

T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA ERKEN DÖNEM SOSYAL
İZOLASYONUN NEDEN OLDUĞU DAVRANIŞ
DEĞİŞİKLİKLERİNDE TLR4/NF- κ B/GSK-3 β SİNYAL
YOLUNUN İNCELENMESİ**

Havva Nur ÖZÇETİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hale SAYAN ÖZAÇMAK

ZONGULDAK
2022

T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA ERKEN DÖNEM SOSYAL
İZOLASYONUN NEDEN OLDUĞU DAVRANIŞ
DEĞİŞİKLİKLERİNDE TLR4/NF- κ B/GSK-3 β SİNYAL
YOLUNUN İNCELENMESİ**

Havva Nur ÖZÇETİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hale SAYAN ÖZAÇMAK

ZONGULDAK
2022

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam sürecinde, bilgi ve tecrübeleriyle desteklerini esirgemeyen başta çok değerli tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Hale SAYAN ÖZAÇMAK ve Sayın Prof. Dr. Veysel Haktan ÖZAÇMAK'a ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi İnci TURAN'a en içten teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam sürecinde bilgi ve emeğini paylaşan Öğr. Görevlisi Meryem ERGENÇ'e ve Arş. Görevlisi Nazan ELMA'ya çok teşekkür ederim.

Eğitimim ve hayatım boyunca her zaman yanımda olan annem Zeynep KILIÇ'a ve tüm bu süreçte bana destek olan sevgili eşim Cemil ÖZÇETİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. (BAP No: 2019-26259946-01)

Havva Nur ÖZÇETİN
OCAK 2022, ZONGULDAK

ÖZET

Havva Nur Özçetin, Sıçanlarda Erken Dönem Sosyal İzolasyonun Neden Olduğu Davranış Değişikliklerinde TLR4/NF- κ B/GSK-3 β Sinyal Yolunun İncelenmesi, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak, 2021.

Sosyal izolasyon, diğer canlılarla olan sosyal etkileşimin eksikliğidir. Kemirgenler gibi sosyal gruplarla yaşayan canlılarda sosyal izolasyon insanlarda gözlemlenen davranış değişikliklerine benzer sonuçlar gösterir. Nöropsikiyatrik bozukluklar yaşamın erken dönemlerinde başlar ve bu dönemde sosyal izolasyon gibi bir stres faktörüne maruz kalmak beyin gelişimini olumsuz yönde etkiler.

Bu çalışmada amacımız erken dönem sosyal izolasyonun neden olduğu davranış değişikliklerinde TLR4/NF- κ B/GSK-3 β sinyal yolunun incelenmesidir. Literatürde depresyon hastalarında Toll-like reseptörler gibi doğuştan gelen bağışıklık proteinlerinin ekspresyonunda artış olduğu gösterilmiştir. Toll-like reseptör 4 beyinde ilk savunma hattını oluşturan ve adaptif bağışıklık tepkilerinin anahtar düzenleyicisidir. TLR4, bir diğer doğuştan gelen bağışıklık tepkisinde rol oynayan Nükleer Faktör kappa B'nin yoluyla mikrogial aktivasyonu tetikler. Glikojen sentaz kinaz-3 β , TLR sinyal yolunun bir düzenleyicisidir ve NF- κ B aktivitesini indükleyebilir. GSK-3 β aktivitesi ayrıca oksidatif stres artışı ile de ilişkilidir.

Çalışmamızda 18 adet erkek Wistar Albino cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar kontrol ve deney grubu olarak ayrıldı. Kontrol grubundaki sıçanlar normal koşullarda barındırılırken deney grubundaki sıçanlar 6 hafta boyunca bireysel kafeslerde izole olarak barındırıldı. Zorlu yüzme testi ile depresyon benzeri davranış, açık alan testi ile anksiyete benzeri davranış değerlendirildi. TLR4, NF- κ B, GSK-3 β düzeyleri ELISA yöntemiyle ölçüldü. Prefrontal kortekste oksidatif stres belirteci olan malondialdehit ve antioksidant indirgenmiş glutatyon düzeyleri ölçüldü. Gruplar arası istatistiksel anlamlılık Mann-Whitney U testi ile belirlendi. Davranış testleri sonunda sosyal izolasyona maruz kalan sıçanlarda anksiyete ve depresyon benzeri davranışların arttığı gözlemlendi. Sonuç olarak sosyal izolasyonun nöroinflamasyona ve oksidatif stres artışına neden olarak depresyon benzeri davranışı tetikleyebileceği bulgusuna ulaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: GSK-3 β , NF- κ B, Oksidatif stres, Sosyal izolasyon, TLR4

ABSTRACT

Havva Nur Özçetin, Investigation of TLR4/NF- κ B/GSK-3 β Signaling Pathway in Behavior Changes Caused by Early Social Isolation in Rats, Zonguldak Bülent Ecevit University, Health Sciences Institute, Department of Physiology, Master Thesis, Zonguldak, 2021.

Social isolation is the lack of social interaction with other creatures. Social isolation in animals living with social groups, such as rodents, shows similar results to behavioral changes observed in humans. Neuropsychiatric disorders begin in the early stages of life, and exposure to a stress factor such as social isolation during this period negatively affects brain development.

Our aim in this study is to examine the TLR4/NF- κ B/GSK-3 β signaling pathway in behavioral changes caused by early social isolation. In the literature, it has been shown that there is an increase in the expression of innate immune proteins such as Toll-like receptors in patients with depression. Toll-like receptor 4 is the first line of defense in the brain and is a key regulator of adaptive immune responses. TLR4 triggers microglial activation via Nuclear Factor kappa B, which plays a role in another innate immune response. Glycogen synthase kinase-3 β is a regulator of the TLR signaling pathway and can induce NF- κ B activity. GSK-3 β activity is also associated with increased oxidative stress.

In our study, 18 male Wistar Albino rats were used. Rats were divided into control and experimental groups. While the rats in the control group were housed under normal conditions, the rats in the experimental group were kept in isolation in individual cages for 6 weeks. Depression-like behavior was evaluated with the forced swimming test, and anxiety-like behavior was evaluated with the open field test. TLR4, NF- κ B, GSK-3 β levels were measured by ELISA method. The levels of malondialdehyde, which is a marker of oxidative stress, and reduced glutathione, an antioxidant, were measured in the prefrontal cortex. Statistical significance between groups was determined by the Mann-Whitney U test. At the end of behavioral tests, it was observed that anxiety and depression-like behaviors increased in rats exposed to social isolation. As a result, it has been found that social isolation can trigger depression-like behavior by causing neuroinflammation and increased oxidative stress.

Key Words: GSK-3 β , NF- κ B, Oxidative stress, Social isolation, TLR4

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
TABLO DİZİNİ	xi
ŞEKİL DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Stres ve Depresyon	2
2.1.1. Hayvanlarda stres modelleri	4
2.2. Depresyonun Beyin Üzerine Etkisi	5
2.2.1. Nöroinflamasyon	6
2.2.2. Oksidatif stres	8
3. GEREÇ VE YÖNTEM	11
3.1. Deney Hayvanları.....	11
3.2. Grupların Oluşturulması (Çalışma Yöntemi)	11
3.3. Sosyal İzolasyon Oluşturulması	11
3.4. Davranış Testleri	12
3.4.1. Zorlu yüzme testi (FST).....	12
3.4.2. Açık alan testi (OFT)	13
3.5. Doku Örneklerinin Alınması	14
3.6. TLR-4, GSK-3 β , NF- κ B Düzeylerinin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi	15
3.6.1. Fosfat tampon solüsyonun (PBS) hazırlanması	15
3.6.2. Doku homojenatlarının hazırlanması.....	15
3.6.3. TLR-4 tayini	15
3.6.4. GSK-3 β tayini	15
3.6.5. NF- κ B tayini	16
3.7. MDA ve GSH Tayini	16
3.7.1. Doku homojenatlarının hazırlanması.....	16
3.7.2. Solüsyonların hazırlanması.....	16

3.7.3. Doku lipid peroksidasyonu	17
3.7.4. İndirgenmiş glutatyon (GSH) düzeyleri	17
3.8. İstatistiksel Analiz	17
4. BULGULAR.....	18
4.1. Vücut ağırlıkları değişimi.....	18
4.2. Davranış Testleri Sonuçları	19
4.2.1. Açık alan testi sonuçları.....	19
4.2.2. Zorlu yüzme testi sonuçları.....	23
4.3. Biyokimyasal Sonuçlar.....	26
4.3.1. ELISA sonuçları	26
4.3.2. MDA-GSH düzeyleri.....	29
5. TARTIŞMA	31
6. KAYNAKLAR	36
7. EKLER.....	48
Ek 1: Etik Kurul Onayı.....	48
8. ÖZGEÇMİŞ	49

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	Santigrat derece
µl	Mikrolitre
Aβ	Amiloid-β proteini
BHT	Butil hidroksi toluen
CH ₄ N ₂ S	Tiyoüre
CuSO ₄	Bakır (II) sülfat
DNPH	2,4-Dinitrofenilhidrazin
DTNB	2- nitrobenzoik asit
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
ELISA	Enzymelinked immün sorbent assay
FST	Zorlu yüzme testi
GPX	Glutasyon peroksidaz
GSH	İndirgenmiş glutasyon
GSK-3	Glikojen sentaz kinaz-3
GSK-3β	Glikojen sentaz kinaz-3 Beta
H ₂ SO ₄	Sülfürik asit
IL-1β	İnterlökin-1 Beta
IL-6	İnterlökin-6
IκB	Inhibitory protein I-kappaB
M	Molar
MDA	Malondialdehit
N	Normal
Na ₂ HPO ₄	Disodyum Fosfat
NF-κB	Nükleer faktör kappa B
NLRP3	Nod-like receptor pyrin domain-containing 3
NO	Nitrik oksit
OFT	Açık alan testi
p	Olasılık (Anlamlılık)
PBS	Fosfat tampon solüsyon
PCA	Perklorik asit
PFC	Prefrontal korteks

PRR	Patern tanıma reseptörü
ROS	Reaktif oksijen türleri
SE	Standart hata
SI	Sosyal izolasyon
TBA	Tiyobarbitürik asit
TCA	Trikloroasetik asit
TLR	Toll-like reseptör
TLR4	Toll-like reseptör 4
TNF- α	Tümör nekroz faktörü-alfa
α	Alfa
β	Beta

TABLO DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
1. Reaktif oksijen ve nitrojen türleri.	8
2. 6 haftalık sosyal izolasyon sonrası ağırlık değişimi.....	18
3. Açık alan testi sonuçları.	19
4. Zorlu yüzme testi sonuçları.	23
5. TLR4 ELISA sonuçları.	26
6. GSK-3 β ELISA sonuçları	27
7. NF- κ B ELISA sonuçları.....	28
8. PFC dokusu MDA ve GSH değerleri.....	29

ŞEKİL DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1. Major depresyon tanısı.....	3
2. Zorlu yüzme testinde hareketsizlik.	13
3. Açık alan testi üstten görünüm.....	13
4. Açık alan testinde şahlanma hareketi.....	14
5. Açık alan testinde tımarlanma hareketi.....	14
6. 6 haftalık sosyal izolasyon sonrası ağırlık değişimi	18
7. Açık alan testinde geçilen kare sayısı.	20
8. Açık alan testinde şahlanma sayısı.....	20
9. Açık alan testinde tımarlama sayısı.....	21
10. Açık alan testinde merkezde geçirilen süre.....	22
11. Açık alan testinde dış çeperde geçirilen süre.	22
12. Zorlu yüzme testinde hareketsizlik süresi.	24
13. Zorlu yüzme testinde yüzme süresi.....	24
14. Zorlu yüzme testinde tırmanma süresi.	25
15. TLR4 ELISA sonuçları.	26
16. GSK-3 β ELISA sonuçları.	27
17. NF- κ B ELISA sonuçları.....	28
18. PFC dokusu MDA değerleri.	29
19. PFC dokusu GSH değerleri.....	30

1. GİRİŞ

Erken yaşam stresi beyin gelişimi üzerine zararlı etkilere sahiptir ve yetişkin dönemde psikolojik hastalıkların gelişimine sebep olabilir. Stresli olaylar özellikle sosyal ilişkilerdeki stres ve bunlara uzun süre maruz kalmak depresyon etiyolojisinde ana predispozan faktörler olarak kabul edilir (1, 2).

İnsan sosyal bir varlıktır. Sosyal ilişkiler zihinsel ve fiziksel sağlığın önemli bir düzenleyicisidir. Hayata olumlu bir bakış açısı ve özgüvenin sağlık üzerine iyi etkileri olduğu bilinmektedir (3, 4).

İyi bir sosyal destek allostatik yük (vücuttaki yıpranma seviyeleri) ölçümlerinde olumlu bir etki oluşturur (5). Sosyal izolasyon (SI) stresi günlük hayatı ve aktiviteleri önemli ölçüde etkiler, insanlarda morbidite ve mortalite için önemli bir risk faktörüdür (6). Yapılan bir çalışma sosyal desteği olmayan hastalarda mortalitenin daha yüksek oranlarda olduğunu göstermiştir (7). Bazı çalışmalar sosyal etkileşimin sağlığa olumlu etkilerini gelişmiş sağlık tekniklerine bağlasa da hayvanlarda yapılan deneyler bunun için yeterli bir açıklama olmadığını kanıtlamaktadır.

SI'nın beyin oksidatif ve nitrozatif stresi indüklediği ve immün yanıtı bozduğu veya inhibe ettiği gösterilmiştir (8). Nöroinflamasyonun depresyon etiyolojisi ile bağlantılı olduğu bilinmektedir (9). Kronik stres, inflamatuvar cevabın gelişimi ve apoptozun aktivasyonu yoluyla nöronların azalmasına neden olmakta ve böylece depresif benzeri davranışların gelişimi tetiklenebilmektedir (10).

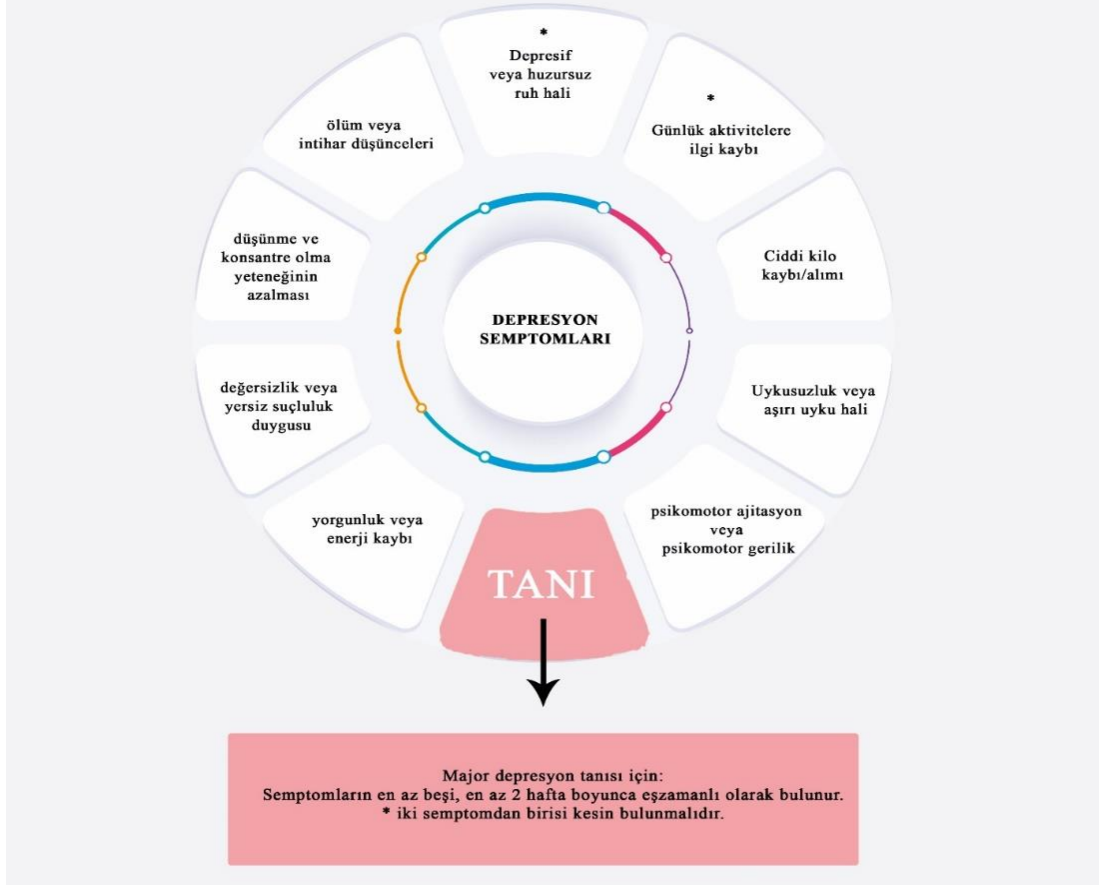
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Stres ve Depresyon

Nöropsikiyatrik bozukluklar yaşamın erken dönemlerinde başlar ve dünya genelindeki hastalık yükünün önemli bir kısmını oluşturur. Depresyon en önemli nöropsikiyatrik bozukluklardan biridir ve dünya popülasyonunun yaklaşık %20'si etkilemektedir (11). Majör depresyon, uyumsuz davranışlara yol açan duygusal, bilişsel ve fizyolojik bozukluklarla karakterize karmaşık bir psikiyatrik bozukluktur (12).

