,7±0,5 | 34,3±0,3 | 35,0±0,5   | 35,7±0,5 | 35,8±0,4   |
| Liraglutid+SF     | 33,6±0,4 | 33,7±0,6 | 34,4±0,6 | 35,0±0,5 | 36,0±0,5** | 36,1±0,5 | 36,7±0,5*  |
| MK-801+Liraglutid | 34,8±0,4 | 35,2±0,3 | 35,7±0,4 | 35,9±0,4 | 36,3±0,4   | 37,1±0,3 | 38,3±0,3## |
| Liraglutid+MK-801 | 34,7±0,7 | 33,8±1,0 | 34,2±0,8 | 36,0±0,8 | 37,6±0,7   | 37,6±0,6 | 37,7±0,8   |

\* $p<0,05$ , \*\* $p<0,01$  SF+SF grubuna göre, ## $p<0,01$  MK-801+SF grubuna göre. Tek yönlü ANOVA *Post hoc* Tukey testi. Veriler ortalama±S.H. olarak ifade edildi. Gruplarda N=10-12.

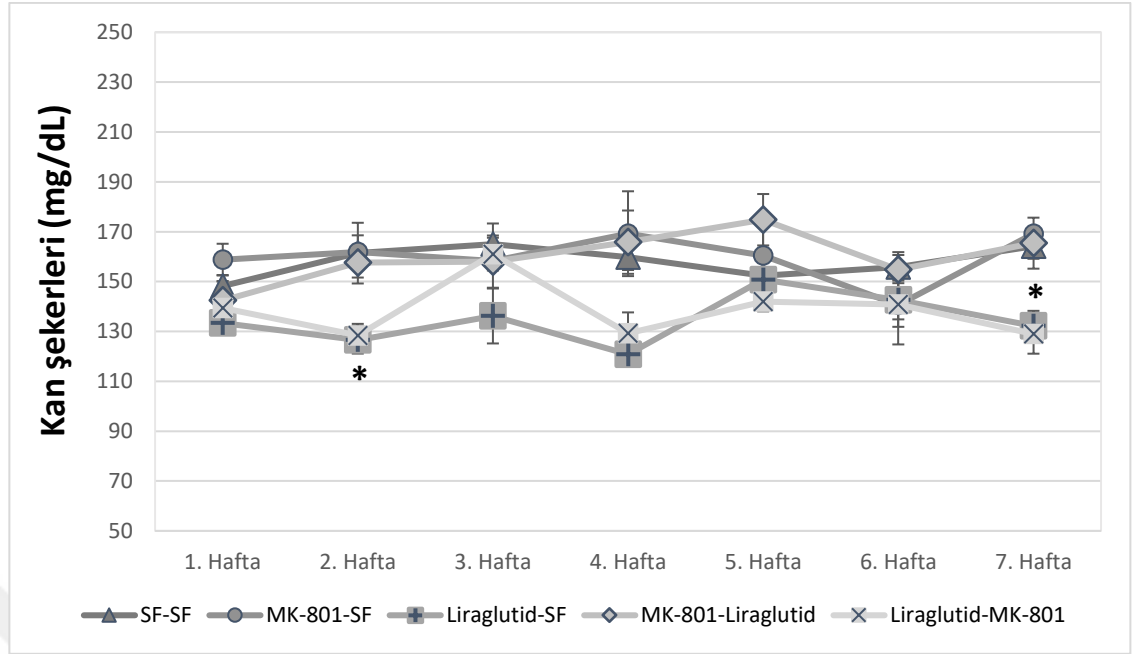
Grupların haftalık kilo değişimlerine bakıldığı zaman, SF+SF grubunda, 1. hafta ile 2.-3.-4.-5. haftalar arasında anlamlı fark bulunmadı. 6. hafta ve 7. haftalarda 1. haftaya göre anlamlı artış saptandı (6. hafta  $p<0,05$ , 7. hafta  $p<0,05$ ). MK-801+SF grubunda 1. hafta ile 2.-3.-4.-5. haftalar arasında anlamlı fark gözlenmezken, 6. ve 7. haftalarda 1. haftaya göre anlamlı artış bulundu (6. hafta  $p<0,05$ , 7. hafta  $p<0,01$ ). Liraglutid+SF grubunda 1. hafta ile 2.-3. haftalar arasında anlamlı fark saptanmadı. 4. haftada ( $p<0,01$ ), 5. haftada ( $p<0,001$ ), 6. haftada ( $p<0,001$ ) ve 7. haftada ( $p<0,001$ ) ise 1. haftaya göre anlamlı artış bulundu. MK-801+Liraglutid grubunda, 1. hafta ile 2.-3.-4. haftalar arasında anlamlı fark bulunmadı. 5. hafta ( $p<0,05$ ), 6. Hafta ( $p<0,01$ ) ve 7. haftalarda ( $p<0,001$ ) 1. haftaya göre anlamlı artış saptandı. Liraglutid+MK-801 grubunda ise, 1. hafta ile 2.-3.-4. haftalar arasında anlamlı fark bulunmazken, 5. hafta ( $p<0,001$ ), 6. Hafta ( $p<0,01$ ) ve 7. haftalarda ( $p<0,01$ ) 1. haftaya göre anlamlı artış saptandı.

#### **4.2.Kan Şekerleri**

Kan şekeri ölçümleri haftalık olarak, 2. enjeksiyondan yarım saat sonra, herhangi bir yiyecek-içecek kısıtlaması olmadan yapıldı. Ölçümler, her grupta, davranış deneylerine alınmayan 5 adet hayvan ile, kalibre edilmiş GlucoDr markalı kan şekeri ölçüm cihazıyla yapıldı. Hayvanların kan şekeri 7 hafta süreyle takip edildi.

Farelerde, kan şekeri ANOVA testi ile gruplar arasında, 2. haftada [ $F(4,24)=5,79$   $p<0,01$ ] ve 7. haftada [ $F(4,24)=8,32$   $p<0,001$ ] anlamlı fark bulundu (Tablo 6).

Liraglutid+SF grubunda SF+SF grubuna göre, 2. hafta ( $p<0,05$ ) ve 7. haftada ( $p<0,05$ ) kan şekeri anlamlı olarak daha düşük ölçüldü. Diğer gruplarda istatistiksel olarak ikili karşılaştırmalarda anlamlı fark bulunmadı (Şekil 23).



Şekil 23. Gruplar arasında 7 haftalık kan şekeri değişimi.

\* $p<0,05$  SF+SF grubuna göre. Tek yönlü ANOVA *Post hoc* Tukey testi. Veriler ortalama±S.H. olarak ifade edilmiştir. Gruplarda N=5.

Tablo 6. Kan şekeri ortalamalarının gruplar arasında 7 haftalık değişimleri.

|                          | 1. Hafta   | 2. Hafta   | 3. Hafta   | 4. Hafta   | 5. Hafta   | 6. Hafta   | 7. Hafta   |
|--------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>SF+SF</b>             | 148,2±2,0  | 161,4±12,2 | 165,0±8,3  | 159,8±5,2  | 152,4±6,8  | 155,8±4,9  | 164,2±5,1  |
| <b>MK-801+SF</b>         | 158,8±6,4  | 161,8±6,7  | 158,2±2,7  | 169,2±17,0 | 160,4±15,5 | 140,6±8,8  | 169,2±1,5  |
| <b>Liraglutid+SF</b>     | 133,4±4,6  | 126,6±5,5* | 136,2±11,0 | 120,8±3,3  | 150,8±11,1 | 142,6±7,8  | 132,2±6,1* |
| <b>MK-801+Liraglutid</b> | 142,4±10,2 | 157,6±6,0  | 158,0±10,5 | 165,8±12,7 | 174,8±10,3 | 154,8±7,0  | 165,4±10,2 |
| <b>Liraglutid+MK-801</b> | 139,4±10,6 | 128,4±4,6  | 161,0±6,6  | 129,2±8,4  | 142,0±4,0  | 140,8±16,0 | 129,0±7,9  |

\* $p<0,05$  SF+SF grubuna göre. Tek yönlü ANOVA *Post hoc* Tukey testi. Veriler ortalama±S.H. olarak ifade edilmiştir. Gruplarda N=5.

### 4.3.Duygusal Davranış Testleri

#### 4.3.1. Açık Alan Testi

Açık alan testinde, ayağa kalkma sıklığında gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı (Şekil 26). Düzeneğin merkez alanında geçirilen sürede, Kruskal Wallis testi ile gruplar arasında anlamlı fark bulundu [ $H(4, 53) = 19,5$   $p=0,001$ ]. SF+SF grubuna göre MK-801+SF grubunda ( $U=7,0$   $p=0,001$   $z=-3,2$ ) ve Liraglutid+SF grubunda ( $U=11,0$   $p<0,01$   $z=-3,1$ ) merkezde geçirilen süre anlamlı olarak arttı. MK-801+SF grubuna göre MK-801+Liraglutid grubunda ise merkezde geçirilen süre anlamlı olarak azaldı ( $U=29,0$   $p<0,05$   $z=-2,0$ ). Liraglutid+MK-801 grubunda Liraglutid+SF grubuna göre ( $U=38,0$   $p=0,231$   $z=-1,2$ ) anlamlı fark bulunmadı (Şekil 24).

Düzeneğin periferinden merkeze ilk geçiş latensinde Kruskal-Wallis testine göre gruplar arasında anlamlı fark görüldü [ $H(4,53)=22,3$   $p<0,001$ ]. SF+SF grubuna göre MK-801+SF grubunda ( $U=9,0$   $p<0,01$   $z=-3,1$ ) ve Liraglutid+SF grubunda ( $U=13,5$   $p<0,01$   $z=-2,9$ ) merkeze ilk geçiş latensi anlamlı olarak azaldı. Bununla birlikte, Liraglutid+MK-801 grubunda, Liraglutid+SF grubuna göre, merkeze geçiş latensinde artma bulunurken ( $U=10,0$   $p<0,01$   $z=-3,2$ ), MK-801+Liraglutid grubunda MK-801+SF grubuna göre ise ( $U=34,5$   $p=0,092$   $z=-1,7$ ) artma eğilimi saptandı (Şekil 25) (Tablo 7). Düzeneğin merkezinden geçme sıklığı için, tek yönlü ANOVA testi ile gruplar arasında anlamlı fark saptandı ( $F(4,52)=8,2$   $p<0,001$ ). SF+SF grubuna göre MK-801+SF ( $p<0,001$ ) ve Liraglutid+SF grubunda ( $p<0,01$ ) merkezden geçme sıklığında anlamlı artış bulundu (Şekil 27).

Düzenekte kat edilen mesafede, tek yönlü ANOVA testi ile gruplar arasında anlamlı fark görüldü ( $F(4,52)=14,8$   $p<0,001$ ). SF+SF grubuna göre MK-801+SF ( $p<0,001$ ) ve Liraglutid+SF grubunda ( $p<0,01$ ) kat edilen mesafede anlamlı artış bulundu. Liraglutid+MK-801 grubunda ise, Liraglutid+SF grubuna göre kat edilen mesafe anlamlı azaldı ( $p<0,05$ ) (Şekil 28) (Tablo 8).

**Tablo 7. Gruplar arasında açık alan testindeki anksiyete benzeri davranış ölçütleri.**

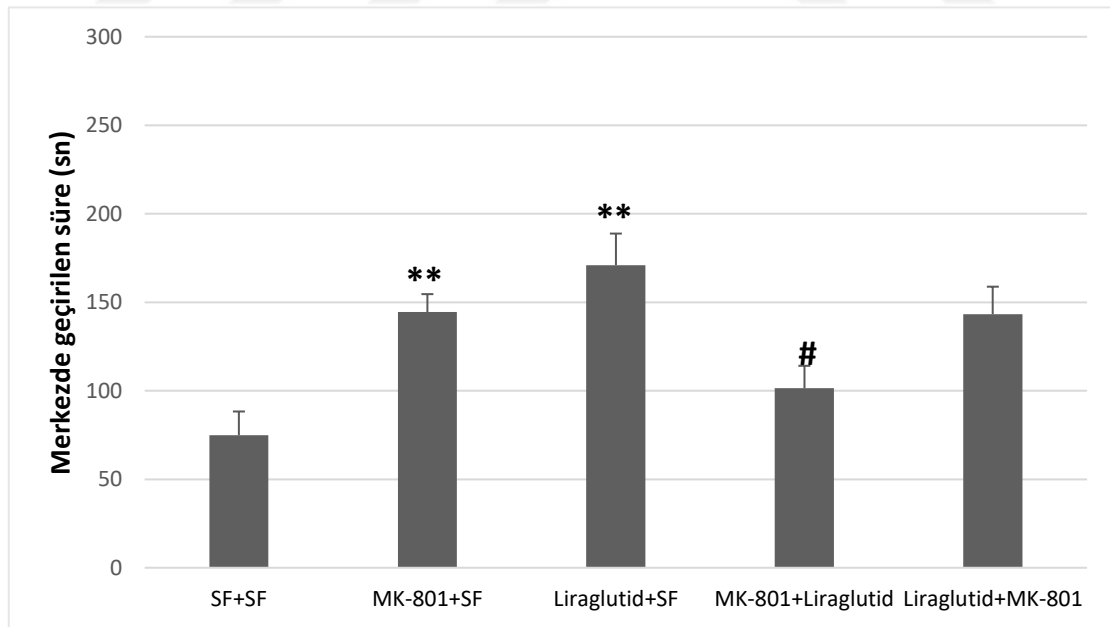
|                          | Merkezde geçirilen süre (sn) | Merkeze ilk geçiş latensi (sn) | Ayağa kalkma sıklığı |
|--------------------------|------------------------------|--------------------------------|----------------------|
| <b>SF+SF</b>             | 74,9±13,4                    | 39,7±14,1                      | 32,30±4,7            |
| <b>MK-801+SF</b>         | 144,5±10,1**                 | 7,5±1,5**                      | 33,80±4,1            |
| <b>Liraglutid+SF</b>     | 170,9±17,9**                 | 9,9±2,0**                      | 21,64±2,9            |
| <b>MK-801+Liraglutid</b> | 101,4±12,7#                  | 13,8±2,7                       | 29,00±3,4            |
| <b>Liraglutid+MK-801</b> | 143,2±15,6                   | 22,2±2,3^^                     | 36,20±6,4            |

Veriler ortalama ± S.H. olarak ifade edildi. \*\*p<0,01 SF+SF grubuna göre, #p<0,05 MK-801+SF grubuna göre, ^^p<0,01 Liraglutid +SF grubuna göre. Kruskal-Wallis *Post hoc* Mann-Whitney U testi. Gruplarda N=10-12.

**Tablo 8. Gruplar arasında açık alan testindeki lokomotor aktivite ölçütleri.**

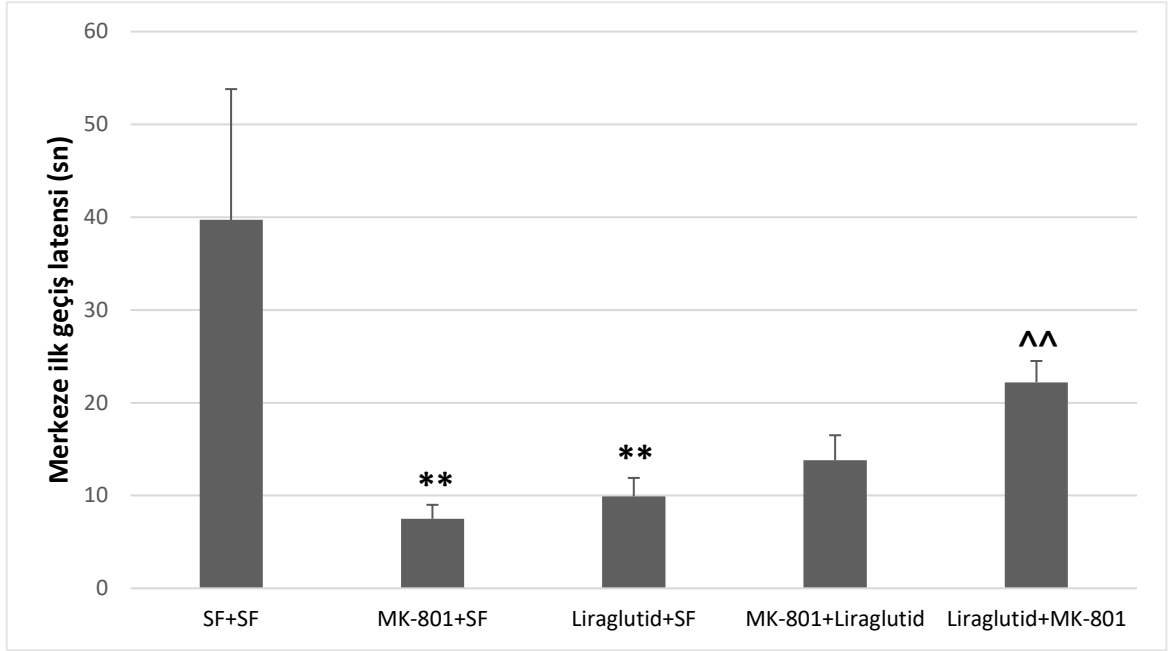
|                          | Merkezden geçme sıklığı | Kat edilen mesafe |
|--------------------------|-------------------------|-------------------|
| <b>SF+SF</b>             | 32,2±4,9                | 2391,9±298,6      |
| <b>MK-801+SF</b>         | 70,9±4,4***             | 5418,0±317,5***   |
| <b>Liraglutid+SF</b>     | 60,2±6,3**              | 4549,4±561,8**    |
| <b>MK-801+Liraglutid</b> | 62,1±6,0                | 5439,3±354,4      |
| <b>Liraglutid+MK-801</b> | 43,9±3,8                | 2714,9±210,7^     |

Veriler ortalama ± S.H. olarak ifade edildi. \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001 SF+SF grubuna göre, ^p<0,05 Liraglutid+SF grubuna göre. Tek yönlü ANOVA *Post hoc* Tukey testi. Gruplarda N=10-12.



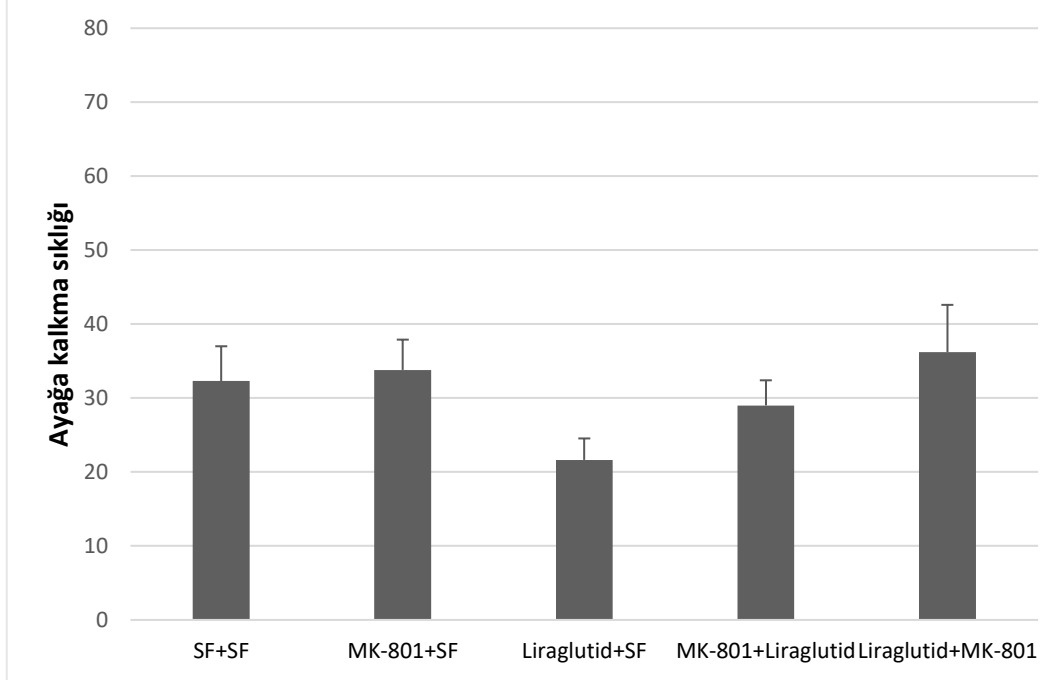
**Şekil 24. Gruplar arasında açık alan testinde düzeneğin merkezinde geçirilen süre.**

\*\*p<0,01 SF+SF grubuna göre, #p<0,05 MK-801+SF grubuna göre. Kruskal-Wallis *Post hoc* Mann-Whitney U testi. Veriler ortalama ± S.H. olarak ifade edildi. Gruplarda N=10-12.



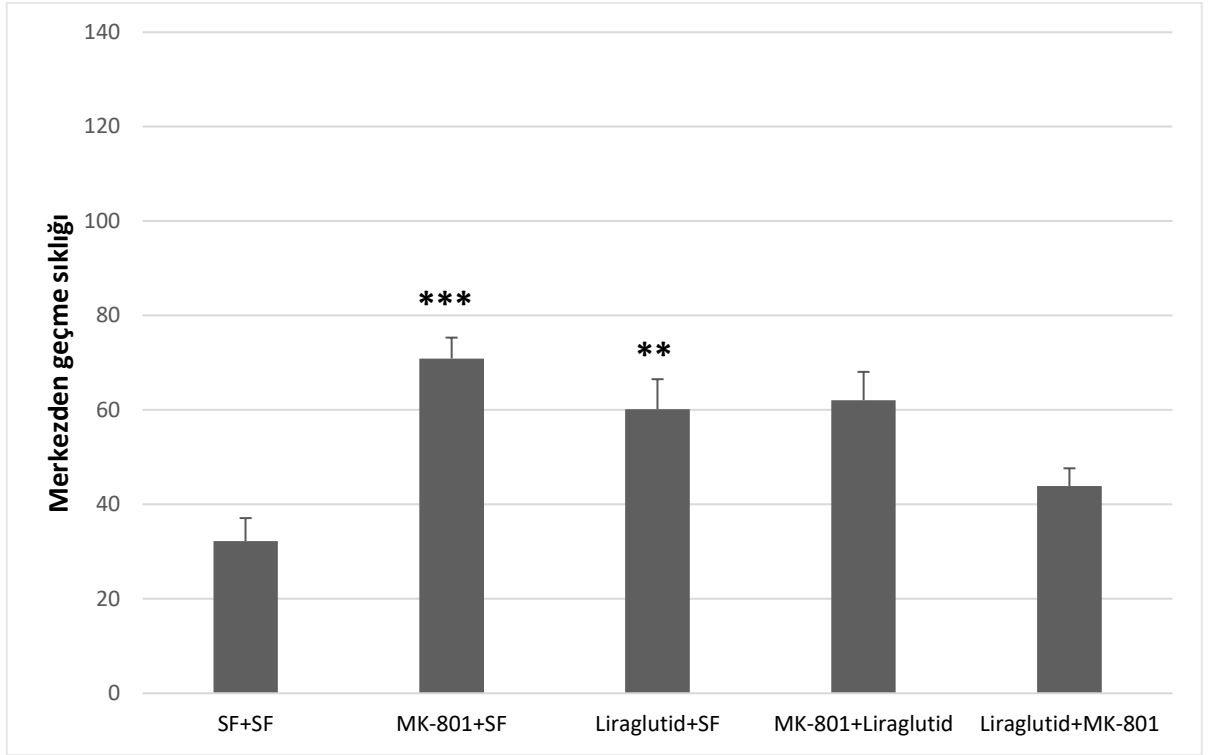
**Şekil 25. Gruplar arasında açık alan testinde düzeneğin düzeneğın periferinden merkezine ilk geçiş latensi.**

**\*\*p<0,01 SF+SF grubuna göre, ^^p<0,01 Liraglutid+SF grubuna göre. Kruskal-Wallis Post hoc Mann-Whitney U testi. Veriler ortalama ± S.H. olarak ifade edildi. Gruplarda N=10-12.**



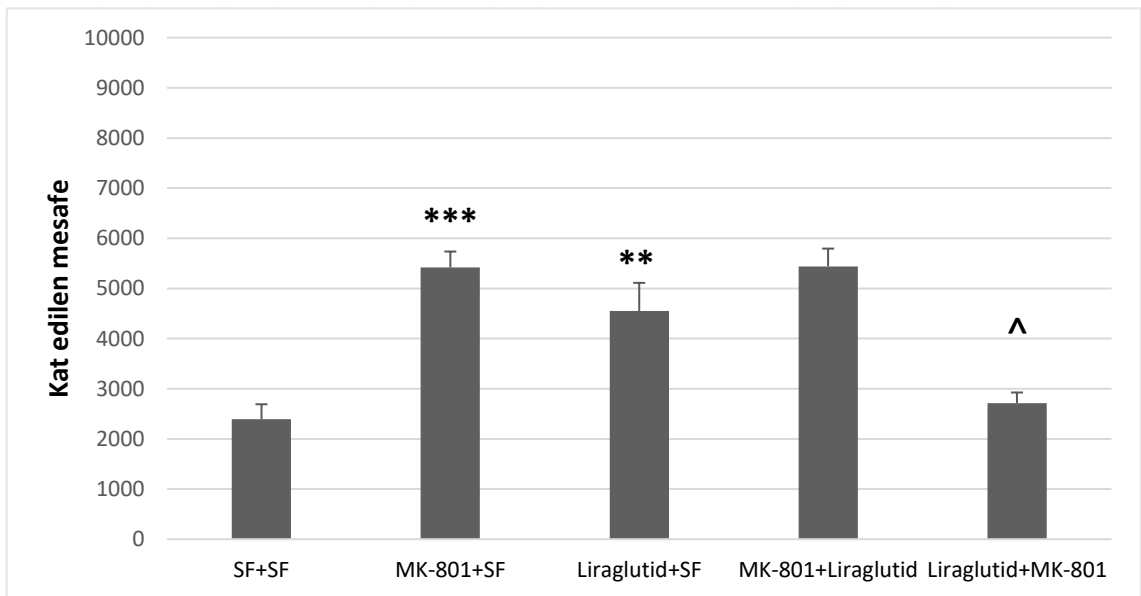
**Şekil 26. Gruplar arasında açık alan testinde ayağa kalkma sıklığı.**

**Veriler ortalama ± S.H. olarak ifade edildi. Gruplarda N=10-12.**



Şekil 27. Gruplar arasında açık alan testinde merkezden geçme sıklığı.

\*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001 SF+SF grubuna göre. Tek yönlü ANOVA *Post hoc* Tukey testi. Veriler ortalama ± S.H. olarak ifade edildi. Gruplarda N=10-12.



Şekil 28. Gruplar arasında açık alan testinde kat edilen mesafe.

\*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001 SF+SF grubuna göre, ^p<0,05 Liraglutid+SF grubuna göre. Tek yönlü ANOVA *Post hoc* Tukey testi. Veriler ortalama±S.H. olarak ifade edildi. Gruplarda N=10-12.

#### 4.3.2. Yükseltilmiş Artı Düzenek Testi

Yükseltilmiş artı düzenek testinde, açık kola girme latensinde Kruskal-Wallis testi ile gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı [ $H(4,53)=1,7$   $p=0,782$ ] (Şekil 29).

Düzeneğin açık kolunda geçirilen zamanında, Kruskal-Wallis testine göre gruplar arasında anlamlı fark görüldü [ $H(4,53)=25,0$   $p<0,001$ ]. SF+SF grubuna göre MK-801+SF grubunda ( $U=8,0$   $p=0,001$   $z=-3,2$ ) ve Liraglutid+SF grubunda ( $U=17,0$   $p<0,01$   $z=-2,68$ ) açık kolda geçirilen zamanda anlamlı artış bulundu. Liraglutid+SF grubuna göre Liraglutid+MK-801 grubunda ( $U=18,0$   $p<0,01$   $z=-2,61$ ) anlamlı azalma saptandı. MK-801+SF grubuna göre MK-801+Liraglutid grubunda ( $U=50,0$   $p=0,509$   $z=-0,7$ ) anlamlı fark bulunmadı (Şekil 30).

Düzeneğin kapalı kolunda geçirilen zamanında Kruskal-Wallis testine göre gruplar arasında anlamlı fark görüldü [ $H(4,53)=16,7$   $p<0,01$ ]. MK-801+SF grubunda, SF+SF grubuna göre kapalı kolda geçirilen zaman azaldı ( $U=10,5$   $p<0,01$   $z=-3,0$ ). Bunun yanı sıra SF+SF grubuna göre Liraglutid+SF grubunda ( $U=31,0$   $p=0,091$   $z=-1,7$ ), MK-801+SF grubuna göre MK-801+Liraglutid grubunda ( $U=56,0$   $p=0,791$   $z=-1,7$ ), Liraglutid+SF grubuna göre Liraglutid+MK-801 grubunda ( $U=32,0$   $p=0,205$   $z=-1,3$ ) anlamlı fark saptanmadı (Şekil 31) (Tablo 9).

Yükseltilmiş artı düzenek testinde açık kola giriş sıklığında tek yönlü ANOVA testi ile gruplar arasında anlamlı fark bulundu ( $F(4,52)=5,2$   $p=0,001$ ). MK-801+Liraglutid grubunda, MK-801+SF grubuna göre açık kola giriş sıklığında anlamlı artış bulundu ( $p<0,01$ ). Bunun yanı sıra SF+SF grubuna göre MK-801+SF grubunda ( $p=0,992$ ) ve Liraglutid+SF grubunda ( $p=0,999$ ), Liraglutid+SF grubuna göre Liraglutid+MK-801 grubunda ( $p=0,984$ ) açık kola giriş sıklığında anlamlı fark saptanmadı (Şekil 32).

Düzeneğin kollarından toplam giriş-çıkış sıklığında, Kruskal-Wallis testine göre gruplar arasında anlamlı fark görüldü [ $H(4,53)=10,8$   $p<0,05$ ]. SF+SF grubuna göre MK-801+SF grubunda ( $U=24,5$   $p=0,054$   $z=-1,9$ ) azalma eğilimi, SF+SF grubuna göre

Liraglutid+SF grubunda (U=22,5 p<0,05 z=-2,3) anlamlı azalma, MK-801+SF grubuna göre MK-801+Liraglutid grubunda ise (U=32,0 p=0,064 z=-1,9) artma eğilimi saptandı. Liraglutid +SF grubuna göre Liraglutid+MK-801 grubunda, düzeneğin kollarından toplam giriş-çıkış sıklığında anlamlı fark bulunmadı (U=45,5 p=0,501 z=-0,7) (Şekil 33).

Açık koldan aşağı baş uzatma sıklığında, Kruskal-Wallis testine göre gruplar arasında anlamlı fark görüldü [H(4,53)=21,8 p<0,001]. SF+SF grubuna göre MK-801+SF grubunda (U=6,5 p=0,001 z=-3,4) ve Liraglutid+SF grubunda (U=6,0 p<0,001 z=-3,6) anlamlı artma, Liraglutid+SF grubuna göre Liraglutid+MK-801 grubunda (U=9,5 p=0,001 z=-3,3) anlamlı azalma saptandı. MK-801+SF grubuna göre MK-801+Liraglutid grubunda, açık koldan aşağı baş uzatma sıklığında anlamlı fark bulunmadı (U=40,5 p=0,197 z=-1,3) (Şekil 34) (Tablo 10).

**Tablo 9.Gruplar arasında yükseltilmiş artı düzenek testindeki zaman ölçütleri.**

|                          | Açık kola girme latensi | Açık kolda geçirilen zaman | Kapalı kolda geçirilen zaman |
|--------------------------|-------------------------|----------------------------|------------------------------|
| <b>SF+SF</b>             | 10,2±5,7                | 61±15,3                    | 167,5±21,2                   |
| <b>MK-801+SF</b>         | 16,3±7,1                | 211,2±26,4**               | 61,3±22,0**                  |
| <b>Liraglutid+SF</b>     | 16,2±12,7               | 204,9±34,3**               | 84,9±33,6                    |
| <b>MK-801+Liraglutid</b> | 4,2±1,1                 | 232,4±20,2                 | 37,8±13,3                    |
| <b>Liraglutid+MK-801</b> | 22,7±12,0               | 58,6±15,9^^                | 129,3±17,6                   |

Veriler ortalama ± S.H. olarak ifade edildi.

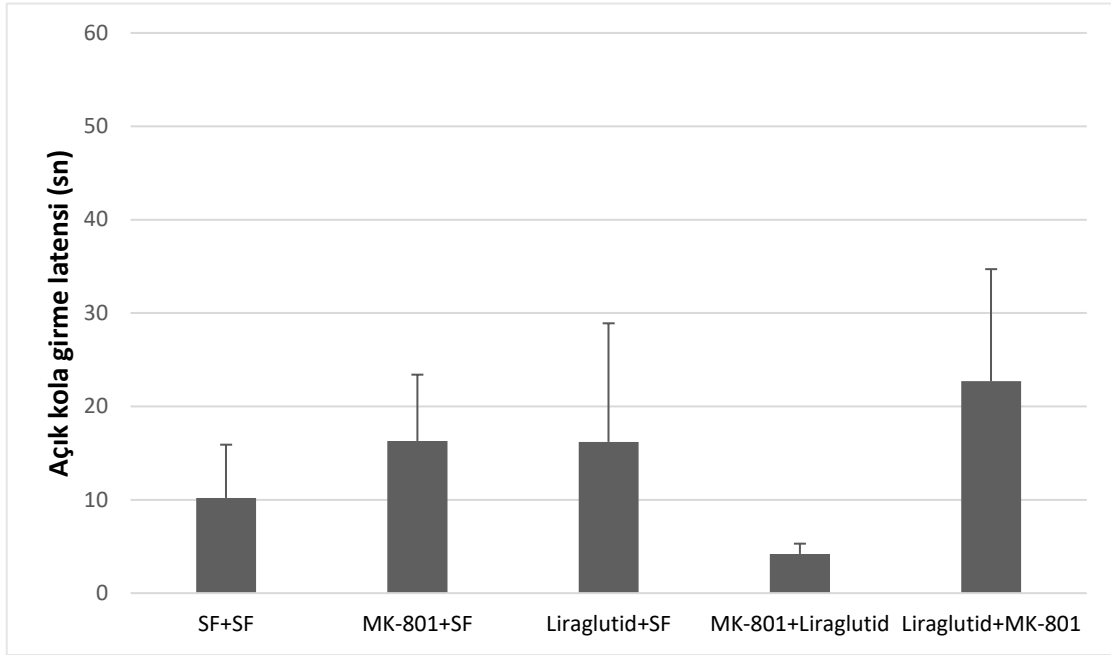
\*\*p<0,01 SF+SF grubuna göre, ^^p<0,01 Liraglutid grubuna göre. Kruskal-Wallis *Post hoc* Mann-Whitney U testi. Gruplarda N=10-12.

**Tablo 10.Gruplar arasında yükseltilmiş artı düzenek testindeki davranış ölçütleri.**

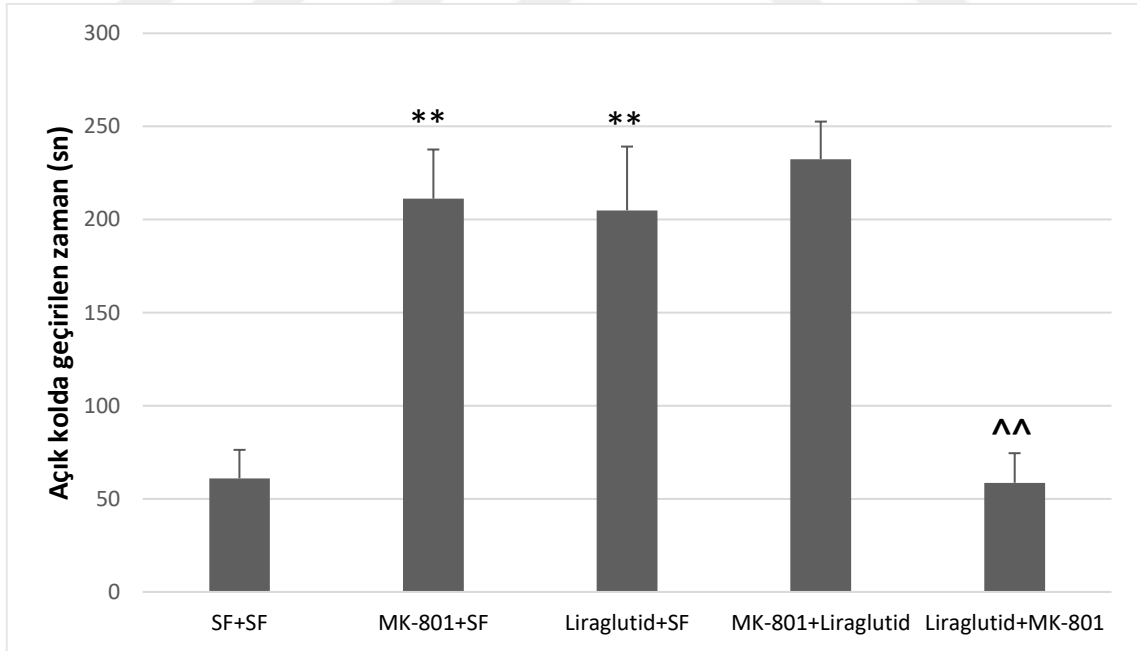
|                                               | SF+SF    | MK-801+SF  | Liraglutid+SF | MK-801+Liraglutid | Liraglutid+MK-801 |
|-----------------------------------------------|----------|------------|---------------|-------------------|-------------------|
| <b>Açık kola giriş sıklığı</b>                | 4,6±0,7  | 4,0±0,7    | 4,9±1,0       | 9±1,2##           | 4,2±0,8           |
| <b>Toplam giriş-çıkış sıklığı</b>             | 12,8±1,6 | 9,2±3,2    | 7,5±1,2*      | 12,8±1,8          | 8,4±0,8           |
| <b>Açık koldan aşağıya baş uzatma sıklığı</b> | 1,0±0,1  | 13,7±5,9** | 21,5±7,1***   | 31,3±9,0          | 1,2±0,9^^         |

Veriler ortalama ± S.H. olarak ifade edildi.

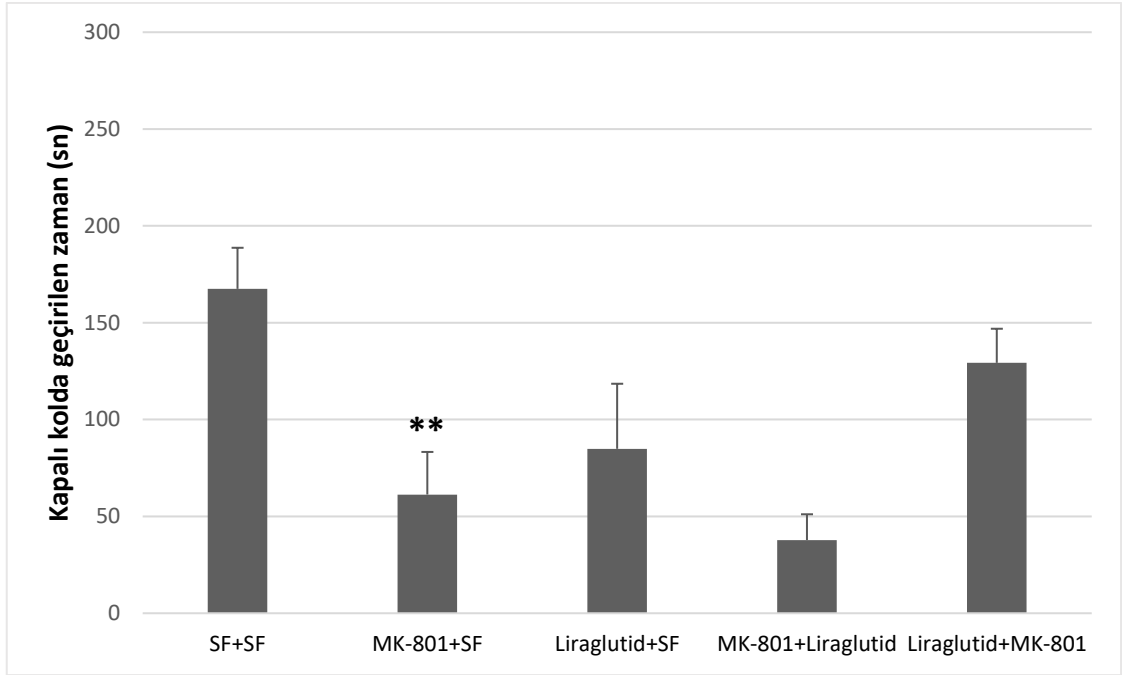
\*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001 SF+SF grubuna göre, ##p<0,01 MK-801 grubuna göre, ^^p<0,01 Liraglutid +SF grubuna göre. Gruplarda N=10-12.



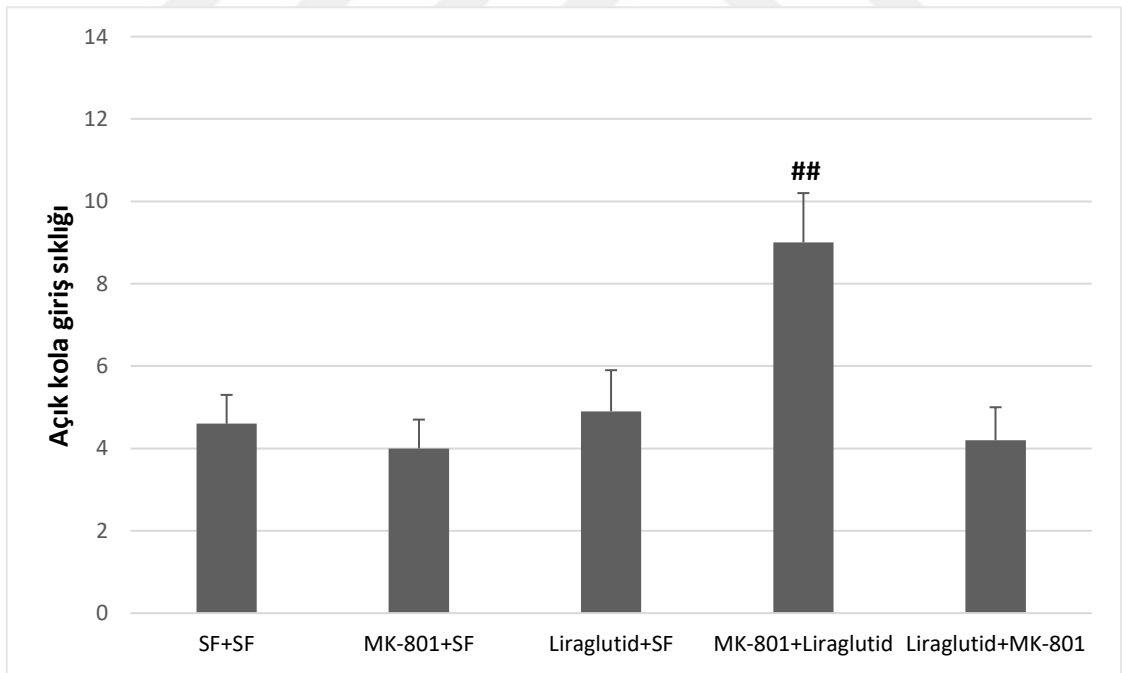
**Şekil 29.** Gruplar arasında yükseltilmiş artı düzenek testinde açık kola girme latensi. Veriler ortalama  $\pm$  S.H. olarak ifade edildi. Gruplarda N=10-12.



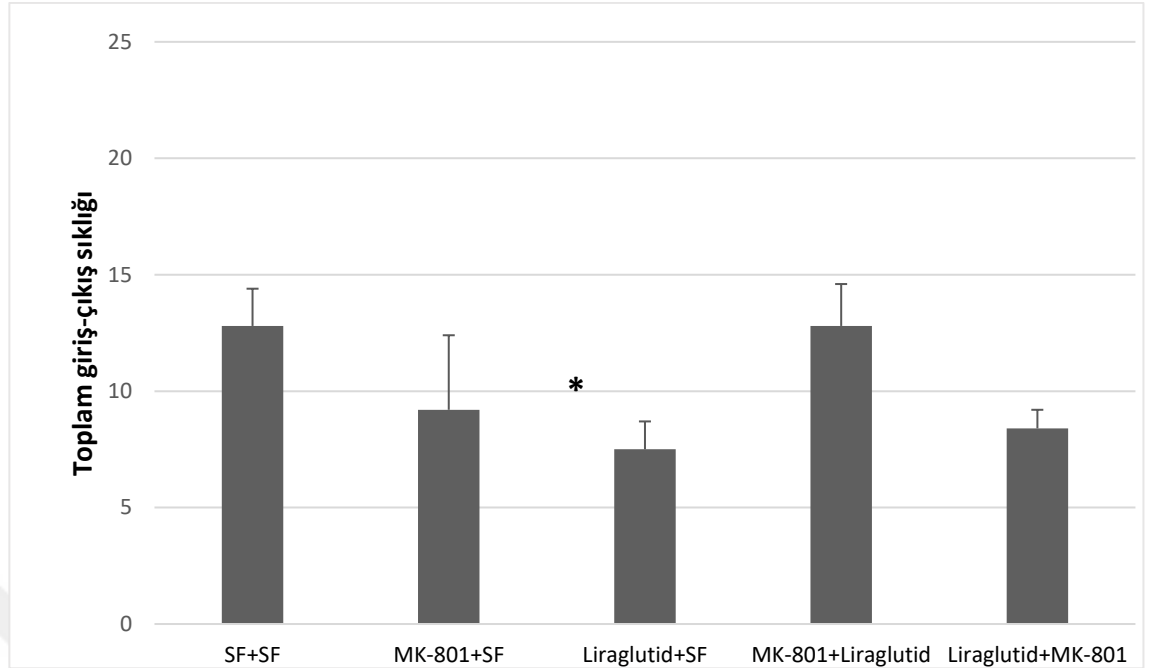
**Şekil 30.** Gruplar arasında yükseltilmiş artı düzenek testinde açık kolda geçirilen zaman. **\*\*** $p < 0,01$  SF+SF grubuna göre. **^^** $p < 0,01$  Liraglutid +SF grubuna göre. Kruskal-Wallis *Post hoc* Mann-Whitney U testi. Veriler ortalama  $\pm$ SH olarak ifade edildi. Gruplarda N=10-12.



**Şekil 31. Gruplar arasında yükseltilmiş artı düzenek testinde kapalı kolda geçirilen zaman.**  
**\*\*p<0,01 SF+SF grubuna göre. Kruskal-Wallis Post hoc Mann-Whitney U testi. Veriler ortalama  $\pm$ SH olarak ifade edildi. Gruplarda N=10-12.**

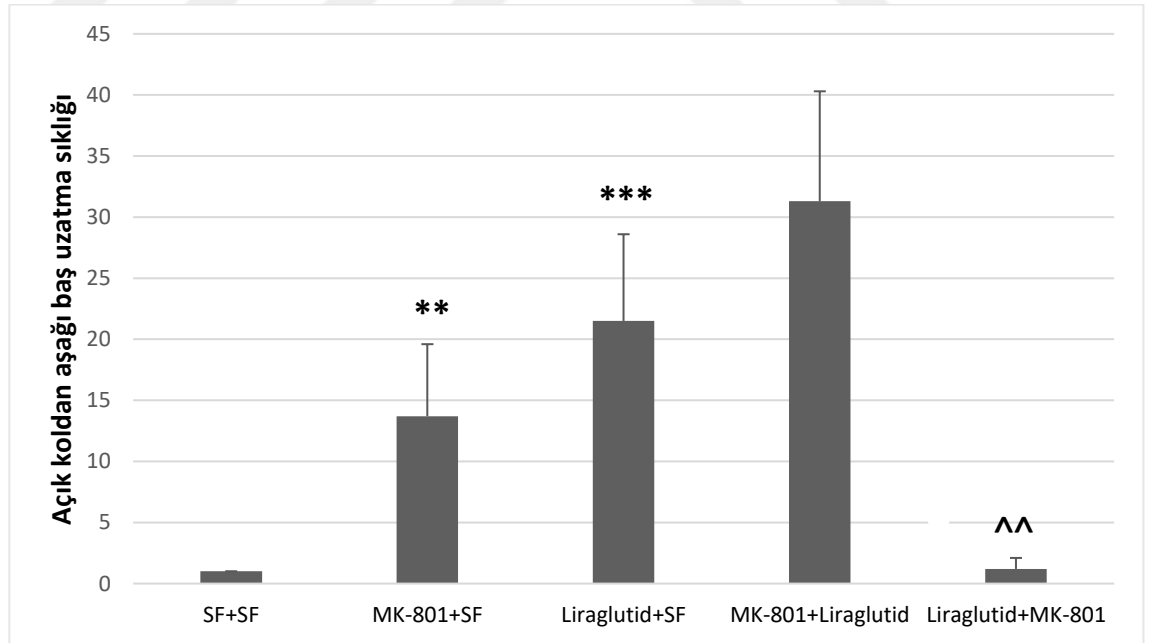


**Şekil 32. Gruplar arasında yükseltilmiş artı düzenek testinde açık kola giriş sıklığı.**  
**##p<0,01 MK-801 +SF grubuna göre. Kruskal-Wallis Post hoc Mann-Whitney U testi. Veriler ortalama  $\pm$  S.H. olarak ifade edildi. Gruplarda N=10-12.**



Şekil 33. Gruplar arasında yükseltilmiş artı düzenek testinde toplam giriş-çıkış sıklığı.

\* $p < 0,05$  SF+SF grubuna göre. Kruskal-Wallis *Post hoc* Mann-Whitney U testi. Veriler ortalama  $\pm$  S.H. olarak ifade edildi. Gruplarda N=10-12.



Şekil 34. Gruplar arasında yükseltilmiş artı düzenek testinde açık koldan aşağı baş uzatma sıklığı

\*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$  SF+SF grubuna göre, ^^ $p < 0,01$  Liraglutid +SF grubuna göre. Kruskal-Wallis *Post hoc* Mann-Whitney U testi. Veriler ortalama  $\pm$  S.H. olarak ifade edildi. Gruplarda N=10-12.