- Mental bozuklukların tanısı ve sayımsal el kitabına göre (DSM) depresyon:
 - Depresif-huzursuz ruh halinin yanı sıra,
 - Bilişsel semptomlar (suçluluk, ruminasyonlar ve intihar),
 - Duygusal semptomlar (anhedonia),
 - Homeostatik veya 'nörovejetatif' semptomlar (örneğin uyku, iştah, kilo ve enerji anormallikleri) ve
 - Psikomotor ajitasyonunu veya psikomotor gerilik içerir (Şekil 1) (13).

DSM KRİTERLERİ



Şekil 1. Major depresyon tanısı (13).

Depresyona sahip hastalar, diğer hastalara göre daha büyük bir hastalık riski altındadır; tedaviye daha kötü yanıt verirler, sakat kalma olasılıkları daha yüksektir, daha büyük bir hastalık yüküne katlanırlar ve genel olarak sağlık hizmetlerini kullanma olasılıkları daha yüksektir (14). Depresyonu olan hastaların yaklaşık %85'i aynı zamanda önemli anksiyete belirtileri yaşarken, anksiyete bozukluğu olan hastaların %90'ına varan oranda eşlik eden depresyon ortaya çıkar (15). Anksiyete bozuklukları, çocuklar ve ergenler arasında en yaygın ruh hastalıkları arasındadır ve aile, sosyal, akademik ve uyumsal işlevsellikte önemli bozulma ile ilişkilidir (16).

Sosyal ve demografik değişiklikler, modern toplumda yalnızlık ve sosyal izolasyonun yaygınlığının artmasına yol açmıştır. Yalnızlık ve sosyal izolasyon; morbidite ve mortalite için önemli bir risk faktörüdür (17-19).

2.1.1. Hayvanlarda stres modelleri

- Öğrenilmiş Çaresizlik Modeli
- Kronik Hafif Stres Modeli
- Erken Yaşam Stres Modeli
- Sosyal Stres Modeli
- Olfaktör Bulbektomi Modeli
- Farmakolojik Modeller
- Genetik Modeller

Sosyal stres modelleri (Saldırgan türdeşlere maruz kalma, sosyal izolasyon, aşırı kalabalık kafes) insanlarda depresyon ve diğer psikopatolojilerin gelişiminde rol oynamaktadır. Depresyon değerlendirilmesinde sosyal etkileşimin ölçülebilirliği kullanılmaktadır (20, 21).

2.1.1.1. Sosyal izolasyon stresi

SI, sosyal canlıların diğer canlılarla tamamen veya sınırlı temas eksikliğini ifade eder. SI, bireysel gelişim ve büyümenin yanı sıra fiziksel ve zihinsel sağlığa da zararlıdır (22). Kemirgenlerde SI modeli, erken yaşam stresi olan insanlarda gözlemlenenlere benzer birkaç davranışsal sonuç ürettiği için genellikle insanlardaki psikolojik stres faktörleriyle karşılaştırılan gelişimsel bir manipülasyondur (23). Sosyal türlerde izolasyonun tetiklediği fizyolojik değişiklikler, yalnızlıkla karşılaşan insanların yaşadıklarını yansıtır (24). 1918'de Sigmund Freud, "bir yetişkindeki her nevrozun, çocukluğunda meydana gelen bir nevroz üzerine kurulduğunu" söyleyerek, yaşamın erken evrelerinde karşılaşılan olumsuzlukların yetişkin fenotipini etkilediğini öne sürdü (25).

Birçok çalışma kemirgenlerde sosyal izolasyonun anksiyete ve depresyon benzeri davranışa neden olduğunu, stres altındaki hayvanlarda aktivite azalması ve anksiyetik davranış gözlemlendiğini ortaya koymuştur (26, 27).

Erken yaşam stresinin primatlarda etkilerini inceleyen bir çalışmada anneden ayrılan primat yavrularında nöroendokrin ve kalıcı davranışsal değişikliklerin olduğu belirlenmiştir. Maternal yokluk primatların hareket ve oyun davranışında azalma, su

ve yemek tüketiminde düşme ve sosyal etkileşimde azalmaya neden olmuştur. Bu davranış değişiklikleri antidepresan tedavisi ile ortadan kaldırılmıştır (28).

Sıçan yavrularında ise tekrarlayan kısa süreli maternal yokluğun yetişkinlikte strese dayanıklılığı arttırdığı ama uzun süreli ayrılıkların kalıcı olarak anksiyetik davranışa neden olduğunu ortaya koymuştur (29).

Sosyal yenilgiye uğramış fareler açık alan testi ve zorlu yüzme testinde katatonik immobilizasyon ve gelişmiş anksiyete benzeri davranış sergilemişlerdir. Depresyon modeli uygulanan ratlarda FST yapıldığında yüzme ve tırmanma süresi azalmıştır (30, 31).

2.2. Depresyonun Beyin Üzerine Etkisi

Beyin genetik ve çevresel faktörlerin etkisi altında olan hayati bir organdır. Stres beyin üzerinde negatif etkilere sahiptir. Stres ile en çok etkilenen bölgelerin başında korteks ve hipokampüsteki duygu kontrol alanları yer alır (32).

Duygusal tepkinin oluşumundan sorumlu anahtar beyin yapılarından biri olan hipokampus, çeşitli eksojen ve ayrıca endojen stresörlere karşı özellikle hassastır ve bu nedenle yapısında ve işlevindeki değişiklikler duygudurum bozukluklarının gelişimi için çok önemlidir (33).

Yapılan birçok araştırma erken yaşam stresine maruz kalan deneklerin beyinlerinde nöroplastik değişikliklerin ve sinaptik nörotransmisyonu etkileyen reseptörlerin yapısında ve fonksiyonunda bozuklukların ortaya çıktığı bu durumun da yetişkin dönemde davranış bozukluklarına neden olduğunu kanıtlamıştır. Tekrarlanan ve kronik sosyal stres, proinflamatuvar gen ekspresyonuna ve oksidatif strese yol açar.

Sosyal izolasyonun neden olduğu oksidatif stresin nitrik oksit (NO) üretimindeki artış ile endojen bir antioksidan olan beyin glutatyon içeriğinin tükenmesinden kaynaklandığı bildirilmektedir (34). Mikroglialar beyinde önemli homeostatik işlevleri yerine getirir, ancak beyin iskemisi de dahil olmak üzere nöronal hasara cevaben hızlı bir şekilde aktive olur. Aktif mikroglia pro-inflamatuar sitokinleri salgılayabilir ve reaktif oksijen türleri üretebilir. Genel olarak, iskemi sonrası artan nöroinflamasyon, artan hücre ölümü ve daha kötü nörolojik sonuçlarla ilişkilidir (35).

2.2.1. Nöroinflamasyon

Nöroinflamasyon, depresyon, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı, multipl skleroz gibi birçok nörodejeneratif ve psikolojik hastalığın patogenezinde rol oynayan bir etkidir (36-40). Depresyon hastalarının ölüm sonrası incelenmesinde interlekin-1 beta (IL-1 β), interlekin-6 (IL-6), tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), Toll-like reseptör 3 (TLR3) ve Toll-like reseptör 4 (TLR4) dahil olmak üzere çeşitli doğuştan gelen bağışıklık genlerinin ve proteinlerinin ekspresyonunda artış saptanmıştır (41, 42). Patern tanıma reseptörleri (PRR), patojene özgü proteinlerin tanınması ve hasarla ilişkili proteinlerin tanınması yoluyla doğuştan gelen bağışıklık tepkisinde bütünleyici bir rol oynar. Membrana bağlı PRR sınıfı olan Toll-like reseptörler (TLR), inflamatuvar sitokinlerin ve tip I interferonların indüklenmesi yoluyla patojenik mikrobiyal enfeksiyona karşı savunmada çok önemli bir rol oynar. Esas olarak beyindeki glial hücreler, makrofajlar ve oligodendrositler tarafından eksprese edilirler (43, 44).

TLR'ler, milyonlarca yıllık evrim boyunca korunmuş ve hem omurgalı hem de omurgasız türlerinde bulunan eski bir reseptör ailesidir. Beyinde ilk savunma hattını oluşturur (45, 46). TLR'ler de dahil olmak üzere doğuştan gelen bağışıklık yolları, artık B ve T lenfositleri tarafından adaptif bağışıklık tepkilerinin anahtar düzenleyicileri olarak kabul edilmektedir. TLR4 bir PRR olarak nöroinflamasyonda hayati bir rol oynamaktadır. Nöroinflamasyon ise psikiyatrik bozuklukların ana nedenlerinden biridir. TLR4 ekspresyonunun düzenlenmesi, mikrogial aktivasyonu ve nöroinflamasyonu hafifleterek nörokoruyucu bir etki sağlar. TLR4'ün, Nükleer faktör kappa B (NF- κ B) yolu aracılığıyla mikrogial aktivasyonu indüklediği bildirilmiştir (44, 45).

NF- κ B, başlangıçta 1986 yılında Sen ve Baltimore tarafından immünoglobulin κ hafif zincir geninin geliştiricisine bağlanan bir transkripsiyon faktörü ailesi olarak tanımlandı (48). NF- κ B, B lenfositlerinin gelişimi, hayatta kalması ve aktivasyonunda kritik roller oynar. NF- κ B transkripsiyon faktörleri ailesi, inflamasyon ve doğuştan gelen bağışıklıkta önemli bir role sahiptir (49). Yapılan çalışmalar inflamasyonun depresyondaki rolünü kanıtlamaktadır. NF- κ B, proinflamatuvar sitokinlerin artışına yol açar. NF- κ B'nin aktivasyonu stresörler tarafından aktive edilen periferik kandaki anahtar inflamatuvar yolaklardır.

Hepatektomi uygulanan sıçanlarda enfeksiyon oluşumunu inceleyen bir çalışmada sıçanlarda TLR4 ekspresyonunun arttığı buna bağlı olarak NF- κ B aktivasyonunun arttığı saptanmıştır (50). NF- κ B'nin stres sırasında hipokampus ve frontal kortekste IL-1 β ve TNF- α ekspresyonunu arttırdığı ve depresyon ile yakından ilişkili olan hipokampüste nörojenezi düzenlediğini açıkça göstermiştir (51, 52).

Glikojen sentaz kinaz-3 (GSK-3), çoğu dokuda eksprese edilen ve iki farklı gen tarafından kodlanan GSK-3 α (51 KDa) ve GSK-3 β (47 KDa) adlı iki izoform halinde bulunan bir serin/treoninkinazdır (53). GSK-3 ilk olarak kasta glikojen metabolizmasının kontrolünde rol oynayan bir enzim olarak tanımlanmıştır (54). Ancak daha sonraki birçok çalışma GSK-3'ün nörodejenerasyon ve hafıza oluşumunda kritik bir rolü olan çok işlevli bir kinaz olduğunu ortaya koydu. GSK-3, büyüme faktörü stimülasyonunun yokluğunda aktiftir ve genellikle apoptozun indüklenmesinde veya hücre proliferasyonunun inhibe edilmesinde rol oynar (55, 56). GSK3, inflamatuvar moleküllerin üretimini ve hücre göçünü desteklerken, deneysel modellerde GSK3 inhibisyonu hayvan modellerinde inflamatuvar koşullardan koruma sağlar (57). Glikojen sentaz kinaz-3 β (GSK-3 β) depresyon dahil olmak üzere birçok psikolojik hastalığın gelişmesinde etkilidir (58- 60). Ayrıca GSK3'ün aktivitesindeki değişiklikler, diyabet, Alzheimer hastalığı, hemorajik şok ve sepsis dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların patogeneğinde yer almıştır (57, 61, 62). GSK-3 β proinflamatuvar bağışıklık tepkileri için önemli bir transkripsiyon faktörü olan NF- κ B aktivitesini indüklemeye yeteneğine sahiptir. Aşırı inflamatuvar yanıtlara aracılık eden TLR sinyalinin önemli bir düzenleyicisi olarak da bilinmektedir (63). GSK-3 tarafından düzenlenen genlerin %75'inin yukarı akış bölgelerinde NF- κ B bağlanma bölgeleri vardır. (56). GSK-3 β 'nin hücre ölümünü desteklediği ve GSK-3 β 'nin inhibisyonunun, oksidatif stres neden olan çeşitli streslere karşı hayatta kalma mekanizması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (64).

Bir çalışmada antidepresan tedavinin inflamasyonla ilişkili olduğu bilinen GSK-3 β /NF- κ B/NLRP3 sinyal yolunun aktivasyonunu inhibe ettiği ve bu sayede nöronal olgunlaşmayı desteklemek ve nöronları apoptozdan kurtarmak gibi nöroprotektif etkiler oluşturduğu kanıtlanmıştır (10).

2.2.2. Oksidatif stres

Antioksidan ve oksidanların dengesi sağlıklı bir yaşam için kritik bir öneme sahiptir. Oksidatif stres, karşı koyan antioksidan yanıt sisteminin yetersizliğinden kaynaklanan aşırı serbest radikal üretimi ile oluşur. İnsan beyni vücut ağırlığının sadece %2'sini oluşturmalarına rağmen solunum sistemi tarafından sağlanan oksijenin yaklaşık %20'sini tüketir. Yüksek oksijen tüketimi ve lipid açısından zengin içeriği ile beyin, oksidatif stresten en çok etkilenen organlardan biridir (65- 69).

Memeli merkezi sinir sisteminde, reaktif oksijen türlerinin (ROS) mitokondrilerden üretildiği 1960larda ortaya koyulmuştur (Tablo 1). Düşük konsantrasyonlarda ROS, hücre içi sinyalleşme ve patojenlere karşı savunmada vazgeçilmez bir role sahiptir. Fakat yüksek miktarlarda ROS, birçok hastalığın patofizyolojisinde yer alır (70-72).

ROS antioksidan savunmalarla dengelenir. Fakat patolojik durumlarda, yaşlanmada ve stres durumlarında ROS üretimi artar. Büyük miktarlarda ROS biriktiğinde, antioksidan mekanizmalar yetersiz kalır ve oksidatif hücresel stres meydana gelebilir (73, 74).

Tablo 1. Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri.

Nonradikal reaktif türler	Serbest radikaller
Hidrojen peroksit (H_2O_2)	Süperoksit (O_2^-)
Ozon (O_3)	Hidroksil (OH^-)
Singlet oksijen (1O_2)	Peroksil (RO_2^-)
Hipokloröz asit ($HOCl$)	Hidroperoksil (HRO_2^-)
Nitrik asit (HNO_2)	Nitrik oksit (NO^-)
Peroksinitrit ($ONOO^-$)	Nitrojen dioksit (NO_2^-)
Dinitrojen trioksit (N_2O_3)	
Lipit peroksit ($LOOH$)	

Farklı ROS türlerinin temizlenmesi enzimatik olmayan veya enzimatik antioksidanlar tarafından sağlanır. Enzimatik olmayan moleküller arasında glutatyon, flavonoidler, A, C ve E vitamini bulunur. Enzimatik antioksidanlar arasında süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit redüktaz, katalaz, glutatyon peroksidaz (GPX), glutatyon

redüktaz, peroksiredoksin (PRX) ve tioredoksin (TRX) bulunur. Antioksidanlar, oksidatif hasarı önleyerek süperoksit radikali (O_2^-) ve hidrojen peroksitin (H_2O_2)'nin parçalanmasında önemli bir role sahiptir (75).