#### 4.4.Bilişsel Davranış Testi

##### 4.4.1. Morris Su Havuzu Testi

###### 4.4.1.1. Eğitim Denemeleri

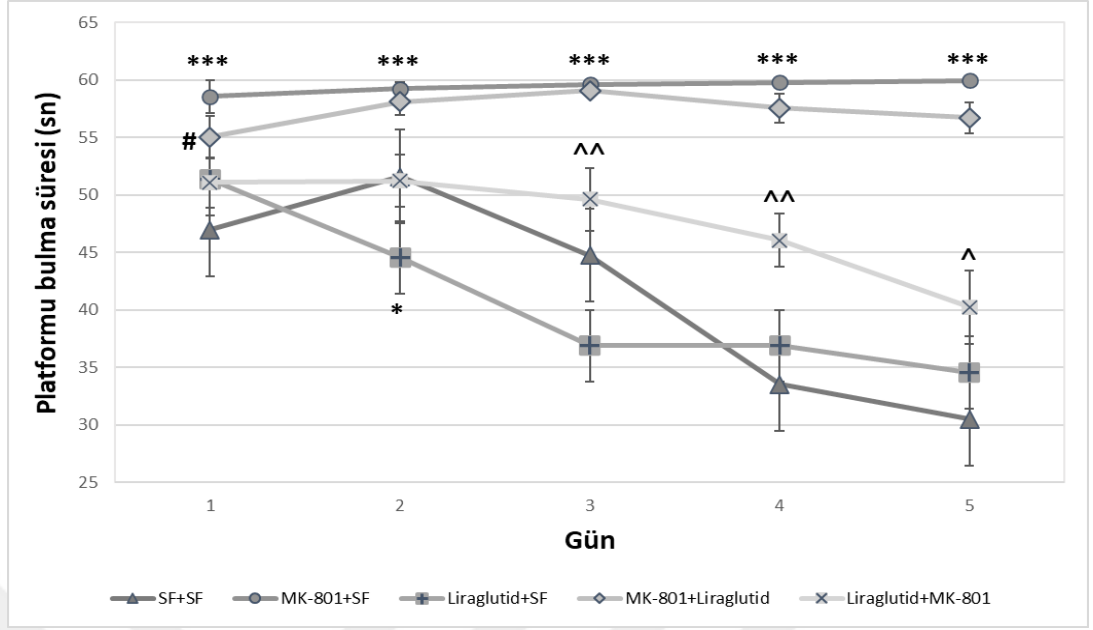
Morris su havuzu testinde 5 gün süren eğitim denemelerinde gizli platformu bulma süresinde Friedman'ın ANOVA testi ile SF+SF grubunda günler arasında anlamlı fark bulundu [ $\chi^2 (4) = 32,9$   $p < 0,001$ ]. Platformu bulma süresinde Wilcoxon testi ile, birinci gün ile karşılaştırıldığında ikinci ( $Z = -1,6$   $p = 0,114$ ) ve üçüncü ( $Z = -0,9$   $p = 0,393$ ) günlerde anlamlı fark bulunmazken, dördüncü ( $Z = -3,3$   $p = 0,001$ ) ve beşinci ( $Z = -3,4$   $p = 0,001$ ) günde anlamlı azalma saptandı.

Eğitim denemelerinde platformu bulma süresinde Friedman'ın ANOVA testi ile Liraglutid+SF grubunda günler arasında anlamlı fark saptandı. [ $\chi^2 (4) = 32,5$   $p < 0,001$ ]. Platformu bulma süresinde Wilcoxon testi ile, birinci gün ile karşılaştırıldığında ikinci ( $Z = -2,4$   $p = 0,02$ ), üçüncü ( $Z = -3,5$   $p = 0,001$ ), dördüncü ( $Z = -4,1$   $p < 0,001$ ) ve beşinci ( $Z = -4,3$   $p < 0,001$ ) günde anlamlı azalma saptandı.

Eğitim denemelerinde platformu bulma süresinde Friedman'ın ANOVA testi ile Liraglutid+MK-801 grubunda [ $\chi^2 (4) = 5,4$   $p = 0,251$ ] günler arasında anlamlı fark saptandı. Platformu bulma süresinde Wilcoxon testine göre, birinci gün ile karşılaştırıldığında ikinci ( $Z = -0,3$   $p = 0,82$ ), üçüncü ( $Z = -0,7$   $p = 0,493$ ) ve dördüncü ( $Z = -0,9$   $p = 0,355$ ) günlerde anlamlı fark bulunmazken, beşinci ( $Z = -2,2$   $p < 0,05$ ) günde anlamlı azalma saptandı.

Eğitim denemelerinde platformu bulma süresinde Friedman'ın ANOVA testi ile MK-801+SF grubunda [ $\chi^2 (4) = 0,7$   $p = 0,955$ ] ve MK-801+Liraglutid grubunda [ $\chi^2 (4) = 4,8$   $p = 0,303$ ] günler arasında anlamlı fark saptanmadı.

Eğitim denemelerinin birinci [ $H(4,212) = 24,2$   $p < 0,001$ ], ikinci [ $H(4,212) = 35,1$   $p < 0,001$ ], üçüncü [ $H(4,212) = 58,5$   $p < 0,001$ ], dördüncü [ $H(4,212) = 79,9$   $p < 0,001$ ] ve beşinci [ $H(4,212) = 88,7$   $p < 0,001$ ] günlerinde platformu bulma süresinde Kruskal Wallis testi ile gruplar arasında anlamlı fark saptandı. MK-801+SF grubu SF+SF grubu ile karşılaştırıldığında, birinci ( $U=449,5$   $p < 0,001$   $z=-4,4$ ), ikinci ( $U=614,0$   $p < 0,001$   $z=-2,8$ ), üçüncü ( $U=413,0$   $p < 0,001$   $z=-4,8$ ), dördüncü ( $U=184,5$   $p < 0,001$   $z=-6,7$ ) ve beşinci ( $U=143,5$   $p < 0,001$   $z=-7,0$ ) günde Mann-Whitney-U testi ile anlamlı artış bulundu. Liraglutid+SF ile SF+SF grubu karşılaştırıldığında, birinci ( $U=731,5$   $p=0,128$   $z=-1,5$ ), üçüncü ( $U=689,0$   $p=0,075$   $z=-1,8$ ), dördüncü ( $U=876,5$   $p=0,975$   $z=-0,03$ ) ve beşinci ( $U=836,0$   $p=0,692$   $z=-0,4$ ) günde Mann-Whitney-U testi ile anlamlı fark bulunmazken, ikinci ( $U=683,5$   $p < 0,05$   $z=-4,0$ ) günde anlamlı azalma saptandı. MK-801+Liraglutid ile MK-801+SF grubu karşılaştırıldığında, birinci ( $U=828,0$   $p < 0,05$   $z=-2,1$ ) günde anlamlı azalma saptanırken, ikinci ( $U=946,0$   $p=0,77$   $z=-0,3$ ), üçüncü ( $U=905,0$   $p=0,251$   $z=-1,2$ ), dördüncü ( $U=902,0$   $p=0,226$   $z=-1,2$ ) ve beşinci ( $U=861,0$   $p=0,77$   $z=-1,8$ ) günde Mann-Whitney-U testi ile anlamlı fark bulunmadı. Liraglutid+MK-801 ile Liraglutid+SF grubu karşılaştırıldığında, birinci ( $U=823,0$   $p=0,547$   $z=-0,6$ ) ve ikinci ( $U=710,0$   $p=0,091$   $z=-1,7$ ) günlerde anlamlı fark bulunmazken, üçüncü ( $U=595,0$   $p < 0,01$   $z=-2,7$ ), dördüncü ( $U=568,0$   $p < 0,01$   $z=-3,0$ ) ve beşinci ( $U=631,5$   $p < 0,05$   $z=-2,3$ ) günlerde Mann-Whitney-U testi ile anlamlı artış saptandı (Şekil 35).



Şekil 35. Morris su havuzu testinde platformu bulma süresi.

\* $p<0,05$ , \*\*\* $p<0,001$  SF+SF grubuna göre, # $p<0,05$  MK-801+SF grubuna göre,  $p<0,05$ , ^^ $p<0,01$  Liraglutid +SF grubuna göre. Friedman'ın ANOVA testi *Post hoc* Mann Whitney U testi. Veriler ortalama  $\pm$ SH olarak ifade edildi. Gruplarda N=10-12.

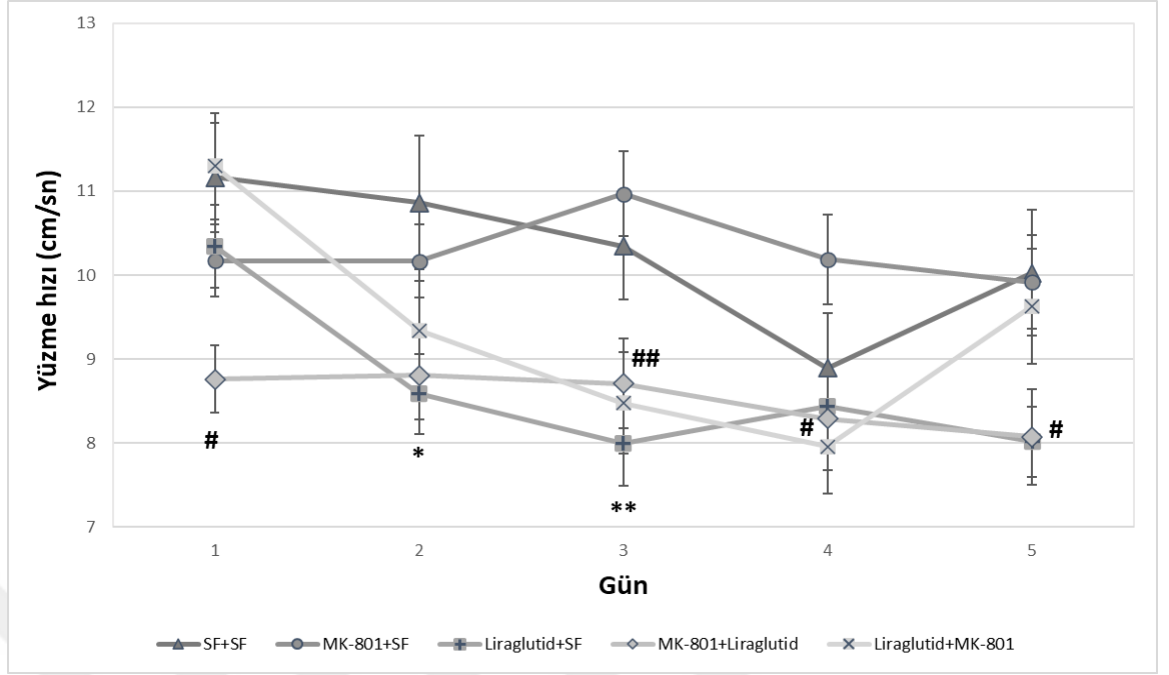
Morris su havuzu testinde eğitim denemelerinde beş gün boyunca yüzme hızında Liraglutid+SF grubunda [ $\chi^2$  (4) =14,5  $p<0,01$ ] ve Liraglutid+MK-801 [ $\chi^2$  (4) =16,8  $p<0,01$ ] grubunda Friedman'ın ANOVA testi ile günler arasında anlamlı fark bulundu. Yüzme hızında, birinci gün ile karşılaştırıldığında ikinci ( $Z=-2,7$   $p<0,01$ ), üçüncü ( $Z=-3,3$   $p=0,001$ ), dördüncü ( $Z=-2,8$   $p<0,01$ ) ve beşinci ( $Z=-3,4$   $p=0,001$ ) günlerde Wilcoxon testi ile anlamlı azalma saptandı.

Morris su havuzu testinde eğitim denemelerinde beş gün boyunca yüzme hızında Liraglutid+MK-801 [ $\chi^2$  (4) =16,8  $p<0,01$ ] grubunda Friedman'ın ANOVA testi ile günler arasında anlamlı fark bulundu. Yüzme hızında, birinci gün ile karşılaştırıldığında ikinci ( $Z=-2,6$   $p=0,01$ ), üçüncü ( $Z=-3,0$   $p<0,01$ ) ve dördüncü ( $Z=-3,7$   $p<0,001$ ) günlerde anlamlı azalma varken, beşinci ( $Z=-1,7$   $p=0,09$ ) günde Wilcoxon testi ile anlamlı fark saptanmadı.

Morris su havuzu testinde eğitim denemelerinde beş gün boyunca yüzme hızında SF+SF grubunda, MK-801+SF [ $\chi^2$  (4) =2,6  $p=0,63$ ] grubunda ve MK-801+Liraglutid

grubunda [ $\chi^2 (4) = 3,2$   $p=0,529$ ] Friedman'ın ANOVA testi ile günler arasında anlamlı fark bulunamadı.

Eğitim denemelerinin birinci [H (4,212) =15,3  $p<0,01$ ], üçüncü [H (4,212) =19,6  $p=0,001$ ] ve beşinci [H (4,212) =10,2  $p<0,05$ ] günlerinde yüzme hızında Kruskal Wallis testi ile gruplar arasında anlamlı fark saptanırken, ikinci [H (4,212) =8,7  $p=0,07$ ] ve dördüncü [H (4,212) =9,0  $p=0,062$ ] günlerinde anlamlı fark bulunmadı. MK-801+SF grubu SF+SF grubu ile karşılaştırıldığında, birinci (U=647,0  $p=0,141$   $z=-1,5$ ), ikinci (U=736,0  $p=0,538$   $z=-0,6$ ), üçüncü (U=743,0  $p=0,683$   $z=-0,5$ ), dördüncü (U=607,0  $p=0,063$   $z=-1,9$ ) ve beşinci (U=791,0  $p=0,931$   $z=-0,08$ ) günde Mann-Whitney-U testi ile anlamlı fark bulunmadı. Liraglutid+SF ile SF+SF grubu karşılaştırıldığında, ikinci (U=644,0  $p<0,05$   $z=-2,1$ ) ve üçüncü (U=574,0  $p<0,01$   $z=-2,7$ ) günlerde anlamlı azalma ve beşinci günde azalma eğilimi (U=664,0  $p=0,053$   $z=-1,9$ ) saptanırken, birinci (U=758,0  $p=0,747$   $z=-1,1$ ) ve dördüncü (U=874,0  $p=0,957$   $z=-0,1$ ) günlerde Mann-Whitney-U testi ile anlamlı fark bulunmadı. MK-801+Liraglutid ile MK-801+SF grubu karşılaştırıldığında, birinci (U=678,0  $p<0,05$   $z=-2,4$ ), üçüncü (U=640,0  $p<0,01$   $z=-2,7$ ), dördüncü (U=698,0  $p<0,05$   $z=-2,2$ ) ve beşinci (U=699,0  $p<0,05$   $z=-2,2$ ) günlerde Mann-Whitney-U testi ile anlamlı azalma saptanırken, ikinci (U=754,0  $p=0,084$   $z=-1,7$ ) günde anlamlı fark bulunmadı. Liraglutid+MK-801 ile Liraglutid+SF grubu karşılaştırıldığında, birinci (U=727,0  $p=0,171$   $z=-1,4$ ), ikinci (U=783,0  $p=0,385$   $z=-0,9$ ), üçüncü (U=859,0  $p=0,851$   $z=-0,2$ ), dördüncü (U=795,0  $p=0,446$   $z=-0,8$ ) ve beşinci (U=706,0  $p=0,119$   $z=-1,6$ ) günlerde Mann-Whitney-U testi ile anlamlı fark saptanmadı (Şekil 36).

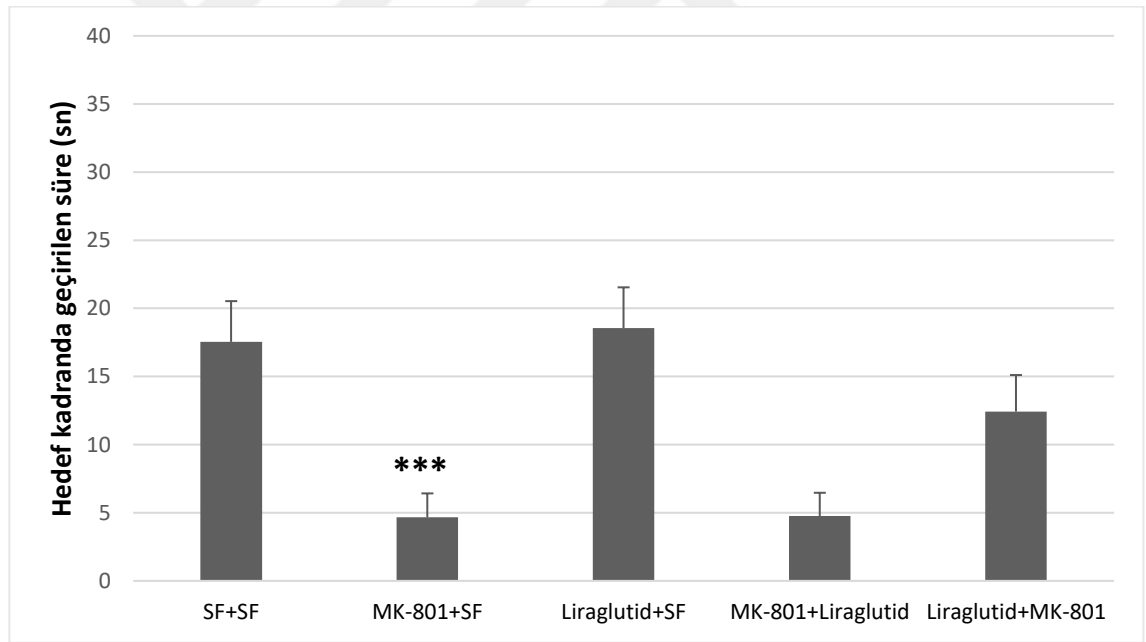


Şekil 36. Morris su havuzu eğitim denemelerinde yüzme hızı.

\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  SF+SF grubuna göre, # $p < 0,05$ , ##  $p < 0,01$  MK-801 +SF grubuna göre. Friedman'ın ANOVA testi *Post hoc* Mann Whitney U testi. Veriler ortalama  $\pm$ SH olarak ifade edildi. Gruplarda N=10-12.

#### 4.4.1.2. Test günü

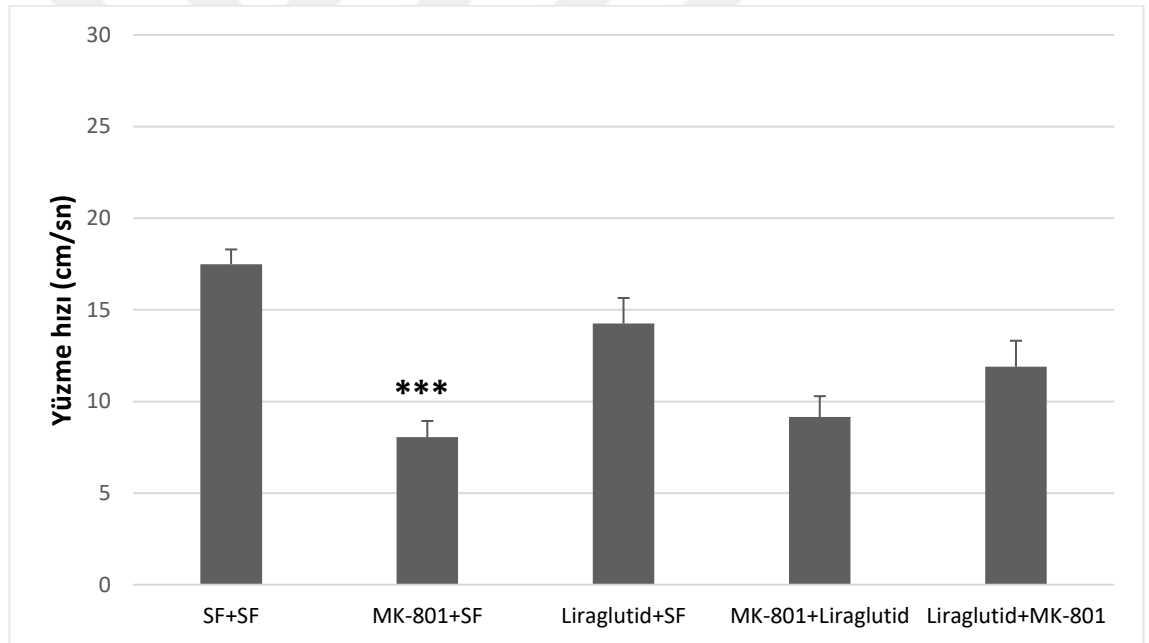
Morris su havuzundaki 5 günlük eğitim denemeleri tamamlanan fareler 6. gün hedef kadrındaki platformun kaldırıldığı havuzda, başlangıç pozisyonu hedef kadrının karşısında olacak şekilde teste alındılar. Farelerin 6. günde platformun bulunduğu kadranda geçirdikleri sürede Kruskal-Wallis testi ile gruplar arasında anlamlı fark bulundu [ $H(4, 53) = 20,3$   $p < 0,001$ ]. MK-801+SF grubunda SF+SF grubuna göre hedef kadranda geçirilen süre anlamlı azaldı ( $U = 8,0$   $p = 0,001$   $z = -3,2$ ). Bunun dışında Liraglutid+SF grubunda SF+SF grubuna göre ( $U = 46,0$   $p = 0,526$   $z = -0,6$ ), MK-801+Liraglutid grubunda MK-801+SF grubuna göre ( $U = 55,5$   $p = 0,765$   $z = -0,3$ ) ve Liraglutid+MK-801 grubunda Liraglutid+SF grubuna göre ( $U = 35,0$   $p = 0,159$   $z = -1,4$ ) anlamlı fark bulunmadı (Şekil 37).



Şekil 37. Morris su havuzu testinde hedef kadranda geçirilen süre.

\*\*\* $p < 0,001$  SF+SF grubuna göre. Kruskal-Wallis testi *Post hoc* Mann Whitney U testi. Veriler ortalama  $\pm$ SH olarak ifade edildi. Gruplarda  $N = 10-12$ .

Test günündeki yüzme hızlarına bakıldığı zaman Kruskal-Wallis testi ile gruplar arasında anlamlı fark saptandı ( $F(4,52)=10,56$   $p<0,001$ ). MK-801+SF grubunda, SF+SF grubuna göre yüzme hızı anlamlı olarak azaldı ( $p<0,001$ ). Liraglutid+SF grubunda SF+SF grubuna göre ( $p=0,305$ ), MK-801+Liraglutid grubunda MK-801+SF grubuna göre ( $p=0,96$ ) ve Liraglutid+MK-801 grubunda Liraglutid+SF grubuna göre ( $p=0,618$ ) anlamlı fark bulunmadı (Şekil 38).



Şekil 38. Morris su havuzu testinde yüzme hızı.

\*\*\* $p<0,001$  SF+SF grubuna göre Kruskal-Wallis testi *Post hoc* Mann Whitney U testi. Veriler ortalama  $\pm$ SE olarak ifade edildi. Gruplarda N=10-12.

#### 4.5. Western Blot Analizi

Western Blot ile hipokampus BDNF ekspresyonunda gruplar arasında anlamlı fark saptandı [H (4,25) =11,04  $p<0,05$ ] (Şekil 39). Liraglutid+SF grubunda SF+SF grubuna göre BDNF ekspresyonunda anlamlı artış bulundu (U=0,0  $p<0,01$   $z=-2,8$ ). Bunun yanı sıra, MK-801+SF grubuna göre MK-801+Liraglutid grubunda (U=0,0  $p<0,01$   $z=-2,6$ ) anlamlı artış saptandı. SF+SF grubuna göre MK-801+SF grubunda (U=10,0  $p=0,576$   $z=-0,5$ ) ve Liraglutid+SF grubuna göre Liraglutid+MK-801 grubunda (U=10,0  $p=0,599$   $z=-0,5$ ) BDNF ekspresyonunda anlamlı fark bulunmadı (Şekil 40a).

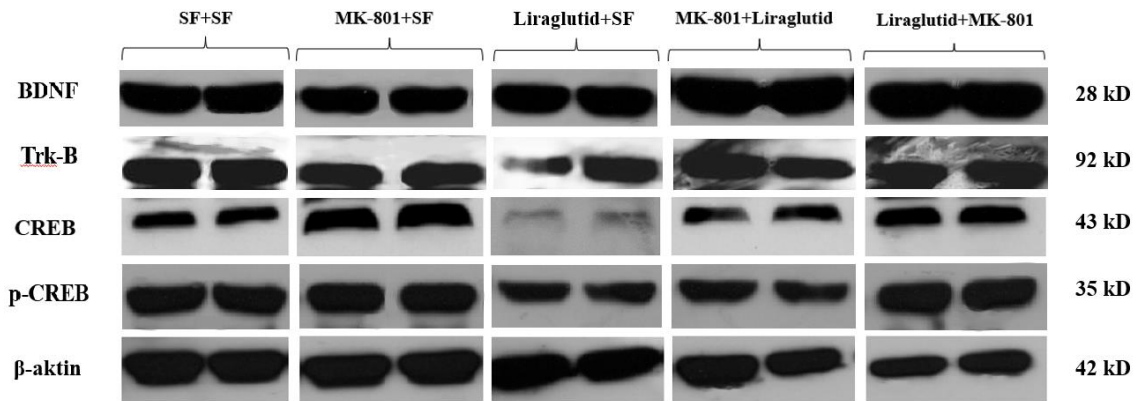
Hipokampus Trk-B ekspresyonunda gruplar arasında anlamlı fark bulundu [H (4, 25) =17,74  $p=0,001$ ]. SF+SF grubuna göre MK-801+SF grubunda Trk-B ekspresyonunda anlamlı azalma (U=0,0  $p<0,01$   $z=-3,0$ ) ve Liraglutid+SF grubuna göre Liraglutid+MK-801 grubunda Trk-B ekspresyonunda anlamlı artış saptandı (U=0,0  $p<0,01$   $z=-2,8$ ). SF+SF grubuna göre Liraglutid+SF grubunda (U=0,0  $p<0,01$   $z=-3,0$ ) anlamlı azalma saptandı. MK-801+SF grubuna göre MK-801+Liraglutid grubunda (U=5,0  $p=0,09$   $z=-1,7$ ) Trk-B ekspresyonunda anlamlı fark bulunmadı (Şekil 40b).

Hipokampus CREB ekspresyonunda gruplar arasında anlamlı fark bulundu [H (4, 25) =16,54  $p<0,01$ ]. Liraglutid+SF grubunda SF+SF grubuna göre (U=0,0  $p<0,01$   $z=-2,8$ ) ve MK-801+SF grubuna göre MK-801+Liraglutid grubunda (U=0,0  $p<0,01$   $z=-2,7$ ) anlamlı azalma bulundu. SF+SF grubuna göre MK-801+SF grubunda (U=0,0  $p<0,01$   $z=-2,9$ ) ve Liraglutid+SF grubuna göre Liraglutid+MK-801 grubunda CREB ekspresyonunda anlamlı artış saptandı (U=0,0  $p<0,01$   $z=-2,6$ ) (Şekil 40c).

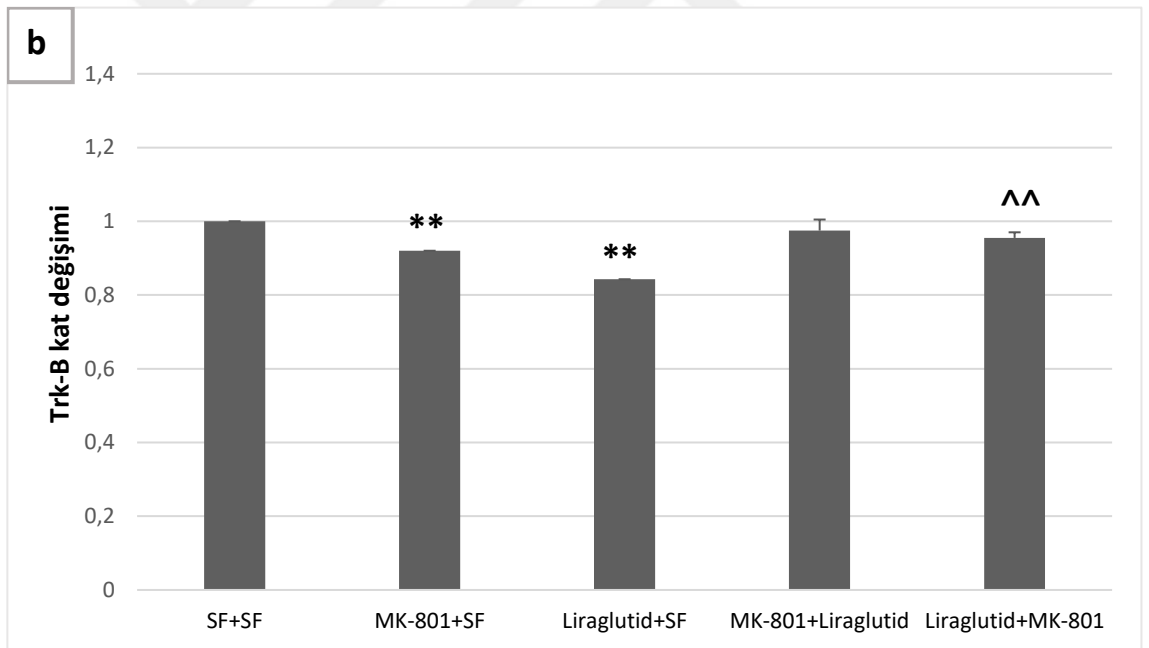
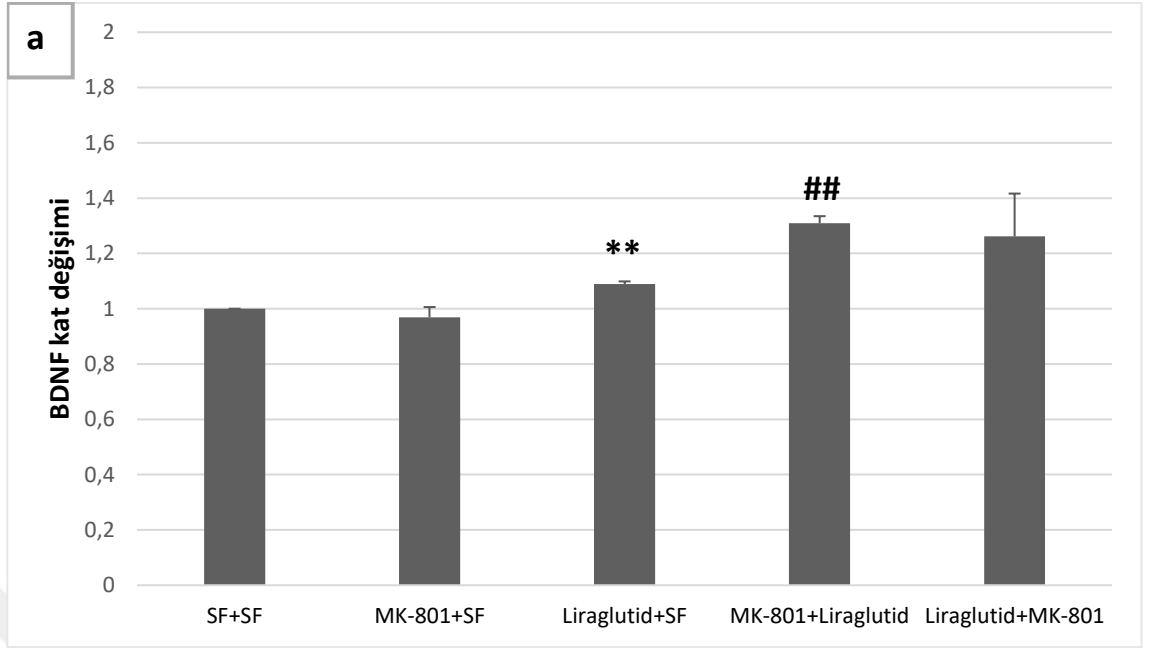
Hipokampus p-CREB ekspresyonunda gruplar arasında anlamlı fark bulundu [H (4, 25) =23,37  $p<0,001$ ]. SF+SF grubuna göre MK-801+SF grubunda (U=0,0  $p<0,01$   $z=-3,0$ ) ve Liraglutid+SF grubuna göre Liraglutid+MK-801 grubunda (U=0,0  $p<0,01$   $z=-2,7$ ) p-CREB ekspresyonunda anlamlı artış saptandı. SF+SF grubuna göre Liraglutid+SF grubunda (U=0,0  $p<0,01$   $z=-2,8$ ) ve MK-801+SF grubuna göre MK-801+Liraglutid grubunda (U=0,0  $p<0,01$   $z=-2,8$ ) p-CREB ekspresyonunda anlamlı azalma bulundu (Şekil 40d).

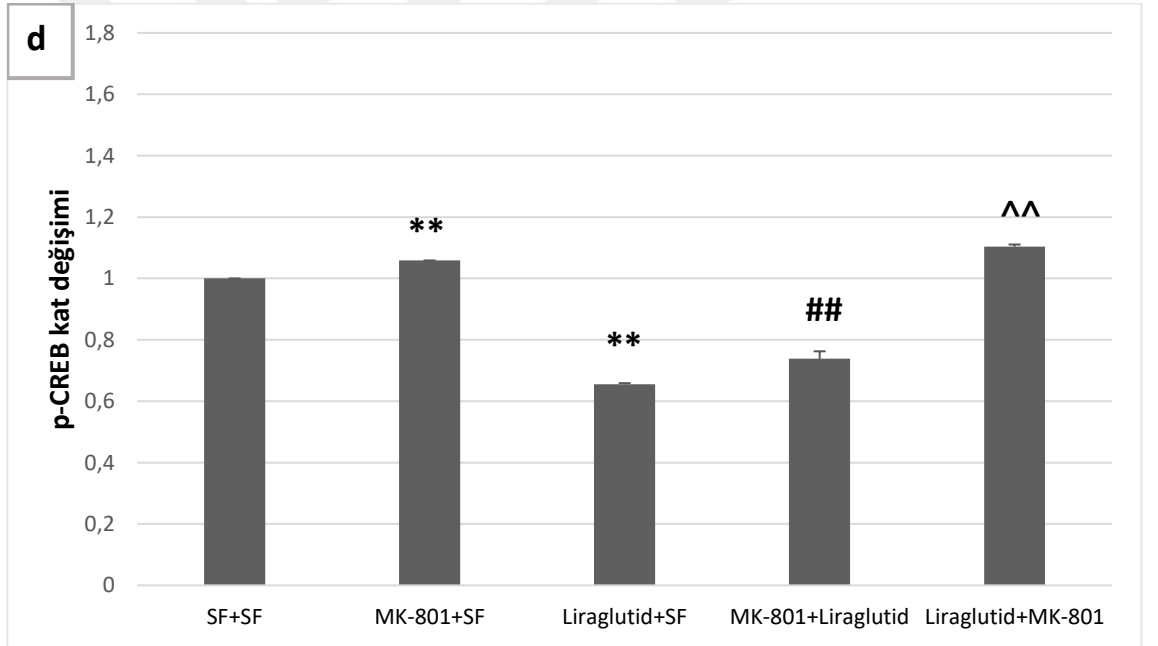
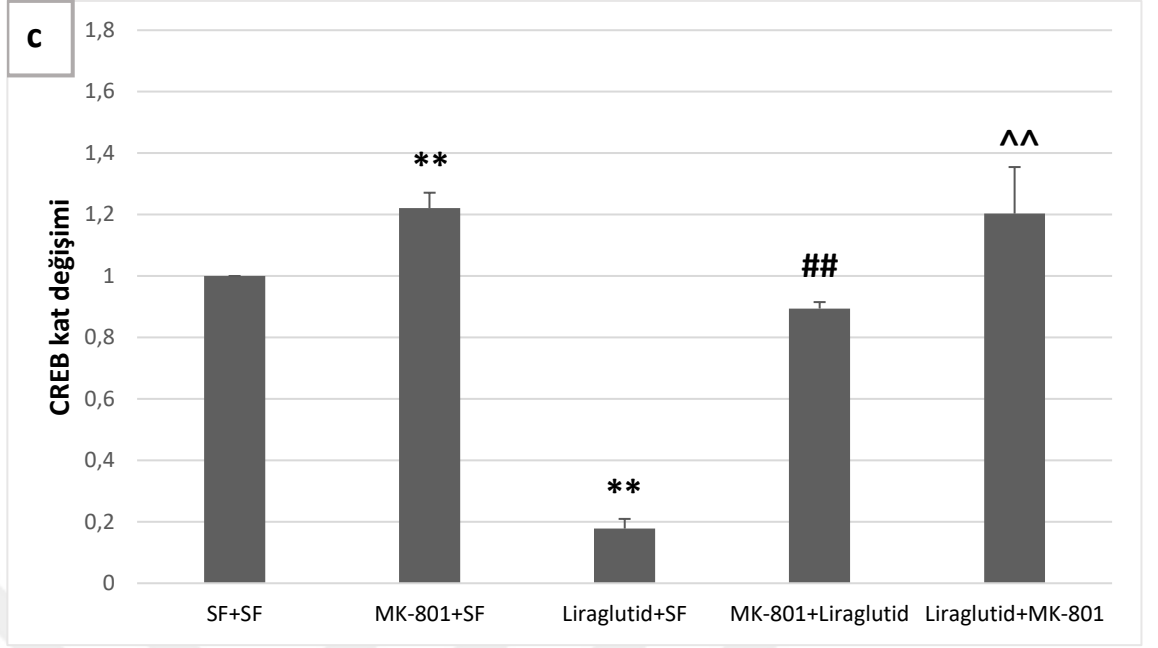
Western blot ile hipokampus BDNF/Trk-B oranlarına bakıldığında tek yönlü ANOVA ile gruplar arasında anlamlı fark bulundu ( $F(4,24)=60,46$   $p<0,001$ ). J. SF+SF grubuna göre Liraglutid+SF grubunda ( $p<0,001$ ), MK-801+Liraglutid grubunda MK-801+SF grubuna göre ( $p<0,001$ ) ve SF+SF grubuna göre ( $p<0,001$ ) BDNF/Trk-B oranında anlamlı artış bulundu. Liraglutid+SF grubuna göre Liraglutid+MK-801 grubunda ( $p<0,001$ ) anlamlı azalma saptandı. SF+SF grubuna göre MK-801+SF grubunda ise BDNF/Trk-B oranında anlamlı fark saptanmadı ( $p=0,997$ ) (Şekil 41).

Hipokampus p-CREB/CREB oranında Kruskal Wallis testi ile gruplar arasında anlamlı fark saptandı [ $H(4, 25) =15,47$   $p<0,01$ ]. Liraglutid+SF grubuna göre Liraglutid+MK-801 grubunda ( $U=0,0$   $p<0,01$   $z=-2,6$ ) anlamlı azalma bulundu. SF+SF grubuna göre Liraglutid+SF grubunda ( $U=0,0$   $p<0,01$   $z=-2,8$ ) ise anlamlı artış saptandı. SF+SF grubuna göre MK-801+SF grubunda ( $U=5,0$   $p=0,094$   $z=-1,7$ ) ve MK-801+SF grubuna göre MK-801+Liraglutid grubunda ( $U=10,0$   $p=0,596$   $z=-2,6$ ) p-CREB/CREB oranında anlamlı fark saptanmadı. (Şekil 42).



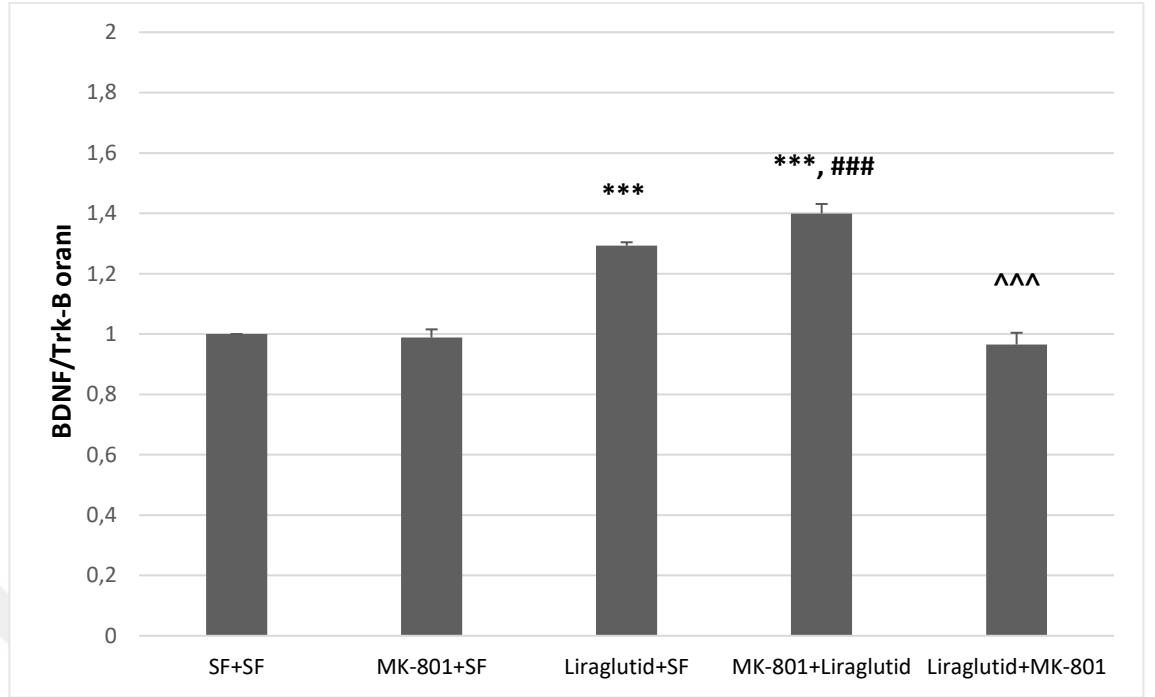
Şekil 39. Western blot analizinde hipokampüse ait görüntü.





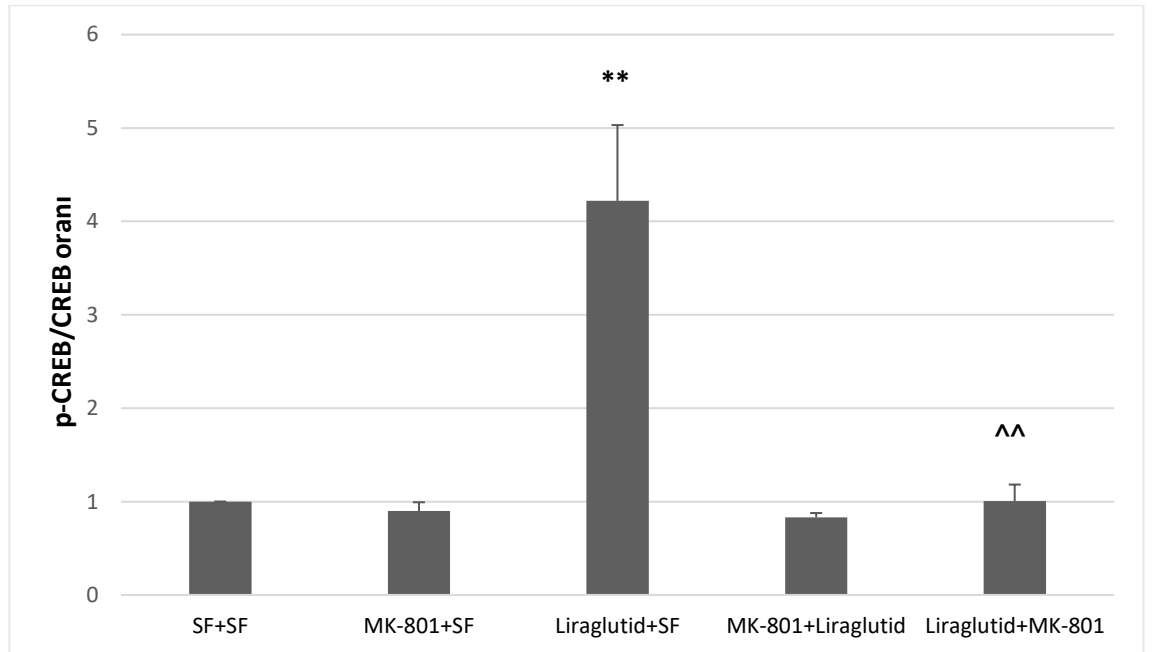
**Şekil 40. Hipokampusta, western blot testinde kat değışimi.**

**a) BDNF kat değışimi, b) Trk-B kat değışimi, c) CREB kat değışimi d) p-CREB kat değışimi.**  
**\*\*p<0,01 SF+SF grubuna göre, ##p<0,01 MK-801+SF grubuna göre, ^^p<0,01 Liraglutid +SF grubuna göre. Kruskal Wallis Post hoc Mann Whitney U testi. Veriler ortalama  $\pm$ SH olarak ifade edildi. Gruplarda N=5.**



Şekil 41. Hipokampusta, western blot testinde BDNF/Trk-B oranı.

\*\*\* $p < 0,001$  SF+SF grubuna göre, ### $p < 0,001$  MK-801+SF grubuna göre, ^^^ $p < 0,001$  Liraglutid +SF grubuna göre. ANOVA *Post hoc* Tukey testi. Veriler ortalama  $\pm$  S.H. olarak ifade edildi. Gruplarda N=5.



Şekil 42. Hipokampusta, western blot testinde p-CREB/CREB oranı.

\*\* $p < 0,01$  SF+SF grubuna göre, ^^ $p < 0,01$  Liraglutid +SF grubuna göre. Kruskal Wallis *Post hoc* Mann Whitney U testi. Veriler ortalama  $\pm$  SH olarak ifade edildi. Gruplarda N=5.

Western Blot ile prefrontal korteks BDNF ekspresyonunda gruplar arasında anlamlı fark saptandı [H (4, 25) =22,15 p<0,001] (Şekil 43). Liraglutid+SF grubunda SF+SF grubuna göre (U=0,0 p<0,01 z=-2,8) ve MK-801+SF grubuna göre MK-801+Liraglutid grubunda (U=0,0 p<0,01 z=-2,8) BDNF ekspresyonunda anlamlı azalma bulundu. MK-801+SF grubunda SF+SF grubuna göre (U=5,0 p=0,094 z=-1,7), Liraglutid+SF grubuna göre Liraglutid+MK-801 grubunda (U=5,0 p=0,09 z=-1,7) anlamlı fark saptanmadı (Şekil 44a).

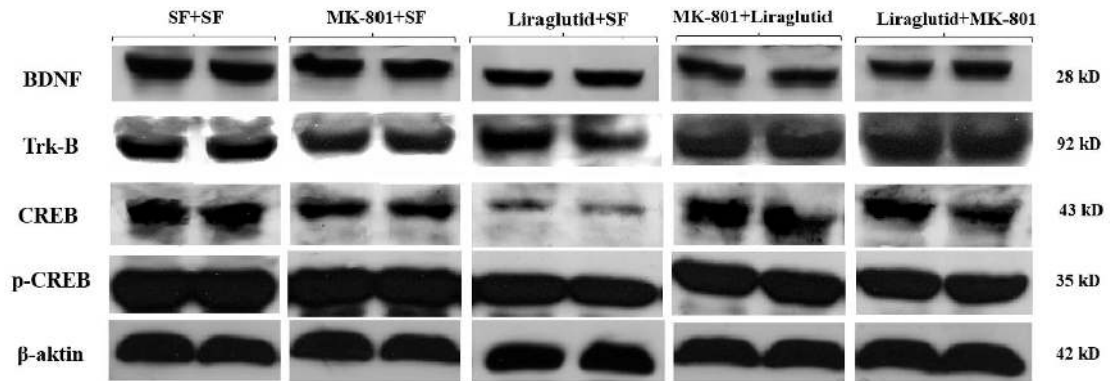
Prefrontal korteks Trk-B ekspresyonunda gruplar arasında anlamlı fark saptandı [H (4, 25) =13,04 p<0,05]. Liraglutid+SF grubuna göre Liraglutid+MK-801 grubunda (U=0,0 p<0,01 z=-2,7) Trk-B ekspresyonunda anlamlı artış saptandı. SF+SF grubuna göre MK-801+SF grubunda (U=10,0 p=0,576 z=-0,6) ve Liraglutid+SF grubunda (U=5,0 p=0,094 z=-1,7), MK-801+SF grubuna göre MK-801+Liraglutid grubunda (U=6,0 p=0,172 z=-1,4) anlamlı fark saptanmadı (Şekil 44b).

Western Blot ile prefrontal korteks CREB ekspresyonunda gruplar arasında anlamlı fark saptandı [H (4, 25) =21,47 p<0,001]. SF+SF grubuna göre MK-801+SF grubunda (U=0,0 p<0,01 z=-3,0) ve Liraglutid+SF grubunda (U=0,0 p<0,01 z=-2,8) CREB ekspresyonunda anlamlı azalma saptandı. MK-801+SF grubuna göre MK-801+Liraglutid grubunda (U=0,0 p<0,01 z=-2,8) ve Liraglutid+SF grubuna göre Liraglutid+MK-801 grubunda (U=0,0 p<0,01 z=-2,7) CREB ekspresyonunda anlamlı artış saptandı (Şekil 44c).