Lipid peroksidasyonu: Canlı hücrelerde lipid peroksidasyonu, temel yapısal proteinlerde ve enzimlerde meydana gelen yapısal hasar ile ilişkilidir. Lipidler hücre zarının ana bileşenidir ve hücrelerin yapısal bütünlüğünü korumada önemli rolleri vardır. Lipidlerin aşırı oksidasyonu, hücre zarlarının yapısına ve işlevine belirgin hasar verir. Fosfolipidlerde bulunan çoklu doymamış yağ asitleri genellikle lipid peroksidasyonu için hedeflerdir. Lipid peroksidasyonu sürecinde, belirli fosfolipidlerde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin miktarının eş zamanlı olarak in vivo ve in vitro azaldığı bilinmektedir. Lipidler, özellikle çoklu doymamış olanlar oksidasyona eğilimlidir. Malondialdehit (MDA), tiyobarbitürik asit reaktif maddelerin (TBARS) prototipidir. Malondialdehitin kırmızı bir pigment verecek şekilde tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girdiği bilinmektedir. Lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA düzeyleri bu kırmızı rengin şiddeti spektrofotometrik yöntemle ölçülerek belirlenir (76, 80).

İndirgenmiş glutatyon: Glutatyon, oksidatif strese karşı başlıca hücre içi antioksidan tampondur ve esas olarak indirgenmiş glutatyon (GSH) ve oksitlenmiş glutatyon (GSSG) formlarında bulunur. Glutatyon (γ -L-glutamyl-L-cysteinylglycine), endojen bir antioksidan, bir ksenobiyotik detoksilyacı olarak işlev gören ve metabolik düzenlemede yer alan bir tri-peptiddir. GSH, aerobik hücrelerde en bol bulunan antioksidandır. Reaktif oksijen ve nitrojen türleri, hücresel glutatyonu oksitleyebilir veya hücre içi redoks homeostazının kaybına neden olur. GSH seviyelerindeki değişiklikler Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı başta olmak üzere amiotrofik lateral skleroz, şizofreni ve kronik yorgunluk sendromu gibi birçok hastalığın patofizyolojisinde yer alır. 2-nitrobenzoik asit (DTNB) ile girdiği reaksiyondan sarı renkli bir pigment oluşturur. GSH düzeyleri bu sarı rengin şiddeti spektrofotometrik yöntemle ölçülerek belirlenir (81- 83).

Sosyal izolasyon oksidatif strese karşı savunmanın azalmasına neden olur. Kronik stres anormal mitokondriyal biyogenez, solunum zinciri disfonksiyonu, azalmış ATP üretimi, artan ROS üretimi, lipid peroksidasyonu, mitokondriyal ve nükleer DNA hasarı, artmış hücre apoptozuna ve nekroza yol açabilir (84). Sekiz haftalık sosyal izolasyonun PFC'de lipid peroksidasyonunu artırırken, süperoksit dismutaz enzimi ile glutatyon miktarında azalmaya neden olduğu saptanmıştır (85).

Sosyal olarak izole edilmiş hayvanlarda oksidatif stres hem beyinde hem de periferik dokularda gözlenmiştir (86).

Farelerde 6-8 haftalık SI, nitrik oksit üretimini artırarak ve endojen bir antioksidan olan beyin glutatyon içeriğini tüketerek beyinde oksidatif hasarı indüklediği bilinmektedir (87). Başka bir çalışma sekiz haftalık sosyal izolasyonun, antioksidan enzimler olan katalaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz üretimini ve toplam antioksidan kapasitesini azalttığını ancak PFC ve hipokampus bölgelerinde hidrojen peroksit seviyelerini arttırdığını bildirmiştir. Ayrıca, kronik SI stresi, sıçanların PFC ve serebellumundaki GPx'in aktivitesini azalttığı bilinmektedir (23). Birçok çalışma sosyal izolasyon stresinin beyin dokusunda ve karaciğerde GSH seviyesini düşürdüğünü göstermiştir (88, 89).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 04.10.2019 tarihli ve 2019/32 (08) numaralı onayı ile çalışmamız gerçekleştirilmiştir (Ek-1). Çalışma Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2019-26259946-01 nolu proje ile desteklenmiştir.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen doğum sonrası 21 günlük 18 adet erkek Wistar Albino sıçan kullanılmıştır. Denekler Eurostandart Tıp- IV tip kafeslerde gruplar halinde barındırıldı. Denekler 12 saat aydınlık 12 saat karanlık sirkadiyen ritimde, sıcaklığın 20-25 °C ve nispi nemin %50-60 olduğu ortamda tutulmuşlardır. Sıçanların aynı bakım koşullarında günlük değiştirilen taze musluk suyu ve standart sıçan pelet yem ile beslenmeleri sağlanmıştır.

3.2. Grupların Oluşturulması (Çalışma Yöntemi)

Çalışmada kullanılacak sıçanlar doğumdan 21 gün sonra rastgele 2 gruba ayrılarak barındırılmıştır:

1. Bireysel kafeslerde barındırılan sosyal izolasyon grubu (n:10) (1 kafeste 1 hayvan)
2. Grup halinde barındırılan sıçanlar (4 sıçan / 1 kafes) (n:8) olacak şekilde 2 gruba ayrıldı.

3.3. Sosyal İzolasyon Oluşturulması

Sosyal izolasyon grubuna seçilen sıçanlar her kafeste bir sıçan olacak şekilde kafeslere yerleştirildi ve kafesler başka bir odaya taşındı. Kafeslerin dışı kaplandı. Sosyal izolasyon 6 hafta sürdü. Bu süreç sıçanların birbirini görmeleri, koklamaları ve fiziksel temas kurmalarını engelledi. Hayvanların vücut ağırlıkları 6 haftalık sosyal izolasyon süresi sonrasında ölçüldü.

3.4. Davranış Testleri

Davranış testleri, standart aydınlatma ve sıcaklık kontrollü bir ortamda saat 10:00 ile 16:00 arasında yapıldı.

3.4.1. Zorlu yüzme testi (FST)

Zorlu yüzme testi (FST) 1977 yılında Porsolt, Lepichon ve Jalfre'nin geliştirdiği bir davranış testidir (90). Porsolt zorunlu yüzme testi adıyla da bilinen bu test yeni antidepresanları araştırmak amacıyla geliştirilen bir davranış testidir. Metot, sıçanın, kaçma imkânı olmadan yüzmeye zorlandığında, ilk kaçış (yüzme ve tırmanma) çabasının ardından tamamen hareketsiz kaldığı ve sadece kafasını su üstünde tutacak kadar efor sarfetmesi esasına dayanır. Bu izlemesi ve gözlemlenmesi kolay davranışsal hareketsizlik durumu, hayvan kaçışın imkansız olduğunu ve vazgeçtiğini fark etmesi “davranışsal umutsuzluk” olarak tanımlanmaktadır.

Bu yöntemin temel avantajları, uygulanmasının nispeten kolay olması ve sonuçlarının kolay ve hızlı bir şekilde analiz edilebilmesidir. Sosyal temas eksikliği ve kaçınma davranışı insanlarda depresyon etiyolojisi ile ilişkilidir. Bu nedenle Porsolt zorlu yüzme testi olarak da bilinen bu testte sıçanların davranışsal umutsuzluk ile eşleştirilen hareketsiz kalma durumunun varlığına bakılmıştır. Hareketsiz kalma süresi depresyon benzeri davranışı göstermektedir (91, 92).

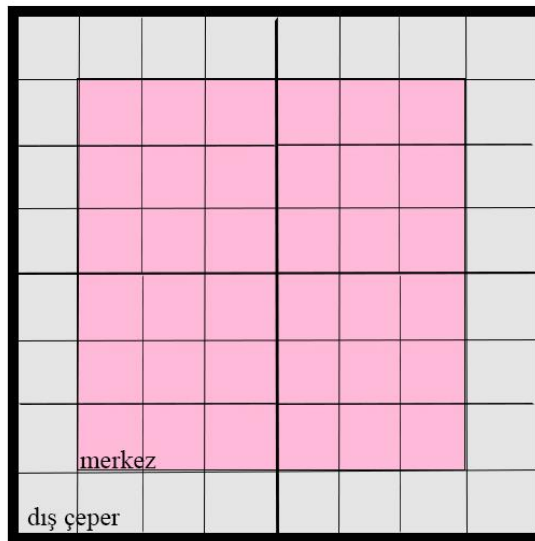
45 cm yükseklik x 20 cm çapında şeffaf, dayanıklı camdan yapılan tankların 30 cm'lik kısmına kadar sıcaklığı 22 ± 1 °C su dolduruldu. Hayvanların strese girmemesi ve ışık ve sestten uzak olması için sessiz bir oda seçildi. Test uygulaması yapılırken diğer hayvanların görmemesi için önlerine bariyer yerleştirildi. FST uygulaması yapılırken video kaydı alındı. Test 2 aşamadan oluşmaktadır: Pretest aşamasında denekler suyun içinde 15 dk boyunca bırakıldı ve alışmaları sağlandı. Testin ikinci aşaması 24 saat sonra yapıldı. Test aşamasında sıçanlar suya tekrar 5 dk boyunca bırakılarak immobilité, tırmanma ve yüzme süreleri video ile kaydedildi. Deneklerin sadece başları yukarıda kalacak şekilde hareketsiz kalmaları immobilité olarak değerlendirildi. Hayvan testten sonra sudan çıkarılıp havlu ile kurulanıp sıcak bir ortamda kuruması için bırakıldı.



Şekil 2. Zorlu yüzme testinde hareketsizlik.

3.4.2. Açık alan testi (OFT)

Açık alan testi kemirgenlerde lökomotor aktiviteyi ve anksiyete benzeri davranışları ölçmekte kullanılan bir davranış testidir (Şekil 3). 8x8 64 kareye bölünmüş alanın merkezine sıçanlar 5 dakika boyunca bırakıldı ve bu süre içerisinde; geçilen kare sayısı, şahlanma sayısı, tımarlanma sayısı, merkezde kalma süresi ve dış karelerde kalma süresi hesaplandı. Her deneyin bitiminde aparat alkol çözeltisi ile temizlendi. Sıçanların yaptığı şahlanma ve tımarlanma hareketi Şekil 4 ve Şekil 5’te verilmiştir.



Şekil 3. Açık alan testi üstten görünüm



Şekil 4. Açık alan testinde şahlanma hareketi



Şekil 5. Açık alan testinde tımarlanma hareketi

3.5. Doku Örneklerinin Alınması

Davranış testlerinin ardından tüm sıçanlara intraperitoneal yolla yüksek dozda anestezi verilerek feda edildi. Beyin dokuları çıkarılarak prefrontal korteksler izole edildi. Alınan dokular -80 °C'lik derin dondurucuda saklandı.

3.6. TLR-4, GSK-3 β , NF- κ B Düzeylerinin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi

3.6.1. Fosfat tampon solüsyonun (PBS) hazırlanması

0,8g NaCl (Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany), 0,02g KCl (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, US), 0,144g Na₂HPO₄ (Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany) ve 0,024g KH₂PO₄ (Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany) balon jojeye alındı ve hacmi 100ml'ye tamamlanarak çözünmesi sağlandı. Son olarak 1N HCl eklenerek pH'sı 7.2-7.4'e sabitlendi.

3.6.2. Doku homojenatlarının hazırlanması

- 80 °C saklanan doku örnekleri çıkarılarak buz üzerinde çözünmesi sağlandı ve ağırlıkları kaydedildi. Ağırlıklarının 20 katı PBS eklenerek mekanik homojenizatör ile homojenize edildi. Homojenatlar 2-8 °C'de 3000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi. TLR-4, GSK-3 β , NF- κ B düzeyleri enzimelinked immün sorbent assay (ELISA) yöntemi ile ticari kit kullanılarak gerçekleştirildi.

3.6.3. TLR-4 tayini

TLR-4 tayini ELISA kiti (Shanghai sunredbio (SRB) Technology Co.,Ltd, Çin, katalog no: 201-11-0081) kullanılarak ölçüldü. Kitin kullanım kılavuzuna uygun olarak standartlar hazırlandı ve ölçüm işlemleri kılavuz referans alınarak yapıldı. Plate ELISA cihazında 450nm dalga boyunda okutularak ölçüm yapıldı. Sonuçlar standart TLR-4 eğrisine göre ng/ml olarak değerlendirildi.

3.6.4. GSK-3 β tayini

GSK-3 β tayini ELISA kiti (Shanghai sunredbio (SRB) Technology Co.,Ltd, Çin, katalog no: 201-11-2686) kullanılarak ölçüldü. Kitin kullanım kılavuzuna uygun olarak standartlar hazırlandı ve ölçüm işlemleri kılavuz referans alınarak yapıldı. Plate ELISA cihazında 450nm dalga boyunda okutularak ölçüm yapıldı. Sonuçlar standart GSK-3 β eğrisine göre ng/ml olarak değerlendirildi.

3.6.5. NF-κB tayini

NF-κB tayini ELISA kiti (Shanghai sunredbio (SRB) Technology Co.,Ltd, Çin, katalog no: 201-11-0288) kullanılarak ölçüldü. Kitin kullanım kılavuzuna uygun olarak standartlar hazırlandı ve ölçüm işlemleri kılavuz referans alınarak yapıldı. Plate ELISA cihazında 450nm dalga boyunda okutularak ölçüm yapıldı. Sonuçlar standart NF-κB eğrisine göre ng/ml olarak değerlendirildi.

3.7. MDA ve GSH Tayini

3.7.1. Doku homojenatlarının hazırlanması

-80 C’de saklanan dokulardan örnekler alındı ve ağırlıkları tartılarak kaydedildi. 9 kat TCA ile mekanik homojenizatör kullanılarak homojenize edildi. 18-20 C’de 15 dakika 4000rpm’de santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi. 1,5ml süpernatant santrifüj tüplerinde 18-20 °C’de 8 dakika 4000rpm’de santrifüj edildi.

3.7.2. Solüsyonların hazırlanması

BHT (Butil Hidroksi Toluen): 1 g Butil Hidroksi Toluen tolüen %95 etanol kullanılarak 100ml’ye tamamlandı ve çözündürüldü.

TBA (Tiyobarbitürik Asit): 0,67 g Tiyobarbitürik Asit distile su ile 100 ml’ye tamamlandı ve çözündürüldü.

TCA (Trikloroasetik Asit): 10g Trikloroasetik Asit distile su ile 100 ml’ye tamamlandı ve çözündürüldü.

0,3M Na₂HPO₄ (Disodyum Fosfat): 2 sulu 5,337g disodyum fosfat distile su ile 100 ml’ye tamamlandı ve çözündürüldü.

DTNB (2- nitrobenzoik asit): 40mg DTNB %1’lik 100 ml Na-sitratta çözündürülür.

3.7.3. Doku lipid peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonunun göstergesi olan Malondialdehit (MDA) seviyesi Casini ve ark.'nın metoduna göre ölçüldü (93). 750 µl süpernatant üzerine 750 µl TBA ve son olarak 10 µl %1'lik BHT eklendi. 15 dakika 100 °C'de kaynatıldı. Kaynatma işleminden sonra 18-20 °C'de 8 dakika 4000rpm'de santrifüj edildi. Örnek spektrofotometrik yöntemle 535nm'de okundu.

3.7.4. İndirgenmiş glutatyon (GSH) düzeyleri

GSH düzeyleri Aykac ve ark.'nın yöntemine göre ölçüldü (94). 250 µl süpernatant üzerine ml 0,3M Disodyum Fosfat (Na_2HPO_4) eklendi. Üzerine 125 µl 2-nitrobenzoik asit (DTNB) eklendi. Örnekler vortekslendi ve nitro benzoik asidin oluşturduğu kuvvetli sarı rengin şiddeti spektrofotometrik yöntemle 412 nm'de okundu.