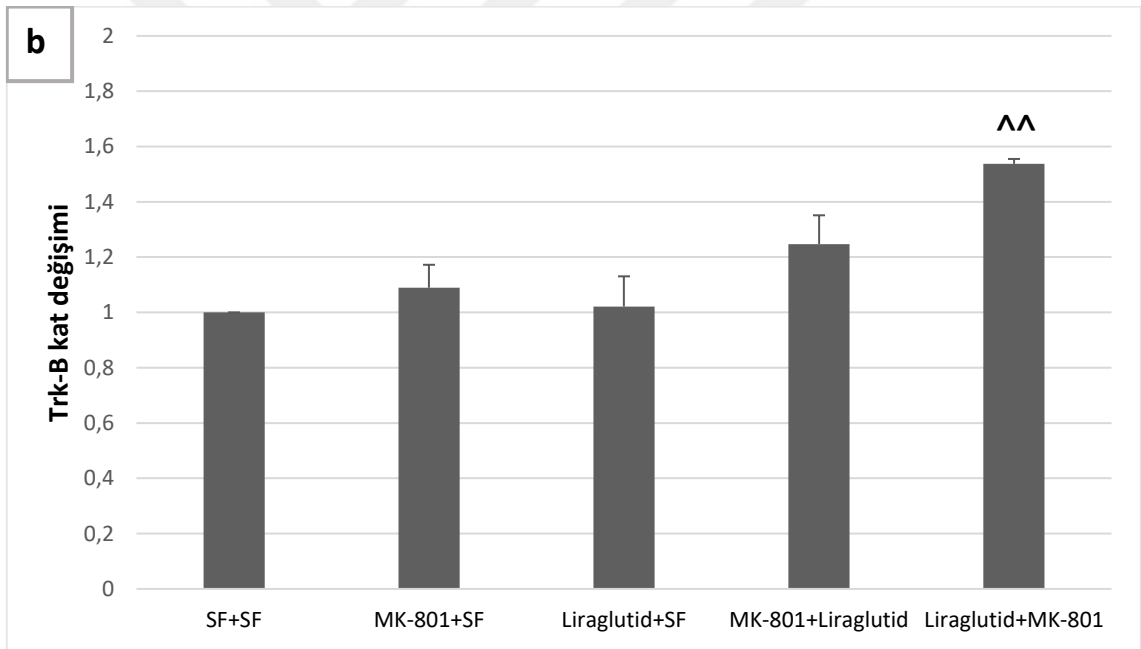
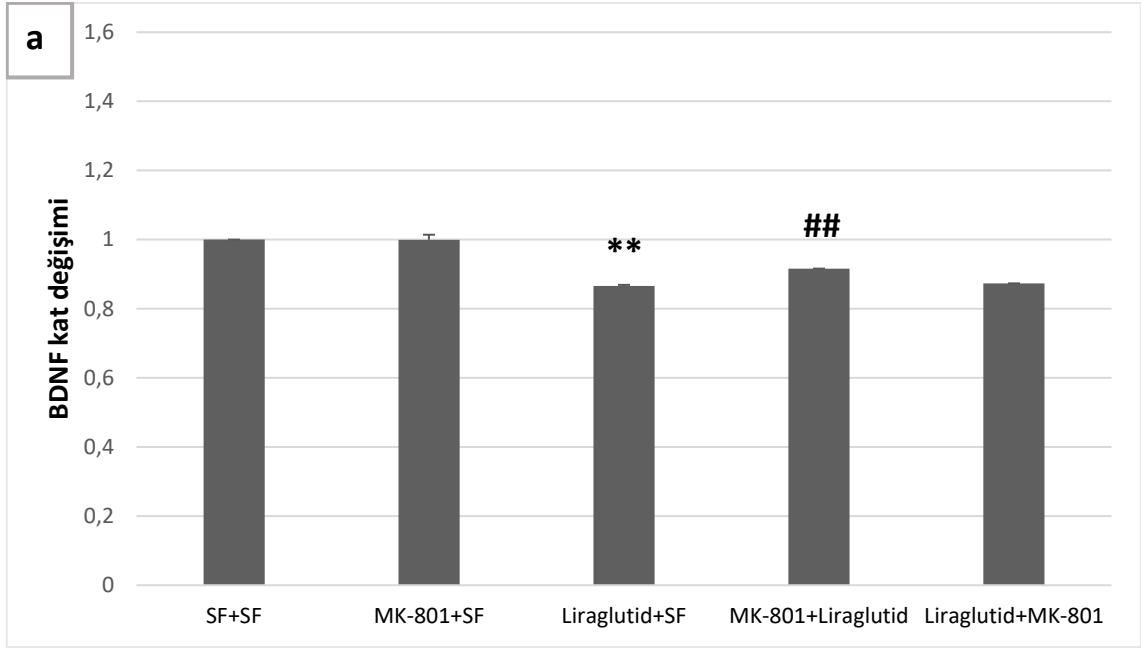
Western Blot ile prefrontal korteks p-CREB ekspresyonunda gruplar arasında anlamlı fark saptandı [H (4, 25) =22,58 p<0,001]. SF+SF grubuna göre MK-801+SF grubunda (U=0,0 p<0,01 z=-3,0) ve Liraglutid+SF grubunda (U=0,0 p<0,01 z=-2,8), MK-801+SF grubuna göre MK-801+Liraglutid grubunda (U=0,0 p<0,01 z=-2,8) ve Liraglutid+SF grubuna göre Liraglutid+MK-801 grubunda (U=1,0 p<0,05 z=-2,5) p-CREB ekspresyonunda anlamlı artış saptandı (Şekil 44d).

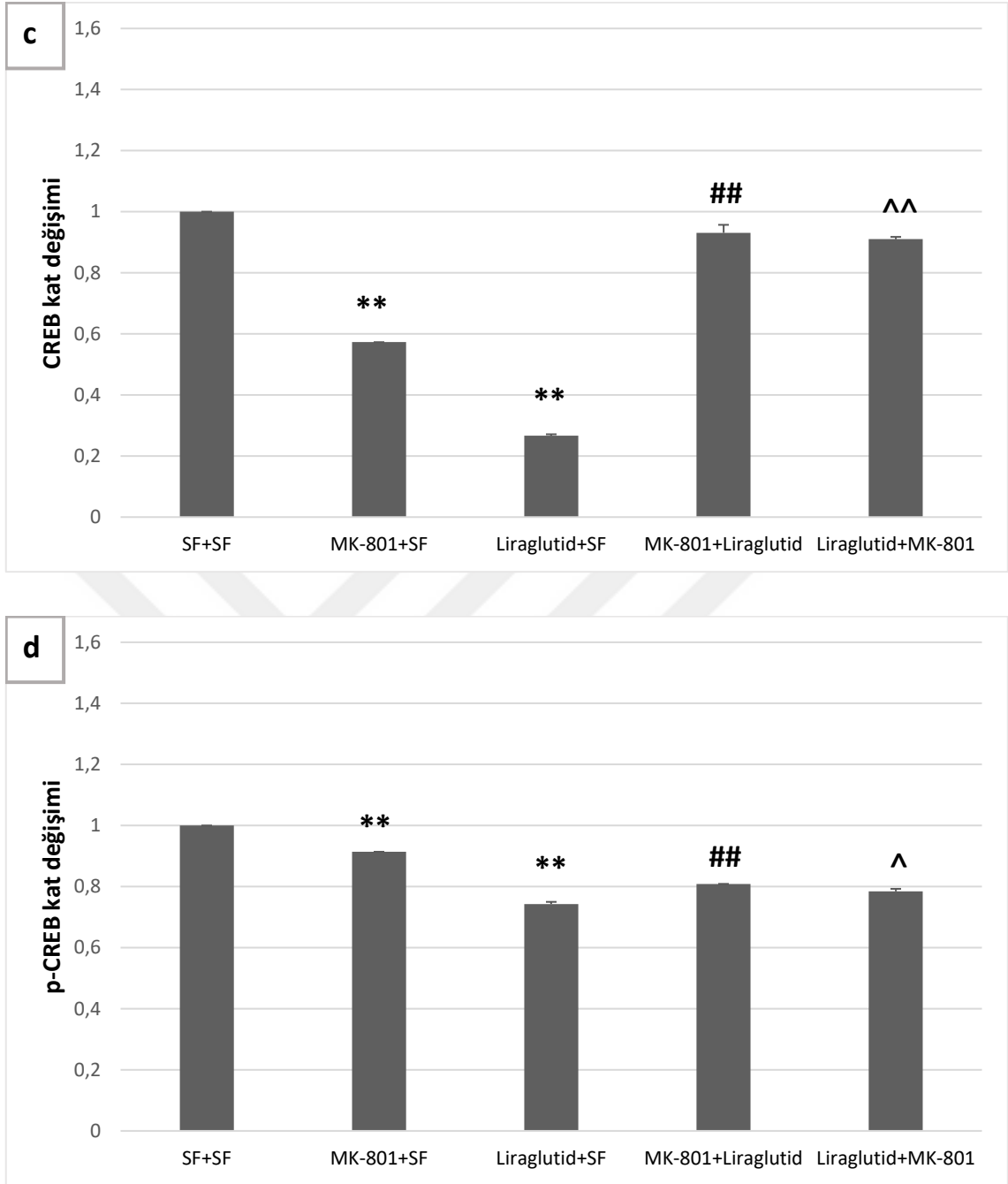
Prefrontal korteks BDNF/Trk-B oranlarına bakıldığında Kruskal Wallis testi ile gruplar arasında anlamlı fark saptandı [H (4, 25) =15,86 p<0,01]. Liraglutid+MK-801 grubunda Liraglutid+SF grubuna göre (U=0,0 p<0,01 z=-2,7) ve SF+SF grubuna göre (U=0,0 p<0,01 z=-2,8) anlamlı azalma, SF+SF grubuna göre MK-801+Liraglutid grubunda (U=0,0 p<0,01 z=-2,8) anlamlı azalma, MK-801+SF grubuna göre MK-801+Liraglutid grubunda (U=4,0 p=0,074 z=-2,7) azalma eğilimi bulundu. SF+SF grubuna göre MK-801+SF grubunda (U=10,0 p=0,576 z=-0,6) ve Liraglutid+SF grubunda (U=5,0 p=0,094 z=-1,7), BDNF/Trk-B oranında anlamlı fark saptanmadı (Şekil 45).

Prefrontal korteks p-CREB/CREB oranında tek yönlü ANOVA ile gruplar arasında anlamlı fark bulundu (F(4,24)=476,55 p<0,001). J. SF+SF grubuna göre MK-801+SF grubunda (p<0,001) ve Liraglutid+SF grubunda (p<0,001) p-CREB/CREB oranında anlamlı artış saptandı. MK-801+SF grubuna göre MK-801+Liraglutid grubunda (p<0,001) ve Liraglutid+SF grubuna göre Liraglutid+MK-801 grubunda (p<0,001) anlamlı azalma bulundu (Şekil 46).



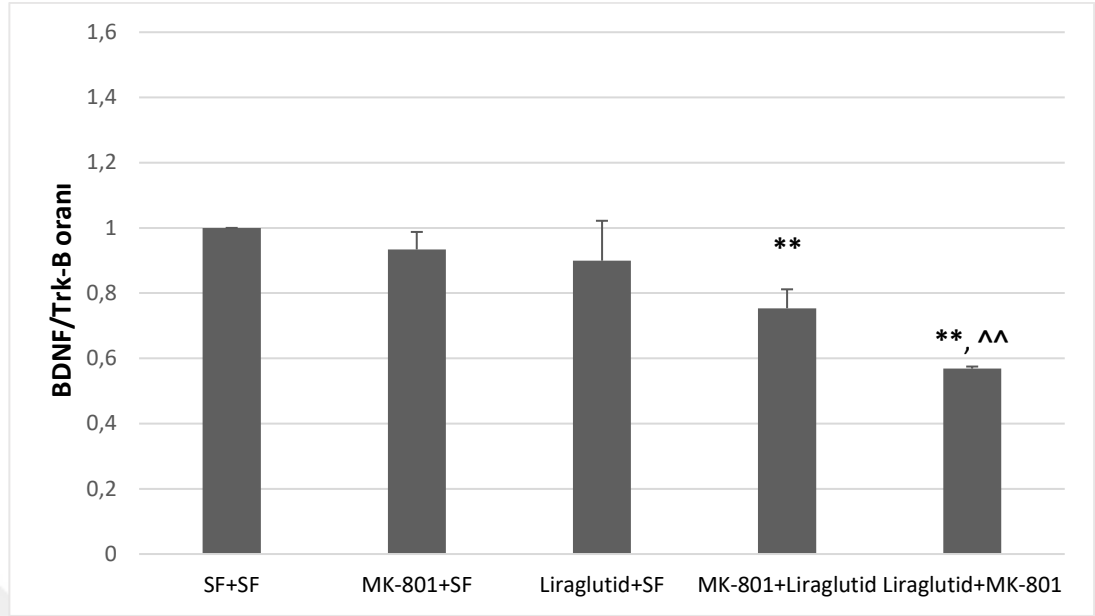
Şekil 43. Western blot analizinde prefrontal kortekse ait görüntü.





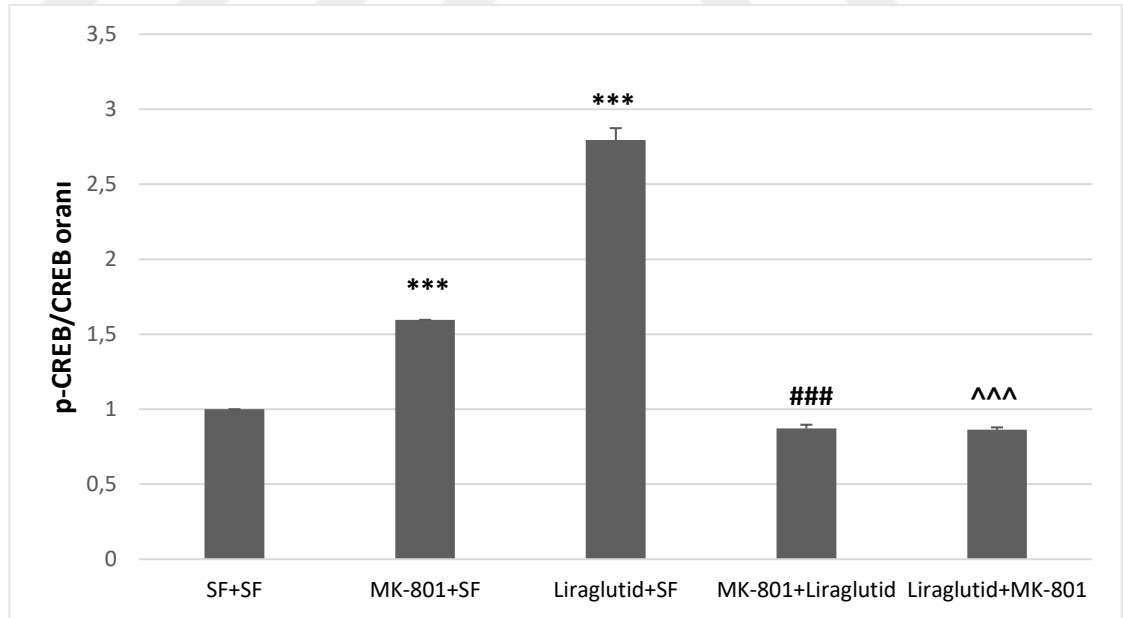
**Şekil 44. Prefrontal kortekste, western blot testinde kat değışimi.**

a) BDNF kat değışimi, b) Trk-B kat değışimi, c) CREB kat değışimi d) p-CREB kat değışimi. \*\* $p<0,01$  SF+SF grubuna göre, ## $p<0,01$  MK-801+SF grubuna göre, ^ $p<0,05$ , ^^ $p<0,01$  Liraglutid +SF grubuna göre. Kruskal Wallis *Post hoc* Mann Whitney U testi. Veriler ortalama  $\pm$ SH olarak ifade edildi. Gruplarda N=5.



Şekil 45. Prefrontal kortekste, western blot testinde BDNF/Trk-B oranı.

\*\*p<0,01 SF+SF grubuna göre, ^^p<0,01 Liraglutid +SF grubuna göre. Kruskal Wallis *Post hoc* Mann Whitney U testi. Veriler ortalama  $\pm$ SH olarak ifade edildi. Gruplarda N=5.



Şekil 46. Prefrontal kortekste, western blot testinde p-CREB/CREB oranı.

\*\*\*p<0,001 SF+SF grubuna göre, ###p<0,001 MK-801+SF grubuna göre, ^^p<0,001 Liraglutid +SF grubuna göre. ANOVA *Post hoc* Tukey testi. Veriler ortalama  $\pm$  S.H. olarak ifade edildi. Gruplarda N=5.

## 5. TARTIŞMA

### 5.1.Somatik Büyüme

Somatik büyümenin değerlendirilmesi amacıyla tüm gruplarda 7 hafta boyunca vücut ağırlığı takibi yapıldı. Tüm gruplarda ilk haftaya göre son haftalarda vücut ağırlığının anlamlı olarak arttığı saptandı. Bununla birlikte NMDA reseptör blokajının ve Liraglutid enjeksiyonunun somatik büyümede etkisinin olmadığı görüldü.

Şu ana kadar yapılan çalışmalarda NMDA reseptör blokajının somatik büyüme üzerine etkisi için farklı görüşler bildirilmiştir. Örneğin bir çalışmada, postnatal 7.-11. günler arasında MK-801 enjeksiyonu yapılan sıçanların yetişkin dönemde vücut ağırlıklarında herhangi bir fark olmadığı saptanmıştır<sup>(181)</sup>. Xiao ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, yetişkin C57BL/6 farelere 7 gün boyunca intraperitoneal (ip.) 0,1 mg/kg MK-801 uygulamasının vücut ağırlığında kontrol grubuna göre anlamlı bir fark yaratmadığı bulunmuştur<sup>(182)</sup>. Yakın tarihli başka bir çalışmada ise 10 gün boyunca ip. olarak MK-801 uygulanan yetişkin farelerde anlamlı kilo kaybı olduğu gösterilmiştir<sup>(183)</sup>. Gözlenen bu farklılıkların temelinde kullanılan kemirgenin türü, cinsiyet farklılıkları, uygulama süresi gibi etkenler rol oynadığı ileri sürülmektedir.

Çalışmamızda Liraglutid uygulaması ile 7 haftalık sürede kontrol grubuna göre fark saptanmadı. Klinik çalışmalarda GLP-1 agonistlerinin iştah baskılama ve bunu takiben kilo verdirici etkisi sağlıklı gönüllülerde, obez ve/veya diyabetik kişilerde gösterilmiş olmasına karşın<sup>(176)</sup> birçok çalışmada Liraglutid'in somatik büyüme üzerine etkisi gösterilememiştir<sup>(127, 176, 178, 184)</sup>. Örneğin bir çalışmada, 2 hafta boyunca Liraglutid enjeksiyonu uygulanmış yetişkin C57BL/6 farelerde Liraglutid enjeksiyonu neticesinde vücut ağırlığında kontrol grubuna göre değişiklik olmadığı gösterilmiştir<sup>(185)</sup>. Yetişkin sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada ise 6 hafta süresince Liraglutid enjeksiyonu uygulaması ile vücut ağırlığında kontrol grubuna göre anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir<sup>(186)</sup>. Tersine Babic ve ark. Sıçanlarda kronik Liraglutid uygulaması ile kontrol grubuna göre anlamlı kilo kaybı saptamıştır<sup>(15)</sup>. Gözlenen bu farklılıkların,

Liraglutid'in hipotalamik nöropeptid salınımı üzerine etkileri henüz doğrulanamamış olmasına karşın hipotalamustaki oreksijenik sinyallemeği aşağı yönlü düzenlemesinden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir<sup>(127)</sup>.

## 5.2.Kan Şekeri

Kan şekeri ölçümleri her grupta, davranış deneylerine alınmayan 5 adet hayvan ile yapıldı. Ölçümler haftalık olarak, 2. enjeksiyondan yarım saat sonra, herhangi bir yiyecek-içecek kısıtlaması olmadan yapıldı ve 7 hafta süreyle takip edildi. Gruplar arasında kan şekerleri açısından anlamlı fark saptanmadı.

Literatüre bakıldığı zaman, bulgularımızla uyumlu olan yayınların sayısı daha fazla görünmektedir. Örneğin, Li ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, 12 hafta boyunca Liraglutid enjeksiyonu yapılan ve normal diyetle beslenen yetişkin C57BL/6 farelerde kan şekerlerinde anlamlı bir fark gözlenmezken, yüksek yağ içerikli diyetle beslenerek obez yapılan farelerde ise Liraglutid enjeksiyonu sonucu kan şekerlerinde azalma gözlenmiştir<sup>(187)</sup>. Sıçanlar üzerine yapılan geniş çaplı benzer bir çalışmada ise, 6 hafta boyunca Liraglutid uygulanan grupta kontrol grubuna göre anlamlı bir kan şekeri değişimi gözlenmezken, streptozosin uygulaması ile diyabet yapılan sıçanlarda kontrol grubuna göre ciddi bir kan şekeri düşüklüğü göze çarpmıştır<sup>(188)</sup>. Sedky ve Magdy'nin yaptığı 2021 tarihli bir çalışmada da 4 hafta süreyle Liraglutid uygulanan sıçanlarda kan şekerinde kontrole göre bir değişim gözlenmemiştir<sup>(189)</sup>. Aksine, yakın zamanda yetişkin erkek fareler ile yapılan bir çalışmada ise, subkronik ve kronik Liraglutid uygulaması sırasında, 7. ve 14. günde kan şekeri değerleri ölçüldüğünde kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma gösterilmiştir<sup>(190)</sup>. Bulgularımızı bu veriler ışığında değerlendirdiğimizde, Liraglutid'in normoglisemik bireylerde kan şekeri üzerine azaltıcı etkisi olmazken, obez veya diyabetli bireylerde kan şekeri üzerine ılımlı bir düşürücü etkisinin olduğu görüşü desteklenmektedir.

### 5.3. MK-801 ve Liraglutid'in Duygusal-Bilişsel Davranışlara Etkileri

Çalışmamızda MK-801 uygulaması açık alan testinde kat edilen mesafeyi, merkez alanda geçirilen süreyi, merkeze geçiş sıklığını artırıp, merkez alana ilk geçiş süresini azalttı. Yükseltilmiş artı düzenek testinde, açık kolda geçirilen süreyi ve açık kolun uç kısmından aşağı baş uzatma sıklığını artırdı. Açık alan testi ve yükseltilmiş artı düzenek testleri sonuçlarına göre literatür ile uyumlu olarak MK-801 lokomotor aktiviteyi artırıp, anksiyete benzeri davranışları azalttı<sup>(191)</sup>. Morris su havuzu testinde ise uzaysal öğrenme ve bellek performansı azaldı. Locomotor aktivite artışı, duygusal davranışlarda değişme ve bilişsel performansta bozulma şizofreni benzeri davranış yapısı olarak tanımlanmaktadır<sup>(192)</sup>. Ayrıca MK-801 uygulanan farelerde görülen lokomotor aktivite artışının stereotipik hareketler yönünde olması bu durumu desteklemektedir<sup>(193, 194)</sup>. Çalışmamızda hücre içi CREB sisteminin aktivasyonunun göstergesi olarak tanımlanan p-CREB/CREB oranı, MK-801 uygulaması ile prefrontal kortekste artarken, hipokampüste değişmedi<sup>(195)</sup>. BDNF/Trk-B oranlarına bakıldığında, hipokampus ve prefrontal kortekste MK-801 uygulaması ile değişmediği görüldü. MK-801 uygulaması ile BDNF düzeylerinin değerlendirildiği birçok çalışmada farklı bulgular ortaya konulmuştur. Bazı çalışmalarda BDNF düzeyinin azaldığı<sup>(196)</sup>, bazılarında arttığı<sup>(197)</sup> ya da değişmediği<sup>(198)</sup> bildirilmektedir. Örneğin bir çalışmada, sıçanlara 1 hafta boyunca ip. olarak MK-801 uygulaması hipokampüste BDNF, Trk-B, p-Trk-B, CREB ve p-CREB ekspresyonlarını azaltmış, uzaysal öğrenme-bellek performansını olumsuz etkilemiştir<sup>(199)</sup>.

NMDA reseptör blokajının merkezi sinir sisteminde dopaminerjik, GABAerjik, serotonerjik sistemler üzerinde etkilerinin yanı sıra beyin kan akımı, glukoz kullanımı gibi beynin işlevsel aktivitesi üzerinde de etkileri bulunmaktadır. NMDA reseptör antagonistlerinin, nöronal hasara neden olduğu gösterilirken<sup>(200)</sup>, aynı zamanda eksitotoksisteye karşı koruyucu<sup>(201)</sup> olduğu da bildirilmektedir. Birbirine zıt bu etkilerin hangi hücre içi sinyal yollarının aktivasyonu ile gerçekleştiği tam olarak bilinmemektedir. NMDA reseptörlerinin aktivasyonu sonucu hücre içi kalsiyum artışının ardından CAMKII, CAMKIV ve CREB fosforilasyonu ile LTP oluşumunun gerçekleştiği bilinmektedir. CREB ayrıca, MAPK, cAMP-protein kinaz A, ve fosfolipaz C sinyal

yolaklarının aktive olması ile aktifleşebilmektedir<sup>(202)</sup>. Hipokampal nöronlarda yaklaşık 200'den fazla gen, nükleer kalsiyum sinyalleri tarafından kontrol edilmektedir. Nükleer kalsiyum-CaMKII/IV ve CREB, kalsiyumun en önemli hedefleri arasında yer almaktadır. BDNF düzeyleri sinaptik aktiviteye bağlı olarak CREB tarafından düzenlenmekte ve sinaptik aktivite arttıkça BDNF sentezi artmaktadır. BDNF'in reseptörü olan Trk-B ise hücre içi PI3K-AKT, MAPK-ERK1/2 ve PLC $\gamma$  yolları aracılığı ile BDNF'in etkilerinin ortaya çıkmasına aracılık etmektedir.