3.8. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler, SPSS 22 istatistik paket programı kullanılarak değerlendirildi. Deney parametreleri ortalama $\pm$ standart hata (SE) olarak verilmiştir. Gruplar arası farklılıklar Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. Sonuçlara ait p değeri 0.05'den küçük olduğu durumlarda değerler istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

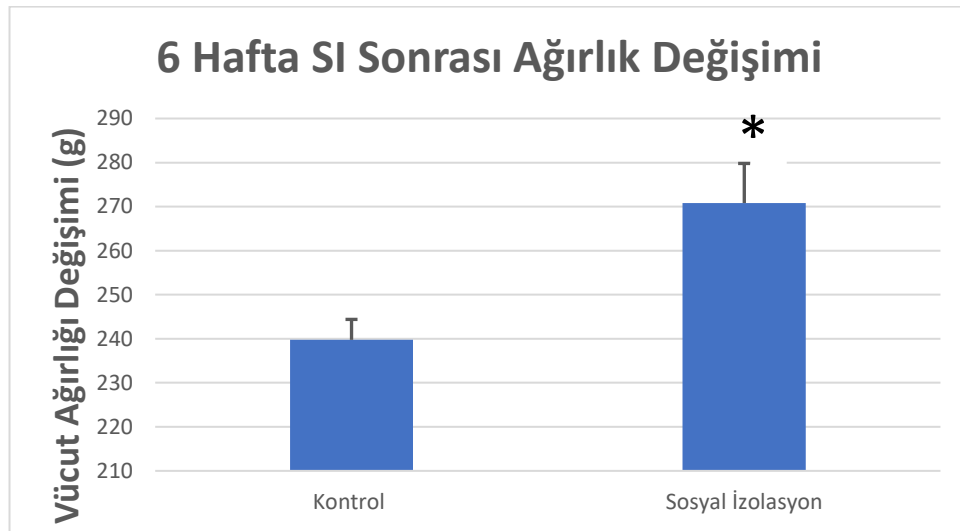
4.1. Vücut ağırlıkları değişimi

6 haftalık SI sonrası ağırlık değişimi Tablo 2 ve Şekil 6'da verilmiştir. SI sonrası vücut ağırlıkları değişimi ölçümlerinde SI grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde artış saptanmıştır.

Tablo 2. 6 Haftalık Sosyal İzolasyon Sonrası Ağırlık Değişimi

	Kontrol	Sosyal izolasyon
Vücut Ağırlıkları Değişimi (g)	239.75±4.64	270.80*±9

Sonuçlar ortalama $\pm$ SE olarak verilmiştir. $p < 0.05$ olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir.



Şekil 6. 6 haftalık sosyal izolasyon sonrası ağırlık değişimi.

Sonuçlar ortalama $\pm$ SE olarak verilmiştir. $p < 0.05$ olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir ($p=0.016$).

4.2. Davranış Testleri Sonuçları

4.2.1. Açık alan testi sonuçları

Geçilen kare sayısı, şahlanma sayısı, tımarlama hareketi sayısı, merkezde geçirilen süre ve dış çeperde geçirilen süre verilerinin ortalamaları Tablo 2’de verilmiştir. Geçilen kare sayısı, sosyal izolasyon grubunda kontrol grubuna göre artmış olarak saptandı. Sosyal izolasyon grubunda merkezde geçirilen süre azalırken, dış çeperde geçirilen süre kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde artmış olarak bulunmuştur ($p<0.05$). Şahlanma sayısı ve tımarlama hareketi sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamıştır ($p> 0.05$).

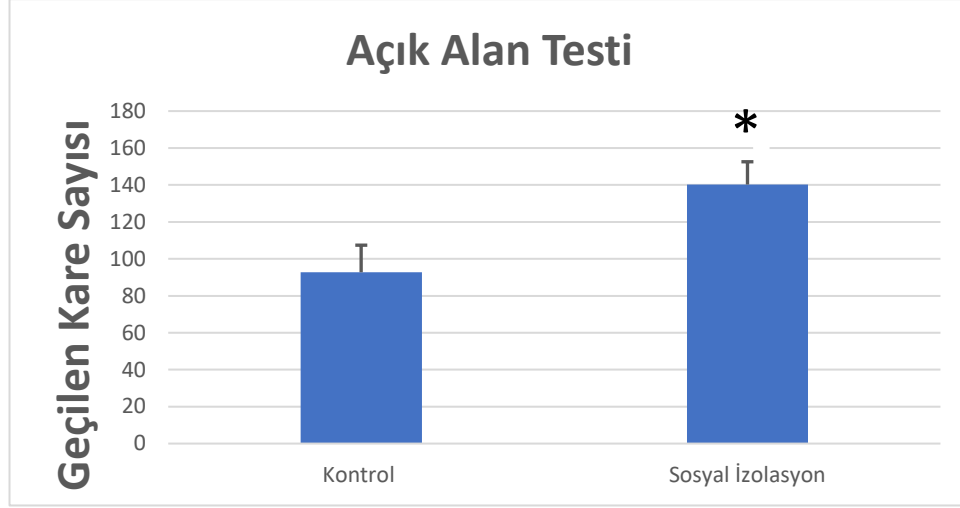
Tablo 3. Açık Alan Testi Sonuçları.

	Kontrol	Sosyal izolasyon
Geçilen Kare Sayısı	92.75±14.67	140.25*±12.33
Şahlanma Sayısı	14.87±1.64	15.55±1.59
Tımarlama Sayısı	2.5±0.73	2.5±0.58
Merkezde Geçirilen Süre (sn)	28.6±7.75	11.22*±2.48
Dış Çeperde Geçirilen Süre (sn)	269.25±9.48	285.4*±4.21

Sonuçlar ortalama $\pm$ SE olarak verilmiştir. $p<0.05$ olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir.

4.2.1.1. Geçilen kare sayısı

Geçilen kare sayısında sosyal izolasyon grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış tespit edildi ($p= 0.032$).

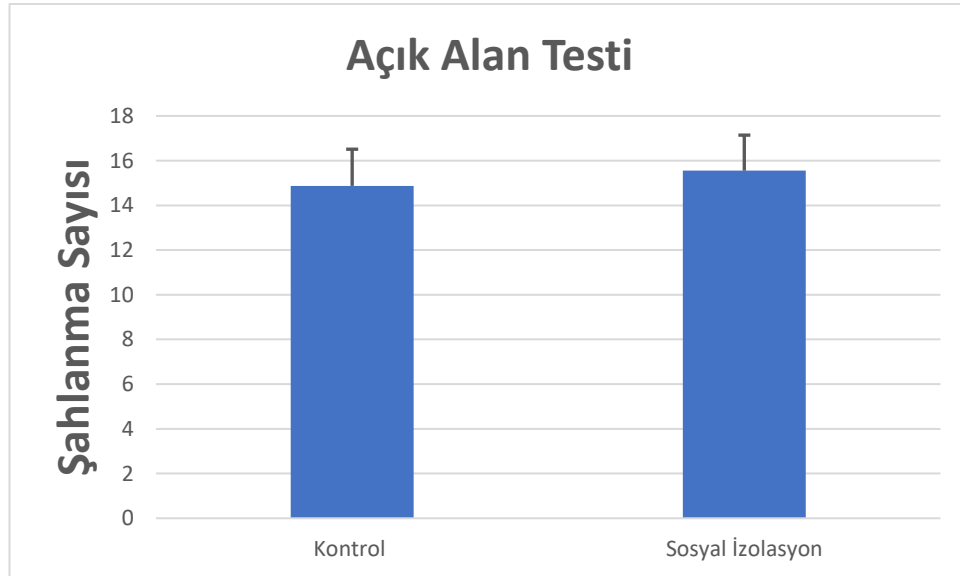


Şekil 7. Açık alan testinde geçen kare sayısı.

Sonuçlar ortalama $\pm$ SE olarak verilmiştir. $p < 0.05$ olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir ($p = 0.032$).

4.2.1.2. Şahlanma sayısı

Şahlanma sayısında sosyal izolasyon ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p > 0.05$).

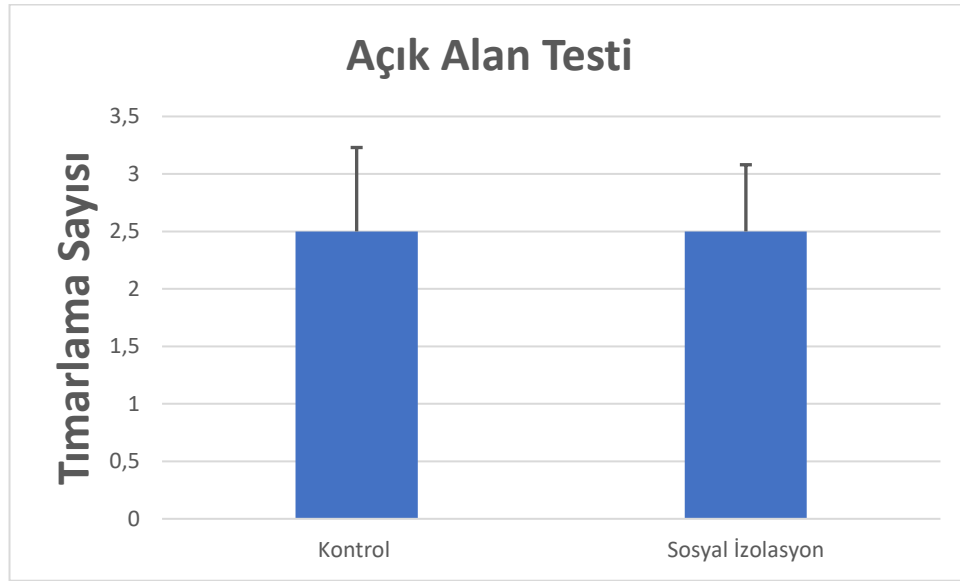


Şekil 8. Açık alan testinde şahlanma sayısı

Sonuçlar ortalama $\pm$ SE olarak verilmiştir. $p < 0.05$ olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Kontrol grubuna göre anlamlılık bulunamamıştır ($p > 0.05$).

4.2.1.3. Tımarlama sayısı

Tımarlama sayısında sosyal izolasyon ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p > 0.05$).

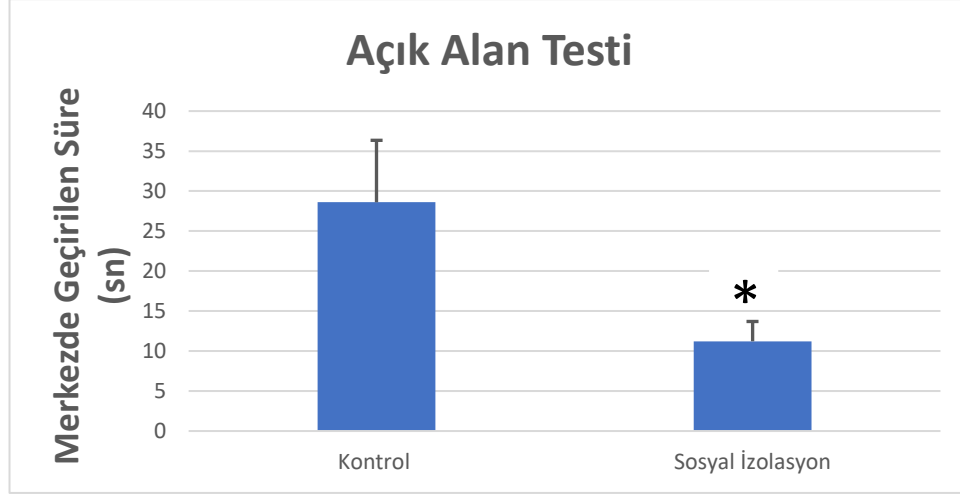


Şekil 9. Açık alan testinde tımarlama sayısı.

Sonuçlar ortalama $\pm$ SE olarak verilmiştir. $p < 0.05$ olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Kontrol grubuna göre anlamlılık bulunamamıştır ($p > 0.05$).

4.2.1.4. Merkezde geçirilen süre

Merkezde geçirilen sürede sosyal izolasyon grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma tespit edildi ($p = 0.016$).

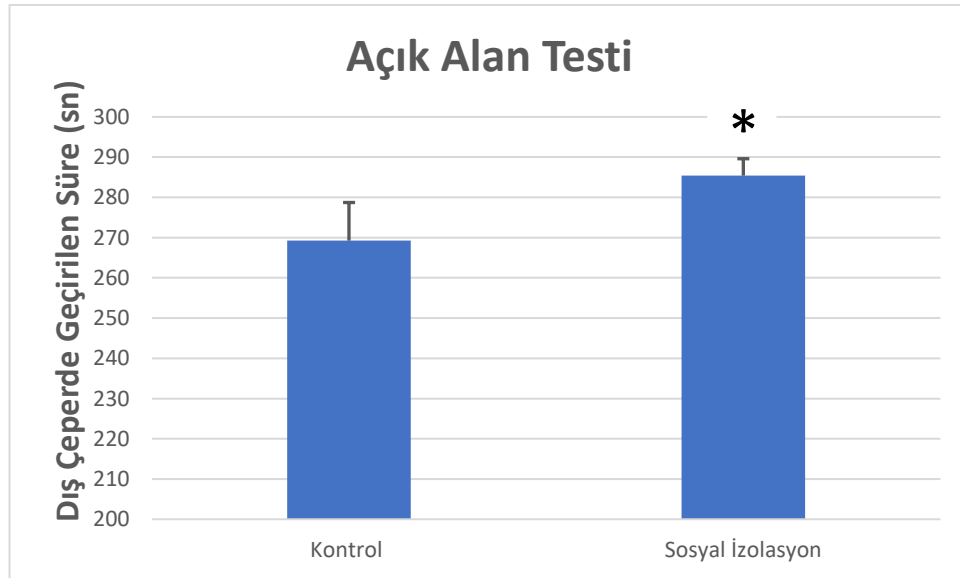


Şekil 10. Açık alan testinde merkezde geçirilen süre.

Sonuçlar ortalama $\pm$ SE olarak verilmiştir. $p < 0.05$ olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir ($p = 0.016$).

4.2.1.5. Dış çeperde geçirilen süre

Dış çeperde geçirilen sürede sosyal izolasyon grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış tespit edildi ($p = 0.034$).



Şekil 11. Açık alan testinde dış çeperde geçirilen süre.

Sonuçlar ortalama $\pm$ SE olarak verilmiştir. $p<0.05$ olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir ($p=0.034$).

4.2.2. Zorlu yüzme testi sonuçları

Hareketsiz kalma süresi, yüzme süresi ve tırmanma süresi verilerinin ortalamaları Tablo 3'te verilmiştir. Hareketsiz kalma süresi, yüzme süresi ve tırmanma süresi verilerinin üçünde de istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. ($p<0.05$)

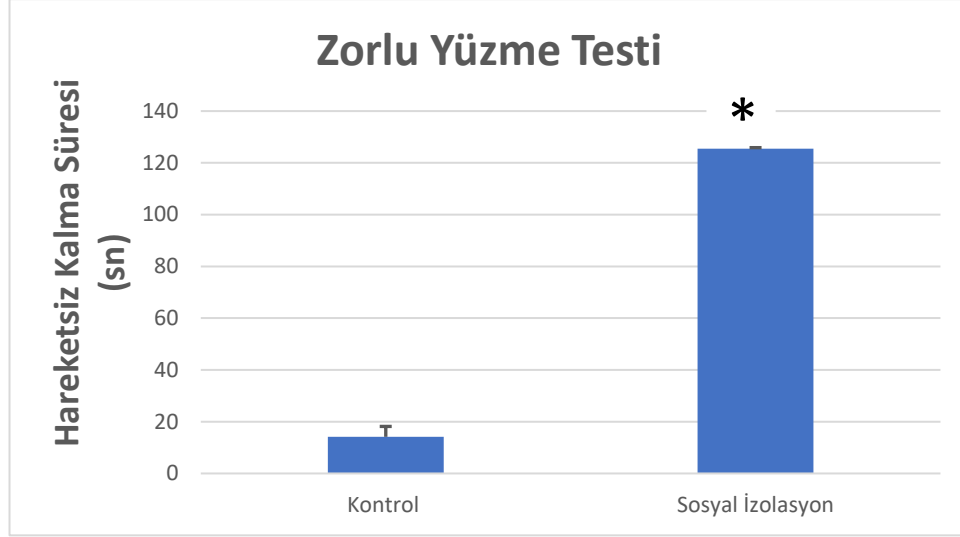
Tablo 4. Zorlu Yüzme Testi Sonuçları.

	Kontrol	Sosyal izolasyon
Hareketsiz Kalma Süresi (sn)	14.15 $\pm$ 4.02	125.46* $\pm$ 0.42
Yüzme Süresi (sn)	227.05 $\pm$ 8.2	164.51* $\pm$ 30.51
Tırmanma Süresi (sn)	58.79 $\pm$ 7.26	32.62* $\pm$ 2.57

Sonuçlar ortalama $\pm$ SE olarak verilmiştir. $p<0.05$ olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir.

4.2.2.1. Hareketsiz kalma süresi

Hareketsiz kalma süresinde sosyal izolasyon grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış tespit edildi ($p=0.034$).

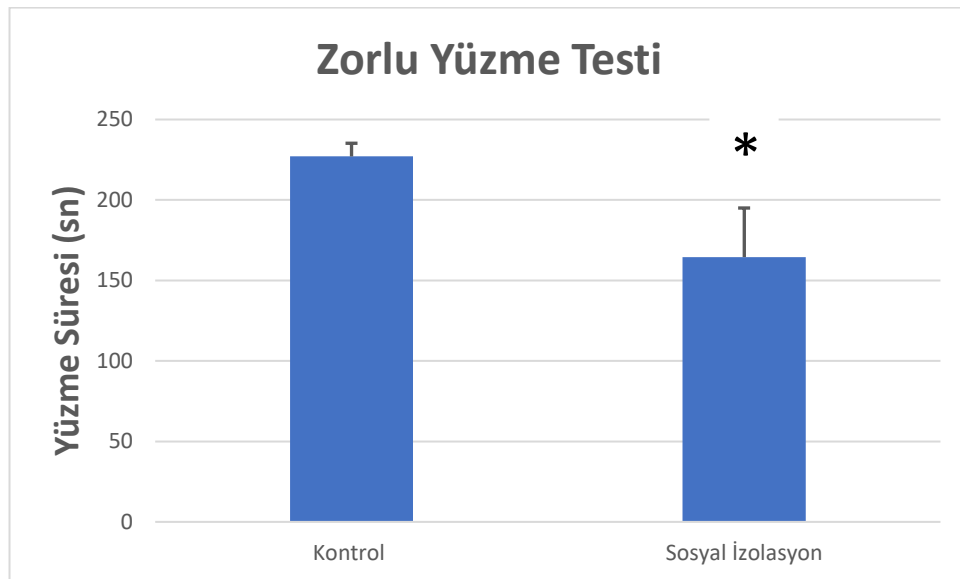


Şekil 12. Zorlu yüzme testinde hareketsizlik süresi.

Sonuçlar ortalama $\pm$ SE olarak verilmiştir. $p < 0.05$ olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir ($p = 0.034$).

4.2.2.2. Yüzme süresi

Yüzme süresinde sosyal izolasyon grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma tespit edildi ($p = 0.036$)

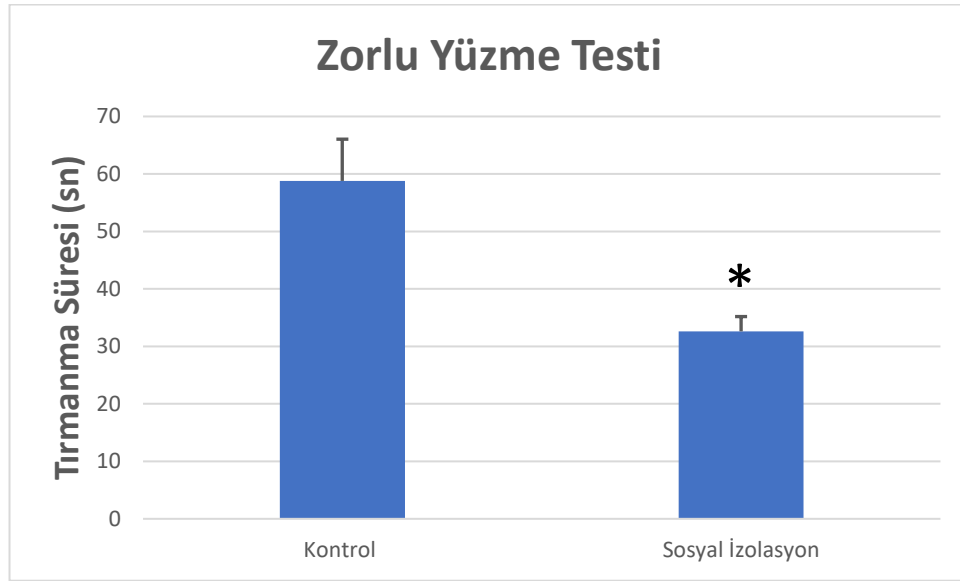


Şekil 13. Zorlu yüzme testinde yüzme süresi.

Sonuçlar ortalama $\pm$ SE olarak verilmiştir. $p < 0.05$ olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir ($p = 0.036$).

4.2.2.3. Tırmanma süresi

Tırmanma süresinde sosyal izolasyon grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma tespit edildi ($p = 0.005$)



Şekil 14. Zorlu yüzme testinde tırmanma süresi.

Sonuçlar ortalama $\pm$ SE olarak verilmiştir. $p < 0.05$ olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir ($p = 0.005$).

4.3. Biyokimyasal Sonuçlar

4.3.1. ELISA sonuçları

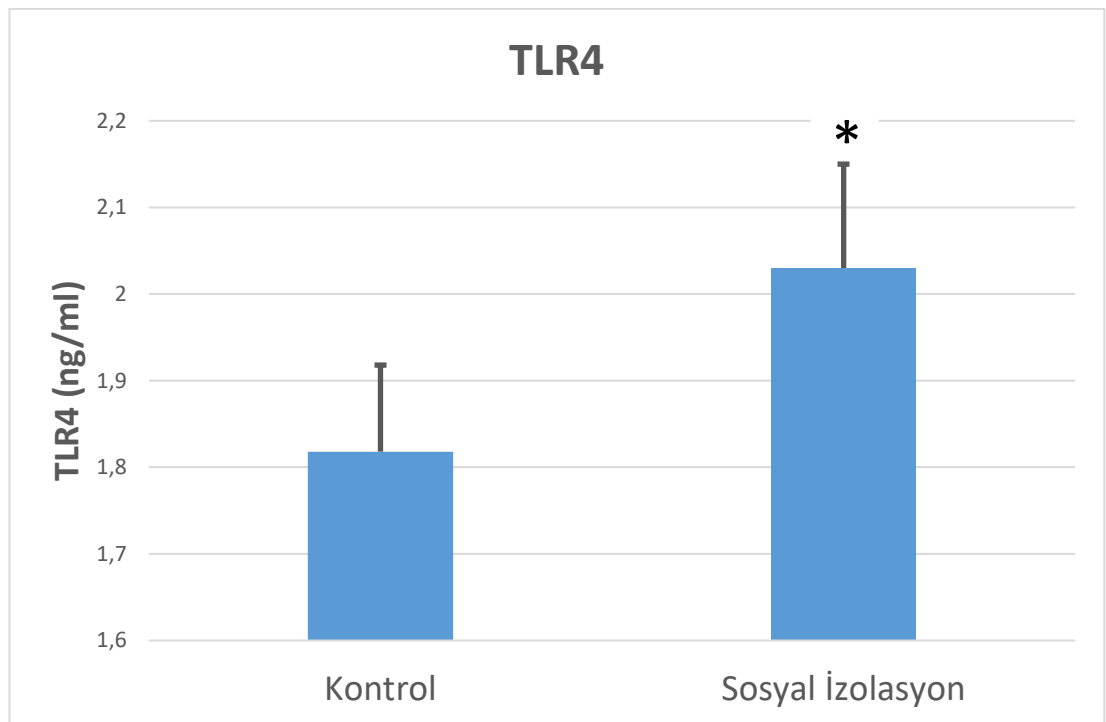
4.3.1.1. TLR-4 sonuçları

Tablo 5 ve Şekil 15'te TLR-4 sonuçları gösterilmektedir. Sosyal izolasyon grubunda PFC TLR-4 düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır ($p=0.014$).

Tablo 5. TLR4 ELISA Sonuçları.

	Kontrol	Sosyal izolasyon
TLR-4	1.818±0.46	2.03*±0.068

Sonuçlar ortalama $\pm$ SE olarak verilmiştir. $p<0.05$ olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir ($p=0.014$).



Şekil 15. TLR4 ELISA sonuçları.

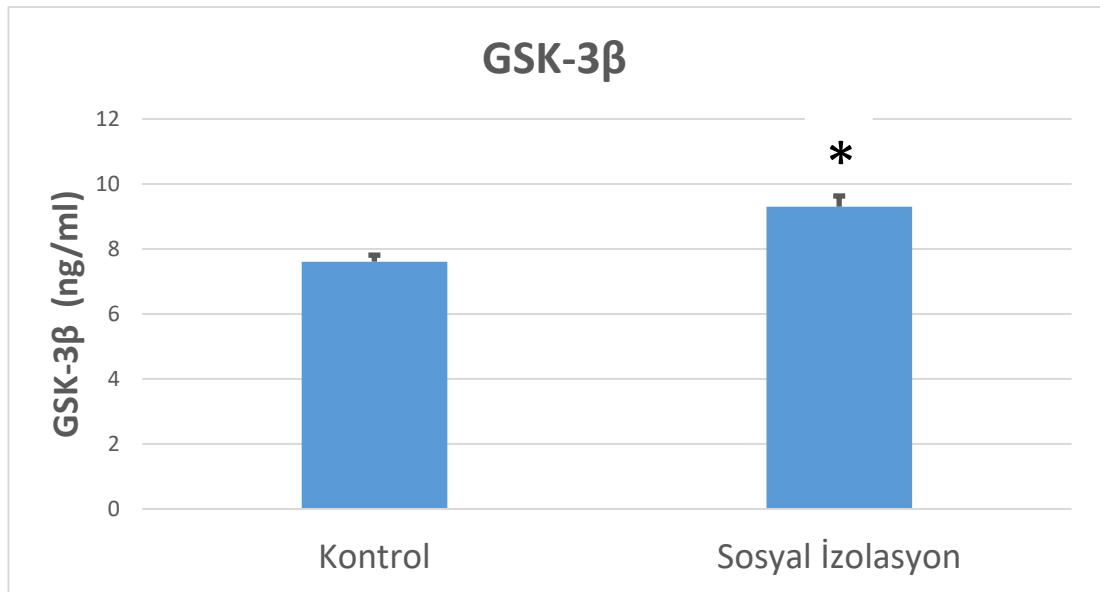
Sonuçlar ortalama $\pm$ SE olarak verilmiştir. $p < 0.05$ olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir ($p = 0.014$).

4.3.1.2. GSK-3 β sonuçları

Tablo 6 ve Şekil 16’da PFC GSK-3 β düzeyleri gösterilmektedir. PFC GSK-3 β düzeyleri kontrol grubuna kıyasla sosyal izolasyon grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p = 0.001$).

Tablo 6. GSK-3 β ELISA Sonuçları

	Kontrol	Sosyal izolasyon
GSK-3 β	7.61 $\pm$ 0.2	9.3* $\pm$ 0.33



Şekil 16. GSK-3 β ELISA sonuçları.

Sonuçlar ortalama $\pm$ SE olarak verilmiştir. $p < 0.05$ olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir ($p = 0.001$).

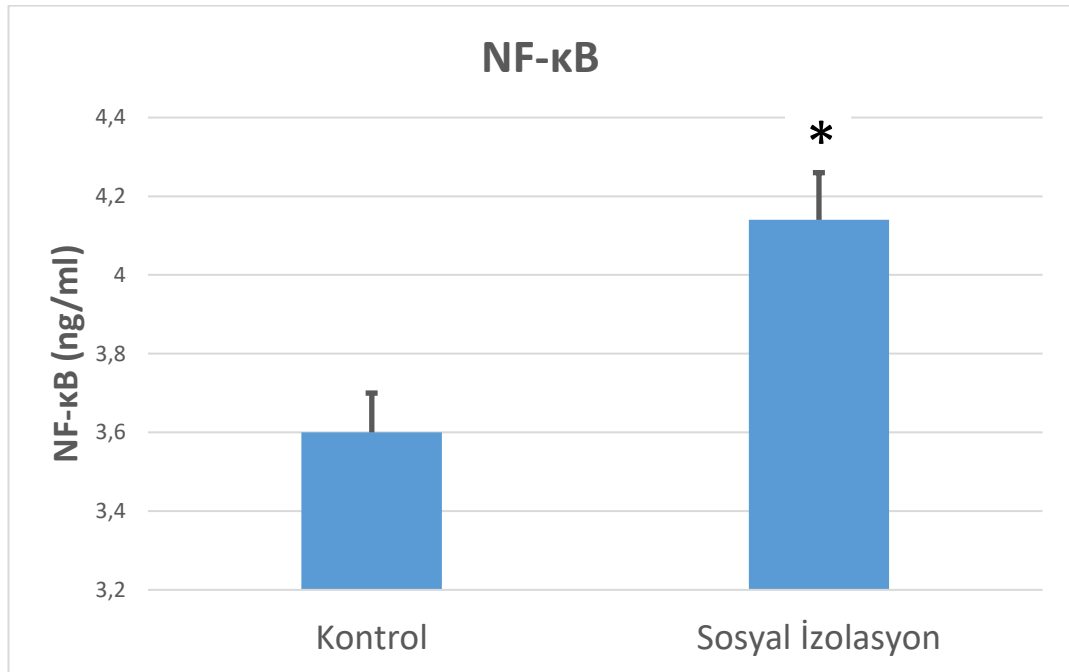
4.3.1.3. NF-κB sonuçları

PFC NF-κB düzeyleri Tablo 7 ve Şekil 17’de gösterilmektedir. Sosyal izolasyon grubunda NF-κB düzeyleri sosyal izolasyon grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı saptandı ($p=0.002$).

Tablo 7. NF-κB ELISA Sonuçları

	Kontrol	Sosyal izolasyon
NF-κB	3.6±0.1	4.14*±0.12

Sonuçlar ortalama ± SE olarak verilmiştir. $p<0.05$ olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir. ($p=0.002$).



Şekil 17. NF-κB ELISA sonuçları

Sonuçlar ortalama ± SE olarak verilmiştir. $p<0.05$ olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. * Kontrol grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir. ($p=0.002$).

4.3.2. MDA-GSH düzeyleri

4.3.2.1. PFC MDA-GSH düzeyleri

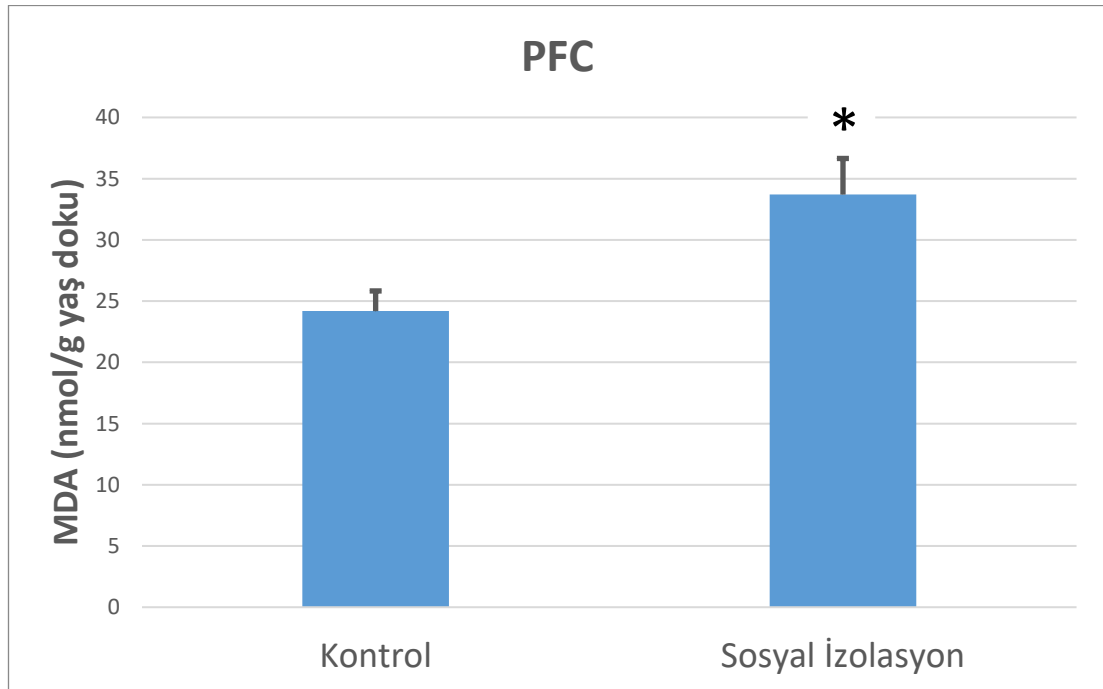
PFC MDA düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sosyal izolasyon grubunda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde arttığı gözlemlendi (Tablo 8 ve Şekil 18) ($p=0.03$).