NMDA reseptör blokajı ile görülen lokomotor aktivite ve stereotipik hareketlerde artıştan mediyal prefrontal kortekste artan glutamat, dopamin ve serotonin sorumlu tutulmaktadır. NMDA reseptör antagonistlerinin sıçanlarda mediyal prefrontal kortekste (mPFC) glutamat, serotonin ve dopamin salınımını artırdığı bildirilmektedir<sup>(203)</sup>. Araştırmacılar reseptör blokajı ile glutamat salınımının nasıl arttığı konusunda disinhibisyon mekanizmasını öne sürmektedirler. Buna göre, NMDA reseptör antagonistleri mediyal prefrontal kortekste glutamaterjik nöronlarla sinaps yapan GABAerjik nöronların aktivitesini baskılamaktadır. Piramidal nöronlarla karşılaştırıldığında, limbik korteks ve hipokampüsteki GABAerjik ara nöronların NMDA reseptör blokajına daha duyarlı olduğu bildirilmektedir. NMDA reseptör antagonistleri lokal olarak mPFC'ye uygulandığında glutamaterjik nöronların ateşleme hızında ve serotonerjik aktivitede artış olmadığı gösterilmiştir<sup>(204)</sup>. mPFC temel olarak hipokampus ve talamusun medyodorsal nükleusundan glutamaterjik girdiler almaktadır. Bu girdiler mPFC'teki glutamaterjik nöronlarla sinaps yapan GABAerjik ara nöronlara yansımaktadır. Sistemik olarak NMDA reseptör antagonistleri uygulandığında mPFC'de aktivite artışının olması ise mPFC'e yansıyan GABAerjik nöronları tonik olarak inhibe eden glutamaterjik efferentlerdeki disinhibisyon mekanizması ile açıklanmaktadır. MK-801'in de fensiklidin gibi diğer NMDA reseptör antagonistlerine benzer şekilde disinhibisyon mekanizması ile mPFC'de glutamat, serotonin ve dopamin salınımını artırdığı gösterilmiştir<sup>(205)</sup>. Merkezi sinir sisteminde, NMDA reseptörlerinin sinaptik ve ekstrasinaptik olmak üzere iki farklı lokalizasyonu bulunmaktadır. Sinaptik yerleşim gösteren ve genellikle GluN2A alt grubu bulunan NMDA reseptörleri nöron gelişimi için önemli iken, ekstrasinaptik yerleşim gösteren GluN2B alt grubu bulunan NMDA

reseptörlerinin nöronal hasarlanmada rol oynadığı gösterilmiştir <sup>(206)</sup>. Sinaptik NMDA reseptörlerinin (GluN2A içeren) aksine ekstrasinaptik yerleşen NMDA reseptörlerinin (GluN2B içeren) Ras-ERK1/2 sinyal yolağını inhibe ederek CREB aktivasyonunu baskıladığı bildirilmektedir <sup>(206, 207)</sup>. Ayrıca günümüzde antidepresan olarak kullanıma giren NMDA reseptör antagonisti ketaminin antidepresan etkilerini özellikle prefrontal kortekste yoğun olarak bulunan GluN2B alt grubu bulunan NMDA reseptörleri üzerinden gösterdiği bildirilmektedir<sup>(208)</sup>. MK-801'in anksiyete benzeri davranışları azaltması ve prefrontal kortekste CREB aktivasyonunu artırması, çalışmamızda kullandığımız doz ve MK-801'i uygulama süremize de bağlı olarak prefrontal kortekste bulunan ekstrasinaptik yerleşimli NMDA reseptörlerinin daha fazla etkilendiğini düşündürmektedir. Ayrıca, ekstrasinaptik NMDA reseptör blokajı ile artan CREB'in, MK-801'in neden olduğu prefrontal kortekste aşırı glutamat salınımı ile ortaya çıkan sinaptik NMDA reseptör aracılı nöronal ölüme karşı kompensasyon mekanizması olarak geliştiği söylenebilir. Fakat moleküler düzeyde ve sadece prefrontal kortekste gerçekleşen bu kompensasyon mekanizmasının bilişsel işlevlerdeki bozulmayı engelleyemediği görülmektedir.

Ras-MAPK kinaz (MEK)-MAPK ve PI3 kinaz-Akt-GSK-3 $\beta$  yolaklarının şizofreni gibi psikotik bozuklukların fizyopatolojisinde rol oynadığı ileri sürülmekle birlikte bu yolaklar NMDA reseptörleri tarafından aktive olan diğer primer hücre içi sinyal yolakları olarak bilinmektedir. Şizofreni hastalarında ölüm sonrasında yapılan çalışmalarda frontal kortekste GSK-3 $\beta$  aktivitesi ve protein düzeylerinin azaldığı, talamusta ERK2 protein ve mRNA düzeylerinin arttığı bildirilmiştir <sup>(209, 210)</sup>. Yapılan bir çalışmada, BDNF yapımı için primer sinyal yolağının ERK yolağı olduğu bildirilmektedir<sup>(211)</sup>. Seo ve ark., sıçanlarda tekrarlayan MK-801 uygulaması sonrasında frontal kortekste Akt/GSK3 $\beta$ , MEK/ERK yolakları ve CREB ekspresyonunda artış göstermişlerdir<sup>(212)</sup>. Bu farklı bulgular, MK-801'in farklı sinyal yolakları üzerinden de bilişsel işlevleri etkileyebileceğini göstermektedir. Çalışmamızda kronik MK-801 uygulaması hipokampüste, CREB aktivasyonu ve BDNF düzeyini değiştirmemesine rağmen yukarıda da belirttiğimiz gibi NMDA reseptör blokajının farklı hücre içi sinyal yolaklarının etkisi ile bilişsel işlevlerde azalmaya neden olabileceği ileri sürülebilir.

Liraglutid tek başına uygulandığında açık alan testinde kat edilen mesafeyi, merkez alanda geçirilen süreyi, merkeze geçiş sıklığını artırıp, merkez alana ilk geçiş süresini azalttı. Yükseltilmiş artı düzenek testinde, açık kolda geçirilen süreyi ve açık kolun uç kısmından aşağı baş uzatma sıklığını artırdı. Liraglutid bu bulgulara göre anksiyete benzeri davranışı azaltıp, lokomotor aktiviteyi artırdı. Morris su havuzu testinde uzaysal öğrenme ve bellek performansı kontrol grubu ile aynı kalarak değişmedi. Liraglutid ile prefrontal kortekste ve hipokampüste, CREB aktivasyonu arttı. Hipokampusta BDNF/Trk-B oranı arttı, prefrontal kortekste BDNF/Trk-B oranı değişmedi. Palleria ve ark.larının sıçanlarda yaptıkları bir çalışmada bizim bulgularımızla uyumlu olarak, Liraglutid, açık alan testinde merkezde geçirilen süreyi ve lokomotor aktiviteyi, yükseltilmiş artı düzenek testinde ise açık kolda geçirilen süreyi artırmıştır<sup>(188)</sup>. Ayrıca MWM testi ile öğrenme-bellek performansında artış sağlamış, yüzme hızında ise anlamlı bir fark oluşturmamıştır. Sedky ve Magdy'nin yaptığı bir çalışmada, sıçanlarda 4 hafta boyunca 300 mcg/kg Liraglutid uygulaması kontrole göre MWM'de öğrenme ve uzaysal bellek performansını değiştirmemiştir. Aynı çalışmada Liraglutid ile serum ve hipokampus BDNF düzeyleri de kontrole benzer bulunmuş olup aralarında anlamlı fark saptanmamıştır<sup>(213)</sup>.

GLP-1 analoglarının beyin üzerindeki olumlu etkilerinin moleküler mekanizmaları hala belirsizliğini korumaktadır<sup>(15)</sup>. GLP-1, beyinde anatomik olarak kognitif işlevlerle ilgili yollara benzer yollar üzerinden etki göstermesi ve bu işlevlerde rol oynaması nedeniyle nörotransmitter olarak kabul edilebildiği gibi genellikle nöromodülatör olarak tanımlanmaktadır<sup>(15)</sup>. Fare beyinde yapılan bir çalışmada, GLP-1R'lerinin kortikal ve hipokampal presinaptik glutamaterjik ve GABAerjik sinir uçlarında bulunduğu ve GLP-1'in bu nöronlardan glutamat ve GABA salınımını artırdığı gösterilmiştir<sup>(214)</sup>. Porter ve ark.larının farelerde yaptıkları Alzheimer hastalığı modelinde Liraglutid uygulamasının hipokampal CA1 nöron sayısını artırarak kognitif fonksiyonları geliştirdiği gösterilmiştir<sup>(184)</sup>. Ayrıca Alzheimer modelinde, 4 hafta boyunca Liraglutid uygulamasının farelerde öğrenme ve bellek performansını geliştirdiği rapor edilmiştir<sup>(215)</sup>. Başka bir çalışmada ise GLP-1R ile ilgili gen ifadesi durdurulmuş (knockout) farelerde, yeni nesne tanıma ve Morris su havuzu testlerinde öğrenme-bellek performansında azalmanın yanı sıra hipokampal CA1 bölgesinde LTP azalması tespit edilmiştir<sup>(216)</sup>.

Tersine Babic ve ark.larının sıçanlarla yaptıkları bir çalışmada, 6 hafta boyunca günde iki kez 0,2 mg/kg s.c. Liraglutid uygulaması sonucunda, Liraglutid grubunun kontrole kıyasla yeni obje tanıma testinde kat ettiği mesafe azalmış ve hızı düşmüştür; ancak T-labirent testinde herhangi bir değişiklik saptanmamıştır<sup>(15)</sup>. Klinik çalışmalarda da farklı sonuçlar elde edilmiştir<sup>(167, 217)</sup>. Örneğin Ishøy ve ark.larının antipsikotik kullanan obez şizofrenik hastalarla yaptığı yakın tarihli klinik bir çalışmada, hastalara üç ay boyunca haftada bir kez GLP-1 agonisti Exenatid s.c. olarak uygulanmıştır. Üç ay sonunda yapılan bilişsel fonksiyonları değerlendirme testlerinin sonucuna göre Exenatid uygulanan grupla kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunamamıştır<sup>(217)</sup>. Kullanılan dozun, antipsikotik kullanımının, obez olma durumunun ve/veya Exenatid ile Liraglutid arasındaki muhtemel farmakolojik farklılıkların bu sonuca sebep olduğu ileri sürülmektedir.

MK-801'den sonra Liraglutid uygulanan gruplarda, açık alan testinde merkezde geçirilen süre azalması ve yükseltilmiş artı düzenek testinde açık kola giriş sıklığının artması dışında MK-801 uygulaması ile görülen davranış yapısı yani lokomotor aktivite artışı ve anksiyete benzeri davranışın azalması değişmedi. Morris su havuzu testinde MK-801 uygulaması ile azalan uzaysal öğrenme ve bellek performansı Liraglutid uygulaması ile değişmedi. Liraglutidin, MK-801'in duygusal ve bilişsel işlevler üzerine etkisini değiştirmedığı ileri sürülebilir. Prefrontal kortekste MK-801 grubuna göre BDNF/Trk-B oranı ve CREB aktivasyonu azaldı, SF uygulanan kontrol grubuna göre BDNF/Trk-B oranı azalırken CREB aktivasyonu değişmedi. Hipokampusta MK-801 grubuna göre BDNF/Trk-B oranı artarken, CREB aktivasyonu değişmedi, SF uygulanan kontrol grubuna göre de BDNF/Trk-B oranı artarken CREB aktivasyonu değişmedi. Çalışmamızda, MK-801 sonrasında Liraglutid uygulamasının hipokampüste CREB aktivasyonunu değiştirmemesi, BDNF/Trk-B oranını artırması hipokampüste MK-801'in tek başına uygulandığı duruma benzer bir durum oluşturmaktadır. MK-801 ardından Liraglutid uygulaması prefrontal kortekste ise CREB aktivasyonuna ve BDNF/Trk-B oranının azalmasına neden olarak SF kontrol grubuna benzer bir tablo sergilemektedir. Hipokampusta MK-801'in tek başına CREB aktivasyonunu değiştirmemiş olmasına rağmen, MK-801'in ardından Liraglutid uygulandığında CREB aktivasyonunun artması beklenebilirdi. Çünkü tek başına Liraglutid uygulandığında hipokampüste CREB aktivasyonunun arttığı görüldü. Diğer taraftan Liraglutid'in tek başına uygulanmasına

benzer şekilde hipokampüste MK-801'in ardından Liraglutid uygulanmasında BDNF/Trk-B oranında artış görüldü. Prefrontal kortekste ise MK-801 uygulaması ile artan CREB aktivasyonunun Liraglutid ile azalması, özellikle Liraglutidin prefrontal korteks üzerinde olumlu etkilerinin olduğuna işaret etmektedir. Moleküler düzeydeki bu olumlu durumun bilişsel ve duygusal davranışlara yansımadağı görülmektedir. Reboso ve ark., yaptıkları çalışmada prefrontal korteks ve hipokampüste GLP-1 reseptörlerinin presinaptik yerleşimini göstermişler ve bu iki alan arasında reseptörün farklı desensitizasyon ve internalizasyon özelliklerinin olduğunu bildirmişlerdir<sup>(163)</sup>. Ayrıca presinaptik yerleşimli bu reseptörlerin uyarılması ile prefrontal korteks ve hipokampüste GABA ve glutamat salınımının arttığını rapor etmişlerdir. Park ve ark., sıçanlarda yaptıkları çalışmada, deksametazon ile oluşturulan toksik koşullar altında Liraglutid uygulamasının hipokampüste AMPA reseptörlerini ve mTORC1 yolağını aktive ederek BDNF salınımını artırdığını göstermişlerdir<sup>(218)</sup>. Farelerle yapılan bipolar hastalık modelinde ise Liraglutid, antioksidan sisteminin bir transkripsiyonel faktörü olan nükleer faktör eritrioid ilişkili faktör (Nrf-2) üzerinden BDNF ekspresyonunu artırmıştır<sup>(171)</sup>. Çalışmamızda hipokampüste MK-801 sonrası Liraglutid uygulaması ile artan BDNF düzeyleri, Liraglutidin CREB üzerindeki etkisinden bağımsız olarak mTOR yolağı veya diğer yolaklar üzerinden gerçekleşmiş olabilir. Ayrıca, MK-801 ardından uygulanan Liraglutidin hücresel düzeydeki etkileri, Liraglutidin glutamat ve GABA salınımı üzerindeki düzenleyici etkisi ile ilişkilendirilebilir. Elimizdeki veriler ile MK-801'in glutamat, serotonin vs. gibi nörotransmitter salınımında meydana getirdiğı değişiklikler ve Liraglutid uygulaması ile görülen nörotransmitter salınımları arasındaki ilişkilerin açıklanması zor olduğuna için daha ileri çalışmalar ile aydınlatılması gerekmektedir.

Liraglutid'den sonra MK-801 uygulanan grupta, tek başına Liraglutid uygulanan gruba göre açık alan testinde lokomotor aktivite değişmedi, merkeze ilk geçiş süresi azaldı. Yükseltilmiş artı düzenekte ise, açık kolda geçirilen süre ve açık koldan baş uzatma sıklığı azaldı. Bu bulgulara göre, Liraglutidin açık alan testi ve yükseltilmiş artı düzenekteki anksiyete benzeri davranışta azalma etkisi Liraglutid+MK-801 uygulaması ile azalarak SF uygulanan grupla benzer davranış yapısı gösterdi. Morris su havuzu testinde Liraglutid'in uzaysal öğrenme ve bellek aktivitesindeki olumlu etkileri MK-801 uygulamasından etkilenmedi. Sonuçta, Liraglutid'in, MK-801'in özellikle bilişsel

davranışlardaki olumsuz etkilerine karşı koruyucu etki gösterdiği ileri sürülebilir. MK-801 uygulamasından önce Liraglutid uygulaması prefrontal kortekste ve hipokampüste Liraglutid grubuna göre BDNF/Trk-B oranı ve CREB aktivasyonunu azaltırken, SF grubuna göre sadece prefrontal kortekste BDNF/Trk-B oranı azaldı. Liraglutid+MK-801 uygulaması ile görülen olumlu davranışlar ile hücresel düzeyde görülen büyüme ve transkripsiyon faktör düzeyindeki değişimler birbirini desteklemektedir. Nöromodülatör olarak Liraglutidin, presinaptik glutamat ve GABA salınımına neden olması, MK-801'in NMDA reseptör blokajına ait etkilerini göstermesini engellemiş olabilir. Prefrontal kortekste disinhibisyon mekanizması ile glutamat salınımının artışı Liraglutid'in neden olabileceği GABA salınımındaki artış tarafından önlenebilmiş olabilir.

Yapılan bir çalışmada Liraglutid, GABA<sub>A</sub> antagonisti pentazolamin (PTZ) ile oluşturulan anksiyete ve lokomotor aktiviteyi artırıcı etkiyi tek başına düzeltemezken, antikonvülzan bir ilaçla birlikte uygulandığında bu etkileri tersine çevirmeyi başarmıştır. Ayrıca Liraglutid'in PTZ'den önce uygulanması farelerde bilişsel performansı artırmıştır<sup>(219)</sup>. Bu çalışmanın sonucu ile çalışmamızda Liraglutid'in MK-801'den önce uygulamasının, MK-801 sonrası Liraglutid uygulamasına göre bilişsel fonksiyonlar ile CREB ve BDNF ekspresyonları üzerine gösterdiği olumlu etki artışı benzerlik göstermektedir. Bu çalışmadan çıkarılacak bir diğer sonuç da MK-801 uygulamasından sonra Liraglutid uygulamasının görece daha az olumlu etki oluşturmamasının Liraglutid'in yanına eklenecek başka bir nöroprotektif ajanla artırılabilenidir.

Sonuçta, MK-801'in anksiyete benzeri davranışta azalmaya ve bilişsel davranışlarda bozulmaya neden olduğu, Liraglutid'in MK-801'in neden olduğu bu davranışları değiştirmede ancak bilişsel davranışlardaki bozulmaya karşı koruyucu etki gösterdiği bulundu. Ayrıca hipokampus ve prefrontal kortekste hücresel düzeyde GLP-1 reseptörlerinin NMDA reseptör aktivitesinin modülasyonunda CREB aktivasyonu/deaktivasyonu aracılığı ile rol oynadığı ileri sürülebilir. Ancak NMDA ve GLP-1 reseptörlerinin birlikte, duygusal-bilişsel davranışlar üzerine moleküler etkileri karmaşık sinyal yollarının dahil olduğu kompleks bir süreçtir. Bu nedenle bu iki reseptör sisteminin şizofreni fizyopatolojisindeki öneminin ve etkileşiminin aydınlatılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Farelerde, MK-801 ile oluşturulan şizofreni benzeri modelde anksiyete benzeri davranışlar azalmakta ve bilişsel işlevlerde bozulma meydana gelmektedir.
2. MK-801 uygulaması prefrontal kortekste BDNF/Trk-B oranını değiştirmemekte, p-CREB/CREB oranında artışa neden olmaktadır.
3. MK-801 uygulaması ile anksiyete benzeri davranışların azalması ve prefrontal kortekste CREB aktivasyonunun artması nedeniyle prefrontal kortekste bulunan ekstrasinaptik yerleşimli NMDA reseptörlerinin daha fazla etkilendiği ileri sürülebilir.
4. Ekstrasinaptik NMDA reseptör blokajı ile artan CREB aktivasyonunun, MK-801'in neden olduğu prefrontal kortekste aşırı glutamat salınımı ile ortaya çıkan sinaptik NMDA reseptör aracılı nöronal ölüme karşı kompensasyon mekanizması olarak geliştiği söylenebilir.
5. Farelerde Liraglutid uygulaması ile anksiyete benzeri davranışlar azalmakta, uzaysal öğrenme ve bellek performansı korunmaktadır.
6. Liraglutid uygulaması prefrontal kortekste p-CREB/CREB oranında, hipokampüste BDNF/Trk-B oranı ve p-CREB/CREB oranında artışa neden olmaktadır.
7. Liraglutid'in, MK-801'in uzaysal öğrenme-bellek performansı üzerindeki olumsuz etkisini değiştirmediği ileri sürülebilir.
8. Liraglutid uygulaması, prefrontal kortekste MK-801 ile artan p-CREB/CREB oranını azaltmakta, hipokampüste BDNF/Trk-B oranını artırmaktadır.
9. Liraglutid uygulamasının hipokampüste MK-801 ile artan p-CREB/CREB oranını değiştirmezken MK-801 ile azalan BDNF/Trk-B oranını artırması, BDNF'in CREB etkisi olmadan da mTOR1 ve Nrf-2 gibi farklı sinyal yolları üzerinden etki gösterebileceğini düşündürmektedir.
10. Liraglutid'in, MK-801'in bilişsel davranışlardaki olumsuz etkilerine karşı koruyucu etki gösterdiği ileri sürülebilir.

11. Liraglutid sonrası MK-801 uygulaması ile prefrontal kortekste ve hipokampüste BDNF/Trk-B oranı ile p-CREB/CREB oranında SF uygulanan kontrol grubuna göre fark olmaması Liraglutid'in bilişsel davranışlardaki koruyucu etkisini desteklemektedir.
12. MK-801'in baskın moleküler etkilerini hangi lokalizasyondaki NMDA reseptör blokajına bağlı olarak gösterdiğinin bilinmemesi çalışmamızın sınırlamalarından biri olarak görünmektedir. Yapılacak immunohistokimyasal ve elektrofizyolojik çalışmalar ile bu ayrımın etkisi açıklanabilir.
13. NMDA reseptör blokajı ve Liraglutid'in duygusal-bilişsel davranışlar üzerindeki moleküler etkileri çalışmamızda kullandığımız belirteçler dışında farklı sinyal yollarının da devreye girdiği karmaşık moleküler süreçleri kapsamaktadır. Bu nedenle ileri çalışmalarda farklı sinyal yollarının etkisinin incelenebileceği belirteçlere de bakılmalıdır.
14. İleri çalışmalarda BDNF ve Trk-B'nin fosforile hallerinin kullanılması, bu faktörlerin aktivasyonu hakkında daha detaylı bilgi sağlayacaktır.
15. MK-801 sonrası Liraglutid uygulamasının görece daha az olumlu etki oluşturması, Liraglutid dozunun artırılmasıyla veya Liraglutid'in yanına eklenecek başka bir nöroprotektif ajanla belki artırılabilir.

## KAYNAKLAR

1. **Köroğlu E, GC.** Psikiyatri Temel Kitabı. Ankara: HYB Basım Yayın; **2007**.
2. **Karakuş G, Kocal Y, Sert D.** Şizofreni: Etyoloji, klinik özellikler ve tedavi. **2017**; 26(2):251-267.
3. **Öztürk O, UA.** Ruh Sağlığı ve Bozuklukları. Ankara: Nobel Yayın Dağıtım; **2008**. p. 242-316.
4. **Balu, DT.** The NMDA Receptor and Schizophrenia: From Pathophysiology to Treatment. *Adv Pharmacol* **2016**; 76:351-382.
5. **Winship, IR, Dursun SM, Baker GB, Balista PA, Kandratavicius L, Maia-de-Oliveira JP, Hallak J, Howland JG.** An Overview of Animal Models Related to Schizophrenia. *Canadian journal of psychiatry Revue canadienne de psychiatrie* **2019**; 64(1):5-17.
6. **Mansbach, RS, Geyer MA.** Effects of phencyclidine and phencyclidine biologs on sensorimotor gating in the rat. *Neuropsychopharmacol* **1989**; 2(4):299-308.
7. **Bubeníková-Valesová, V, Horáček J, Vrajová M, Höschl C.** Models of schizophrenia in humans and animals based on inhibition of NMDA receptors. *Neuroscience and biobehavioral reviews* **2008**; 32(5):1014-1023.
8. **Bear, MF, Malenka RCJ**Coin. Synaptic plasticity: LTP and LTD. **1994**; 4(3):389-399.
9. **Zhou, J, Wang F, Zhang J, Li J, Ma L, Dong T, Zhuang ZJ**Ba. The interplay of BDNF-TrkB with NMDA receptor in propofol-induced cognition dysfunction. **2018**; 18(1):1-8.
10. **Alzoubi, K, Alkadhi KJ**Brb. Levothyroxin replacement therapy restores hypothyroidism induced impairment of L-LTP induction: critical role of CREB. **2014**; 100:29-37.
11. **Balu, DT, Coyle JT.** Altered CREB Binding to Activity-Dependent Genes in Serine Racemase Deficient Mice, a Mouse Model of Schizophrenia. *ACS Chem Neurosci* **2018**; 9(9):2205-2209.
12. **Dawson, TM, Ginty DD**JNm. CREB family transcription factors inhibit neuronal suicide. **2002**; 8(5):450-451.
13. **Tao, X, Finkbeiner S, Arnold DB, Shaywitz AJ, Greenberg ME**JN. Ca<sup>2+</sup> influx regulates BDNF transcription by a CREB family transcription factor-dependent mechanism. **1998**; 20(4):709-726.
14. **Rizos, E, Michalopoulou P, Siafakas N, Stefanis N, Douzenis A, Rontos I, Laskos E, Kastania A, Zoumpourlis V, Lykouras LJN.** Association of serum brain-derived

neurotrophic factor and duration of untreated psychosis in first-episode patients with schizophrenia. **2010**; 62(2):87-90.

15. **Babic, I, Gorak A, Engel M, Sellers D, Else P, Osborne AL, Pai N, Huang X-F, Nealon J, Weston-Green KJoP.** Liraglutide prevents metabolic side-effects and improves recognition and working memory during antipsychotic treatment in rats. **2018**; 32(5):578-590.
16. **Mattson, MPJCM.** Energy intake and exercise as determinants of brain health and vulnerability to injury and disease. **2012**; 16(6):706-722.
17. **During, MJ, Cao L, Zuzga DS, Francis JS, Fitzsimons HL, Jiao X, Bland RJ, Klugmann M, Banks WA, Drucker DJ, Haile CN.** Glucagon-like peptide-1 receptor is involved in learning and neuroprotection. *Nature Medicine* **2003**; 9(9):1173-1179.
18. **Koshal, P, Kumar PJNr.** Effect of liraglutide on corneal kindling epilepsy induced depression and cognitive impairment in mice. **2016**; 41(7):1741-1750.
19. **Calsolaro, V, Edison P.** Novel GLP-1 (Glucagon-Like Peptide-1) Analogues and Insulin in the Treatment for Alzheimer's Disease and Other Neurodegenerative Diseases. *CNS Drugs* **2015**; 29(12):1023-1039.
20. **Wang, X, Wang L, Jiang R, Xu Y, Zhao X, Li YJE, medicine t.** Exendin-4 antagonizes A $\beta$ 1-42-induced attenuation of spatial learning and memory ability. **2016**; 12(5):2885-2892.
21. **Velmurugan, K, Bouchard R, Mahaffey G, Pugazhenth S.** Neuroprotective actions of Glucagon-like peptide-1 in differentiated human neuroprogenitor cells. **2012**; 123(6):919-931.
22. **Yavuz, PDR.** Şizofreni. *Türkiye'de Sık Karşılaşılan Nöropsikiyatrik Hastalıklar Sempozyum Dizisi* **2008**; 62:49-58.
23. **Beninger, RJ, Beuk J, Banasikowski TJ, van Adel M, Boivin GA, Reynolds JNBp.** Subchronic phencyclidine in rats: alterations in locomotor activity, maze performance, and GABAA receptor binding. **2010**; 21(1):1-10.
24. **Uno, Y, Coyle JT.** Glutamate hypothesis in schizophrenia. *Psychiatry and clinical neurosciences* **2019**; 73(5):204-215.
25. **Binbay, T, Ulaş H, Elbi H, Alptekin KJTPD.** Türkiye’de psikoz epidemiyolojisi: Yaygınlık tahminleri ve başvuru oranları üzerine sistematik bir gözden geçirme. **2011**; 22(1):40-52.
26. **Sadock BJ, SV.** Kaplan & Sadock Klinik Psikiyatri (Çev Ed A Bozkurt). İstanbul: Güneş Tıp Kitapevleri; **2009**.
27. **Uzbay, IT.** [New pharmacological approaches to the treatment of schizophrenia]. *Türk psikiyatri dergisi = Turkish journal of psychiatry* **2009**; 20(2):175-182.

28. **KARAKUŞ, G, KOCAL Y, Damla SJAKTD.** Şizofreni: Etyoloji, klinik özellikler ve tedavi. **2017**; 26(2):251-267.
29. **Polat, S.** Şizofreni hastaları ve kardeşlerinde düşünce bozukluğu ve aile işlevleri ile ilişkileri. Uzmanlık Tezi,Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir, **2010**.
30. **Kaidanovich-Beilin, O, Cha DS, McIntyre RSJFbr.** Crosstalk between metabolic and neuropsychiatric disorders. **2012**; 4.
31. **Usta, E, Metin Ö, Birsöz SJKPB.** Şizofreni ve Diyabet: Yeni Kuşak Antipsikotiklerin Yol Açtığı Diyabet veya Metabolik Sendrom. **2007**; 17(4).
32. **Brown, R, Colter N, Corsellis JN, Crow TJ, Frith CD, Jagoe R, Johnstone ECJAoGP.** Postmortem evidence of structural brain changes in schizophrenia: Differences in brain weight, temporal horn area, and parahippocampal gyrus compared with affective disorder. **1986**; 43(1):36-42.
33. **Mohammadi, A, Rashidi E, Amooeian VGJPR.** Brain, blood, cerebrospinal fluid, and serum biomarkers in schizophrenia. **2018**; 265:25-38.
34. **Kahn, R, Sommer IJMp.** The neurobiology and treatment of first-episode schizophrenia. **2015**; 20(1):84-97.
35. **Hof, PR, Haroutunian V, Friedrich Jr VL, Byne W, Buitron C, Perl DP, Davis KLJBp.** Loss and altered spatial distribution of oligodendrocytes in the superior frontal gyrus in schizophrenia. **2003**; 53(12):1075-1085.
36. **Schmitt, A, Steyskal C, Bernstein H-G, Schneider-Axmann T, Parlapani E, Schaeffer EL, Gattaz WF, Bogerts B, Schmitz C, Falkai PJAn.** Stereologic investigation of the posterior part of the hippocampus in schizophrenia. **2009**; 117(4):395-407.
37. **Stępnicki, P, Kondej M, Kaczor AA.** Current concepts and treatments of schizophrenia. *Molecules* **2018**; 23(8):2087.
38. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *American Journal of Psychiatry* **1991**; 148(11):1474-1486.
39. **Lau, C-I, Wang H-C, Hsu J-L, Liu M-E.** Does the dopamine hypothesis explain schizophrenia? *Reviews in the Neurosciences* **2013**; 24(4):389-400.
40. **Aghajanian, GK, Marek GJ.** Serotonin model of schizophrenia: emerging role of glutamate mechanisms. *Brain Research Reviews* **2000**; 31(2):302-312.
41. **Haberny, KA, Paule MG, Scallet AC, Sistare FD, Lester DS, Hanig JP, Slikker W, Jr.** Ontogeny of the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor system and susceptibility to neurotoxicity. *Toxicol Sci* **2002**; 68(1):9-17.
42. **Meador-woodruff, JH, Kleinman JE.** Neurochemistry of schizophrenia: glutamatergic abnormalities. **2002**.

43. **Amin, J, Salussolia C, Chan K, Regan M, Dai J, Zhou H-X, Furukawa H, Bowen M, Wollmuth L.** Divergent roles of a peripheral transmembrane segment in AMPA and NMDA receptors. *The Journal of general physiology* **2017**; 149.
44. **Paoletti, P, Bellone C, Zhou Q.** NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nature reviews Neuroscience* **2013**; 14(6):383-400.
45. **Hansen, K, Yi F, Perszyk R, Furukawa H, Wollmuth L, Gibb A, Traynelis S.** Structure, function, and allosteric modulation of NMDA receptors. *The Journal of general physiology* **2018**; 150.
46. **Swanger, SA, Vance KM, Pare J-F, Sotty F, Fog K, Smith Y, Traynelis SF.** NMDA Receptors Containing the GluN2D Subunit Control Neuronal Function in the Subthalamic Nucleus. *The Journal of Neuroscience* **2015**; 35(48):15971.
47. **Swanger, SA, Vance KM, Acker TM, Zimmerman SS, DiRaddo JO, Myers SJ, Bundgaard C, Mosley CA, Summer SL, Menaldino DS, Jensen HS, Liotta DC, Traynelis SF.** A Novel Negative Allosteric Modulator Selective for GluN2C/2D-Containing NMDA Receptors Inhibits Synaptic Transmission in Hippocampal Interneurons. *ACS Chemical Neuroscience* **2018**; 9(2):306-319.
48. **Stroebe, D, Carvalho S, Grand T, Zhu S, Paoletti P.** Controlling NMDA Receptor Subunit Composition Using Ectopic Retention Signals. *The Journal of Neuroscience* **2014**; 34(50):16630.
49. **Durand, GM, Gregor P, Zheng X, Bennett MV, Uhl GR, Zukin RS.** Cloning of an apparent splice variant of the rat N-methyl-D-aspartate receptor NMDAR1 with altered sensitivity to polyamines and activators of protein kinase C. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1992**; 89(19):9359.
50. **Hansen, KB, Ogden KK, Yuan H, Traynelis SF.** Distinct functional and pharmacological properties of Triheteromeric GluN1/GluN2A/GluN2B NMDA receptors. *Neuron* **2014**; 81(5):1084-1096.
51. **Kehoe, LA, Bernardinelli Y, Muller D.** GluN3A: an NMDA receptor subunit with exquisite properties and functions. *Neural plasticity* **2013**; 2013:145387.
52. **Atlason, PT, Garside ML, Meddows E, Whiting P, McIlhinney RA.** N-Methyl-D-aspartate (NMDA) receptor subunit NR1 forms the substrate for oligomeric assembly of the NMDA receptor. *The Journal of biological chemistry* **2007**; 282(35):25299-25307.
53. **Holtmaat, A, Svoboda K.** Experience-dependent structural synaptic plasticity in the mammalian brain. *Nature Reviews Neuroscience* **2009**; 10(9):647-658.
54. **Catts, VS, Lai YL, Weickert CS, Weickert TW, Catts SVJBp.** A quantitative review of the postmortem evidence for decreased cortical N-methyl-D-aspartate receptor expression levels in schizophrenia: How can we link molecular abnormalities to mismatch negativity deficits? **2016**; 116:57-67.

55. **Stan, A, Ghose S, Zhao C, Hulse K, Mihalakos P, Yanagi M, Morris S, Bartko J, Choi C, Tamminga CJMp.** Magnetic resonance spectroscopy and tissue protein concentrations together suggest lower glutamate signaling in dentate gyrus in schizophrenia. **2015**; 20(4):433-439.
56. **Dalmau, J, Lancaster E, Martinez-Hernandez E, Rosenfeld MR, Balice-Gordon RJTLN.** Clinical experience and laboratory investigations in patients with anti-NMDAR encephalitis. **2011**; 10(1):63-74.
57. **Fromer, M, Pocklington AJ, Kavanagh DH, Williams HJ, Dwyer S, Gormley P, Georgieva L, Rees E, Palta P, Ruderfer DMJN.** De novo mutations in schizophrenia implicate synaptic networks. **2014**; 506(7487):179-184.
58. **Ellaithy, A, Younkin J, Gonzalez-Maeso J, Logothetis DEJTin.** Positive allosteric modulators of metabotropic glutamate 2 receptors in schizophrenia treatment. **2015**; 38(8):506-516.
59. **Selvaraj, S, Arnone D, Cappai A, Howes OJN, Reviews B.** Alterations in the serotonin system in schizophrenia: a systematic review and meta-analysis of postmortem and molecular imaging studies. **2014**; 45:233-245.
60. **Akıllıoğlu, K.** Balb/c Farede Farklı Kritik "Gelişim Pencerelerinde" NMDA Reseptör Blokajının Yetişkin Dönemde Çevresel Faktörlere Bağlı Beynin Bilişsel ve Duygusal İşlevleri Üzerine Etkisi. Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana, **2010**.
61. **Alberini, CMJPr.** Transcription factors in long-term memory and synaptic plasticity. **2009**; 89(1):121-145.
62. **Ren, X, Rizavi HS, Khan MA, Bhaumik R, Dwivedi Y, Pandey GN.** Alteration of cyclic-AMP response element binding protein in the postmortem brain of subjects with bipolar disorder and schizophrenia. *Journal of affective disorders* **2014**; 152-154:326-333.
63. **Chen, G, Zou X, Watanabe H, van Deursen JM, Shen J.** CREB binding protein is required for both short-term and long-term memory formation. *J Neurosci* **2010**; 30(39):13066-13077.
64. **Hebda-Bauer, EK, Watson SJ, Akil H.** CREB deficient mice show inhibition and low activity in novel environments without changes in stress reactivity. *The European journal of neuroscience* **2004**; 20(2):503-513.
65. **Ichiki, TJA, thrombosis,, biology v.** Role of cAMP response element binding protein in cardiovascular remodeling: good, bad, or both? **2006**; 26(3):449-455.
66. **Xu, W, Kasper LH, Lerach S, Jeevan T, Brindle PK.** Individual CREB-target genes dictate usage of distinct cAMP-responsive coactivation mechanisms. **2007**; 26(12):2890-2903.
67. **Sun, L, Zhao R, Zhang L, Zhang W, He G, Yang S, Song J, Du GJBp.** Prevention of vascular smooth muscle cell proliferation and injury-induced neointimal hyperplasia by CREB-mediated p21 induction: An insight from a plant polyphenol. **2016**; 103:40-52.

68. **Wang, H, Xu J, Lazarovici P, Quirion R, Zheng W.** cAMP Response Element-Binding Protein (CREB): A Possible Signaling Molecule Link in the Pathophysiology of Schizophrenia. *Front Mol Neurosci* **2018**; 11:255.
69. **Mayr, B, Montminy MJNrMcb.** Transcriptional regulation by the phosphorylation-dependent factor CREB. **2001**; 2(8):599-609.
70. **Carlezon Jr, WA, Duman RS, Nestler EJJTin.** The many faces of CREB. **2005**; 28(8):436-445.
71. **Shi, YJC.** Serine/threonine phosphatases: mechanism through structure. **2009**; 139(3):468-484.
72. **Hagiwara, M, Alberts A, Brindle P, Meinkoth J, Feramisco J, Deng T, Karin M, Shenolikar S, Montminy MJC.** Transcriptional attenuation following cAMP induction requires PP-1-mediated dephosphorylation of CREB. **1992**; 70(1):105-113.
73. **Martinotti, G, Di Iorio G, Marini S, Ricci V, De Berardis D, Di Giannantonio M.** Nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor concentrations in schizophrenia: a review. *Journal of biological regulators and homeostatic agents* **2012**; 26(3):347-356.
74. **Nieto, R, Kukuljan M, Silva HJFip.** BDNF and schizophrenia: from neurodevelopment to neuronal plasticity, learning, and memory. **2013**; 4:45.
75. **Sasi, M, Vignoli B, Canossa M, Blum RJPA-EJoP.** Neurobiology of local and intercellular BDNF signaling. **2017**; 469(5):593-610.
76. **Hyman, C, Juhasz M, Jackson C, Wright P, Ip NY, Lindsay RMJJoN.** Overlapping and distinct actions of the neurotrophins BDNF, NT-3, and NT-4/5 on cultured dopaminergic and GABAergic neurons of the ventral mesencephalon. **1994**; 14(1):335-347.
77. **Shoval, G, Weizman AJEn.** The possible role of neurotrophins in the pathogenesis and therapy of schizophrenia. **2005**; 15(3):319-329.
78. **Lewis, DA, Hashimoto T, Volk DWJNRN.** Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. **2005**; 6(4):312-324.
79. **Pan, W, Banks WA, Fasold MB, Bluth J, Kastin AJJN.** Transport of brain-derived neurotrophic factor across the blood–brain barrier. **1998**; 37(12):1553-1561.
80. **Gama, CS, Andreazza AC, Kunz M, Berk M, Belmonte-de-Abreu PS, Kapczinski FJNI.** Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in patients with schizophrenia and bipolar disorder. **2007**; 420(1):45-48.
81. **Reis, HJ, Nicolato R, Barbosa IG, do Prado PHT, Romano-Silva MA, Teixeira ALJNL.** Increased serum levels of brain-derived neurotrophic factor in chronic institutionalized patients with schizophrenia. **2008**; 439(2):157-159.

82. **Grillo, RW, Ottoni GL, Leke R, Souza DO, Portela LV, Lara DRJJopr.** Reduced serum BDNF levels in schizophrenic patients on clozapine or typical antipsychotics. **2007**; 41(1-2):31-35.
83. **Rizos, E, Papathanasiou M, Michalopoulou P, Mazioti A, Douzenis A, Kastania A, Nikolaidou P, Laskos E, Vasilopoulou K, Lykouras LJSr.** Association of serum BDNF levels with hippocampal volumes in first psychotic episode drug-naïve schizophrenic patients. **2011**; 129(2-3):201-204.
84. **Palomino, A, Vallejo-Illarramendi A, González-Pinto A, Aldama A, González-Gómez C, Mosquera F, González-García G, Matute CJSr.** Decreased levels of plasma BDNF in first-episode schizophrenia and bipolar disorder patients. **2006**; 86(1-3):321-322.
85. **Takahashi, M, Shirakawa O, Toyooka K, Kitamura N, Hashimoto T, Maeda K, Koizumi S, Wakabayashi K, Takahashi H, Someya TJMp.** Abnormal expression of brain-derived neurotrophic factor and its receptor in the corticolimbic system of schizophrenic patients. **2000**; 5(3):293-300.
86. **Fumagalli, F, Bedogni F, Perez J, Racagni G, Riva MAJEJoN.** Corticostriatal brain-derived neurotrophic factor dysregulation in adult rats following prenatal stress. **2004**; 20(5):1348-1354.
87. **Lipska, BK, Khaing ZZ, Weickert CS, Weinberger DRJEJoN.** BDNF mRNA expression in rat hippocampus and prefrontal cortex: effects of neonatal ventral hippocampal damage and antipsychotic drugs. **2001**; 14(1):135-144.
88. **Yu, W, Zhu M, Fang H, Zhou J, Ye L, Bian W, Wang Y, Zhu H, Xiao J, Zhu HJFibn.** Risperidone reverses the downregulation of BDNF in hippocampal neurons and MK801-induced cognitive impairment in rats. **2019**:163.
89. **Valvassori, SS, Stertz L, Andreazza AC, Rosa MI, Kapczinski F, Streck EL, Quevedo JJMBD.** Lack of effect of antipsychotics on BDNF and NGF levels in hippocampus of Wistar rats. **2008**; 23(2):213-219.
90. **Pillai, AJN.** Brain-derived neurotrophic factor/TrkB signaling in the pathogenesis and novel pharmacotherapy of schizophrenia. **2008**; 16(2-3):183-193.
91. (<https://biorender.com/>) tarafından oluşturuldu. . Erişim tarihi: 28.05.2022.
92. **Park, SW, Mansur RB, Lee Y, Lee J-H, Seo MK, Choi AJ, McIntyre RS, Lee JGJFin.** Liraglutide activates mTORC1 signaling and AMPA receptors in rat hippocampal neurons under toxic conditions. **2018**; 12:756.
93. **Finkbeiner, S, Tavazoie SF, Maloratsky A, Jacobs KM, Harris KM, Greenberg MEJN.** CREB: a major mediator of neuronal neurotrophin responses. **1997**; 19(5):1031-1047.
94. **Finsterwald, C, Fiumelli H, Cardinaux J-R, Martin J-LJJoBC.** Regulation of dendritic development by BDNF requires activation of CRTC1 by glutamate. **2010**; 285(37):28587-28595.

95. **Deak, M, Clifton AD, Lucocq JM, Alessi DRJTEJ.** Mitogen-and stress-activated protein kinase-1 (MSK1) is directly activated by MAPK and SAPK2/p38, and may mediate activation of CREB. **1998**; 17(15):4426-4441.
96. **Daumas, S, Hunter CJ, Mistry RB, Morè L, Privitera L, Cooper DD, Reyskens KM, Flynn HT, Morris RG, Arthur JSCJE.** The kinase function of MSK1 regulates BDNF signaling to CREB and basal synaptic transmission, but is not required for hippocampal long-term potentiation or spatial memory. **2017**; 4(1).
97. **Jones, CA, Watson DJ, Fone KC.** Animal models of schizophrenia. *Br J Pharmacol* **2011**; 164(4):1162-1194.
98. **Canetta, S, Kellendonk C.** Can we use mice to study schizophrenia? *Philosophical transactions of the Royal Society of London Series B, Biological sciences* **2018**; 373(1742).
99. **Bilder, RM, Goldman RS, Robinson D, Reiter G, Bell L, Bates JA, Pappadopulos E, Willson DF, Alvir JMJ, Woerner MGJJoP.** Neuropsychology of first-episode schizophrenia: initial characterization and clinical correlates. **2000**; 157(4):549-559.
100. **Bora, EJPm.** Peripheral inflammatory and neurotrophic biomarkers of cognitive impairment in schizophrenia: a meta-analysis. **2019**; 49(12):1971-1979.
101. **Sams-Dodd, F.** A test of the predictive validity of animal models of schizophrenia based on phencyclidine and D-amphetamine. *Neuropsychopharmacol* **1998**; 18(4):293-304.
102. **Kalinichev, M, Robbins MJ, Hartfield EM, Maycox PR, Moore SH, Savage KM, Austin NE, Jones DN.** Comparison between intraperitoneal and subcutaneous phencyclidine administration in Sprague-Dawley rats: a locomotor activity and gene induction study. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry* **2008**; 32(2):414-422.
103. **Ünal, G.** Sıçanlarda Mk-801 İle Oluşturulmuş Şizofreni Modelinde Nikotinik Alfa-7 Reseptörlerinin Şizofreninin Pozitif, Negatif Ve Kognitif Semptomları Üzerine Olası Etkilerinin İncelenmesi. Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, **2017**.
104. **Olney, JW, Labruyere J, Price MT.** Pathological changes induced in cerebrocortical neurons by phencyclidine and related drugs. *Science* **1989**; 244(4910):1360-1362.
105. **Carlsson, A, Waters N, Holm-Waters S, Tedroff J, Nilsson M, Carlsson ML.** Interactions between monoamines, glutamate, and GABA in schizophrenia: new evidence. *Annual review of pharmacology and toxicology* **2001**; 41:237-260.
106. **Large, CH.** Do NMDA receptor antagonist models of schizophrenia predict the clinical efficacy of antipsychotic drugs? *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)* **2007**; 21(3):283-301.
107. **Zuo, DY, Zhang YH, Cao Y, Wu CF, Tanaka M, Wu YL.** Effect of acute and chronic MK-801 administration on extracellular glutamate and ascorbic acid release in the prefrontal

- cortex of freely moving mice on line with open-field behavior. *Life sciences* **2006**; 78(19):2172-2178.
108. **Kondziella, D, Brenner E, Eyjolfsson EM, Markinhuhta KR, Carlsson ML, Sonnewald U.** Glial-neuronal interactions are impaired in the schizophrenia model of repeated MK801 exposure. *Neuropsychopharmacol* **2006**; 31(9):1880-1887.
  109. **Rujescu, D, Bender A, Keck M, Hartmann AM, Ohl F, Raeder H, Giegling I, Genius J, McCarley RW, Möller HJ, Grunze H.** A pharmacological model for psychosis based on N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction: molecular, cellular, functional and behavioral abnormalities. *Biol Psychiatry* **2006**; 59(8):721-729.
  110. **Mouri, A, Noda Y, Noda A, Nakamura T, Tokura T, Yura Y, Nitta A, Furukawa H, Nabeshima T.** Involvement of a dysfunctional dopamine-D1/N-methyl-d-aspartate-NR1 and Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II pathway in the impairment of latent learning in a model of schizophrenia induced by phencyclidine. *Molecular pharmacology* **2007**; 71(6):1598-1609.
  111. **Jentsch, JD, Redmond DE, Jr., Elsworth JD, Taylor JR, Youngren KD, Roth RH.** Enduring cognitive deficits and cortical dopamine dysfunction in monkeys after long-term administration of phencyclidine. *Science* **1997**; 277(5328):953-955.
  112. **Mandillo, S, Rinaldi A, Oliverio A, Mele A.** Repeated administration of phencyclidine, amphetamine and MK-801 selectively impairs spatial learning in mice: a possible model of psychotomimetic drug-induced cognitive deficits. *Behavioural pharmacology* **2003**; 14(7):533-544.
  113. **Göksu, UA, Ünal A.** Incretin Based Therapies in Type 2 Diabetes Mellitus. *Kafkas J Med Sci* **2017**; 7(2):174-180.
  114. **Creutzfeldt, W.** The incretin concept today. *Diabetologia* **1979**; 16(2):75-85.
  115. **Çolak, R.** Tip 2 diabetes mellitus tedavisinde inkretinler. *Journal of Experimental and Clinical Medicine* **2012**; 29(1s):30-38.
  116. **Müller, TD, Finan B, Bloom SR, D'Alessio D, Drucker DJ, Flatt PR, Fritsche A, Gribble F, Grill HJ, Habener JF, Holst JJ, Langhans W, Meier JJ, Nauck MA, Perez-Tilve D, Pocai A, Reimann F, Sandoval DA, Schwartz TW, Seeley RJ, Stemmer K, Tang-Christensen M, Woods SC, DiMarchi RD, Tschöp MH.** Glucagon-like peptide 1 (GLP-1). *Molecular Metabolism* **2019**; 30:72-130.
  117. **Holst, JJ.** Glucagon-like peptide-1: From extract to agent. The Claude Bernard Lecture, 2005. *Diabetologia* **2006**; 49(2):253-260.
  118. **Schirra, J, Göke B.** The physiological role of GLP-1 in human: incretin, ileal brake or more? *Regul Pept* **2005**; 128(2):109-115.
  119. **Cabou, C, Burcelin R.** GLP-1, the gut-brain, and brain-periphery axes. *Rev Diabet Stud* **2011**; 8(3):418-431.