GSH düzeyleri incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır (Tablo 8 ve Şekil 19).

Tablo 8. PFC Dokusu MDA ve GSH Değerleri.

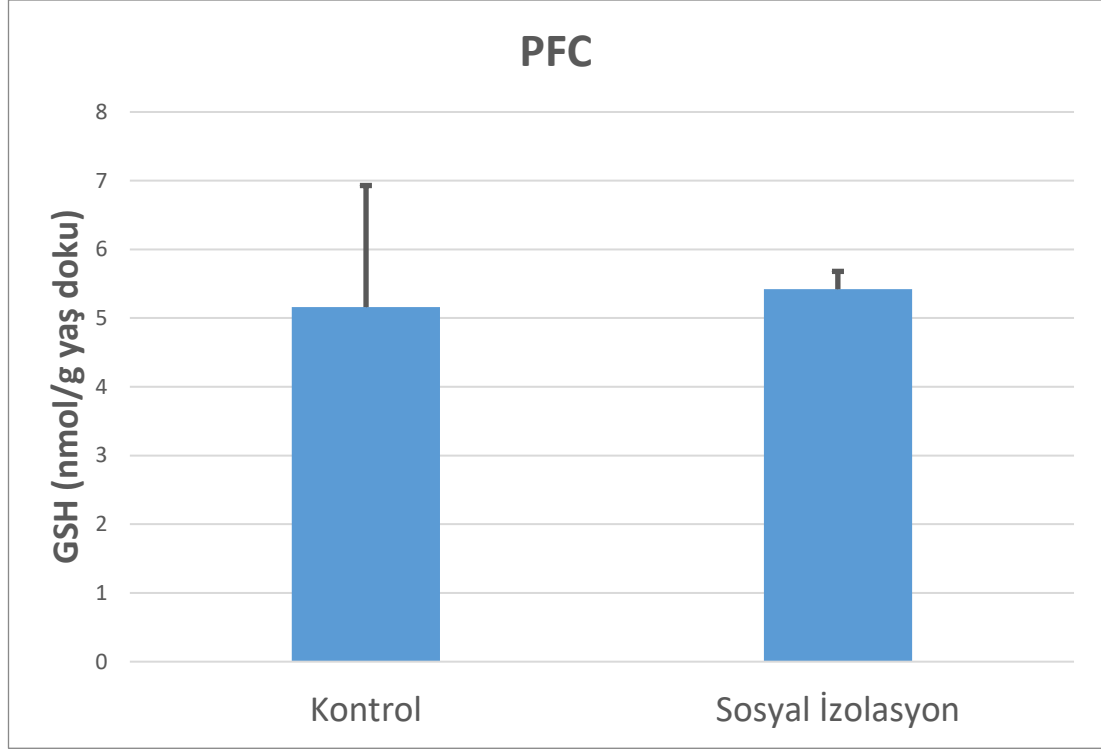
	Kontrol	Sosyal izolasyon
MDA	24.18±1.65	33.7*±2.95
GSH	5.16±1.77	5.42±0.26

Sonuçlar ortalama $\pm$ SE olarak verilmiştir. $p<0.05$ olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. *Kontrol grubuna göre anlamlı farklılığı göstermektedir ($p=0.03$).



Şekil 18. PFC dokusu MDA değerleri.

Sonuçlar ortalama $\pm$ SE olarak verilmiştir. $p < 0.05$ olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Sosyal izolasyon sonrası PFC dokusunda MDA düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artış tespit edilmiştir ($p = 0.03$).



Şekil 19. PFC dokusu GSH değerleri.

Sonuçlar ortalama $\pm$ SE olarak verilmiştir. $p < 0.05$ olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Sosyal izolasyon sonrası PFC dokusunda GSH düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlılık bulunamamıştır ($p > 0.05$).

5. TARTIŞMA

Kronik sosyal izolasyon, kemirgenlerde insanlarda gözlenen depresyon gibi çeşitli nörodavranışsal değişikliklere neden olan hafif bir kronik stres modelidir. Sıçan yavrularının sütten kesildikten sonra sosyal olarak izole ortamda büyümeleri, doğum sonrası erken beynin gelişiminde morfolojik ve nörokimyasal değişikliklere yol açar ve yetişkinlikte uzun vadeli uyumsuz davranışların gelişimini tetikler (95). Davranışsal düzeyde, izole edilmiş sıçanlarda bozulmuş sensorimotor gelişim, bilişsel eksiklikler, artan saldırgan davranış, azaltılmış sosyal etkileşim ve hiperlökomozyon gözlenir (96). Beyin gelişiminin kritik olduğu dönemlerde strese maruz kalmanın sitokinlerin yapımının artışı gibi nöroinflamatuvar cevabı ortaya çıkardığı bildirilmektedir (97. 98). Erken beyin gelişimi sırasında inflamatuvar sitokinler arasındaki bir dengesizlik, merkezi sinir sisteminde anormal nörotransmisyonu neden olarak beyin işleyişini etkiler ve bu nedenle, şizofreni de dahil olmak üzere yetişkinlikte psikiyatrik bozukluk riskini artırır (99. 100). Kronik sosyal izolasyon stresi depresyonun patofizyolojisini incelemek için kullanılan güvenilir bir hayvan modeli olarak görülmektedir (101).

Kronik stres PFC’de kimyasal ve anatomik değişikliklere neden olmaktadır (102). Ayrıca PFC strese en duyarlı beyin alanı olarak görülmektedir (101). Spesifik olarak, kronik stres sırasında artan glukokortikoidler, doğrudan mitokondriyal disfonksiyona ve enerji yollarının bozulmasına, nöronal prekürsör hücrelere zarar verebilecek ROS üretiminde bir artışa neden olabilir (103). Ayrıca sosyal izolasyonun beyinde NO yapımının artışı ile oksidatif stresin gelişimine neden olduğu bildirilmektedir (104). Çeşitli stresörler oksidatif ve nitroztatif strese neden olarak organizmanın redoks homeostazının bozulmasına neden olabilirler. Akut stres genellikle koruyucu bir yanıtla ilişkiliyken, kronik stres ROS yoluyla redoks durumunun bozulmasına ve hücrel makromoleküllerin oksidatif hasarına yol açabilir. Oksidatif hasar genellikle MDA gibi lipid peroksidasyon ürünlerinin konsantrasyonu ölçülerek değerlendirilir (104). Bu çalışmada PFC MDA düzeyleri incelendiğinde sosyal izolasyon oluşturulan sıçanların PFC’lerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalar, akut veya kronik stresin, sıçanlarda beyin dokusunda antioksidan enzimatik aktivitelerin ve glutatyon düzeylerinin azalmasının yanı sıra lipid peroksidasyonu ve protein hasarına neden olduğunu göstermiştir (102. 104). Bu çalışmaların bulgularına

benzer şekilde bu çalışmada da sosyal izolasyonun PFC’de oksidatif strese neden olarak lipid peroksidasyonu artırdığını bulduk. GSH, hücre içi redoks durumunu düzenleyen, hücreyi oksidatif strese karşı koruyan ve ROS ile ilk savunmada yer alan enzimatik olmayan başlıca antioksidan moleküldür (105). Ancak çalışmamızda PFC GSH seviyelerinde sosyal izolasyon sonrası istatistiksel olarak anlamlı değişiklik saptanamamıştır. Todorović ve arkadaşları 21 günlük sosyal izolasyon sonrası beyin GSH seviyelerinde azalma saptamışlardır (101). Bu farklılık sosyal izolasyon süresinden kaynaklanabilir. Çalışmamızda uygulanan 6 haftalık sosyal izolasyon sonrası GSH düzeyleri yeniden sentez ile yerine konmuş olabilir.

Literatürde sosyal izolasyon ile azalan GSH seviyelerinin NO ve peroksinitrite bağlı nörotoksisiteyi kolaylaştırdığı (106), bu sayede beyindeki oksidatif stres ile birlikte bozulmuş bir GSH sisteminin depresyon gelişimini etkilediği bildirilmektedir (102, 104). Bu çalışmada 6 haftalık sosyal izolasyon stresinin sıçanlarda zorlu yüzme testinde hareketsizlik süresinde artış ile karakterize olan depresyon benzeri davranışa neden olduğunu gösterdik. Aynı zamanda açık alan testinde sosyal izolasyon uygulanan grupta merkezi alanda geçiren sürenin azaldığı ve periferik alanda geçirilen sürenin arttığı gözlemlendi. Bu durum sosyal izolasyonun anksiyete benzeri davranışa neden olduğunu göstermektedir. Literatürde 3 haftalık sosyal izolasyon uygulaması sonrası depresyon ve anksiyete benzeri davranışın geliştiği gösterilmiştir (102, 103, 104). Depresyon ve anksiyete benzeri davranışta ve PFC MDA düzeylerindeki artış ile birlikte NF- κ B seviyelerinde artış gözlemlenmiştir. Artan kanıtlar, kronik psikososyal stresin beyinde neden olduğu oksidatif stresin, depresyon da dahil olmak üzere psikiyatrik bozuklukların gelişimine katkıda bulunduğunu göstermektedir (101). Ek olarak, nöroinflamasyonun da psikososyal stresörler ve psikiyatrik bozuklukların gelişimine katkıda bulunduğu öne sürülmektedir (107). Depresif bozukluğu olan hastaların kan ve beyin omurilik sıvısında proinflamatuvar sitokinlerin ve reseptörlerinin yapımının arttığı gösterilmiştir (108). Ayrıca depresif hastalardan alınan ölüm sonrası beyin örneklerinde IL-1 β ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin seviyesinin arttığı saptanmıştır (42). Bu sitokinlerin beyinde yapımının artması, duygudurum bozuklukları da dahil olmak üzere birçok nöropsikiyatrik durumla ilişkili olduğu bildirilmektedir (109). Ko ve Liu tarafından yapılan bir çalışmada 4 haftalık sosyal izolasyonun sıçanların plazma IL-1 β , IL-6 ve TNF- α düzeylerinde artışa neden olduğu gösterilmiştir (110). İnflamatuvar sitokinlerin seviyesinin beyinde artması, nörotransmitterlerin işlevini etkileyerek, nöroendokrin tepkileri aktive ederek ve beyin

plastisitesini düzenleyerek depresyon dahil pek çok nörolojik bozukluğun fizyopatolojisinde rol oynar (111). Yapımı artan inflamatuvar sitokinler, depresif ruh hali, anoreksi, ateş, uyku değişiklikleri, sosyal etkileşimde azalma ve diğer depresif davranışlara yol açar (112). Çalışmamızda PFC’de yukarıda bahsedilen sitokin seviyeleri değerlendirilmemiş ancak bu sitokinlerin ekspresyonunu sağlayan transkripsiyon faktörü NF- κ B düzeyleri ölçülmüştür. NF- κ B’nin artmış seviyesi ile birlikte depresyon benzeri davranış saptanmıştır. NF- κ B redoks duyarlı transkripsiyon faktörüdür ve inaktif formda sitoplazmada bulunur. Serbest oksijen radikalleri bu faktörün aktivasyonuna neden olur ve sitoplazmada birlikte bulunduğu inhibitory protein I-kappaB (I κ B)’dan ayrılarak çekirdeğe geçerek NF- κ B ile kontrol edilen genlerin yapımını sağlar (104). NF- κ B, inflamatuvar yolakların önemli bir aracısıdır. NF- κ B, TNF- α ve IL-1 β dahil olmak üzere proinflamatuvar sitokinlerin transkripsiyonunu arttırdığı için inflamatuvar yanıtın önemli bir pozitif düzenleyicisidir (101). NF- κ B yolunun serebral inaktivasyonunun IL-1 β kaynaklı hastalık davranışını inhibe ettiği gösterilmiştir (113). Zlatković ve arkadaşları 3 haftalık sosyal izolasyon oluşturulan sıçanlarda depresyon benzeri davranışın arttığını göstermişlerdir (102). Araştırmacılar sosyal izolasyon stresine bağlı ortaya çıkan depresyon benzeri davranışların gelişiminde PFC’de artan oksidatif stres, GSH seviyesinde azalma ile birlikte NF- κ B, TNF- α ve IL-1 β gibi inflamatuvar mediyatörlerin artışının rol oynayabileceğini öne sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda Zlatković ve arkadaşlarının çalışmasına benzer sonuçlar saptanmıştır.

Bu çalışmada sosyal izolasyonun neden olduğu depresyon ve anksiyete benzeri davranışın altında yatan mekanizmaları daha ileri araştırmak için PFC’de GSK-3 β ve TLR4 seviyeleri incelenmiştir. Fizyolojik ve psikolojik stresin TLR4 sinyal iletim yolunu ve proinflamatuvar sitokin salınımını başlatabilecek endojen hasar molekülü ile sinir hücrelerinin nekrozuna ve apoptozuna yol açabileceği bildirilmektedir (114). TLR4, immün sistem aktivasyonunda anahtar rolü olan bir transmembran reseptördür. TLR4 aktivasyonu NF- κ B’yi aktive ederek sonuçta IL-1 β ve TNF- α gibi çeşitli proinflamatuvar faktörlerin seviyesini artırıcı etkiler ortaya çıkarır (117). Bu nedenle TLR4 genellikle iskemi/reperfüzyon hasarı (115) ve Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalık modellerinde (116) inflamatuvar cevabı ve doku hasarının düzenleyicisi olarak görülmektedir. TLR4’ün yapımının artması, nöroinflamasyona neden olarak psikiyatrik bozuklukların patogeneğinde rol alır (118). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, proinflamatuvar sitokinlerin depresyon dahil psikiyatrik

hastalıkların patofizyolojisinde hayati bir rol oynadığı ileri sürülmektedir. Sürekli stres ve ardından IL-6, TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin artan konsantrasyonu, kronik nöroinflamasyona yol açar (119). Matrisciano ve arkadaşlarının 2021 yılında yaptıkları çalışmada sosyal izolasyon oluşturulan farelerin hipokampusünde TLR-4, NF- κ B ve TNF- α yapımının artışı ile birlikte agresif davranışın gözlemlendiği, bunun da sosyal izolasyona bağlı proinflamatuvar bir durumu işaret ettiğini bildirmişlerdir (120). Daha önceki çalışmalar da artan TLR-4 ekspresyonunun, NF- κ B sinyal kaskadının aşağı akış aktivasyonunda yer aldığını ve bunun da proinflamatuvar sitokinlerin yapımını artırdığını bildirmektedirler (121). Çalışmamızda 6 haftalık sosyal izolasyon stresi sonrasında sıçanların PFC'lerinde TLR4 düzeylerinin arttığını saptadık. TLR4 seviyelerindeki bu yükselme NF- κ B düzeyi artışı depresyon ve anksiyete benzeri davranış ile birlikte gözlenmiştir.

GSK-3 β . Alzheimer hastalığında nörofibrillerin birikimi, nörodejenerasyon ile tau hiper fosforilasyonunda kritik rol oynayan önemli tau kinazdır. GSK3'ün aktivitesinin artışı hafıza bozukluğu, tau hiper-fosforilasyonu, artmış β -amiloid üretimi ve nöroinflamasyona ek olarak depresif bozuklukların patogenezi ile bağlantılıdır (122). GSK-3 β . I κ B'y'i (NF- κ B'nin ana inhibitörü) NF- κ B çekirdeğe translokasyonuna ve proinflamatuvar sitokin üretimine izin veren proteazomal bozulmaya hedefleyerek nöroinflamasyonun düzenlenmesinde rol alır (123). Kronik strese maruz bırakılan sıçanların beyinlerinde GSK-3 β miktarında artış olduğu saptanmıştır (124). Ali ve arkadaşları (2019) sosyal izolasyonun alüminyum ile oluşturulan Alzheimer hastalığı modelinde GSK-3 β aktivitesinde artışa neden olduğunu saptamışlardır (125). Bizim çalışmamızda da sosyal izolasyon uygulanan sıçanların PFC'lerinde GSK-3 β seviyesinin arttığı tespit edilmiştir. Bu artışın sosyal olarak izole edilmiş sıçanlarda gözlenen depresyon ve anksiyete benzeri davranışın gelişimi ile ilişkili olabileceğini önermekteyiz.