120. **Holst, JJ.** The physiology of glucagon-like peptide 1. *Physiol Rev* **2007**; 87(4):1409-1439.
121. **Ørskov, C, Rabenhøj L, Wettergren A, Kofod H, Holst JJJ.** Tissue and plasma concentrations of amidated and glycine-extended glucagon-like peptide I in humans. **1994**; 43(4):535-539.
122. **Drucker, DJ, Philippe J, Mojsov S, Chick WL, Habener JF.** Glucagon-like peptide I stimulates insulin gene expression and increases cyclic AMP levels in a rat islet cell line. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1987**; 84(10):3434-3438.
123. **Baggio, LL, Drucker DJ.** Biology of Incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology* **2007**; 132(6):2131-2157.
124. **Drucker, DJ.** The biology of incretin hormones. *Cell Metabolism* **2006**; 3(3):153-165.
125. **Ata, MT.** Metabolik Sendrom Oluşturulan Sıçanlarda İleal İnterpozisyonun Plazma Glukagon Like Peptit-1 (Glp-1) Düzeyi Ve Pankreas Glp-1 Reseptör Ekspresyonu Üzerine Etkisi Doktora Tezi,Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, **2020**.
126. **Plamboeck, A, Holst JJ, Carr RD, Deacon CF.** Neutral endopeptidase 24.11 and dipeptidyl peptidase IV are both mediators of the degradation of glucagon-like peptide 1 in the anaesthetised pig. *Diabetologia* **2005**; 48(9):1882-1890.
127. **Mahmud, IA.** Effect Of GLP-1 Receptor Agonist, Exercise, And High-Fat Diet On Variation In Body Weight, Blood Glucose Levels, And GLP-1 Levels In Obese-Diabetic C57BL/6J Mice. Master Thesis,International Islamic University Malaysia, **2011**.
128. **Hjøllund, KR, Deacon CF, Holst JJ.** Dipeptidyl peptidase-4 inhibition increases portal concentrations of intact glucagon-like peptide-1 (GLP-1) to a greater extent than peripheral concentrations in anaesthetised pigs. *Diabetologia* **2011**; 54(8):2206-2208.
129. **Deacon, CF, Johnsen AH, Holst JJ.** Degradation of glucagon-like peptide-1 by human plasma in vitro yields an N-terminally truncated peptide that is a major endogenous metabolite in vivo. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **1995**; 80(3):952-957.
130. **Thongtang, N, Sriwijitkamol A.** Incretins: the novel therapy of type 2 diabetes. *J Med Assoc Thai* **2008**; 91(6):943-954.
131. **Wideman, RD, Kieffer TJ.** Mining incretin hormone pathways for novel therapies. *Trends in Endocrinology & Metabolism* **2009**; 20(6):280-286.
132. **Vilsbøll, T, Krarup T, Deacon CF, Madsbad S, Holst JJ.** Reduced postprandial concentrations of intact biologically active glucagon-like peptide 1 in type 2 diabetic patients. *Diabetes* **2001**; 50(3):609-613.
133. **Vilsbøll, T, Krarup T, Sonne J, Madsbad S, Vølund A, Juul AG, Holst JJ.** Incretin secretion in relation to meal size and body weight in healthy subjects and people with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* **2003**; 88(6):2706-2713.

134. **Özaçmak, HS, Bayraktaroğlu T.** Glukagon Benzeri Peptid-1'in Sinir Sistemi Ve İştah Kontrolü Üzerine Etkileri. *Türkiye Diyabet ve Obezite Dergisi* **2017**; 1(1):1-6.
135. **Brubaker, PL, Gil-Lozano M.** Glucagon-like peptide-1: The missing link in the metabolic clock? *J Diabetes Investig* **2016**; 7 Suppl 1(Suppl 1):70-75.
136. **León, DDD, Crutchlow MF, Ham J-YN, Stoffers DA.** Role of glucagon-like peptide-1 in the pathogenesis and treatment of diabetes mellitus. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* **2006**; 38(5):845-859.
137. **Herrmann-Rinke, C, Vöge A, Hess M, Göke B.** Regulation of glucagon-like peptide-1 secretion from rat ileum by neurotransmitters and peptides. **1995**; 147(1):25.
138. **Hansen, L, Lampert S, Mineo H, Holst JJ.** Neural regulation of glucagon-like peptide-1 secretion in pigs. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* **2004**; 287(5 50-5):E939-E947.
139. **Martins, C, Robertson MD, Morgan LM.** Effects of exercise and restrained eating behaviour on appetite control. *Proceedings of the Nutrition Society* **2008**; 67(1):28-41.
140. **Kuhre, RE, Albrechtsen NW, Windeløv JA, Svendsen B, Hartmann B, Holst JJJ.** GLP-1 amidation efficiency along the length of the intestine in mice, rats and pigs and in GLP-1 secreting cell lines. **2014**; 55:52-57.
141. **Tolhurst, G, Reimann F, Gribble FMJTJop.** Nutritional regulation of glucagon-like peptide-1 secretion. **2009**; 587(1):27-32.
142. **Nielsen, LB, Ploug KB, Swift P, Ørskov C, Jansen-Olesen I, Chiarelli F, Holst JJ, Hougaard P, Pörksen S, Holl RJEJoE.** Co-localisation of the Kir6. 2/SUR1 channel complex with glucagon-like peptide-1 and glucose-dependent insulinotrophic polypeptide expression in human ileal cells and implications for glycaemic control in new onset type 1 diabetes. **2007**; 156(6):663-671.
143. **Girard, J.** The incretins: from the concept to their use in the treatment of type 2 diabetes. Part A: incretins: concept and physiological functions. *Diabetes Metab* **2008**; 34(6 Pt 1):550-559.
144. **Richards, P, Parker HE, Adriaenssens AE, Hodgson JM, Cork SC, Trapp S, Gribble FM, Reimann F.** Identification and Characterization of GLP-1 Receptor-Expressing Cells Using a New Transgenic Mouse Model. *Diabetes* **2014**; 63(4):1224-1233.
145. **Chen, J, Zhao H, Ma X, Zhang Y, Lu S, Wang Y, Zong C, Qin D, Wang Y, Yingfeng Yang Y, Wang X, Liu Y.** GLP-1/GLP-1R Signaling in Regulation of Adipocyte Differentiation and Lipogenesis. *Cellular Physiology and Biochemistry* **2017**; 42(3):1165-1176.
146. **Hansotia, T, Drucker DJ.** GIP and GLP-1 as incretin hormones: lessons from single and double incretin receptor knockout mice. *Regul Pept* **2005**; 128(2):125-134.

147. **Isacson, R, Nielsen E, Dannaes K, Bertilsson G, Patrone C, Zachrisson O, Wikström LJEjop.** The glucagon-like peptide 1 receptor agonist exendin-4 improves reference memory performance and decreases immobility in the forced swim test. **2011**; 650(1):249-255.
148. **Pyke, C, Heller RS, Kirk RK, Ørskov C, Reedtz-Runge S, Kastrup P, Hvelplund A, Bardram L, Calatayud D, Knudsen LB.** GLP-1 Receptor Localization in Monkey and Human Tissue: Novel Distribution Revealed With Extensively Validated Monoclonal Antibody. *Endocrinology* **2014**; 155(4):1280-1290.
149. **Jensen, CB, Pyke C, Rasch MG, Dahl AB, Knudsen LB, Secher A.** Characterization of the Glucagonlike Peptide-1 Receptor in Male Mouse Brain Using a Novel Antibody and In Situ Hybridization. *Endocrinology* **2017**; 159(2):665-675.
150. **Heppner, KM, Kirigiti M, Secher A, Paulsen SJ, Buckingham R, Pyke C, Knudsen LB, Vrang N, Grove KL.** Expression and Distribution of Glucagon-Like Peptide-1 Receptor mRNA, Protein and Binding in the Male Nonhuman Primate (Macaca mulatta) Brain. *Endocrinology* **2015**; 156(1):255-267.
151. **Alvarez, E, Martínez MD, Roncero I, Chowen JA, García-Cuartero B, Gispert JD, Sanz C, Vázquez P, Maldonado A, De Cáceres J, Desco M, Pozo MA, Blázquez E.** The expression of GLP-1 receptor mRNA and protein allows the effect of GLP-1 on glucose metabolism in the human hypothalamus and brainstem. *Journal of Neurochemistry* **2005**; 92(4):798-806.
152. **Silva, AM, Lopes CM, Misler S, Cooper GD, Andreani T, Souto EB.** Glucagon-like peptide 1: biochemistry, secretion and main physiological effects. **2009**.
153. **Thorens, B.** Expression cloning of the pancreatic beta cell receptor for the gluco-incretin hormone glucagon-like peptide 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1992**; 89(18):8641-8645.
154. **Holst, JJ, Gromada J.** Role of incretin hormones in the regulation of insulin secretion in diabetic and nondiabetic humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **2004**; 287(2):E199-206.
155. **Egan, JM, Bulotta A, Hui H, Perfetti R.** GLP-1 receptor agonists are growth and differentiation factors for pancreatic islet beta cells. *Diabetes Metab Res Rev* **2003**; 19(2):115-123.
156. **Drucker, DJ.** Glucagon-like peptide-1 and the islet beta-cell: augmentation of cell proliferation and inhibition of apoptosis. *Endocrinology* **2003**; 144(12):5145-5148.
157. **Müller, TD, Finan B, Clemmensen C, DiMarchi RD, Tschöp MH.** The New Biology and Pharmacology of Glucagon. *Physiol Rev* **2017**; 97(2):721-766.
158. **Drucker, DJ.** Mechanisms of Action and Therapeutic Application of Glucagon-like Peptide-1. *Cell Metabolism* **2018**; 27(4):740-756.

159. **Meier, JJ, Nauck MA.** Is the diminished incretin effect in type 2 diabetes just an epiphenomenon of impaired beta-cell function? *Diabetes* **2010**; 59(5):1117-1125.
160. **Verdich, C, Toubro S, Buemann B, Lysgård Madsen J, Juul Holst J, Astrup A.** The role of postprandial releases of insulin and incretin hormones in meal-induced satiety--effect of obesity and weight reduction. *Int J Obes Relat Metab Disord* **2001**; 25(8):1206-1214.
161. **Villanueva-Peñacarrillo, ML, Márquez L, González N, Díaz-Miguel M, Valverde I.** Effect of GLP-1 on Lipid Metabolism in Human Adipocytes. *Horm Metab Res* **2001**; 33(02):73-77.
162. **Hsieh, J, Hayashi AA, Webb J, Adeli K.** Postprandial dyslipidemia in insulin resistance: mechanisms and role of intestinal insulin sensitivity. *Atheroscler Suppl* **2008**; 9(2):7-13.
163. **Rebosio, C, Balbi M, Passalacqua M, Ricciarelli R, Fedele E.** Presynaptic GLP-1 receptors enhance the depolarization-evoked release of glutamate and GABA in the mouse cortex and hippocampus. *BioFactors* **2018**; 44(2):148-157.
164. **Alvarez, E, Roncero I, Chowen JA, Thorens B, Blázquez E.** Expression of the glucagon-like peptide-1 receptor gene in rat brain. *Journal of Neurochemistry* **1996**; 66(3):920-927.
165. **Kandel, ER.** The molecular biology of memory storage: A dialogue between genes and synapses. *Science* **2001**; 294(5544):1030-1038.
166. **Farr, OM, Sofopoulos M, Tsoukas MA, Dincer F, Thakkar B, Sahin-Efe A, Filippaios A, Bowers J, Srnka A, Gavrieli A, Ko BJ, Liakou C, Kanyuch N, Tseleni-Balafouta S, Mantzoros CS.** GLP-1 receptors exist in the parietal cortex, hypothalamus and medulla of human brains and the GLP-1 analogue liraglutide alters brain activity related to highly desirable food cues in individuals with diabetes: a crossover, randomised, placebo-controlled trial. *Diabetologia* **2016**; 59(5):954-965.
167. **Hamilton, A, Patterson S, Porter D, Gault V, Hölscher C.** Novel GLP-1 mimetics developed to treat type 2 diabetes promote progenitor cell proliferation in the brain. *J Neurosci Res* **2011**; 89:481-489.
168. **Isacson, R, Nielsen E, Danneus K, Bertilsson G, Patrone C, Zachrisson O, Wikström L.** The glucagon-like peptide 1 receptor agonist exendin-4 improves reference memory performance and decreases immobility in the forced swim test. *Eur J Pharmacol* **2011**; 650(1):249-255.
169. **Parthasarathy, V, Hölscher C.** The type 2 diabetes drug Liraglutide reduces chronic inflammation induced by irradiation in the mouse brain. *Eur J Pharmacol* **2012**; 700.
170. **Briyal, S, Shah S, Gulati A.** Neuroprotective and anti-apoptotic effects of liraglutide in the rat brain following focal cerebral ischemia. *Neuroscience* **2014**; 281:269-281.
171. **Chaves Filho, AJM, Cunha NL, de Souza AG, Soares MV-R, Jucá PM, de Queiroz T, Oliveira JVS, Valvassori SS, Barichello T, Quevedo JJPiN-P, Psychiatry B.** The GLP-1

receptor agonist liraglutide reverses mania-like alterations and memory deficits induced by D-amphetamine and augments lithium effects in mice: Relevance for bipolar disorder. **2020**; 99:109872.

172. **Erbil, D, Eren CY, Demirel C, Kucuker MU, Solaroglu I, Eser HY.** GLP-1's role in neuroprotection: a systematic review. *Brain Injury* **2019**; 33(6):734-819.
173. **Athauda, D, Foltynie TJDdt.** The glucagon-like peptide 1 (GLP) receptor as a therapeutic target in Parkinson's disease: mechanisms of action. **2016**; 21(5):802-818.
174. **Kastin, A, Akerstrom VJljo.** Entry of exendin-4 into brain is rapid but may be limited at high doses. **2003**; 27(3):313-318.
175. **Dixit, TS, Sharma AN, Lucot JB, Elased KMJP, behavior.** Antipsychotic-like effect of GLP-1 agonist liraglutide but not DPP-IV inhibitor sitagliptin in mouse model for psychosis. **2013**; 114:38-41.
176. **Ishøy, PL, Knop FK, Broberg BV, Bak N, Andersen UB, Jørgensen NR, Holst JJ, Glenthøj BY, Ebdrup BH.** Effect of GLP-1 receptor agonist treatment on body weight in obese antipsychotic-treated patients with schizophrenia: a randomized, placebo-controlled trial. *Diabetes, obesity & metabolism* **2017**; 19(2):162-171.
177. **Hunter, K, Hölscher CJBn.** Drugs developed to treat diabetes, liraglutide and lixisenatide, cross the blood brain barrier and enhance neurogenesis. **2012**; 13(1):1-6.
178. **Yan, W, Pang M, Yu Y, Gou X, Si P, Zhawatibai A, Zhang Y, Zhang M, Guo T, Yi XJLs.** The neuroprotection of liraglutide on diabetic cognitive deficits is associated with improved hippocampal synapses and inhibited neuronal apoptosis. **2019**; 231:116566.
179. **Walker, JM.** The bicinehonic acid (BCA) assay for protein quantitation. *Methods Mol Biol* **1994**; 32:5-8.
180. **Huang, T, Long M, Huo B.** Competitive Binding to Cuprous Ions of Protein and BCA in the Bicinehonic Acid Protein Assay. *Open Biomed Eng J* **2010**; 4:271-278.
181. **Stefani, MR, Moghaddam B.** Transient N-methyl-D-aspartate receptor blockade in early development causes lasting cognitive deficits relevant to schizophrenia. *Biol Psychiat* **2005**; 57(4):433-436.
182. **Xiao, X, Xu X, Li F, Xie G, Zhang TJBRB.** Anti-inflammatory treatment with  $\beta$ -asarone improves impairments in social interaction and cognition in MK-801 treated mice. **2019**; 150:150-159.
183. **Peng, Y, Xu D, Ding Y, Zhou X.** Supplementation of PQQ from pregnancy prevents MK-801-induced schizophrenia-like behaviors in mice. *Psychopharmacology* **2022**.
184. **Porter, W, Flatt P, Hölscher C, Gault VAJlJoO.** Liraglutide improves hippocampal synaptic plasticity associated with increased expression of Mash1 in ob/ob mice. **2013**; 37(5):678-684.

185. **Moreira, GV, Azevedo FF, Ribeiro LM, Santos A, Guadagnini D, Gama P, Liberti EA, Saad MJA, Carvalho CRO.** Liraglutide modulates gut microbiota and reduces NAFLD in obese mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry* **2018**; 62:143-154.
186. **Liao, T, Zhang S-L, Yuan X, Mo W-Q, Wei F, Zhao S-N, Yang W, Liu H, Rong X.** Liraglutide Lowers Body Weight Set Point in DIO Rats and its Relationship with Hypothalamic Microglia Activation. **2020**; 28(1):122-131.
187. **Li, Z, Liang Y, Xia N, Lai Y, Pan H, Zhou S, Jiang F, He Y.** Liraglutide reduces body weight by upregulation of adenylate cyclase 3. *Nutr Diabetes* **2017**; 7(5):e265-e265.
188. **Palleria, C, Leo A, Andreozzi F, Citraro R, Iannone M, Spiga R, Sesti G, Constanti A, De Sarro G, Arturi FJBbr.** Liraglutide prevents cognitive decline in a rat model of streptozotocin-induced diabetes independently from its peripheral metabolic effects. **2017**; 321:157-169.
189. **Sedky, AA, Magdy YJLS.** Reduction in TNF alpha and oxidative stress by liraglutide: Impact on ketamine-induced cognitive dysfunction and hyperlocomotion in rats. **2021**; 278:119523.
190. **Sedman, T, Krass M, Rünkorg K, Vasar E, Volke V.** Tolerance develops toward GLP-1 receptor agonists' glucose-lowering effect in mice. *Eur J Pharmacol* **2020**; 885:173443.
191. **Naseri, M-H, Hesami-Tackallou S, Torabi-Nami M, Zarrindast M-R, Nasehi MJBp.** Involvement of the CA1 GABAA receptors in MK-801-induced anxiolytic-like effects: an isobologram analysis. **2014**; 25(3):197-205.
192. **Wang, X, Luo C, Mao X-Y, Li X, Yin J-Y, Zhang W, Zhou H-H, Liu Z-QJBR.** Metformin reverses the schizophrenia-like behaviors induced by MK-801 in rats. **2019**; 1719:30-39.
193. **Linn, GS, O'Keeffe RT, Lifshitz K, Schroeder C, Javitt DC.** Behavioral effects of orally administered glycine in socially housed monkeys chronically treated with phencyclidine. *Psychopharmacology (Berl)* **2007**; 192(1):27-38.
194. **Sams-Dodd, F.** Effects of continuous D-amphetamine and phencyclidine administration on social behaviour, stereotyped behaviour, and locomotor activity in rats. *Neuropsychopharmacol* **1998**; 19(1):18-25.
195. **DellaValle, B, Brix GS, Brock B, Geji M, Rungby J, Larsen A.** Oral Administration of Sitagliptin Activates CREB and Is Neuroprotective in Murine Model of Brain Trauma. *Front Pharmacol* **2016**; 7.
196. **He, J, Zu Q, Wen CY, Liu QQ, You P, Li XM, Wang WQ.** Quetiapine Attenuates Schizophrenia-Like Behaviors and Demyelination in a MK-801-Induced Mouse Model of Schizophrenia. *Front Psychiatry* **2020**; 11.
197. **Hsiung, MH, Huang WL, Kan LY, Chen LH, Hu SS.** The facilitating effect of MK-801 on inhibitory avoidance memory via mTOR signaling in the mouse hippocampus. *Behav Brain Res* **2020**; 389:112630.

198. **Cassol, OJ, Comim CM, Constantino LS, Rosa DVF, Mango LAV, Stertz L, Kapczinski F, Romano-Silva MA, Quevedo J, Dal-Pizzol F.** Acute low dose of MK-801 prevents memory deficits without altering hippocampal DARPP-32 expression and BDNF levels in sepsis survivor rats. *J Neuroimmunol* **2011**; 230(1-2):48-51.
199. **Fang, M-s, Li X, Qian H, Zeng K, Ye M, Zhou Y-j, Li H, Wang X-c, Li YJJoHUoS, Technology.**  $\omega$ -3PUFAs prevent MK-801-induced cognitive impairment in schizophrenic rats via the CREB/BDNF/TrkB pathway. **2017**; 37(4):491-495.
200. **Carter, K, Dickerson J, Schoepp DD, Reilly M, Herring N, Williams J, Sallee FR, Sharp JW, Sharp FR.** The mGlu2/3 receptor agonist LY379268 injected into cortex or thalamus decreases neuronal injury in retrosplenial cortex produced by NMDA receptor antagonist MK-801: possible implications for psychosis. *Neuropharmacology* **2004**; 47(8):1135-1145.
201. **Thomas, DM, Kuhn DM.** MK-801 and dextromethorphan block microglial activation and protect against methamphetamine-induced neurotoxicity. *Brain Res* **2005**; 1050(1-2):190-198.
202. **De Cesare, D, Fimia GM, Sassone-Corsi P.** Signaling routes to CREM and CREB: plasticity in transcriptional activation. *Trends Biochem Sci* **1999**; 24(7):281-285.
203. **Lorrain, DS, Bacceti CS, Bristow LJ, Anderson JJ, Varney MA.** Effects of ketamine and N-methyl-D-aspartate on glutamate and dopamine release in the rat prefrontal cortex: modulation by a group II selective metabotropic glutamate receptor agonist LY379268. *Neuroscience* **2003**; 117(3):697-706.
204. **Suzuki, Y, Jodo E, Takeuchi S, Niwa S, Kayama Y.** Acute administration of phencyclidine induces tonic activation of medial prefrontal cortex neurons in freely moving rats. *Neuroscience* **2002**; 114(3):769-779.
205. **Lopez-Gil, X, Babot Z, Amargos-Bosch M, Sunol C, Artigas F, Adell A.** Clozapine and haloperidol differently suppress the MK-801-increased glutamatergic and serotonergic transmission in the medial prefrontal cortex of the rat. *Neuropsychopharmacology* **2007**; 32(10):2087-2097.
206. **Ivanov, A, Pellegrino C, Rama S, Dumalska I, Salyha Y, Ben-Ari Y, Medina I.** Opposing role of synaptic and extrasynaptic NMDA receptors in regulation of the extracellular signal-regulated kinases (ERK) activity in cultured rat hippocampal neurons. *The Journal of physiology* **2006**; 572(Pt 3):789-798.
207. **Hardingham, GE, Bading H.** Synaptic versus extrasynaptic NMDA receptor signalling: implications for neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurosci* **2010**; 11(10):682-696.
208. **Gerhard, DM, Pothula S, Liu RJ, Wu M, Li XY, Girgenti MJ, Taylor SR, Duman CH, Delpire E, Picciotto M, Wohleb ES, Duman RS.** GABA interneurons are the cellular trigger for ketamine's rapid antidepressant actions. *J Clin Invest* **2020**; 130(3):1336-1349.

209. **Kozlovsky, N, Belmaker RH, Agam G.** Low GSK-3 activity in frontal cortex of schizophrenic patients. *Schizophr Res* **2001**; 52(1-2):101-105.
210. **Kyosseva, SV.** Differential expression of mitogen-activated protein kinases and immediate early genes fos and jun in thalamus in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **2004**; 28(6):997-1006.
211. **Dwivedi, Y, Rizavi HS, Roberts RC, Conley RC, Tamminga CA, Pandey GN.** Reduced activation and expression of ERK1/2 MAP kinase in the post-mortem brain of depressed suicide subjects. *J Neurochem* **2001**; 77(3):916-928.
212. **Seo, MS, Kim SH, Ahn YM, Kim Y, Jeon WJ, Yoon SC, Roh MS, Juhnn YS, Kim YS.** The effects of repeated administrations of MK-801 on ERK and GSK-3beta signalling pathways in the rat frontal cortex. *Int J Neuropsychopharmacol* **2007**; 10(3):359-368.
213. **Sedky, AA, Magdy Y.** Reduction in TNF alpha and oxidative stress by liraglutide: Impact on ketamine-induced cognitive dysfunction and hyperlocomotion in rats. *Life Sci* **2021**; 278.
214. **Rebosio, C, Balbi M, Passalacqua M, Ricciarelli R, Fedele EJB.** Presynaptic GLP-1 receptors enhance the depolarization-evoked release of glutamate and GABA in the mouse cortex and hippocampus. **2018**; 44(2):148-157.
215. **Hansen, HH, Fabricius K, Barkholt P, Niehoff ML, Morley JE, Jelsing J, Pyke C, Knudsen LB, Farr SA, Vrang N.** The GLP-1 Receptor Agonist Liraglutide Improves Memory Function and Increases Hippocampal CA1 Neuronal Numbers in a Senescence-Accelerated Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* **2015**; 46(4):877-888.
216. **Abbas, T, Faivre E, Hölscher CJBbr.** Impairment of synaptic plasticity and memory formation in GLP-1 receptor KO mice: Interaction between type 2 diabetes and Alzheimer's disease. **2009**; 205(1):265-271.
217. **Ishøy, P, Fagerlund B, Broberg B, Bak N, Knop FK, Glenthøj BY, Ebdrup BJAPS.** No cognitive-enhancing effect of GLP-1 receptor agonism in antipsychotic-treated, obese patients with schizophrenia. **2017**; 136(1):52-62.
218. **Park, SW, Mansur RB, Lee Y, Lee JH, Seo MK, Choi AJ, McIntyre RS, Lee JG.** Liraglutide Activates mTORC1 Signaling and AMPA Receptors in Rat Hippocampal Neurons Under Toxic Conditions. *Front Neurosci-Switz* **2018**; 12.
219. **de Souza, AG, Chaves Filho AJM, Souza Oliveira JV, de Souza DAA, Lopes IS, de Carvalho MAJ, de Lima KA, Florenço Sousa FC, Mendes Vasconcelos SM, Macedo D, de França Fonteles MM.** Prevention of pentylenetetrazole-induced kindling and behavioral comorbidities in mice by levetiracetam combined with the GLP-1 agonist liraglutide: Involvement of brain antioxidant and BDNF upregulating properties. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie* **2019**; 109:429-439.