Sosyal izolasyon uygulanan grupta 6 haftalık sürenin sonunda kontrol grubuna kıyasla kilo alımının arttığı gözlemlendi. Çeşitli stres türlerinin ve sürelerinin farklı fizyolojik etkilere yol açtığı gösterilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda da belirtildiği gibi stresin türü, besin tüketim miktarının belirlenmesinde anahtar rol oynamaktadır. Ayrıca stresin süresi beslenme düzenini değiştirebilir. Stres süresi kategorisine göre çeşitli akut, subkronik ve kronik stresler vardır. Akut stres yeme davranışını baskımlarken, kronik stres durumlarında yeme davranışı artmaktadır. Ayrıca, çeşitli stres koşullarında besin alımının miktarı farklı mekanizmalar tarafından

düzenlenmektedir (126). Kronik izolasyon stresinin, kalıcı hiperfaji ve tıknırcasına yeme bozukluklarında rol oynadığı bildirilmektedir. Kronik stres bağlı yeme davranışı artışında grelin hormonun etkili olduğu öne sürülmektedir. Bu durum grelin reseptör blokerleri ile engellenebilmiştir (127). Çalışmamızda da literatüre uygun olarak 6 haftalık kronik sosyal izolasyon stresinin yeme davranışındaki artış ı yansıtacak olan kilo alımında artışa neden olduğu saptanmıştır. Bu nedenle, süttten kesme sonrası izolasyonun, belki de kaygıyı temsil eden psiko-duygusal davranışlarla bağlantılı olarak, hiperfaji ve kilo alımını neden olabileceği sonucuna varılmıştır.

Sonuçlarımız, hayatın erken döneminde uzun süreli sosyal izolasyon stresine maruz bırakılmanın sıçanlarda anksiyete ve depresyon benzeri davranış gelişimine neden olduğunu göstermiştir. Bu strese yanıt olarak gelişen davranışsal bozuklukların patofizyolojisinde PFC’de artan oksidatif stres ve NF- κ B/TLR4/ GSK-3 β sinyal yolunun aktive olması ile yer alabilir. Verilerimiz, sıçanlarda sosyal izolasyon modelinde oksidatif stres, inflamatuvar yanıt ile depresif ve anksiyete benzeri davranışlar arasında bir bağlantıyı desteklemektedir. Ayrıca depresif ve anksiyete benzeri davranışın PFC’de nöroinflamasyon ile ilgili mediyatörlerin artışı ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Elde edilen sonuçlar strese yanıt olarak ortaya çıkan davranışsal değişikliklerin altında yatan mekanizmaları anlamak yeni terapötik hedeflerin belirlenmesine yol açabilir.

6. KAYNAKLAR

1. Peng Z. Zhang C. Yan L. Zhang Y. Yang Z. Wang J. Song C. EPA is More Effective than DHA to Improve Depression-Like Behavior. *Glia Cell Dysfunction and Hippocampal Apoptosis Signaling in a Chronic Stress-Induced Rat Model of Depression*. *International Journal of Molecular Sciences*. 21(5). 1769. 2020
2. Slavich GM. Irwin MR. From stress to inflammation and major depressive disorder: A social signal transduction theory of depression. *Psychological Bulletin*. 140(3). 774–815. 2014
3. Pressman SD. Cohen S. Does positive affect influence health? *Psychological Bulletin*. 131(6). 925–971. doi:10.1037/0033-2909.131.6.925. 2005
4. Karelina K. DeVries AC. Modeling Social Influences on Human Health. *Psychosomatic Medicine*. 73(1). 67–74. 2011
5. Seeman TE. Singer BH. Ryff CD. Dienberg G. Levy-Storms L. Social relationships, gender, and allostatic load across two age cohorts. *Psychosom Med*. 64:395-406. 2002
6. Cacioppo S. Grippo A J. London. S. Goossens L. Cacioppo JT. Loneliness. *Perspectives on Psychological Science*. 10(2). 238–249. 2015
7. Brummett BH. Barefoot JC. Siegler IC. Clapp-Channing NE. Lytle BL. Bosworth HB. Williams Jr RB. Mark DB. Characteristics of Socially Isolated Patients With Coronary Artery Disease Who Are at Elevated Risk for Mortality. *Psychosomatic Medicine*. 63(2). 267–272. 2001
8. Cao M. Hu P-P. Zhang Y-L. Yan Y-X. Shields CB. Zhang Y-P. Hu G. Xiao M. Enriched physical environment reverses spatial cognitive impairment of socially isolated APPswe/PS1dE9 transgenic mice before amyloidosis onset. *CNS Neuroscience & Therapeutics*. 24(3). 202–211. 2017
9. Lamers F. Milaneschi Y. de Jonge P. Giltay EJ. Penninx BWJH. Metabolic and inflammatory markers: associations with individual depressive symptoms. *Psychological Medicine*. 48(07). 1102–1110. 2017

10. Zhang C-Y-Y. Zeng M-J. Zhou L-P. Li Y-Q. Zhao F. Shang Z-Y. Deng X-Y. Ma Z-Q. Fu Q. Ma S-P. Qu R. Baicalin exerts neuroprotective effects via inhibiting activation of GSK3 β /NF- κ B/NLRP3 signal pathway in a rat model of depression. *International Immunopharmacology*. 64. 175–182. 2018
11. Yan H-C. Cao X. Das M. Zhu X-H. Gao T-M. Behavioral animal models of depression. *Neuroscience Bulletin*. 26(4). 327–337. 2010
12. Nollet M. Guisquet A-ML. Belzung C. Models of Depression: Unpredictable Chronic MildStress in Mice. *Current Protocols in Pharmacology*. 61(1). 5.65.1–5.65.17. 2013
13. Bell CC. DSM-IV: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*. 272(10). 828. 1994
14. Tiller JWG. Depression and anxiety. *Medical Journal of Australia*. 199(S6). 2013
15. Gorman JM. Comorbid depression and anxiety spectrum disorders. *Depression and Anxiety*. 4(4). 160–168. 1996
16. Higa-McMillan CK. Francis SE. Rith-Najarian L. Chorpita. BF. Evidence Base Update: 50 Years of Research on Treatment for Child and Adolescent Anxiety. *Journal of Clinical Child & Adolescent Psychology*. 45(2). 91–113. 2015
17. Xia N. Li H. Loneliness. Social Isolation. and Cardiovascular Health. *Antioxidants & Redox Signaling*. 28(9). 837–851. 2018
18. Holt-Lunstad J. Smith TB. Baker M. Harris T. Stephenson D. Loneliness and Social Isolation as Risk Factors for Mortality. *Perspectives on Psychological Science*. 10(2). 227–237. 2015
19. Cacioppo JT. Cacioppo S. Capitanio JP. Cole SW. The Neuroendocrinology of Social Isolation. *Annual Review of Psychology*. 66(1). 733–767. 2015
20. Duman CH. Models of Depression. *Vitamins & Hormones*. 1–21. 2010
21. Palanza P. Animal models of anxiety and depression: how are females different? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 25(3). 219–233. 2001
22. Cacioppo JT. Hawkley LC. Norman GJ. Berntson GG. Social isolation. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1231(1). 17–22. 2011
23. Shao Y. Yan G. Xuan Y. Peng. H. Huang. Q-J. Wu R. Xu H. Chronic social isolation decreases glutamate and glutamine levels and induces oxidative stress in the rat hippocampus. *Behavioural Brain Research*. 282. 201–208. 2015

24. Hawkley LC. Capitanio JP. Perceived social isolation. evolutionary fitness and health outcomes: a lifespan approach. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 370(1669). 20140114–20140114. 2015
25. Freud S. *From the history of an infantile neurosis*. Hogarth Press. London. 1918
26. Malkesman O. Maayan R. Weizman A. Weller A. Aggressive behavior and HPA axis hormones after social isolation in adult rats of two different genetic animal models for depression. *Behavioural Brain Research*. 175(2). 408–414. 2006
27. Arcego DM. Krolow R. Lampert C. Noschang C. Pettenuzzo LF. Marcolin. ML. Dalmaz C. Stress during the pre-pubertal period leads to long-term diet-dependent changes in anxiety-like behavior and in oxidative stress parameters in male adult rats. *Neurochemical Research*. 38(9). 1791–1800. 2013
28. Suomi SJ. Early stress and adult emotional reactivity in rhesus monkeys. *Ciba Found Symp*. 1991; 156:171-83; discussion 183-8. 1991
29. Francis PT. Palmer AM. Snape M. Wilcock GK. (1999). The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 66(2). 137–147. 1999
30. Kudryavtseva NN. Bakshtanovskaya IV. Koryakina LA. Social model of depression in mice of C57BL/6J strain. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1991;38(2):315-320. 1991
31. Sahin Z. Solak H. Koc A. Ozen Koca R. Ozkurkculer A. Cakan P. Solak Gormus ZI. Kutlu S. Kelestimur H. Long-term metabolic cage housing increases anxiety/depression-related behaviours in adult male rats. 2018
32. Mumtaz F. Khan MI. Zubair M. Dehpour AR. Neurobiology and consequences of social isolation stress in animal model—A comprehensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 105. 1205–1222. 2018
33. Zaletel I. Filipović D. Puškaš N. Chronic stress. hippocampus and parvalbumin-positive interneurons: what do we know so far? *Reviews in the Neurosciences*. 27(4). 2016
34. Huong NTT. Murakami Y. Tohda M. Watanabe H. Matsumoto K. Social Isolation Stress-Induced Oxidative Damage in Mouse Brain and Its Modulation by Majonoside-R2. a Vietnamese Ginseng Saponin. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. 28(8). 1389–1393. 2005

35. Gaudier-Diaz MM. Zhang N. Haines AH. Surbhi Zhou M. DeVries AC. Social interaction modulates the neuroinflammatory response to global cerebral ischemia in male mice. *Brain Research*. 1673. 86–94. 2017
36. Frank-Cannon TC. Alto LT. McAlpine FE. Tansey MG. Does neuroinflammation fan the flame in neurodegenerative diseases? *Molecular Neurodegeneration*. 4(1). 47. 2009
37. Pimplikar SW. Neuroinflammation in Alzheimer's Disease: from Pathogenesis to a Therapeutic Target. *Journal of Clinical Immunology*. 34(S1). 64–69. 2014
38. Hirsch. E. C., Vyas. S., Hunot. S. (2012). Neuroinflammation in Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*. 18. S210–S212.. 2012
39. Möller T. Neuroinflammation in Huntington's disease. *Journal of Neural Transmission*. 117(8). 1001–1008. 2010
40. Frohman EM. Racke MK. Raine CS. Multiple Sclerosis — The Plaque and Its Pathogenesis. *New England Journal of Medicine*. 354(9). 942–955. 2006
41. Takayashiki T. Yoshidome H. Kimura F. Ohtsuka M. Shimizu Y. Kato A. Ito H. Shimizu H. Ambiru S. Togawa A. Miyazaki M. Increased expression of toll-like receptor 4 enhances endotoxin-induced hepatic failure in partially hepatectomized mice. *Journal of Hepatology*. 41(4). 621–628. 2004
42. Miller. AH. Raison CL. The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. *Nature Reviews Immunology*. 16(1). 22–34. 2016
43. Kumar H. Kawai T. Akira S. Toll-like receptors and innate immunity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 388(4). 621–625. 2009
44. Singhal G. Jaehne EJ. Corrigan F. Toben C. Baune BT. Inflammasomes in neuroinflammation and changes in brain function: a focused review. *Frontiers in Neuroscience*. 8. 2014
45. Browne EP. Regulation of B-cell responses by Toll-like receptors. *Immunology*. 136(4). 370–379. 2012
46. Wang Y. Xu J. Liu Y. Li Z. Li X. TLR4-NF- κ B Signal Involved in Depressive-Like Behaviors and Cytokine Expression of Frontal Cortex and Hippocampus in Stressed C57BL/6 and ob/ob Mice. *Neural Plasticity*. 2018. 1–12. 2018

47. Sun M. Deng B. Zhao X. Gao C. Yang L. Zhao H. Yu D. Zhang F. Chen L. Sun X. Isoflurane preconditioning provides neuroprotection against stroke by regulating the expression of the TLR4 signalling pathway to alleviate microglial activation. *Scientific Reports*. 5(1). 2015
48. Sen R. Baltimore D. Inducibility of κ immunoglobulin enhancer-binding protein NF- κ B by a posttranslational mechanism. *Cell*. 47(6). 921–928. 1986
49. Hoesel B. Schmid JA. (2013). The complexity of NF- κ B signaling in inflammation and cancer. *Molecular Cancer*. 12(1). 86. 2013
50. Sasaki Y. Iwai K. (2015). Roles of the NF- κ B Pathway in B-Lymphocyte Biology. *B Cell Receptor Signaling*. 177–209. 2015
51. Lanzillotta A. Porrini V. Bellucci A. Benarese M. Branca C. Parrella E. Sapano PF. Pizzi M. NF- κ B in Innate Neuroprotection and Age-Related Neurodegenerative Diseases. *Frontiers in Neurology*. 6. 2015
52. Bortolotto V. Cuccurazzu B. Canonico PL. Grilli M. NF- κ B Mediated Regulation of Adult Hippocampal Neurogenesis: Relevance to Mood Disorders and Antidepressant Activity. *BioMed Research International*. 2014. 1–11. 2014
53. Mancinelli R. Carpino G. Petrungaro S. Mammola CL. Tomaipitina L. Filippini A. Facchiano A. Ziparo E. Giampietri C. Multifaceted Roles of GSK-3 in Cancer and Autophagy-Related Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017. 1–4. 2017
54. Embi N. Rylatt DB. and Cohen P. Glycogen synthase kinase-3 from rabbit skeletal muscle. Separation from cyclic-AMP-dependent protein kinase and phosphorylase kinase. *Eur. J. Biochem*. 107. 519-527. 1980
55. Pap M. Cooper GM. Role of Glycogen Synthase Kinase-3 in the Phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt Cell Survival Pathway. *Journal of Biological Chemistry*. 273(32). 19929–19932. 1998
56. Graham JR. Tullai JW. Cooper GM. GSK-3 Represses Growth Factor-inducible Genes by Inhibiting NF- κ B in Quiescent Cells. *Journal of Biological Chemistry*. 285(7). 4472–4480. 2009
57. Jope RS. Yuskaitis CJ. Beurel E. Glycogen Synthase Kinase-3 (GSK3): Inflammation. Diseases. and Therapeutics. *Neurochemical Research*. 32(4-5). 577–595. 2006

58. Kim W-Y. Wang X. Wu Y. Doble BW. Patel S. Woodgett JR. Snider WD. GSK-3 is a master regulator of neural progenitor homeostasis. *Nature Neuroscience*. 12(11). 1390–1397. 2009
59. Mao Y. Ge X. Frank CL. Madison JM. Koehler AN. Doud MK. Tassa C. Berry EM. Soda T. Singh KK. Biechele T. Petryshem TL. Moon RT. Haggarty SJ. Tsai L-H. Disrupted in Schizophrenia 1 Regulates Neuronal Progenitor Proliferation via Modulation of GSK3 β / β -Catenin Signaling. *Cell*. 136(6). 1017–1031. 2009
60. Silva R. Mesquita AR. Bessa J. Sousa JC. Sotiropoulos I. Leão P. Almeida OFX. Sousa N. Lithium blocks stress-induced changes in depressive-like behavior and hippocampal cell fate: The role of glycogen-synthase-kinase-3 β . *Neuroscience*. 152(3). 656–669. 2008
61. Martin M. Rehani K. Jope RS. Michalek SM. Toll-like receptor-mediated cytokine production is differentially regulated by glycogen synthase kinase 3. *Nature Immunology*. 6(8). 777–784. 2005
62. Dugo L. Abdelrahman M. Murch O. Mazzon E. Cuzzocrea S. Thiernemann C. Glycogen synthase kinase-3 β inhibitors protect against the organ injury and dysfunction caused by hemorrhage and resuscitation. *Shock*. 25(5). 485–491. 2006
63. Hofmann C. Dunger N. Schölmerich J. Falk W. Obermeier F. Glycogen synthase kinase 3- β : A master regulator of toll-like receptor-mediated chronic intestinal inflammation. *Inflammatory Bowel Diseases*. 16(11). 1850–1858. 2010
64. Duan J. Cui J. Yang Z. Guo C. Cao J. Xi M. Weng Y. Yin Y. Wang Y. Wei G. Qiao B. Wen A. (2019). Neuroprotective effect of Apelin 13 on ischemic stroke by activating AMPK/GSK-3 β /Nrf2 signaling. *Journal of Neuroinflammation*. 16(1). 2019
65. Sarma AD. Mallick AR. Ghosh AK. Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. *Int J Pharma Sci Res*. 2010;1(3):185-192. 2010
66. Salim S. Oxidative Stress and the Central Nervous System. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 360(1). 201–205. 2016
67. Hulbert AJ. Pamplona R. Buffenstein R. Buttemer WA. (2007). Life and Death: Metabolic Rate. Membrane Composition. and Life Span of Animals. *Physiological Reviews*. 87(4). 1175–1213. 2007
68. Chen Z. Zhong C. Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Neuroscience Bulletin*. 30(2). 271–281. 2014

69. Campos RR. Oliveira-Sales EB. Nishi ÉE. Boim MA. Dolnikoff MS. Bergamaschi CT. The role of oxidative stress in renovascular hypertension. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 38(2). 144–152. 2011
70. Jensen PK. Antimycin-insensitive oxidation of succinate and reduced nicotinamide-adenine dinucleotide in electron-transport particles II. Steroid effects. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Enzymology and Biological Oxidation*. 122(2). 167–174. 1966
71. Rajendran P. Nandakumar N. Rengarajan T. Palaniswami R. Gnanadhas EN. Lakshminarasiah U. Gopas J. Nishigaki I. Antioxidants and human diseases. *Clinica Chimica Acta*. 436. 332–347. 2014
72. Del Río LA. ROS and RNS in plant physiology: an overview. *Journal of Experimental Botany*. 66(10). 2827–2837. 2015
73. Gupta DK. Corpas FJ. Palma JM. (Eds.). *Heavy Metal Stress in Plants*. 2013
74. Beckhauser TF. Francis-Oliveira J. De Pasquale R. Reactive Oxygen Species: Physiological and Physiopathological Effects on Synaptic Plasticity. *Journal of Experimental Neuroscience*. 10s1. JEN.S39887. 2016
75. Moloney JN. Cotter TG. ROS signalling in the biology of cancer. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 80. 50–64. 2018
76. Anthonymuthu TS. Kenny EM. Bayır H. Therapies targeting lipid peroxidation in traumatic brain injury. *Brain Research*. 1640. 57–76. 2016
77. Gaschler MM. Stockwell BR. Lipid peroxidation in cell death. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 482(3). 419–425. 2017
78. Halliwell B. Reactive oxygen species and the central nervous system. *Journal of Neurochemistry*. 59(5). 1609–1623. 1992
79. Packer L. “Methods in Enzymology.” Vol. 299. ed. by John N. A., Melvin I. S., Academic Press. New York. 1999.
80. Tsikas D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Analytical Biochemistry*. 524. 13–30. 2017
81. Lv H. Zhen C. Liu J. Yang P. Hu L. Shang P. Unraveling the Potential Role of Glutathione in Multiple Forms of Cell Death in Cancer Therapy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019. 1–16. 2019
82. Circu ML. Aw TY. Glutathione and modulation of cell apoptosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Molecular Cell Research*. 1823(10). 1767–1777. 2012

83. Janáky R. Cruz-Aguado R. Oja SS. Shaw CA. 15 Glutathione in the Nervous System: Roles in Neural Function and Health and Implications for Neurological Disease Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology pp 347-399. 2007
84. Manoli I. Alesci S. Blackman MR. Su YA. Rennert OM Chrousos GP. Mitochondria as key components of the stress response. Trends in Endocrinology & Metabolism. 18(5). 190–198. 2007
85. Filipović D. Todorović N. Bernardi RE. Gass P. Oxidative and nitrosative stress pathways in the brain of socially isolated adult male rats demonstrating depressive- and anxiety-like symptoms. Brain Struct Funct. 2017. 222(1):1-20. 2017
86. Li H. Xia N. The role of oxidative stress in cardiovascular disease caused by social isolation and loneliness. Redox Biology. 101585. 2020
87. Huong NTT. Murakami Y. Tohda M. Watanabe H. Matsumoto K. Social isolation stress-induced oxidative damage in mouse brain and its modulation by majonoside-R2, a Vietnamese Ginseng Saponin. Biological & Pharmaceutical Bulletin. 28(8). 1389–1393. 2005
88. Sonei N. Amiri S. Jafarian I. Anoush M. Rahimi-Balaei M. Bergen H. Mirzaian AH. Hosseini M-J. Mitochondrial dysfunction bridges negative affective disorders and cardiomyopathy in socially isolated rats: Pros and cons of fluoxetine. The World Journal of Biological Psychiatry. 18(1). 39–53. 2016
89. Mohale DS. Chandewar AV. Effect of Social Isolation on Oxidative Stress and Transaminase Level. Asian J. Biomed. and Pharm. Sci. 2. 41–44. 2012
90. Porsolt RD. Le Pichon M. Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. Nature. 266(5604). 730–732. 1977
91. Yankelevitch-Yahav R. Franko M. Huly A. Doron R. The Forced Swim Test as a Model of Depressive-like Behavior. J. Vis. Exp. (97). e52587. 2015
92. Porsolt RD. Anton G. Blavet N. Jalfre M. Behavioural despair in rats: A new model sensitive to antidepressant treatments. European Journal of Pharmacology. 47(4). 379–391. 1978
93. Casini AF. Ferrali M. Pompella A. Maellaro E. Comporti M. Lipid peroxidation and cellular damage in extrahepatic tissues of bromobenzene-intoxicated mice. Am J Pathol. Jun;123(3):520-31. 1986

94. Aykaç G. Uysal M. Süha-Yalçın A. Koçak-Toker N. Sivas A. Öz H. The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology*. 36(1). 71–76. 1985
95. Corsi-Zuelli F. Fachim HA. Loureiro CM. Shuhama R. Bertozzi G. Joca SRL. Menezes PR. Louzada-Junior P. Del-Ben CM. Prolonged Periods of Social Isolation From Weaning Reduce the Anti-inflammatory Cytokine IL-10 in Blood and Brain. *Frontiers in Neuroscience*. 12. 2019
96. Fone KCF. Porkess MV. Behavioural and neurochemical effects of post-weaning social isolation in rodents—Relevance to developmental neuropsychiatric disorders. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 32(6). 1087–1102. 2008
97. Monji A. Kato TA. Mizoguchi Y. Horikawa H. Seki Y. Kasai M. Yamauchi Y. Yamada S. Kanba S. Neuroinflammation in schizophrenia especially focused on the role of microglia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 42. 115–121. 2013
98. Knuesel I. Chicha L. Britschgi M. Schobel SA. Bodmer M. Hellings JA. Toovey S. Prinssen EP. Maternal immune activation and abnormal brain development across CNS disorders. *Nature Reviews Neurology*. 10(11). 643–660. 2014
99. Meyer U. Schwarz MJ. Müller N. Inflammatory processes in schizophrenia: A promising neuroimmunological target for the treatment of negative/cognitive symptoms and beyond. *Pharmacology & Therapeutics*. 132(1). 96–110. 2011
100. Khandaker GM. Dantzer R. Is there a role for immune-to-brain communication in schizophrenia? *Psychopharmacology*. 233(9). 1559–1573. 2015
101. Todorović N. Filipović D. Prefrontal cortical glutathione-dependent defense and proinflammatory mediators in chronically isolated rats: Modulation by fluoxetine or clozapine. *Neuroscience*. 355. 49–60. 2017
102. Zlatković J. Todorović N. Bošković M. Pajović SB. Demajo M. Filipović D. Different susceptibility of prefrontal cortex and hippocampus to oxidative stress following chronic social isolation stress. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 393(1-2). 43–57. 2014

103. Filipović D. Zlatković J. Inta D. Bjelobaba I. Stojiljkovic M. Gass P. Chronic isolation stress predisposes the frontal cortex but not the hippocampus to the potentially detrimental release of cytochrome c from mitochondria and the activation of caspase-3. *Journal of Neuroscience Research*. 89(9). 1461–1470. 2011
104. Zlatković J. Filipović D. Chronic social isolation induces NF- κ B activation and upregulation of iNOS protein expression in rat prefrontal cortex. *Neurochemistry International*. 63(3). 172–179. 2013
105. Lei XG. In Vivo Antioxidant Role of Glutathione Peroxidase: Evidence from Knockout Mice. *Protein Sensors and Reactive Oxygen Species - Part A: Selenoproteins and Thioredoxin*. 213–225. 2002
106. Madrigal J. The Increase in TNF- α Levels Is Implicated in NF- κ B Activation and Inducible Nitric Oxide Synthase Expression in Brain Cortex after Immobilization Stress. *Neuropsychopharmacology*. 26(2). 155–163. 2002
107. Calcia MA. Bonsall DR. Bloomfield PS. Selvaraj. S. Barichello T. Howes OD. Stress and neuroinflammation: a systematic review of the effects of stress on microglia and the implications for mental illness. *Psychopharmacology*. 233(9). 1637–1650. 2016
108. Miller AH. Maletic V. Raison CL. Inflammation and Its Discontents: The Role of Cytokines in the Pathophysiology of Major Depression. *Biological Psychiatry*. 65(9). 732–741. 2009
109. McNamara RK. Lotrich FE. Elevated immune-inflammatory signaling in mood disorders: a new therapeutic target? *Expert Review of Neurotherapeutics*. 12(9). 1143–1161. 2012
110. Ko C-Y. Liu Y-P. Isolation rearing impaired sensorimotor gating but increased pro-inflammatory cytokines and disrupted metabolic parameters in both sexes of rats. *Psychoneuroendocrinology*. 55. 173–183. 2015
111. Rhie SJ. Jung E-Y. Shim I. The role of neuroinflammation on pathogenesis of affective disorders. *J Exerc Rehabil*. 16 (1) (2020). pp. 2-9
112. Dooley LN. Kuhlman KR. Robles TF. Eisenberger NI. Craske MG. Bower JE. The role of inflammation in core features of depression: Insights from paradigms using exogenously-induced inflammation. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2018

113. Nadjar A. Bluthé R-M. May MJ. Dantzer R. Parnet P. Inactivation of the Cerebral NFκB Pathway Inhibits Interleukin-1β-Induced Sickness Behavior and c-Fos Expression in Various Brain Nuclei. *Neuropsychopharmacology*. 30(8). 1492–1499. 2005
114. Wang W. Yang J. Xu J. Yu H. Liu Y. Wang R. Ho RCM. Ho CSH. Pan F. Effects of High-fat Diet and Chronic Mild Stress on Depression-like Behaviors and Levels of Inflammatory Cytokines in the Hippocampus and Prefrontal Cortex of Rats. *Neuroscience*. 2022 Jan 1;480:178-193. 2021
115. Wang Y. Wu S. Yu X. Zhou S. Ge M. Chi X. Cai J. Dexmedetomidine Protects Rat Liver against Ischemia-Reperfusion Injury Partly by the α2A-Adrenoceptor Subtype and the Mechanism Is Associated with the TLR4/NF-κB Pathway. *International Journal of Molecular Sciences*. 17(7). 995. 2016
116. Azam S. Jakaria M. Kim I-S. Kim J. Haque ME. Choi D-K. Regulation of Toll-Like Receptor (TLR) Signaling Pathway by Polyphenols in the Treatment of Age-Linked Neurodegenerative Diseases: Focus on TLR4 Signaling. *Frontiers in Immunology*. 10. 2019
117. Liu M. Xie J. Sun Y. TLR4/MyD88/NF-κB-Mediated Inflammation Contributes to Cardiac Dysfunction in Rats of PTSD. *Cellular and Molecular Neurobiology*. 2020
118. Salama A. Mahmoud HA-A. Kandeil MA. Khalaf MM. Neuroprotective role of camphor against ciprofloxacin induced depression in rats: modulation of Nrf-2 and TLR4. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. 43(3). 309–318. 2021
119. Chen T. Liu S. Zheng M. Li Y. He L. The effect of geniposide on chronic unpredictable mild stress-induced depressive mice through BTK / TLR4 / NF-κB and BDNF / TrkB signaling pathways. *Phytotherapy Research*. 2020
120. Matrisciano. F.. Pinna. G. PPAR-α Hypermethylation in the Hippocampus of Mice Exposed to Social Isolation Stress Is Associated with Enhanced Neuroinflammation and Aggressive Behavior. *Int J Mol Sci*. 2021 Oct 1;22(19):10678. 2021
121. Walton N. Maguire J. Allopregnanolone-based treatments for postpartum depression: Why/how do they work? *Neurobiology of Stress*. 11. 100198. 2019
122. Joje RS. Glycogen Synthase Kinase-3 in the Etiology and Treatment of Mood Disorders. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 4. 2011

123. Ebeid MA. Habib MZ. Mohamed AM. Faramawy Y. El-Saad SST. El-Kharashi OA. El Magdoub HM. Aboul-Fotouh S. Abdel-Tawab AM. Cognitive effects of the GSK-3 inhibitor “lithium” in LPS/chronic mild stress rat model of depression: Hippocampal and cortical neuroinflammation and tauopathy. *NeuroToxicology*. 83. 77–88. 2021
124. Wang H. Xiao L. Wang H. Wang G. Involvement of chronic unpredictable mild stress-induced hippocampal LRP1 up-regulation in microtubule instability and depressive-like behavior in a depressive-like adult male rat model. *Physiology & Behavior*. 112749. 2019
125. Ali AA. Ahmed HI. Khaleel SA. Abu-Elfotuh K. Vinpocetine mitigates aluminum-induced cognitive impairment in socially isolated rats. *Physiology & Behavior*. 208. 112571. 2019
126. Izadi MS. Radahmadi M. Ghasemi M. Rayatpour A. Effects of Isolation and Social Subchronic Stresses on Food Intake and Levels of Leptin, Ghrelin, and Glucose in Male Rats. *Adv Biomed Res*. 2018 Aug 29;7:118. doi: 10.4103/abr.abr_28_18. PMID: 30211131; PMCID: PMC6124222
127. Dulabi AN. Shakerin Z. Mehranfard N. Ghasemi M. Vitamin C protects against chronic social isolation stress-induced weight gain and depressive-like behavior in adult male rats. *Endocr Regul*. 2020 Nov 24;54(4):266-274. doi: 10.2478/enr-2020-0030. PMID: 33885252

7. EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onayı



T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu



TOPLANTI TARİHİ : 12/09/2019
TOPLANTI NO : 2019/08

- 4- Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2019-15-12/09 Protokol no'lu "Sıçanlarda Erken Dönem Sosyal İzolasyonun Neden Olduğu Davranış Değişikliklerinde TLR4/ NF- κ B/GSK-3 β Sinyal Yolunun İncelenmesi" konulu çalışmasının Etik Kurul İlkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR

Prof. Dr. Emine YILMAZ SİPAHİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı

8. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler:

Adı Soyadı: Havva Nur ÖZÇETİN

Öğrenim Durumu:

Derece	Bölüm	Üniversite	Yıl
Yüksek	Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Zonguldak Bülent Ecevit	2018-2022
Lisans	Fizyoloji Bölümü	Üniversitesi	
Lisans	Sağlık Yüksekokulu	Karabük Üniversitesi	2014-2018
	Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Bölümü		

Katıldığı Kongreler:

1. Özçetin HN. Sayan Özaçmak H. Turan İ. Özaçmak V. H. Kronik Sosyal İzolasyonun Sütten Kesilmiş Sıçan Yavrularında Oksidatif Stres Parametrelerine Etkileri. 6. Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi. 30 Nisan- 1 Mayıs. 2021.

Sertifikalar:

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası. 2019.